



T.C

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

**MATERNAL VE FETAL SERUM HOMOSİSTEİN, FOLİK ASİT,
VİTAMİN B12 VE PLASENTAL DOKU HOMOSİSTEİN
DÜZEYLERİNİN PREEKLAMPSİ ŞİDDETİ İLE İLİŞKİSİ
PROSPEKTİF-KONTROLLÜ KLİNİK ÇALIŞMA**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**Dr. Yurdanur GÜRÇAY AÇILMIŞ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. İrfan KUTLAR**

Ağustos-2008

T.C
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**MATERNAL VE FETAL SERUM HOMOSİSTEİN, FOLİK ASİT,
VİTAMİN B12 VE PLASENTAL DOKU HOMOSİSTEİN
DÜZEYLERİNİN PREEKLAMPSİ ŞİDDETİ İLE İLİŞKİSİ
PROSPEKTİF-KONTROLLÜ KLİNİK ÇALIŞMA**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Yurdanur GÜRÇAY AÇILMIŞ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr. İrfan KUTLAR

ÖNSÖZ

Bilgi ve tecrübeleri ile yetişmemde emeği geçen, her türlü konuda yardımlarını esirgemeyen sayın hocalarım Prof.Dr.Özcan Balat ve Prof.Dr.İrfan Kutlar'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca uzmanlık eğitimim boyunca bana destek ve yol gösterici olan Yard.Doç.Dr.Ebru Dikensoy, Yard.Doç.Dr.Bahar Cebesoy, Yard.Doç.Dr.Ebru Öztürk ve Yard.Doç.Dr.Gürol Uğur'a, tezimle ilgili proje hazırlanması ve verilerin istatistiksel değerlendirilmesindeki katkılarından dolayı Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç.Dr.Sadrettin Pençe'ye, tezimin laboratuvar çalışmalarında bana yardımcı ve yol gösterici olan Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Yard.Doç.Dr.Hülya Çiçek'e, tüm çalışma arkadaşlarıma, sevgili eşime ve emeklerini asla ödeyemeyeceğim Anneme ve Babama teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Dr.Yurdanur Gürçay Açılmış

Gaziantep, 2008

İÇİNDEKİLER

ÖZET	I
SUMMARY.....	II
KISALTMALAR.....	III
ÖNSÖZ	IV
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	V
İÇİNDEKİLER	VI
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. GEBELİKTE HİPERTANSİF HASTALIKLAR.....	3
2.1.1. PREEKLAMPSİ TANISI, İNSİDANSI VE RİSK FAKTÖRLERİ.....	4
2.1.2. PATOFİZYOLOJİ.....	7
2.1.2.1.PLASENTANIN ANORMAL GELİŞİMİ.....	7
2.1.2.2. ENDOTELYAL DİSFONKSİYON	11
2.2.HOMOSİSTEİN	15
2.3.FOLİK ASİT VE VİTAMİN B12	19
3. MATERYAL VE METOD.....	20
3.1.HASTA SEÇİMİ	20
3.2.MATERYALLERİN TOPLANMASI.....	20
3.3.HOMOSİSTEİN DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ.....	21
3.3.1.KEMİLÜMİNESANS TEKNOLOJİ	21
3.4.VİTAMİN B12 VE FOLİK ASİT DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ.....	22
3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	22
4. BULGULAR.....	23
5.TARTIŞMA	27
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	33
7. KAYNAKLAR	35

ÖZET

MATERNAL VE FETAL SERUM HOMOSİSTEİN, FOLİK ASİT, VİTAMİN B12 VE PLASENTAL DOKU HOMOSİSTEİN DÜZEYLERİNİN PREEKLAMPSİ ŞİDDETİ İLE İLİŞKİSİ PROSPEKTİF-KONTROLLÜ KLİNİK ÇALIŞMA

Dr.Yurdanur Gürçay Açılmış
Uzmanlık Tezi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı
Tez Yöneticisi: Prof. Dr. İrfan KUTLAR
Ağustos 2008, 48 sayfa

Bu çalışmanın amacı, fetal ve maternal serum homosistein, folik asit ve vitamin B12 düzeylerinin ve plasental doku homosistein düzeylerinin preeklampsisi şiddeti ile ilişkisini değerlendirmektir.

Vaka kontrol niteliğindeki, tek merkezli olarak yapılan çalışmamıza hafif preeklampsili 26 gebe, şiddetli preeklampsili 26 gebe ve medikal problemi olmayan sağlıklı 26 gebe dahil edildi. Tüm gebeler üçüncü trimesterde olup, doğumu kliniğimizde yaptırıldı. Doğumdan önce anneden maternal kan, doğum sırasında umbilikal korddan fetal kan ve plasentanın doğumundan sonra plasental doku örneği alındı. Maternal ve fetal kanlar santrifüje edilerek serumlar ayrıldı ve analiz edilene kadar -80° de saklandı. Plaseenta örnekleri alüminyum folyoya sarılıp homojenizasyon ve analiz edilene kadar -80° de saklandı. Maternal ve fetal serumda homosistein, folik asit ve vitamin B12 seviyeleri ve plasental doku homosistein seviyeleri ICL (immünoassay kemilüminesans) yöntemi ile ölçüldü.

Şiddetli preeklampsili gebelerde hem maternal hem de fetal serum homosistein seviyeleri, hafif preeklampitik ve kontrol grubundaki gebelere göre anlamlı derecede yüksekti. Bununla birlikte, kontrol grubu ile hafif preeklampitik gebeler arasında maternal ve fetal serum homosistein düzeyleri bakımından anlamlı fark yoktu. Gruplar arasında, maternal ve fetal serum folik asit, vitamin B12 seviyeleri bakımından anlamlı bir fark görülmedi. Plasental doku homojenatlarındaki homosistein seviyeleri 3 grupta da ölçülemeyecek kadar düşük bulundu (<2 µmol/l).

Bu çalışmada, şiddetli preeklampsili gebelerde maternal ve fetal serum homosistein seviyelerinin hafif preeklampsili gebelere ve sağlıklı gebelere göre yüksek bulunması nedeniyle, artmış serum homosistein seviyelerinin preeklampsinin şiddeti ile ilişkili olduğu saptandı. Plazma homosistein yüksekliği ile folik asit ve vitamin B12 eksikliği arasında bir ilişki bulunamadı.

Anahtar Sözcükler: Homosistein, Folik asit, Vitamin B12, Preeklampsisi

ABSTRACT

RELATIONSHIP BETWEEN HOMOCYSTEINE, FOLIC ACID, VITAMIN B12 LEVELS IN MATERNAL AND FETAL SERUM AND HOMOCYSTEINE LEVELS IN PLACENTAL TISSUE AND SEVERITY OF PREECLAMPSIA A PROSPECTIVE - CONTROLLED CLINICAL STUDY

Dr. Yurdanur Gürçay Açılmış
Residency Thesis, Department of Obstetrics and Gynecology
Coordinator: Prof. Dr. İrfan KUTLAR
August 2008, 48 pages

The aim of this study to evaluate maternal and fetal serum levels of homocysteine, folic acid, vitamin B12 and placental tissue levels of homocysteine and their association with severity of preeclampsia.

A case-control study that was performed by a single center included 26 pregnant women with mild preeclampsia, 26 pregnant women with severe preeclampsia and 26 pregnant women with no health problem. All of the pregnant women who were in the third trimester were delivered in our clinic. Maternal blood was collected before delivery and fetal blood was collected from umbilical cord at delivery. Placental tissue samples were obtained after delivery of placenta. Maternal and fetal blood were centrifuged and serum was separated and stored at -80° until analysis. Placental tissue samples were wrapped in aluminium foil and stored at -80° until homogenization and analysis. Homocysteine, folic acid, vitamin B12 levels in maternal and fetal serum and homocysteine levels in placental tissue homogenates were analysed by ICL (chemiluminesans immunoassay).

Homocysteine levels in both maternal and fetal serum were significantly higher in pregnant women with severe preeclampsia than pregnant women with mild preeclampsia and pregnant women in control group. However, homocysteine levels in both maternal and fetal serum were not significantly different between pregnant women with mild preeclampsia and controls. Folic acid and vitamin B12 levels in both maternal and fetal serum were not significantly different between in these groups. Homocysteine levels in placental tissue homogenates were very low that could not be measured in three groups ($<2 \mu\text{mol/l}$).

In this study, maternal and fetal serum homocysteine levels were significantly higher in pregnant women with severe preeclampsia than pregnant women with mild preeclampsia and healthy pregnant women. For that reason, elevated serum levels of homocysteine were associated with severity of preeclampsia. Relationship between elevated serum homocysteine levels and deficiency of folic acid and vitamin B12 was not be detected.

Key Words: Homocysteine, Folic acid, Vitamin B12, Preeclampsia

KISALTMALAR

ADMA:	Asimetrik Dimetil Arjinin
AT1:	Anjiotensin 2 Tip 1
B2:	Ribaflavin
BHMT:	Betain-Homosistein Metil Transferaz
CBS:	Sistasyonin Beta Sentaz
DDAH:	Dimetilarginin Dimetilaminohidrolaz
DMG:	Dimetilglisin
eNOS:	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
ET-1:	Endotelin-1
EVT:	Extravillöz Trofoblastlar
Hcy:	Homosistein
HLA:	Human Lökosit Antijen
IL-8:	İnterlökin-8
MCP-1:	Monocyte Chemoattractant Protein-1
MS:	Metiyonin Sentaz
MTHFR:	Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz
NO:	Nitrik Oksit
PIGF:	Plasental Growth Faktör
SAH:	S-Adenozil Homosistein
SAM:	S-Adenozil Metiyonin
sENG:	Soluble Endoglin
sFLT-1:	Soluble Fms-like Tirozin Kinaz 1
TGF:	Transforming Growth Faktör
THF:	Tetrahidrofolat
VEGF:	Vasküler Endotelyal Growth Faktör

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Şiddetli preeklampsi kriterleri.....	5
Tablo 2. Preeklampsi risk faktörleri	6
Tablo 3. Olguların demografik özellikleri	24
Tablo 4. Maternal serum homosistein, folik asit ve vitamin B12 düzeyleri.....	24
Tablo 5. Fetal serum homosistein, folik Asit ve vitamin B12 düzeyleri	25

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Homosistein metabolizması.....	18
Şekil 2. Şiddetli preeklampatik, hafif preeklampatik ve kontrol gruplarında maternal ve fetal serum homosistein düzeyleri	26

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Preeklampsi, daha önce normotansif olan kadınlarda, gebeliğin 20. haftasından sonra gelişen yeni başlangıçlı hipertansiyon ve proteinüri ile karakterize gebeliği komplike eden bir hastalıktır. Preeklampsi, dünya çapında maternal ve perinatal mortalite ve morbiditenin major nedeni olup, sağlıklı nulliparlarda %2 ile %7 oranında görülür (1). Bu oran ikiz gebelikte %14 ve daha önce preeklampsi öyküsü olan gebelerde %18 olup, belirgin derecede daha yüksektir (2). Gebelik sırasında hipertansiyonu olan kadınların yaklaşık %70'i gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi tanısı almaktadır (3).

Preeklampsi etyopatogenezi tam olarak açıklanamamış olup, çok miktarda teori ileri sürülmüştür. Etiyolojide; uterin kan damarlarına anormal trofoblast invazyonu, fetoplasental doku ve maternal doku arasında immünolojik intolerans, gebelikteki immünolojik ve kardiyovasküler değişimlere adaptasyon bozukluğu, diyetsel eksiklikler ve genetik faktörler suçlanmaktadır (3). Preeklampsi patofizyolojinde rapor edilen bazı anormallikler; plasental iskemi, jeneralize vasospazm, koagülasyon sisteminin aktivasyonu ile anormal hemostaz, vasküler endotelial disfonksiyon, anormal nitrik oksit ve lipid metabolizması, lökosit aktivasyonu ve çeşitli sitokinlerde değişimler, insülin rezistansıdır (4).

Homosistein plazma seviyesinin yüksekliği, ateroskleroz ve tromboz gibi vasküler hastalıklar için risk faktörü olarak gösterilmiştir ve preeklampsi etyolojisindeki rolü sorgulanmaktadır (5). Hiperhomosisteinemi, aynı zamanda, plasenta dekolmanı, plasental infarkt, intrauterin gelişme geriliği, tekrarlayan düşükler ve nöral tüp defekti ile ilişkili bulunmuştur (6). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, homosisteinin oksidatif stres ve endotelial disfonksiyona neden olarak preeklamptik değişikliklerden sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (7,8). Homosistein metabolizmasında görev alan enzimlerin genlerindeki mutasyonlar ve bu enzimlerin kofaktörleri olan vitamin B6, B12 ve folik asit eksikliklerinin hiperhomosisteinemiden sorumlu olduğu düşünülmektedir (9). Plazma homosistein yüksekliğinin, preeklampsinin sebebi mi yoksa, preeklampsideki metabolik değişikliklerin sonucu mu olduğu henüz netlik kazanmamıştır. Eğer preeklampsinin nedeni ise, homosistein

konsantrasyonları gebeliğin erken dönemlerinde yüksek bulunarak preeklampsinin erken tanısında faydalı olabilir.

Bu çalışmada, preeklampsi ve preeklampsi şiddeti ile maternal-fetal serum ve plasental doku homosistein düzeyleri arasındaki ilişkiyi belirlemek amaçlanmaktadır. Ayrıca maternal ve fetal serum folik asit ve vitamin B12 düzeyleri ölçülerek, hiperhomosisteinemi ve preeklampsi gelişiminde bu vitaminlerin eksikliklerinin rolü sorgulanacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gebelikte Hipertansif Hastalıklar

Gebelikte hipertansif hastalıklar sık görülmekte olup, hemoraji ve infeksiyonla birlikte gebeliğe bağlı maternal mortalite ve morbiditenin çoğundan sorumlu ölümcül üçlüden birisidir (10). Berg ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (11), ABD’de 1991’den 1997’ye kadar olan sürede ortaya çıkan 3201 maternal ölümün %16’sının gebelik ile ilişkili hipertansiyona bağlı olduğu gösterildi. Yine bu çalışmada, preeklampsiye bağlı ölümün siyah ırkta 3 kat fazla olduğu gösterildi (11).

Ulusal Yüksek Kan Basıncı Eğitim Programı (NHBPEP) çalışma grubu (12), gebelikte hipertansiyon tanısı konusunda uzun süredir var olan karmaşık terminolojiyi belli bir düzene sokmak için, yeni bir sınıflandırma sistemi önerdi. Bu sınıflandırma sistemine göre, gebelikle ilişkili hipertansif hastalıklar; gestasyonel hipertansiyon, kronik hipertansiyon, kronik hipertansiyon zemininde süperempoze preeklampsi, preeklampsi ve eklampsi olmak üzere 5 formda tanımlandı. Bu sınıflamadaki temel amaç, gebelikten önce var olan hipertansiyon ile çok kötü prognoza sahip olabilen preeklampsinin ayrımını yapabilmektir.

Gestasyonel hipertansiyon, gebelik öncesi ve gebeliğin 20. haftasından önce tansiyon değerleri normal olduğu bilinen gebelerde, en az 6 saat ara ile yapılan iki ölçümde sistolik kan basıncının ≥ 140 mmHg ve /veya diastolik kan basıncının ≥ 90 mmHg olması ve beraberinde proteinüri yokluğu olarak tanımlanmaktadır (12). Tanıya esas alınacak kan basıncı kayıtlarının 7 günü geçmeyen aralıklarla yapılması gerekmektedir. Kan basıncı en geç postpartum 12. haftada normale döner. Kesin tanı postpartum konulabilir. Gebelikte en sık rastlanılan hipertansiyon sebebi gestasyonel hipertansiyondur. Gestasyonel hipertansiyon sıklığı, sağlıklı nullipar kadınlarda %6 ile %17 ve sağlıklı multipar kadınlarda %2 ile %4 arasındadır (3). Sıklık daha önce preeklampsi geçiren ve çoğul gebeliği olanlarda artmaktadır. Tanı esnasındaki gestasyonel yaşa bağlı olarak gestasyonel hipertansiyon preeklampsiye ilerleyebilmektedir. 30. gebelik haftası öncesi gestasyonel hipertansiyon tanısı alan kadınların %50'sinde daha sonradan preeklampsi geliştiği gösterilmiştir (13).

Kronik hipertansiyon, gebelik öncesi ve gebeliğin 20. haftasından önce, gestasyonel trofoblastik hastalığa bağlı olmadan, sistolik kan basıncının ≥ 140 mmHg ve/veya diastolik kan basıncının ≥ 90 mmHg olmasıdır, ya da 20. gebelik haftasından sonra ilk kez tanı almış olan kadınlarda, postpartum 12 hafta sonrasında devam eden hipertansiyonun mevcudiyeti olarak tanımlanmaktadır (12).

Kronik hipertansiyon zemininde süperempoze preeklampsi, gebelik öncesi ve gebeliğin 20. haftasından önce hipertansiyonu olup proteinürisi olmayan gebede, 20. gebelik haftasından sonra proteinüri gelişmesi ile tanı konulan bir durumdur (14). Bununla birlikte, 20. gebelik haftasından önce hipertansiyon ve proteinürisi olan gebe kadında, 20. gebelik haftasından sonra kan basıncında ani artış (sistolik kan basıncı ≥ 160 mmHg ve/veya diastolik kan basıncı ≥ 110 mmHg) olması ve epigastrik ağrı, baş ağrısı, görme bozukluğu gibi semptomlar ve/veya trombositopeni, karaciğer enzimlerinde yükselme gibi laboratuvar bulguları eşlik etmesi, süperempoze preeklampsiyi akla getirmelidir (14).

Preeklampsi, daha önce normotansif bir gebede gebeliğin 20. haftasından sonra hipertansiyon ve proteinüri gelişmesi olarak tarif edilmektedir. Bir başka tanımla, preeklampsi, gestasyonel hipertansiyona proteinüri (≥ 300 mg/24h) eklenmesidir (3).

Eklampsi tanısı, preeklampsi veya gestasyonel hipertansiyonu olan kadınlarda, başka bir nedene bağlı olmayan grand mal tipi epileptik nöbetlerin gelişmesiyle konulur.

2.1.1. Preeklampsi Tanısı, İnsidansı ve Risk faktörleri

Preeklampsi, daha önce normotansif olan kadında, gebeliğin 20. haftasından sonra gelişen yeni başlangıçlı hipertansiyon ve proteinüri ile karakterize, gebeliği komplike eden bir hastalıktır. Preeklampsinin insidansı tam olarak bilinmemekle beraber, gebelerin %5-8'ini etkilediği rapor edilmektedir (15).

Preeklampsi tanısında proteinüri önemli bir bulgudur. Preeklampsinin diğer bir tanısı da, gestasyonel hipertansiyona proteinüri eklenmesi şeklindedir (3). Glomerüler bariyerin bozulmuş bütünlüğü ve filtre edilen proteinlerin tubullerden emiliminin azalması, artmış protein atılımına neden olmaktadır (16). Proteinüri, 24 saatlik idrar örneğinde 300 mg ya da daha fazla proteinin varlığıdır (15). Eğer 24 saatlik idrar toplanamıyorsa, en az 6 saatlik aralıklarla alınan, en az iki idrar örneğinde, en az 30mg/dl protein konsantrasyonu (dipstik testinde en az 1+'lik) gereklidir. Tanıya esas alınacak dipstik idrar ölçümlerinin 7 günü geçmeyen aralıklarla yapılması gerekmektedir (12). Yapılan bir çalışmada, stik testindeki proteinin, 24 saatlik idrardaki protein oranı ile zayıf korelasyon gösterdiğini buldu (17). Bu nedenle, 24 saatlik idrarda protein ölçümü,

proteinüri kesin tanısı için gerekli görülmektedir. Şiddetli proteinüri, 24 saatlik idrarda en az 5 gr/dl protein varlığı olarak tanımlanmıştır. İdrar dipstik testi şiddetli proteinüri tanısında kullanılmamalıdır (17).

Proteinüri yokluğunda, gestasyonel hipertansiyona eşlik eden epigastrik ağrı, bulantı-kusma ile seyreden sağ üst kadran ağrısı, ısrar eden şiddetli serebral semptomlar (bulanık görme, baş ağrısı, değişken mental durum), trombositopeni ve yükselmiş karaciğer enzimleri bulguları mevcutsa, preeklampsi düşünülmelidir ve preeklampsi gibi tedavi edilmelidir (18).

Kan basıncı yüksekliği, preeklampsi tanısı için önemli bir parametredir. Hipertansiyon, preeklampsinin genellikle en erken ve en sık görülen klinik bulgusudur. Hipertansiyon tanısı, en az 6 saat aralıklarla (7 günü geçmemeli), en az iki kez yapılan ölçümlerde sistolik kan basıncının 140 mmHg veya üzerinde ve diastolik kan basıncının 90 mmHg veya üzerinde olmasıyla konulur. Kan basıncı ölçümü öncesi hasta en az 10 dakika dinlendirilmeli ve son 30 dakika içinde kafein almamış ve sigara içmemiş olmalıdır (12).

Şiddetli preeklampsi, şiddetli gestasyonel hipertansiyona (sistolik kan basıncı ≥ 160 mmHg ve/veya diastolik kan basıncı ≥ 110 mmHg) proteinürinin eşlik etmesi ya da hafif gestasyonel hipertansiyona şiddetli proteinürinin (≥ 5 gr/24h) eşlik etmesi olarak tanımlanmaktadır (Tablo 1). Pulmoner ödem, oligüri (< 500 ml/24saat), trombositopeni ($< 100000/mm^3$), anormal karaciğer enzimleri ve epigastrik veya sağ üst kadran ağrısı, ısrar eden şiddetli santral sinir sistemi semptomları (değişken mental durum, baş ağrısı, bulanık görme veya körlük) gibi multiorgan tutulumlarından en az birinin gelişmesi, şiddetli preeklampsi olarak tanımlanmaktadır (15).

Tablo 1. Şiddetli preeklampsi kriterleri

1	Yatak istirahati esnasında, en az 6 saat ara ile yapılan kan basıncı ölçümlerinde sistolik kan basıncı ≥ 160 mmHg ve diastolik kan basıncının ≥ 110 mmHg ölçülmesi
2	Proteinüri ≥ 5 gr/ 24 saat
3	Oligüri (< 500 ml/24 saat)
4	Serebral ve görsel rahatsızlık
5	Epigastrik ağrı, bulantı ve kusma
6	Pulmoner ödem veya siyanoz
7	Etyolojisi bilinmeyen bozulmuş karaciğer fonksiyonları
8	Trombositopeni
9	İntrauterin gelişme geriliği (IUGR)

Çalışma popülasyonuna bağlı olarak, hipertansif hastalıklar tüm gebeliklerin %10-20'sini komplike eder. Preeklampsi, dünya çapında tüm gebeliklerin yaklaşık olarak %3-14'ünde ve ABD'de tüm gebeliklerin %5-8'inde ortaya çıkar. ABD'deki vakaların yaklaşık %75'i hafif, %25'i şiddetli preeklampsidir. Preeklampsi vakalarının %10'u gebeliğin 34. haftasından önce ortaya çıkar. Gestasyonel hipertansiyon, tüm gebelerin %6'sında görülmektedir (15,19-21).

Gebelik, hipertansiyonun ortaya çıkmasının önemli bir nedenidir ve mevcut hipertansiyonu olumsuz yönde etkiler. Hipertansiyon oluşması için trofoblastik doku yeterli olup, fetus olması şart değildir (22). Preeklampside risk faktörleri tablo 2'de gösterilmiştir. Önceki gebeliğinde preeklampsi öyküsü, gelecekteki gebelikte preeklampsi gelişimi için kuvvetli bir risk faktörüdür. Kontrollü çalışmalardan oluşan bir araştırmada, daha önceden geçirilmiş preeklampsi öyküsü olan kadınlarda, böyle bir hikayesi olmayan kadınlarla karşılaştırıldığında, rölatif preeklampsi riskinin 7.19 olduğu rapor edildi (23). Erken başlangıçlı ve şiddetli preeklampsi olan kadınlarda rekürrens oranı en fazla olup, %25-65 olarak rapor edilmektedir (24,25). Birinci gebeliğinde hafif preeklampsi olan kadınlarda, ikinci gebeliğinde preeklampsi insidansı %5-7'dir. Birinci gebeliğinde normotansif olan gebelerde ise, ikinci gebeliğinde preeklampsi insidansı %1'den azdır (26,27). Primigravidlerde preeklampsi gelişme riski yüksektir, ancak bu hastalarda kesin bir predispozan faktör açıklanamamaktadır (23).

Tablo 2. Preeklampside Risk Faktörleri

1	Nulliparite
2	Yaş (<18 veya >40)
3	Önceki gebeliğinde preeklampsi öyküsü
4	Kronik hipertansiyon
5	Kronik renal hastalık
6	Antifosfolipid antikor sendromu veya kalıtsal trombofili
7	Vasküler veya kollajen doku hastalığı
8	Diabetes mellitus (pregestasyonel ve gestasyonel)
9	Çoğul gebelik
10	Yüksek vücut kitle indeksi
11	Daha önceki eşi preeklampsi geçirmiş olan erkek eş
12	Ailede gebelikle ilişkili hipertansiyon öyküsü
13	Hidrops fetalis
14	Nedeni açıklanamayan fetal gelişme geriliği

2.1.2. Patofizyoloji

Preeklampsi, vazospazm ve endotelial disfonksiyona sekonder azalmış organ perfüzyonu ile karakterize gebeliğe spesifik bir hastalıktır. Preeklampsi patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır ve günümüzde halen bir teoriler hastalığıdır. Preeklampsi patofizyolojisi maternal ve fetal-plasental faktörleri kapsamaktadır. Gebeliğin erken dönemlerinde plasental vaskülarizasyon gelişimindeki anormallikler, plasental hipoksiye neden olmaktadır. Plasental hipoksi sonucu maternal sirkülasyona salınan bir kısım faktörlerin, maternal endotelial disfonksiyona neden olarak, hipertansiyon ve hastalığın diğer manifestasyonlarının gelişimine yol açtığı ileri sürülmektedir (4).

2.1.2.1. Plasentanın Anormal Gelişimi

Preeklampsinin gelişimindeki plasentanın önemli rolü, epidemiyolojik ve deneysel verilerle desteklenmiştir. Fizyolojik çalışmalar preeklampitik kadınlarda uteroplazental kan akımının azaldığını ve uterusta vasküler direncin arttığını göstermektedir (28,29). Gebeliğin değişik haftalarında, normal ve preeklampitik gebelerin plasentaları, normal plasental morfolojiyi ve preeklampsiye bağlı uteroplazental sirkülasyondaki patolojik değişiklikleri anlamak amacıyla incelenmiştir. Şiddetli preeklampitik gebelerin plasentalarında klasik olarak multipl infarktlar, arter ve arteriollerde sklerotik daralma, fibrin depolanması ve tromboz saptanmıştır. Ayrıca, aort ve uterin arterlerin mekanik obstrüksiyonu sonucunda açığa çıkan plasental iskeminin, hipertansiyon, proteinüri ve değişik oranlarda glomerüler endotelyozise yol açtığı gösterilmiştir. Sonuç olarak, uteroplazental iskemi preeklampside önemli bir tetik çekici faktör olarak kabul edilirken, bu iskemiye hem plasental hem de maternal düzeyde yanıt değişken olabilmektedir (28).

Kanıtlar, preeklampsili hastalarda defektif bir vasküler oluşumun plasental iskemiye yol açtığına işaret etmektedir. Normal gebelerde plasenta gelişiminde, sitotrofoblastik hücreler desidüaya ve myometriyumun bir kısmına göç ederek, uterin arterin terminal dalı olan spiral arteriollerin endotelini ve tunika mediasını invaze ederler. İnvazyon sonucunda, spiral arteriollerin damar duvarında muskuler ve elastik komponent kaybı gelişerek, uteroplazental yatak düşük rezistanslı, düşük basınçlı ve yüksek akımlı hale gelir (29,30). Sonuç olarak; bu çarpıcı transformasyon, plasental kan akımını arttırarak fetusun yeterli oranda gelişmesine olanak sağlar. Trofoblastik invazyon 2 evrede gerçekleşir. 8-12. gebelik haftalarında yalnızca desidüal

segmentte endovasküler invazyon olurken, 13-18. gebelik haftalarında myometrial tabakanın iç 1/3'ünde endovasküler invazyon gerçekleşir (31).

Preeklampitik gebelerde, normal gebelerle karşılaştırıldığında, sitotroblastik hücreler spiral arteriollerin desidual segmentini infiltre edip, myometrial segmenti penetre etmekte (invazyonun 2. evresi) başarısız kalırlar. Bu başarısızlık, plasentasyona defektif vasküler cevap ile ilişkilidir. İnvazyonun yetersizliği sonucunda, küçük kapasiteli spiral arteriollerin muskuloelastik duvarları fibrinoid materyalle yer değiştirip, büyük kapasiteli damarlara dönüşemez ve küçük kapasiteli, yüksek dirençli, düşük kan akımlı damarlar olarak kalırlar. Tüm bunlar plasental hipoperfüzyonla sonuçlanır (32).

Spiral arteriollere defektif trofoblastik invazyondan, trofoblastik farklılaşmadaki anormallik sorumlu tutulmaktadır. Normal farklılaşma sırasında, invaze olan trofoblastlar adezyon molekülleri ekspresyonunda değişiklik yaparak, epitele özgü adezyon molekülleri (*integrin alfa6/beta1, alfav/beta5 ve E-cadherin*) yerine, endotele özgü adezyon moleküllerini (*integrin alfa1/beta1, alfav/beta3, Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule ve Vascular Endothelial-Cadherin*) eksprese etmeye başlarlar. Bu süreç psödo vaskülogenez olarak adlandırılır (28,29). Preeklampitik kadınlardan elde edilen trofoblastlarda, endotele özgü adezyon molekülü ekspresyonu veya psödo vaskülarizasyon gösterilememiştir (29). Bozulmuş plasentasyon ve buna eşlik eden iskemi, sistemik endotel disfonksiyonun gelişimini tetikleyici primer olay olduğu düşünülmektedir.

Frusca ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (33), preeklampsili (n=24), normal (n=14) ve kronik hipertansif (n=5) gebelerde, sezaryen sırasında plasental yataktan alınan biyopsi materyalleri incelenmiş; normal 14 gebenin 13'ünde desidua ve myometriumda fizyolojik vasküler değişiklikler izlenirken, preeklampsili ile komplike olmuş gebelerin biyopsi materyallerininin 18'inde akut aterosklerotik değişiklikler ve 6'sında desidual bölgeye sınırlı fizyolojik değişiklikler izlenmiştir. Hipertansif gebelerde, ateroskleroz, desidual bölgeye sınırlı fizyolojik değişiklikler ve normal fizyolojik değişim olmak üzere 3 tip spiral arteriol yapısı izlenmiştir. Ortalama doğum ağırlığı, spiral arteriollerinde ateroskleroz olanlarda, desidual bölgeye sınırlı fizyolojik değişiklik ve normal fizyolojik değişiklik olanlara göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu bulgular sadece preeklampsiyeye özgü değildir. İntrauterin gelişme geriliği ile komplike olmuş normotansif gebeliklerde de önemli oranda gösterilmiştir. Shanklin ve Sibai (34), 33 preeklampitik ve 12 normotansif gebenin plasental yatak ve uterin damarlarındaki ultrastrüktürel değişiklikleri elektron mikroskopisinde incelemiştir (34). Preeklampsili

kadınlardan alınan tüm örneklerde, hem plasental hem de plasentanın olmadığı yatakta, yoğun endotelial şişmeden komplet erozyona ve fibrin depolanmasına kadar giden ultrastrüktürel hasar saptanırken, normotansif kadınlardan alınan örneklerde herhangi bir patolojik değişiklik gözlenmemiştir.

Preeklampitik hastalarda, anormal plasentasyonu tetikleyici mekanizma tam olarak bilinmemektedir. Bu konuda, aşağıda bahsedildiği gibi, vasküler, çevresel, immünolojik ve genetik faktörlerin rol oynayabileceği ileri sürülmektedir (35).

Vasküler ve Çevresel Faktörler: Hipoperfüzyon, anormal plasental gelişiminin hem sebep hem de sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Hipertansiyon, diabetes mellitus, sistemik lupus eritematozis, trombofili gibi vasküler yetmezliğin olduğu tıbbi hastalıklar, preeklampsi gelişimi için risk faktörleridir (15). Mol hidatiform ve hidrops fetalis gibi plasental kitlenin artıp plasental kan akımının azaldığı obstetrik durumlar, plasentada iskemiye yol açar ve preeklampsi ile ilişkilidir (36).

Anormal plasenta gelişimi sonucu oluşan plasental hipoperfüzyon ve oksidatif stres, gebelik ilerledikçe daha etkili olmaktadır. Anormal uterin vaskülarizasyonun, gestasyonel yaş ilerledikçe, artan fetoplasental kan akımına uyum sağlaması olanaksızlaşmaktadır. Geç plasental değişiklikler, iskemi ile ilişkili olarak aterosiz (arteriol duvarında lipit yüklü hücreler), fibrinoid nekroz, trombozis, arteriollerde sklerotik daralma ve plasental infarktüsü içermektedir. Bu lezyonlar, preeklampsi hastalarda, daima aynı tarzda bulunmamasına rağmen, lezyonların kapsamı ile preeklampsi şiddeti arasında korelasyon mevcuttur (37,38). İskemik plasentadan salınan çeşitli faktörler, maternal kan dolaşımına geçerek, maternal endotelial hücre fonksiyonlarını değiştirir ve preeklampsinin karakteristik semptom ve bulgularının oluşumuna yol açar (39). Bu durumla ilişkili olarak, immünolojik ve inflamatuvar faktörler (anjiotensin 2 tip-1 reseptör otoantikor, TNF, IL-6, IL-8 gibi sitokinler) ve antianjiogenik faktörler (soluble fms-like tirozin kinaz-1, soluble endoglin) sorumlu tutulmaktadır (40-42).

İmmünolojik Faktörler: Anormal plasenta gelişiminin temeline katkıda bulunması olası immünolojik faktörler araştırılmıştır. Paternal ve fetal antijenlere daha önce maruz kalan gebelerde preeklampsiye karşı koruyuculuk geliştiği ileri sürülmüştür. Doğum ünitesinde doğum yaptırılan 1011 gebenin dahil edildiği çalışmada, gebeliğin indüklediği hipertansiyon insidansı, primigravidlerde yaklaşık %12, aynı eşli multigravidlerde %5 ve yeni eşli multigravidlerde ise %24 olduğu rapor edilmiştir (43). Konsepsiyon öncesi seksüel ilişki uzunluğu preeklampsi riski ile ters ilişkili bulunmuş ve paternal sperm antijenlerine uzamış maruziyetin koruyucu olabileceği

ileri sürülmüştür (44). Uzamış sperm maruziyetinin yokluğu, multigravid olup son gebeliği yeni bir eşle olanlarda preeklampsi riskinin arttığı görüşünü kısmen izah edebilmektedir. Preeklampsi insidansı, bariyer yöntemi kullananlarda ve donör spermi ile intrauterin inseminasyon yapılanlarda, eşinin spermi kullanılanlara göre daha yüksektir (45).

Preeklampsinin, organ rejeksiyonu ve graft versus host hastalığına benzer immünolojik anormalliklerle karakterize olduğu ileri sürülmüştür (46). Ekstravillöz trofoblast (EVT) hücreleri, HLA (human lökosit antijen) Klas I antijenlerinin alışılmadık kombinasyonlarını (HLA-C, HLA-E ve HLA-G) eksprese eder. Naturel killer hücreleri (NK), EVT hücreleri ile sıkı bir temas içinde maternal desiduaı infiltrate eder ve HLA Klass-1 moleküllerini tanıdığı bilinen çeşitli reseptörler (CD94, KIR ve ILT) eksprese eder (47). NK hücreleri ve EVT hücreleri arasındaki etkileşimin plasental implantasyonu kontrol ettiği varsayılmaktadır. Preeklampside maternal ve paternal genler arasındaki uyumsuzluğun, artmış NK aktivitesine neden olarak anormal plasental implantasyonu indüklediğine inanılmaktadır. Maternal NK hücreleri üzerindeki KIR (killer immünglobulin reseptörleri) ve fetal HLA-C halotip polimorfizmleri üzerine yapılan genetik çalışmalarda, KIR-AA genotipli ve fetal HLA-C2 genotipli kadınlarda büyük ölçüde artmış preeklampsi riski görülmüştür (48). Otörler, preeklampsinin immünogenetik tespit çalışmalarında, maternal, paternal ve fetal HLA tipleri arasındaki etkileşimi incelemenin, herhangi bir genotipi tek başına incelemekten daha önemli olduğuna dikkat çekmişlerdir.

Preeklamptik kadınlardan alınan plasental yatak biyopsilerinde, preeklamptik desidual dokuda artmış dendritik hücre infiltrasyonu açığa çıkarılmıştır. Dendritik hücreler, makrofajlarla birlikte antijen sunmakla görevli olup, transplantasyon antijenlerine karşı antijen-spesifik T hücre cevabının önemli bir başlatıcısıdır. Dendritik hücre sayısında artış, desiduaadaki maternal ve fetal antijenlerin sunumunda değişikliğe neden olabilir, bu da fetal antijenlere karşı anormal maternal immünolojik cevaba ve sonuç olarak anormal implantasyona yol açar (49).

Renin-Anjiotensin Sistemi: Preeklampside, anjiotensin-2'ye karşı artmış vasküler duyarlılık gösterilmiştir (50). Bu durum, preeklamptik hastalarda bradikinin-2 reseptör (B2) sayısının artışı ile ilişkili bulunmuştur. B2 reseptörlerinin up-regülasyonunun, anjiotensin-2 tip 1 reseptörleri (AT1) ile B2 reseptörlerinin heterodimerizasyonuna yol açtığı ve bu AT1-B2 heterodimerinin, anjiotensin 2'ye duyarlılığı arttırdığı in vitro olarak gösterilmiştir (51). Preeklamptik hastalarda, aynı zamanda, AT1 reseptörüne karşı oluşmuş agonistik antikörlerin artmış düzeyleri gösterilmiştir. Maternal otoantikörler, intrasellüler serbest kalsiyumu mobilize ederek,

preeklampside görülen plazminojen aktivator inhibitör 1 üretiminin artışına ve yüzeyel trofoblast invazyonuna yol açmaktadır (52).

Genetik Faktörler: Preeklampsinin çoğu vakaları sporadik olmasına rağmen, bu hastalığa olan yatkınlıkta genetik faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda, ailesel preeklampsi hikayesi olan (örn; anne veya kızkardeşi etkilenmiş) primigravid kadınlarda, aile hikayesi olmayan primigravidlere göre, preeklampsi riskinin 2-5 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (53,54). Preeklampsinin gelişimine maternal katkı imprinte olan genlerle kısmen açıklanabilmektedir (55). Preeklampsili anneden doğan erkeklerin eşlerinde preeklampsi gelişme riski, annesinde preeklampsi öyküsü olmayan erkeklerin eşlerine göre yüksek bulunmuştur (56). Bir erkeğin eski eşinde preeklampsi öyküsü varsa, yeni eşinde preeklampsi gelişme riski, daha önceki eşi normotansif olan erkeğin eşine göre, daha yüksek olduğu görülmüştür (57). Bu veriler, defektif plasantasyon ve sonrasında preeklampsi gelişiminde, fetal genlere hem maternal hem de paternal katılımın rol oynadığını göstermektedir.

Anjiotensinojen gen varyantı (T235), endotelial NO sentaz geni (eNOS) ve trombofiliye neden olan genler gibi birkaç gen preeklampsi ile ilişkili bulunmasına rağmen, bu ilişki geniş çalışmalarla gösterilememiştir (58). Preeklampsili, eklampsili ve gestasyonel hipertansiyonu olan 343 İzlandalı kadının geniş genom taramasında 2p13'de belirgin loküs ortaya çıkarıldı (59). Duyarlılığı olan diğer lokuslar 2p12, 2p25 ve 9p13'de tanımlanmıştır (60-62). Son zamanlarda yapılan çalışmalar, antianjiogenik faktör olan soluble fms-like tyrosine kinase-1'in (sFlt-1) dolaşımdaki fazlalığının, preeklampsi patogeneğinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Flt-1 ve sFlt-1 genleri kromozom 13 üzerinde taşınır. Bu kromozomun extra kopyası olan fetuslar, (örn; trizomi 13) normal fetuslara göre daha fazla bu gen ürünlerini üretirler. Gerçekten de, trizomi 13 kromozom yapısında fetus taşıyan gebelerde preeklampsi insidansı, diğer trizomiler ve kontrol gebeler ile karşılaştırıldığında büyük ölçüde artmıştır (63). İlave olarak, bu hastalarda dolaşımdaki antianjiogenik faktör olan sFlt-1'in proanjiogenik faktör olan PIGF'ye (plasental büyüme faktörü) oranının anlamlı derecede artışı, preeklampsi riskinin artışını izah etmektedir (64,65).

2.1.2.2. Endotelial Disfonksiyon

Preeklampsinin tüm klinik özellikleri, jeneralize endotelial disfonksiyona klinik yanıt olarak açıklanabilmektedir. Örnek olarak, vasküler tonusun endotelial kontrolünün bozulması; hipertansiyona, vasküler permeabilite artışı; ödem ve proteinüriye, prokoagulanların anormal endotelial ekspresyonu; koagulopatiye neden olmaktadır. Baş ağrısı, nöbet, görsel semptomlar,

epigastrik ağrı ve intrauterin fetal büyüme geriliği, hedef organların (beyin, karaciğer, böbrek ve plasenta) vasküler yapısındaki endotelial disfonksiyonun sekelleridir (66,67).

Preeklampitik kadınlarda, jeneralize endotelial disfonksiyonun birçok laboratuvar kanıtları mevcuttur. Dolaşımdaki hücrel fibronektin, faktör 8 antijen ve trombomodulin konsantrasyonlarının artışı endotelial disfonksiyonu destekleyici bulgulardır. Ayrıca koagülasyon kaskadına ait bir faktör olan von Willebrand faktör (vWf) de endotel zedelenmesinin belirteci olup, preeklampside arttığı gösterilmiştir (68,69). Bozulmuş akım aracılı vazodilatasyon (70,71) ve bozulmuş asetilkolin aracılı vazorelaksasyon (72), endotelial kaynaklı vazodilatatörlerin (nitrik oksit, prostosiklin) üretimini azalması ve yine endotelial kaynaklı vazokonstriktörlerin (endotelin, tromboksan) üretimini artırması, anjiotensin 2'ye artmış duyarlılık (50) endotelial disfonksiyonu destekleyen diğer laboratuvar kanıtlardır. İn vitro yapılan bir çalışmada, preeklampitik kadınlardan alınan serumların, insan umbilikal ven endotel hücre kültürlerinde endotelial aktivasyona neden olduğu gösterilmiştir (73).

Endotelial disfonksiyonun, myometrial spiral arteriollerin yetersiz remodelizasyonuna (yeniden şekillenme) bağlı gelişen hipoksi veya hipoksi/reperfüzyon sonucu oluşan oksidatif strese kaynaklanabileceğine dair güçlü kanıtlar vardır (74). Plasental hipoksi ve reoksijenizasyon, oksidatif stres aracılığıyla TNF-alfa gibi sitokinlerin plasental sentezini uyarır, maternal kanın plasentadan geçişi sırasında maternal lipidlerin peroksidasyonuna ve maternal nötrofillerin aktivasyonuna yol açar ve tüm bunlar maternal endotelial disfonksiyonla sonuçlanır (75). İn vitro bir çalışmada, preeklampsili kadınlarda plazma endotelin-1'in (ET-1) yüksek konsantrasyonlarının plasentadaki oksidatif stres için tetikleyici faktör olarak rol oynadığı ileri sürülmüştür. Bu ilişki, in vitro koşullarda, normal plasental kültürlerde ET-1 (endotelial kaynaklı vazokonstriktör) tatbiki sonrasında lipid peroksidasyon markerı olan malondialdehit (MDA) seviyesinin artışı ve antioksidan moleküller olan glutatyon ve askorbik asitin ekspresyonunun azalması ile gösterilmiştir (76).

Hayvan modelleri ve insanlarda yapılan birçok çalışmada, hiperhomosisteineminin endotelial disfonksiyona neden olduğu gösterilmiştir (77,78). Homosisteinin sülfidril grubunun oksidasyonu sırasında ortaya çıkan serbest radikallere bağlı gelişen oksidatif stresin, endotel hücrelerine zarar verdiği ileri sürülmektedir. Yapılan bir çalışmada, preeklampitik hastalarda plazma serbest/oksidlenmiş homosistein oranı, antepartum ve postpartum dönemde, kontrol grubuna göre düşük bulunarak, homosisteinle oksidatif stres ilişkisi gösterilmiştir (79). Hiperhomosisteineminin endotelial kaynaklı NO (nitrik oksit) aracılı vazodilatasyonda

bozulmaya yol açtığı ileri sürülmektedir (77). Hiperhomosisteineminin NO'in hızlanmış oksidatif inaktivasyonu gibi alternatif mekanizmalar aracılığı ile NO'in biyoyararlanımını azaltması olasıdır (78). Hiperhomosisteinemi sırasındaki endotel disfonksiyonunun bir diğer potansiyel mekanizması, NO üretiminin asimetrik dimetil arjinin (ADMA) tarafından inhibisyonudur (80). ADMA düzeyindeki artışın sebebi, ADMA'yı citrulline ve metilamine hidrolize eden dimetilarginin dimetilaminohidrolaz (DDAH) katabolizmasında azalma olmasıdır. Yapılan bir çalışmada, metiyonin yüklemesi yapılan insanlarda, plazma ADMA düzeylerinin arttığı ve buna bağlı olarak endotelial kökenli vazodilatasyonun bozulduğu gösterilmiştir (80). Homosistein endoplazmik retikulum stresini uyarır, proinflamatuvar yanıtları stimüle eder, Ras gibi regülatuar proteinlerin metilasyonunu değiştirir. Bu etkilerin her biri endotel hücre ölümü yollarının aktivasyonuna sebep olabilmektedir (81).

Plasenta gelişimi, fetus için gerekli oksijen ve besinlerin transportuna uygun vasküler ağ kurabilmek için yeterli bir anjiogenez gerektirmektedir. Normal plasenta gelişiminde, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve plasental büyüme faktörü (PIGF) gibi proanjiogenik faktörler ve soluble fms-like tirozin kinaz 1 (sFlt-1) gibi antianjiogenik faktörler arasındaki denge önemli rol oynamaktadır. Artmış antianjiogenik faktörler bu dengeyi bozarak preeklampsinin karakteristik özelliği olan endotelial disfonksiyona neden olmaktadır. Soluble Flt-1, VEGF'nin bir antagonistidir. VEGF endotele spesifik mitojendir ve anjiogenezde anahtar rol oynar. VEGF aktivitesini, primer olarak, iki yüksek aktiviteli tirozin kinaz reseptörü ile etkileşme yoluyla gösterir ki, bu reseptörler VEGFR-1 (VEGF reseptör-1 veya fms-like tirozin kinaz-1 [Flt-1]) ve VEGFR-2'dir. Bu reseptörler vasküler endotelial yüzeyden selektif olarak eksprese edilirler. VEGFR-1'in, transmembranöz izoform ve soluble izoform (sFlt-1 veya sVEGFR-1) olmak üzere iki formu vardır. PIGF, çoğunlukla plasenta tarafından sentezlenmektedir ve VEGFR-1 reseptörüne bağlanır. Soluble Flt-1, VEGF ve PIGF'e bağlanıp onların endojen reseptörleri ile etkileşimini engelleyerek, proanjiogenetik biyolojik aktivitelerini antagonize eder (82).

Artmış sFlt-1 plasental ekspresyonu ve sekresyonu preeklampsi patogenezinde önemli rol oynar. Gebe ratlara sFlt-1 uygulanması, albuminüri, hipertansiyon ve renal patolojik değişiklikler (glomeruler endotelyozis) ile sonuçlanmıştır (83). Normotansif kontrollerle karşılaştırıldığında, preeklampşik kadınlarda sFlt-1 düzeyleri artmış, serbest VEGF ve PIGF düzeyleri azalmıştır (84). Yapılan çalışmalarda preeklampşik hastalarda klinik gelişmeden önce PIGF ve VEGF düzeylerinde azalma gösterilmiştir. Gebelik değişik dönemlerinde alınıp saklanan serumlarda yapılan vaka-kontrol çalışmalarında, serum sFlt-1, VEGF ve PIGF düzeyleri ölçülmüştür. Daha

sonradan preeklampsi gelişen vakalarda, gebelik boyunca sFlt-1 düzeyi değişimlerinin belirleyici olduğu tespit edilmiştir. Tüm kadınlarda gebelik süresince sFlt-1 düzeyleri artış göstermektedir. Daha sonradan preeklampsi gelişen hastalarda, normotansif hastalarla karşılaştırıldığında, bu artışın gebeliğin daha erken dönemlerinde olduğu ve daha yüksek seviyelere ulaştığı gösterilmiştir. Bu gruplardaki sFlt-1 düzeyleri açısından belirgin farklılığın, hastalığın klinik başlangıcından beş hafta önce ortaya çıktığı belirtilmiştir (85). Yapılan bir çalışmada, sVEGFR-1 (sFlt-1) konsantrasyonu hastalığın şiddetinin artışı ile korelasyon göstermiştir; sVEGFR-1 konsantrasyonları şiddetli veya erken (<34hf) preeklampitik hastalarda, hafif veya geç preeklampitik hastalara göre daha yüksek bulunmuştur (86). Bir başka çalışmada, preeklampsili kadınlarda sVEGFR-1 konsantrasyonları, normotansif kadınlardan daha yüksek bulunmuştur ve bu yükseklik hastalığın klinik başlangıcından 2-5 hafta öncesinde tespit edilmiştir (87).

Sonuç olarak, bu çalışmalar, preeklampsi patogeneğinde sFlt-1'in önemli rol oynadığını göstermektedir. Bununla birlikte, plasentadan sFlt-1 üretiminin artışı tetikleyici faktör bilinmemektedir. Plasental iskeminin tetikleyici faktör olması kuvvetle muhtemeldir. İn vitro çalışmalarda, hipoksi varlığında plasental sitotroblastların, sFlt-1 üretimini arttırdığı gösterilmiştir (88). Artmış sFlt-1 sekresyonunun, preeklampsideki erken plasental anomalilerin sebebi veya başka faktörler nedeniyle oluşan plasental iskeminin bir sonucu olup olmadığı bilinmemektedir. Genetik faktörler sFlt-1 in fazla üretiminde rol oynayabilmektedir. Gelecekte, sFlt-1 i bağlayan ilaçlar bulunarak, preeklampsinin önlenmesi ve tedavi edilmesi mümkün olabilir.

Soluble endoglin (sEng), plasentadan salınan ve sFlt-1 ile sinerjik etkide olup, preeklampside jeneralize endotelyal disfonksiyonun patogeneğinde rol oynadığı düşünülen bir faktördür. Eng, TGF (transforming growth faktör) için koreseptör olup, vasküler endotelyumun ve sinsityotroblastların hücre membranından çokça eksprese edilebilmektedir. Soluble Eng, Eng'in plasentadan elde edilen çözünebilir bir formudur. Soluble Eng, antianjiogenik protein olup preeklampside bir başka önemli medyatördür. Soluble Eng'in, preeklampsinin klinik başlangıcından 2-3 ay önce preeklampitik kadınların serumlarında yükseldiği, hastalığın şiddeti ile korelasyon gösterdiği ve doğum sonrası düştüğü gösterilmiştir. Artmış sEng düzeyi, artmış sFlt-1/PIGF oranına eşlik eder ve gelişmekte olan preeklampsi için çok belirleyicidir (89). İn vivo çalışmalarda, sEng'in, vasküler permeabilityyi arttırdığı ve hipertansiyonu indüklediği gösterilmiştir. Gebe ratlarda, sEng'in, sFlt-1'in vasküler etkilerini güçlendirerek, HELLP sendromunu da içine alan ciddi preeklampsiye gidişi indüklediği gösterildi. Soluble Eng, endotel

hücrelerinde TGF-beta sinyalizasyonunu engeller ve TGF-beta-1 aracılı eNOS aktivasyonunu ve vazodilatasyonu bloke eder (90).

Dolaşan sinsityotrofoblast debrisleri, maternal inflamasyona ve preeklampsinin bazı klinik özelliklerine katkıda bulunduğu varsayılmaktadır. Sağlıklı term gebelerde dökülen trofoblastik debrislere ve mikropartiküllere karşı gelişen maternal inflamasyon, preeklamptik hastalarda daha abartılı olarak ortaya çıkar. Preeklampside inflamatuvar cevap, interferon gama üretiminin supresyonunun kaybı nedeniyle daha çok artmıştır. Bu inflamatuvar durum, vasküler endotelial hücrelerin sFlt-1 ve sEng gibi toksik faktörlere duyarlılığını arttırabilir, fakat bu konu ile ilgili kesin kanıt mevcut değildir (91).

2.2. Homosistein

Homosistein, sülfür içeren ve proteinlerin yapısına katılmayan bir aminoasit olup, ilk kez 1932 yılında de Vigneaud tarafından tanımlanmıştır. Normal olarak diyetle alınmayıp, metiyonin metabolizması sırasında ara ürün olarak oluşmakta ve plazmada %70-80'i albumine bağlı olarak bulunmaktadır. Serbest halde bulunan kısım stabil değildir, hemen homosistin ve homosistein disülfite dönüşmektedir. Total homosistein düzeyi, hem bağlı hem de serbest olan kısmı yansıtmaktadır (92).

Metiyonin memeli diyetlerindeki sülfür içeren tek aminoasittir. Diyetle alınan hayvansal kökenli proteinde bulunan metiyonin, metiyonin adenzil transferaz enzimi aracılığı ile demetile olarak metil vericisi olan S-adenozilmetiyonine (SAM), S-adenozilmetiyonin ise yapısında bulunan metil grubunu, glisin gibi metil alıcılarına vererek çoklu transferaz enzimleriyle S-adenozil homosisteine (SAH) dönüşmektedir. SAH'ın, hidrolaz enzimi ile katabolize olmasıyla homosistein (hcy) ve adenzin oluşmaktadır. Homosistein metabolizmasında remetilasyon ve transsülfürasyon olmak üzere başlıca iki yol vardır (9) (Şekil-1). Transsülfürasyon yolunda, homosistein serin aminoasidi ile sistatyonin beta sentaz (CBS) enzimi vasıtası ile birleşerek sistatyonini oluşturur. Daha sonra sistatyonin, gama sistatyonaz enzimi tarafından sisteine dönüşmektedir. Sistein de sülfata dönüşerek idrarla atılmaktadır. CBS, bu metabolik yolun regülatör enzimidir ve kofaktörü vitamin B6'nın aktif formu pridoksal 5 fosfattır. Remetilasyon yolunda, homosistein metiyonine dönüşür. Bu yolda görevli olan enzimler; betain-homosistein metil transferaz (BHMT) enzimi ve metiyonin sentaz (MS) (5-metiltetrahidrofolat-homosistein metiltransferaz) enzimidir. BHMT enzimi böbrekte az miktarda olmak üzere temel olarak karaciğerde bulunur, metil vericisi olarak betaini kullanır ve çinko içerir. MS enzimi ise hayvan dokularında yaygın olarak bulunmakta, 5-metiltetrahidrofolatı metil vericisi, vitamin B₁₂'yi

(kobalamin) ise kofaktör olarak kullanılmaktadır. 5-10 metilen tetrahidrofolat, metilen tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi aracılığıyla 5-metil tetrahidrofolata (5-metil THF) dönüşür. MTHFR folik asiti kofaktör olarak kullanılmaktadır. 5-metil THF'nin bir metil grubu, vitamin B12 bağımlı enzim olan MS aracılığı ile homosisteine aktarılarak metiyonin oluşurken, diğer taraftan da THF meydana gelir. Daha sonra THF, tekrar 5-10 metilen THF'ye dönüşür (93).

Hiperhomosisteinemi etyolojisinde rastlanılan en sık etken vitamin eksiklikleridir. Homosistein metabolik siklusunda kofaktör olan folik asit, B12 ve B6 vitaminlerinin diyetteki eksikliklerinin, homosisteinin plazma düzeylerinde artışa yol açtığı gösterilmiştir (94). Yapılan bir çalışmada, folik asitle zenginleştirilmiş diyet ile beslenen hastalarda serum folat konsantrasyonlarının yükselip, homosistein konsantrasyonlarının düştüğü gözlenmiştir (95).

İlaçlar, hiperhomosisteinemi gelişiminde oldukça önemli role sahiptir. Genel anesteziye kullanılan nitroz oksit çok kuvvetli metiyonin sentaz inhibitörüdür (96). Metotreksat ve kolesterol düşürücü ilaçların (niasin, fibratlar) ve sigara kullanımının plazma homosistein düzeyini yükselttiği gösterilmiştir (97,98). Preeklampsi tedavisinde kullanılan magnezyum sülfat ve antihipertansif ilaçların homosistein plazma konsantrasyonuna etki etmediği gösterilmiştir (99,100). Serum homosistein düzeyi, CBS, MS ve MTHFR enzim aktiviteleri ile ilişkilidir. Bu enzimlerdeki genetik metabolik defektlerin hiperhomosisteinemiye neden olduğu ileri sürülmektedir. Örneğin; MTHFR geninde meydana gelen mutasyon (en yaygın olanı C677T polimorfizmi) bu enzimin aktivitesini azaltmaktadır. Azalan MTHFR aktivitesi sonucunda, 5-metil THF düzeyi azalır, 5,10-metilen THF ve homosistein düzeyi artmaktadır (101). CBS geninde de yaklaşık 33 farklı mutasyon tanımlanmış ve hiperhomosisteinemi ile ilişkili bulunmuştur (102).

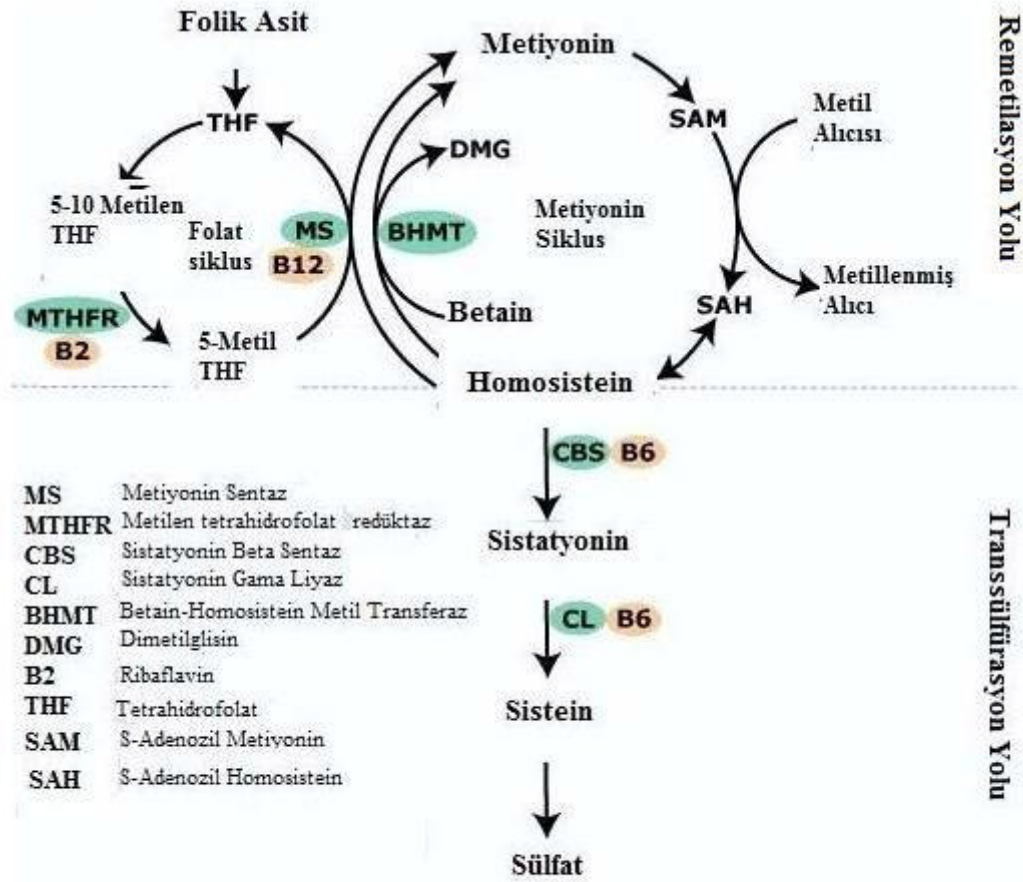
Homosisteinin plazma seviyesinin yüksekliği, ateroskleroz ve tromboz gibi vasküler hastalıklar için bağımsız risk faktörü olarak gösterilmiştir ve preeklampsi etyolojisindeki rolü sorgulanmaktadır (5). Homosisteinin direkt olarak kan damarları duvarını ve özellikle de endotel hücrelerini etkileyerek fonksiyonel değişikliklere neden olduğu bilinmektedir. Bu vasküler değişikliklerin mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Homosisteinin sülfidril grubunun hipometilasyon ve açılma yoluyla damar endotelinde zararlı etkilere neden olduğu düşünülmektedir (103). SAH'nin homosisteinle ilişkili hastalıklarda önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir. SAH ile homosisteinin, DNA hipometilasyonu ve oksidatif strese bağlı DNA hasarı olmak üzere iki mekanizma ile etkili olduğu gösterilmiştir (104). SAM ve SAH metiyonin

siklusunun komponentleridir. Hücresel en önemli metil vericisi olan SAM, metil grubunu hücresel metil alıcılara (DNA, RNA, fosfolipidler, proteinler, histonlar, nörotransmitterler) verdikten sonra SAH'a dönüşmektedir. SAH'dan SAH hidrolaz ile homosistein ve adozin oluşmaktadır. Homosistein artışı, SAH hidrolaz enzimini inhibe ederek SAH birikimine yol açmaktadır. SAH, SAM bağımlı transmetilasyon reaksiyonlarının potent inhibitörüdür. SAH artışı, birçok hücresel metiltransferaz enzimini inhibe ederek metilasyon potansiyelinin düşmesine ve sonuç olarak DNA hipometilasyonuna neden olmaktadır. DNA hipometilasyonu, homosistein ile ilişkili patolojilerde kritik rol oynadığı varsayılmaktadır. Ayrıca aynı çalışmada, homosisteinin otooksidasyonu sırasında ortaya çıkan serbest radikallere bağlı gelişen oksidatif stresin, DNA hasarına yol açarak hiperhomosisteinemi patogenezinden sorumlu olduğu gösterilmiştir (104).

Hiperhomosisteineminin endotelial kaynaklı NO (nitrik oksit) aracılı vazodilatasyonda bozulmaya yol açtığı gösterilmiştir (77). Hiperhomosisteineminin NO'nun hızlanmış oksidatif inaktivasyonu gibi alternatif mekanizmalar aracılığı ile NO'in biyoyararlanımını azaltması olasıdır (78). Endotel hücrelerinin uzamış homosistein maruziyeti, asimetrik dimetil arjinini (ADMA) citrulline ve dimetilarginine hidrolize eden dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzim aktivitesini azaltarak, nitrik oksit sentaz (eNOS) inhibitörü olan ADMA'yı arttırdığı ve sonuç olarak, endotel kaynaklı bir vazodilatatör olan NO sentezini bozduğu rapor edilmiştir (80,105). Yapılan bir çalışmada, metiyonin yüklemesi yapılan insanlarda, ADMA seviyelerinin yükseldiği ve buna bağlı endotelial kaynaklı vazodilatasyonun bozulduğu gösterilmiştir (80).

Artmış plazma homosistein düzeylerinin, vasküler endotel hücrelerinde MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) ve IL-8 (interleukin-8) gibi spesifik sitokinlerin ekspresyonunu ve sekresyonunu arttırarak endotelial fonksiyon değişikliğine yol açtığı gösterilmiştir (106).

Homosisteinin sülfidril grubunun otooksidasyonu ile açığa çıkan serbest radikallere bağlı gelişen oksidatif stresin, direkt olarak endotel hücrelerine zarar verdiği rapor edilmiştir (107). Metiyonin verilerek hiperhomosisteinemi oluşturulan insanlarda, endotelial disfonksiyonun belirteci olan bozulmuş akım aracılı ve asetilkolin aracılı vazodilatasyonun, antioksidan madde (askorbik asit) verilmesi ile normale dönmesi bu ilişkiyi kanıtlamaktadır (108).



Şekil 1. Homosistein Metabolizması

Hem in vivo çalışmalarda hem de hayvan ve insan çalışmalarda hiperhomosisteineminin vasküler endotelde disfonksiyon yaparak, endotel bağımlı vazodilatasyon kaybına yol açtığı ve endotel bağımlı antitrombotik özellikleri engellediği ve vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (78,80,105-111). Hiperhomosisteinemide görülen belirgin trombosit kümelenmesi, homosisteinin direkt proagregatör etkisine veya endotel bağımlı trombosit inhibisyonunun bozulmasına sekonder gelişebilir (109). Yapılan çalışmalar, normal antitrombotik özellikteki endotelin protrombotik fenotipe dönüştüğünü ve faktör V, faktör VIIa ve faktör XII aktivitesinin arttığını, protein C ve antitrombinin inhibe olduğunu, trombomodülün ekspresyonunun azaldığını, doku faktör ekspresyonunun indüklendiğini, heparin sülfat ekspresyonunun azaldığını ortaya koymuştur (110,111).

2.1.2.4. Folik Asit ve Vitamin B12

Gebelikte demir eksikliği anemisinin en yaygın görülen nutrisyonel anemi tipi megaloblastik anemidir. Çoğunlukla folik asit eksikliğine, nadiren de vitamin B12 eksikliğine bağlı gelişir (112). Maternal eritropoez ve fetusun büyümesi nedeniyle normal gebelikte folik asit ihtiyacı 100-150 µg/gün'den, 200-450 µg/gün'e çıkar. Folik asit, aktif transport ile plasentadan fetusa geçer (113). Folik asit, birçok besinde özellikle yeşil yapraklı sebzelerde bulunmaktadır. Proksimal jejunumdan emilir, aktif transport ile hücre içine alınır ve enterohepatik sirkülasyona katılır. Folik asitin aktif formu, monoglutamat formudur. Bu forma gelebilmesinde pankreas enzimleri rol oynar. Antikonvülzan ilaçlar, oral kontraseptifler, alkol ve sülfonamid grubu ilaçlar, pankreas enzimlerinin sağladığı bu reaksiyonun hızını azaltır. Bu gibi ilaçların kullanımında, çoğul gebelik ve hemolitik anemi gibi folik asit ihtiyacının arttığı durumlarda veya diyetle yetersiz folik asit alındığında, folik asit eksikliği ortaya çıkabilmektedir (114).

Folik asit, homosistein metabolizmasında çok önemli bir yere sahip olup, homosisteinin metiyonine dönüşümünde vitamin B12 ile birlikte remetilasyon basamağında görev almaktadır. Folik asit ve vitamin B12 eksikliğinde ise homosistein düzeylerinin yükselmesi neticesinde vasküler patolojiler ve son yıllarda önemle üzerinde durulan doğumsal nörolojik bozukluklar (nöral tüp defekti) meydana gelmektedir (115). 400 µg/gün folik asit alınması ile nöral tüp defekti görülme oranının azaltıldığı gösterilmiştir. Bir önceki gebelikte nöral tüp defekti varsa, planlanan gebelikten 1 ay önce 4 mg/gün folik asit başlanması ve gebeliğin 3 ayı boyunca verilmesi gerektiği bildirilmiştir (116). Gebelikte folik asit eksikliğine bağlı anemi tedavisinde oral folik asit 1 mg/gün verilmektedir. Düşük serum folik asit düzeyleri olan gebelerde artmış erken spontan abortus riski saptanmıştır (117).

B12 vitamini hayvansal proteinlerin çoğunda vardır. Genellikle vücutta 2-3 yıl yetecek kadar depo vardır. İntrensek faktör olmadan absorbe edilemez. B12 vitamin eksikliğinin nedenleri arasında, pernisiyöz anemi, gastrektomi, malabsorbsiyon sendromu ve hayvansal proteinden yetersiz beslenme yer almaktadır. Anemi semptomlarına ek olarak arka spinal kolon hasarına bağlı nörolojik bulgular da vitamin B12 eksikliğinde görülmektedir. Tedavide 1000 µg/gün vitamin B12 6 hafta süreyle parenteral olarak verilmekte ve takiben idame tedavisine geçilmektedir (118). Daha önce folik asit ve vitamin B12'ye atfedilen bazı gelişimsel anomalilerin temelinde bizzat homosisteinin rol aldığı düşünülmektedir.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Hasta Seçimi

Tek merkezli, vaka kontrol niteliğindeki çalışmamıza, Mayıs 2007-Nisan 2008 tarihleri arasında, Gaziantep Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalına başvuran ve doğumu yaptırılan sağlıklı, medikal problemi olmayan 26 gebe, hafif preeklampsili 26 gebe ve şiddetli preeklampsili 26 gebe dahil edilmiştir. Çalışmamız için Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulundan onay alınmıştır (05.03.2008 tarihli 03-2008/34 nolu karar).

Preeklampsi tanısı en az 6 saat arayla yapılan iki ölçümde, sistolik kan basıncının ≥ 140 mm/Hg veya diastolik kan basıncının ≥ 90 mm/Hg olması ve 24 saatlik idrarda 300 mg ve üzerinde proteinüri veya en az 6 saat aralıklarla alınan iki idrar örneğinde dipstik testinde en az 1+ proteinüri varlığı ile konulmuştur (15). Şiddetli preeklampsi tanısı, en az 6 saat arayla yapılan 2 ölçümde sistolik kan basıncının ≥ 160 mmHg veya diastolik kan basıncının ≥ 110 mmHg olması ve 24 saatlik idrarda 5 gram ve üzerinde proteinüri veya en az 6 saat aralıklarla alınan iki idrar örneğinde dipstik testinde en az 3+ proteinüri olması ve baş ağrısı, görsel rahatsızlık, epigastrik veya sağ üst kadranda ağrısı, pulmoner ödem, oligüri (< 500 ml/24 saat), trombositopeni ve karaciğer enzimlerinde yükselme gibi bulguların bir veya daha fazlasının mevcudiyeti ile konuldu (15).

Çalışmamıza 19-40 yaş arası demir preparatı dışında ilaç kullanım hikayesi olmayan gebeler dahil edildi. Kronik hastalığı (kronik hipertansiyon, diabetes mellitus, kollagen doku hastalığı, kronik böbrek yetmezliği v.s) olan, sigara-alkol kullanan, multivitamin (folik asit, B12) takviye edilen, son zamanlarda geçirilmiş enfeksiyon kanıtı olan gebeler ve çoğul gebeler çalışma dışı bırakıldı. Çalışmamıza dahil edilen tüm gebeler endikasyonlarına göre sezaryen ya da normal vaginal yol ile doğurtuldu.

3.2. Materyallerin Toplanması

Çalışmaya dahil edilen tüm gebelerden, doğumun hemen öncesinde, en az 6 saatlik açlık sonrası, venöz kan örneği alındı. Normal vajinal doğum eylemi ve sezaryen sırasında, fetusun doğumunu takiben, umbilikal kord klemplendikten sonra, plasental taraftan umbilikal kord kanı

ve çıkarılan plasentadan 4 gram tam kat plasenta örneği alındı. Herhangi bir materyal içermeyen düz biyokimya tüplerine konulan maternal ve fetal kanlar, en geç bir saat içinde, santrifüje (5000g, 10 dakika) edildi. Santrifüj sonrası ayrılan serumlar ependorf tüplerine konularak analiz edilene kadar -80 derecede saklandı. Alınan plasenta örnekleri, anne kanı kontaminasyonunu engellemek için serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra, alüminyum folyaya sarılarak analiz gününe kadar -80 derecede saklandı. Analiz günü, plasentadan koparılan en az 1.5 g'lık parçalar 10 ml'lik düz tüplere konulup üzerine 0.7 ml fosfat tamponu eklenerek, Heidolph DiAx 900 homojenizatörü ile 10.000 devir/dakikada homojenize edildi. Homojenize edildikten sonra ependorf tüplerine konulup analiz edildi.

3.3. Homosistein Düzeylerinin Belirlenmesi

Homosistein seviyeleri, kemilüminesans immünoassay (ICL) yöntemi ile ölçülmüştür. Ölçüm yönteminin temeli, teste özgü antikor ile kaplı boncuk içeren test ünitesi, tüm işlemlerin gerçekleştirildiği reaksiyon kabıdır. Test ünitesinin yüksek devirde santrifüjlenmesi ile sıvı orta bölümdeki toplama yerine atılmaktadır. Tüp dizaynı peş peşe yıkama işlemine olanak sağlayarak, yüksek hassasiyet için, bağlanmamış materyalin tamamen uzaklaştırılmasını sağlar. Bu amaçla Immulite one otoanalizörü ve kitleleri (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, ABD) kullanılmıştır. Kitler, kalibratör ve kontroller ISO 8601 güvencesiyle üretilmiştir.

3.3.1. Kemilüminesans Teknoloji (Patentli Yıkama Teknolojisi)

Immülite® sistemlerinin kalbi test ünitesidir. Teste özgü antikor ile kaplı boncuk içeren test ünitesi, tüm işlemlerin gerçekleştirildiği reaksiyon kabıdır. Test ünitesinin yüksek devirde santrifüjlenmesi ile sıvı orta bölümdeki toplama yerine atılır. Tüp dizaynı peş peşe yıkama işlemine olanak sağlayarak yüksek hassasiyet için bağlanmamış materyalin tamamen uzaklaştırılmasını sağlar.

Örnek ve reaktif test ünitesine otomatik olarak pipetlendikten sonra 37°C sürekli çalkalama işlemi ile inkübe edilir. İnkübasyondan sonra test ünitesi yüksek hızda santrifüjlenir. Peş peşe yıkama ile bağlanmamış olan tüm materyal test ünitesinden uzaklaştırılır. Reaksiyon sıvısı yukarı doğru itilerek atık yerinde toplanır. Test ünitesine substrat eklenir. Yüksek hassasiyetteki foton sayacı ile ışığa okunur. Immulite cihazının enzim ile arttırılan kemilüminesansı sayesinde, tek bir ışığa yerine her bağlanma ile binlerce sürekli ışığa meydana gelir. Böylelikle doğru ölçümün olması için birçok okuma yapılabilmesi sağlanır. Otomatik filtreleme özelliği sayesinde lüminometre okuma aralığı 100 kat arttırılabilir.

Homosistein ölçümü için lot numarası LKH010108 olan kitler kullanılmıştır. Kit kataloğuna göre testin referans aralığı, 5.0-12 $\mu\text{mol/l}$ olarak verilmiştir ancak her laboratuvarın kendi referans aralığını tespit etmesi önerilmektedir. Ayrıca testin 50 $\mu\text{mol/L}$ 'ye kadar lineer ölçüm yapabildiği belirtilmektedir. Kontrol materyali olarak katalog numarası CCCM ve lotu 0006 olan iki seviyeli Cardiac Marker Control Module kullanılmıştır. Bunlardan düşük seviyeli olan CCC10006'nın ortalama değeri 7.1, standart sapması 0.8, yüksek seviyeli olan CCC20006'nın ortalama değeri 15.8, standart sapması 1.4 $\mu\text{mol/l}$ olarak verilmiştir. Bizim laboratuvarımızda bulduğumuz sonuçlar ise, sırasıyla, 7.2 ve 15.6 $\mu\text{mol/l}$ olup beklenen değerlere oldukça yakındır. Homosistein kalibratörü olarak lot numarası LHOL ve LHOH 0104 olan iki seviyeli kalibratörler kullanılmıştır.

3.4. Vitamin B12 ve Folik Asit Düzeylerinin Belirlenmesi

Vitamin B12 ve Folik asit seviyeleri kemiluminesans immünoassay (ICL) yöntemiyle ölçülmüştür. Bu amaçla Immulite 2500 otoanalizörü ve kitleri (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, ABD) kullanılmıştır. Referans aralıkları vitamin B12 için 193–982 pg/ml, folik asit için 3-17 ng/ml olarak belirlenmiştir.

3.5. İstatistiksel Analiz

Bulduğumuz veriler SPSS 14.0 istatistik programında değerlendirilmeye tabi tutuldu. Gruplar arası karşılaştırmada, gruplardaki denek sayıları parametrik test sayılarını yerine getirmediğinden nonparametrik test olan Kruskal Wallis testi yapıldı. Aynı veriler parametrik test ile yenilenip aynı sonuçlar bulundu. Bunun için de Annova ve Tukey testi uygulandı. Ayrıca bütün grupların ortalama ve standart sapma değerleri hesaplandı.

4. BULGULAR

Olgular yaşlara göre incelendiğinde, şiddetli preeklampsi grubunun yaş ortalaması 30.27 ± 5.20 , hafif preeklampsi grubunun yaş ortalaması 29.65 ± 4.72 ve kontrol grubunun yaş ortalaması 29.38 ± 3.49 olarak bulundu. Gruplar arasında yaş ortalamaları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$) (Tablo 3).

Olguların doğum sırasındaki gebelik haftası değerlendirildiğinde, ortalama gebelik haftası şiddetli preeklampsi grubunda 32.46 ± 3.94 hafta, hafif preeklampsi grubunda 35.08 ± 2.08 hafta ve kontrol grubunda 37.46 ± 1.14 hafta olarak bulundu. Şiddetli preeklampsi grubunun gebelik haftası ortalaması, hafif preeklampsi grubuna ve kontrol grubuna göre daha düşük bulundu ($p < 0.05$). Aynı zamanda, hafif preeklampsi grubunun gebelik haftası ortalaması, kontrol grubuna göre daha düşük bulundu ($p < 0.05$) (Tablo 3).

Olgular doğum ağırlıklarına göre incelendiğinde, ortalama doğum ağırlığı şiddetli preeklampsi grubunda 1906.54 ± 845.05 gr, hafif preeklampsi grubunda 2732.69 ± 450.54 gr, kontrol grubunda 3226.92 ± 310.56 gr olarak bulundu. Şiddetli preeklampsi grubunda ortalama doğum ağırlığı, hafif preeklampsi ve kontrol grubuna göre düşük bulundu ($p < 0.05$). Hafif preeklampsi grubunun ortalama doğum ağırlığı, kontrol grubuna göre daha düşük bulundu ($p < 0.05$) (Tablo 3).

Olgular vücut kitle indeksine (VKI) göre değerlendirildiğinde, ortalama VKI şiddetli preeklampsi grubunda 28.0 ± 2.5 kg/m², hafif preeklampsi grubunda 28.1 ± 2.0 kg/m² ve kontrol grubunda 28.2 ± 2.2 kg/m² olarak bulundu. Gruplar arasında ortalama VKI bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$) (Tablo 3).

Maternal serum homosistein düzeyleri ölçüldüğünde, ortalama maternal serum homosistein düzeyleri şiddetli preeklampsi grubunda 6.99 ± 1.54 µmol/l, hafif preeklampsi grubunda 5.43 ± 0.97 µmol/l, kontrol grubunda 5.78 ± 2.03 µmol/l olarak bulundu. Şiddetli preeklampsi grubunda maternal serum homosistein düzeyinin, hafif preeklampsi ve kontrol grubuna göre yüksek olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.05$). Hafif preeklampsi grubu ile kontrol grubu arasında maternal serum homosistein seviyeleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo 4) (Şekil 2).

Tablo 3. Olguların Demografik Özellikleri

	Hafif Preeklampsi n=26	Şiddetli Preeklampsi n=26	Kontrol n=26	p Değeri	p Değeri	p Değeri
	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Hafif-Şiddetli	Hafif - kontrol	Şiddetli-kontrol
Yaş (yıl)	29.65±4.72	30.27±5.20	29.38±3.49	P>0.05	P>0,05	P>0.05
Bebek Doğum Ağırlığı (gr)	2732.69±450.54	1906.54±845.05	3226.92±310.56	P<0.05	P<0.05	P<0.05
Doğum Sırasındaki Gebelik Haftası	35.08±2.08	32.46±3.94	37.46±1.14	P<0.05	P<0.05	P<0.05
Vücut Kitle İndeksi(kg/m ²)	28.1±2.0	28.0±2.5	28.1±2.2	P>0.05	P>0.05	P>0.05

Fetal serum homosistein düzeyleri ölçüldüğünde, ortalama fetal serum homosistein düzeyi şiddetli preeklampatik grupta 8.16 ± 3.31 $\mu\text{mol/l}$, hafif preeklampatik grupta 5.56 ± 1.05 $\mu\text{mol/l}$ ve kontrol grubunda 5.12 ± 1.55 $\mu\text{mol/l}$ olarak bulundu. Şiddetli preeklampatik grupta fetal serum homosistein düzeyinin, hafif preeklampatik gruba ve kontrol grubuna göre yüksek olması istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$). Hafif preeklampatik grupla kontrol grubu arasında, fetal serum homosistein düzeyleri bakımından istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo 5) (Şekil 2).

Tablo 4. Maternal Serum Homosistein, Folik Asit ve Vitamin B12 Düzeyleri

Maternal Serum	Şiddetli Preeklampsi n=26	Hafif Preeklampsi n=26	Kontrol n=26	p Değeri	p Değeri	p Değeri
	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Şiddetli-Hafif	Şiddetli - kontrol	Hafif-kontrol
Homosistein ($\mu\text{mol/l}$)	6.99±1.54	5.43±0.97	5.78±2.03	0.002	0.019	0.705
Folik asit (ng/ml)	11.29±5.55	9.77±3.27	10.76±5.68	0.52	0.92	0.75
Vitamin B12(pg/ml)	253.77±89.09	241.16±52.50	278.88±86.76	0.83	0.48	0.2

Maternal serum folik asit ve vitamin B12 düzeyleri ölçüldüğünde, maternal serum ortalama folik asit ve vitamin B12 düzeyleri şiddetli preeklampatik grupta sırasıyla; 11.29 ± 5.55 ng/ml ve 253.77 ± 89.09 pg/ml, hafif preeklampatik grupta sırasıyla; 9.77 ± 3.27 ng/ml ve 241.16 ± 52.50 pg/ml ve kontrol grubunda sırasıyla; 10.76 ± 5.68 ng/ml ve 278.88 ± 86.76 pg/ml olarak bulundu.

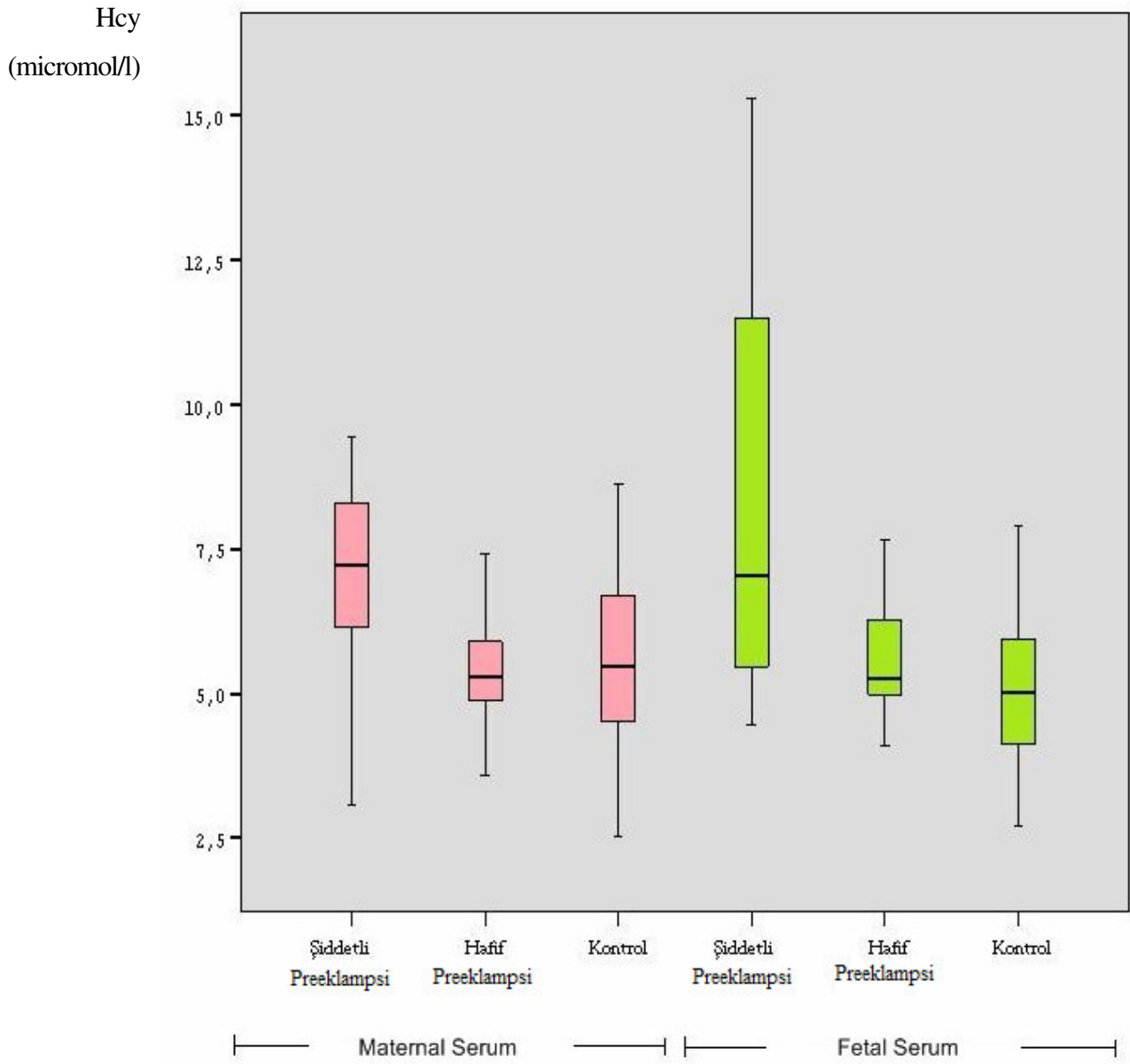
Tüm gruplar arasında maternal serum folik asit ve vitamin B12 düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 4).

Tablo 5. Fetal Serum Homosistein, Folik Asit ve Vitamin B12 Düzeyleri

Fetal Serum	Şiddetli Preeklampsi n=26	Hafif Preeklampsi n=26	Kontrol n=26	p Değeri	p Değeri	p Değeri
	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Ortalama±SS	Şiddetli-Hafif	Şiddetli - kontrol	Hafif-kontrol
Homosistein ($\mu\text{mol/l}$)	8.16±3.31	5.56±1.05	5.12±1.55	0.000	0.000	0.758
Folik asit (ng/ml)	21.43±5.35	22.24±4.53	22.22±4.20	0.81	0.82	1.00
Vitamin B12(pg/ml)	264.04±26.44	274.85±46.23	294.77±79.10	0.76	0.12	0.40

Fetal serum folik asit ve vitamin B12 düzeyleri ölçüldüğünde, fetal serum ortalama folik asit ve vitamin B12 düzeyleri şiddetli preeklampşik grupta sırasıyla; 21.43±5.35 ng/ml ve 264.04±26.44 pg/ml, hafif preeklampşik grupta sırasıyla; 22.24±4.53 ng/ml ve 274.85±46.23 pg/ml, kontrol grubunda sırasıyla; 22.22±4.20 ng/ml ve 294.77±79.10 pg/ml bulundu. Tüm gruplar arasında fetal serum folik asit bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 5).

Tüm gruplarda plasental doku örneği homojenatlarında homosistein düzeyi $<2 \mu\text{mol/l}$ olarak ölçüldü.



Şekil 2. Şiddetli preeklampitik, hafif preeklampitik ve kontrol gruplarında maternal ve fetal serum homosistein düzeyleri.

5. TARTIŞMA

Homosistein plazma seviyesinin yüksekliği, ateroskleroz ve tromboz gibi vaskuler hastalıklar için risk faktörü olarak gösterilmiştir ve preeklampsi etyolojisindeki rolü sorgulanmaktadır (5). Hiperhomosisteinemi, aynı zamanda, plasenta dekolmanı, plasental infarkt, intrauterin gelişme geriliği, tekrarlayan düşükler ve nöral tüp defekti ile ilişkili bulunmuştur (6). Hiperhomosisteinemi etyolojisinde, homosistein metabolik siklusundaki enzimlerin genetik metabolik defektlere (en yaygın görüleni MTHFR geni C677T polimorfizmi) bağlı aktivitelerinin azalması ve bu siklusun kofaktörleri olan folik asit, B12 ve B6 vitaminlerinin eksiklikleri suçlanmaktadır (94,101).

Preeklampsi, dünya çapında maternal ve perinatal mortalite ve morbiditenin önemli bir nedenidir ve tüm gebeliklerin yaklaşık %5-8'ini etkiler (15). Patofizyolojisi tam olarak açıklanamamakta olup, çok sayıda teori ileri sürülmektedir (4). Son zamanlarda, endotelial disfonksiyon en popüler hipotez olup, metiyoninin metaboliti olan homosisteinin, oksidatif stres ve endotelial disfonksiyona neden olarak preeklampsi ile ilişkili değişikliklerden sorumlu olduğu kabul edilmektedir (8). Ayrıca homosistein, NO sentezini ve fonksiyonunu etkileyerek endotel bağımlı vazorelaksasyon cevabını bozmakta ve endotelin antikoagülasyon-prokoagulan düzenleyici fonksiyonlarını etkilemektedir (77,78,80,105,109-111). Artmış plazma homosistein seviyelerinin, hücrel metilasyon potansiyelini düşürüp DNA hipometilasyonuna neden olarak ve homosisteinin oksidasyonu sırasında ortaya çıkan serbest radikallerin DNA hasarı yaparak vasküler endotelial patolojilere yol açabileceği ileri sürülmektedir (104).

Normal bir gebelikte homosistein konsantrasyonları, gebe olmayan kadınlara göre düşük seyretmektedir. Normal gebelik sürecinde homosistein düzeyleri, gebeliğin 1. trimestrinde düşmeye başlar, minimum seviyesine 2. trimesterde ulaşır ve gebeliğin sonuna doğru az miktarda artarak 1. trimestir seviyesine döner (102). Gebelik sırasında homosistein düzeyinin düşmesinin nedenini açıklamak için değişik girişimlerde bulunulmuştur. Gebelikte homosistein düzeyinin düşmesini, Refsum ve ark. (119); gebelikte albüminin plazma seviyesinin düşmesine, Chesley ve ark. (120); gebelikte vitamin B12 ve folat plazma seviyesinin düşmesine, Obsweger ve ark. (121); fizyolojik gebelik hemodilüsyonuna, Finkelstein ve ark. (122), Kim ve ark. (123);

gebelikte östrojen ve kortizole bağlı karaciğer ve böbrek enzim aktivasyonuna, Malinov ve ark. (124); fetus tarafından maternal homosisteinin kullanımına bağlı olduğunu savunmuşlardır. Malinov ve ark. (124), venöz kord kanında homosistein düzeylerini arteryel kord kanına göre yüksek bularak, maternal orjinli homosisteinin fetus tarafından tüketildiğini göstermişlerdir.

Biz bu çalışmayı, preeklampsi ve preeklampsinin şiddeti ile homosistein düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırmak amaçlı yaptık. Çalışmamıza katılan tüm gebeler 3. trimesterde olup, doğumları kliniğimizde yaptırıldı. Çalışmamızda preeklampitik gebeler hafif ve şiddetli olmak üzere iki alt gruba ayrılarak incelendi. Şiddetli preeklampsi grubundaki (n=26), hafif preeklampsi grubundaki (n=26) ve kontrol grubundaki (n=26) tüm gebelerin yaşları ve vücut kitle indeksleri benzerdi ($p>0.05$). Doğum sırasındaki ortalama gebelik haftası ve bebek doğum ağırlığı, şiddetli preeklampitik gebe grubunda hafif preeklampitik gebe ve kontrol grubuna göre düşüktü ($p<0.05$). Aynı şekilde, hafif preeklampitik grubun doğum sırasındaki ortalama gebelik haftası ve bebek doğum ağırlığı da kontrol grubuna göre düşüktü ($p<0.05$). Bunun nedenini, preeklampitik hastalarda artmış maternal mortalite ve morbidite riski nedeniyle, gebeliğin termden önce sonlandırılmak zorunda kalınmasına bağladık.

Bu çalışmada, şiddetli preeklampitik ve hafif preeklampitik gebelerden oluşan iki grubu, birbirleriyle ve sağlıklı gebelerden oluşan kontrol grubuyla maternal-fetal plazma ve plasental doku örneğinde homosistein konsantrasyonları bakımından karşılaştırdık. Preeklampsi ve hiperhomosisteineminin folik asit ve B12 eksikliği ile ilişkisini araştırmak için, tüm gruplarda, maternal-fetal serumlarda folik asit ve vitamin B12 düzeylerini karşılaştırdık. Sonuç olarak, şiddetli preeklampitik grupta maternal ve fetal plazma homosistein konsantrasyonlarını, hafif preeklampitik gruba ve kontrol grubuna göre yüksek bulduk ($p<0.05$). Hafif preeklampitik grup ve kontrol grubu arasında maternal ve fetal homosistein konsantrasyonları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmadık ($p>0.05$). Tüm gruplar arasında, maternal ve fetal folik asit ve vitamin B12 düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Bu çalışmamızda, tüm gruplarda plasental doku örneği homojenatlarında homosistein konsantrasyonlarını oldukça düşük bulduk ($<2\mu\text{mol/l}$).

Bu çalışmada, çalışma grubundaki preeklampitik gebeler, hastalığın tanısı konulduktan sonra serum homosistein düzeyi için araştırıldı. Bu nedenle gebeliğin erken dönemlerindeki homosistein düzeyleri hakkında bilgimiz olmadı. Bazı çalışmalarda, gebeliğin erken dönemlerinde asemptomatik olan gebelerde ölçülen plazma homosistein seviyelerinin, sonradan gelişen preeklampsi için prediktif olup olmadığı araştırıldı (125-130). Preeklampside saptanan

yüksek homosistein konsantrasyonlarının, preeklampsinin nedeni mi yoksa bu hastalığa bağlı gelişen metabolik değişikliklerin sonucu mu olduğu açıklık kazanmamıştır. Preeklampsinin nedeni ise, gebeliğin erken dönemlerinde plazma homosistein konsantrasyonları yüksek bulunmalı ve dolayısıyla preeklampsinin gelişeceği erken dönemde tahmin edilebilmelidir. Hietala ve arkadaşları (125), preeklampsi gelişen gebeler ile gebelik boyunca normotansif olan gebelerin 16. gebelik haftalarındaki plazma homosistein konsantrasyonlarını karşılaştırıp, iki grup arasında fark olmadığını buldular. (6.99'a karşı 6.91 $\mu\text{mol/l}$, $p=0.83$). Sonuç olarak, 2. trimester homosistein ölçümünün preeklampsi için tarama testi olarak kullanılmayacağını gösterdiler. Benzer şekilde, Anna ve arkadaşları (126), preeklampsi gelişen 27 gebe ve intrauterin gelişme geriliği (IUGR) gelişen 36 gebe ile gebeliği boyunca sağlık problemi olmayan 63 gebenin (kontrol grubu), erken ikinci trimester homosistein düzeylerini karşılaştırdılar. Bu gruplar arasında, erken 2. trimester plazma homosistein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmadılar. Fakat doğum sırasında ölçülen plazma homosistein seviyesini, preeklampsi grubunda, kontrol grubuna göre yüksek buldular. Sonuç olarak, erken gebelikte ölçülen plazma homosistein düzeyinin, sonradan gelişen preeklampsi ve IUGR için prediktif değeri olmadığı yorumunu yaptılar. Cotter ve ark. (130), hafif preeklampsi gelişen 71 gebe ile gebeliği boyunca normotansif olan 142 gebeyi, 16 ± 3 gebelik haftası plazma homosistein konsantrasyonları bakımından karşılaştırdılar. Cotter ve arkadaşları, yukarıda bahsedilen iki çalışmadan farklı olarak, preeklampsi grubunda, kontrol grubuna göre erken gebelik plazma homosistein düzeylerini yüksek buldular (8.4 ± 2.4 'e karşı 7.07 ± 1.5 $\mu\text{mol/l}$, $p<0.0001$). Sonuç olarak, erken gebelikte artmış plazma homosistein düzeyinin hafif preeklampsi gelişim riskini 4 kat arttırdığını gösterdiler.

Bizim çalışmamızda, preeklampsi hastalar şiddetli ve hafif olarak iki grupta değerlendirildi. Şiddetli preeklampsi grubunda maternal ve fetal serum homosistein düzeyleri, hafif preeklampsi ve kontrol grubuna göre yüksek bulundu ($p<0.05$). Hafif preeklampsi grubu ve kontrol grubu arasında homosistein düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$). Tüm gruplar arasında folik asit, vitamin B12 düzeyleri bakımından fark yoktu ($p>0.05$). Birçok çalışma, hiperhomosisteinemi ile preeklampsi arasındaki ilişkiyi, preeklampsinin hafif veya şiddetli formda olduğuna bakılmaksızın desteklemektedir. Lopez Quesada ve arkadaşları (131), preeklampsi hastalarda plazma homosistein konsantrasyonlarını, kontrol grubuna göre yüksek buldular. Hiperhomosisteinemi olan gebelerde, preeklampsi riskinin 7.7 kat arttığı sonucuna vardılar. İlginç olarak, preeklampsi hasta grubunda folik asit

seviyesini kontrol grubuna göre daha yüksek buldular. Makedos ve arkadaşları (132), 28 preeklampitik gebe ile aynı gestasyonel yaştaki 26 sağlıklı gebeden alınan serumlarda homosistein, folik asit ve vitamin B12 düzeylerini karşılaştırdılar. Sonuç olarak, preeklampitik grupta homosistein düzeyini, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek buldular (11.1'e karşı 6.40 mikromol/l, $p<0.001$). Her iki grup arasında folik asit ve vitamin B12 düzeylerinde fark bulmadılar. Başka bir çalışmada, Powers ve arkadaşları (8), preeklampitik grupta homosistein seviyelerini, kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek buldular (9.0'a karşı 7.0 mikromol/l, $p<0.04$). Yine aynı çalışmada, preeklampitik hastalarda endotelial disfonksiyon belirteci olan fibronektin düzeyini yüksek bulup, hiperhomosisteineminin endotelial disfonksiyonda rol oynadığı görüşünü desteklediler. Var ve arkadaşları (133), preeklampitik grupta, kontrol grubuna göre homosistein düzeyini yüksek, NO düzeyini düşük bularak, homosistein ile endotelial disfonksiyon ilişkisini gösterdiler. Rajkoviç ve arkadaşları (134), benzer şekilde, preeklampsi ile plazma homosistein yüksekliği arasındaki ilişkiyi onayladılar, fakat folik asit ve vitamin B12 konsantrasyonları bakımından fark bulmadılar. Bu çalışmalar, preeklampsi şiddetine bakılmaksızın, preeklampsi hastalarında maternal plazma homosistein konsantrasyonlarının, sağlıklı gebelerden oluşan kontrol grubuna göre, yüksek olduğunu göstermektedir.

Birkaç çalışmada, bizim çalışmamızda da olduğu gibi, hem maternal hem de fetal serumda homosistein konsantrasyonları değerlendirildi (6,135,136). Braekke ve arkadaşları (135), homosistein ve ilişkili metabolitlerinin (sistein, kolin ve betain) maternal ve fetal plazma konsantrasyonlarını araştırmak için, 47 preeklampitik ve 51 sağlıklı gebeden oluşan çalışma yaptılar. Bu çalışmanın sonucunda, preeklampitik grupta homosistein ve ilişkili metabolitlerinin ortalama konsantrasyonunu, kontrol grubuna göre, anlamlı ölçüde yüksek buldular. Her iki grup arasında hem maternal hem fetal serumda folik asit ve B12 konsantrasyonları açısından fark bulmadılar. Başka bir çalışmada, Napolitano ve arkadaşları (136), preeklampitik gebelerde umbilikal kord ve maternal plazma homosistein konsantrasyonlarını, kontrol grubuna göre yüksek buldular. Bizim çalışmamızda da, hem maternal hem de fetal serumda homosistein, folik asit, B12 vitamin seviyelerini değerlendirdik. Bizim çalışmamızda, yukarıda bahsedilen çalışmalardan farklı olarak, preeklampsiyi şiddetli ve hafif olmak üzere iki grupta inceledik ve maternal-fetal serum homosistein konsantrasyonlarını, şiddetli preeklampitik grupta, hafif preeklampsi ve kontrol grubuna göre yüksek bulduk. Hafif ile şiddetli preeklampitik grup

arasında homosistein düzeyleri bakımından fark bulmadık. Tüm gruplarda maternal-fetal serum folik asit ve vitamin B12 seviyeleri bakımından istatistiksel anlamlı bir fark yoktu.

Bizim çalışmamıza benzer şekilde, preeklampsisi şiddeti ile plazma homosistein düzeyleri arasında ilişkinin olup olmadığını araştırmak için çalışmalar yapılmıştır. İnceç ve arkadaşları (137), 32 hafif preeklampitik, 25 şiddetli preeklampitik, 16 eklampitik gebeden oluşan hasta grubu ile normotansif gebelerden oluşan kontrol grubunu plazma homosistein konsantrasyonları bakımından karşılaştırdı. Şiddetli preeklampitik ve eklampitik gebelerde homosistein düzeylerini (16.7 ± 10.1 ve 16.5 ± 9.6 $\mu\text{mol/l}$), hafif preeklampitik ve kontrol grubu gebelere (7.7 ± 2.4 ve 6.7 ± 1.6 $\mu\text{mol/l}$) göre yüksek buldular ($p < 0.001$). Hafif preeklampitik gebeler ile kontrol grubundaki gebeler arasında, plazma homosistein düzeyleri bakımından, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulmadılar. Sonuç olarak, plazma homosistein konsantrasyonunun şiddetli preeklampitik ve eklampitik gebelerde arttığını, hafif preeklampside normal düzeyde olduğunu ileri sürdüler. Biz, İnceç ve arkadaşlarından farklı olarak, eklampitik gebeleri çalışma dışı bıraktık. Biz, bu çalışmadan farklı olarak hem maternal hem fetal plazmada, homosisteine ek olarak, folik asit ve vitamin B12 düzeylerini çalıştık. Mignini ve arkadaşları tarafından yapılan ve 25 makalenin gözden geçirildiği araştırmada (138), homosistein yüksekliği ile preeklampsisi arasındaki ilişki gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmada, veriler arasındaki uyumsuzluk nedeniyle, homosistein konsantrasyonları ve preeklampsisi şiddeti arasında bir ilişkinin olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu araştırmada, sadece 4 makalede preeklampsinin şiddetinden bahsedilmiş olup, bunlardan sadece 2'sinde hastalığın klinik başlangıcından sonra homosistein konsantrasyonları ölçülmüştür. Baksu ve arkadaşları (139), preeklampitik gebelerde homosistein konsantrasyonları ile maternal komplikasyonlar ve fetal sonuçlar arasındaki ilişkiyi araştırdılar. 25'i hafif ve 25'i şiddetli preeklampitik gebe olmak üzere 50 preeklampitik gebenin dahil edildiği çalışmada, gruplar arasında plazma homosistein konsantrasyonları bakımından fark bulunmadı (11.2 ± 2.1 'e karşı 11.6 ± 2.5 , $p = 0.31$). Yine aynı çalışmada, homosistein düzeyi >15 $\mu\text{mol/l}$ ($n=35$) olan grupta, neonatal ölüm, düşük doğum ağırlığı ve in utero ölüm oranı, homosistein düzeyi <15 $\mu\text{mol/l}$ ($n=15$) olan gruba göre daha yüksek bulundu ($p < 0.05$).

Folik asit ve vitamin B12, homosistein metabolizmasında önemli rol oynamaktadır. MTHFR geni 677CT mutasyonunun yol açtığı hiperhomosisteinemisinin, folik asit takviyesi ile düzeldiği gösterilmiştir (140). Leeda ve arkadaşları (141), preeklampsisi hikayesi olan 207 hastanın 35'inde hiperhomosisteinemi saptayıp, bu hastalara folik asit ve vitamin B12 takviyesi yaptıktan sonra metiyonin yükleme testinde düzelme olduğunu göstermişlerdir. Bu hastalardan

14'ünün tekrar gebe kalıp, bu gebelerin yarısında tekrar preeklampsi geliştiği, fakat sonuçlarının bir önceki hastalığına göre daha iyi olduğu gösterilmiştir. Yine başka bir çalışmada, maternal folik asit eksikliğinin preeklampsi, spontan abortus ve plasenta dekolmanı gibi plasenta ile ilişkili hastalıklar için risk faktörü olduğu ileri sürülmüştür (142). Normal gebelerde sadece perikonsepsiyonel değil gebelik boyunca folik asit kullanımının, homosistein düzeyini düşürdüğü ve doğum ağırlığını arttırdığı gösterilmiştir (15,143). Homosistein konsantrasyonlarını azaltmaya yönelik girişimlerin preeklampsi riskini ya da şiddetini azaltmakta etkili olup olmadığı bilinmemektedir. Kanada'da yapılan retrospektif çalışmada, folik asitle güçlendirilmiş diyetle beslenmenin preeklampsi insidansını düşürmediği gösterilmiştir (144). Bunun aksine, yapılan iki çalışmada, multivitamin kullanımının preeklampsi insidansını düşürdüğü gösterilmiştir (145,146). Preeklampside homosistein düzeyleri ile ilgili makalelerin sistematik olarak gözden geçirildiği araştırmada (138), preeklampitik gebelerde folik asit ve B12 konsantrasyonlarının, normotansif gebelere göre düşük olduğu gözlenmiş, fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (folik asit $p=0.75$; vitamin B12 $p=0.64$).

Bu çalışmada, aynı zamanda, plasental doku örneği homojenatlarında homosistein konsantrasyonlarını ölçtük. Tüm gruplarda plasental doku homosistein konsantrasyonlarını oldukça düşük bulduk ($<2 \mu\text{mol/l}$). Homosistein dokuya girince hızla metabolize olarak ölçülemeyecek kadar düşük konsantrasyonlara ulaştığı için, böyle bir sonuçla karşılaşmış olabiliriz. Yapılan bir hayvan deneyinde, ratların böbrek doku S-adenozil homosistein konsantrasyonu $0.7 \pm 0.05 \text{ nmol/g}$ olarak ölçülüp, renal arterden direkt homosistein infüzyonu ($690 \mu\text{g}/100\text{mg/h}$) sonrası bu değer $1.5 \pm 0.1 \text{ nmol/g}$ 'e yükseldiği gösterildi (147). Sonuç olarak, bizim çalışmamızdaki plazma homosistein düzeyleri çok yüksek olmadığı için, dokuya yansıyan homosistein konsantrasyonlarının ölçülemeyecek düzeylerde olabileceğini düşündük.

Sonuç olarak, şiddetli preeklampsili gebe grubunda maternal ve fetal serumda homosistein konsantrasyonlarını, hafif preeklampitik gruba ve kontrol grubuna göre yüksek bulduk ve bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlıydı. Hafif preeklampitik hasta grubu ile kontrol grubu arasında maternal ve fetal serum homosistein konsantrasyonları bakımından fark yoktu. Bu çalışma yüksek serum homosistein seviyelerinin, preeklampsi şiddeti ile ilişkili olduğunu gösterdi.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Maternal ve fetal serum homosistein, folik asit, vitamin B12 düzeyleri ve plasental doku homosistein düzeyleri ile preeklampsi şiddeti arasındaki ilişkiyi araştırdığımız çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar şunlardır:

- Çalışmamızda şiddetli preeklampatik grupta maternal serum homosistein düzeyleri, hafif preeklampatik gruba ve kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu.
- Hafif preeklampatik grup ile kontrol grubu arasında maternal serum homosistein düzeyleri bakımından fark yoktu.
- Şiddetli preeklampatik grupta fetal serum homosistein seviyeleri, hafif preeklampatik gruba ve kontrol grubuna göre yüksek bulundu.
- Hafif preeklampatik grup ile kontrol grubu arasında fetal serum homosistein seviyeleri bakımından fark yoktu.
- Şiddetli preeklampatik grup, hafif preeklampatik grup ve kontrol grubu arasında maternal serum folik asit ve vitamin B12 düzeyleri bakımından fark yoktu.
- Şiddetli preeklampatik grup, hafif preeklampatik grup ve kontrol grubu arasında fetal serum folik asit, vitamin B12 düzeyleri bakımından fark yoktu.
- Tüm gruplarda plasental doku homosistein seviyeleri çok düşük bulundu ($<2 \mu\text{mol/l}$). Bunun nedeni, homosisteinin dokuya girince hızla metabolize olarak ölçülemeyecek kadar düşük konsantrasyonlara inmesine bağlanabilir.

Çalışmamızın sonucunda, yüksek maternal ve fetal serum homosistein seviyelerinin preeklampsinin şiddeti ile ilişkili olduğunu bulduk. Hiperhomosisteineminin, endotelial disfonksiyona yol açarak preeklampsi patogenezinde rol oynadığı ileri sürülmektedir. Bizim çalışmamızda, hafif preeklampside homosistein düzeyi kontrol grubundan farksızdı. Bu sonuç, homosisteinin düşük konsantrasyonlarının minimal düzeyde endotelial disfonksiyona yol açtığını düşündürmektedir. Homosisteinin serum konsantrasyonları yükseldikçe, endotelial disfonksiyon progresyon göstererek hafif formdaki preeklampsinin şiddetli forma dönüşmesi muhtemeldir. Preeklampsinin şiddetinin belirlenmesinde serum homosistein yüksekliği yol

gösterici olabilir. Hiperhomosisteineminin şiddetli preeklampsi kriterleri içerisinde yer alabilmesi için, bizim çalışmamızı destekleyici daha çok sayıda ve geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç vardır. Biz tüm gruplarda serum folik asit, vitamin B12 düzeyleri arasında fark bulmadık. Hiperhomosisteinemi etyolojisinde, homosistein metabolizmasının kofaktörleri olan folik asit ve B12 vitaminlerinin eksiklikleri suçlanmaktadır. Serum folik asit düzeyi normal olmasına rağmen, dokularda folik asit eksikliği olabilir. Bazı çalışmalarda gösterildiği gibi sadece perikonsepsiyonel değil, gebelik boyunca folik asit takviyesi homosistein seviyelerini düşürmektedir. Sonuç olarak, folik asit suplementasyonu gibi homosistein düzeylerini düşürücü tedaviler yoluyla şiddetli preeklampsi gelişimi önlenerek, maternal mortalite ve morbidite insidansı azaltılabilir. Bizim çalışmamızda da bunu destekler şekilde, şiddetli preeklampşik gebelerde doğum ağırlığı ve doğum sırasındaki gestasyonel yaş ortalaması, hafif preeklampşik gruba ve kontrol grubuna göre daha düşüktür. Bu durum, neonatal mortalite ve morbidite riskinde artışla birliktelik göstermektedir. Gebelik boyunca folik asit suplementasyonu gibi homosistein düşürücü tedavilerle şiddetli preeklampsi gelişimi önlenerek, maternal sonuçlar izin verdiği ölçüde, doğum geciktirilebilir. Dolayısıyla, doğum sırasındaki gestasyonel yaş ve doğum ağırlığı viabilite sınırları içine çekilerek neonatal mortalite ve morbidite riski azaltılabilir.

7. KAYNAKLAR

1-Hauth JC, Ewell MG, Levine RL, Esterlitz JR, Sibai BM, Curet LB. Pregnancy outcomes in healthy nulliparas women who subsequently developed hypertension. *Obstet Gynecol.* 2000;95:24–8.

2-Hnat MD, Sibai BM, Caritis S, Hauth J, Lindheimer MD, MacPherson C. Perinatal outcome in women with recurrent preeclampsia compared with women who develop preeclampsia as nulliparas. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;186:422–6.

3-Sibai BM. Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2003;102:181-92.

4-Dekker GA, Sibai BM. Pathogenesis and etiology of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179:1359-75.

5-McCully KS. Homocysteine and vascular disease. *Nat Med.* 1996; 2: 386-9.

6-Wang J, Trudinger BJ, Duarte N, Wilcken DE, Wang XL. Elevated circulating homocysteine levels in placental vascular disease and associated pre-eclampsia. *BJOG.* 2000 Jul;107(7):935-8.

7-Raijmakers MT, Zusterzeel PL, Steegers EA, Peters W. Hyperhomocysteinaemia: A risk factor for preeclampsia? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2001;95:226-8.

8-Powers R, Evans R, Majors AK, Ojimba JI, Ness RB, Crombleholme WR. Plasma homocysteine concentration is increased in preeclampsia and is associated with evidence of endothelial activation. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179:1605–11.

9-Aubard Y, Darodes N, Cantaloube M. Hyperhomocysteinemia and pregnancy: review of our present understanding and therapeutic implications. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2000;93:157–65.

10-Cunningham FG, Leveno JK, Bloom LS, Hauth CJ, Gilstrap III CL, Wenstrom DK. Williams Obstetrics (22nd edition), Newyork, 2005;761-809.

11-Berg CJ, Chang J, Callaghan WM, Whitehead SJ. Pregnancy-related mortality in the United States 1991–1997. *Obstet Gynecol.* 2003;101:289-96.

12-National High Blood Pressure Education Program: Working Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183:51.

13- Barton JR, O'Brien JM, Bergauer NK, Jacques DL, Sibai BM. Mild gestational hypertension remote from term: progression and outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;184: 979-83.

14-Saudan P, Brown MA, Buddle ML, Jones M. Does gestational hypertension become pre-eclampsia? *Br J Obstet Gynaecol.* 1998;105(11):1177-84.

15-ACOG practice bulletin on diagnosing and managing preeclampsia and eclampsia. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Am Fam Physician.* 2002 Jul 15;66(2):330-1.

16-Moran P, Lindheimer MD, Davison JM. The renal response to preeclampsia. *Semin Nephrol.* 2004;24:588-95.

17-Meyer NL, Mercer BM, Friedman SA, Sibai BM. Urinary dipstick protein: A poor predictor of absent or severe proteinuria. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;170:137–41.

18-Buchbinder A, Sibai BM, Caritis S. Adverse perinatal outcomes are significantly higher in severe gestational hypertension than in mild preeclampsia. *AmJ Obstet Gynecol.* 2002;186:66-8.

19-Cunningham FG, Lindheimer MD. Hypertension in pregnancy. *N Engl J Med.* 1992; 326:927-32.

20-Saftlas AF, Olson DR, Franks AL, Atrash HK. Epidemiology of preeclampsia and eclampsia in the United States, 1979-1986. *Am J Obstet Gynecol.* 1990;163:460-5.

21-Sibai BM. Magnesium sulfate prophylaxis in preeclampsia: Lessons learned from recent trials. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;190:1520-6.

22-Sibai BM, Caritis S, Hauth J, Lindheimer MD, MacPherson C, Klebanoff M, et al. Hypertensive disorders in twin versus singleton gestations. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;182:938-2.

23-Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ.* 2005;330:549-50.

24-Van Rijn BB, Hoeks LB, Bots ML, Franx A, Bruinse HW. Outcomes of subsequent pregnancy after first pregnancy with early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;195:723-8.

25-Sibai BM, Mercer B, Sarinoglu C. Severe preeclampsia in the second trimester: Recurrence risk and long-term prognosis. *Am J Obstet Gynecol.* 1991;165:1408-12.

26-Campbell DM, MacGillivray I. Preeclampsia in second pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol.* 1985;92:131-40.

27-Xiong X, Fraser WD, Demianczuk NN. History of abortion, preterm, term birth, and risk of preeclampsia: A population-based study. *Am J Obstet Gynecol.* 2002;187:1013-8.

28-Karumanchi SA, Maynard SE, Stillman IE, Epstein FE, Sukhatme VP. Preeclampsia: a renal perspective. *Kidney Int.* 2005;67:2101-13.

29-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 this syndrome? *J Clin Invest.* 1997;99:2152-64.

30-Brosens LA. Morphological changes in the utero-placental bed in pregnancy hypertension. *Clin Obstet Gynaecol.* 1977;4:573-93.

31-Merviel P, Carbillon L, Challier JC, Rabreau M, Beaufils M, Uzan S. Pathophysiology of preeclampsia: links with implantation disorders. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004; 115:134-47.

32-Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M. A study of placental bed spiral arteries and

trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol.* 1994;101:669-74.

33-Frusca T, Morassi L, Pecorelli S, Grigolato P, Gastaldi A. Histological features of uteroplacental vessels in normal and hypertensive patients in relation to birthweight. *Br J Obstet Gynaecol.* 1989;96:835-9.

34-Meekins JW, Sibai BM. Ultrastructural aspects of preeclampsia in placental bed and uterine boundary vessels. *Am J Obstet Gynecol.* 1989;161:735-41.

35-Ilekis JV, Reddy UM, Roberts JM. Preeclampsia--a pressing problem: an executive summary of a National Institute of Child Health and Human Development workshop. *Reprod Sci.* 2007;14:508-23.

36-Dekker GA. Risk factors for preeclampsia. *Clin Obstet Gynecol.* 1999;42:422-35.

37-Salafia CM, Pezzullo JC, Ghidini A, Lopez-Zeno JA. Clinical correlations of patterns of placental pathology in preterm pre-eclampsia. *Placenta.* 1998;19:67-72.

38-Walker JJ. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2000;356:1260-5.

39- Wang X, Athayde N, Trudinger B. A proinflammatory cytokine response is present in the fetal placental vasculature in placental insufficiency. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189:1445-51.

40-Yinon Y, Nevo O, Xu J. Severe intrauterine growth restriction pregnancies have increased placental endoglin levels. Hypoxic regulation via transforming growth factor-3. *Am J Pathol.* 2008;172:77-85.

41-Rusterholz C, Hahn S, Holzgreve W. Role of placentally produced inflammatory and regulatory cytokines in pregnancy and the etiology of preeclampsia. *Semin Immunopathol.* 2007; 29:151-62.

42-Maynard S, Epstein FH, Karumanchi SA. Preeclampsia and angiogenic imbalance. *Annu Rev Med.* 2008;59:61-78.

43- Robillard PY, Hulsey TC, Perianin J. Association of pregnancy-induced hypertension with duration of sexual cohabitation before conception. *Lancet.* 1994; 344:973-5.

44-Einarsson JI, Sangi-Haghpeykar H, Gardner MO. Sperm exposure and development of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2003; 188:1241-3.

45-Smith G, Walker M, Tessier J, Millar K. Increased incidence of preeclampsia in women conceiving by intrauterine insemination with donor versus partner sperm for treatment of primary infertility. *Am J Obstet Gynecol.* 1997;177:455-51.

46-Gleicher N. Why much of the pathophysiology of preeclampsia-eclampsia must be of an autoimmune nature. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196:5-7.

47-Loke YW, King A. Immunology of implantation. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2000;14:827-37.

48-Hiby SE, Walker JJ, O'shaughnessy KM. Combinations of maternal KIR and fetal HLA-C genes influence the risk of preeclampsia and reproductive success. *J Exp Med.* 2004;200:957-65.

49-Huang SJ, Chen CP, Schatz F. Pre-eclampsia is associated with dendritic cell recruitment into the uterine decidua. *J Pathol.* 2008;214:328-36.

50-Granger JP, Alexander BT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of pregnancy-induced hypertension. *Am J Hypertens.* 2001;14:178-185.

51-AbdAlla S, Lothar H, el Massiery A, Quitterer U. Increased AT(1) receptor heterodimers in preeclampsia mediate enhanced angiotensin II responsiveness. *Nat Med.* 2001;7:1003-9.

52- Xia Y, Wen H, Bobst S. Maternal autoantibodies from preeclamptic patients activate angiotensin receptors on human trophoblast cells. *J Soc Gynecol Investig.* 2003;10:82-93.

53-Carr DB, Epplein M, Johnson CO. A sister's risk: family history as a predictor of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2005;193:965-72.

54- Mogren I, Hogberg U, Winkvist A, Stenlund H. Familial occurrence of preeclampsia. *Epidemiology.* 1999;10:518-22.

55- Van Dijk M, Mulders J, Poutsma A. Maternal segregation of the Dutch preeclampsia locus at 10q22 with a new member of the winged helix gene family. *Nat Genet.* 2005;37:514.

56-Esplin MS, Fausett MB, Fraser A. Paternal and maternal components of the predisposition to preeclampsia. *N Engl J Med.* 2001;344:867-72.

57-Lie RT, Rasmussen S, Brunborg H. Fetal and maternal contributions to risk of pre-eclampsia: population based study. *BMJ.* 1998;316:1343-7.

58- Lachmeijer AM, Dekker GA, Pals G. Searching for preeclampsia genes: the current position. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2002;105:94-113.

59-Amgrimsson R, Sigurardardottir S, Frigge ML. A genome-wide scan reveals a maternal susceptibility locus for pre-eclampsia on chromosome 2p13. *Hum Mol Genet.* 1999;8:1799-805.

60-Moses EK, Lade JA, Guo G, Wilton AN. A genome 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;67:1581-5.

61-Laasanen J, Hiltunen M, Romppanen EL. Microsatellite marker association at chromosome region 2p13 in Finnish patients with preeclampsia and obstetric cholestasis suggests a common risk locus. *Eur J Hum Genet.* 2003;11:232-6.

62-Laivuori H, Lahermo P, Ollikainen V. Susceptibility loci for preeclampsia on chromosomes 2p25 and 9p13 in Finnish families. *Am J Hum Genet.* 2003;72:168-77.

63-Tuohy JF, James DK. Pre-eclampsia and trisomy 13. *Br J Obstet Gynaecol.* 1992;99:891-4.

64-Bdolah Y, Palomaki GE, Yaron Y. Circulating angiogenic proteins in trisomy 13. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;194:239-45.

65-Treloar SA, Cooper DW, Brennecke SP. An Australian twin study of the genetic basis of preeclampsia and eclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;184:374-81.

66-Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180:499-506.

67-Roberts JM, Taylor RN, Goldfien A. Clinical and biochemical evidence of endothelial cell dysfunction in the pregnancy syndrome preeclampsia. *Am J Hypertens*. 1991;4:700-8.

68-Poston L. Endothelial dysfunction in preeclampsia. *Pharmacological Reports*. 2006;58:69-74.

69-Friedman SA, Schiff E, Emeis JJ. Biochemical corroboration of endothelial involvement in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1995;172:202-3.

70-McCarthy AL, Woolfson RG, Raju SK, Poston L. Abnormal endothelial cell function of resistance arteries from women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1993;168:1323-30.

71-Cockell AP, Poston L. Flow-mediated vasodilatation is enhanced in normal pregnancy but reduced in preeclampsia. *Hypertension*. 1997;30:247-51.

72-Pascoal IF, Lindheimer MD, Nalbantian-Brandt C. Preeclampsia selectively impairs endothelium-dependent relaxation and leads to oscillatory activity in small omental arteries. *J Clin Invest*. 1998;101:464-70.

73-Roberts JM, Edep ME, Goldfien A, Taylor RN. Sera from preeclamptic women specifically activate human umbilical vein endothelial cells in vitro: morphological and biochemical evidence. *Am J Reprod Immunol*. 1992;27:101-8.

74-Poston L, Rajmakers MT. Trophoblast oxidative stress, antioxidants and pregnancy outcome – a review. *Placenta*. 2004;25:72–78.

75-Hung TH, Charnock-Jones DS, Skepper JN, Burton GJ. Secretion of tumor necrosis factor-alpha from human placental tissues induced by hypoxia-reoxygenation causes endothelial cell activation in vitro: a potential mediator of the inflammatory response in preeclampsia. *Am J Pathol*. 2004;164:1049–1061.

76-Fiore G, Florio P, Micheli L, Nencini C, Rossi M, Cerretani D, et al. Endothelin-1 triggers placental oxidative stress pathways: putative role in preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:4205–4210.

77-Lentz SR. Does homocysteine promote atherosclerosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21:1385-6.

78-Faraci FM and Lentz SR. Hyperhomocysteinemia, oxidative stress, and cerebral vascular dysfunction. *Stroke*. 2004;35:345-347.

79-Raijmakers MT, Roes EM, Poston L, Steegers EA, Peters WH. The transient increase of oxidative stress during normal pregnancy is higher and persists after delivery in women with preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2008;138(1):39-44.

80-Böger RH, Lentz SR, Bode-Böger SM, Knapp HR and Haynes WG. Elevation of asymmetric dimethylarginine may mediate endothelial dysfunction during experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. *Clin Sci*. 2001;100:161-167.

81-Austin RC, Lentz SR, Werstueck GH. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. *Cell Death and Differentiation*. 2004;11;S56-S64.

82-Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol*. 2002;20:4368-80.

83-Maynard SE, Min JY, Merchan J. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*. 2003;111:649-58.

84-Koga K, Osuga Y, Yoshino O. Elevated serum soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 (sVEGFR-1) levels in women with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:2348-51.

85-Levine RJ, Maynard SE, Qian C. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med*. 2004;350:672-83.

86-Tidwell SC, Ho HN, Chiu WH. Low maternal serum levels of placenta growth factor as an antecedent of clinical preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2001;184:1267-72.

87-Chaiworapongsa T, Romero R, Espinoza J. Evidence supporting a role for blockade of the vascular endothelial growth factor system in the pathophysiology of preeclampsia. Young Investigator Award. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;190:1541-7.

88-Nagamatsu T, Fujii T, Kusumi M. Cytotrophoblasts up-regulate soluble fms-like tyrosine kinase-1 expression under reduced oxygen: an implication for the placental vascular development and the pathophysiology of preeclampsia. *Endocrinology*. 2004;145:4838-45.

89-Venkatesha S, Toporsian M, Lam C. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med*. 2006;12:642-9.

90-Luft FC. Soluble endoglin (sEng) joins the soluble fms-like tyrosine kinase (sFlt) receptor as a pre-eclampsia molecule. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21:3052-4.

91-Germain SJ, Sacks GP, Sooranna SR. Systemic inflammatory priming in normal pregnancy and preeclampsia: the role of circulating syncytiotrophoblast microparticles. *J Immunol*. 2007;178:5949-56.

92-Challem J, Doldy V. Homocysteine the secret killer. Keats Publishing, Inc. New Canaan. 1997:165-168.

93-Dikmen M. Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enziminin moleküler biyolojisi ve hastalıklarla ilişkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi*. 2004;5:9-16.

94-Selhub J, Jacques PF, Wilson PW. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA*. 1993;270:2693-8.

95-Jacques PF, Selhub J, Bostom AG. The effect of folic acid fortification on plasma folate and total homocysteine concentrations. *N Engl J Med*. 1999;340:1449-54.

96-Ermens AAM, Refsum H, Ruprecht J. Monitoring cobalamin inactivation during nitrous oxide anaesthesia by determination of homocysteine and folate in plasma and urine. *Clin Pharmacol Ther*. 1991;49:385-393.

97-Desouza C, Keebler M, McNamara DB, Fonseca V. Drugs affecting homocysteine metabolism: impact on cardiovascular risk. *Drugs*. 2002;62:605-16.

98- Bazzano LA, He J, Muntner P. Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in the United States. *Ann Intern Med*. 2003;138:891-7.

99-Powers RW, Majors AK, Kerchner LJ, Conrad KP. Renal handling of homocysteine during normal pregnancy and preeclampsia. *J Soc Gynecol Investig*. 2004;11:45-50.

100-Jacques PF, Bostom AG, Wilson PW, Rich S, Rosenberg IH, Selhub J. Determinant of plasma total homocysteine concentration in the Framingham offspring cohort. *Am J Clin Nutr.* 2001;73:613-21.

101-Fodinger M, Buchmayer H, Heinz G, Papagiannopoulos M, Kletzmayer J, Rasoul-Rockenschaub S, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Effect of MTHFR 1298A→C and MTHFR 677C→T genotypes on total homocysteine, folate, and vitamin B(12) plasma concentrations in kidney graft recipients. *J Am Soc Nephrol.* 2000;11:1918-25.

102-Walker MC, Smith GN, Perkins SL, Keely EJ, Garner PR. Changes in homocysteine levels during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180:660-4.

103-Fodinger M, Horl WH, Sunder-Plassmann G. Molecular biology of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase. *J Nephrol.* 2000;13:660-4.

104-Lin PY, Yang TH, Lin HG, Hu ML. Synergistic effects of S-adenosylhomocysteine and homocysteine on DNA damage in a murine microglial cell line. *Clin Chim Acta.* 2007;379:139-44.

105-Stuhlinger MC, Tsao PS, Her JH. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation.* 2001;104:2569-75.

106-Poddar R, Sivasubramanian N, DiBello PM. Homocysteine induces expression and secretion of monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 in human aortic endothelial cells: implications for vascular disease. *Circulation.* 2001;103:2717-23.

107-Mansoor MA, Bergmark C, Svardal AM. Redox status and protein binding of plasma homocysteine and other aminothiols in patients with early-onset peripheral vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15:232-40.

108-Kanani PM, Sinkey CA, Browning RL. Role of oxidant stress in endothelial dysfunction produced by experimental hyperhomocyst(e)inemia in humans. *Circulation.* 1999;100:1161-8.

109-Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. *J Clin Invest.* 1993;91:308-18.

110- Nappo F, De Rosa N, Marfella R. Impairment of endothelial functions by acute hyperhomocysteinemia and reversal by antioxidant vitamins. *JAMA*. 1999;281:2113-8.

111-Lentz SR, Sadler JE. Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine. *J Clin Invest*. 1991;88:1906-14.

112- Massawe SN, Urassa EN, Mmari M, Ronquist G, Lindmark G, Nystrom L. The complexity of pregnancy anemia in Dar-es-Salaam. *Gynecol Obstet Invest*. 1999;47:76-82.

113- Williams MD, Wheby MS. Anemia in pregnancy. *Med Clin North Am*. 1992;76:631-47.

114- Wilson RD, Davies G, Desilets V, Reid GJ, Summers A, Wyatt P, Young D. Genetics Committee and Executive and Council of the Society of Obstetricians and Gynaecologists of Canada. The use of folic acid for the prevention of neural tube defects and other congenital anomalies. *J Obstet Gynaecol Can*. 2003;25:959-73.

115-Ashfield-Watt PAL, Moat SJ, Doshi SN, McDowell IFW. Folate, homocysteine, endothelial function and cardiovascular disease. What is the link? *Biomed Pharmacoter*. 2001;55:425-433.

116-Medical Research Council Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: Results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet*. 1991;338:131-7.

117-De La Calle M, Usandizaga R, Sancha M, Magdaleno F, Herranz A, Cabrillo E. Homocysteine, folic acid and B-group vitamins in obstetrics and gynaecology. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2003;107:125-34.

118- Refsum H. Folate, vitamin B12 and homocysteine in relation to birth defects and pregnancy outcome. *Br J Nutr*. 2001;85:109-13.

119-Refsum H, Fiskerstrand T, Guttormsen AB, Ueland PM. Assessment of homocysteine status. *J Inherit Metab Dis*. 1997;20:286-94.

120- Chesley LC. Plasma and red cell volumes during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1972;112:440-50.

121-Obwegeser R, Hohlagschwandtner MHS. Homocysteine—a pathophysiological cornerstone in obstetrical and gynaecological disorders? *Human Reprod Update*. 1999;5:64–72.

122-Finkelstein J. Methionine metabolism in mammals. Effect of age, diet, and hormones on three enzymes of the pathway in rat tissues. *Arch Biochem Biophys*. 1972;122:583–90.

123-Kim MH, Kim E, Passen EL. Cortisol and estradiol: non genetic factors for hyperhomocystinemia. *Metabolism*. 1997;46:247–9.

124-Malinow MR, Rajkovic A, Druell PB, Hess DL, Upson BM. The relationship between maternal and neonatal umbilical cord plasma homocysteine suggests a potential role for maternal homocysteine in fetal metabolism. *Obstet Gynecol*. 1998;178:228–33.

125-Hietala R, Turpeinen U, Laatikainen T. Serum homocysteine at 16 weeks and subsequent preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2001;97:527–9.

126-D'Anna R, Baviera G, Corrado F, Ientile R, Granese D, Stella NC. Plasma homocysteine in early and late pregnancies complicated with preeclampsia and isolated intrauterine growth restriction. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2004; 83:155–8.

127-Yu CK, Lakasing L, Papageorghiou AT, Spencer K, Nicolaides KH. Uterin artery Doppler and midtrimester maternal homocystein in subsequent preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2004;16:134-139.

128-Middeldorp S, van de Poel MH, Bank I, Hamulyak K, Libourel EJ, Koopman MM, et al. Unselected woman with elevated levels of 8: C or homocystein are not at increased risk for obstetric complications. *Thromb Haemost*. 2004;92;787-790.

129-Sorensen TK, Malinow MR, Williams MA. Elevated second-trimester serum homocysteine levels and subsequent risk of preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest*. 1999;48;98-103.

130-Cotter AM, Molloy AM, Scott JM, Daly SF. Elevated plasma homocysteine in early pregnancy: a risk factor for the development of nonsevere preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;189:391-4.

131-Lopez-Quesada E, Vilaseca MA, Lailla JM. Plasma total homocysteine in uncomplicated pregnancy and in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2003;108:45-9.

132-Makedos G, Papanicolaou A, Hitoglou A. Arch Gynecol Obstet. 2007;275:121–124.

133-Var A, Yildirim Y, Onur E, Kuscu NK, Uyanik BS, Goktalay K, et al. Endothelial dysfunction in preeclampsia: increased homocysteine and decreased nitric oxide levels. Gynecol Obstet Invest. 2003;56:221–4.

134-Rajkovic A, Catalano PM, Malinow MR. Elevated homocyst(e)ine levels with preeclampsia. Obstet Gynecol. 1997;90:168-71.

135-Braekke K, Ueland PM, Harsem NK, Karlsen A, Blomhoff R, Staff AC. Homocysteine, cysteine, and related metabolites in maternal and fetal plasma in preeclampsia. Pediatr Res. 2007; 62:319–324.

136-Napolitano PG, Wakefield CL, Elliot DE, Doherty DA, Magann EF. Umbilical cord plasma homocysteine concentrations at delivery in pregnancies complicated by pre-eclampsia. Aust N Z J Obstet Gynaecol. 2008;48:261-5.

137- Ingeç M, Börekçi B, Kadanalı S. Elevated plasma homocysteine concentrations in severe preeclampsia and eclampsia. Tohoku J Exp Med. 2005;206:225-31.

138-Mignini LE, Latthe PM, Villar J, Kilby MD. Mapping the theories of preeclampsia: the role of homocysteine. Obstet Gynecol. 2005;105:411-25.

139- Baksu A, Taskin M, Goker N, Baksu B, Uluocak A. Plasma homocysteine in late pregnancies complicated with preeclampsia and in newborns. Am J Perinat. 2006;23:31–35.

140-Bolander-Gouaille C . The homocysteine metabolism. In: Bolander-Gouaille C (ed) Focus on homocysteine and the vitamins. Springer, Paris, 2002; p20.

141-Leeda M, Riyazi N, de Vries JI, Jakobs C, van Geijn HP, Dekker GA. Effects of folic acid and vitamin B6 supplementation on women with hyperhomocysteinemia and a history of preeclampsia or fetal growth restriction. Am J Obstet Gynecol. 1998;179:135-9.

142-Ray JG, Laskin CA. Folic acid and homocyst(e)ine metabolic defects and the risk of placental abruption, pre-eclampsia and spontaneous pregnancy loss: A systematic review. Placenta. 1999;20: 519-29.

143-Murphy MM, Scott JM, Arija V, Molloy AM, Fernandez-Ballart JD. Maternal homocysteine before conception and throughout pregnancy predicts fetal homocysteine and birth weight. *Clin Chem.* 2004;50:1406–1412.

144- Ray JG, Mamdani MM . Association between folic acid food fortification and hypertension or preeclampsia in pregnancy. *Arch Intern Med.* 2002;162:1776–1777.

145-Bodnar LM, Tang G, Ness RB, Harger G, Roberts JM. Periconceptional multivitamin use reduces the risk of preeclampsia. *Am J Epidemiol.* 2006;164:470–477.

146-Hernandez-Diaz S, Werler MM, Louik C, Mitchell AA . Risk of gestational hypertension in relation to folic acid supplementation during pregnancy. *Am J Epidemiol.* 2002;156:806–812.

147-Kloor D, Delabar U, Mühlbauer B, Luippold G, Osswald H. Tissue levels of adenosylhomocystein in the rat kidney: effects of ischemia and homocysteine. *Bio Pharm.* 2002;63:809-815.