



**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**PREEKLAMPSİLİ HASTALARDA MATERNAL SERUMDA MikroRNA
SALINIM PROFİLİNİN ARAŞTIRILMASI**

**DR. UTKU AKGÖR
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. FİLİZ ÇAYAN**

MERSİN – 2013



**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**PREEKLAMPSİLİ HASTALARDA MATERNAL SERUMDA MikroRNA
SALINIM PROFİLİNİN ARAŞTIRILMASI**

**DR. UTKU AKGÖR
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. FİLİZ ÇAYAN**

**Bu tez BAP-TF CTB (UA) 2013-3 TU kodlu proje olarak
Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
desteklenmiştir.**

MERSİN – 2013

TEŐEKKÜR

Asistanlık eğitimimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım başta tez danışmanım Sayın Doç.Dr. Filiz Çayan, Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Devrim Tok, Sayın Prof. Dr. Ekrem Tok, Sayın Prof. Dr. Gürkan Yazıcı, Sayın Prof. Dr. T. Umut Dilek, Sayın Doç. Dr. Hakan Aytan ve Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Durukan olmak üzere MEÜTF Kadın Hastalıkları ve Doğum AD'nın değerli öğretim üyelerine, beraber çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, Prof.Dr. Lülüfer Tamer Gümüő ve diğer Tıbbi Biyokimya AD çalışanlarına, tüm hemőire ve diğer sağlık personeline teőekkür ederim.

Sevgileri ve sonsuz sabırlarıyla yanımda olan, doğduğum günden beri büyümemde ve yetişmemde maddi ve manevi hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, varlıklarını hiçbirőeye değişmeyeceğim aileme, dostluğundan keyif aldığım, hayat boyu sevgiyle hatırlayacağım arkadaşlarım Dr. Özalp Ekinci, Dr. Özgür Karak ve Dr. Cankat Erdoğan'a en içten teőekkürlerimi sunarım.

DR. UTKU AKGÖR

2013

İÇİNDEKİLER

ÖZET	5
İNGİLİZCE ÖZET	6
GİRİŞ ve AMAÇ	7
GENEL BİLGİLER	8
Gebelik Hipertansiyon Sınıflama	9
Preeklampsi Tanım	10
Preeklampsi Epidemiyoloji	11
Preeklampsi Etyoloji	13
MikroRNA (miRNA) Keşfi	16
MikroRNA Tanımı	17
MikroRNA Kodlanması	17
MikroRNA Biyogenezi ve Fonksiyonları	18
Dolaşımdaki miRNA'lar	24
Gebelik ve miRNA	25
İmplantasyon Döneminde miRNA'lar	25
Plasentadan Salınan miRNA'lar	26
Embriyonik Kök Hücreler ve miRNA	28
Fetomaternal İmmünite ve miRNA ilişkisi	29
Gebelikte Anne Serumundaki miRNA	29
Preeklampsi ve miRNA	30
GEREÇ ve YÖNTEMLER	32
BULGULAR	41
TARTIŞMA	47
KAYNAKLAR	59
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	71
ŞEKİLLER DİZİNİ	72
TABLolar DİZİNİ	73

ÖZET

PREEKLAMPSİLİ HASTALARDA MATERNAL SERUMDA MikroRNA SALINIM PROFİLİNİN ARAŞTIRILMASI

Preeklampsia tüm gebeliklerin %5-8'inde görülür, hem anne hem fetal morbidite ve mortalite ile yakın ilişki içerisindedir. Günümüzde hastalığın patofizyolojisi halen tam olarak anlaşılamamıştır.

MikroRNA'lar (miRNA) protein transkripsiyonu olmayan küçük kodlanmayan RNA'lar olup mRNA'nın yazılıma uğramayan bölgesine bağlanarak mRNA'nın yıkımında rol oynarlar veya translasyonunu baskılayarak gen ekspresyonunu düzenlerler. Preeklampside olduğu gibi anormal derecede salınan miRNA'lar gebelik komplikasyonlarıyla ilişkilidirler. Bu çalışmada 31 preeklampsili hasta ile kontrol grubunda bulunan 32 gebenin miRNA salınım profilini analiz ettik. Çalışmamızın amacı preeklampsia ile ilişkili olabilecek miRNA'ların saptanması ve preeklampsinin tanısı, predikasyonu ve prognozunda biyomarker olarak kullanılabilirliğini araştırmaktır.

Aralık 2012 ve Haziran 2013 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.'de, 31 preeklampsili ve 32 sağlıklı kontrol grubu gebe anne serumunda miRNA salınım paterni açısından değerlendirildi. Preeklampside 11 miRNA'nın salınım paterninde anlamlı değişiklik izlendi. Preeklampsia grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, bu miRNA'ların salınımında sekiz miRNA'da (miR-210, miR-375, miR-197-3p, miR-132-3p, miR-29a-3p, miR-328, miR-24-3p ve miR-218-5p) istatistiksel olarak anlamlı artış, üçünde (miR-302b-3p, miR-191-5P ve miR-17-5P) ise anlamlı düşüş izlendi.

Sonuç olarak anne serumunda saptanan miRNA'lar, preeklampsinin erken predikasyonu, prognozu ve gebelik komplikasyonlarının tahmini açısından ümit verici yeni bir gelişmedir. Yine de hastalığın öngörüsü, yönetimi ve klinik kullanımı için daha geniş çaplı başka çalışmalara da ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar Sözcükler: miRNA, Preeklampsia, Anne serumu, Non-invaziv prenatal tanı

ABSTRACT

ASSESSMENT of EXPRESSION PROFILE of MIKRONAs IN MATERNAL PLASMA of PREECLAMPTIC WOMEN

Preeclampsia affects 5-8% of all pregnancies and is associated with significant maternal and fetal morbidity and mortality. However, the pathophysiology of this disease is not yet fully understood. MicroRNAs (miRNAs) are small non-coding RNAs, which function as critical posttranscriptional regulators of gene expression by promoting mRNA degradation and translational inhibition. Aberrant miRNAs expression has been linked to pregnancy complications, such as preeclampsia. In the present study, we analyzed the expression profiles of miRNAs in the serum of 31 pregnant women with preeclampsia and 32 pregnant women. The purpose is preeclampsia related miRNAs obtained in this study might be used as notable biomarkers for diagnosis and prognosis of Preeclampsia.

Thirty one women with preeclampsia and 32 healthy pregnant women as the control group were assessed with respect to miRNA expression pattern in the maternal serum between December 2012– June 2013 in Mersin University Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology. In preeclamptic patients significant changes have been found in the expression patterns of 11 miRNA. When compared to the control group the expression was found to be significantly increased in 8 miRNA, (miR-210, miR-375, miR-197-3p, miR-132-3p, miR-29a-3p, miR-328, miR-24-3p and miR-218-5p) whereas miRNA expression was found to be significantly decreased in 3 miRNA (miR-302b-3p, miR-191-5P and miR-17-5P)

We conclude that miRNAs present in the maternal circulation may provide a new promising diagnostic tool for preeclampsia. Further study is necessary to develop tools for early detection and management.

Key words: miRNA, preeclampsia, Maternal plasma, Non-invasive prenatal diagnosis

GİRİŞ ve AMAÇ

Preeklampsi tüm gebeliklerin %5-8'inde görülür ve preeklampside oluşan uteroplasental yetmezlik nedeni ile fetal büyüme geriliği, preterm eylem, dekolman plasenta gibi komplikasyonlar nedeniyle fetüs risk altındadır. Bu nedenle preeklampsi, maternal-fetal morbidite ve mortalite riski nedeniyle önemlidir¹. Gebeliğin rutin takibi sırasında gelişebilecek preeklampsiyi önceden belirleyecek geçerli bir tarama testi bulunmamaktadır. Bu nedenle preeklampsi prediktivitesi için Anjiyotensin II İnfüzyon Testi, Roll-Over Testi, Serum Ürik Asit Tayini, Fibronektin Düzeyi, Plazma Antitrombin III Düzeyi, Kalsiyum Metabolizması, Üriner Kallikrein Atılımı, Atrial Natriüretik Peptid (ANP) Düzeyi, Oksidatif Stress Markerları, İmmünolojik Faktörler, Plasental Peptidler, Homosistein ve Doppler Ultrasonografi kullanımı gibi birçok yöntem kullanılmıştır. Preeklampsinin tanısının erken dönemde konulması ve buna ikincil olarak alınan önlemler sonucu hastalığın seyri hafifletmekte, eklampsi görülme oranı azalmakta ve sonuçta maternal-fetal morbidite, mortalite riski ciddi ölçüde azalmaktadır¹.

MiRNA'lar protein kodlamayan yaklaşık 20-23 nükleotid uzunluğunda, tek iplikçikli RNA molekülleridirler. MiRNA'lar genom üzerinde protein bölgelerdeki RNA genlerinde transkripsiyonu sağlanan; fakat proteine translasyonu gerçekleştirilmeyen, fonksiyonel RNA molekülleridir. MiRNA'lar hedef genin mesajcı RNA (mRNA)'lara düşük özgüllükte bağlanmasına, mRNA yıkımına ve translasyonel inhibisyona neden olduğu için gen ifade edilmesinde önem arzeder²⁻⁴. Kodlanan genler üzerinde büyük etkileri olan miRNA'ların hastalıkların öngörüsü, tanısı ve prognozunda önemli biyomarkerlar olabileceği düşünülmektedir.

MiRNA'ların birçok çalışmada gebelik komplikasyonlarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir⁵. Bu nedenle çalışmamızda preeklampside miRNA salınım paternlerini inceleyerek, preeklampsinin erken tanısı ile gelişebilecek komplikasyonların önlenmesine katkı sağlamak, çalışmamızdaki hedefimiz olmuştur.

GENEL BİLGİLER

Hipertansiyon, erişkinlerin %20-30 kadarını etkileyen ciddi bir hastalıktır. Hipertansif hastalar böbrek ve kalp yetmezliği, myokardial iskemi, serebrovasküler olaylar açısından artmış risk grubundadırlar. Gebelikte ortaya çıkan hipertansiyonda ise uteroplazental yetmezlik nedeni ile fetal büyüme geriliği, preterm eylem, dekolman plasenta gibi komplikasyonlar nedeniyle fetüs risk altındadır. Bu nedenle gebelerde hipertansiyon artmış maternal-fetal morbidite ve mortalite riski nedeniyle önemlidir¹.

Hipertansiyon tanısı, gebe kadınlarda en az iki ya da daha fazla kan basıncı ölçüm ortalaması sistolik 140 mm\Hg veya diastolik 90 mm\Hg ya da daha yüksek bulunması ile konulur. Diastolik basıncı belirlemede Korotkoff faz V kullanılır.

SINIFLANDIRMA

Gebelikteki hipertansif bozuklukların sınıflaması, hastalığın prognozunun belirlenmesi, yükselmiş kan basıncının ve gebeliğin yönetimi, maternal ve fetal risklerin tespiti açısından son derece önemlidir.

Günümüze gebelikte hipertansiyon sınıflaması konusunda bir fikirbirliği olmasa da en anlaşılır sınıflamalardan biri olan 'National Institutes of Working Group on Hypertension in Pregnancy' tarafından hazırlanan sınıflama gebelikte hipertansiyonu öykü, fizik muayene ve labaratuvar bulgularına göre 4 kategoriye ayırmıştır⁶:

1. Gestasyonel Hipertansiyon
2. Preeklampsi-Eklampsi
3. Süperimpoze Preeklampsi

4. Kronik Hipertansiyon

Gebeliği Komplike Eden Hipertansif Hastalıkların Sınıflaması

1.Gestasyonel Hipertansiyon

- Kan basıncının gebelik sırasında veya postpartum ilk 24 saat içinde $\geq 140/90$ mmHg olması.
- Proteinüri olmaması
- Kan basıncının doğum sonrasında 6 hafta içinde normal seviyeye inmesi
- Kesin tanı yalnızca doğum sonrası dönemde konulur.
- Preeklampsinin çeşitli bulguları (baş ağrısı ya da trombositopeni vs) da eşlik edebilir (preeklampsi sendromu)⁷.

2.Preeklampsi-Eklampsi⁸

Hafif Preeklampsi

- 20. gebelik haftasından sonra kan basıncı $<160/110$ mm/Hg
- Proteinüri 24 saatlik idrarda ≥ 300 mg ya da dipstick ile ≥ 1

Ağır Preeklampsi

- Kan basıncı $\geq 160/110$ mmHg (hasta yatağında dinlenirken ve 6 saat ara ile bakılmalı)
- Proteinüri 24 saatlik idrarda ≥ 5 gr ya da dipstick ile 3+, 4+ proteinürinin olması
- Serum kreatinin >1.2 mg/dL eğer daha önceden yüksek olduğu bilinmiyorsa
- Trombositopeni (<100000 /mm³)
- Mikroanjiopatik hemoliz (artmış LDH)
- ALT veya AST yüksekliği
- Persistan baş ağrısı veya diğer serebral veya görsel bozukluklar
- Persistan epigastrik ağrı
- Oligüri (< 400 ml / 24 saat)
- Pulmoner ödem

Eklampsi

- Preeklampsili bir gebede diğer nedenlerle açıklanamayan konvülsiyon gelişmesi

3. Süperimpoze preeklampsi

- Kronik hipertansiyon tanısı almış ama proteinüri saptanmayan gebelerde, 24 saatlik idrarda yeni ortaya çıkmış olan 300 mg ve üstündeki proteinürinin varlığı
- Preeklamptik hastalarda olduğu gibi visüel semptomların görülmesi, epigastrik ağrının ortaya çıkması ve karaciğer enzimlerindeki artış ya da trombosit sayısının $<100.000/\text{mm}^3$ olması⁹.

4. Kronik hipertansiyon

- Gebelikten önce veya gestasyonel trofoblastik hastalığa bağlanmaksızın 20. gebelik haftasından önce KB (kan basıncı) $\geq 140/90$ mmhg olması ya da
- İlk kez 20. gebelik haftasından sonra tanı alan ve postpartum 12. haftadan sonra devam eden hipertansiyon¹⁰.

PREEKLAMPSİ

Preeklampsinin klasik üçlüsü: hipertansiyon, proteinüri ve ödemdir. Ödem preeklampside ilk ortaya çıkan bulgudur. Özellikle ekstremiteler ve yüzde sıvı toplanması ile karakterizedir. 12 saatlik istirahatten sonra sadece pretibial ödem olması (+), tüm alt ekstremitelerde ödem olması (++) , karın cildinde ve yüzde ödem olması (+++) ve anazarka tarzında, genel bir ödem olması (++++) ödem olarak adlandırılır. Ödem günümüzde artık tanısız kriter olmaktan çıkarılmıştır¹¹.

Preeklampsi, insanlarda görülen bir hastalık olup, gebeliğin en yaygın medikal komplikasyonlarından biridir. Tüm gebeliklerin yaklaşık %2-3'ünde görülür. Antenatal ve neonatal bakımdaki gelişmelere rağmen maternal ve neonatal morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerinden biridir^{12,13}.

Preeklampsi tanısı için hipertansiyon ve proteinüri olmazsa olmazdır. 24 saatlik idrar analizinde protein atılımının 300 mg'dan fazla, altı saat ara ile yapılan en az iki idrar örneğinde 100 mg/L protein olması veya idrarda protein/kreatin oranının 0.3 olması proteinüri olarak tanımlanır. Son yapılan çalışmalara göre spot idrarda protein/kreatin oranının 24 saatlik idrar ölçümüne göre daha anlamlı olabileceği belirtilse de bu konu ile ilgili çalışmalar sürmektedir¹⁴⁻¹⁶.

Gebeliğe bağlı hipertansif bozukluklarda, proteinüri ve glomerüler histolojik değişiklikler gebeliğin geç dönemlerinde ortaya çıkmaktadır. Benzer şekilde böbrek, karaciğer ve hematolojik fonksiyon testlerinde bozulma, persistan baş ağrısı, epigastrik ağrı da hastanın kliniğindeki ağırlaşmanın ilk belirtileri olarak ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle proteinürinin olmadığı durumlarda hipertansiyon ile birlikte serebral semptomlar, epigastrik veya sağ üst kadran ağrısı, bulantı-kusma, trombositopeni ya da karaciğer enzimlerinde görülen yükselme, preeklampsiyi ayırıcı tanıda akla getirmelidir.

EPİDEMİYOLOJİ

Preeklampsi genç ve nullipar hastalarda daha sık görülür. Nulliplarlarda preeklampsi insidansı %3-10 arasında görülür. Multiparlarda preeklampsi insidansı nulliplarlardan daha azdır. Bununla birlikte preeklampsi bimodal yaş dağılımı gösterir ve ikinci pik 35 yaş üzeri multipar kadınlarda görülür^{17,18}.

Preeklampsi geçirme hikayesi olan gebelerde risk %18'lere çıkmaktadır. Preeklampsi riski çoğul gebeliklerde %14-20, major fetal anomalisi olan gebelerde %30, kronik hipertansiyonu ve böbrek hastalığı olan gebelerde risk oranı %25 olmaktadır. Sosyoekonomik düzeydeki düşüklük bir risk faktörüdür¹⁹.

Literatürlerde belirtilen preeklampsi insidans bilgilerinde coğrafi ve ırksal farklılıklara bağlı değişiklikler olduğu belirtilse de, farklı popülasyonlardaki preeklampsinin gelişiminde pek çok risk faktörü tanımlanmıştır.

Aşağıdaki hallerde preeklampsi insidansı artmaktadır:

- 1) Önceki gebeliklerde preeklampsi özgeçmiş
- 2) Ailesinde preeklampsi-eklampsi öyküsü
- 3) Nulliparite
- 4) Siyah ırk, kalıtım
- 5) Çoğul gebelik
- 6) Obezite
- 7) Polihidramnios
- 8) Molar gebelik
- 9) Diabetes mellitus
- 10) Kronik hipertansiyon
- 11) Renal hastalık
- 12) Genç yaş
- 13) Düşük sosyoekonomik yapı
- 14) Non immun fetal hidrops
- 15) Bağ dokusu hastalıkları

Gebeliğe bağlı hipertansiyon nulliparların hastalığı olarak bilinir²⁰. ABD'de tüm nullipar gebeliklerdeki insidans %6-7'dir. Siyah ırktan olmanın preeklampsi için bir risk faktörü oluşturduğu pek çok kaynakta bildirilmiştir. Preeklampsi ve eklampside ailede hastalık öyküsünün önemi de olabilir. Bundan dolayı ailede preeklampsi öyküsünün olması önemlidir ve öykünün hastalık riskini 6 kat artırdığı ifade edilmektedir. Resesif geçişli tek gen mutasyonu sonucu ya da parsiyel penetrasyon gösteren dominant bir gene bağlı olabileceği gibi multifaktöryel de olabilir²¹.

Preeklampsi gelişimi için hesaplanan bazı risk faktörleri tablo 1 'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Preeklampside risk faktörleri ve risk oranları²²

Risk Faktörleri	Risk Oranı
Daha önceki gebeliğinde preeklampsi öyküsünün olması	6:1
Ailesinde preeklampsi öyküsünü olması	6:1
Nullipar	6:1
Genç olması	5:1
İkiz gebelik	5:1
Diabetes mellitus	2:1
Obezite	3:1

Preeklampsi ile birliktelikleri tam olarak kanıtlanamamış diğer risk faktörleri ise şunlardır: Triploidi, sakrokoksigeal teratom, erkek fetus, hipertiroidizm, idrar yolları enfeksiyonları, yardımcı üreme teknikleri, hiperemesis, migren, epilepsi²³. Bunların preeklampsi ile birlikteliği tam olarak kanıtlanmamıştır.

ETYOLOJİ

Preeklampsinin etyolojisi günümüzde henüz net olarak bilinmemektedir. Preeklampsinin insana özgü bir hastalık olması, bilimsel çalışmaları yetersiz hale getirmektedir. Yine benzer şekilde yetersiz trofoblastik invazyonun bir kanıtı olarak ilk trimester doku materyalinin elde edilememesi, altta yatan temel patolojiye annenin vermiş olduğu reaksiyonun her vakada farklı ortaya çıkması ve bu hastalığın hangi gebede ve ne zaman ortaya çıkacağına bilinmemesi etiopatogenezin aydınlatılmasını kısıtlayan en önemli nedenler arasında sayılabilir¹⁷. Tüm vakaları tek bir etyolojik faktör ve tek bir patofizyolojik mekanizma ile açıklamak mümkün değildir. Bununla birlikte preeklampside öne sürülen teoriler plasental invazyon bozukluğu ve endotel disfonksiyondur.

a) Trofoblastik invazyon

Preeklampsinin fizyopatolojisinde kabul görmüş bir teori henüz yoktur. Başarılı gebelik için gerekli plasental fonksiyon, yeterli trofoblastik invazyona bağlıdır. Preeklampside en geçerli teori trofoblastik invazyon yetersizliğidir²⁴. Normal plasentasyonda ekstravillöz trofoblastlar maternal spiral arterlerin orta düz kas ve elastik lamina tabakalarını invaze eder²⁵. Bu invazyonun gebeliğin 20. haftasına kadar tamamlanması beklenir. Bu şekilde uterin spiral arter çapları artar ve vazokonstriktif yetenekleri geriler, yüksek akımlı düşük rezistanslı damarlar halini alırlar²¹. Bu spiral arterlerdeki değişiklikler sonucu plasental yatağın perfüzyonu artar⁶. Preeklampside görülen trofoblastik invazyon yetersizliği kendini hem myometrial invazyonda hem de spiral arterlerin modifikasyonunda gösterir. Sonuç olarak uteroplazental arterlerin lümeni daralır, intimada aterosiz ve vazospazmın bir sonucu olarak intervillöz perfüzyon azalır. Trofoblast invazyonundaki bu yetersizlik preeklampsinin başlangıcında anahtar rol oynar. Trofoblast invazyonu maternal immün sistem ve trofoblastik invazyon kapasitesi arasında dengelenir. Trofoblast invazyonu için kritik role sahip olan MMP-9 ve anjiogenezis için anahtar rol oynayan VEGF (VEGF-1) ekspresyonlarında azalma söz konusudur. Buna bağlı olarak sitotrofoblastların invazyon özelliklerinin zarar görmesine bağlı olarak uterin arteriyoller küçük ve yüksek rezistanslı damarlar olarak kalır^{1,26}.

Preeklampside, VEGF ve PLGF'nin bir antagonisti olan artmış sFlt-1, dolaşımda bulunan serbest VEGF ve PLGF seviyelerini azaltarak, endotel disfonksiyonuna neden olmaktadır. sFlt-1 artış miktarı hastalığın şiddeti ile koreledir²⁷. Çözünür endolgin (sEng) TGF-B ailesinin yardımcı reseptörü olan endolginini (CD105) bloke eden bir moleküldür. Yapılan çalışmalarda göstermiştir ki klinik preeklampsinin gelişiminden aylarca önce sEng' nin serum düzeyleri de artmaya başlar²⁸.

b) Endotel disfonksiyonu

Sağlıklı gebeliklerde angiotensin II'nin vazokonstriktör etkisini, prostoglandinler (PGI₂, PGE₂) vazodilatasyon yaparak dengeler. Prostosikliler,

vasküler endotel ile birlikte renal korteks tarafından da üretilir, etkin bir vazodilatatör ve trombosit agregasyonu inhibitörüdür. Tromboksan A2 (TXA2) ise trombosit ve trofoblastlar tarafından üretilir. Vazokonstriksiyon ve trombosit agregasyonu gibi etkileri vardır. Endotel disfonksiyonu ile birlikte PGI2 salınımı azalır, artan TXA2 salınımına bağlı olarak platelet agregasyonu oluşur. Bu nedenler sonucu oluşan vazokonstrüksiyon hipertansiyon gelişimine de katkıda bulunur²⁹.

Nitrik oksit, endotel hücreleri tarafından sentezlenir ve güçlü bir vazodilatötör etkisi vardır. Bu etkiyle birlikte fetoplasental akımın karakteristiği olan normal düşük basınçlı vazodilate durumun devamı sağlanır. Nitrik oksit sentezinin inhibisyonu sonucu kan basıncı artar, kalp atım hızı azalır ve vazöpressörlere karşı olan duyarlılık azalır. Fetal endotel tarafından da üretililen nitrik oksit, preeklampsi, diabet, infeksiyon gibi durumlarda artış göstermektedir^{29,30}.

Vasospazmda damarlarda hasarlanmaya neden olur. Tüm bu değişiklikler endotelyal hücre hasarı değişikliklerine yol açar ve intraepitelyal hücre sızıntıları, trombositler ve fibrinojeni de içeren kan elemanları subendotelyal bölgede depolanır. Bu değişikliklerin etrafındaki dokularda oluşan hipoksi sonucu hemoraji, nekroz ve şiddetli preeklampside gözlenen uç-organ değişiklikleri oluşur¹⁰.

c) Preeklampsi ve Genetik

Preeklampsik annelerin kızlarında preeklampsi riskinin %20-40, kızkardeşlerinde %11-37 ve ikiz çalışmalarında diğer ikiz eşinin riskinin %22-47 olması genetik görüşleri desteklemektedir³¹. Kimi genetik teorilere göre fetusa besin transferini artıran genler seçilmektedir. Ayrıca bu olayı dengeleyen maternal genler de seçilir. Bu 'genomik imprinting' olayı, plasental faktörlerin (fetal genler) anne KB'nı artırdığını; fakat anneye ait faktörlerin KB'yi düşürdüğünü öne sürer. Endotel hücre disfonksiyonu, bir fetal kurtarma (rescue) stratejisi olup, plasenta dışı direnci artırarak uteroplasental kan akımını yeterli hale getirmektedir³².

Metilen tetrahidrofolat redüktaz (C677T), FV Leiden, Anjiotensinojen (M235T), HLA (insan lökosit antijenleri), NOS 3 (endotelyal nitrik oksit), F2 (G20210A) (Protrombin), ACE (Anjiotensin konverting enzim) gibi genlerin preeklampsi ile ilişkili

olduğu bilinir³¹. MTHFR gen mutasyonunun sıklığının preeklampitik hastalarda arttığı da bilinmektedir.

d) İmmünolojik Faktörler

Preeklampsinin ilk eşinden oluşan ilk gebeliklerde daha sık görülmesi ve HLA-B ile ilişkisinin gösterilmesi immünolojik teoriyi desteklemektedir. 12 aydan daha fazla cinsel ilişki sonrası gebe kalan primigravidlerde preeklampsi insidansı %11.9'dan %3.3'e gerilemiştir. Bu spermdeki antijenlerle önceden karşılaşma preeklampsi insidansını azaltır. Bu durum aynı zamanda preeklampside paternal faktörü de destekler³³. Preeklampitik hastalarda oto antikordarda total olarak artış izlenmektedir²⁸.

MikroRNA

Genom üzerindeki protein kodlamayan bölgelerdeki RNA genlerinden ve protein kodlayan ekzon veya intron bölgelerinden transkripsiyonu sağlanan, ancak proteine translasyonu gerçekleşmeyen, fonksiyon olarak gen ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynayan fonksiyonel RNA molekülleridir. Klasik olarak bilinen mRNA, taşıyıcı RNA (tRNA), ribozomal RNA (rRNA) moleküllerinin dışında son yıllarda hücresel birçok temel işlevin düzenlenmesinde görev alan miRNA, küçük interfere edici RNA (small interfering RNA; siRNA) ve piwi-etkileşimli RNA (piwi-interacting RNA; piRNA) gibi farklı RNA molekülleri keşfedilmiştir^{34,35}.

a. mikroRNA'nın Keşfi

Napoli ve Stuitje'nin çalışmalarında, petunya üzerindeki yaptıkları araştırmalar sırasında fark ettikleri, fakat yıllar sonra Jorgensen ve arkadaşlarının tanımladıkları "gen sessizleştirilmesi" miRNA keşfi sırasındaki en önemli köşe taşlarından. Çalışmalar esnasında, aktarılan transgenin yalnızca kendi kendisini değil, aynı zamanda endojenik genin ekspresyonu üzerine de etkisi olduğu görülmüş ve hem

endojenik hem de transgenik mRNA'nın kaybını tanımlamak için co-supresyon terimi kullanılmıştır³⁶⁻⁴⁰. Lee ve arkadaşları, 1993 yılında bir nematod olan *Caenorhabditis elegans*'in gen içeriğini incelediklerinde, protein kodlamayan lin-4 olarak ad verdikleri genin, 22 nükleotid uzunluğunda küçük bir RNA transkribe ettiğini bildirmişlerdir. O sıralar bir nematodun yapısal özelliği sanılan ve yaşam döngüsünün zamanlaması ile ilerlemesini kontrol ettiği düşünülen lin-4 keşfedilen ilk miRNA'dır². Reinhart ve arkadaşları, 2000 yılında *C. elegans*'da, let-7 olarak isim verdikleri 22 nükleotid uzunluğunda, canlıda gelişim basamaklarını düzenleyen farklı bir miRNA daha keşfetmişlerdir. İnsanlar ve bazı türler arasında let-7'nin kaydadeğer bir biyolojik fonksiyona sahip olmasından dolayı korunduğu gösterilmiştir^{41,42}. Bu çalışmalar ışığında birçok miRNA en basit canlılardan insana kadar yüksek oranda korunurlar ve genom içerisinde miRNA'ları kodlayan birçok gen bölgesinin varlığı bilinmektedir. Bu durum bize miRNA'ların tüm canlılarda önemli görevleri olduğunu gösterir^{40,2}.

b. Tanım

miRNA'lar; 21-23 nükleotid uzunluğunda olan, proteine transkripsiyonu olmayan, endojen tek zincirli RNA'lardır. mRNA'da 3' ucu yazılıma uğramayan bölgeye (3'-untranslated region; 3'-UTR) bağlanarak mRNA'nın yıkımında rol oynarlar veya translasyonunu baskılayarak gen ekspresyonunu düzenlerler²⁻⁴. Günümüze kadar 168 türde toplam 21000'in üzerinde miRNA olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmalar bitkilerden hayvanlara geniş bir ölçekte yapılan çalışmaların yer aldığı miRBase versiyon 18'den elde edilmiştir

c. mikroRNA'lar Nerede Kodlanır ?

miRNA'ların çoğu (%61) protein kodlayan genlerin intronlarında, az bir kısmı ise genlerin eksonlarında veya intergenik bölgelerde bulunmaktadır^{43,44}.

Protein kodlanan genlerin intron ve eksonlarında bulunan miRNA genlerinin, aynı promotör aracılığıyla prekürsör mRNA (pre-mRNA) ile birlikte transkripsiyonu olmaktadır. mRNA ile ilişkili dokuya özgü miRNA ekspresyon profilinin görülmesi, bu miRNA'ların pre-mRNA ile birlikte transkripsiyonunun olması ile açıklanır⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾

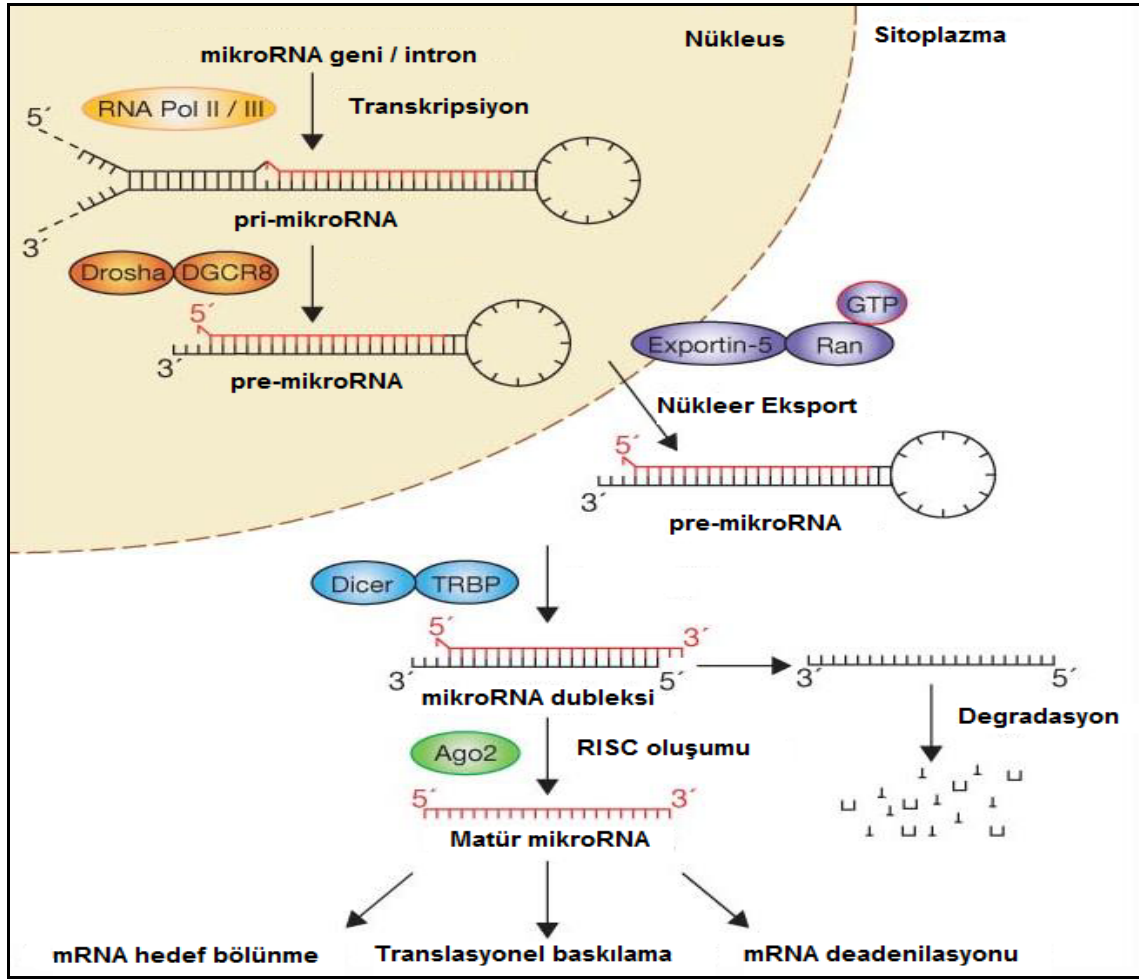
İntergenik bölgelerde yerleşik miRNA genlerinin transkripsiyonu ise kendi promotorları tarafından düzenlenir^{46,48,49}.

miRNA genlerinin yarısından fazlası kanser ile ilişkilendirilmiş gen bölgelerinde veya kromozomda boşluk ya da kırıkların görüldüğü spesifik genomik bölgeler olarak tanımlanan kırılgen bölgelerde bulunur. Bu durum miRNA'ların neoplazi patogenezinde yeri olduğunu da gösterir⁴³.

d. mikroRNA Biyogenezi ve Fonksiyonları

Hücre döngüsü ve büyüme üzerine düzenleyici etkileri olan küçük, protein kodlamayan RNA türü olan miRNA'lar, RNA polimeraz II (pol II) tarafından sentezlenmektedir. Yapılan son çalışmalar ile birçok farklı miRNA lokusunda RNA polimeraz III (pol III) ile ilişkili tekrar dizilerinin gösterilmesi pol III'ün de miRNA transkripsiyonunda önemli yeri olduğunu göstermiştir⁵⁰⁻⁶¹.

miRNA oluşumundaki adımları sırayla inceleyecek olursak. İlk önce miRNA genlerinden primer miRNA (pri-miRNA)'ların transkripsiyonu gelişir. Akabinde pri-miRNA'ların nükleus içinde prekürsör miRNA (pre-miRNA)'lara çevrilir. Son olarak da sitoplazma içinde olgun miRNA oluşur⁶²(Şekil 1).

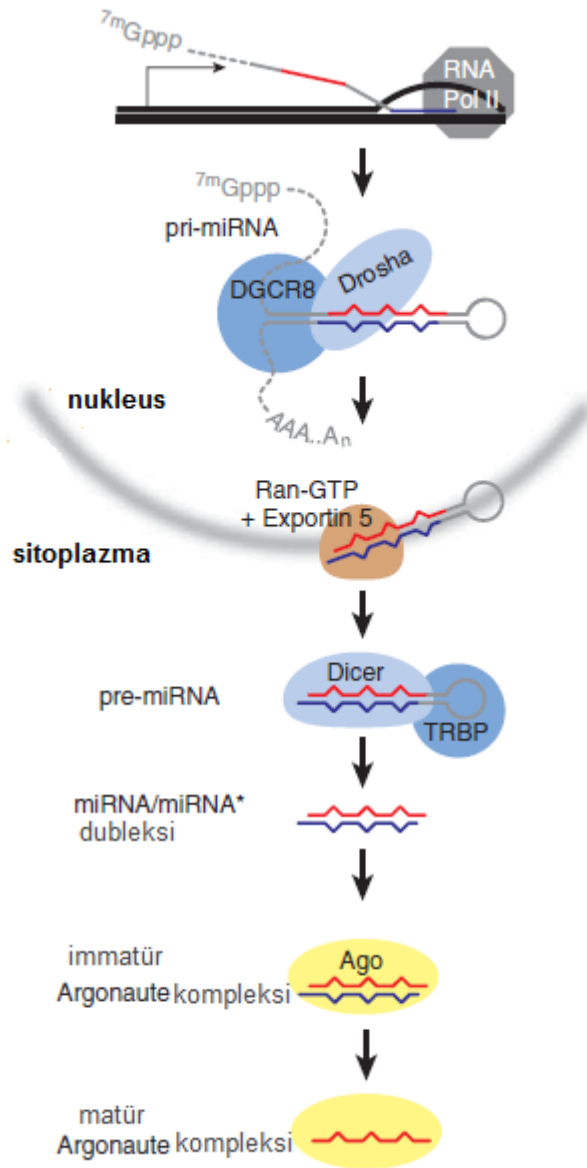


Şekil 1. mikroRNA biyogenezini.

miRNA'lar, primer transkript (pri-miRNA) olarak RNA polimeraz enzimi yardımı ile DNA'dan sentezlenir. Primer transkript "poli A" ve "cap" kuyruğuna sahiptir ve saplı, ilmikli yapı içerir. Nükleusta bir endonükleaz olan Drosha ve onun kofaktörü olan çift iplikli RNA bağlayıcı bir protein olan Pasha yardımı ile pre-miRNA'ya çevrilir. Drosha ve Pasha'nın birleşimiyle oluşan yapı mikroişlemci kompleks olarak adlandırılır⁴⁵.

Mirton adı verilen bazı miRNA'lar Drosha işlemini pre-miRNA şeklinde birbirine eklenmiş bütün intronları uzatarak atlar³⁸. Bir nükleer taşıma reseptörü olan Exportin 5 ve nükleer bir protein olan RAN-GTP'ye bağımlı bir şekilde pre-miRNA molekülü sitoplazmaya taşınır⁶³. RNAaz III enzimi ailesinden bir endonükleaz olan Dicer, TAR RNA bağlayan protein (TRBP) veya Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) aktive eden protein (PACT) ile etkileşimde bulunarak sitoplazmada pre-miRNA'ı parçalayarak çift

zincirli, 18-24 nükleotid uzunluğunda miRNA dubleksine dönüştürürler⁶⁴. Dicerin diğer fonksiyonu da RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi (RNA İndüklenmiş Baskılayıcı Kompleksi; RISC) oluşumunda kilit rolü olmasıdır⁶⁵. Pre-miRNA'nın saplı, ilmikli yapısı dicer tarafından kesildikten sonra miRNA dubleksinden sadece bir tanesi RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksine katılır. RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksinin ihtiva ettiği RNAaz olan Argonaute'un yardımı ile bu iki iplikten 5' ucu daha kararlı olanı seçilip komplekse katılır. Bu komplekse dahil olan yapı kılavuz iplik (guide iplik) olarak isimlendirilir. Diğer kılavuz olmayan ve yolcu iplik olarak adlandırılan iplik RISC kompleksi tarafından sindirilir. miRNA'lar aktif RISC kompleksine katıldıktan sonra, ya Argonaute proteinleri aracılığıyla mRNA'nın yıkımına ya da protein translasyonunun engellenmesine neden olurlar (Şekil 2)⁶⁶.

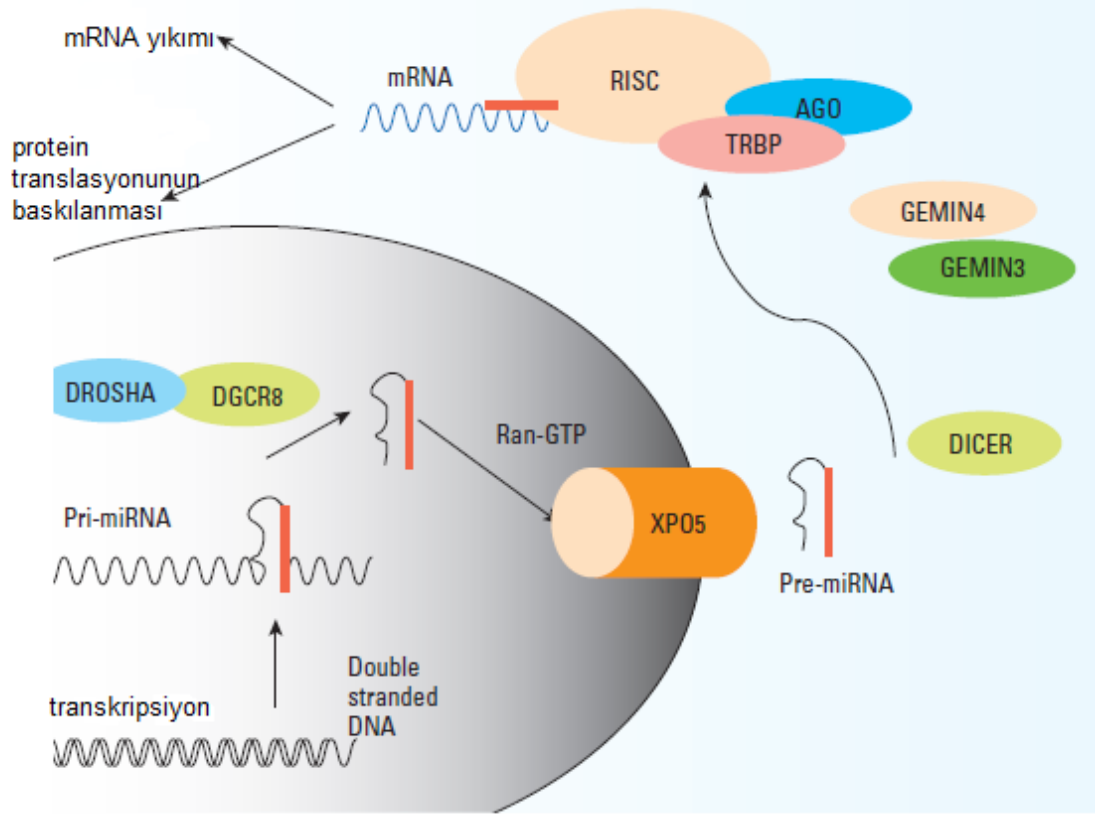


Şekil 2. miRNA oluşumu⁶⁶.

MikroRNA'ların Fonksiyonu

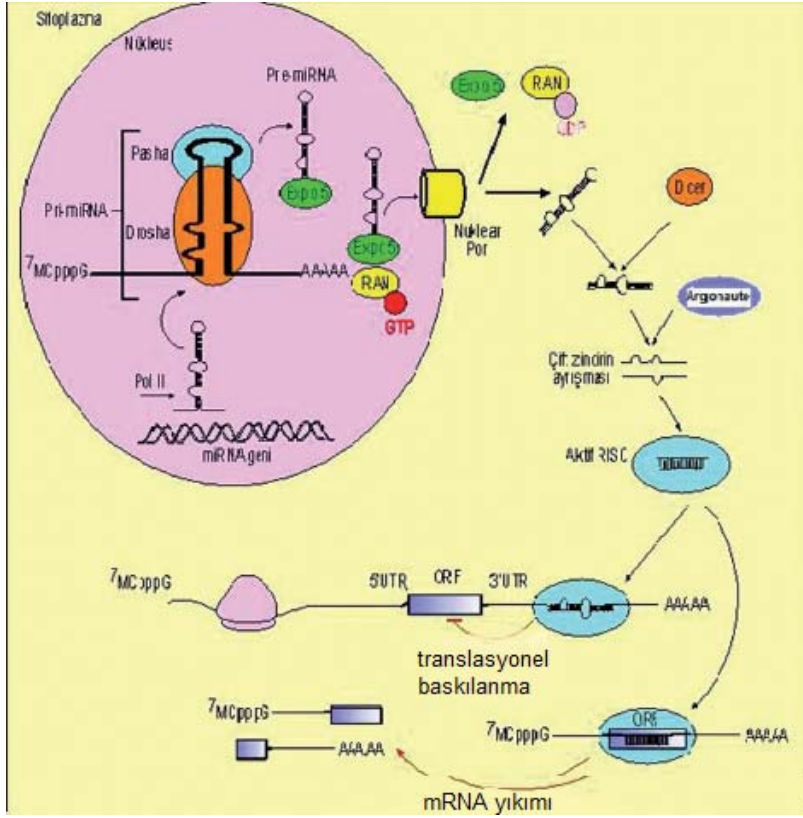
Olgun miRNA'lar hedef genlerin ekspresyonunu azaltarak protein sentezinin düzenlenmesine katılırlar. MiRNA'lar kendi nükleotid dizilerini tamamlayıcı hedef genleri tanıma özelliğine sahiptir. Kendi nükleotid dizilerine komplementer hedef genleri tanıma özelliğine sahip miRNA'lar, RISC ile kompleks oluşturup baz çiftleşme özelliği ile mRNA'ya bağlandıktan sonra protein translasyonunun inhibisyonuna ya da mRNA'nın yıkımına sebep olur⁶⁷. MiRNA'ların her birinin birden fazla mRNA'nın

ekspresyonunu düzenleyebildiği ve mRNA'ların her birinin de birden fazla miRNA tarafından hedeflenebildiği saptanmıştır⁶⁸(Şekil 3)⁶⁷.



Şekil 3. miRNA oluşumu ve fonksiyonu⁶⁷.

miRNA, hedef mRNA'nın 3' ucundaki translasyona uğramayan bölgesine (Untranslate Region-UTR) ya da hedef mRNA'nın ORF (Open Reading Frame- açık okuma çerçevesi) bölgesine bağlanır ve bağlanma pozisyonu miRNA kompleksinin mRNA'ya nasıl komplementer olduğuna bağlı olarak değişiklik gösterir. Translasyona uğramayan bölgesine bağlandığında; kusurlu, eksik tamamlayıcılıkla ve translasyonun baskılanmasıyla sonuçlanır. ORF bölgesine bağlandığı takdirde bağlanma kusursuz, eksiksiz tamamlayıcılığı gösterir ve sonuçta Argonaute2 (Ago2) tarafından mRNA'nın yıkımı gerçekleşir⁶⁹. miRNA'lar birden çok mRNA salınımını düzenleyebildiği gibi mRNA'ların her biri de birden çok miRNA tarafından hedeflenebilir (Şekil 4)⁷⁰.



Şekil 4. miRNA biyogenezini⁷⁰.

miRNA'lar hücre fonksiyonu ve bütünlüğünü sağlayan, düzenleyici küçük moleküller olarak bilinirler. Apoptozis ile organogenez ve gelişmedeki hücre arasındaki iletişim gibi birçok biyolojik süreçlerden sorumlu olduğu kabul edilir. Sadece bir miRNA'nın birçok geni düzenlediği düşünüldüğünde, miRNA'ların doğru bir hücre fonksiyonu için gerekli olduğu sonucuna varılabilir. miRNA salınımindaki değişiklikler birçok ciddi hastalığa yol açabilmektedir. Ayrıca, miRNA ekspresyon profilleri hastalık durumu ile ilişkilidir. Bu nedenle hastalıkların tanısında ve takibinde yeni biyomarker olarak kullanılabilen yönünde görüşler vardır^{71,72}.

miRNA'ların genetik nedenli salınım değişikliklerine delesyonlar, amplifikasyonlar veya translokasyonlar gibi genom değişiklikleri neden olmaktadır. miRNA kodlayan dizideki delesyonlar o miRNA salınıminin azalmasına, bunun sonucunda mRNA'nın baskılamadan kurtulmasına ve sonuç olarak mRNA'dan kodlanan proteinin artmasına neden olur. Amplifikasyonlar ise miRNA miktarını artırarak hedef mRNA'nın etkinliğini ve ürünü olan proteini azaltır.

Translokasyonların etkisi değişkendir, yer değiştiren DNA parçasının yerleşme yerine göre artırıcı veya azaltıcı yönde etkisini gösterebilir. Bunlar dışında; miRNA ya da mRNA'yı kodlayan genlerdeki nokta mutasyonuna bağlı değişiklikler, miRNA-mRNA uyumunu değiştirerek translokasyonlar gibi artırıcı veya azaltıcı etki yapabilir. Ayrıca, epigenetik değişiklikler ve miRNA'nın kodlandığı genin promotor etkinliğindeki değişiklikler de miRNA'nın salınım düzeyini etkileyebilir⁷³⁻⁷⁷.

Dolaşımda miRNA'lar

Yapılan çalışmalarda, sağlıklı bireylerde dolaşımda bazı ortak miRNA'lar olduğu bildirilmiřtir⁷⁸. Bu bilgi bize farklı fizyolojik durumlarda ve kimi hastalıklarda çeşitli miRNA tiplerinin serumda arttığı düşünülerek dolaşımdaki miRNA'ların tanısıl amaçlı kullanılmasını sağlayabilir. miRNA'lar hücre içerisinde işlev göstermektedirler. Fakat bu miRNA'ların serum, plazma, tükrük, idrar ve anne sütü gibi örneklerde ekstrasellüler olarak bulunabildikleri gsterilmiřtir⁷⁸⁻⁸⁴. Normalde serumda yüksek RNAaz aktivitesi olmasına rağmen miRNA'lar oldukça kararlı moleküllerdir. Aynı Şekilde miRNA'ların yüksek ısı, yüksek pH gibi koşullara da oldukça dirençli olduğu bilinmektedir⁷⁸. Eksozom, vezikül ve protein-miRNA komplekslerinin, hücreler arasında transfer edilebileceği düşünülmektedir. Kimi yayınlarda, miRNA'ların eksozom ve apoptotik cisimler gibi küçük membranöz veziküller içinde kimi yayınlarda ise protein-miRNA kompleksleri oluşturarak serumda RNAaz aktivitesinden korunduğunu belirtilmiřtir⁸⁵⁻⁹⁰. miRNA'lar serumda çoğunlukla HDL, AGO2 ve NPM1 moleküllerine bağlanmaktadır. miRNA'ların bu yapılarla bağlı Şekilde hücrelerden aktif yolla sekresyona uğrayıp ekstrasellüler alana geçerek hedef mRNA'yı içeren hücreler tarafından alındığı düşünülmektedir. Fetal miRNA'ların da bahsedilen mekanizmalarla maternal seruma geçtiği bilinmektedir. Dolayısıyla, son derece stabil olan ve fetusa ait bu küçük RNA'ların maternal serumda saptanabilmesi ile hastalıkların tanı ve takibinde miRNA'ların marker olarak kullanılması mümkün olabilir^{91,92}.

Gebelik ve miRNA

Anne serumunda fetal hücreler ilk kez 1893'te Schmorl'ün preeklampsi nedeniyle hayatını kaybeden hasta serumlarını incelediğinde bu serumlarda trofoblastlara rastlamasıyla ortaya konulmuştur. 1990'larda anne serumunda fetal çekirdekli eritrositlerin incelenmesi yöntemiyle anöploidinin prenatal tanısı için sonuç elde edilmeye çalışılmıştır^{93,94}.

Hücre bağımsız fetal DNA'nın anne serumunda taranması noninvaziv prenatal tanı alanında gösterilen çok önemli bir durumdur. miRNA'ların fizyolojik reaksiyonlardan kanser patogenezinde kadar pek çok yerde rol oynadığı keşfedilince bu küçük RNA moleküllerinin, sağlıklı gebelik sürecinde ve gebelik komplikasyonlarındaki yeri hakkında birçok çalışma yapılmıştır. Kanserli ve normal hücrelerle yapılan birçok çalışma olmasına karşın, gebelik ve süreçleri ile yapılan çalışmalar henüz çok yenidir. Yapılan çalışmalarda embriyonik kök hücrelere ve embriyonun gelişiminin erken fazlarına özgü bazı miRNA'ların salınım paternlerinin değişiklik gösterdiği görülmüştür. Plasental kökenli olduğu bilinen koryokarsinomlu hücreler, normal trofoblastlarla karşılaştırıldığında bazı miRNA'ların koryokarsinomda daha az salındığı gösterilmiştir^{95,96}.

Günümüzde ise plasental kaynaklı miRNA'ların anne serumundaki konsantrasyonlarındaki değişimin gelişme geriliği gibi gebelik komplikasyonlarının saptanmasında bir marker olarak kullanılabileceği düşünülmektedir⁹⁷.

İmplantasyon döneminde miRNA'lar

Menstruel siklusta, endometrium birçok immün mekanizma ile implantasyona uygun bir hal alması için hazırlanır. Bu endometrial reseptivite birçok enzim, protein ve anjiogenik faktör gibi mediatörler sayesinde gelişir. Bu reseptivite ile ilişkili mediatör salınımındaki değişimler uygunsuz doku rejenerasyonu, disfonksiyonel uterin kanama, embriyo implantasyonunda başarısızlık gibi birçok endometrial kaynaklı patolojiye neden olabilir. Güncel verilere bakıldığında miRNA'lar gen salınım paternlerini değiştirerek endometriumda inflamatuvar yanıtta etki ederler^{98,99}.

Yapılan fare deneylerinde implantasyon ve öncesi dönemlerde çeşitli miRNA'ların salınımındaki değişim gösterilmiştir. Yapılan bir çalışmada 32 tane miRNA'nın salınımında reseptif fazda artış görülmüştür. miR-101 ve miR-199a'nın implantasyonda önemli rolü olan siklooksijenaz-2(Cox2) geni üzerinden etki ettiği yine bu çalışmada gösterilmiştir¹⁰⁰.

Plasentadan salınan miRNA'lar

Gebelik esnasında günümüzdeki veriler ışığında miRNA salınımı çok büyük ölçüde plasentadan ve fetal beyin dokularından gerçekleşmektedir¹⁰¹. 19. kromozomdaki C19MC bölgesi, varlığı plasentada da gösterilen bilinen en geniş miRNA kümesini temsil eden gen bölgesidir.

microRNA	Bortolin-Cavaillé	Bentwich	Liang	Miura	microRNA	Bortolin-Cavaillé	Bentwich	Liang	Miura
miR-498	✓	✓	✓	✓	hsa-mir-519a-2	✓			
hsa-mir-512-1	✓				miR-519b	✓	✓	✓	
hsa-mir-512-2	✓				miR-519c	✓	✓	✓	
miR-512-3p			✓		miR-519d	✓	✓	✓	✓
miR-512-5p			✓		miR-519e	✓	✓	✓	
hsa-mir-515-1	✓		✓		miR-520a	✓	✓	✓	✓
hsa-mir-515-2	✓		✓		miR-520b	✓	✓	✓	
miR-515-3p		✓	✓		miR-520c	✓	✓	✓	
miR-515-5p			✓	✓	miR-520d	✓	✓	✓	
hsa-mir-516-1					miR-520e	✓	✓	✓	
hsa-mir-516-2	✓				miR-520f	✓	✓	✓	
miR-516-3p		✓	✓		miR-520g	✓	✓	✓	
hsa-mir-516-4	✓				miR-520h		✓	✓	
miR-516-5p					miR-521-1		✓	✓	
hsa-mir-516b2-3	✓				miR-521-2	✓	✓	✓	
miR-517a	✓	✓	✓	✓	miR-522	✓	✓	✓	
miR-517b	✓		✓		miR-523	✓	✓	✓	
miR-517c	✓	✓		✓	miR-524	✓	✓	✓	
miR-518a		✓	✓	✓	miR-525	✓	✓	✓	
hsa-mir-518a-1	✓				miR-525-3p				✓
hsa-mir-518a-2			✓	✓	miR-525-5p				✓
miR-518b	✓	✓	✓	✓	miR-526a		✓	✓	
miR-518c	✓	✓	✓	✓	miR-526a-1	✓		✓	
miR-518d	✓	✓	✓	✓	miR-526b		✓	✓	✓
miR-518e	✓	✓	✓	✓	miR-526c		✓	✓	
miR-518f	✓	✓	✓	✓	miR-527		✓	✓	
miR-519a		✓		✓	hsa-mir-1283-1	✓			
hsa-mir-519a-1	✓				hsa-mir-1283-2	✓			
					miR-1323	✓			

Şekil 5. Maternal serum ya da plasentada görülen, 19. Kromozom C19MC- miRNA¹⁰¹⁻¹⁰³

Bu gen bölgesinde 43'ü sıralı ve klonlanmış olmak üzere 54 adet miRNA'nın var olduğu belirtilmiştir^{100,101}. miRNA'ların bu gen bölgelerindeki mutasyonlar, dublikasyonlar gibi değişimler sonucu salındığı bilirse de, bu miRNA'ların salınımının tamamı bu gen kümelerinden mi gerçekleşir sorusunun yanıtını günümüzde bilinmemektedir.

C19MC gen bölgesi hipermetilasyonu çalışmasında, demetilasyon yapan ajanların, bu geniş gen kümesine etkimesiyle miRNA salınım paterninde artışı olduğu saptanmıştır. Bazı mide kanseri türlerinde hipermetilasyonun , p16 ve E-cadherin gibi tümör supresör genleri baskılayarak kanser gelişiminde rol oynadıkları bilinmektedir. Plasentada ise mide kanserine ters olarak hipermetile alanlar çok fazla görülmemiştir. Ve yine plasentadan miRNA salınmasıyla distal bölgede CpG metilasyon durumu arasında ilişki saptanmıştır^{101,102}.

İnsan embriyo gelişiminde ise C19MC bölgesindeki gen kümesinde yazılıma uğrayan genler, belli aralıklarla embriyonun çeşitli bölgelerinde ve plasentadan miRNA salınımına neden olurlar¹⁰². Trofoblastlardaki hipoksiye bağlı 6 adet miRNA'nın(miR-93, miR-205, miR-224, miR-335, miR-451 ve miR-491) arttığı ve 1 adet miRNA'nın azaldığı kimi çalışmalarda gösterilmiştir¹⁰³⁻¹⁰⁶. Araştırmalar plasental gelişim için gerekli gen bölgelerinden FGFR1 ve MAP2K'nın miR-424 tarafından kontrol edildiğini, yine plasental gelişim için önemli MED1 gen ekspresyonunun miR-205 tarafından susturulduğunu göstermektedir. MİR-205'in hematopoetik ve üreme sistemi tarafından eksprese olduğu bilinse de yüksek ölçüde trofoblastik hücrelerce salındığı bilinir¹⁰⁵. miR-205 plasenta epitel hasarında adaptasyonu sağlar. Toksikite maruziyeti ve plasental hasara bağlı miRNA salınımında değişiklik olur. Sigara maruziyetine bağlı olarak plasentadan miR-16, miR-21 ve miR-146a salınımı azalmıştır. Hücre ölümsüzlüğüne neden ve koryodesidüadan derive olan TCL-1 onkogen salınımını etkileyen miR-146 doz bağımlı olarak nikotin ve benzodiazepin miktarına göre azalmaktadır. Çalışma sonuçları kesin olmamakla birlikte miR-146'nın hücre stresinde etkin rol aldığı ve trofoblastik hücreleri; TCL-1, HTR8 yardımı ile ölümsüzleştirdiği gösterilmektedir^{106,107}.

Yine miRNA salınım profillerinin preeklampside değiştiği gösterilmiştir. Bir çalışmada 14q32.31 gen bölgesinden eksprese olan miR-210, miR-1 ve miR-34C-5p salınım paternlerinde preeklampside değişiklik izlenmiştir¹⁰⁸. Başka bir çalışmada ise miR-15b, miR-181a, miR-200C, miR-210, miR-296-3p, miR-377, miR-483-5p ve miR-493 salınımlarında preeklampside değişiklikler görülmüştür¹⁰⁹. Bu iki çalışmada miR-210'daki salınım farklılığının birbiri ile uyumlu olduğu gösterilmiştir.

Koryokarsinomdaki trofoblastlar ile sağlıklı gebelerdeki trofoblastlar miRNA salınım profili açısından karşılaştırıldığında, koryokarsinomda miR-9, miR-96, miR-

203, miR-372 ve miR-200a salınım düzeylerinde artış saptanırken; miR-199a, miR-199-s, miR-199s, miR-154, miR-370, let-7b, miR-299, miR-134 ve miR-199b düzeylerinde azalma saptanmıştır⁹⁶. Bu çalışma grubunda mir-199b'nin trofoblastik proliferasyonda anahtar rol oynadığı hatta koryokarsinomda hücre çoğalmasını inhibe ettiği söylenmektedir. Günümüze kadarki bilgilerde desidua ve plasentayı çevreleyen trofoblastik hücrelerin miRNA salınım paterni ile ilgili edinilen bilgiler sınırlıdır. Let-7a ve miR-320, desidulizasyon sırasında blastokistler tarafından salınırlar^{110,111}. MiRNA-222'nin endometrial stromal hücre farklılaşmasında en önemli etken olduğu düşünülmektedir¹¹². Desidual ya da plasental immün hücrelerde miRNA salınımı ile ilgili bilgiler ise oldukça kısıtlıdır.

Embriyonik kök hücreler ve miRNA

İnsan embriyonik kök hücrelerinde de C19MC gen kümesine benzer şekilde miRNA salınımı ile ilişkili gen kümeleri büyük çoğunluğu 19. kromozom ve X kromozomunda lokalize olmuşlardır^{113,114}. Yapılan çalışmalarda 7'si (miR-200c, miR-368, mir-154, miR-371, miR-372, miR-373 ve miR-373) kuvvetli olmak üzere toplam 36 adet miRNA, insan embriyonik kök hücre kontrolüyle ilişkili olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada let-7a, miR-301, miR-374, miR-21, miR-29b ve miR-29 insan embriyonik kök hücre gelişim ve farklılaşmasında rol aldığı gösterilmiştir. Kimi uzmanların görüşüne göre miRNA'ların insan kök hücre gelişim ve farklılaşmasında birincil etken olduğu belirtilmektedir. Böylelikle hedef miRNA'ların tanımlanması bize insan embriyonik kök hücre gelişim ve farklılaşmasındaki karışık mekanizmanın anlaşılmasını sağlayabilir¹¹⁴.

Yine insan embriyonik kök hücre ve farelerde yapılan miRNA çalışmaları sonucunda mir-17 ailesi, miR-17-5p, miR-20a, miR-93 ve miR-106a'ların farklı düzeylerde anlamlı şekilde fare embriyoları gelişimi ve kök hücre farklılaşması sırasında salındıkları gösterilmiştir. miR-93 ve miR-17-5p'nin embriyo gastrik mezoderminden salındığı, özellikle de miR-93'ün farklılaşmamış endoderm ve blastokistin trophektoderminden salındığı belirtilmiştir¹¹⁵.

Bir başka çalışmada, farelerde implantasyon öncesi dönemdeki gelişim basamaklarında kimi miRNA'ların salınımında anlamlı değişiklikler olduğu gösterilmiştir. İleri araştırmalar sonucu implantasyon öncesi gelişimin farklı

basamaklarındaki dar aralıklarda dahi miRNA salınımında dramatik değişiklikler olduğu gösterilmiştir. Blastokist trophektodermden geliştiği düşünülen 8 adet miRNA'nın (miR-297, miR-96, miR-21, miR-29c, let-7, miR-214, miR-125a, miR-424) salınımında artış olduğu ve miR-376a'nın salınımında ise azalma olduğu saptanmıştır. Blastokist derivesi kök hücre farklılaşması sırasında let-7 ailesi ve miR-24 artmaktadır. Bu gelişim evresinde miR-24'ün etki ettiği kök hücre markerı olan sdx2 seviyesi ise azalmaktadır¹¹⁶.

Fetomaternal immünite ve miRNA ilişkisi

Fetomaternal immünite ile ilişkili olan genler, miRNA'lar tarafından baskılanarak fetüse karşı oluşacak immünite reaksiyonunun engellendiği bilinmektedir. Bu baskılama trofoblastik invazyonu olmadığı dönemde, miRNA'ların HLA-G'ye etki etmesiyle sağlanır. HLA-G gebelikte immünitenin ana sorumlusu olmakla birlikte; gebelikte immüntolerasyon gelişimi, inflamatuvar yanıt, otoimmün hastalık ve bazı kanser çeşitleri gibi durumlarda rol oynar¹¹⁷. Anormal HLA-G salınımı yaklaşık meme kanser lezyonları olan hastaların %70'inde görülmekte ve kötü prognozu da göstermektedir¹¹⁸. HLA-G ve miRNA arasındaki ilişkiyi gösteren bir çalışmada hipermetilasyona uğrayan miR-148 ve miR-152, primer meme kanseri kesitlerinde görülmüş olup bu miRNA'ların HLA-G salınımına etki ederek meme kanseri oluşumunda rol oynadıkları düşünülmüştür. HLA-G ve miRNA arasındaki ilişki JEG-3 (koryokarsinom hücreleri) ilgili yapılan çalışmada doğrulanmıştır. MiR-152'nin aşırı salınımı, HLA-G artışını baskımlarken; JEG-3 hücre invazyonuna etki etmeksizin, JEG-3 hücrelerinde natürel killer (NK) hücreleri aracılığıyla yapılan sitolizi arttırarak immün yanıtı katkı sağlar¹¹⁹.

Gebelikte anne serumundaki miRNA

Plasenta kaynaklı anne serumunda dolaşan miRNA'lar, annenin gebeliğe adaptasyonunu, immun toleransı önemli ölçüde arttırarak sağlarlar. Anne serumunda C19MC gen kümesi yardımıyla salınan sayısız miRNA tespit edilmiştir⁹⁹. Kanda artmış düzeyde bulunan plasental DNA ve RNA düzeyleri klinikte preeklampsi veya intrauterin gelişme geriliği gibi plasental yetmezliğe neden olan durumlarla ilintilidir¹²⁰. Anne serumunda saptanan miRNA miktarının plasenta kütlesi ve gebelik trimesteri ile ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar da vardır. Yapılan çalışmalarda miR-141, miR-149, miR-299-5p ve miR-135b plasentada en yüksek düzeyde bulunan miRNA'lardır ve aynı zamanda serumda da önemli ölçüde bulunmaktadırlar. Gebelik trimesterına göre serumda saptanan miRNA'lar da değişmektedir. Bununla birlikte bazı miRNA'lar (miR-526a, miR-527, 520d-5p vs) gebelikte 600 kata kadar serumda artış gösterebilirler¹²¹.

Gebelerde anlamlı ölçüde artan miRNA-424 ve miR-200'ün, değişik çalışmalarda lösemi ve meme kanseri gibi malignitelerle ilişkili olabileceği belirtilmiştir^{118,122}.

Preeklampsi ve miRNA

2007 yılında ilk kez preeklamptik hastalarda, normal hastalarla karşılaştırıldığında plasentalardan miRNA salınım farklılıkları saptanmıştır. Çalışmada 157 miRNA incelenmiştir ve bunlardan 153'ü plasental dokuda saptanmışlardır. Çalışma sonucunda öncelikle mir-210 ve mir-182 salınımında artış saptanmıştır. MiR-210 sinsityotrofoblastlarla etkileşim içerisindedir ve hedef dokularda immun yanıt artışı, apoptozis ve lipid metabolizması üzerine etkileri vardır. Bu çalışmaların ışığında anne serumunda artan miR-210 seviyelerinin, prenatal dönemde preeklampsi öngörüsünde noninvaziv bir yöntem olarak kullanılabileceği düşünülmüştür⁵.

Bu plasentada artan miR-210 seviyeleriyle doğru orantılı olarak serum düzeylerinin de artacağı hipotezi öne sürülmüştür. Ve benzeri birçok çalışmada olduğu gibi biz de preeklampsinin prenatal dönemde öngörülmesinde noninvaziv ve

etkili bir yöntem bulmak; hastalık patofizyolojisi ve orjini üzerine araştırma yapmak üzere anne serumunda preeklampitik hastalarda biyomaker olabileceği düşünölen miRNA'ların salınım paternini inceledik.

GEREÇ ve YÖNTEM

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda Ocak 2013- Haziran 2013 tarihleri arasında kliniğimize başvuran 31 tane preeklampsisi olan gebe çalışmaya dahil edilmiştir. Kontrol grubunu 32 sağlıklı gebe oluşturmuştur. Yapılan güç analizi sonucu %5 I. Tip hata ve %80 güç (II. Tip hata 0,20) koşulları altında, miRNA ekspresyonu bakımından preeklampsi ve kontrol grupları arasında 35 birimlik bir farklılığın (etki büyüklüğü 35) tespit edilebilmesi amacıyla her grupta minimum 21 bireylik örneklem genişliği gereksinimi olduğu hesaplanmıştır. Güç analizi MedCalc v.12.1.4 paket programı ile yapılmıştır. Bu hastalar prospektif olarak takip edilmişlerdir. Çalışmaya alınan hastalardan EDTA'lı tüplere 3-4 ml periferik kan örneği alındı.

Yenidoğanların kiloları doğumhane hemşiresi tarafından, doğum sonrası ölçüldü ve gebelik yaşına göre 10.persantilin altında doğum ağırlığı olan bebekler intrauterin gelişme geriliği olarak kabul edildi.

Araştırmaya dahil edilme kriterleri;

Kontrol grubu:

- 20 ile 40 gebelik haftasında olan normal sağlıklı gebeler
- Herhangi bir ek medikal sağlık problemi olmayan gebeler
- Tekil gebeliği olanlar
- 18 yaş ve üzerinde olan gebeler

Hasta grubu:

- 20 ile 40 gebelik haftasında olan preeklampsi tanısı almış gebeler
- Tekil gebeliği olanlar
- Preeklampsi haricinde ek medikal problemi olmayan gebeler
- 18 yaş ve üzerinde olan gebeler

Araştırmadan dışlanma kriterleri;

- 20 hafta ile 40 gebelik haftası dışında olan gebeler
- Çoğul gebeliği olanlar
- Preeklampsi dışında ek medikal hastalıkları olan gebeler
- Gebelik öncesi hipertansiyonu olan hastalar

Çalışma Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulun 20/12/2012 tarihli ve 20/12/413 sayılı kararınca onaylandı ve çalışmaya katılan tüm bireyler çalışma hakkında bilgilendirilerek yazılı onamları alındı. Çalışma için demografik bilgileri içeren bir form hazırlandı. Hastanın yaşı, cinsiyeti, kronik rahatsızlıkları, laboratuvar değerleri, gebelik öyküleri, ultrasonografi ve doğuma ait tüm bilgiler not alındı.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler:

3.2.1. Kullanılan Cihazlar

- -80 °C Soğutucu (Heto Ultrafreeze)
- Buzdolabı (Indesit)
- Derin Dondurucu (Uğur)
- 8 kanallı pipet (Gilson)
- 16 kanallı pipet (Gilson)
- Dynamic Array 96.96, Katalog no: (Fluidigm)
- Yüksek kapasiteli RT-PCR Sistemi, Katalog No: (Fluidigm, Biomark, USA)
- LightCycler 480 Real-Time PCR System (Roche Applied science)
- Santrifüj (Sigma k-15-1, Almanya)

3.2.2 Kullanılan Malzemeler

- High Pure miRNA Isolation Kiti: Katalog no: (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)
- Tüp (2×50), toplama tüpleri (2×50)
- 1.5 ml'lik ependorf (DNase, RNase Free)
- 0.5'lik ependorf (DNase, RNase Free)
- 96 Well PCR Plate, Katalog no (USA Scientific)

- PCR Plate Film, Katalog No: (USA Scientific)
- DNA süspansiyon buffer
- TaqMan PreAmp Master Mix, 2X Katalog no: (Applied Biosystem)
- MegaPlex PreAmp Primers (10X), Human Pool A v2.1 Katalog no: (Applied Biosystem)
- MegaPlex PreAmp Primers (10X), Human Pool B v3.0 Katalog no: (Applied Biosystem)
- 8'li strip tüp
- MegaPlex RT Primers Human, Pool A v2.1, Katalog no: (Applied Biosystems)
- MegaPlex RT Primers Human, Pool B v3.0, Katalog no: (Applied Biosystems)
- TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit, 200 Katalog no: (Applied Biosystems)
- Reverse Transcriptase (ABI)
- RNase Inhibitor
- DNase, RNase Free Water
- MgCl₂
- Sample & Assay LoadingKit, Katalog no: (Fluidigm)
- RNU48

Yapılan çalışma üretici firmanın (Fluidigm PN:100-1616 B2) önerdiği yol izlenilerek gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. MikroRNA Analizi:

3.2.3.1. Serum Eldesi:

Kan örnekleri 10µl'lik normal tüplere alınarak en geç 2 saat içerisinde işleme alındı.

1. Tüpler 15 dk süreyle 4000 rpm de santrifüj edildi.
2. Santrifüj işleminin ardından tüpler sarsmadan dikkatlice santrifüjden çıkarıldı. Tüpün üst kısmında toplanan serum dikkatlice temiz bir mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı.

3. Mikrosantrifüj tüpleri ait oldukları hastaların bilgileriyle numaralandırıldıktan sonra -80°C de işleme alınacağı güne kadar beklemesi amacıyla dondurucuya kaldırıldı.

3.2.3.2. MikroRNA İzolasyonu:

MikroRNA izolasyon kiti (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) kullanılarak toplanılan serumlardan miRNA izolasyonu yapıldı.

1. Serum örneklerinden $150\mu\text{l}$ 'lik kısım DNase, RNase free mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı.
2. Her bir mikrosantrifüj tüpüne $312\mu\text{l}$ lik Binding buffer ve 200ml Binding Enhancer eklenerek karıştırıldı.
3. Filtreli tüp toplama kabına aktarılan örnekler 1 dk süreyle 13000g de santrifüj edildi ve ardından toplama kapları atıldı.
4. Filtreli tüpler temiz toplama kaplarına alınarak üzerine 500 ml Wash Buffer eklendi ve 30 sn süreyle 13000g de santrifüj edildi. Toplama kapları atıldı.
5. Filtreli tüpler temiz toplama kaplarına alındı ve üzerine $300\mu\text{l}$ Wash Buffer eklendi. Bu işlemi takiben önce 30 sn ardından 1 dk olmak üzere 13000g de santrifüj edildi.
6. DNase, RNase free mikrosantrifüj tüplerine aktarılan filtreli tüplerin üzerine $50\mu\text{l}$ Elution Buffer eklendi. Örnekler 1dk süreyle oda sıcaklığında inkübe edildi ve ardından 13000g de 1 dk santrifüj edildi.
7. Bu işlemler sonucunda elde edilen total RNA bir sonraki işleme kadar -80°C de saklandı.

3.2.3.2.1. MikroRNA Taqman cDNA Protokolü:

1. RNA örnekleri -80°C den çıkarıldı ve erimeye bırakıldı. Ardından 30 sn santrifüj edilerek cDNA protokolü hazırlanana kadar soğuk blok üzerinde bekletildi.
2. Aşağıdaki karışım hazırlanarak temiz 8'li strip tüplerin (0.3ml) her bir kuyusuna $42\mu\text{l}$ olarak pipetlendi.

Karışım: (Kullanılan Kit: Applied Biosystems (PN 4444750, 4366596))

• MegaPlex RT Primers (10X) A (Applied Biosystems, PN 4401009) veya B (Applied Biosystems, PN 4401010)	60.00 µl
• dTTP'li dNTP (100mM)	15.30 µl
• MultiScribe Reverse Transcriptase (50U/ µl)	115.00 µl
• 10X RT Buffer	61.30 µl
• MgCl ₂ (25mM)	69.00 µl
• RNase Inhibitor (20U/ µl)	7.60 µl
• Nükleazlardan arındırılmış su	16.80 µl

Toplam: 345.00 µl

3. 8'li stip tüplere aktarılan bu karışımdan 3 µl, 8 kanallı pipet kullanılarak 96 kuyuluk PCR plate dağıtıldı.
4. RNA örneklerinin bulunduğu 96 kuyuluk platen, 8 kanallı pipet 2 µl'ye ayarlanarak RNA örnekleri alındı ve cDNA karışımları üzerine eklendi. 5-6 kez pipetajlanarak RNA örneklerinin cDNA karışımı ile iyice karışması sağlandı.
5. Platein yüzeyi yapışkanlı film sağlam bir şekilde örtülerek 1 dk santrifüj yapıldı ve ardından 5 dk süreyle inkübasyon için buz üzerine bırakıldı.
6. miRNA TaqMan cDNA Thermal Protokülü üstten ısıtma özelliği olan bir thermal cycler da aşağıda bahsedilen programa göre çalıştırıldı.

-miRNA TaqMan cDNA Termal Program

• 16 °C	120 sn	} 40 döngü
• 42 °C	60sn	
• 50 °C	1 sn	

- 85 °C 300sn
- 4 °C ∞

3.2.3.2.2. MikroRNA TaqMan PreAmplifikasyon Protokolü:

1. cDNA örneklerinin bulunduğu 96 kuyuluk plate -80°C'den çıkarılarak erimeye bırakıldı ve ardından 30 sn santrifüj edildi.
2. 8 kanallı pipet kullanılarak 2 µl cDNAörnegi yeni bir 96 kuyuluk plate aktarıldı. Üzerine 8 µl DNA Suspension Buffer eklenerek pipetaj yapıldı.
3. PCR karışımı 96 örnek (95 cDNA örneği+1 Negatif kontrol) için aşağıdaki reaktifler hazırlandı ve 8'li strip tüpün her bir kuyucuğuna 62 µl pipetlendi

Kullanılan Kit: Applied Biosystems (PN 4444750, 4391128)

-TaqManPreAmpMaster Mix,2x (AppliedBiosystems, PN4391128)
287.50 µl

-MegaPlexPreAmpPrimers (110X) (AppliedBiosystems, PN4401009-PN4401010)
57.50 µl

Toplam: 345.00 µl

4. 8 kanallı pipet 3 µl'ye ayarlanarak yukarıdaki karışım temiz bir 96 kuyuluk plate aktarıldı. 96 kuyucuğun her birine işlem tekrarlandı.
5. Dilüe edilmiş cDNA örnekleri az önce hazırlanan PCR karışımı üzerine 2 µl şeklinde 8 kanallı pipet kullanılarak aktarıldı. Pipetaj yapılarak iyice karışmaları sağlandı.
6. Platein üzerine yapışkanlı film ile kaplanarak 1 dk süreyle santrifüj edildi ve ardından 5 dk süreyle inkübasyona bırakıldı.
7. miRNA TaqMan PreAmp Thermal Protokolü aşağıda belirtildiği şekilde üstten ısıtma özelliği olan bir thermal cycler da çalıştırıldı.

-PreAmp Thermal Program

- 95 °C 600sn
 - 55 °C 120sn
 - 72 °C 120 sn

 - 95 °C 15sn
 - 60 °C 240sn
- } 18döngü
- 99.9 °C 600sn
 - 4 °C ∞

8. PreAmplifikasyon sonunda 2 µl PreAmp cDNA'ları temiz bir 96 kuyuluk plate aktarıldı. Üzerine 18 µl DNA suspansiyon Buffer koyularak 1:10 olacak şekilde sulandırıldı.

9. PreAmp cDNA'lar aynı gün kullanılacaksa 4 °C ye, fakat kullanılmayacaksa -80°C' ye saklandı.

Bu protokol Pool A ve B preamp primerleri için ayrı ayrı olmak üzere cDNA A ve B olarak iki panel şeklinde uygulanmıştır.

-miRNA analizi:

cDNA'lar Dynamic Arrayler üzerinde 714 miRNA için Yüksek Kapasiteli Real-Time PCR sistemi (Fluidigm, Biomark, USA) kullanılarak analiz edildi.

3.2.3.3. Dynamic Array 96.96'nın Hazırlanması:

Bir adet Dynamic Array 96.96 olarak paketi açıldı. Üst ve alt kısımlarında bulunan küçük hücrelere her hücreye bir enjektör olmak koşuluyla Control Fluid'lar yüklendi. Dynamic Array 96.96 yı IFC Controller' a yerleştirildi ve PRIME edildi. Bu işlem 20 dk kadar sürmektedir, bu süre esnasında aşağıdaki işlemler yapıldı:

3.2.3.3.1 Örnek ve PCR Karışımının Hazırlanması:

1. Aşağıdaki karışım 96 örnek için (95 cDNA örneği+1 Negatif kontrol) hazırlandı (ölü hacimler hesaba katılmıştır)

• TaqMan Universal PCR Master Mix (No AmpErase UNG)	490.00 µl
• GE Sample Loading Reagent (Fluidigm, PN85000746)	49.00 µl
	<hr/>
	Toplam: 539.00 µl

2. Yukarıdaki karışımdan 8'li srip tüpe her bir kuyucuğa 65µl olacak şekilde pipetlendi.

3. Temiz bir 96 kuyuluk plate alındı ve yukarıdaki karışımdan 3.85 µl her bir kuyucuğa pipetlendi. Daha sonra 8 kanallı pipet kullanılarak 3.15 µl dilüe preamplifiye cDNA'lar alınarak karışım üzerine pipetlendi. Her pipetlemede pipetaj yapılarak örneklerin iyice karışması sağlandı.

4. Bütün örnekler bu şekilde karıştırıldıktan sonra Master mix+ diluted PreAmplified cDNA'nın her birinden 5 µl alarak dikkatli bir şekilde Dynamic Array 96.96da SAMPLE şeklinde işaretli bölüme pipetlendi.

3.2.3.3.2. ASSAY Karışımının Hazırlanması:

1. Çalışmaya başlamadan önce A ve B assay plateleri, toplamda 30 µl DNase/RNase free su ve Assay Loading Reagent ile 1:1 olacak şekilde çözüldü.

2. Çözülen assaylerden 4.5 µl alınarak Dynamic Array 96.96 da ASSAY şeklinde işaretli bölüme pipetlendi.

3. Assay plate aynı gün içinde kullanılacaksa 4 °C'de aksi taktirde -20 °C'ye kaldırıldı.

4. Dynamic Array 96.96 IFC Controller'a konularak LOAD program çalıştırıldı.

3.2.3.3.3. MikroRNA TaqMan Dynamic Array Protokolü

1. Load ve Mix işlemi bitince BioMark Data Collection software de Start'a New Run'a tıklandı. Bu arada BioMark üzerindeki ışıkların ikisinin de yeşil olmasına dikkat edildi. Çünkü bu lambanın aşıldığını ve cihazın hazır olduğunu gösterir. Dynamic Array 96.96 BioMark'a yerleştirildi ve Load'a tıklandı.
2. Chip Run File ekranında 'This is a new chip run'a tıklandı. Dosyayı nereye kaydedeceğimiz ve dosyanın isminin ne olacağı seçildi ve Next'e tıklandı.
3. Application, Reference and Probes ekranında Application bölümünde Gene Expression'u Passive Reference bölümünde ROX ve Assay bölümünde ise Single Probe işaretlendi ve aşağıda açılan kısımdan FAM-MGB I seçildi ve Next'e tıklandı.
4. Protokol olarak GE 96.96 Standart V1 thermal protokolü seçildi ve Auto Exposure'un seçili olduğundan emin olundu ve Next'e tıklandı.
5. Start Run'a tıklayarak çalışma başlatıldı.

3.3. İstatistiksel Analiz

Hasta ve kontrol gruplarında parametrelerin normal dağılıma uygunluk kontrolleri Shapiro Wilks testi ile test edilmiştir. Normal dağılıma uyan gruplarda sürekli yapıdaki veriler için tanımlayıcı istatistik olarak ortalama ve standart sapma, uymayan gruplarda ise medyan ve yüzdeler değeri verilmiştir. Kategorik yapıdaki parametreler için sayı ve yüzde değeri verilmiştir. İki grup arasında ortalama farklılıkların testinde dağılımın şekline bağlı olarak Student t testi ve Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Kategorik değişkenler arasındaki ilişkilerin analizine ki kare testi ile bakılmıştır.

İstatistik anlamlılıkta $p < 0.05$ alınmıştır. İstatistik analizlerde SPSS 11.5 paket programları kullanılmıştır.

BULGULAR

Bu çalışmaya kontrol grubundan 32 (%50.8) sağlıklı gebe, hasta grubunda ise 31 (%49.2) tane preeklampsili gebe dahil edildi. Çalışmadaki toplam hasta sayısı 63 olmakla birlikte, yaş bakımından elde edilen istatistiksel veriler, kontrol grubunun yaş ortalamasının 29.47 yıl, hasta grubunun yaş ortalamasının 29.9 yıl olduğunu göstermiştir. Yaş açısından hasta ve kontrol grubu arasındaki fark anlamlı değildir ($p=0.792$) (Tablo 2).

Gebelik öncesi vücut kitle indeksi (VKİ) ve doğum anındaki BMI açısından kontrol grubundaki gebeler ile gebeliğinde preeklampsi gelişen grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 2).

Çalışmaya dahil edilen preeklampitik hasta grubunun %35.5'i nullipar iken, kontrol grubunun % 37.5'i nullipar idi. Aradaki fark istatistiksel açıdan anlamlı değildir ($p > 0.05$) (Tablo 2).

Preeklampitik hasta grubunun ortalama sistolik kan basıncı değeri 157.74 ± 13.83 (130.00-180.00) mmHg, diastolik kan basıncı değeri 96.94 ± 8.63 (80.00-120.00) mmHg idi. Kontrol grubu hastaların ortalama sistolik kan basıncı değeri 108.44 ± 12.60 (70.00-120.00), diastolik kan basıncı değeri 70.00 ± 6.84 (30.00-80.00) mmHg idi. Gruplar arasındaki bu fark student t testi ile değerlendirildiğinde istatistiksel açıdan anlamlı idi ($p < 0.05$) (Tablo 2).

Gruplar arasında trombosit değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0.05$, student t testi) (Tablo 2).

Her iki gruptaki AST ve ALT değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$) (AST için $p=0.175$, student t testi; ALT için $p=0.141$, student t testi) (Tablo 2).

Preeklampsisi olan olan grubun proteinüri (+), (++) , (+++) ve (++++) pozitifliği ortalamaları sırası ile %25.8, %25.8, %29 ve %19.4 olup kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p=0.001$). Kontrol grubundaki 32 hastanın idrarında protein negatif bulunmuştur (Tablo 2).

Tablo 2. Olguların klinik ve demografik özellikleri.

	Preeklampsi (n= 31)	Kontrol (n= 32)	P değeri
Yaş	29.90 ± 6.66	29.47 ± 6.33	0.792
Nulliparite	%35.5 (n=11)	%37.5 (n=12)	0.868
BMI (gebelik öncesi)	24.31 ± 4.88	23.53 ± 2.73	0.434
BMI (doğumda)	28.35 ± 3.56	27.61 ± 2.17	0.321
Sistolik KB	157.74 ± 13.83	108.44 ± 12.60	<0.001
Diastolik KB	96.94 ± 8.63	70.00 ± 6.84	<0.001
Biyokimyasal parametreler			
Trombosit	196145 ± 101312	224562 ± 63851	0.186
AST	82.94 ± 267.94	16.13 ± 6.08	0.175
ALT	62.16 ± 173.97	14.84 ± 6.33	0.141
Proteinüri	0	%100 (n=32)	<0.001
	+1 %25.8 (n=8)	-	
	+2 %25.8 (n=8)	-	
	+3 %29 (n=9)	-	
	+4 %19.4 (n=6)	-	

Preeklamptik gebelerden 1'inde (%3.2) anhidroamnios, 19'unda (%61.3) oligohidroamnios, 9'unda (%61.3) normohidroamnios ve 2'sinde (%6.5) polihidroamnios olduğu görülmüştür. Kontrol grubu gebelerin 31'inde (%96.9) normohidroamnios ve 1'inde (%3.2) polihidroamnios olduğu görülmüştür. Bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p<0.001$, kıkare testi) (Tablo 3).

Preeklamptik hasta grubunun ortalama umbilikal arter S/D oranı 2.86 ± 0.5 , kontrol grubu hastaların ortalama umbilikal arter S/D oranı 2.32 ± 0.34 olarak izlendi. Gruplar arasındaki bu fark student t testi ile değerlendirildiğinde istatistiksel açıdan anlamlı idi ($p<0.001$) (Tablo 3).

Tablo 3. Preeklampsi-kontrol gruplarının Ultrasonografi Bulguları

	Preeklampsi	Kontrol	p
AFİ	Anhidroamnios	-	<0.001
	Oligohidroamnios	-	
	Normohidroamnios	%96.9 (n=31)	
	Polihidroamnios	%3.1 (n=1)	
Umbilikal Arter S/D	2.86 ± 0.51 (n=29)	2.32 ± 0.34 (n=32)	<0.001

AFİ:Amniotic Fluid İndeksi S/D: ultrasonografi dopplerde sistolodiastolik oran
(Anhidroamnios<50,Oligohidroamnios:50-80,Normohidroamnios:80-200,Polihidroamnios>200)

Preeklampitik hastalarda ortalama doğum haftası 33.81 ± 4.34 iken, kontrol grubunda ortalama doğum haftası 38.94 ± 1.08 idi. İki grup doğum haftaları açısından karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.001$) (Tablo 4).

Preeklampitik gebelerden 7'sinde (%22.6) doğum vajinal yol ile olurken, 24'ü (%77.4) sezaryanla doğum yaptı. Kontrol grubu gebelerin 22'sinde (%68.8) doğum vajinal yol iken olurken, 10'unda (%31.2) doğum sezaryan ile gerçekleşti. Bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p < 0.001$) (Tablo 4).

Yenidoğan doğum kiloları her iki grupta karşılaştırıldığında aralarındaki fark t testine göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$) . Preeklampitik hasta grubunda ortalama doğum ağırlığı kontrol grubuna göre daha düşük bulundu (Tablo 4).

Her iki çalışma grubunda yenidoğan cinsiyeti açısından kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p = 0.166$) (Tablo 4).

Preeklampitik gebelerin 14'ünde (%45.2) IUGR saptanırken, kontrol grubu gebelerin 1'inde (%3.2) IUGR saptanmıştır. Bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulundu. ($p < 0.001$) (Tablo 4).

Çalışmamızda fetal iyilik halini gösteren APGAR 1. ve 5. dakika skorlarına ve doğum kordon kanı ph'sına bakıldığında preeklampsi hastalarının APGAR 1. ve 5. dakika median değerleri sırasıyla 7 ve 8 olup, kontrol grubu hastalarının APGAR 1. ve 5. dakika median değerleri sırasıyla 9 ve 10 olarak izlenmiştir. Ve aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.001$) (Tablo 4).

Bu çalışmada doğum sonrası alınan kord kanı ph'ları, preeklampsi ve kontrol grubu arasında karşılaştırıldığında, preeklampsi kord kanı ortalama ph: 7.28 ± 0.17 kontrol grubu kord kanı ortalama ph: 7.36 ± 0.04 olarak görülmüştür ve bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p = 0.017$) (Tablo 4).

Tablo 4. Gruplar arası obstetrik sonuçların karşılaştırılması

	Preeklampsi	Kontrol	p
Doğum Haftası	33.81 ± 4.34	38.94 ± 1.08	<0.001
Doğum Ağırlığı	2040.65 ± 859.41	3367.50 ± 343.20	<0.001
Doğum Şekli;			<0.001
Sezaryen	%77.4 (n=24)	%31.2 (n=10)	
Vajinal	%22.6 (n=7)	%68.8 (n=22)	
Fetal Cinsiyet;			0.166
Erkek	%41.9 (n=13)	%59.4 (n=19)	
Kız	%58.1 (n=18)	%40.6 (n=13)	
Doğum kord kanı ph	7.28 ± 0.17	7.36±0.04	0.017
APGAR 1. dakika	7 [4 - 8]	9[8.25 – 9]	<0.001
APGAR 5. dakika	8 [7 - 9]	10 [10- 10]	<0.001
IUGR	45.2% (n=14)	3.2% (n=1)	<0.001

Preeklampsi ile kontrol grubu arasında yapılan belirli miRNA'ların ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılmasında (Tablo 5), Kontrol grubuna göre preeklampsi hastalarında miR-218-5p, miR-24-3p, miR-191-5p, miR-328, miR-29a-3p, miR-132-3p, miR-197-3p, miR-375, miR-210 anlamlı olarak artan bir ekspresyon seviyesine sahip olduğu, miR-191-5p, miR-17-5p ve miR-302b-3p'nin anlamlı olarak azalan bir ekspresyon seviyesinin olduğu görülmektedir ve aralarında anlamlı bir istatistiksel ilişki olduğu bulunmuştur ($p \leq 0.05$).

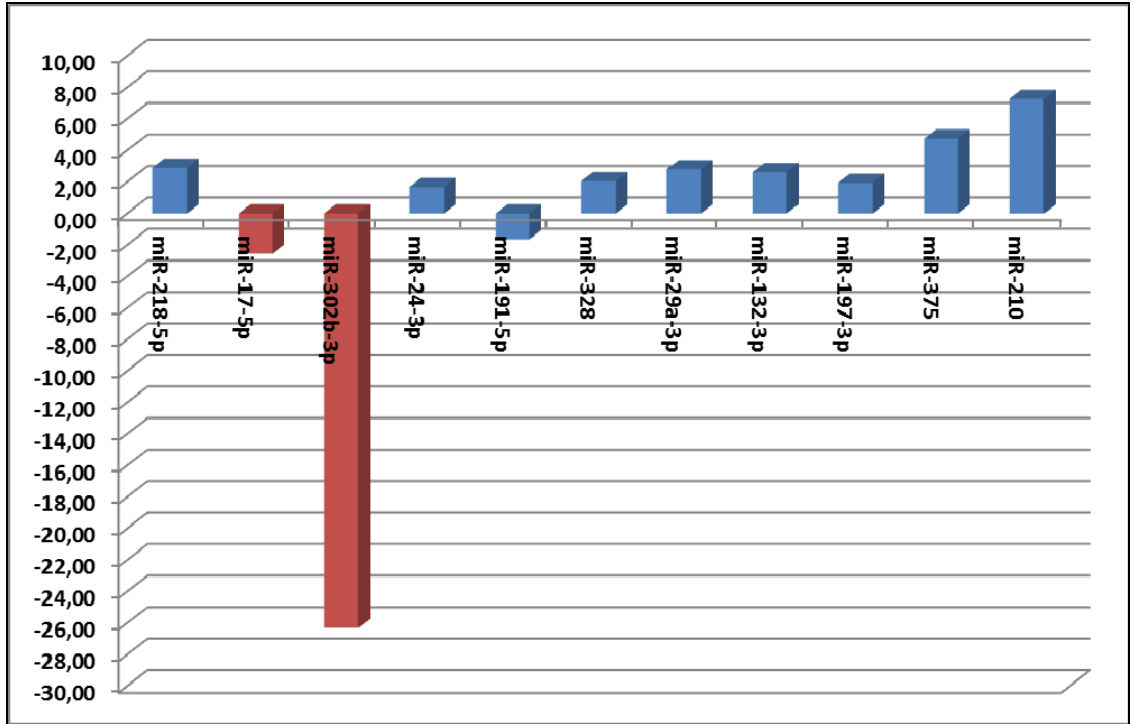
Tablo 5. Preeklampsi ve kontrol grubunda plasma miRNA salınımı karşılaştırması

miRNA	Kontrol		Preeklampsi		FC	P
	Δ Ct (Ort \pm SD)		Δ Ct (Ort \pm SD)			
miR-142-3p	9.10	0.25	7.49	1.57	3.04	.076
miR-218-5p	7.92	1.59	6.39	2.69	2.89	.030
miR-125b-5p	3.42	2.11	3.74	2.44	0.81	.542
miR-152	5.39	2.21	4.89	2.36	1.41	.700
miR-17-5p	-0.93	0.94	0.44	1.86	0.39	.002
miR-128	8.60	1.28	8.05	1.56	1.46	.386
miR-302b-3p	-2.15	9.22	3.29	2.44	0.04	.027
miR-24-3p	-2.42	0.72	-3.17	1.29	1.68	.000
miR-191-5p	0.32	1.05	1.03	1.23	0.61	.016
miR-328	4.23	1.40	3.20	1.94	2.04	.018
miR-29a-3p	8.13	0.77	6.64	1.42	2.81	.010
miR-132-3p	6.99	1.29	5.61	1.50	2.61	.009
miR-197-3p	6.57	1.40	5.61	0.94	1.94	.024
miR-342-3p	5.80	0.86	6.18	1.06	0.77	.185
miR-375	5.09	1.72	2.85	2.00	4.75	.010
miR-210	8.82	0.81	5.96	2.57	7.28	.045
miR-486-5p	9.08	0.84	8.14	2.21	1.91	.221
miR-107	7.22	1.25	.	.	NAN	
miR-139-5p	3.70	1.59	3.90	1.80	0.87	.686
miR-214-3p	7.78	1.08	7.82	2.06	0.97	.859

(SD; standard deviasyon. FC; ekspresyon değışimi. Δ Ct; global mean normalizasyon değerine göre (eşik değeri) olan fark)

TABLO 6. Kontrol grubuna göre preeklampsi de anlamlı bulunan miRNA ekspresyon oranları

miR-218-5p	2,89
miR-17-5p	-2,57
miR-302b-3p	-26,31
miR-24-3p	1,68
miR-191-5p	-1,64
miR-328	2,04
miR-29a-3p	2,81
miR-132-3p	2,61
miR-197-3p	1,94
miR-375	4,75
miR-210	7,28



Şekil 6. Preeklampsi ve kontrol grubu karşılaştırması sonucunda, preeklampside anlamlı ölçüde azalan ve artan miRNA değişimleri

Preeklampsi grubu içerisinde şiddetli ve hafif preeklampsi şeklinde gruplandırma yapıldığında 16 (%51,6) şiddetli, 15 (%48,4) hafif preeklampsi olduğu görülmüştür. Preeklampsi de salınım profilinde anlamlı değişiklikler saptanan miRNA'ların salınım profilleri, şiddetli ve hafif preeklampsi grupları arasında karşılaştırılmıştır. Preeklampside salınım profilleri değişen miRNA'ların salınım profillerinde bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir.

(tablo7)

TABLO 7. Hafif ve şiddetli preeklampsi grupları arasında miRNA ekspresyon oranları

miRNA	Hafif Preeklampsi		Şiddetli Preeklampsi		P
	Mean	Std. Deviation	Mean	Std. Deviation	
miR-218-5p	5.4667	2.62911	7.3067	2.64261	0.394
miR-17-5p	-.1645	1.72497	.8500	1.88973	0.178
miR-128	6.82	.262	9.28	1.075	0.333
miR-302b-3p	4.28	2.482	1.33	.	0.667
miR-24-3p	-3.4345	.89688	-2.9875	1.51057	0.716
miR-191-5p	.7791	1.21081	1.2321	1.24987	0.434
miR-328	2.9100	1.76053	3.4900	2.14196	0.3
miR-29a-3p	6.35	1.464	6.75	1.556	1
miR-132-3p	5.9517	1.85180	5.3114	1.19412	0.628
miR-197-3p	5.4120	1.09041	5.8356	.74160	0.4
miR-375	5.7600	.	2.5233	1.82568	0.2
miR-210	7.0800	1.52915	2.5800	.	0.5

TARTIŞMA

Preeklampsi, perinatal mortalite ve morbiditenin önde gelen sebeplerinden biridir. Hastalığın kaynağı halen net olarak bilinmemektedir. Çok yüksek oranda 20. gebelik haftasından sonra yeni başlayan hipertansiyon ve proteinüri ile karakterizedir. Preeklampsi kardiovasküler, renal, hematolojik, hepatik ve santral sinir sistemi üzerine etkisi ve bu sistemde meydana getirdiği patolojik değişikliklerle maternal morbidite ve mortaliteye neden olur. Aynı zamanda oluşan bu patolojik değişiklikler fetoplasental dolaşımı bozarken, fetüsün hayatı da tehlikeye girmektedir. Kesin tedavisi doğumdur. Preeklampside maternal spiral arteriyollerin sitotrofoblastlar tarafından yetersiz invazyonu sonucunda oluşan hipoksik plasentanın, maternal dolasıma sistemik endotelyal disfonksiyona yol açabilecek birtakım faktörler saldığı bilinmektedir. Bu evrede preeklampsinin klinik bulguları olan hipertansiyon ve proteinüri ortaya çıkar.

Plasental dokuda ve trofoblastlarda birçok miRNA tanımlanmıştır. MiRNA'ların, trofoblastik hücre proliferasyonu, migrasyonu, invazyonu, apoptozisi ve angiogenezi gibi plasentada birçok görevi bulunmaktadır. Birçok gebelik komplikasyonlarında olduğu gibi miRNA'ların preeklampside de salınım paterni değişmektedir. Biz bu çalışmada, değişen miRNA düzeylerinin hastalığın patofizyolojisinin anlaşılmasında fayda sağlayabileceğini ve hastalığın öngörülmesinde bir biyomarker olarak kullanılacağını düşünüp, literatüre katkı sağlamayı amaçladık.

Preeklampsi risk faktörleri arasında erken yaşta gebe kalınması bulunmaktadır, Bu nedenle preeklampitik gebelerin yaş ortalamasının normal gebelerin yaş ortalamasından daha düşük olması beklenir. Bu çalışmada preeklampitik gebelerin yaş ortalaması ile kontrol grubundaki gebelerin yaş ortalaması arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.792$). Bu bulgunun literatürlerle uyumsuz olmasının nedeni çalışmadaki toplam hasta sayısının yeterince çok olmaması ve çalışmanın planlamasında hastaların çalışmaya dahil edilmesinde yaş sınırlaması yapılması olabilir.

İlk gebeliklerin hastalığı olarak da bilinen preeklampside nulliparite bir risk faktörü olarak bilinmektedir¹⁰. Çalışmamızda preeklampsi ve kontrol grubu arasında nulliparite ve multiparite oranları kıyaslandığında istatistiksel anlamlı bir fark gözlenmemiştir (p=0.868). Bu farklılığın oluşmasının nedeni hasta ve kontrol grubundaki gebe sayısının yetersiz olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda preeklampsi ve kontrol grubundaki gebelerin gebelik öncesi vücut kitle indeksi arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmamıştır (p=0.434), Hasta ve kontrol grubu VKİ'lerinin normal sınırlarda olduğu (sırasıyla; 24.31 ± 4.88 ve 23.53 ± 2.73) izlenmiştir. Her iki grup arasında, doğum yaptıkları gün VKİ'lerine bakıldığında normalin üstü (overweight) sınıflamasında oldukları görülmüş olup, gruplar arasında VKİ açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (sırasıyla; 28.35 ± 3.56 ve 27.61±2.17) (p=0.321). Anderson ve ark.'larının yapmış olduğu çalışmada preeklampsi hastalarında VKİ'nin normalin üstünde olduğu saptanmıştır¹²³. Mbah ve arkadaşlarının çalışmasında ise erken başlangıçlı preeklampsi de hastaların vücut kitle indeksinin, geç başlangıçlı preeklampsilere göre yüksek olduğu tespit edilmiştir¹²⁴.

Preeklampside de olması beklediği gibi hasta grubu ile kontrol grubu arasında sistolik ve diastolik tansiyon arteriyel değerleri arasında fark olması beklenir⁴⁰. Çalışmamızda preeklampsi grubu sistolik TA değeri 157.74 ± 13.83 mm/Hg, kontrol grubu sistolik TA değeri 108.44 ± 12.60 mm/Hg olarak değerlendirildi. Diastolik TA değeri ise hasta grubunda 96.94 ± 8.63 mm/Hg, kontrol grubu diastolik TA değeri 70.00 ± 6.84 mm/Hg olarak saptanıp, iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0.001). Aynı şekilde preeklampsi ve kontrol hasta grupları arasında proteinüri açısından da istatistiksel olarak fark anlamlı izlendi⁷ (p<0.001).

Trombositopeni, tanı almış preeklampside görülen en sık anormalliklerin başında gelir. Preeklamptik gebelerde trombosit yarı ömrü sağlıklı gebelerle kıyaslandığında belirgin olarak düşüktür. Trombositopeni oranı hafif preeklampside %7, ağır preeklampsi eklampside %30-50'larda görülmüştür⁸. Preeklampside kompanse olmuş trombositolitik durum vardır. İmmun olmayan yüzey komşuluğundaki trombosit aktivasyonuna ikincil oluşan periferel trombosit yıkımına

bağlıdır. Trombositopeni ve karaciğer fonksiyon testleri yüksekliği, HELLP sendromunun bulguları olup ciddi bir preeklampsi komplikasyonudurlar.

Çalışmamızda preeklampsi hastaları ortalama trombosit sayısı $196145,16 \pm 101312,49$, kontrol grubu ortalama trombosit sayısı $224562,50 \pm 63851,61$ olup, iki grup arasında trombosit sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.186$). AST ve ALT enzimlerinin yüksekliği preeklampside beklenen bir bulgudur⁸. AST ve ALT değerleri, preeklampsi hastaları ve kontrol hastaları arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturacak bir sonuç bulunmamıştır (sırayla $p=0.175$ ve $p=0.141$) (tablo 2). Çalışmamızda trombosit, AST ve ALT gibi laboratuvar değerleri açısından gruplar arasında farkın istatistiksel olarak anlamlı çıkmamasının nedenini standart sapma aralığındaki genişliğe bağlayabiliriz.

Preeklampside maternal ve fetal mortalite; morbiditenin azaltılması nedeniyle tek kesin tedavinin de doğum olduğu göz önüne alındığında gebeliğin sonlandırılmasının en kısa zamanda olması doğru bir düşünce gibi görünmektedir. Bozhinova ve ark.'larının, 2004 yılında yaptıkları çalışmada gebeliğinde preeklampsi gelişen hastaların %60'ında preeklampsinin, 25-30 gebelik haftaları arasında geliştiği görülmüştür. Doğum genellikle indüksiyonla veya sezaryen ile termden önce gerçekleştirilmiş olup preeklampsi gelişen hastaların doğumlarının % 47.62 oranında sezaryen ile gerçekleştiği saptanmıştır¹²⁵. Çalışmamızda preeklampsi gebelerden %22.6'sında doğum vajinal yol ile olurken, %77.4'ünde ise sezaryenle doğum gerçekleşmiştir ($p<0.001$) (tablo 4). Preeklampsi ve kontrol grubu karşılaştırıldığında preeklampside sezaryen ile doğumun anlamlı olarak artmış olduğu izlendi ($p<0.001$).

Preeklampsi ve kontrol grupları doğum yaptıkları gestasyonel haftalar ve fetal doğum ağırlıkları ortalamaları ile karşılaştırıldığında preeklampsi hastaları için ortalama doğum haftası 33.81 ± 4.34 , fetal doğum ağırlığı ortalaması ise 2040.65 ± 859.41 gram olarak hesaplanırken kontrol grubundaki gebeler için ortalama doğum haftası 38.94 ± 1.08 fetal doğum ağırlığı ortalaması ise 3367.50 ± 343.20 gram hesaplandı. Preeklampsi gebelerin doğum haftaları ortalaması ve fetal doğum ağırlığı ortalaması istatistiksel olarak kontrol grubundaki gebelerden düşük olarak saptandı ($p<0.001$) (Tablo 4) Gebelik trimesteri ve plasental kitleye bağlı serum miRNA düzeylerinde

değişiklik olduğunu belirten çalışmalar olmakla birlikte, çalışmamızda preeklampsi ve kontrol grubu hastalarda serum miRNA' ları , hastaların doğum yaptığı gün alınmış olup kontrol ve preeklampsi grupları arasında doğum haftaları açısından anlamlı istatistiksel fark izlenmiştir ($p < 0.001$). Fakat her iki gruptaki serum örneklemeleri üçüncü trimesterde yapılmıştır. Çalışmamızda plasental kitle ölçümü yapılmamıştır.

Lydakis ve ark.¹²⁶, gebelikte hipertansiyon gelişen hastalarda, normal obstetrik popülasyona göre artmış erken doğum oranı, düşük doğum ve çok düşük doğum ağırlıklı bebek doğurma oranı ve sezaryen ile doğum oranı saptamışlardır ve bu çalışmanın sonuçları bizim çalışmamız sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Fetal iyilik halini gösteren biyofizik profilinin de bir parametresi olan amnion sıvı miktarının 300mL'den az olması oligohidroamnios olarak tanımlanır. Azalmış uteroplazental perfüzyon ve birçok mediatör nedeniyle preeklampside IUGR ile birlikte amnion sıvı miktarında azalma beklenmektedir. Oligohidroamnios ve IUGR'ın gebelikteki hipertansif bozukluklarla görülme sıklığı artmakla birlikte olumsuz perinatal sonuçlarla birlikteliği kuvvetlidir. Çalışmamızda azalmış amnion sıvı miktarı ile preeklampsi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p < 0.001$) (tablo 3). Preeklamptik gebeler ile kontrol grubu gebeler IUGR açısından karşılaştırıldığında preeklampsi grubunda IUGR anlamlı olarak fazla görülmektedir ($p < 0.001$ pearson kıkare testi) (tablo 4). Bu çalışmada ortaya konulan preeklampsi, IUGR ve oligohidroamnios arasındaki ilişki Schucker JL ile arkadaşlarının 1996 yılında yaptığı çalışma ile benzerdir¹²⁷.

Çalışmamızda fetal iyilik halini gösteren APGAR 1. ve 5. dakika skorlarıyla, kord kanı ph değerleri preeklampsi ve kontrol grupları arasında karşılaştırılmıştır. Preeklampsi grubunda kord kanı ortalama ph değeri, APGAR 1.ve 5. dakika değerleri istatistiksel açıdan anlamlı derecede düşük bulunmuştur (tablo 4).Yaprak ve ark. 2009 yılında yaptıkları çalışmada retrospektif olarak 3 yıllık verilere bakılarak 294 preeklampsi ve 108 sağlık gebe kord kanı ph ortalama değeri, APGAR 1.ve 5. dakika skorları açısından karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada, çalışmamızla uyumlu olarak kord kanı ph ortalama değeri, APGAR 1.ve 5. dakika skoru preeklampsi grubunda belirgin olarak düşük görüldü¹²⁸.

Umbral arter, orta serebral arter (MCA) ve duktus venozus doppler incelemeleri fetal dolaşım, uterin arter doppler incelemesi ise plasental dolaşım

hakkında bir göstergedir. Bu tüm doppler bulguları klinik olarak sıklıkla IUGR'in değerlendirilmesinde kullanılırlar. Preeklampside vasküler yatakta artan dirençle birlikte intravasküler akım miktarı azalmaktadır. Fetal perfüzyonun azalmasıyla birlikte diastolik kan akımı azalır ve günler içinde diastol sonu akım kaybı ve ters diastolik akım paterni izlenebilir. Umbilikal arter doppler akımının bozulması için ise plasental yataktaki küçük arteriollerin yaklaşık %60-70'in oblitere olması gerekir. Bu tıkanıklık sonucu artan art yük kendini fetal hipoksi olarak gösterir. Preeklampsi ve IUGR birlikteliğini de göz önüne alırsak, Majör fetal anomali ve aneuploidi dışlandığında umbilikal arter dopplerindeki değişimlerin preeklampside fetal iyilik durumu tayini açısından yeri tartışılmazdır. Bu değerlendirme esnasında artan gebelik haftalarıyla birlikte umbilikal arterde diastolik kan akımında artışın ve bunun sonucu olarak S/D oranı 20. gebelik haftasında yaklaşık 4, 30. haftada 3 ve 40. haftada 2 civarında olacağı ve değerlendirmelerin bu değişime göre yapılmasının gerektiği gözönünde tutulmalıdır. S/D oranının 3'ün üzerinde olması, diastolik akım kaybı ya da geriye dönmüş diastolik akım fetal dolaşımın ciddi anlamda tehlikede olduğunu gösterir¹⁰. Bu bilgiler ışığında preeklampside fetal iyilik halinin bozulduğu durumlarda, umbilikal arter S/D oranında artma beklenen bir bulgudur.

Çalışmamızda preeklampsi grubunda 2 hastada intrauterin eksitus görülmüş olup bu hastalarda doppler parametreleri çalışılmamış olup, 2 hastada ise diastolik akım kaybı görülmüştür. Preeklamptik hasta grubu ile kontrol grubu hastaların ortalama umbilikal arter S/D oranı karşılaştırıldığında, preeklampside artmış S/D oranı olmak üzere gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark izlendi ($p < 0.001$). Spinillo ve arkadaşların çalışmasında da preeklampside artan umbilikal arter S/D oranı ile çalışmamızın sonuçları benzerdir¹²⁹.

Hastalığı ana hatlarıyla anlamak için hastalığın patogenezi bilmek gerekmektedir. Preeklampsi üzerine yapılan birçok çalışmada plasentanın doğumu sonrası semptomların dramatik bir şekilde gerilemesi gösterilmiştir. Trofoblastların spiral arter muskuler tabakasına yetersiz invazyonu, plasentanın hipoksiye bağlı dejenerasyonu ve plasental apoptozis, preeklampside plasental patoloji etyolojisinde öne sürülen ana başlıklardır ve doğrulukları etyolojisinde plasental patoloji düşünülen preeklampsiyi tanımlamada birçok çalışmada desteklenmektedir¹³⁰. Günümüzde

birçok çalışma preeklampsinin öngörülmesine yönelik çalışmalar olup hem materyal hem fetal mortaliteyi ve morbiditeyi azaltmaya yöneliktir.

Hastalığın öngörülmesi amaçlanarak birçok yöntem denenmiştir. Halihazırda en çok kullanılan yöntem uterin arterde akıma karşı direnç gelişmesine sekonder gelişen diastolik çentiklenme olmasıdır¹³¹.

Preeklampsinin öngörülmesinde non-invaziv ve etkin yolun önü anne kanında serbest dolaşan nükleik asitlerle açılmıştır. 1997 yılında maternal kanda hücre dışı serbest fetal DNA (cffDNA)'ı göstermelerinden sonraki 15 yıllık süreçte, anne kanında serbest dolaşan nükleik asitlerle ilgili çalışmalar daha da yoğunlaşmış¹³². Bu yolla preeklampsinin klinik olarak kendini göstermeden öngörülmesi yolunda ilerleme kaydedilmiştir. Buna rağmen maternal kanda serbest fetal DNA taranmasının güvenilirliği, dışı fetuslarda anne ve fetal DNA'nın karıştırılabilmesi, fetal DNA'ların sonraki gebeliklerde görülmesi ve çoğul gebelikler nedeniyle azalmaktadır.

MiRNA keşfiyle birlikte genetik nedenli preeklampsiye neden olan plasental patolojiler konusundaki araştırmalar daha da artmakta ve bu konu daha da anlaşılır hale gelmektedir. miRNA'lar kodlanmayan RNA'lar olup, gen ekspresyonunu düzenler ve preeklampsi gelişimindeki patolojik süreçte önemli rol oynarlar. Protein kodlayan genler gibi düzenlenip, transkripsiyona uğrarlar¹³³.

2007 yılında, Pineles ve ark.'ları ilk kez preeklamptik hastalar (n=9), düşük doğum ağırlıklı (SGA, n=9), SGA+preeklampsili (n=9) ve kontrol grubu olarak da spontan preterm eylem (n=9) olmak üzere gruplar arasında plasental doku örneklerinden miRNA salınımı karşılaştırıldığında öncelikle preeklampsi ve kontrol grubu arasında mir-210 (3 kat) ve mir-182 (2,1 kat) salınımında preeklampside artış olduğu gösterilmiştir, yine mir-210 ve mir-182'nin salınımı, preeklampsi+SGA grubunda kontrol grubuna göre artış göstermiştir. Ve bu artan miRNA'ların prenatal dönemde preeklampsi öngörüsünde birer biyomarker olabileceği düşünülmüştür⁵.

Çalışmamızda preeklampsi ve kontrol grubu karşılaştırıldığında salınımı anlamlı ölçüde artan ve azalan miRNA'lar tablo 6'da görülmektedir.

Oksijen yoksunluğunun preeklampsi, myokard infarktüsü ve stroke gibi iskemik hastalıkların patogenezinde ana rol oynadığı bilinmektedir. Hastalıkların patogenezinde rol oynadığı gibi onkolojide solid neoplastik mikroçevrede olduğu gibi hipoksi varlığı tedavi başarısızlığın nedenleri arasında gösterilebilir. Hipoksiye maruz

kalan hücreler çoğunlukla hipoksiye yanıt olarak alfa ve beta altüniteleri de olan transkripsiyon faktörleri salarlar (HIFs)¹³⁴. Bu nedenle, çalışmalarda hipoksi yanıtına bağlı sinyalizasyon HIF ve etki gösterdikleri moleküller üzerine yoğunlaşmaktadır. Son yıllarda hipoksi etkisine bağlı yeni bir sınıf molekül, microRNA (hipoksimir)'lar dikkati çekmektedir. Bu miRNA'lar arasında mir-210, hipoksi ile etkilenmiş birçok hücre tipinde ve birçok çalışmada benzersiz bir şekilde kendisini göstermektedir. Muhtelif çalışmalarda preeklampsili hastalarda mir-210 salınımında artış izlenmiştir. Buna rağmen, mir-210'un preeklampsi patogenezindeki rolü tam olarak bilinmemektedir. Zhang ve ark.'ları HIF-1 ve buna ek olarak NF-κB'nin mir-210'ye etkiyerek moleküler düzeyde preeklampsi oluşma mekanizmasında rol oynadığını göstermişlerdir¹³⁵. NF-κB bu etkiyi mir-210'un promotor bölgesine bağlanarak sağlar. Zhang ve ark.'larının yaptığı çalışmada yaş, BMI ve kan alındığındaki gebelik haftası arasında fark olmayan 15 şiddetli preeklampsi, 15 hafif preeklampsi ve 15 sağlıklı gebe olmak üzere 45 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Daha önce plasental dokudan preeklampsi de mir-210 salınım artışı gösterilmiştir^{5,136}. Bu çalışmada ise gruplar arasında anne serumunda preeklampside mir-210 düzeyleri incelenmiştir. mir-210 salınımı sağlıklı gruba göre hafif preeklampside 3.27 kat, ciddi preeklampside ise 9.49 kat artmıştır (p<0.001). Bizim çalışmamızda da preeklampsi (n=31) ve kontrol (n=32) grupları arasında mir-210 salınım düzeyine bakılmıştır. Ve preeklampsi grubunda kontrol grubuna oranla 7,28 katlık bir artış görülmüştür (p<0.001). Preeklampsi grubu içindeki 31 hasta, hafif ve şiddetli olarak ayrıldığına ise; 15 hasta hafif, 16 hasta ise şiddetli preeklampsi olarak gruplandırılmıştır. Bu iki grup arasında başta mir-210 olmak üzere salınım profili değişen miRNA'ların salınım profillerinde anlamlı farklılık izlenmemiştir (tablo 7).

Zhang ve ark.¹³⁵, preeklampsi patogenezini araştırmak için sitotrofoblastik hücreleri ayrı ayrı hipokside ve normal oksijen seviyelerinde kültüre bırakmışlardır. Sonuç olarak mir-210'un trofoblastik hücre invazyonunu ve migrasyonunu engellediği görülmüştür. Buna ilaveten hipokside mir-210 salınımının anti-mir-210 ile etkilerinin azaltılmaya çalışılmasına rağmen, bu bulgular ışığında mir-210 salınımına bağlı olarak sitotrofoblastların migrasyon ve invazyon yetilerinin azaldığı söylenebilir. Fasanaro ve ark.¹³⁷ hipoksi ve mir-210'un endotelial hücre migrasyonunu arttırdığını

rapor etmişlerdir. Normal oksijen seviyesindeki dokularda mir-210'un vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) yardımı ile kapil benzeri yapılar oluşturmakta ve hücre migrasyonunu sağlamakta olduğu düşünülmektedir. Buna ters olarak anti-miRNA'nın VEGF'in regüle ettiği kapil benzeri oluşum ve hücre migrasyonunu azalttığı bilinmektedir. Hipoksik ve normal oksijen seviyesi olan ortamda mir-210 aşırı ekspresyonu endotelial hücre gelişimine etki etmese de, anti-mir-210 hücre gelişimini inhibe eder, apoptozisi artırır. Bu ters etkiyi mir-210'un hedeflediği Ephrin-A3 geninin ekspresyonunu azaltarak yaptığı üzerinde durulmuştur. Daha fazlası, lusiferase raporları Ephrin-A3'ün, mir-210'un direkt hedefi olduğunu göstermektedir. Günümüzde Ephrin-A3 gibi en az 35 adet, mir-210'un hedefi olan gen gelirlenmiştir. Tüm bu mekanizmaları açıklamak için çalışmalar ephrin-A3 (EFNA3) ve homeobox gen ailesinin bir üyesi olan; angiogenezde, endotel hücre çoğalmasında ve hücre migrasyonunda kritik rolü olan (HOXA9) genleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu mekanizmalar lusiferase raporları yanısıra realtime quantitative RT-PCR ve Western blot analizi ile doğrulanan bu genler, mrna üzerinden ya da translasyonun baskılanmasıyla etkilerini gösterirler. Yine yapılan invivo çalışmalarda, preeklampside plasental dokuda EFNA3 and HOXA9 genlerinin belirgin şekilde baskılandığı görülmüştür¹³⁸⁻¹⁴¹.

Neden preeklampsili hastalarının plasentasında mir-210 salınımı artarken sağlıklı hastalarda artmıyor sorusunun yanıtına bakacak olursak, artan oksijen seviyelerinin embriyonik hücre proliferasyonu ve farklılaşması için ne derece önemli olduğu bilinmektedir. 11.gebelik haftasına kadar embriyonik mikroçevrenin oksijen ihtiyacı oldukça düşük seviyelerdedir. Sitotrofoblastların arteriyel duvarda yaptığı değişiklikler sonrası oksijen lokal basıncı ~%2.3'lerden %7.8'e çıkar. Normal sitotrofoblastik invazyona uğramakla birlikte artan oksijen miktarı sonucu mir-210 salınımının önüne geçildiği düşünülmektedir. Bu analize göre mir-210 salınımının sitotrofoblastik invazyondan daha sonra olduğu öngörülmektedir. Bu aşamadan sonra hipoksi derecesi ilişkili olarak mir-210 salındığı düşünülür¹³⁶⁻¹³⁸.

Preeklampitik gebelerde miRNA salınım incelenmesi çok büyük oranda plasental dokulardan yapılmakla birlikte, bizim çalışmamızda non-invaziv yol olan anne serum örneğinde miRNA salınım profili bakılması çalışmamızı hastalığın öngörülmesi açısından daha kolay bir yöntem olarak görebiliriz. T. Gunel ve ark.'nın

24-40 gebelik haftasında bulunan, 20 preeklampsi ve 20 sağlıklı gebeden aldığı serum örneklerinde miRNA salınım profilini incelediği çalışması sonucunda preeklampitik gebelerde miRNA salınımında artış olduğu ve preeklampitik grupta mir-210 seviyesinin mir-153'e göre 2 kat artış olduğu gösterilmiştir¹³⁹. Bu çalışmanın, çalışmamızdan temel farkı preeklampsi ve kontrol grubu arasında genel anlamda miRNA salınımı arasında miktar olarak farklılık olup olmadığına bakılmış olması ve kimi miRNA salınım farklılıklarını yalnızca preeklampitik grup içerisinde karşılaştırmış olmasıdır diyebiliriz.

Daniel A. Enquobahrie ve ark.'larının yaptığı çalışmada 20 preeklampsi ve 20 sağlıklı; etnik köken, doğum öyküsü, yaş ve BMI açısından fark olmayan grupların doğum sonrası plasental doku miRNA düzeyleri incelenmiştir. Çeşitli miRNA salınım paternlerinde değişiklikler olmakla birlikte, çalışmamıza ters düşecek şekilde mir-328 salınım paterni kontrol grubuna oranla 1.52 kat azalmıştır. Bizim çalışmamızda anne serumunda bakılan mir-328 düzeyi ise kontrol grubuna oranla 2.04 kat artmıştır. Yapılan bu çalışmada, bizim çalışmamızla uyumlu olacak şekilde mir-210 düzeyinde 1.53 kat olacak şekilde anlamlı bir artış saptanmıştır. Çalışmalar arasındaki temel farkın miRNA salınım paterninin incelenmesinin Daniel A. Enquobahrie ve ark.'larının yaptığı çalışmada plasental dokudan ve bizim çalışmamızda anne serumundan yapılmış olmasıdır¹⁴⁰.

S.Muralimanoharan ve ark.'nın mir-210'un preeklampsideki mitokondrial fonksiyon bozukluğuna neden olduğunu gösteren çalışmada, preeklampsi (n=6) ve sağlıklı gebe plasental dokusu (n=6) arasında, çeşitli miRNA salınım paternleri incelenmiştir. Bu çalışmada mir-328 salınım düzeyi, hasta ve kontrol grupları arasında karşılaştırıldığında, mir-328 açısından gruplar arasında benzer salınım paterni görülmüştür. Yine mir-210 salınımında kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı artış izlenmiştir. Bu çalışmadaki asıl amaç preeklampside var olan mitokondrial disfonksiyonunun, mir-210 salınım artışıyla ilişkisinin saptanmasıdır. Moleküler düzeyde yapılan bir çalışmada örneklem sayısının düşük olması ve plasental dokudan miRNA salınım profilinin çalışılması, bizim çalışmamızla olan temel farklılıklardır¹⁴².

Yapılan bazı çalışmalarda miR-17 ailesindeki miRNA'ların (miR-17, miR-20a ve miR-20b) preeklampsi (n=10) ve sağlıklı gebe(n=10) grupları arasında plasental

dokuda yapılan çalışmalarda; salınım profili karşılaştırıldığında, preeklampitik hastalardaki salınım profilinin artışı dikkat çekmiştir. Anjiogenezde de önemli rol oynadığı söylenen mir-17 ailesi etkilerini erken dönem plasenta gelişiminde kritik rol oynayan EPHB4 ve ephrin-B2 hedef genleri üzerinden gösterirler¹⁴³. Bizim çalışmamızda ise mir-17-5p salınımının preeklampsi hastalarında ile kontrol grubuna göre 2,57 kat daha az olduğu görülmüştür. Bu farklılığın nedeni mir-17-5p ile yapılan çalışma ve hasta örneklem sayısının düşüklüğü olabilir. mir-17 ailesinin preeklampsi patogenezindeki rolü ve önemini anlamak için ileri çalışmalara gerek olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda preeklampsili hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı salınım artışı olan mir-24-3p (1.68 kat) ve mir-29a-3p (2.81 kat)'nin birkaç araştırmada da benzer sonuçlar verdiği görülse de şu anki veriler mir-24-3p ve mir-29a-3p'nin preeklampsideki önemi ve rolünü anlamada yetersizdir diyebiliriz¹⁴⁴. Yine Zhu ve ark.'larının yaptığı bir çalışmada orta şiddetli preeklampsi (n=8), şiddetli preeklampsi (n=15) ve sağlıklı kontrol grubu (n=11) hastalarına elektif sezaryen operasyonu yapılmıştır. Ve doğum sonrası plasental doku incelenerek miRNA düzeylerine bakılmıştır. Bu çalışmada preeklampsi olan hastalarda kontrol grubuna göre toplamda 11 miRNA salınımında artış görülmekle birlikte 23 miRNA salınımında ise belirgin azalma görülmüştür. Bu çalışmada bizim bulgularımızla uyumlu olarak mir-210 salınım düzeyleri ciddi preeklampside anlamlı olarak artarken, hafif preeklampsi de ise mir-210 salınımının çalışmamızın aksine azaldığı izlenmiştir. Yüksek derecede hipoksiyle birlikte artan mir-210 düzeyinin, hafif hipokside ise plasentanın kompanzasyon mekanizmalarının devreye girmesi sonucu azalabileceği düşünülmüştür. Ve hafif preeklampsideki bu mir-210 salınımındaki düşme plasentanın kompanzasyon mekanizmasına bağlanmıştır. Bizim çalışmamızda preeklampside, kontrol grubuna göre mir-218 düzeyinde 2,89 kat artış görülmüştür. Literatürde yalnızca birkaç çalışmada preeklampside mir-218 salınımının paterniyle ilgili sonuç görülmüştür¹³⁶. Çalışmamızda mir-218 düzeylerinin, Zhu ve ark.'larının çalışmasına uyumsuz bir şekilde arttığı izlenmiştir. Bu sonuç incelenirken mir-218 ile ilgili yapılmış çalışmaların kısıtlılığı ve çalışmamızda anne serum örneği kullanmamız dikkate alınmalıdır.

Çalışmamızda preeklampsili hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı salınım farklılığı olan ve diğer benzer çalışmalarla desteklenmeyen miRNA'lar izlenmiştir. miR-302b-3p düzeyinde kontrol grubuna göre 26.31 kat azalma, miR-191-5p düzeyinde 1.64 kat azalma, mir-197-3p'de preeklampside 1.94 kat ve mir-375 düzeyinde 4.75 kat artış izlenmiştir.

Sonuç olarak çalışmamızda preeklampsi ve kontrol grupları karşılaştırıldığında bazı miRNA salınım profillerinde gruplar arası anlamlı bir farklılık gözlenmiştir. Çalışmamızda preeklampsi grubunda salınım profili anlamlı olarak değişen kimi miRNA'lar daha önce yapılmış çalışmalarla desteklenmektedir. Preeklampsinin öngörülmesi için kullanılacak yöntemin kısa, kolay ve ucuz olması istenmektedir. Çalışmamızda çok sayıda örneği birkaç saatlik tek bir PCR işleminden sonra elde edilen verilerle değerlendirebilmemiz ve serum örnekleriyle çalışmamız büyük bir avantajdır. Fakat yapmış olduğumuz çalışmada değerlendirmeye alınan gruplardaki birey sayıları geniş bir örnekleme kapsamamaktadır ve bazı anlamlı değişim gösteren miRNA salınım profilleri ile ilgili yapılmış net veriler bulunmamaktadır. Dolayısıyla elde edilen verilerle daha fazla sayıda bireyi kapsayan gruplarla ileri araştırmalar yapılması uygun olacaktır.

KAYNAKLAR

1. M.Nedim Çiçek: Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi.3.Atlas Kitapçılık: Gebelik ve Hipertansiyon.2012. 43: 523 – 524
2. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V.The C.elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. Cell 1993; 75(5): 843-854.
3. Jackson RJ, Standart N. How do microRNAs regulate gene expression? Sci STKE 2007; 367: re1.
4. Huntzinger E, Izaurralde E. Gene silencing by microRNAs: Contributions of translational repression and mRNA decay. Nat Rev Genet 2011; 12(2): 99-110.
5. Pineles BL, Romero R, Montenegro D, et al. Distinct subsets of microRNAs are expressed differentially in the human placentas of patients with preeclampsia. Am. J. Obstet. Gynecol. 2007. 196: 261-266.
6. Roberts Jm M. Pregnancy related hypertension. Maternal-Fetal Medicine.5 th ed.Philedelphia: WB Saunders company, 2004: 859-99.
7. Baha M.Sibai: Hypertension: Gabbe Obstetri 2009; 33: 864
8. Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ. Williams Obstetric. 21 st Edition. New York, McGraw-Hill 2001; Chapter 24
9. M.Nedim Çiçek: Kadın hastalıkları ve Doğum Bilgisi.3.baskı 2012.Atlas Kitapçılık: Gebelik ve Hipertansiyon 43: 535, 2012
10. F.Gary Cunningham, Kenneth J.Leveno, Steven L.Bloom. Williams Obstetric.23 st Edition. 2010;34: 707
11. Cunningham FG, MaC Donald PC, Gant NF, et al. Hypertensive disorders in pregnancy. In: Williams Obstetrics, ed 22.Connectcut, the McGrawHill 2007; 567-609
12. American College of Obstetricians and Gynecologists: Hypertension in pregnancy. Washington, DC, The college; 1996, Technical Bulletin No. 219
13. National High Blood Pressure Education Working Group: High blood pressure during pregnancy. Am J Obstet Gynecol. 1990;163:1689-1712.
14. Zamorski MA, Green LA. NHBPEP report on high blood pressure in pregnancy: a summary for family physicians. Am Fam Physician.2001 Jul 15;64(2):263-70,216.
15. Kyle PM, Fielder JN, Pullar B, et al. Comparison of methods to identify significant proteinuria in pregnancy in the outpatient setting. BJOG 2008,115:523

- 16.** Papanna R, Mann LK, Kouides RW, et al. protein /creatinine ratio in preeclampsia: A systematic review. *Obstet Gynecol*, 2008 112: 135
- 17.** Report of National High Blood Pressure Education Program. Working Group Report on High Blood Pressure in pregnancy. 2000. *Am j Obstet Gynecol* 183: S1
- 18.** Sibai BM, Cunningham FG: Prevention of preeclampsia and eclampsia. In Lindheimer MD, Roberts JM: *Chesley's Hypertensive Disorders of Pregnancy*, 3rd ed. New York, Elsevier, In press, 2009, p 215
- 19.** Cunningham FG, Leveno KJ: Maternal age and outcome of pregnancy, *N Engl J Med* 1990,323:414-415
- 20.** Hauth JC, Ewell MG, Levine RJ: Pregnancy outcomes in healthy nulliparas who developed hypertension. *Obstet Gynecol*. 2000; 95: 24.
- 21.** Chesley LC, Cooper DW: Genetics of hypertension in pregnancy: Possible single gene control of preeclampsia and eclampsia in the descendants of eclamptic women. *Br J Obstet Gynecol* 1986; 93: 898.
- 22.** Eskanazi B, Fenster L, Sidney S. A multivariate analysis of risk factors for preeclampsia. *J Am Med Assoc*. 1991;266:237-71.
- 23.** Adi-Said D, Annegers JF, Combs-Cantrell D. Case-control study of the risk factors for preeclampsia. *Am J Epidemiol*. 1995;142:437-41.
- 24.** Pijnenborg R. Trophoblast invasion. *Reprod Med Review* 1994; 3: 53-73
- 25.** Fox H. The placenta in pregnancy hypertension. In: Rubin PC, ed. *Handbook of hypertension*, volume 10: hypertension in pregnancy. New York, Elsevier, 1998: 16-37.
- 26.** Frusca T, Morassi L, Pecorell S, et al: Histological features of uteroplacental vessels in normal and hypertensive patients in relation to birthweight. 1989, *Br J Obstet Gynaecol* 96:835.
- 27.** Maynard SE, Min JY, Merchan J, et al: Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1(sflt-1) may contribute tto endothelial disfonction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. 2003, *Clin Invest* 111:649.
- 28.** Levine RJ, Maynard SE, Qian C, et al: Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. 2004, *N Engl J Med* 350:672.

- 29.** Myatt L, Brewer AS, Langdon G, et al: Attenuation of the vasoconstrictor effects of thromboxane and endothelin by nitric oxide in the human fetal-placental circulation. 1992, *Am J Obstet Gynecol* 166:224.
- 30.** Parra MC, Lees C, Mann GE, et al: Vasoactive mediator release by endothelial cells in intrauterine growth restriction and preeclampsia. 2001, *Am J Obstet Gynecol* 184:497.
- 31.** Ward K, Lindheimer MD: Genetic factors in the etiology of preeclampsia / eclampsia. In Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG (eds) *Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy*, 3rd ed. Elsevier, In press, 2009, p51.
- 32.** Sibai BM, Dekker G, Kupferminc M: Preeclampsia. 2005, *Lancet* 365: 785.
- 33.** Klonoff-Cohen HS, Savitz DA, Cefalo RC. An epidemiologic study of contraception and preeclampsia. *JAMA* 1989;262:3143-47
- 34.** Ambros V, Chen X. The regulation of genes and genomes by small RNAs. *Development* 2007; 134(9): 1635-1641.
- 35.** Bahadori M. New advances in RNAs. *Arch Iran Med* 2008; 11(4): 435-443
- 36.** Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R. Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into *Petunia* result in suppression of homologous reversible co-suppression of homologous genes in trans. *The Plant Cell* 1990; 2: 279-289.
- 37.** Alexander R, Krol VD, Lenting PE, et al. An anti-sense chalcone synthase gene in transgenic plants inhibits flower pigmentation. *Nature* 1988; 333: 866-869.
- 38.** Jorgensen RA, Cluster PD, English J. Chalcone synthase cosuppression phenotypes in *petunia* flowers: comparison of sense vs. antisense constructs and single-copy vs. complex T-DNA sequences. *Plant Mol Biol* 1996; 32(5): 957-973.
- 39.** Jorgensen RA. Altered gene expression in plants due to trans interactions between homologous genes. *Trends Biotechnology* 1990; 8: 340-344.
- 40.** John Le Quesne, Carlos Caldas. Micro-RNAs and breast cancer. *Molecular Oncology*. 2010;4: 2, 30-241
- 41.** Pasquinelli EA, Reinhart JB. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature*. 2000; 408: 86-89.
- 42.** Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 2000; 403: 901-906

- 43.** Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(9): 2999-3004.
- 44.** Shomron N, Levy C. MicroRNA-biogenesis and pre-mRNA splicing crosstalk. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* 2009; Article ID:594678, doi:10.1155/2009/594678.
- 45.** Lee Y, Ahn C, Han J, et al. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425: 415-419.
- 46.** Rodriguez A, Griffiths-Jones S, Ashurst JL. Identification of mammalian microRNA host genes and transcription units. *Genome Res* 2004; 14: 1902-1910.
- 47.** Ying SY, Chang CP, Lin SL. Intron-mediated RNA interference, intronic microRNAs, and applications. *Methods Mol Biol* 2010; 629: 205-237.
- 48.** Lagos-Quintana M, Rauhut R, Meyer J, et al. New microRNAs from mouse and human. *RNA* 2003; 9: 175-179.
- 49.** Saini HK, Griffiths-Jones S, Enright AJ. Genomic analysis of human microRNA transcripts. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 17719-17724.
- 50.** Goodfellow SJ, White RJ. Regulation of RNA polymerase III transcription during mammalian cell growth. *Cell Cycle* 2007; 6: 2323-2326.
- 51.** Felton-Edkins ZA, Kenneth NS, Brown TR, et al. Direct regulation of RNA polymerase III transcription by RB, p53 and c-Myc. *Cell Cycle* 2003; 2: 181-184.
- 52.** Scott PH, Cairns CA, Sutcliffe JE, et al. Regulation of RNA polymerase III transcription during cell cycle entry. *J Biol Chem* 2001; 276: 1005-1014.
- 53.** White RJ, Gottlieb TM, Downes CS. Cell cycle regulation of RNA polymerase III transcription. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 6653-6662.
- 54.** Costanzo G, Camier S, Carlucci P, et al. RNA polymerase III transcription complexes on chromosomal 5S rRNA genes in vivo: TFIIIB occupancy and promoter opening. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 3166-3178.
- 55.** Young LS, Rivier DH, Sprague KU. Sequences far downstream from the classical tRNA promoter elements bind RNA polymerase III transcription factors. *Mol Cell Biol* 1991; 11: 1382-1392.

- 56.** Besser D, Gotz F, Schulze-Forster K, et al. DNA methylation inhibits transcription by RNA polymerase III of a tRNA gene, but not of a 5S rRNA gene. *FEBS Lett.* 1990; 269: 358-362.
- 57.** Kassavetis GA, Riggs DL, Negri R, et al. Transcription factor IIIB generates extended DNA interactions in RNA polymerase III transcription complexes on tRNA genes. *Mol. Cell Biol.* 1989; 9: 2551-2566.
- 58.** Chen CZ, Li L, Lodish HF, Bartel DP. MicroRNAs modulate hematopoietic lineage differentiation. *Science* 2004; 303: 83-86.
- 59.** Borchert GM, Lanier W, Davidson BL. RNA polymerase III transcribes human microRNAs. *Nat Struct Mol Biol* 2006; 13: 1097-1101.
- 60.** Hess J, Perez-Stable C, Wu GJ, et al. End-to-end transcription of an Alu family repeat. A new type of polymerase-III-dependent terminator and its evolutionary implication. *J Mol Biol* 1985; 184: 7-21.
- 61.** Gu TJ, Yi X, Zhao XW, et al. Alu-directed transcriptional regulation of some novel miRNAs. *BMC Genomics* 2009; 10: 563.
- 62.** Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science* 2001; 294: 853-858.
- 63.** Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs-microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 259-269.
- 64.** Lund E, Guttinger S, Calado A, et al. Nuclear export of microRNA precursors. *Science* 2004; 303: 95-98.
- 65.** Zhang H, Kolb FA, Brondani V, et al. Human Dicer preferentially cleaves dsRNAs at their termini without a requirement for ATP. *EMBO J* 2002; 21: 5875-5885.
- 66.** Gregory RI, Chendrimada TP, Cooch N, et al. Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing. *Cell* 2005; 123: 631-640.
- 67.** Shenouda SK, Alahari SK. MicroRNA function in cancer: oncogene or tumor suppressor? *Cancer Metastasis Rev.* 2009; 28: 369-378
- 68.** Pillai RS. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA? *RNA* 2005; 11: 1753-1761.
- 69.** Broderick JA, Zamore PD. MicroRNA therapeutics. *Gene Therapy* 2011; 18: 1104-1110.

- 70.** Sun W, Li YSJ, Huang HD, et al. MicroRNA: A Master Regulator of Cellular Processes for Bioengineering Systems. *Annu Rev Biomed Eng* 2010; 12: 1-27.
- 71.** Nana-Sinkam SP, Croce CM. MicroRNA in chronic lymphocytic leukemia: transitioning from laboratory-based investigation to clinical application. *Cancer Genet Cytogenet* 2010; 203: 127-133.
- 72.** Farazi TA, Spitzer JI, Morozov P. miRNAs in human cancer. *J Pathol* 2011; 223: 102-115.
- 73.** Lee YS, Dutta A. MicroRNAs in cancer. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2009; 4: 199-227.
- 74.** Cowland JB, Hother C, Gronbaek K. MicroRNAs and cancer. *APMIS* 2007; 115: 1090-1106.
- 75.** Esteller M. Epigenetics in cancer. *N Engl J Med* 2008; 358: 1148-1159.
- 76.** Yang N, Coukos G, Zhang L. MicroRNA epigenetic alterations in human cancer: one step forward in diagnosis and treatment. *Int J Cancer* 2008; 122: 963-968.
- 77.** Guil S, Esteller M. DNA methylomes, histone codes and miRNAs: tying it all together. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41: 87-95.
- 78.** Chen, X., Ba, Y., Ma, L., et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. 2008. *Cell Res* 18, 997–1006.
- 79.** Lawrie, C.H., Gal, S., Dunlop, H.M., et al. Detection of elevated levels of tumour associated microRNAs in serum of patients with diffuse large Bcell lymphoma. *Br J Haematol.* 2008. 141, 672–675.
- 80.** Mitchell, P.S., Parkin, R.K., Kroh, E.M., et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. 2008. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105, 10513–10518.
- 81.** Park, N.J., Zhou, H., Elashoff, D. Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection. 2009. *Clin Cancer Res* 15, 5473–5477.
- 82.** Chen, X., Gao, C., Li, H., et al. Identification and characterization of microRNAs in raw milk during different periods of lactation, commercial fluid, and powdered milk products. 2010. *Cell Res* 20, 1128–1137.

- 83.** Hanke, M., Hoefig, K., Merz, H. A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA–126 and microRNA–182 are related to urinary bladder cancer. 2010. *Urol Oncol* 28, 655–661.
- 84.** Kosaka, N., Iguchi, H., Yoshioka, Y. Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells. 2010. *J Biol Chem* 285, 17442–17452.
- 85.** Valadi, H., Ekström, K., Bossios, A. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. 2007. *Nat Cell Biol* 9, 654–659
- 86.** Zernecke, A., Bidzhekov, K., Noels, H., et al. Delivery of microRNA–126 by apoptotic bodies induces CXCL12- dependent vascular protection. 2009. *Sci Signal* 2, ra81.
- 87.** Zhang, Y.J., Liu, D.Q., Chen, X., et al. Secreted monocytic miR-150 enhances targeted endothelial cell migration. 2010. *Mol Cell* 39, 133–144.
- 88.** Wang, K., Zhang, S., Marzolf, B. Circulating microRNAs, potential biomarkers for drug-induced liver injury. 2009. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106,4402–4407.
- 89.** Turchinovich, A., Weiz, L., Langheinz, A. Characterization of extracellular circulating microRNA. 2011. *Nucleic Acids Res* 39, 7223–7233.
- 90.** Vickers, K.C., Palmisano, B.T., Shoucri, B.M. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins. 2011. *Nat Cell Biol* 13, 423–433.
- 91.** Arroyo, J.D., Chevillet, J.R., Kroh, E.M., et al. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. 2011. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108, 5003–5008.
- 92.** Chen X, Liang H, Zhang J, Zen K. Horizontal transfer of microRNAs: molecular mechanisms and clinical applications. 2012. *Protein Cell.*,3(1):28-37.
- 93.** Price, J.O., Elias, S., Wachtel, S. et al. Prenatal diagnosis with fetal cells isolated from maternal blood by multiparameter flow cytometry. 1991. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 165, 1731–1737.
- 94.** Bianchi DW, Mahr A, Zickwolf GK, Detection of fetal cells with 47,XY,+21 karyotype in maternal peripheral blood. 1992. *Hum Genet.*; 90(4):368-70
- 95.** Navarro, A., Monzo, M., MicroRNAs in human embryonic and cancer stem cells. 2010. *Yonsei Med. J.* 51 (5), 622–632.

- 96.** Chao, A., Tsai, C.L., Wei, P.C., et al. Decreased expression of microRNA-199b increases protein levels of SET (protein phosphatase 2A inhibitor) in human choriocarcinoma. 2010. *Cancer Lett.* 291 (1), 99–107.
- 97.** Mouillet, J.F., Chu, T., Hubel, C.A. The levels of hypoxia-regulated microRNAs in plasma of pregnant women with fetal growth restriction. 2010. *Placenta*
- 98.** Pan Q, Chegini N. MicroRNA signature and regulatory functions in the endometrium during normal and disease states. 2008.;26(6):479-93
- 99.** Miura, K., Miura, S., Yamasaki, et al., Identification of pregnancy-associated MicroRNAs in maternal plasma. 2010. *Clin. Chem.*
- 100.** Chakrabarty A, Tranguch S, Daikoku T. MicroRNA regulation of cyclooxygenase-2 during embryo implantation. 2007. *Proc Natl Acad Sci USA.* ;104(38):15144–9.
- 101.** Bortolin-Cavaille, M.L., Dance, M., Weber, M. C19MC microRNAs are processed from introns of large Pol-II, non-protein-coding transcripts. 2009. *Nucleic Acids Res.* 37 (10), 3464–3473.
- 102.** Liang, Y., Ridzon, D., Wong, L. Characterization of microRNA expression profiles in normal human tissues. 2007. *BMC Genomics* 8, 166.
- 103.** Tsai, K.W., Kao, H.W., Chen. Epigenetic control of the expression of a primate-specific microRNA cluster in human cancer cells. 2009. *Epigenetics* 4 (8), 587–592.
- 104.** Donker, R.B., Mouillet, J.F., Nelson, D.M. The expression of argonaute2 and related microRNA biogenesis proteins in normal and hypoxic trophoblasts. 2007. *Mol. Hum. Reprod.* 13 (4), 273–279.
- 105.** Mouillet, J.F., Chu, T., Nelson, D.M. MiR-205 silences MED1 in hypoxic primary human trophoblasts. 2010. *FASEB J.* 24 (6), 2030–2039. bbbb.
- 106.** Maccani, M.A., Avissar-Whiting, M., Banister, C.E. Maternal cigarette smoking during pregnancy is associated with downregulation of miR-16, miR-21 and miR-146a in the placenta. 2010. *Epigenetics* 5.
- 107.** Avissar-Whiting, M., Veiga, K.R., Uhl, K.M., et al. Bisphenol A exposure leads to specific microRNA alterations in placental cells. 2010. *Reprod. Toxicol.* 29 (4), 401–406.
- 108.** Enquobahrie, D.A., Abetew, D.F., Sorensen, T.K. Placental microRNA expression in pregnancies complicated by preeclampsia. 2010. *Am. J. Obstet. Gynecol.*

- 109.** Mayor-Lynn, K., Toloubeydokhti, T., Cruz, A.C. Expression profile of MicroRNAs and mRNAs in human placentas from pregnancies complicated by preeclampsia and preterm labor. 2010. *Reprod. Sci.*
- 110.** Xia, H.F., Jin, X.H., Song, P.P. Temporal and patial regulation of let-7a in the uterus during embryo implantation in the rat. *J. Reprod. 2010. Dev.* 56 (1), 73–78.
- 111.** Xia, H.F., Jin, X.H., Song, P.P. Temporal and spatial regulation of miR-320 in the uterus during embryo implantation in the rat. *Int. J. Mol. 2010. Sci.* 11 (2), 719–730.
- 112.** Qian, K., Hu, L., Chen, H., et al. Hsa-miR-222 is involved in differentiation of endometrial stromal cells in vitro. *Endocrinology* 150 (10), 2009. 4734–4743.
- 113.** Navarro, A., Monzo, M. MicroRNAs in human embryonic and cancer stem cells. *Yonsei Med. 2010. J.* 51 (5), 622–632.
- 114.** Suh, M.R., Lee, Y., Kim, J.Y. et al. Human embryonic stem cells express a unique set of microRNAs. 2004.*Dev. Biol.* 270 (2), 488–498.
- 115.** Foshay, K.M., Gallicano, G.I. miR-17 family miRNAs are expressed during early mammalian development and regulate stem cell differentiation. 2009. *Dev. Biol.* 326 (2), 431–443.
- 116.** Viswanathan, S.R., Mermel, C.H., Lu, J. microRNA expression during trophoctoderm specification. 2009. *PLoS One* 4 (7), e6143.
- 117.** Veit, T.D., Chies, J.A. Tolerance versus immune response—microRNAs as important elements in the regulation of the HLA-G gene expression. 2009. *Transpl. Immunol.* 20 (4), 229–231.
- 118.** Lehmann, U., Hasemeier, B., Christgen, M., et al. Epigenetic inactivation of microRNA gene hsa-mir-9-1 in human breast cancer. 2008. *J. Pathol.* 214 (1), 17–24.
- 119.** Zhu, X.M., Han, T., Wang, X.H., et al. Overexpression of miR-152 leads to reduced expression of human leukocyte antigen-G and increased natural killer cell mediated cytotoxicity in JEG-3 cells. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2010. 202 (6), e591–597.
- 120.** Alberry, M.S., Maddocks, D.G., Hadi, M.A., et al.. Quantification of cell free fetal DNA in maternal plasma in normal pregnancies and in pregnancies with placental dysfunction. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2009. (1), e91–96, 98.
- 121.** Gilad, S., Meiri, E., Yogeve, Y., et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. 2008.*PLoS One* 3 (9), e3148.

- 122.** Neves, R., Scheel, C., Weinhold, S., et al. Role of DNA methylation in miR-200c/141 cluster silencing in invasive breast cancer cells. 2010. BMC Res. Notes 3, 219.
- 123.** Anderson N, McCowan L, Fyfe E,; on behalf of the SCOPE Consortium. The impact of maternal body mass index on the phenotype of pre-eclampsia: a prospective cohort study. BJOG. 2012 Apr; 119(5):589-595
- 124.** Mbah AK, Kornosky JL, Kristensen S. Super-obesity and risk for early and late pre-eclampsia. BJOG. 2010 Jul;117(8):997-1004.
- 125.** Bozhinova S, Poroshanova V, Sampat D. Delivery and perinatal aspects of pregnant women with pre-eclampsia-eclampsia. Akush Ginekol (Sofia). 2004;43(7):3-9.
- 126.** Lydakakis C, Beevers M, Beevers DG. The prevalence of pre-eclampsia and obstetric outcome in pregnancies of normotensive and hypertensive women attending a hospital specialist clinic. Int J Clin Pract. 2001;55(6):361-7.
- 127.** Schucker JL, Mercer BM, Audibert F, Am J Obstet Gynecol. Serial amniotic fluid index in severe preeclampsia: a poor predictor of adverse outcome. 1996 Oct;175(4 Pt 1):1018-23.
- 128.** Yaprak Engin Üstün, Kezban Dogan, Evaluation of Hemoglobin and Platelet Levels in Mild, Moderate and Severe Preeclampsia, Perinatal Journal, December 2007.Vol: 15, Issue: 3.
- 129.** Spinillo A, Montanari L, Bergante C. Prognostic value of umbilical artery Doppler studies in unselected preterm deliveries. Obstet Gynecol 2005; 105:613-20
- 130.** Hahn S, Gupta AK, Troeger C, et al. Disturbances in placental immunology: ready for therapeutic interventions? Springer Semin.2006.Immunopathol. 27: 477-493.
- 131.** Chien PF, Arnott N, Gordon A, Owen P, et al. How useful is uterine artery Doppler flow velocimetry in the prediction of pre-eclampsia, intrauterine growth retardation and perinatal death? 2000. An overview. BJOG 107:196-208
- 132.** Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, Rai V, et al. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. 1997. Lancet 350: 485-487

- 133.** Gilad S, Meiri E, Yogev Y, Benjamin S, et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. 2008. PLoS One 3: e3148.
- 134.** Loscalzo J. The cellular response to hypoxia: tuning the system with microRNAs. J Clin Invest. 2010; 120: 3815–7.
- 135.** Zhang Y, Fei M, Xue G, et al. Elevated levels of hypoxia-inducible microRNA-210 in preeclampsia: new insights into molecular mechanisms for the disease. 2011. J Cell Mol Med.; doi: 10.1111.
- 136.** Zhu, X.M.; Han, T. Sargent, I.L. Differential expression profile of microRNAs in human placentas from preeclamptic pregnancies vs normal pregnancies. Am. J. Obstet. Gynecol. 2009, 200, 661.e1–661.e7.
- 137.** Fasanaro P, D'Alessandra Y, Di Stefano V, et al. MicroRNA-210 modulates endothelial cell response to hypoxia and inhibits the receptor tyrosine kinase ligand Ephrin-A3. 2008. Biol Chem; 283: 15878–83.
- 138.** Huang X, Ding L, Bennewith KL, et al. Hypoxia-inducible mir-210 regulates normoxic gene expression involved in tumour initiation. Mol Cell. 2009; 35: 856–67.
- 139** T. Gunel, Y.G. Zeybek, P. Akçakaya. Serum microRNA expression in pregnancies with preeclampsia. 2011. Genet. Mol. Res. 10 (4): 4034-4040.
- 139.** Bruhl T, Urbich C, Aicher D, et al. Homeobox A9 transcriptionally regulates the EphB4 receptor to modulate endothelial cell migration and tube formation. Circ Res. 2004; 94: 743–51.
- 140.** Enquobahrie DA, Abetew DF, Sorensen TK. Placental microRNA expression in pregnancies complicated by preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2011 Feb;204(2):e12e21. 178.
- 141.** Pulkkinen K, Malm T, Turunen M, et al. Hypoxia induces microRNA miR-210 in vitro and in vivo ephrin-A3 and neuronal pentraxin 1 are potentially regulated by miR-210. FEBS Lett. 2008; 582:2397–401.
- 142.** S. Muralimanoharan, A. Maloyan, J. Mele, MIR-210 modulates mitochondrial respiration in placenta with preeclampsia, 2012. Placenta 33;816e823
- 143.** Wen Wang, Lin Feng, Honghai Zhang. Preeclampsia Up-Regulates Angiogenesis-Associated MicroRNA (i.e., miR-17, -20a, and -20b) That Target

Ephrin-B2 and EPHB4 in Human Placenta. 2012. *J Clin Endocrinol Metab* 97: E1051–E1059.

144. Guo L, Yang Q, Lu J, Li H, et al. A Comprehensive Survey of miRNA Repertoire and 39 Addition Events in the Placentas of Patients with Pre-Eclampsia from High-Throughput Sequencing. 2011. *PLoS ONE* 6(6): e21072.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

KB	:	Kan Basıncı
IUGR	:	İntrauterin Gelişme Geriliği
AFİ	:	Amniyotik Sıvı İndeksi
VKİ	:	Vücut Kitle İndeksi
TA	:	Tansiyon Arteriyel
SGA	:	Ağırlığı Gebelik Yaşına Göre Düşük
C/S	:	Sezaryen
PCR	:	Polimeraz Chain Reaction
HELLP	:	Hemoliz-Artmış Karaciğer enzimleri-Düşük Trombosit
HLA	:	İnsan Lökosit Antijeni
PGI	:	Prostoglandin
TXA2	:	Tromboksan A2
S/D	:	Sistolodiastolik Oran
VEGF	:	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
MMP-9	:	Matriks Metallopeptidaz 9
MTHFR	:	Metilentetrahidrofolat Redüktaz
TGF	:	Transforming Büyüme Faktörü
sFlt-1	:	Çözünür fms-Benzeri Tirozin Kinaz-1
PIGF	:	Plasenta Büyüme Faktörü
sEng	:	Çözünür Endoglin
UTR	:	Çevrilmemiş Bölge
RISC	:	RNA İndüklenmiş Baskılayıcı Kompleksi
ORF	:	Açık Okuma Çerçevesi
miRNA	:	MikroRNA
AST	:	Aspartat Aminotransferaz
ALT	:	Alanin Aminotransferaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL		Sayfa No
Şekil 1	mikroRNA Biyogenezi	19
Şekil 2	miRNA Oluşumu	21
Şekil 3	miRNA Oluşumu ve Fonksiyonu	22
Şekil 4	mikroRNA Biyogenezi	23
Şekil 5	Maternal Serum ya da Plasentada Görülen, 19. Kromozom C19MC Gen Lokusundan Salınan miRNA'lar	26
Şekil 6	Preeklampsi ve Kontrol Grubu Karşılaştırması Sonucunda, Preeklampside Anlamlı Ölçüde Azalan ve Artan miRNA Değişimleri	46

TABLULAR DİZİNİ

TABLO		Sayfa No
Tablo 1	Preeklampside risk faktörleri ve risk oranları	13
Tablo 2	Olguların klinik ve demografik özellikleri	42
Tablo 3	Preeklampsi-kontrol gruplarının Ultrasonografi Bulguları Karşılaştırılması	42
Tablo 4	Gruplar arası obstetrik sonuçların karşılaştırılması	44
Tablo 5	Preeklampsi ve kontrol grubunda plasma miRNA salınımı karşılaştırması	45
Tablo 6	Kontrol grubuna göre preeklampsi de anlamlı bulunan miRNA ekspresyon oranları	46
Tablo 7	Hafif ve şiddetli preeklampsi grupları arasında miRNA ekspresyon oranları	47