



**T.C.
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**STOX1 GENİ PROMOTOR BÖLGE
MUTASYONLARININ PREEKLAMPSİ HASTALIĞI
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

ŞEYDA AKIN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

SIVAS-2020

T.C.
SİVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

STOX1 GENİ PROMOTOR BÖLGE
MUTASYONLARININ PREEKLAMPSİ HASTALIĞI
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ŞEYDA AKIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ERGÜN PINARBAŞI

SİVAS-2020

“STOX1 Geni Promotor Bölge Mutasyonlarının Preeklampsi Hastalığı Üzerine Etkilerinin Araştırılması” adlı **Yüksek Lisans Tezi** Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Tıbbi Biyoloji** Ana Bilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

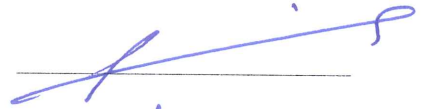
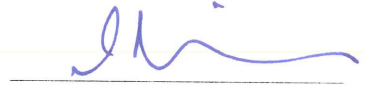
Prof. Dr. Ergün PINARBAŞI

Üye

Prof. Dr. Hacı Ömer ATEŞ

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Nilgün ÇEKİN



ONAY

Bu tez çalışması, 16.12.2019 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zübeyda AKIN POLAT
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 18.02.2015 tarihli ve 4/4 sayılı kararı ile kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında yanımda olan, her konuda bilgisine sonsuz güvendiğim, beni sadece bir öğrenci olarak değil aynı zamanda bir meslektaşısı olarak gören, bana rahat çalışma ortamı sağlayan, öğrencilerini sadece ders konusunda değil hayatın zorluklarına karşı da hazırlayan, benim mükemmellik kavramımın şekil bulmuş hali, saygıdeğer danışmanım ve bölüm başkanımız Prof. Dr. Ergün PINARBAŞI'na çok teşekkür ederim.

Bölümün bitmek bilmeyen pozitif enerji kaynağı olan ve hem yaşam tarzı hemde hayata bakışı ile her zaman örnek alacağım hocam Dr. Öğrt. Üyesi Nilgün ÇEKİN'e;

Birçok konuda bilgileri ile beni aydınlatan ve her durumda birlik ve beraberliği benimseyen bölümümüzün saygıdeğer hocaları; Prof. Dr. Serdal ARSLAN, Dr. Öğrt. Üyesi İzzet YELKOVAN, Arş. Gör. Burcu BAYYURT'a;

Bu sayfayı ona yeterli bulamıyorum ki o her konuda hem dostum hem arkadaşım hem de en genç hocam olma niteliğine sahip, laboratuvarın sihirli elleri olarak nitelendirdiğim Aslıhan Esra BİLDİRİCİ hocama;

Benim her türlü halimi tolere eden ve beni her zaman destekleyen canım ailem; babam İsmail AKIN, annem Semahat AKIN ve kardeşlerim; Gül, Şengül, Şeyma ve Emre'ye tüm kalbimle teşekkür ederim.

Ayrıca, bu tez aşamasında bana hep destek olan ve haklarını asla ödeyemeyeceğim güzel dostlarım, Onur ÖZMEN ve İrem FERTELLİ'ye;

Sonsuz teşekkür ederim...

Şeyda AKIN

ÖZET
STOX1 GENİ PROMOTOR BÖLGE MUTASYONLARININ
PREEKLAMPSİ HASTALIĞI ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Şeyda AKIN

Yüksek Lisans Tezi

Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ergün PINARBAŞI

2020, 85 sayfa

Yaygın bir gebelik hastalığı olan Preeklampsi (PE) hamileliklerin %5-8'ini etkiler ve anne ve fetüs üzerinde zararlı etkilere sahiptir. PE'deki genetik yatkınlığın %50 civarında olduğu belirtilmiştir. Çok sayıdaki genom çapındaki linkaj analiz çalışmaları PE ile ilişkili kromozomal alanların varlığını ortaya koymuştur. Çalışma sonuçlarında keşfedilen genlerden birisi, bir transkripsiyon faktörü olan *STOX1* genidir. *STOX1* geni ikinci ekzonu üzerinde bulunan Y153H varyasyonu, PE fenotipini açıklamak için gereklidir, ancak yeterli değildir. Böylece, PE ve *STOX1* arasındaki ilişkiyi anlayabilmek için bir veya daha fazla genetik varyasyona ihtiyaç vardır. Bu nedenle bu çalışmada, bir Türk popülasyonunda ilk defa *STOX1* geni promotor bölge değişikliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. 50 PE hastası ve 50 sağlıklı gebe bireyden alınan kan örnekleri, İllumina dizileme yöntemi ile incelenmiş, Sanger sekanslama yöntemi ile doğrulanmış ve sonuçta - 922 T>C değişikliği erken başlangıçlı PE'si olan bireylerde kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.005). *STOX1* genindeki değişiklikler erken başlangıçlı PE'ye yatkınlık oluşturuyor gibi görünmektedir. DNA dizi analiz bulguları, aynı örnekleme daha önce incelenen Y153H polimorfizmi açısından tekrar incelendiğinde, her iki varyasyonun heterozigot formunun (Y153H TC ve -922T>C TC) birlikte taşıyor olması hem hasta hem kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla; p=0.02 ve p=0.02). Bununla birlikte, *STOX1*'in PE'yi iyileştirmede hedef gen olarak kullanılabilmesi için bu varyasyonların da göz önünde bulundurulduğu daha fonksiyonel çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: *STOX1*, Preeklampsi, promotor, polimorfizm, dizi analizi

ABSTRACT
INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF STOX1 GENE PROMOTER
REGION MUTATIONS ON PREECLAMPSIA DISEASE

Şeyda AKIN

MSc Thesis

Department of Medical Biology

Supervisor: Prof. Ergün PINARBAŞI

2020, 85 pages

Preeclampsia (PE), a common pregnancy disease, affects 5-8% of pregnancies and has harmful effects on the mother and fetus. Genetic susceptibility in PE is reported to be around 50%. Numerous genome-wide linkage analysis studies have demonstrated the presence of chromosomal regions associated with PE. One of the genes discovered in the results of the study is the STOX1 gene which is a transcription factor. The variation of Y153H on the second exon of the STOX1 gene is necessary, but not sufficient, to explain the PE phenotype. Thus, one or more genetic variations are needed to understand the relationship between PE and STOX1. Therefore, the aim of this study was to investigate the changes in the promoter region of the STOX1 gene for the first time in a Turkish population. Blood samples taken from 50 PE patients and 50 healthy pregnant individuals were examined by Illumina sequencing method, confirmed by Sanger sequencing method and as a result - 922 T> C change was found statistically significant in individuals with early onset PE compared to control ($p = 0.005$). Changes in the STOX1 gene appear to predispose to early-onset PE. When the DNA sequence analysis findings were examined again for the Y153H polymorphism studied in the same sample, the heterozygous form of both variations (Y153H TC and -922T> C TC) was found to be statistically significant in both patient and control groups ($p = 0.02$ and $p = 0.02$, respectively). However, in order for STOX1 to be used as a target gene for the improvement of PE, more functional studies are needed, including these variations.

Key words: STOX1, Preeclampsia, promoter, polymorphism, sequencing

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK.....	i
ONAY.....	ii
YÖNERGE.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Problemin Tanımı ve Önemi.....	1
1.2. Araştırmanın Amacı.....	2
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Gebelik ve Hipertansiyon.....	3
2.2. Preeklampsi Tanımı, Özellikleri ve Sınıflandırılması.....	3
2.3. Preeklampside Risk Faktörleri.....	6
2.4. Preeklampsi Alt Tipleri.....	7
2.5. Preeklampsi Patofizyolojisi.....	8
2.5.1. Birinci Aşama: Anormal Plasentasyon, Trofoblast İstilasası ve Maternal-Fetal Ara-yüz.....	9
2.5.2. İkinci Aşama: Maternal Sendromun Patogenezi.....	12
2.6. Genetik ve Preeklampsi İlişkisi.....	15
2.7. <i>STOX-1</i> Geni.....	22

2.9. Preeklamsi ve STOX-1 İlişkisi.....	25
3. MATERYAL-METOD.....	27
3.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması.....	27
3.2. DNA İzolasyonu, Primer Dizaynı ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu.....	27
3.3. DNA Dizi Analizi ve Sonuçların Okunması.....	28
3.4. İstatistiksel Analiz.....	28
3.5. Biyoinformatik Analizler.....	29
4. BULGULAR.....	30
5. TARTIŞMA-SONUÇ.....	37
6. KAYNAKLAR.....	46
EKLER.....	66
EK 1. Bilgilendirilmiş Olur Formu.....	66
İZİNLER.....	70
EK 2. Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Karar Formu.....	70
ÖZGEÇMİŞ.....	72

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1: Preeklampsi tanı kriterleri.....	4
Tablo 2: Preeklampsi şiddetini gösteren belirteçler	5
Tablo 3: Preeklampsi risk faktörleri.....	6
Tablo 4: PE'de en çok çalışılan yedi gen.....	17
Tablo 5: PCR protokolü	28
Tablo 6: PCR programı	28
Tablo 7: Hasta ve kontrol grubuna ait demografik ve klinik veriler.....	31
Tablo 8: STOX1 rs884818 varyasyonunun hasta ve kontrol grupları arasında genotip ve alel dağılım frekansı.....	32
Tablo 9: Preeklampsi Başlangıç Durumuna Göre Örneklerin Genotip ve Alel Frekansı.....	33
Tablo 10: Hasta ve kontrol gruplarında -922 T>C ve Y153H varyasyonları arasındaki ilişki	34
Tablo 11: -922 T>C varyasyonuna en yakın bağlanma dizisi bulunduran transkripsiyon faktörleri.....	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: PE gelişiminde iki aşamalı teori.....	8
Şekil 2: PE'li ve normal gebelerde trofoblast istilası ve spiral arter yeniden şekillenmesi.....	10
Şekil 3: Normal ve PE'li gebeliklerde, vazodilatör ve anjiyojenik faktörler.	13
Şekil 4: STOX1 geni izoformları ve lokalizasyonları.	23
Şekil 5: STOX1A ve STOY1B'nin aynı DNA bağlanma bölgesi için yarışması.....	24
Şekil 6: Illimüna teknolojisi sekans datalarının IGV 2.6.3 programındaki görüntüsü	35
Şekil 7: -922T/C (rs884181) varyasyonun Sanger sekans yöntemiyle alınmış görüntüleri.....	36
Şekil 8: STOY1-SEMA3B ilişkisi.....	42

KISALTMALAR DİZİNİ

ACOG	American College of Obstetrics and Gynecology (Amerikan Kadın Hastalıkları ve Doğum Koleji)
ACVR2A	Aktivin Reseptör Tip-2A
Akt	Protein Kinaz B
Anti-AT1-AA	Anjiyotensin-II Tip-1 Reseptör Otoantikor
ER	Endoplazmik Retikulum
ESRD	Son Dönem Böbrek Hastalığı
EVT	Ekstravillüs Trofoblast Hücreleri
F2	Faktör-2
F5a	Aktif Faktör5-a
FXa	Aktif Faktör-a
HELLP	Hemolysis, elevated liver enzyme and low platelet (hemoliz, yüksek karaciğer enzimleri, düşük trombosit)
HIF -1α	Hipoksi ile İndüklenebilir Faktör-1 α
HLA	İnsan Lökosit Antijenleri
IGR-1	İnsuline-benzer Büyüme Faktörü-1
IL	interlökin
INF-γ	İnterferon- γ
ISSHP	Uluslararası Gebelikte Hipertansiyon Araştırma Derneği
IUGR	İntrauterin Büyüme Geriliği
iNOS	İndüklenbilir NOS
KBH	Kronik Böbrek Hastalığı
KIR	Katil Hücre İmmüoglobulin Benzeri Reseptör
MHC	Majör Doku Uyumlu Antijen
MMP	Matriks Metalloproteinaz
NES	Nükleer eksport sinyalli
NK	Natürel Katil Hücreler
NLS	Nükleer lokalizasyon sinyalli
NODAL	NODAL Büyüme Farklılaşım Faktörü

PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PE	Preeklampsi
PI3K	fosfatidilinositol 3-kinaz
PIGF	Plasental Büyüme Faktörü
RAAS	Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi
RNS	Reaktif Azot Türevleri
ROS	Reaktif Oksijen Türevleri
s-Eng	Çözünür Endoglin
sFlt-1	Serbest Fms-benzeri tirozin kinaz-1
SNP	Tek Nükleotit Polimorfizm
STOX1	Storkhead Box 1
TGFβ	Trasforme edici Büyüme Faktörü
TLR	Toll Benzeri Reseptör
TNF	Tümör Negroz Faktör
UPR	Katlanmamış Protein Yanıtı
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

1. GİRİŞ

1.1. Problemin Tanımı ve Önemi

Preeklampsi (PE); klinik olarak gebelikle başlayan, hipertansiyon ve çoklu organ yetmezliği ile tanımlanan, gebeliğe özgü hastalıkların bir parçasıdır. Hem anne hem de bebek için potansiyel olarak yaşamı tehdit eden sonuçlar oluşturmakta ve tüm gebeliklerin %5-8'inde görülmektedir (Stegers ve ark, 2010; Jim and Karumanchi, 2017). PE, kanama ve emboliden sonra en yüksek morbidite ve mortalite oranı ile (Hogan ve ark, 2010) dünya genelinde her yıl 600.000'den fazla anne ölümünden sorumludur (Mongraw-Chaffin ve ark. 2010; Young ve ark. 2010). Mevcut zamanda, PE'nin ham insidansı, bölgeler arasında %1,2-4,2 arasında değişmektedir ve genel anlamda yaklaşık % 2,3'tür (Abalos, 2013; Villar, 1990). WHO (World Health Organization), gelişmekte olan ülkelerde (canlı doğumların % 2,8'i) gelişmiş ülkelere göre (%0,4) PE insidansının yedi kat daha yüksek olacağını öngörmektedir (van Lerberghe, 2005). PE'de, gebeye anında müdahale edilmezse nöbetler (preeklampside eklampsiye dönüş), böbrek ve karaciğer yetmezliği, pulmoner ödem ve inme gibi komplikasyonlar görülürken fetüs için bu süreç, intrauterin büyüme geriliği (IUGR) ve prematüre doğum ile sonuçlanabilir. İkisi için de en kötüsü ise ölüm oranının yüksek olmasıdır (Duley ve ark, 2009).

PE etiyolojisi hala bilinmemektedir, fakat anormal plasentasyon, immünolojik uyumsuzluk, iltihaplanma, oksidatif stres, endotelial disfonksiyon ve genetik etkenlerin tek başına ya da birlikte etkisi sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (Roberts ve ark, 2001). Bozukluğun ortaya çıkışında daha çok, merkezi faktör olarak plasentayı destekleyen maternal spinal arterlerin yetersiz yeniden modellenmesiyle meydana gelen plasental iskemi olduğu da öne sürülmektedir (George ve Bidwell, 2013).

Plasenta gelişiminde rol alan ikincil yollar bilinmesine karşın primer sebepler tam olarak açıklanabilmiş değildir. Bu olayların meydana gelmesine sebep olan mutant bir gen arayışı için genom çapında taramalar ve linkaj analizlerinin de dahil olduğu çalışmalar yapılmıştır ve yapılmaya devam etmektedir. Çalışmalar sonucunda literatürde tartışmalara neden olan aday genlerden bir tanesi, transkripsiyon faktörü olarak işlev gören *STOX1*'dir. Yapılan araştırmalarda PE'de rol alan sadece iki tane

yatkınlık geni keşfedilmiştir: *ACVR2A* (Aktivin Reseptör Tip-2A) (Moses ve ark, 2006) ve *STOX1* (van Dijk ve ark, 2005). FOX transkripsiyon faktörlerinin büyük ailesine (Fork head/winged helix) yakın bir transkripsiyon faktörü olarak tanımlanan *STOX1*, preeklampsi hastalığının genetik formlarıyla doğrudan ilişkilendirilen ilk gendir. *STOX1*, özellikle inflamasyon, oksidatif stres ve hücre döngüsüne bağlı yollarda çoklu gen hedeflerine sahip gibi görünmektedir (Vaiman ve Miralles, 2016).

Şiddetli erken başlangıçlı PE'nin plasental kaynağı, genetik anlamda önemli bir sonuca sahiptir. Bu da fetal genotipin, maternal fenotipi yönetmesidir (Oudejans ve van Dijk, 2008). Kromozom 10q22 üzerinde yapılan linkaj analizi ile bütün kodlama bölgesinin dizilenmesi sonucu, üç nesil boyunca maternal olarak aktarılan *STOX1*'de bir varyant olan Y153H polimorfizmi keşfedilmiştir. Y153H tek nükleotit polimorfizmi (SNP), genin kanatlı heliks bağlanma bölgesi içinde bulunur ve yüksek moleküler etkisi olan bir aminoasidi etkiler (van Dijk ve ark, 2005). DNA ve mikrosatellit analizlerinde *STOX1* Y153H yatkınlık alelinin kalıtımının maternal kökenli olduğu gözlenmiştir.

Founds ve arkadaşları da ilk trimesterden aldıkları villus örneklerinde gen ifadesi analizi yapmışlar ve hastalıklı ve sağlıklı plasenta örneklerini karşılaştırdıklarında; *STOX1*'in erken plasentada 2,1 kat daha fazla ifade edildiğini bulmuşlardır (Founds ve ark, 2009). Bu bulgu *STOX1*'in erken plasental yeniden düzenlenme sırasında gelişen PE'nin önemli bir özelliği olabileceği anlamına gelmektedir (Vaiman ve Miralles, 2016).

1.2. Araştırmanın Amacı

STOX1'in bir transkripsiyon faktörü olduğu düşünüldüğünde, genomda *STOX1* tarafından düzenlenen pek çok gen olduğunu söylemek mümkündür. Ayrıca promotor bölge mutasyonlarının, gen ifadesinde kritik öneme sahip bir bölgede olabileceği ihtimali de söz konusudur. Maternal genotip üzerinden *STOX1* geni promotor bölgesindeki genetik değişimlerin PE'ye etkisini anlamak amacıyla daha önce bir araştırma yapılmadığından, bu çalışmada ilk defa; anne kanından elde edilecek genetik materyalde *STOX1*'in promotor bölge dizi analizi yapılması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gebelik ve Hipertansiyon

Gebelik döneminin zorlu geçmesine sebep olan hastalıklardan birisi hipertansiyondur. Sistolik (>140) ve diastolik (>90) basınçlarda meydana gelen artış hipertansiyon olarak kabul edilir. Gebelikte meydana gelebilecek hipertansif bozukluklar anne ve fetus için ciddi risk taşımaktadır. (Rana ve ark, 2019)

Gebelik hipertansiyonu, “American College of Obstetrics and Gynecology” (ACOG) tarafından dört kategoride sınıflandırılmıştır. Bunlar ciddiyet derecelerine göre;

1. Kronik hipertansiyon: Gebeliğin 20. haftasından önce var olan hipertansiyondur. Sistolik kan basıncı (KB) ≥ 140 mm Hg, diastolik KB ≥ 90 mm Hg olarak tanımlanır.

2. Gestasyonel hipertansiyon: Proteinüri yokluğunda 20. haftadan sonra tanısı konulan hipertansiyondur.

3. Preeklampsi - Eklampsi: 20. haftadan sonra hipertansiyon ve bazı klinik belirtiler ile tanısı konulan hipertansiyondur.

4. Kronik hipertansiyon varlığında gelişen preeklampsi (Süperimposed preeklampsi): Yeni başlayan proteinüri ile birlikte kronik hipertansiyon veya 20. haftadan sonra gelişen hipertansiyon ile birlikte kronik proteinürüdür (ACOG, 2013).

Gebelikteki hipertansif durumlar; IUGR, dissemine intravasküler koagülasyon (DİK), plasenta dekolmanı, intraserebral hemoraji, böbrek veya karaciğer yetmezliği gibi çeşitli komplikasyonlara neden olduğundan, anne ve fetusün morbiditesini ve mortalitesini arttırmaktadır (Günay ve ark, 2018). Gebelik süresince hem anne hem de fetus üzerinde zararlı etkileri bulunabildiğinden ve birçok komplikasyonun gelişmesine ve hatta doğumdan sonra uç organlarda kalıcı hasarlar kalmasına neden olabileceğinden, PE; gebelikte görülen hipertansif bozukluklar arasında en korkulanıdır.(Rana ve ark, 2019)

2.2. Preeklampsi Tanımı, Özellikleri ve Sınıflandırılması

PE, önceleri gebeliğin 20. haftasından sonra meydana gelen proteinüri ve hipertansiyon olarak tanımlanmıştır. Proteinüri, 24 saatlik idrar örneğinde 300 mg veya daha fazla protein kaybı olarak tanımlanır. Tanı için proteinüri/kreatinüri oranının (p/c) $\geq 0,3$ mg/dl olarak belirlenmesi yeterlidir (Ramos ve ark, 2017). PE tanı

kriterleri, Uluslararası Gebelikte Hipertansiyon Araştırma Derneği (ISSHP) tarafından 2014 yılında değiştirilmiştir (Tranquilli ve ark, 2014). ISSHP'nin tanımına göre PE, gebelikten 20 hafta sonra proteinüri (>300mg/gün) ve böbrek yetmezliği, karaciğer tutulumu, nörolojik veya hematolojik bileşikler, utero-plasental disfonksiyon veya fetal büyüme kısıtlaması gibi diğer maternal organ disfonksiyonları ile kombine şekilde ortaya çıkan, *de nova* hipertansiyondur. Yeni tanımda ise, artık proteinüri gerekmediğinden, proteinürik ve proteinürik olmayan PE olarak iki ayrı kategoride sınıflandırılma yapılmıştır (Mol ve ark, 2016).

PE tanısı, 20. haftadan sonra meydana gelen hipertansiyon ve beraberindeki bazı kriterlerin varlığı ile konulmaktadır (Tablo-1) (Ramos ve ark, 2017).

Tablo 1:Preeklampsi tanı kriterleri

Tanı kriterleri	Klinik özellikleri
1- <u>Proteinüri</u>	Protinüri/kerateinüri (P/C) oranı >0.3 ; >1.0 olması hali
2- <u>Maternal Organ Disfonksiyonu</u>	
A- Böbrek Fonksiyon Bozukluğu	Keratin > 1.02 mg/dl olması durumu
B-Hepatik Fonksiyon Bozukluğu	Transaminazların en üst sınırın >2 katı olması durumu; Epigastralgi
C-Nörolojik Komplikasyonlar	Değişmiş zihinsel durum; körlük; skotom, bulanık görme, diplopi, maternal oftalmik Doppler tepe oranı >0.78
D-Hematolojik komplikasyonlar	Trombositopeni, yayılmış intravasküler pıhtılaşma [DIC] <hemoliz olması durumu
E-Anti Angiyogenez Durumu	PGIF< 36 pg/ml yada sFlt-1/ PIGF >85 olması durumu
3- <u>Ultraplasental Disfonksiyon</u>	Asimetrik intrauterin gelişme geriliği (IUGR); Değişmiş umbikal Doppler; özellikler her iki maternal arterde de değişmiş olması durumu

Şiddetli PE, maternal-fetal sağlığını olumsuz etkileyecek daha şiddetli komplikasyonların varlığı ile tanımlanır (Ramos ve ark, 2017). Kalıcı sistolik KB

≥ 160 mmHg veya diastolik KB ≥ 110 mmHg olması ya da Tablo 2'de listelenen kriterlerden herhangi birinin varlığı, hamile bir kadını şiddetli PE'ye sahip olarak karakterize eder (Günay ve ark, 2018).Yeni tanıma göre, proteinüri düzeyleri PE'de ciddiyet ölçütü olarak düşünülmemektedir (Mol ve ark, 2015).

Tablo 2: Preeklampsi şiddetini gösteren belirteçler

SEMPTOMLAR	Hafif Preeklampsi	Şiddetli Preeklampsi
Diastolik Kan basıncı	<110 mmHg	≥ 110 mmHg
Sistolik kan basıncı	<160 mmHg	≥ 160 mmHg
Proteinüri	$\leq 2+$	$\geq 3+$
Serum kreatinin yüksekliği	yok	Var
Baş ağrısı	Yok	Var
Epigastrik ağrı	Yok	Var
Vizüel semptomlar	Yok	Var
Akciğer ödemi	Yok	Var
Konvülsiyon	Yok	Var
Trombositopeni	Yok	Var
Karaciğer fonksiyon testleri yüksekliği	Yok	Var

Baş ağrısı ve görme bulanıklığı gibi semptomlar; eklampitik nöbetin, epigastrik veya sağ üst kadranda yer alan ağrının, hepatoselüler iskemik nekrozun ya da subkapsüler hematoma habercisi sayılırlar. Ek olarak trombositopeni, PE'nin daha şiddetli şeklinin bir göstergesi olarak düşünülmelidir. Çünkü trombositopeni, vasküler endotelial hasar ile artan trombosit agregasyonu sonucunda oluşan mikroanjiyopatik tromboz ve hemolizin bir sonucu olarak görülmektedir (Günay ve ark, 2018).

Maternal-fetal ağır komplikasyonlara ve organ işlev bozukluğu gibi ciddi sonuçlara sebep olan PE semptomlarının sona ermesi ya da hafiflemesi için tek kesin tedavi doğum ile plasentanın çıkarılmasıdır (Yancopoulos ve ark, 1998). PE tanısından sonraki mevcut tıbbi tedaviler (örneğin; magnezyum sülfat, antihipertansif ajanlar ve

antenatal steroidler), maternal-fetal komplikasyonları önlemeye yöneliktir.(Askie ve ark, 2007).

2.3. Preeklampside Risk Faktörleri

Böbrek hastalığı, ilk gebelik, ileri anne yaşı ve ailede gebelik öyküsü gibi en bilinen PE risk faktörleri Tablo 3'te özetlenmiştir (Jim ve ark, 2017)..

Tablo 3: Preeklampsisi risk faktörleri

Ön preeklampsisi
Böbrek Hastalığı
Kronik hipertansiyon
Diabetes mellitus
İlk gebelik
Sistemik lupus eritematozus
Antifosfolipid antikor sendromu
Çoklu gebelikler
Ailede kalp-damar hastalığı öyküsü
Obezite (vücut kitle indeksi > 30 kg / m ²)
Ailede preeklampsisi öyküsü
İleri anne yaşı (> 40 y)
Aşırı gebelik ağırlığı kazancı (> 16 kg)

Anjiyojenik/anti-anjiyojenik faktörler, PE riski taşıyan kişileri tespit etmede ve tanı aşamasında biyobelirteç olarak kullanılırlar (Jim ve ark, 2017). Preeklampitik kadınların serumunda, hastalığın açık klinik belirtilerinin ortaya çıkmasından haftalar önce seviyeleri artar ve hastalığın ciddiyeti ile ilişkilendirilir (Hod ve ark, 2015).

Anti-anjiyojenik faktörlerden biri olan sFlt-1'in (serbest Fms-benzeri tirozin kinaz-1) maternal serum düzeylerinin, preeklampitik olmayan ikiz gebeliklerde (PE için bilinen bir risk faktörü), singleton gebeliklere göre 2.2 kat daha yüksek olduğu bulunmuştur (Bdolah ve ark, 2008). Aynı şekilde, normal kontrollerle karşılaştırıldığında sFlt-1 ekspresyonunun, molar gebeliklerde belirgin bir şekilde arttığı gösterilmiştir. Yine; sigara içme, Afrikalı-Amerikalı etnik köken, şeker

hastalığı bulunması gibi diğer risk faktörlerinin tümü de değişmiş anjiyojenik profiller göstermiştir (Jim ve ark, 2017). Ayrıca, trizomi 13 gebeliklerinde, gebeliğin erken aşamasındaki plasentalarda (Silasi ve ark, 2011) yüksek sFlt-1 boyaması ve daha yüksek plazma seviyeleri ortaya çıkmıştır (Bdolah ve ark, 2006).

2.4. Preeklampsi Alt Tipleri

Ness ve Roberts 1996'da PE'yi, "plasental" ve "maternal" olmak üzere iki geniş kategoriye ayırmıştır (Ness ve Roberts, 1996). Bazı araştırmacılar ise "erken başlangıçlı" (34. haftadan önce ortaya çıkan PE) ve "geç başlangıçlı" (34. haftadan sonra ortaya çıkan PE) olarak sınıflandırmıştır (von Dadelszen ve ark, 2003).

Erken ve geç başlangıçlı PE, farklı etiyolojilere ve fenotiplere sahip gibi görünmektedir. Erken başlangıçlı PE, plasental PE olarak da adlandırılır ve gebeliğin erken döneminde, plasantasyon sırasında maternal spiral arter dönüşümünün azalmasıyla karakterizedir (Armaly ve ark, 2018). Erken başlangıçlı (plasental) PE'de, maternal PE'ye göre daha yüksek sFlt-1, düşük PIGF (plasental büyüme faktörü) ve yüksek sFlt-1/PIGF oranlarına sahip hipoksik koşullar altında anormal bir plasantasyon vardır (Levine ve ark, 2004; Masuyama ve ark, 2010). Erken başlangıçlı PE, maternal ve fetal komplikasyon riskini önemli ölçüde arttırmaktadır. Özellikle plasental lezyonlar gebeliğin 28. ila 32. haftaları arasında gözlemlenir (Moldenhauer ve ark, 2003; Phipps ve ark, 2016) Bu nedenle erken başlangıçlı PE, fetal büyüme kısıtlaması ve olumsuz maternal ve neonatal sonuçlarla ilişkilidir (Murphy ve ark, 2000; Ness ve ark, 2006).

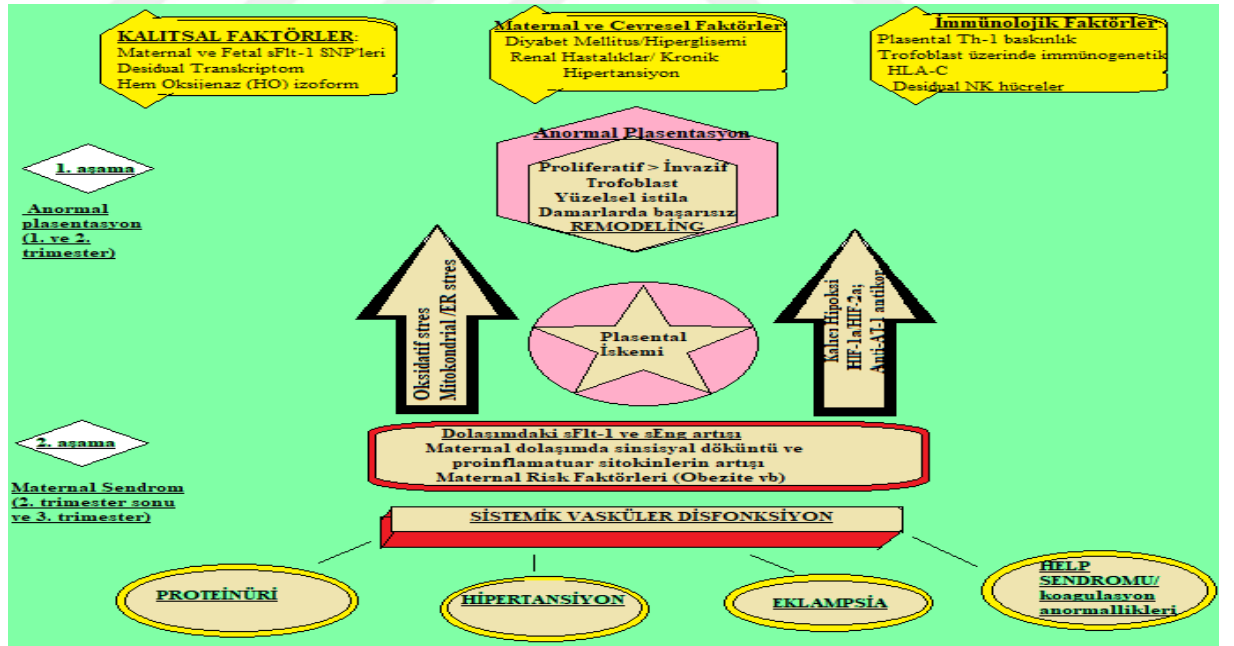
Geç başlangıçlı PE'de (aynı zamanda maternal PE de denir), azalmış arteriyel dönüşüm kanıtı yoktur ve plasenta perfüzyonu korunur ve hatta artar (Sohlberg ve ark, 2014). Bu nedenle, sadece minimal plasental stres vardır (Yung ve ark, 2005). Bu nedenle plasenta tarafından sFlt-1 ve PIGF salgılanması normal aralığa yakındır (Armaly ve ark, 2018). Geç başlangıçlı (maternal) PE'de sorun, normal bir gelişim gösteren plasentanın varlığına rağmen endotel disfonksiyonu olmasıdır. Bu yüzden, maternal faktörlerin endotel disfonksiyonu ile etkilenmesi sonucunda mikrovasküler hasara karşı artan duyarlı bir fenotip görülmektedir (Phipps ve ark, 2016). Geç başlangıçlı PE, maternal endotel disfonksiyonunun plasentada oluşan oksidatif strese karşı verdiği cevap olarak ortaya çıkmaktadır. Sistemik bir maternal inflamatuvar

yanıtın bir sonucu olan endotel disfonksiyonu, genel bir vazokonstriksiyona ve kalp, böbrek ve beyin gibi organlara kan akışının azalmasına neden olabilir (Amaral ve ark, 2015).

2.5. Preeklampsi Patofizyolojisi

PE patofizyolojisine yönelik araştırmalar yoğun olarak devam etmekle birlikte, multisistemik bir hastalık olması nedeniyle etiyolojik süreçlerin; maternal, genetik, immünolojik ve çevresel faktörlerden etkilendiği bilinmektedir (Valdés ve ark, 2017).

Bir plasenta hastalığı olan PE, birinci trimesterin başında anormal plasantasyon, ve ardından ikinci ve üçüncü trimesterlerde aşırı anti-anjiyogenik faktörlerle karakterize edilen maternal sendrom olmak üzere iki aşamada ilerler (Şekil 1). Anormal plasantasyon mekanizması tartışmalı olsa da, hayvan modelleri uteroplantal iskeminin, maternal preeklampsik sendromda gözlemlenen hipertansiyon ve çoklu organ hasarını yönlendirdiğini göstermiştir (Redman ve ark, 2005; Romero ve ark, 2013).



Şekil 1: PE gelişiminde iki aşamalı teori

İmmünolojik faktörler, genetik faktörler ve diğer maternal faktörler, plasenta fonksiyon bozukluğuna neden olur ve bu da anti-anjiyogenik faktörlerin (sFlt1 ve

sEng [çözünür endoglin]) ve diğer inflamatuvar mediatörlerin salgılanmasına neden olur. (Rana ve ark, 2019'dan uyarlanmıştır.)

2.5.1. Birinci Aşama: Anormal Plasentasyon, Trofoblast İstilas ve Maternal-Fetal Ara-yüz

Plasenta, hem embriyonik hem de maternal kan damarlarını içeren oldukça vasküler bir organdır. Aşama I'de gözlenen plasental disfonksiyon için insanlarda kesin bir kanıt bulunmamakla birlikte, maternal-fetal ara-yüzde oksidatif stres, anormal natürel katil (NK) hücreler, genetik ve çevresel faktörler de dahil olmak üzere bir takım teoriler önerilmiştir. Bu konudaki önemli kanıtlar, hastalıklı plasentanın, maternal dolaşımında inflamasyon, endotel disfonksiyonu ve maternal sistemik hastalıkla sonuçlanan çözünür toksik faktörlerin serbest kalmasına yol açtığı fikrini desteklemektedir (Roberts ve ark, 1989; Redman ve ark, 2005; Romero ve ark, 2013).

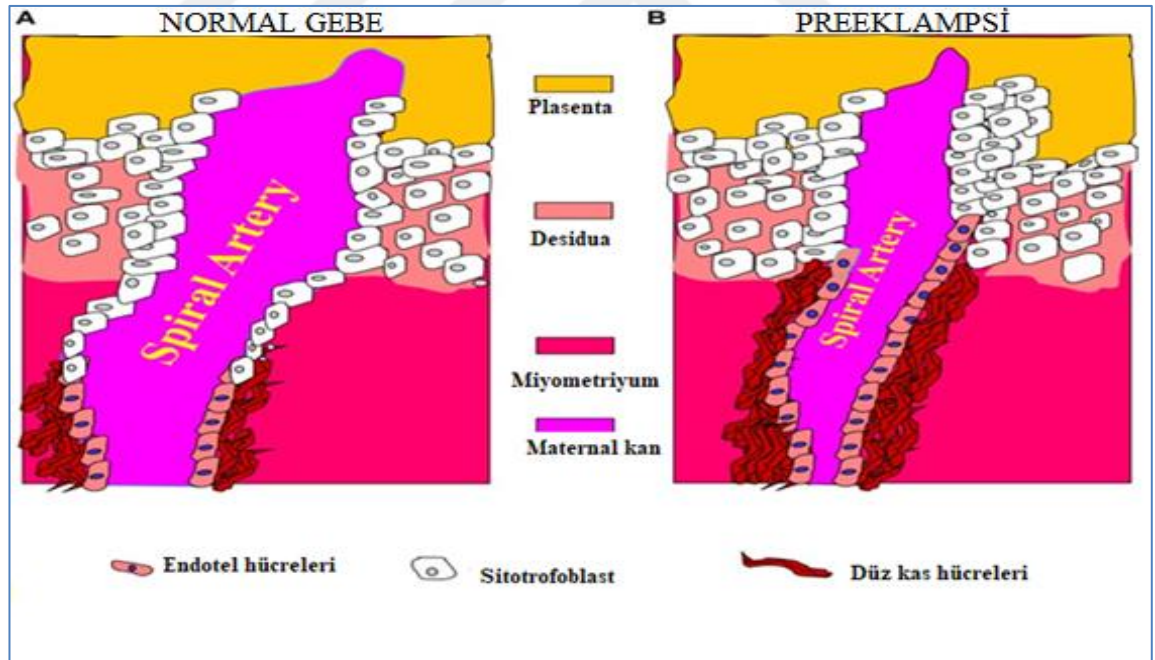
Başarılı bir hamilelikte, embriyonun uterusu implantasyonu, plasenta oluşumu için çok kritik bir aşamadır. İmplantasyon sırasında, trofoblastik hücreler sitotropoblastlara ve sinsitiotrofoblastlara ayrılır. İnsan plasentasının benzersiz anatomisi ektodermal kökenli progenitör hücreler olan sitotrofoblastların farklılaşmasından kaynaklanır (Cross ve ark, 1994). Sitotrofoblastlar, myometriyumun üçte birini kapsayacak şekilde desidual ve myometrial birleşme segmentlerindeki spiral arterleri istila eden ekstravillus trofoblastları (EVT) oluşturur (Zhou ve ark, 2002; Gathiram ve ark, 2016).

Plasenta, fetüs ve anne arasındaki dolaşımı iyileştirmek için vaskülogenez, anjiyogenez ve maternal spiral arter remodelingini içeren vaskülarizasyona uğrar. Sitotropoblastlar, maternal spiral arteriyalleri istila eder ve bunları düşük dirençli yüksek kapasiteli damarlara dönüştürür (Gerretsen ve ark, 1981). Böylelikle embriyonun sağlıklı gelişimi için gerekli olan uteroplental perfüzyon sağlanmış olur (Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2015).

Plasenta oluşumunda büyük öneme sahip istilacı sitotropoblastlar, maternal-fetal ara-yüzde vasküler bağlantılar kurarken, ektodermal kökenli epitelyal hücrelerden, sayısız endotel benzeri özelliklere sahip vasküler hücrelere farklılaşırlar (Zhou ve ark, 1997). Bu şekilde endovasküler istila sırasında, uterin arteriyallerinin endotel ve kas astarlarını, plasentaya maternal kan akışını başlatma ve damar çapını büyütme

yönünde değiştirirler. İkinci trimesterin sonunda damarlar yalnızca sitotroblastlar ile kaplanır ve maternal endotel hücreler, endometrial dokunun tamamı ve myometrial segmentlerin üçte biri olacak şekilde istilayı daha da genişletmiş olur (Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2015).

Spiral arterlerden plasentaya yüksek kapasiteli düşük basınçlı akış sağlayan değişiklikler, fetal beslenme için çok önemlidir. Kısaca; trofoblastların yayılması ve kan damarı duvarındaki düz kasın kaybolması, spiral arter remodelingini sağlar (Kaufmann ve ark, 2003; Lyall, 2005; Osol ve ark, 2009). PE gelişmesine sebep olan plasentalarda; sitotroblastlar, proliferatif epitel alt tipinden, istilacı endotel alt tipine geçemez ve spiral arterin yeniden şekillenmesinin başarısız olmasına neden olur (Zhou Y. ve ark, 1997). Başarısız spiral arter istilası ve yeniden şekillenmesi vasküler damarları dar ve oldukça dirençli hale getirir (Şekil 2) (Armaly ve ark, 2018).



Şekil 2: PE'li ve normal gebelerde trofoblast istilası ve spiral arter yeniden şekillenmesi.

PE'de gözlenen plasental iskeminin başlıca sebepleri; trofoblast istilası ve spiral arterlerin yeniden şekillenmesi süreçlerindeki başarısızlıktır. İstilanın sadece

maternal desidual segment ile sınırlı kalması, damarlarda kasılmalara neden olan bazı faktörlerin salgılanmasına yol açar. (Lam ve ark, 2005; Powe ve ark, 2011)

Gebelikten önce uterin arterlerin terminal uçlarındaki küçük kas damarları olan spiral arterler, iç içe geçmiş zengin bir damar topluluğudur (Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2015). Hamilelik sırasında uterin arterlerin terminal kısımları plasental gelişim aşamasında normalden dört kat daha fazla dilatasyona uğrayacak şekilde vasküler yeniden şekillenme ile modifikasyon geçirir (Brosens ve ark, 1964). Böylece yeniden şekillenme, damarların sinirsel ve hormonal sinyallere cevap vermesini engelleyecek şekilde düz kas ve elastiki doku kaybına sebep olur. PE'de başarısız yeniden şekillenme olduğundan, spiral arterlerin dış sinyallere olan duyarlılığı artar (Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2015).

PE'de başarısız plasantasyonla karakterize edilen 1.aşama için, normal gebeliğe göre değişen birçok fizyolojik durumdan bahsedilmektedir.

- **Hipoksi ve Trofoblast İnvazyonu:** Plasantasyon, hipoksik koşullarda gerçekleşir (Genbacev ve ark, 1996). Çok organlı iskemi ve hücrel oksijen yoksunluğunun bir belirtisi olan hipoksi ile indüklenebilir faktör (HIF) -1 α 'nın, trofoblastlarda yüksek seviyelerde eksprese edildiği bilinmektedir (Caniggia ve ark, 2000) ve PE'li kadınların plasentalarında HIF-1 α ve HIF-2 α ekspresyonlarının arttığı bildirilmiştir (Rajakumar ve ark, 2004).
- **Oksidatif Stres ve Endoplazmik Retikulum Stresi:** Maternal-fetal ara-yüzde üretilen reaktif oksijen türleri (ROS) fizyolojik düzeyde aktiftir ve PE, IUGR ve düşük gibi birçok gebelik hastalığının patofizyolojisinden sorumlu olan plasental biyolojiye katılır (Myatt ve ark, 2004). ROS'un anormal konsantrasyonu, hücre proliferasyonunu veya apoptozisini indükleyebilir ve oksidatif stres için bozulmuş savunma mekanizmasına bağlı olarak trofoblast istilasını ve farklılaşmasını etkileyebilir (Zhuang ve ark, 2015).

Yeniden şekillenmenin kısıtlı olduğu PE'de, vasküler kas ve elastiki doku kaybının az olmasından dolayı plasentaya aralıklı kan akışı olur. Aralıklı oksijenle karşılaşan plasentada hipoksik bir ortam oluşur (Poston ve ark, 2004). Oksidatif stres sonucu oluşan ROS antioksidanlarca zararsızlaştırma kapasitesini aşacak yoğunlukta olduğunda stres daha da artar (Schulz ve ark, 2011). Artan oksidatif stres; protein,

lipit ve DNA'ya zarar veren ROS oluşumuna yol açar (Schulz ve ark, 2011; Burton ve ark, 2011). Oksidatif stres, sFlt-1 gibi anti-anjiyojenik faktörlerin transkripsiyonunu da indükleyebilir. Normal gebeliği olan kadınlara kıyasla PE'li kadınlarda, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir (Vaughan ve ark, 2002).

Düşük oksijen seviyeleri oksidatif strese ek olarak ER(Endoplazmik Retikulum) stresine de neden olur (Burton ve ark, 2011). ER stresi, protein işlenmesinin ve iletiminin sağlanması için gereken ortam olmadığında protein sentezini azaltan hücrel bir mekanizmadır. Bu karakteristik tepki sonucu UPR (katlanmamış protein yanıtı) oluşur. UPR protein sentezini durdurarak plasental geriliğe sebep olan apoptozun indüklenmesine neden olur (Burton ve ark, 2009; Wang ve ark, 2012). ER stresi aynı zamanda ROS oluşumunu da indükler.

- **Natürel Katil Hücreler ve Bozulmuş Plasentasyon:** Başarılı bir hamilelik, maternal immün sistem hücrelerinin, trofoblast hücrelerine karşı toleranslı olmasını gerektirir (Redman ve ark, 2010). Hamilelikten önce uzun süreli sperm maruziyetinin koruyucu yapısı, partner değişimin etkisi ve "tehlikeli" partner teorisi, maternal immün maladaptasyon hipotezi ile tutarlıdır. Paternal HLA'nın (İnsan Lökosit Antijen) seminal plazmada mı yoksa spermatozoanın kendisinde mi taşındığı belli değildir, ancak önceden maruz kalmanın PE gelişme riskini azalttığı kesindir. Çözünür HLA, insan sitotoksik T hücrelerinde apoptozu indükler, böylece paternal antijenlere maternal tolerans sağlanır (Young ve ark, 2010).

Uterin NK hücreleri; VEGF, PlGF ve TGF (Transforme edici büyüme faktörü) - β gibi anjiyojenik faktörler üretir (Saito ve ark, 2007). Normal gebelik sırasında, desidual uterin NK hücrelerinin paternal MHC sınıf I antijenleri ile aktivasyonu, EVT'lerde Flt-1 reseptörlerine bağlanarak, EVT istilasına neden olan VEGF artışını sağlar. Desidual uterin NK hücrelerinin büyüme faktörleri ile trofoblast reseptörleri arasındaki etkileşimin başarısızlığı PE'deki azalmış EVT istilasından sorumlu olabilir (Sibai ve ark, 2005).

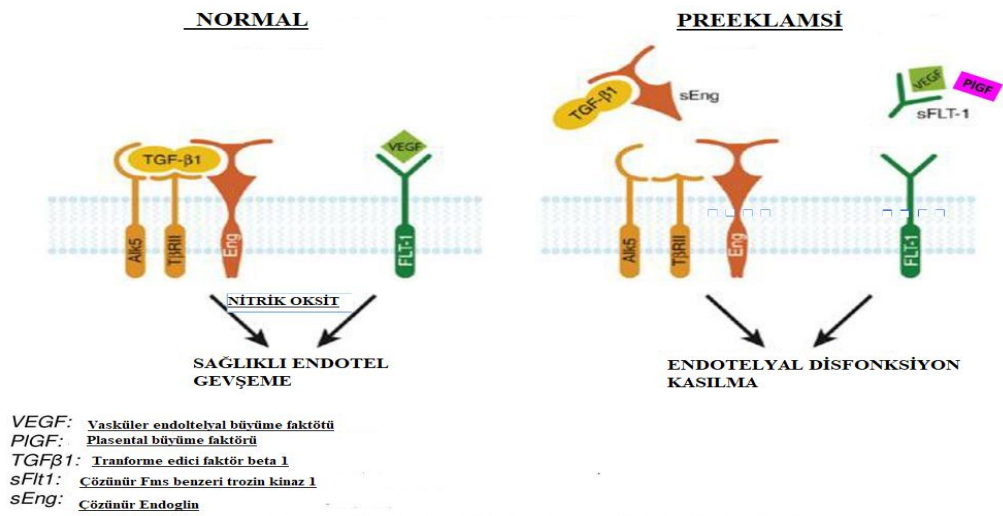
2.5.2. İkinci Aşama: Maternal Sendromun Patogenezi

Hastalığın ikinci evresi, dolaşımdaki faktörleri maternal dolaşımda serbest bırakan hipoksik bir plasenta ile ilişkili iskemik veya reperfüzyon fenomenlerinden oluşur.

Bu dolaşımdaki faktörler ve serbest radikal oluşumu, endotel hücre fonksiyonunda değişikliklere sebep olarak PE'nin klinik özelliklerine katkıda bulunur (Roberts ve ark, 1992; Hung ve ark, 2006).

Endotel hücreleri, hücresel ve plazma bileşenleri (sitokinler, lipoptoteinler, trombositler, lökositler, plasental mikroveziküller, antikorlar ve dolaşımdaki diğer faktörler) için bir hedefdir. Endotel hücreleri; vasküler tonusu, pıhtılaşmayı, geçirgenliği ve immün hücrelerin hedeflenmesini düzenler. Fizyolojik koşullarda endotel, hemostatik dengeyi korur. PE'de endotel hücre disfonksiyonu; vazospazm, mikrotromboz ve vasküler geçirgenliğe yol açmaktadır (Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2015).

- **Dolaşımdaki Anti-anjiyojenik/Anjiyojenik ve Vazokonstriktör/Vazodilatör Faktörler:** VEGF ve PlGF, plasental anjiyogenezde anahtar bir rol oynar ve bunların, trofoblast hücreleri tarafından salgılandığına inanılır (Gathiram ve ark, 2016). Anti-anjiyojenik faktörlerden VEGF reseptörleri (VEGFR1 ve VEGFR2) ve Eng en çok çalışılanlardır. VEGFR1, membran bağlı olan Flt-1 olarak da bilinir, VEGFR2 ise kinaz insert bölgesi reseptörü (KDR) olarak bilinir (Neufeld ve ark, 1999; Bdolah ve ark, 2005). Flt-1'in bir varyantı olan sFlt-1'in, dolaşımda serbest formda olduğu bilinmektedir (Neufeld ve ark, 1999). Normal gebeliğin aksine PE'de; VEGF, sFlt-1'e Flt-1'den daha yüksek bağlanma afinitesine sahiptir ve sirkülasyondaki VEGF seviyeleri azalmıştır (Şekil-3) (Luizon ve ark, 2012).



Karumanchi et al. Placental ischemia and soluble fms-like tyrosine kinase 1: cause or consequence of preeclampsia? *Kidney Int.* 2007;71, 959-61

Şekil 3: Normal ve PE'li gebeliklerde, vazodilatör ve anjiyojenik faktörler.

sFlt-1 ve sEng, VEGF ve TGF- β sinyalini antagonize ederek endotel disfonksiyonuna neden olur. VEGF ve TGF- β 'nin böbrek ve plasenta olmak üzere birçok dokudaki endotel sağlığını korumak için gerekli olduğuna dair kanıtlar vardır. Normal hamilelik sırasında vaskülatördeki fizyolojik VEGF ve TGF- β sinyal seviyeleri vasküler homeostazı korur. PE'de sFlt-1 ve sEng'nin plasentadan fazla salgılanması, vaskülatörde sırasıyla; VEGF ve TGF- β sinyalini inhibe eder. Hem VEGF'nin hem de TGF- β 'nin anti-trombotik Prostaglandin'in (PGI₂) üretimini uyardığı iyi bilinmektedir. PE'de vazokonstriktif durumun bir diğer nedeni, trombinden üretilen ve vazokonstriktör bir molekül olan Trombaksan A₂ ve endotelden üretilen vazodilatör bir molekül olan PGI₂ arasındaki dengenin bozulmasıdır (Wang ve ark, 1991; Rocca ve ark, 2000). Sonuç olarak, VEGF ve TGF- β 'nin görevini yerine getirememesi; PGI₂ ve NO üretiminin azalması ve prokoagülan proteinlerin salınımının artmasıyla, endotel hücre fonksiyon bozukluğuna neden olur (Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2015).

- **İnflamatuar Sitokinler ve İmmün Hücre Değişiklikleri:** İnflamatuar sitokinlerin uyarılmasından sorumlu olan Toll benzeri reseptör (TLR) ailesinden TLR-4; özellikle plasentada, lökositlerde ve renal podositlerde bol miktarda bulunur. PE, plasenta ve renal TLR-4'ün aşırı ekspresyonu ile ilişkilidir. TLR-4, plasental/renal fonksiyon bozukluğuna ve inflammatuar sitokinlerin artışına neden olur (Sun ve ark, 2016; Kulikova ve ark, 2016). Ayrıca, çok yüksek TLR-4 reseptörleri erken başlangıçlı PE ve HELLP (Hemolysis, Elevated Liver Enzyme and Low Platelet) sendromu ile ilişkilidir (Xie ve ark, 2014).

Normal ve PE'li gebelerinin 14 ila 18. gebelik haftaları arasında alınan serumlarındaki inflammatuar faktörlerden tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), interlekin 10 (IL-10) ve interferon- γ (INF- γ) seviyeleri karşılaştırılmış ve PE'li gebelerde daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. (Kumar ve ark, 2013). Gathiram ve arkadaşları da, dolaşımdaki sitokinlerden IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p40, IL-12p70, IL-18, INF-8 ve TNF- α 'nın serum seviyelerinin PE'li gebelerde yüksek olduğunu göstermiştir (Gathiram ve ark, 2016).

TNF- α , PE'de endotel hücrelerindeki yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olurken, indüklenebilir NOS (iNOS) içeren aktivitesi vasküler reaktiviteyi etkiler ve

doğrudan oksidatif hasara neden olur (Rousseau ve ark, 2003; Thakoordeen ve ark, 2018).

- **Renin-Anjiyotensin Yolağı:** Renin-Anjiyotensin Aldosteron sistemindeki (RAAS) değişiklikler, PE'de normal gebelikle karşılaştırıldığında, önemli ölçüde farklı bulunmuştur (Irani ve ark, 2008). Bazı çalışmalar, PE başlangıcı sırasında ve öncesinde, normal gebelikle karşılaştırıldığında, dolaşımdaki renin ve anjiyotensin-II'deki azalmaya rağmen, artan anjiyotensin-II duyarlılığını göstermiştir (Gant ve ark, 1973; Brown ve ark, 1997). PE'li gebelerde, anjiyotensin duyarlılığının nedeni olabileceği düşünülen otoimmün bir faktör olan anjiyotensin-II tip 1-reseptör oto-antikorları (anti-AT1-AA) tanımlanmıştır (Wallukat ve ark, 1999).

AT1 ve AT2 reseptörleri, anjiyotensin için iki ana reseptördür ve yedi transmembran G-proteinine bağlı reseptör ailesine aittir (Irani ve ark, 2008). AT1 reseptörleri, vasküler düz kaslarda ve adrenal bezlerde eksprese edilir ve G-proteinine bağlanarak hücre içi kalsiyum salınımını uyarır. Ayrıca, vazokonstriksiyon, sempatik aktivite ve Aldosteron salınımı gibi anjiyotensin-II aracılı etkilerin çoğundan sorumludurlar. AT2 reseptörleri, fetal dokuda yaygın şekilde eksprese edilirken yetişkin dokuda sınırlı ekspresyona sahiptir (Aggarwal ve ark, 2015). Anti-AT1-AA antikorları, insan trofoblastlarında ve vasküler hücreler üzerinde bulunan AT1 reseptöründeki spesifik bir epitopa bağlanarak PE patolojisine katkıda bulunur (Dechend ve ark, 2006).

2.6. Genetik ve Preeklamsi İlişkisi

PE etiolojisinde, hem anne hem de fetal kökene sahip çeşitli genetik bileşenler rol oynamaktadır. İlk gebelikte PE gelişme riski %3 olarak hesaplanırken anne yaşı arttıkça bu risk belirgin olarak artar. PE riski, ikinci gebelik aynı eş tarafından gerçekleşiyorsa %1,7, eş ilk gebeliktekinden farklı ise %1,9 olarak değişmektedir (Haram ve ark.2014).

PE'nin kalıtım derecesi tahminleri %31 ila %54 arasında değişmektedir (Salonen Ros ve ark. 2000; Johnson ve ark. 2007). Ailelerde PE kalıtım tarzını açıklamak için çeşitli genetik modeller önerilmiştir. Önerilenler arasında; anneden kaynaklı aktif bir resesif gen ya da klasik bir Mendel kalıtım tarzına uyan eksik penetrasyonlu baskın bir gen (Arngrimsson ve ark. 1990) veya mitokondriyal genler (Torbergson ve ark. 1989) ve parentof kökenli imprinting genlerin varlığı (Graves, 1998) gibi modeller

bulunmaktadır. Mevcut görüş PE'nin yalnızca basit Mendel genetiği ile açıklanamayan, karmaşık bir genetik temele sahip olduğu yönündedir (Chappell ve ark. 2006). Ailelerde PE geçmişini araştıran çalışmalar, PE gelişiminin %50'sine genetik faktörlerin katkısına ek olarak hastalığın, ırksal, coğrafi ve sosyo-ekonomik faktörlerden de etkilendiği sonucunu ortaya koymuştur (Valenzuela ve ark. 2012). Dolayısıyla PE duyarlılığı, çevreye ek olarak maternal ve fetal (anne+baba) genotipleri arasında karmaşık bir etkileşim olarak kabul edilir (Mutze ve ark. 2008).

PE'nin genetik temelinin belirlenmesinin üç önemli sonucu vardır. İlk olarak, tespit edilen geçici gen(ler), tarama yoluyla yüksek riskli kadınları tanımlamak için klinik biyobelirteç testlerinin geliştirilmesi ve devamında önleyici tedavi ve sürveyansla hasta sonuçlarını iyileştirebilecek bir fırsat sağlaması amacıyla kullanılabilir. İkincisi, bu genlerin nasıl çalıştığını anlamak, hala bilinmeyen PE nedenine yeni bir bakış açısı getirecektir. Son olarak da; potansiyel yeni tedaviler, PE riskini azaltacak ve gelecek nesiller üzerindeki etkisini en aza indirilebilmesi için PE patogenezinin daha iyi anlaşılmasıyla sonuçlanabilecektir. (Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2015).

PE'nin genetik arka yüzünü aydınlatmak için birçok genetik çalışma yapılmaktadır. Ailelerin incelenmesi, ikiz deneyleri, segregasyon analizleri, bağlantı analizleri ve ilişkilendirme analizleri gibi geniş çaplı genetik taramalar yapılmış ve yapılmaya devam etmektedir (Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2015). Bu taramalar sayesinde, PE'de "aday gen" ve "ana gen" yaklaşımı kullanılarak birçok gen belirlenmiştir.

a-) PE'de "aday gen" yaklaşımı

PE ile ilişkili genleri tespit etmek için sıkça kullanılan "aday gen yaklaşımı"nda yukarıda bahsi geçen genetik taramalar büyük ölçüde maternal genotiplere odaklanmıştır ve basitçe PE ve normotansif gebelikler arasındaki genetik varyasyon sıklığını karşılaştırmaktadır (Chappell ve Morgan, 2006). PE patolojisine potansiyel katılımı ve biyolojik fonksiyonu araştırmak için tek bir gen seçilir (van Dijk ve Oudejans, 2013). Araştırmalar, bir aday gendeki SNP'lerin veya birden fazla genin polimorfizm analizini içermektedir (Chappell ve Morgan, 2006). Bu tür araştırmalarla ilgili en büyük sorun, yine kullanılan hasta popülasyonlarındaki

farklılıklardır. Ayrıca, hastalar ailesel bir bileşene sahip olmadığında, duyarlılık genlerini tanımlamak için ihtiyaç duyulan hasta sayısı çok daha yüksek olacaktır (van Dijk ve Oudejans, 2013). PE patofizyolojisinin kümülatif bilgilerine dayanarak, aday gen yaklaşımında endotel fonksiyonu, hemodinamik, immün yanıt, lipid metabolizması, oksidatif stres ve trombofilideki genler ağırlıklı olarak incelemiştir (Williams ve ark, 2011). İlk aday gen çalışmalarının çoğu sadece dokuz gen üzerinde odaklanmıştır: *AGT*, *ACE*, *AGTR1*, *AGTR2*, *F2*, *F5*, *MTHFR*, *NOS3* ve *TNF* (Chappell ve Morgan, 2006). Aday genlerden yedi tanesi tablo-4 de gösterilmiştir. (Staines-Urias ve ark. 2012; Buurma ve ark. 2013).

Tablo 4: PE'de en çok çalışılan yedi gen

Kromozom lokalizasyonu	Gen	Çalışılan polimorfizmler	Preeklampsi üzerine biyolojik etkisi
1p36.3	<i>MTHFR</i>	C677T	Vasküler hastalıklar
1q23	<i>F5</i>	Leiden (rs6205)	Thrombophilia
1q42–q43	<i>AGT</i>	M235T	Kan akışının düzenlenmesi, uterin
7q36	<i>NOS3</i>	Glu298Asp	Vasküler endotel disfonksiyonu
11p11–q12	<i>F2</i>	G20210A	Kan koagülasyonu
17q23	<i>ACE</i>	I/D at intron 16	Kan akışının düzenlenmesi
3q24	<i>AGTR1</i>	rs5186	Vasküler biyoloji

Kan pıhtılaşması, preeklampsi kadınlarda, özellikle de trombositopeni geliştiren HELLP sendromlu kadınlarda anormaldir. Bu nedenle çok sayıda çalışma, çoklu trombofili genlerinin PE ile ilişkisini incelemiştir (Mutze ve ark. 2008). Yaygın olarak incelenen üç trombofilik faktörden, protrombin (F2), faktör 5 Leiden (F5) ve metilentetrahidrofolat redüktazın (*MTHFR*) birkaç genetik varyantının, bazıları çelişkili sonuçlar vermesine rağmen, çoklu meta analizlerde PE ile tutarlı ilişkiler gösterdiğini bulunmuştur (Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2015).

1p36.3'te lokalize *MTHFR* geni, folat ve homosistein metabolizmasındaki *MTHFR* anahtar enzimini kodlar (Wu ve ark. 2015). C677T polimorfizmi, enzimdeki alanin

amino asidinin valine dönüşmesine sebep olur. Bu durum, MTHFR'nin termobilitesini arttırarak bozulmuş folat bağlanmasına ve MTHFR enziminin aktivitesinin azalmasına neden olur (Egan, 2004). Genin C677T varyantı, vasküler hastalıklar için bir risk faktörü olarak belirlenmiştir (Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2015).

Aktif faktör X (FXa) ile aktive edilmiş F5 (F5a), protrombini trombine dönüştürür ve PE için potansiyel bir genetik faktör olarak kabul edilir. Kan pıhtılaşma kademesinin temel bir kofaktörünü kodlayan ve kromozom 1q23'de lokalize olan *F5* geni, yaygın trombofilik bir mutasyon (rs6025) taşıması nedeniyle geniş çapta araştırılmış ve PE gelişme riski ile ilişkili bulunmuştur (Zhang ve ark. 2016). Protrombin ve Faktör 2 (F2), sırasıyla; 11p11 ve 11q12.'de lokalizedir. F2'nin G20210A polimorfizmi, 1999 ve 2013 yılları arasında 20'den fazla PE çalışmasında araştırılmıştır ve çalışmalardan ikisi anlamlı bir sonuca ulaşmasa da, aralarında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2015).

Anormal kan basıncı, PE'nin karakteristik özelliklerinden biri olmasından dolayı, birçok çalışma da kan basıncı düzenlemesinde rol alan reninangiotensin sistemine (RAS) odaklanmıştır. Bu sistemin aktivasyonu; vazokonstriksiyona, plazma hacminin genişlemesine, sempatik sinir sisteminin aktivasyonuna ve artmış kan basıncına neden olur. RAS yolağında yer alan genlerdeki (*ACE*, *AGT* ve *AGTRI*; sırasıyla; 17q23, 1q42–q43, 3q24'de lokalize) birkaç genetik varyant, meta-analizlerde ve sistemik incelemelerde PE ile pozitif olarak ilişkilendirilmiştir (Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2015).

Tümör nekroz faktör- α (TNF- α), üremede hayati bir rol oynayan pro-inflamatuar bir sitokindir. Fonksiyonları arasında gamet ve embriyo gelişimi, plasental farklılaşma ve ayrılma bulunur. İlk trimesterde, trofoblastik soy hücreleri olan sinsitiotrofoblastlar, proliferatif trofoblastlar ve EVT'lerin hepsi TNF- α mRNA'sını eksprese eder. PE, TNF- α gibi yüksek seviyelerde Th1 sitokinlerinin eksprese edildiği, abartılı bir inflamasyon hali olarak kabul edilir (Calleja-Agius ve ark. 2012). Mohajertehran ve arkadaşları, TNF- α gen polimorfizmlerinin PE'de yüksek TNF- α seviyeleri ile ilişkisini desteklerken, de Lima ve arkadaşları, TNF- α polimorfik geni

ve PE gelişimi arasında bir ilişki olmadığını bildirmiştir (de Lima ve ark, 2009; Mohajertehran ve ark, 2012). Finlandiya'da yapılan bir çalışmada da, TNF- α geninde C850T polimorfizmi saptanmış ve T alelinin, PE gelişme riskini azaltan, koruyucu bir etki sağlayabileceği ileri sürülmüştür (Heiskanen ve ark. 2002).

Gebelikte fetal antijenlere maternal uyumun olmamasının, PE patogenezinde katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir. Yabancı fetal antijenler baba kökenlidir ve bu da endotel hücre hasarına neden olan sitokinlerin salınımını indükleyebilir. Maternal-fetal arayüzde, insan lökosit antijeni-G (HLA-G) fetal trofoblast hücreleri tarafından eksprese edilir (Tan ve ark, 2008). HLA-G'nin, maternal NK hücrelerince tanınması sonucu istilacı yarı allojenik sitotrofoblastlar hasara uğratılmaz. HLA-G'nin başka bir rolü, maternal NK hücrelerinin plasenta boyunca transendotelial göçünü inhibe etmektir. Bunu yaparken, büyüyen fetüse maternal tolerans artar. Birçok çalışmada maternal-fetal uyumun bozulmasında HLA-G antijenlerinden kaynaklandığı gösterilmiş olsa da çoğu çalışmada anlamlı bir fark bulunamamış olması, HLA-G'nin aday genler arasından çıkarılmasına neden olmuştur (Thakoordeen ve ark, 2018).

IL-27 rs17855750 ve rs153109 SNP'leri de PE gelişimini etkilemektedir (Chen ve ark. 2016). Rs17855750'de T alelinin G aleline dönüştürülmesinin bir serin-alanin değişikliği ile sonuçlandığı; rs153109'un, IL-27 geninin promotör bölgesinde bulunan, transkripsiyon ve protein ekspresyonuna aracılık eden bir SNP olduğu gösterilmiştir. Rs17855750'nin PE ile ilişkili olduğu, bunun yanında rs153109'un PE gelişimine karşı koruyucu bir etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu nedenle, PE'ye duyarlılık için potansiyel genetik belirteçler olarak kullanılabilirler (Chen ve ark. 2016; Liu ve ark. 2016).

IL-4; aktive edilmiş Th2 hücreleri, bazofiller, mast hücreleri ve B lenfositleri tarafından salgılanır ve Th2 tipi bağışıklığın düzenlenmesinde hayati öneme sahiptir (Thakoordeen ve ark, 2018). Zhang ve çalışma arkadaşları, 162 preeklampatik gebe ve 266 sağlıklı kontrol ile yaptığı çalışmada IL-4 C33T polimorfizminin PE ile anlamlı bir ilişki göstermediğini, ancak IL-4 C590T polimorfizminin PE gelişimine katkıda bulunduğundan, aday bir gen olarak araştırılması gerektiğini savunmuştur (Zhang ve ark, 2017).

PE'de gözlenen iltihaplı ortama aracılık eden bir başka belirgin sitokin, IL-1'dir. Bu sitokin ailesi, iki proinflamatuvar mediatörden; IL-1 α ve IL-1 β , oluşur. Bu mediatörler; monositler, makrofajlar ve epitel hücreleri tarafından salgılanırlar ve proinflamatuvar bir kaskadın indüksiyonunun dahil olduğu birçok fonksiyona sahiptirler (Huber ve ark, 2005). IL-1 α gen polimorfizmleri rs17561 ve rs1800587'nin, bir SriLankalı kadın kohortunda PE gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Andraweera ve ark, 2015).

IFN- γ , hücre proliferasyonunun inhibisyonu ve apoptozun indüksiyonu gibi çeşitli hücre sel süreçlerde dinamik bir role sahiptir ve ayrıca tümörlerin ve patojenlerin immün gözetiminde rol oynar (Murphy ve ark, 2009). IFN- γ , normal gebelikte vasküler yeniden şekillenme ve uterusun desidua tabakasının korunmasında rol alır (Taylor ve ark, 2016). Çalışmalar, uterin NK hücrelerinin, insan gebeliğinin ilk trimesterinde trofoblast hücre istilasını önleyen IFN- γ salgıladığını göstermiştir (Murphy ve ark, 2009). Preeklampitik gebeliklerde, IFN- γ konsantrasyonları plazma ve desidua dokularında artmakta ve bu artışın, PE'de ortaya çıkan bozulmuş vaskülarizasyonun işareti olduğu öne sürülmektedir (Murphy ve ark, 2009; Taylor ve ark, 2016).

Kamali-Sarvestani ve arkadaşları, PE'deki IFN- γ gen polimorfizmlerinin hastalık gelişimiyle ilişkisi olmadığını bildirmiştir (Kamali-Sarvestani ve ark, 2006). Buna karşılık, 2015'te yapılan bir çalışmada, IFN- γ 'nin +874T/T genotipinin, hastalık tablosu için aday bir gen olabileceğini öne sürülmüş ve PE gelişimi ile ilişkili olduğunu bulunmuştur (Pinheiro ve ark, 2015).

MMP (matriks metalloproteinaz)-9 1562C/C'nin VEGF 634C/C ve MMP-9 1562C/T'nin VEGF 634C/C veya 634G/G ile kombinasyonları da PE'li gebelerde normotansif gebelerden daha sık görülür. Buradan hareketle, MMP-9 ve VEGF'nin spesifik genotiplerinin kombinasyonlarının PE gelişimine duyarlılığı arttırdığı anlaşılmaktadır (Luizon ve ark, 2012).

Flt-1 rs12584067 ve rs7335588 ve VEGF-C rs1485766 ve rs6838834 SNP'leri, siyahi kadınlarda PE ile ilişkiliyken beyaz ırkta ilişki bulunmamıştır (Sun ve ark, 2017).

iNOS SNP'lerinden ekson 8'deki G300A ve ekzon 16'daki G274T'nin, PE gelişimi ile ilişkisi, preeklampatik Hintli kadınlarda değerlendirilmiş ve aralarında anlamlı bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak, sağlıklı normotansif gebelikte, iNOS mRNA, miyometriyal tonu düzenleyerek eksprese edilir ve PE'de düşük konsantrasyonlarda iNOS mRNA seviyesi gösterilmiştir (Bhatnagar ve ark, 2007).

b-) PE'de "ana gen" yaklaşımı

PE patofizyolojisinin genetik temeli için; "ana gen" olarak adlandırılan ve hastalığa duyarlılık oluşturan yaygın bir alel olduğu hipotezi önerilmiştir. Kan akrabalarında PE insidansındaki belirgin artış, maternal genlerin fetal genlerden daha önemli olduğu anlamına gelmektedir. Alternatif olarak, bu kalıtım paterni PE'nin anneden fetusa bir resesif gen tarafından iletilmesi hipotezini de desteklemektedir. Daha yeni analizler ise güçlü epigenetik faktörlerin de katıldığı, çok faktörlü poligenik bir kalıtım olduğunu göstermektedir (Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2015).

Genom çapında bağlantı çalışmalarıyla, PE duyarlılığı için kromozom 1, 2p13, 2q, 3p, 4q, 9, 10q, 11q23-24, 12q, 15q, 18 ve 22q kromozomları üzerinde birden fazla gen lokusu belirlenmiştir. Global gen ekspresyonu ile, ilk üç aylık dönemdeki PE-gebe ve norm-gebe kadınlarının plasentaları karşılaştırıldığında, PE-gebe plasentalarında yaklaşık 36 ana gen tanımlanmış ve bunların 31'inin ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (Fenstad ve ark, 2010). Bugüne kadar, belirgin genom çapında bağlantıya sahip doğrulanmış bölgeler içinde sadece iki duyarlılık geni (*ACVR2A* ve *STOX1*; sırasıyla 2q22 ve 10q22'de lokalize) tanımlanmıştır (van Dijk ve ark, 2005; Moses ve ark, 2006). Ailesel PE formlarında tanımlanan her iki duyarlılık geninin de PE ile ilişkili alelleri, "yaygın hastalığa ortak varyant hipotezi" ile tutarlı normal varyasyonları içermektedir (Wang ve ark, 2005; van Dijk ve ark, 2011).

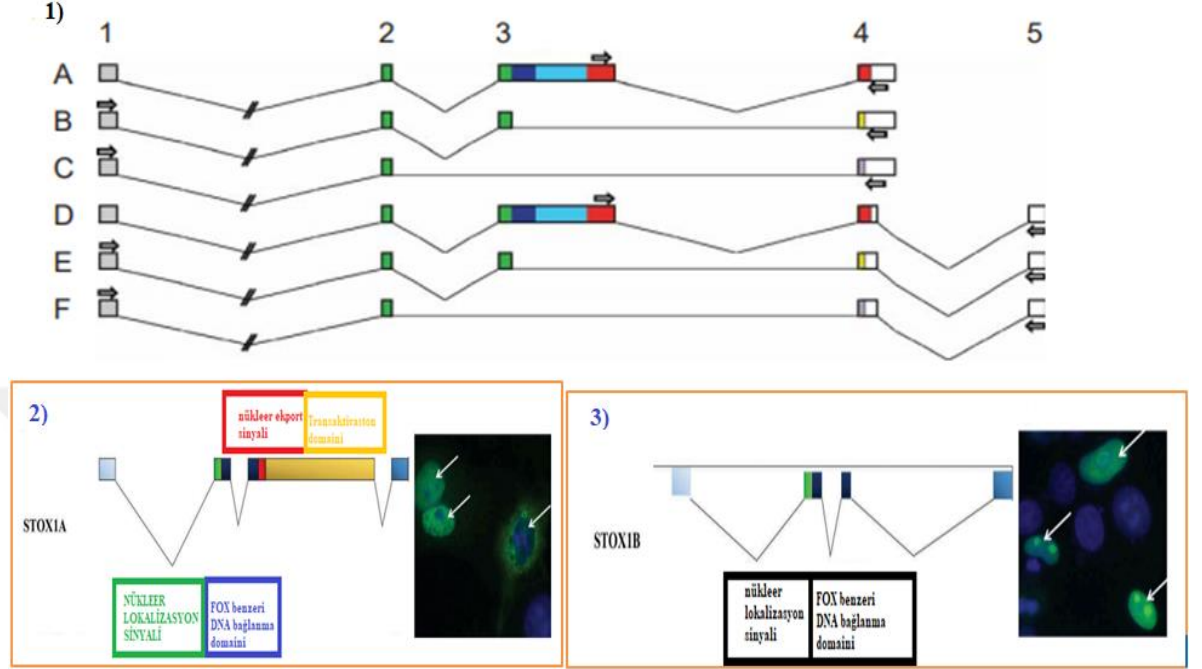
ACVR2A geni, Activin ligandlarını bağlayabilen bir Activin reseptörü tip II'yi kodlar. Activin A, plasentanın hem maternal hem de fetal bölgesi üzerinde önemli bir rol oynar. maternal bölgede endometrial stromal hücrelerinin kararsızlaştırılmasını teşvik ederken, fetal bölgede ise trofoblast farklılaşmasını destekleyerek trofoblast istilasını düzenler (Jones ve ark, 2002). PE'li kadınların serumunda Activin A düzeylerinde artış olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Giguère ve ark, 2010). *ACVR2A* geninde tanımlanan SNP'lerin hiçbiri ekzonlarda yer almamaktadır.

2.7. *STOX-1* Geni

Bir transkripsiyon faktörü olan *STOX1* (Storkhead Box 1), 2005 yılında van Dijk ve arkadaşlarının kromozom 10q22.1'de, 70.000 bp'lik PE duyarlılık lokusunu RT-PCR kullanarak tam transkript analizi yapmasıyla keşfedilmiştir (van Dijk ve ark, 2005). İkincil yapı analizi (PSIPRED) ile proteinin DNA bağlayıcı kanatlı heliks bölgesinin karakteristik 87 amino asitlik bir alanı kapsadığı belirlenmiştir. Bu kanatlı sarmal DNA-bağlama alanı, FOX transkripsiyon faktörleri ailesinde görülen bağlama alanına büyük benzerlik göstermesiyle dikkat çekmiştir. Kanat-2 stabilitesini kontrol eden ve böylece DNA bağlanmasını etkileyen korunmuş hidrofobik amino asitlerin varlığı ve konumu, her iki protein ailesinde de korunur (van Dijk ve ark, 2005). İşlevsel olarak da transkripsiyon faktörlerinin FOX ailesine bağlı olan *STOX1*, çoklu biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde görev alan genlerin ekspresyon kontrolünde rol oynar (Erlandsson ve ark, 2019).

5 ekzonu bulunan *STOX1* geninin, 1. ve 2. ekzonu büyük bir intronla (54 kb) birbirinden ayrılır ve bu ekzonlar tüm plasental transkriptler arasında ortak olarak bulunur. 1.505bp'lik tek bir CpG adası (%74 GC), ekzon 1'deki başlangıç kodonuna göre -521 ile +984 nükleotitlerini kapsar. Ekzon 1'deki kodlama bölgesinin ilk dört nükleotidinden (ATGG) hemen sonra gelen 336bp'lik bir diziyi yine aynı 336bp'lik dizi takip eder ve ilk tekrar transkribe edilir. *STOX1*'den ilk olarak post-translasyonel modifikasyonlar (ekzon 3 ve 5'in alternatif splice olması) ile hücre içi lokalizasyonları farklı olan altı izoform (A, B, C, D, E, F) üretilir. Nükleer lokalizasyon (NLS) ve nükleer eksport (NES) sinyallerinin, sırasıyla; ekzon 1 ve 3'te olduğu tahmin edilmektedir ve bu kontrol dizileri, FOX proteinlerinin nükleer sitoplazmik mekiklenmesini düzenler (Obsil ve ark, 2003; Zhao ve ark, 2004). Nükleustan çıkış, fosfatidilinositol 3-kinaz (PI3K) ve protein kinaz B (PKB, ayrıca Akt olarak da bilinir) yolağının FOX proteinlerini fosforile etmesiyle gerçekleşir ve sonuçta *STOX1* ubiquitasyonla degrade olur (Matsuzaki ve ark, 2003). *STOX1* tarafından kodlanan ve bu sinyallerden sadece NLS'yi barındıran en kısa iki izoformlar (B ve C) çekirdekte lokalize olmaktadır. En büyük transkript tarafından kodlanan izoform A ise hem çekirdekte hem de sitoplazmada bulunmaktadır (van Dijk ve ark, 2005). *STOX1*'in, FOX transkripsiyon ailesinden olduğuna dair başka bir kanıt ise, FOX transkripsiyon ailesinin bazı üyelerinde olduğu gibi sinyal

kaskadının yukarı düzleminde PI3K-Akt yolunun bulunmasıdır (van Dijk ve ark, 2005). STOX1A'nın nükleus geçişi, büyük olasılıkla Akt yolağı ile bağlantılı olarak gerçekleşir (van Dijk ve ark, 2005; Nie ve ark, 2015).

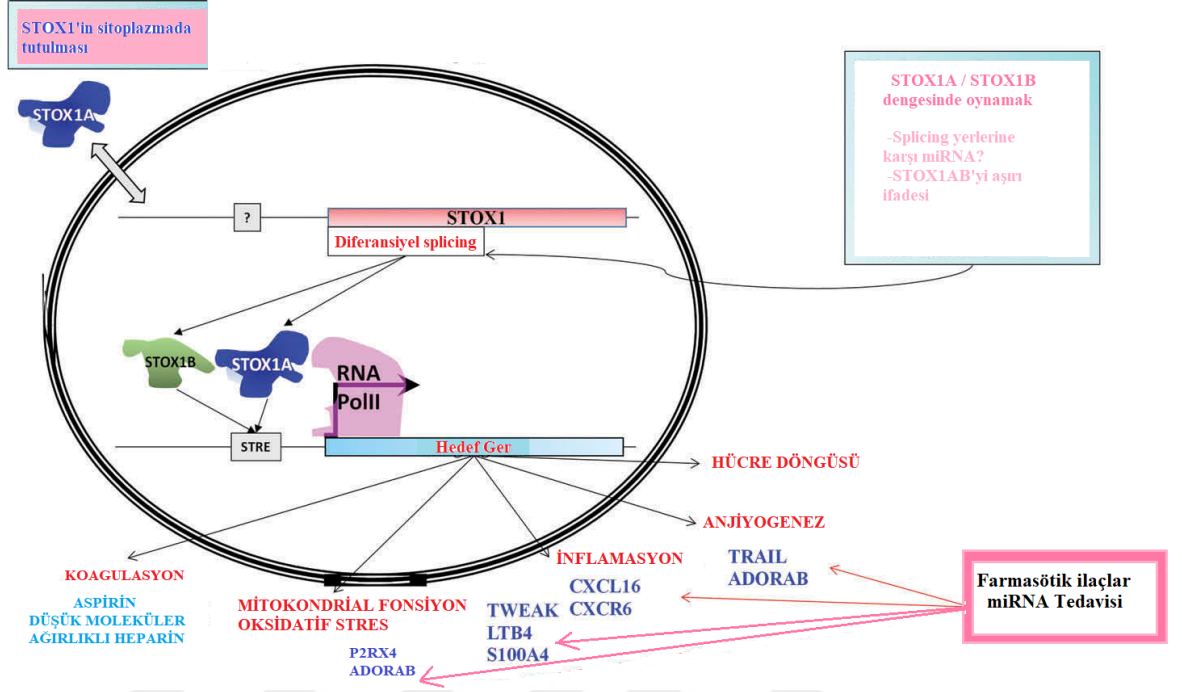


Şekil 4: STOX1 geni izoformları ve lokalizasyonları.

(1) STOX1'in altı izoformu. 1. ekzondaki gri renkli kısım nükleer lokalizasyon sinyalini göstermektedir. 2.ve 3. ekzonlardaki yeşil kısımlar, kanatlı DNA bağlanma alanını kodlar. 3. ekzondaki mavi renkli kısım ise nükleer eksport sinyalini (NES) kodlar. (2) STOX1A. Kırmızı kutucuk, bir NES ve sarı kutucuk bir aktivasyon alanı göstermektedir. STOX1A, çekirdekten belirli sinyaller aldığı anda sitoplazmaya doğru yer değiştirebilir. (3) STOX1B. Yeşil kutucuk NLS'yi ifade etmektedir. STOX1B, NES taşımadığı için çekirdekte lokalizedir (van Dijk ve ark, 2005; Vaiman ve ark, 2016).

Altı izoformdan STOX1A ve STOX1B, ayrıntılı olarak incelenmiştir (van Dijk ve ark, 2005; Rigourde ve ark, 2009). STOX1A ve STOX1B aynı DNA bağlama alanına sahiptir ve iki izoform arasında rekabet olması halinde sadece A izoformu, DNA ekspresyonunun düzenlenmesinde işlevsel bir alana sahip olduğu için daha avantajlıdır. İki izoformun aynı DNA sekansına bağlanmak için potansiyel olarak rekabet etmesi, transkripsiyon faktörleri dünyasında çok sık görülmemektedir.

STOX1A sitoplazma ile çekirdek arasında yer değiştirebilirken, STOXB sadece çekirdekte lokalize olur (Şekil 5) (Vaiman ve ark, 2016).



Şekil 5: STOXA1A ve STOXB'nin aynı DNA bağlanma bölgesi için yarışı.

STOX1'in hücre içerisinde önemli süreçlere katıldığı bilinmektedir. Hücre döngüsünün düzenlenmesinde görev alan siklin A2'nin (CCNA2) ve siklin B1'in (CCNB1) ifadesini doğrudan pozitif olarak ve siklin C'nin (CCNC) ifadesini ise negatif olarak düzenlediği bildirilmiştir. Kromatin immünopresipitasyon kantitatif PCR (ChIP-qPCR) ile yapılan analizlerde, STOX1'in, CCNB1 promotorunu doğrudan hedeflediği göstermiştir (Abel ve ark, 2012). Ayrıca STOX1'in hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak oksidatif stresin düzenlenmesinde önemli etkilere sahip olduğu göze çarpmaktadır (Doridot ve ark, 2014). Transkriptom analizi ile STOX1'in mitokondriyal fonksiyonda yer alan genleri de hedefleyen önemli bir transkripsiyon faktörü olduğu gösterilmiştir (Rigourd ve ark, 2008). Mitokondri önemli bir oksidatif stres kaynağıdır ve fare plasentasında STOX1'in aşırı ekspresyonu, oksidatif ve nitrosatif stres arasındaki moleküler dengenin değişmesinde kilit rol oynar (Doridot ve ark, 2014). Bu stresler PE ve Alzheimer hastalığının (AD) patofizyolojisindeki önemli aktörlerdir. STOXA1A aşırı eksprese eden hücrelerin; O₂, NO ve H₂O₂

moleküllerinin seviyesini önemli ölçüde arttırmış olmasına karşın STOX1B'nin hiçbir etkisi olmadığı da bildirilmiştir (Vaiman ve ark, 2016).

2.9. Preeklamsi ve STOX-1 İlişkisi

PE, hem plasental hem de maternal komponentleri içeren karmaşık bir hastalıktır. Hastalık için belirgin bir kalıtım şekli bilinmemesine rağmen, kalıtım derecesi %54 olacak kadar yüksektir (Salonen ve ark, 2000). Gebeliğe bağlı hastalıkları araştıran çoğu (genetik) çalışma, hastalığın erken başlangıçlı formunda gerçekleştirilmektedir. Bu form, hem anne hem de fetüs için sadece en yüksek morbidite ve mortalite riskine sahip olmakla kalmaz, aynı zamanda ailelerde çalışıldığı için genetik bir bileşeni de vardır (Laivuori, 2007). Erken başlangıçlı formun anormal plasental morfoloji gösterdiği ve sıklıkla IUGR ile ilişkili olduğuna dair tutarlı gözlemler, erken başlangıçlı hastalığın fetal plasentadan kaynaklandığını gösterir (Roberts ve Hubel, 2009). Buradan hareketle, plasenta trofoblastlarının fetal genotipinin, maternal hastalık fenotipini belirleyebildiği sonucuna ulaşılabilir (van Dijk ve Oudejans, 2013).

PE prevalansı artmış ailelerin tüm genom bağlantı çalışmaları PE için çeşitli genetik duyarlılık lokuslarını belirlemiştir (Harrison ve ark. 1997; Arngrimsson ve ark. 1999; Moses ve ark. 2000; Lachmeijer ve ark. 2001; Laivuori ve ark. 2003; Moses ve ark, 2006; Johnson ve ark. 2007). PE duyarlılık lokuslarından 10q22 kromozomu üzerindeki bir gen bölgesinde hastalığa maternal etkinin kanıtları gözlenmiştir (Oudejans ve ark, 2004). Bu bölgedeki 17 konumsal aday genin ekzonları, PE'den etkilenen iki veya daha fazla kardeş çifte sahip Hollandalı bir aile kohortunda dizilenmiştir (van Dijk ve ark, 2005). 2005 yılında van Dijk ve arkadaşlarının genom çapında yaptıkları analizlerle 10. kromozom üzerinde lokalize olmuş STOX1 geninin tanımlanması üzerine, PE hastalığındaki rolünü anlamak için gendeki baz diziliminin araştırılması, bazı mutajenik değişikliklerin belirlenmesini sağlamıştır (van Dijk ve ark, 2005). STOX1 proteininde yapısal olarak değişikliğe sebep olan genetik varyasyon (Y153H), diğerlerine göre daha baskındır ve anormal hücre göçüyle ilgili olan *Caenorhabditis elegans* HAM-1 proteiniyle güçlü homolojiye sahip (%59 benzerlik) bir protein alanında bulunmaktadır (Guenther ve ark, 1996).

STOX1 Y153H polimorfizminin ve maternal duyarlılık alelinin kalıtımı, ailenin şiddetli erken başlangıçlı PE'den muzdarip birkaç kuşak bireylerinde gözlenmiştir (van Dijk ve ark, 2005). PE ile ilişkilendirilen baskın varyasyon STOX1A-Y153H (rs1341667), DNA bağlanma alanında bulunduğu ve bu varyantın, hücre-hücre yapışma proteini CTNNA3 (α -T-katenini kodlar) geninin ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (van Dijk ve ark, 2005; van Dijk ve ark, 2010). STOX1 transkripsiyon faktörünün, CTNNA3 geninin ekspresyon seviyesini pozitif regülasyon yoluyla arttırması sonucu, trofoblast istilasını negatif olarak düzenleyebileceği gösterilmiştir (van Dijk ve ark, 2010b).

STOX1 geni, trofoblast disfonksiyonu ve IUGR ile ilişkilendirilmiştir (van Dijk ve ark, 2011). Altı potansiyel *STOX1* transkriptinden dördünün, invaziv ekstravillüs trofoblast dâhil, plasenta oluşumunun erken evrelerinde transkripsiyona uğradığı bildirilmiştir (van Dijk ve ark, 2005). Koriokarsinom hücrelerinde *STOX1* aşırı ekspresyonu, insan plasentadaki PE'nin transkripsiyonel sonuçları ile tutarlıdır (Rigourd ve ark, 2008; Fenstad ve ark, 2010). Yakın zamanda *STOX1* transkripsiyon faktörünün transgenik aşırı ekspresyonu ile bir PE fare modeli geliştirilmiştir. Transgenik erkeklerin, yabancı tip dişiler ile çaprazlanması; ağır hipertansiyon, proteinüri, sEng ve artan sFlt1 plazma seviyelerinin yanı sıra, proteinüri ve böbrek histolojik anomalileri ile birlikte şiddetli bir preeklampatik fenotipi indüklediği kanıtlanmıştır. Ayrıca transgenik plasentalarda, *STOX1* aşırı ekspresyonu, hastalığı tetikleyebilecek mitokondriyal fonksiyon ve nitroso-redoks dengesizliği değişikliklerine neden olduğu açıklanmıştır (Doridot ve ark, 2013; Thulluru ve ark, 2013).

3. MATERYAL-METOD

3.1. Örneklerin Toplanması ve Saklanması

Bu çalışmada, 201515 sayılı Girişimsel Olmayan Etik kurul kararı ile daha önceden Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'nden toplanmış olan örneklerin içerisinde seçilen 50 PE'li ve hastalarla uygun yaş dağılımına sahip 50 normal gebe kadının kan örnekleri kullanılmıştır.

3.2. DNA İzolasyonu, Primer Dizaynı ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Önceden toplanan ve -20°C'de muhafaza edilen kan örneklerinden, fenol-kloroform yöntemi (Ullrich ve ark, 1997) ile genomik DNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA'nın saflık derecesi ve konsantrasyon ölçümü NanoDrop (MaestroNano) cihazında OD260/OD280 değerlerine bakarak belirlenmiş ve izolasyon ürünleri Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) aşamasına kadar -20°C'de saklanmıştır.

PCR aşaması için, STOX1 geni promotor bölgesi -1202 ve -637 aralığını kapsayacak şekilde, NCBI primer BLAST, Primer3 ve İn Silico programları kullanılarak, primer dizaynı yapılmıştır. Buna göre; ileri primer 5'-TCAGAATGTCCACATCTAACCC-3' ve geri primer 5'-TCCCAACCTGTTTCATTCAAGTTA-3' olarak kararlaştırılmıştır. Primerlere ait bağlanma sıcaklığı 58°C'dir ve elde edilen PCR ürününün ampikon boyu 566bp'dir.

Liyofilize halde gelen primerler, molekül ağırlıklarına göre sulandırılarak stok çözelti hazırlanmış ve 10pmol olacak şekilde stoktan 1:10 seyreltilerek kullanılmıştır. Genomik DNA, reaksiyon başına 100 ng olacak şekilde ayarlanmıştır.

İstenilen gen bölgesinin çoğaltılması, Amar HotStart (GeneDirex Inc. Cat No: SM216-0250) PCR master mix kullanılarak BioRad Thermal Cycler cihazında yapılmıştır. PCR işleminin aşamaları ve uygulanan protokol Tablo 5 ve 6'de özetlenmiştir.

Tablo 5: PCR protokolü

PCR bileşeni	1X için miktar
PCR master mix	20µl
İleri primer	1,5 µl
Geri primer	1,5 µl
dH ₂ O	10 µl
Genomik DNA	2 µl
Toplam hacim	35 µl

Tablo 6: PCR programı

PCR basamağı	Sıcaklık (°C)	Süre (dakika/dk)	Döngü sayısı
Başlangıç denatürasyonu	95	5	1
Denatürasyon	95	1	
Anneling (Bağlanma)	58	1	30
Uzama	72	1	
Son uzama	72	5	1

3.3. DNA Dizi Analizi ve Sonuçların Okunması

DNA dizileme aşaması yeni nesil dizileme sistemi İllumina teknolojisi kullanılarak cihazı ile yapılmıştır. Sonuçların görüntülenmesinde ve dizilenen bölgedeki değişikliklerin taranmasında IGV 2.3 (Archived) programından yararlanılmıştır.

Sonuçların doğrulaması, Sanger sekanslama yöntemi ile yapılmıştır.

3.4. İstatistiksel Analiz

Hasta ve kontrol kanlarından izole edilen DNA örneklerinden dizi analizi sonucu elde edilen ham veriler SPSS 22.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) programı kullanılarak analiz edilmiştir. Hasta ve kontrol grubundaki bireylere ait demografik veriler ve IGV 2.6.3 ile okuma sonucu elde edilen dizi analizi verileri Khi-Kare ve Fisher's exact testleri kullanılarak analiz edilmiştir. Ortalamalar Student t testi ile

karşılaştırılmıştır. Tüm testlerde %95 güven sınırları içerisinde $p < 0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.

3.5. Biyoinformatik Analizler

Hasta ve kontrollere ait DNA dizi analizi sonuçlarında görülen değişikliklerin PE etiyojisine etkilerinin moleküler düzeyde araştırılması, Eukaryotic Promoter Database (EPD) kullanılarak yapılmıştır.

STOX1 -922T/C varyasyonunu kapsayan bölgeye bağlanan olası transkripsiyon faktörlerinin taraması, Ensembl Genome Browser, RCSB PDB, Uniprot ve Japar Database'leri kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



4. BULGULAR

Çalışma kapsamında PE tanısı konmuş 50 kadın hastadan DNA analizi için uygun örnekler alınmıştır. Çalışmamıza dahil olan 50 PE'li ve 50 normal gebeye ait yaş ortalamaları sırasıyla, 28.02 ± 6.7 ve 28.5 ± 6.74 bulunmuştur. Hasta grubunu oluşturan gebelerin 30'u (%60) erken-başlangıçlı PE'ye sahipken 20'sinde (%40) geç-başlangıçlı PE izlenmiştir. Hasta ve kontrol grubuna ait demografik ve klinik veriler Tablo 7'de özetlenmiştir. PE maruziyeti, PE aile öyküsü olmayan bireylere kıyasla daha anlamlı görünmüştür.

STOX1 rs884818 varyasyonunun hasta ve kontrol grupları arasındaki genotip ve alel dağılım frekansları incelenmiş ve sekans verilerine göre sadece TT ve TC genotipine rastlanmıştır. TC heterozigot genotipi, PE'li gebelerde kontrol grubuna oranla daha fazla gözlenmiştir (sırasıyla; 18 ve 7). Yabancı tip TT genotipinin dağılımı ise kontrol grubunda %86 ve hasta grubunda %54 olarak bulunmuştur. Bu veriler, istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; PE'li gebelerde kontrol grubuna göre; TC heterozigot genotipinin, TT yabancı genotipe oranla anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0.012$). Buna ek olarak; mutant C alel frekansının da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık oluşturacak şekilde PE'de kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir ($p=0.02$). STOX1 Y153H polimorfizmine ait genotip ve alel frekansları dağılımı Tablo 8'de özetlenmiştir.

Tablo 7: Hasta ve kontrol grubuna ait demografik ve klinik veriler

Vücut Kitle İndeksi

Karakter	Hasta (n=50)	Kontrol (n=50)	p değeri
Anne yaşı (yıl)	28.02±6.7	28.5±6.74	0.95
Doğum şekli, n (%)			
Sezaryen	35	11	0.000001
Normal	15	39	
Nuliparöz, n (%)	19	11	0.15
Doğumdaki gebelik yaşı (hafta)	35.9±3.11	38.6±1.63	0.0004
VKİ*			
Gebelik öncesi	26.9±5.15	23.8±5.4	
Gebelik sonrası	31.6±4.4	28.7±5.5	
Doğum zamanı, n (%)			
Preterm	26	4	0.000001
Normal term	24	46	
Preeklampsi, n (%)			
Hafif	23		
Şiddetli	27		
Gebelik öncesi sigara, n (%)			
Var	10	3	0.04
Yok	40	47	
Preeklampsi başlangıcı, n (%)			
Geç başlangıçlı	20		
Erken başlangıçlı	30		
Düşük yapma durumu, n (%)			
Var	20	16	
Yok	30	34	0.4
Aile öyküsü, n (%)			
Var	5	0	
Yok	45	50	0.03

p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

Sürekli değişkenler ortalama (standart sapma) olarak ifade edilmiştir

Tablo 8: STOX1 rs884818 varyasyonunun hasta ve kontrol grupları arasında genotip ve alel dağılım frekansı

	Kontrol (n=50)	PE (n=50)	<i>p</i> değeri	OR (%95CI)
Genotip				
TT	43	32		
TC	7	18	0.012	3.412 (1.292-9.727)
Allele				
T	93	82		
C	7	18	0.02	2.901 (1.174-7.794)

$p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo 9’de PE başlangıç durumuna göre STOX1 -922T>C polimorfizmi genotip ve alel frekansı değerlendirilmiştir. Erken başlangıçlı PE tanısı konan bireyler, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, -922T>C varyasyonu TC heterozigot genotipi bakımından istatistiksel olarak bir anlamlılık ifade etmektedir ($p=0.005$). Bunun aksine, geç başlangıçlı PE tanısı konan hastalar ve hem kontrol grubu hem de erken başlangıçlı PE tanısı konan hastalar arasında -922T>C varyasyonu TC genotipi açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (sırasıyla; $p=0.3$ ve $p=0.2$). Bunlara ek olarak; alel frekansları bakımından mutant C aleli, erken başlangıçlı PE’de, kontrol gebelerine göre anlamlı, geç başlangıçlı PE gebelerine göre ise anlamsız bulunmuştur (sırasıyla; $p=0.009$ ve $p=0.25$). Geç başlangıçlı PE ve normal gebeler arasında ise mutant C alleli bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.3$).

Tablo 9: Preeklampsi Başlangıç Durumuna Göre Örneklerin Genotip ve Alel Frekansı

SNP (rs884818)	Erken başlangıçlı / Geç başlangıçlı (n=30 / n=20)	<i>p</i> değeri	OR (%95 CI)	Erken başlangıçlı / Kontrol (n=30 / n=50)	<i>p</i> değeri	OR (%95 CI)	Geç başlangıçlı / Kontrol (n=20 / n=50)	<i>p</i> değeri	OR (%95 CI)
Genotip									
TT	17 / 15			17 / 43			15 / 43		
TC	13 / 5	0.2	2.257 (0.6552-8.555)	13 / 7	0.005	4.596 (1.574-14.28)	5 / 7	0.3	2.025 (0.5165-7.575)
Alel									
T	47 / 35			47 / 93			35 / 93		
C	13 / 5	0.25	0.5197 (0.1535- 1.566)	13 / 7	0.009	0.2745 (0.0967-0.731)	5 / 7	0.3	0.5296 (0.1536- 1.934)

p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

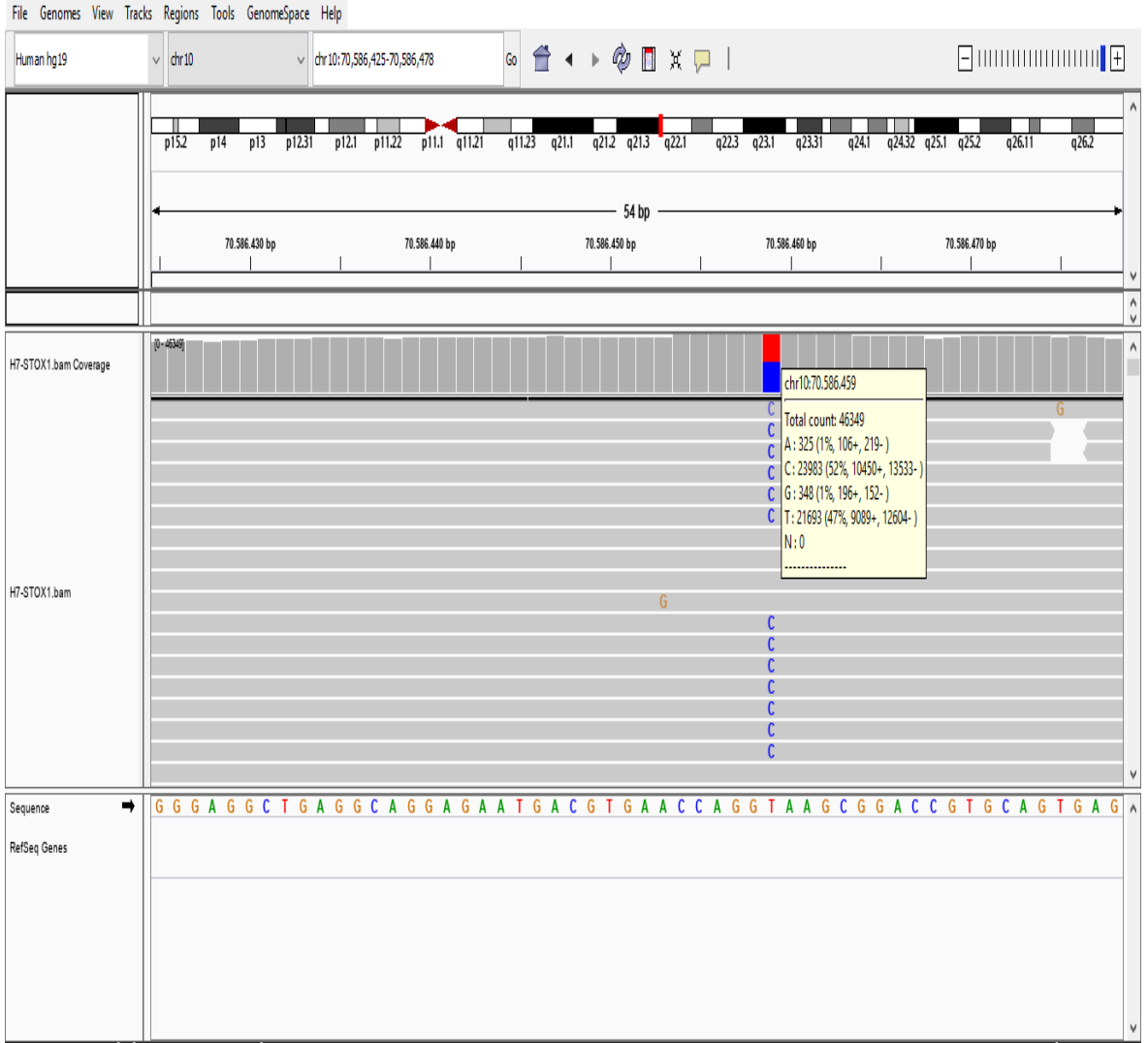
Kullanılan örneklem daha önceden STOX1 Y153H polimorfizmi bakımından taranmıştır. 500 hasta ve 500 kontrol kullanılarak yapılan tarama sonucunda Y153H polimorfizmi, PE hastalarında kontrollere kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Pinarbasi ve ark. 2019). Bu örneklemden rastgele seçilen 50 hasta ve 50 kontrol örneğinin promotor sekans analizi sonucunda bulunan -922 T>C varyasyonu, Y153H polimorfizmi açısından istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Hasta grubunda; Y153H polimorfizmi heterozigot TC ve mutant CC genotipleri, -922T>C taşıyıcılarında, taşımayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (sırasıyla; p=0.02 ve p=0.02). Benzer şekilde; kontrol grubu gebelerinde de -922T>C değişimi bulunanlarda, bulunmayanlara göre STOX1 Y153H polimorfizmi heterozigot TC genotipi istatistiksel olarak anlamlı bulunurken mutant CC genotipi bir anlamlılık ifade etmemektedir (sırasıyla, p=0.02 ve p=0.66). Sonuçlar Tablo 10'de özetlenmiştir.

Tablo 10: Hasta ve kontrol gruplarında -922 T>C ve Y153H varyasyonları arasındaki ilişki

Hasta grubu için genotip (Y153H) (n=50)	-922 T/C varyasyonu taşıyanlar (n=18)	-922 T/C varyasyonu taşımayanlar (n=32)	p değeri	OR (%95 CI)
TT (n=10)	0	10		
TC (n=31)	13	18	0.02	10.73 (1.229-334.3)
CC (n=9)	5	4	0.02	16.96 (1.391-640.4)
Kontrol grubu için genotip (Y153H) (n=50)	-922 T/C varyasyonu taşıyanlar (n=7)	-922 T/C varyasyonu taşımayanlar (n=43)	p değeri	OR (%95 CI)
TT (n=18)	0	18		
TC (n=23)	7	16	0.02	11.68 (1.279-370.9)
CC (n=9)	0	9	0.66	0 (0-0.37)

p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

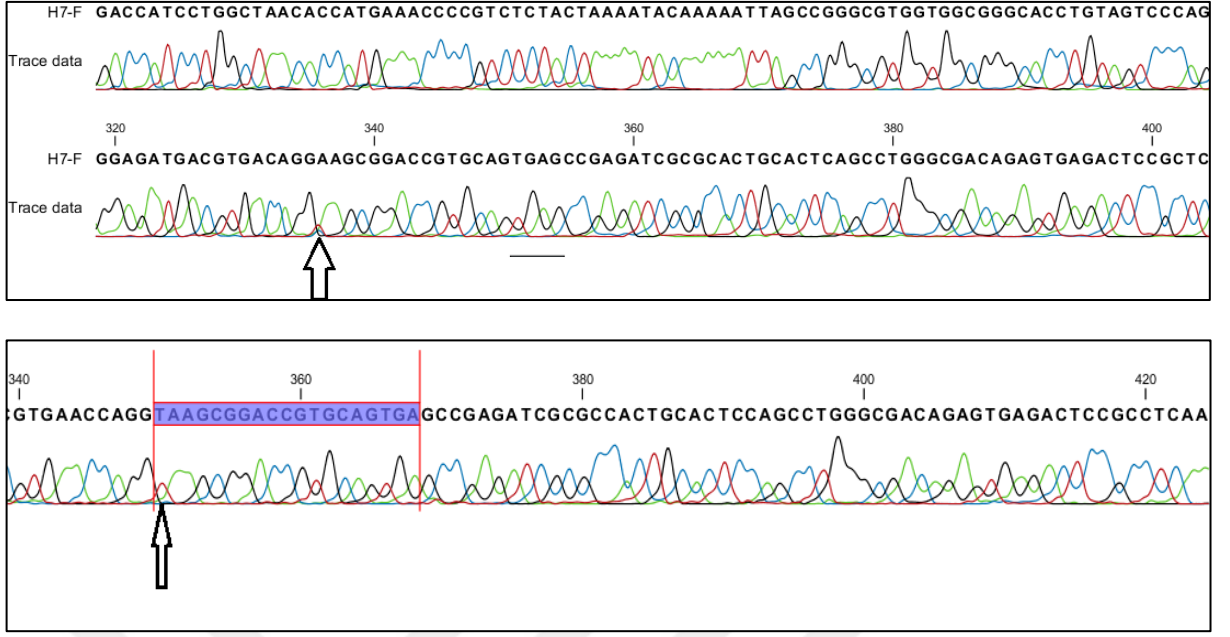
DNA dizi analiz sonuçlarına ait okumalar Şekil 6 ve 7’de görülmektedir.



Şekil 6: Illimüna teknolojisi sekans datalarının IGV 2.6.3 programındaki görüntüsü.

Her renk bir bazı simgelemektedir. Kırmızı Timin (T), Mavi Sitozin (C), Yeşil Adenin (A), Turuncu Guanin (G). Chr10:70.586.459’da lokalize T’nin C’ye dönüşümü görülmektedir. Kırmızı mavi kutuların birlikte görülmesi bölgenin varyasyon açısından heterozigot olduğunu ifade eder.

Sonuçların, Sanger dizileme yöntemi ile doğrulanma sonuçları aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 7: -922T/C (rs884181) varyasyonun Sanger sekans yöntemiyle alınmış görüntüleri.

Üstte heterozigot (TC) genotip, altta homozigot yabanıl (TT) genotipi görülmektedir.

Yapılan biyoinformatik analizler sonucu varyasyonlu bölgeye bağlanan olası transkripsiyon faktörleri Tablo 11’te özetlenmiştir.

Tablo 11: -922 T>C varyasyonuna en yakın bağlanma dizisi bulunduran transkripsiyon faktörleri

Transkripsiyon faktörleri	Bağlanma Dizileri	Transkripsiyon faktörünün biyolojik fonksiyonu
HIF1A	5'-TACGTG-3'	Hipoksi cevabı
CREB3L1	5'-GTGXGCXGC-3'	ER stresi cevabı
HINFP	5'-CGGACGTT-3'	(G1-S) hücre döngüsü regülasyonu
ZEB1	5'-CANNTG-3'	Nöronal farklılaşmanın regülasyonu
ZNF282	5'-TCCACCCC-3'	İnsan T hücresi lösemi virüsü tip-I regülasyonu

5. TARTIŞMA-SONUÇ

Çalışma kapsamında, erken başlangıçlı PE hastalığının karakteristik özelliklerinden kusurlu plasentasyonun sebebi olan başarısız trofoblast istilasının ana geni olarak tanımlanan STOX1'in, promotor bölgesindeki 566 bp'lik (-1202 ve -637 aralığı) bir alanın dizi analizi yapılmıştır. Çalışma için daha önceden toplanmış PE'li ve sağlıklı gebe kanlarından rastgele seçilen 50'şer örnek kullanılmıştır. Türk popülasyonunda ilk defa sekanslanan bölgede, -922 T>C varyantı gözlenmiş ve PE ve bu varyasyon arasında anlamlı bir ilişki olduğu tespit edilmiştir.

Hasta ve kontrol grubuna ait demografik veriler incelendiğinde; daha önceden yapılan çalışmalarla uyumlu olarak, preterm gebelikler, normterm gebeliklere ve sezaryen doğum, vajinal doğuma oranla PE'de daha sık görülmüştür. Aynı şekilde gebelik öncesi sigara kullanımının, sigara kullanmayan gebelere oranla PE'ye maruz kalma riskini arttırdığı görülmüştür. Sigara içimi kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü olmasına karşın, PE için koruyucu bir etki oluşturduğunu gösteren birçok epidemiyolojik çalışma bulunmaktadır. Sigara içiminin, anjiyogenez üzerindeki kendine özgü pozitif bir etkiye sahip olması, PE üzerindeki koruyucu etkisini açıklayabilir niteliktedir (Lain ve ark, 2003; England ve Zang, 2007; Mijal ve ark, 2011). Genetik faktörlerin etkisi ailesel PE vakalarının araştırılması ile belirlenebileceğinden, aile öyküsü varlığının anlamsız olması ve yine sigara içinde çelişen sonuçlarımızın sebebi, örneklemin küçük olmasından ya da PE'nin multisistemik ve çevresel faktörlerden etkilenen bir hastalık olmasından kaynaklanıyor olabilir (Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy, 2015; Jim ve ark, 2017)

2005 yılında yapılan genom çapında bağlantı analizleriyle, CTNNA3 (catenin alpha 3) ve KCNMA1 (Kalsiyum ile aktive edilen potasyum kanalı alt sınıfı M alfa-1) genleri arasında (11.7 Mp), STOX1'in de dahil olduğu 17 geni içeren PE yatkınlık lokusu keşfedilmiştir (van Dijk ve ark, 2005). Bir Hollanda popülasyonunda, PE'den muzdarip kız kardeşlerin incelendiği bu çalışmada, yatkınlık lokusunun 444 kb'lik kritik bir bölgeye daraltılması sonucu maternal bir kalıtım sergileyen STOX1 ve varyasyonlarının oldukça dikkat çekici olduğu gözlemlenmiştir. STOX1'de bulunan mutasyonlardan Y153H'nin en mutajenik olduğu ve plasentasyon aşamasında trofoblast istilasının başarısızlığı ile ilgili olduğu belirlenmiştir (van Dijk ve ark, 2005). Çalışmamızda kullandığımız örneklerin seçildiği PE'li ve normal gebeler

daha önce yaptığımız başka bir çalışmada STOX1 Y153H polimorfizmi açısından incelenmiş ve sonuçta van Dijk ve arkadaşlarının sonuçları ile tutarlı olarak, Türk popülasyonunda ilk defa erken başlangıçlı PE'li gebelerde, Y153H polimorfizminin yatkınlık oluşturduğu bulunmuştur (Pinarbasi ve ark, 2019 [yayın aşamasında]). Aynı örneklemeden rastgele seçtiğimiz hasta ve kontrollerin promotör bölge sekans verilerine göre; hasta ve kontrollerde cr10:70.586.456 lokalizasyonuna sahip T bazının C transisyonu (-922T>C) heterozigot formda tespit edilmiştir. STOX1'in promotör bölgesindeki -922T>C varyasyonu ile alakalı daha önce herhangi bir popülasyonda araştırma yapılmamıştır.

2007 yılında, Iglesias-Platas ve arkadaşları tarafından yine Hollanda popülasyonunda yapılan başka bir çalışma ise Y153H polimorfizmi ve PE arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (Iglesias-Plata ve ark, 2007). 2008 yılında Rigourd ve arkadaşları, JEG-3 hücrelerinde STOX1 aşırı ekspresyonunun PE'de indüklenen modifikasyonlarla uyumlu olduğunu göstermiş, ancak Iglesias-Platas ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda olduğu gibi Y153H polimorfizmi bakımından anlamlı bir sonuç bulunmamıştır (Rigourd ve ark, 2008). 2007'deki çalışmaların daha önceki çalışmalarla çelişkili sonuçlar verme sebebinin, kullanılan örneklemin heterojen (Erken başlangıçlı + Geç başlangıçlı PE içeren) olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Nedensel olarak bakıldığında, erken başlangıçlı PE'nin plasentasyondaki bir kusurdan ve bu kusura sebep olduğu düşünülen trofoblastik istila başarısızlığından kaynaklandığı düşüncesi, çalışmalarda kullanılacak popülasyonların homojen olması gerekliliğini açıklar. Ayrıca STOX1'in materilineer kalıtıma girmesinden dolayı hastalığın ailesel formlarında çalışılması daha uygun olacağı bildirilmiştir (van Dijk ve ark, 2005). Iglesias-Platas ve arkadaşları, yaptıkları çalışma sonucunda hasta olmayan bireylerde diğer genotiplere ek olarak Y153H CC (homozigot mutant) genotipine de rastlamıştır (Iglesias-Platas ve ark, 2007). Bu durum için van Dijk ve arkadaşlarının da belirttiği gibi maternal kalıtımı desteklediğini söylemekle birlikte varyasyonun düşünüldüğü kadar mutajenik değil, normal varyasyonlar gibi davrandığını, bu yüzden de PE ile ilişkisi olmayacağını öne sürmüşlerdir (Iglesias-Platas ve ark, 2007). Benzer şekilde, Berend ve arkadaşları da 2007 yılında, homojen olmayan bir grup üzerinde yaptıkları bir çalışmada heterojen gruplarda beklenildiği gibi STOX1 ve PE arasında bir ilişki

tanımlayamamışlardır (Berends ve ark, 2007). Bizim çalışma popülasyonumuz da heterojen olmakla birlikte; erken başlangıçlı ve geç başlangıçlı PE, hem kontrol grubu ile hem de kendi aralarında, istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve STOX1 promotor varyasyonu -922T>C değişiminin erken başlangıçlı PE hastalarında her iki gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur. Sonuçların Y153H polimorfizmi ile birlikte PE’li gebelere olan etkisi incelendiğinde ise, şaşırtıcı bir şekilde bu iki varyasyonun birlikte kalıtıldığı görülmüştür. Hasta grubunda kontrol grubuna göre, daha önceki çalışmamızda Y153H polimorfizminde de olduğu gibi (Pinarbasi ve ark, 2019 [yayın aşamasında]) hem Y153H (T>C) hem de -922T>C için heterozigot genotipe sahip olan bireylerin yoğunluğu oldukça fazla bulunmuştur. Bu iki varyasyonun heterozigot formlarının beraber görülmesindeki anlamlılık, STOX1’deki mutasyonların birbirinin etkisini güçlendirebileceğini göstermektedir. Ayrıca STOX1 geninde değişken metilasyon paterni gösteren, intron-1’deki yaklaşık 3.600 bp’lik bölgenin, STOX1 ekspresyonunu azalttığı bildirilmiştir. Bu değişken metilasyonun, ebeveyn kökenli olmadığı ve STOX1 ekspresyonunu Y153H polimorfizminin düzenlediği bildirilmiştir (van Dijk ve ark, 2010). Promotor bölgesinde yer alan -922T>C değişimi için de aynı yorumun yapılabileceğini düşündüren sonuçlarımız akla farklı bir soru daha getirmektedir; “*bu iki mutasyondan hangisi için PE’ye yatkınlık en yüksektir?*” Y153H varyasyonu kanatlı heliks alanında bulunmakta ve oldukça mutasyona yatkın olduğu bilinmektedir (van Dijk ve ark, 2005). Ancak, ikisinde de bulunan anlamlı sonuçlar ve Y153H taşıyan bireylerin çoğunun -922T>C varyasyonunu da taşıyor olması çalışmamız açısından bu iki mutasyonunun ayrı ayrı ele alınmasını engellemektedir. Çalışma popülasyonunun demografik verileri incelendiğinde hasta grubunda şiddetli ve hafif PE arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu bağlamda, söz konusu varyasyonların birlikteliğinin hastalığın şiddetiyle olan ilgisine dair bir şey söylenememektedir. Fakat bu iki varyasyon ya birbirini kontrol ediyor ya da birbirlerinden bağımsız STOX1’in biyoaktivitesini yerine getirememesine neden oluyor veya ekspresyon değişikliğinde ayrı ayrı etki ediyor olabilir varsayımında bulunulabilir.

STOX1, PE için pozisyonel klonlama ile tanımlanan ilk genidir ve spesifik plasental hücre alt tiplerinde impirinte olarak bulunur (van Dijk ve ark, 2005; van Dijk ve ark,

2010). STOX1 Y153H mutasyonu, fonksiyon kazanım etkisine sahiptir ve STOX1'in aşırı ekspresyonu, sırasıyla hücrelerde veya farelerde preeklampitik bir ekspresyon profili ve preeklampitik bir fenotipi indüklemektedir (Rigourd ve ark, 2008; Doridot ve ark, 2013). Bununla birlikte, STOX1'in farelerde baskılanmış olduğuna dair hiçbir kanıt olmadığı için, bu faktörün sadece ektopik ve zamansız aşırı ekspresyonunun hastalığın nedeni olduğundan şüphelenilmektedir (Apicella ve ark, 2019).

van Dijk ve arkadaşları çalıştıkları modelde, poliploid trofoblast hücreleri dışındaki hücrelerin nükleer ve sitoplazmik ifadeyi birleştirmede STOX1 geninin A izoformunun nükleer ekspresyonunun, poliploid trofoblast hücreleri ile sınırlandırılmış olduğunu tespit etmişlerdir (van Dijk ve ark, 2005). Bunlara ek olarak, STOX1 153H genotipine sahip eksplantlarda, STOX1 Y153 genotipine sahip olanlara göre artmış CTNNA3 ifadesi de gösterilmiştir (van Dijk ve ark, 2010). α -T-kateninin aynı zamanda, PE plasentalarında yukarı doğru düzenlendiği bilinen E-kaderinle birleşerek, trofoblast istilasını önlediği düşünülmektedir (Li ve ark, 2003; Aoki; ve ark, 2004; Brown ve ark, 2005).

Bu bilgilerden yola çıkarak iki çıkarıma yapılması mümkündür: (1)Y153H ve -922T>C varyasyon varlığı ile artan nükleer lokalizasyon nedeniyle meydana gelen poliploidizasyon kaynaklı invazivite azalabilir ve (2)varyasyon varlığında ya da yokluğunda, STOX1'in sitoplazmik lokalizasyonunu ve ardından yıkımını sağlayacak olan yolakların inaktivasyonu sonucu nükleer lokalizasyon ile meydana gelen yapışma moleküllerinin ekspresyonu artabilir. Yapılan çalışmalarda, hücre-hücre yapışmasında azalma meydana geldiğinde, Akt'nin STOX1 üzerindeki etkilerinin azalması ile STOX1'in nükleer lokalizasyonunda bir artış olabileceğine dikkat çekilmiştir. Bu durumun sonucunda, ekstrasvillöz trofoblast hücrelerinde STOX1, hücre-hücre yapışmasını arttırarak, invazif forma karşılık proliferatif formu destekleyecektir (van Dijk ve ark, 2010). Ayrıca STOX1A'nın farklı genlerle etkileşimde olduğu ve birçok biyolojik yolağı direkt ya da indirekt etkileyebileceği açıktır.

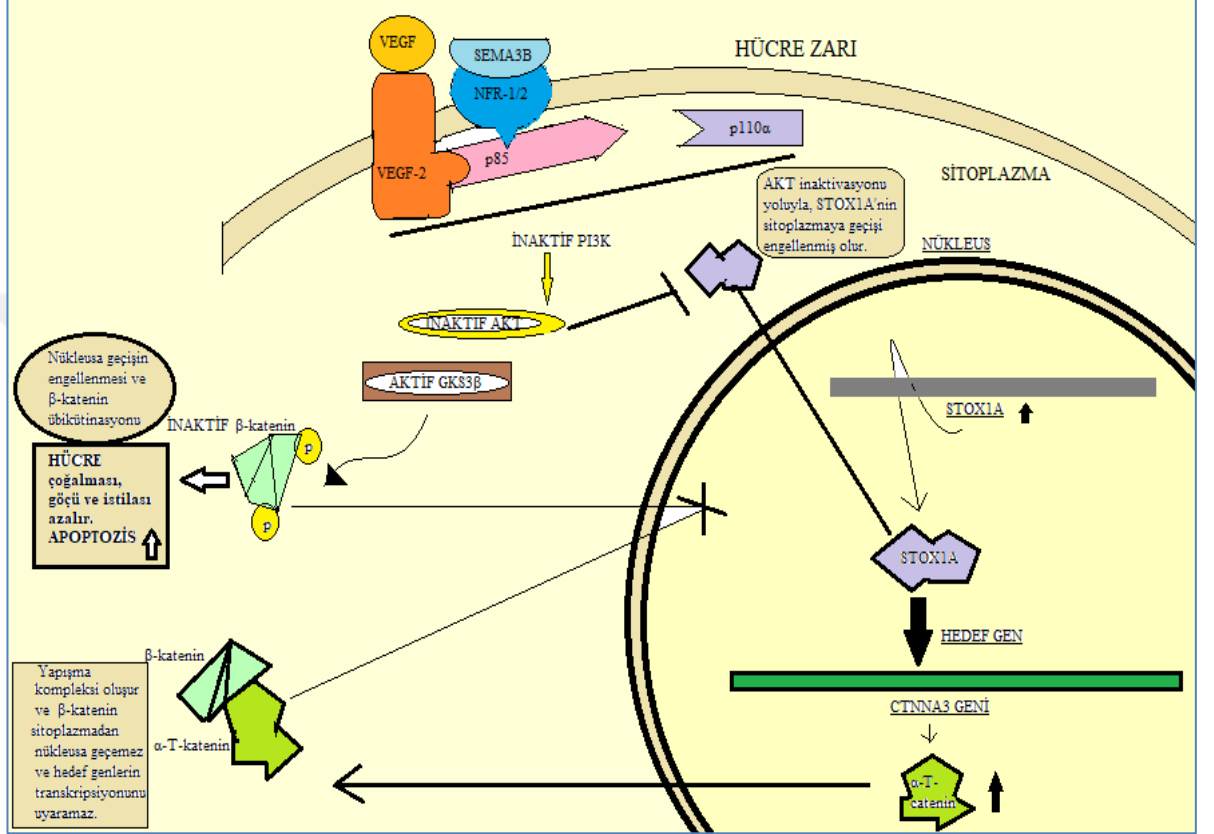
Önemli bir transkripsiyon faktörü olmasından dolayı, protein-gen etkileşimleri üzerinde daha fazla çalışma yapılarak STOX1 varyasyonlarının etki edebileceği moleküler yolakların tayin edilmesi gerektiği düşünülmektedir. Bu nedenle çalışma kapsamında, STOX1'in nükleer lokalizasyon durumunu destekleyecek, Akt ile

bağlantılı kuvvetli bir yolak arayışı için geniş çaplı biyoinformatik analizler gerçekleştirilmiştir. Bu analizler sonucunda PE'de, HIF1 ekspresyon artışı ile STOX1'de olduğu gibi ifadesi artan ve STOX1 gibi plasenta ve beyinde oldukça fazla sentezlenen SEMA3B proteini (Wang ve ark, 2016) son derece dikkat çekmiştir. SEMA3B, NH2-terminal bölgesinde korunmuş 749 aminoasit içeren, sınıf 3 semaforin / kollapsin aile üyesidir (Tse ve ark, 2002; Chen ve ark, 2014). SEMA3B, akciğer kanseri, yumurtalık kanseri, hepatoselüler karsinom ve kolanjiyokarsinomda bulunan inaktif bir tümör baskılayıcı gen olarak tanımlanmıştır (Castro-Rivera ve ark, 2008) ve SEMA3B aile üyeleri, nöronal kablolamada önemli roller oynar (Kolodkin ve ark, 2011). Çeşitli insan hücre ve organlarında SEMA3B mRNA ekspresyon profilinde en güçlü sinyali ise plasentanın verdiği bilinmektedir (Zhou ve ark, 2013). Birçok çalışma, PE'de SEMA3B seviyelerinin arttığını ve SEMA3B'nin düşük trofoblast istilasına neden olduğunu göstermiştir. Zhou ve çalışma arkadaşları, PE hastalarındaki sitotrofoblastlarda, SEMA3B'de önemli bir artış varlığına ek olarak, normal sitotrofoblastlara SEMA3B ile muamele edilmesinin, PE fenotipine benzer şekilde hücre istila ve yeniden şekillenmeyi inhibe ettiğini göstermiştir (Zhou ve ark, 2013; Wang ve ark, 2016).

Çalışmalar SEMA3B'nin, plasenta oluşumunda önemli hücreler olan sitotrofoblastlardaki Akt sinyalini güçlü bir şekilde azalttığını göstermiştir (Samara ve ark, 2019). Plasental sitotrofoblastda, SEMA3B'nin artmış ekspresyonu, PE patogenezinin önemli bir düzenleyici olabileceğini göstermektedir. SEMA3B'nin yukarı regülasyonunun, VEGF sinyallenmesini bozarak, sitotrofoblastların farklılaşmasını, endotel hücre istilasını ve anjiyogenezi inhibe ederek PE patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir (Wang ve ark, 2016). Tıpkı sFlt-1 gibi SEMA3B de, VEGF'nin bağlanacağı reseptöre bağlanarak, Akt inaktivasyonuna sebep olmaktadır (Zhou ve ark, 2013).

SEMA3B'nin; PE'de, normotansif gebe kadınlara göre anlamlı olarak arttığı ve maternal SEMA3B'deki artışın PE'nin başlamasından önceki 16-20. haftalarda ortaya çıktığı gösterilmiştir (Wang ve ark, 2016). Aynı şekilde HIF-1 α birikiminin PE kadınlarında 12. haftadan sonraki olası bazı mekanizmalardan kaynaklanabileceği (Steevers ve ark, 2010), Wang ve arkadaşlarının da belirttiği gibi, SEMA3B'nin hipoksik koşullardan sonra indüklendiğini göstermektedir (Wang ve ark, 2016).

PE’de, SEMA3B ve STOX1 arasındaki ilişki göz ardı edilemeyecek kadar fazladır. Bu benzerlikler, STOX1’in, SEMA3B tarafından etkilenen Akt sinyal yolağından kaynaklı trofoblast invazyon başarısızlığına sebep olduğunu düşündürmektedir (Şekil 4) (Zhou ve ark, 2013; Vaiman ve ark, 2016).



Şekil 8: STOX1-SEMA3B ilişkisi.

Trofoblastlarda, STOX1’in nükleer faaliyetinin gerekli olduğu evreden, (proliferatif) gereksiz olduğu evreye (invazif) geçiş yapılırken Akt aktivasyonuna ihtiyaç olduğu düşünülmektedir (Matsuzaki ve ark, 2003; van Dijk ve ark, 2005). STOX1’in yıkım için sitoplazmaya geçişini sağlayacak olan Akt fosforilasyonu olsa bile, STOX1’in taşıdığı varyasyonlar nedeniyle nükleer ifadesine devam edebileceği ve sonuçta kusurlu poliploid ektravillüs trofoblast hücrelerinin oluşacağı düşünülmektedir. İnvazif forma geçemeyen hücreler, hipoksik koşullara daha fazla maruz kalacaklarından, HIF-1α birikimi ve HIF1-α tarafından ekspresyonu artırılan anjiyojenik faktörler ile karşılaşacaktır. STOX1 aşırı ekspresyonuna cevap olarak, aşırı Akt aktivasyonu sonucu (van Dijk ve ark, 2010) bu hücrelerin genomik bir kararsızlığa sebep olan poliploidizasyona uğramaları normal bir süreç olarak

değerlendirilebilir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, PE'deki birçok olayın Akt aktivasyonunu azaltmaya yönelik olduğunun bulunması da ilginçtir (Wang ve ark, 2016; Samara ve ark, 2019). Halbuki, istilacı aktivitenin anahtar düzenleyicisi olarak kabul edilen PI3K/Akt yolağının da dahil olduğu birçok sinyal yolu trofoblast istilasını düzenlemede kilit rol oynar (Wang ve ark, 2019).

Aşırı Akt aktivitesi ile oluşturulan tümör hücrelerinde, e-kaderin ekspresyonunda düşme olduğu gösterilmiştir (Barber ve ark, 2015). İnvazif forma geçiş için gerekli olan Akt aktivasyonunun PE'de kesintiye uğradığının kanıtı olarak STOX1'in sitoplazmik ve nükleer lokalizasyonunun bir arada olmasına (van Dijk ve ark, 2005) ek olarak PE'deki e-kaderin ekspresyon artışı da kanıt olarak gösterilebilir (Li ve ark, 2003; Aoki; ve ark, 2004). Eğer PE'de Akt aktivitesinde bir kesinti olmasaydı, e-kaderinin artışından ziyade azalması beklenirdi. Bu yüzden hastalığın başlangıcında, normalde gerçekleşmesi gereken ama PE'de gerçekleşmeyen bir olayın aranması gereklidir. van Dijk ve arkadaşları bu konuda, PE'yi tetikleyen olayın STOX1A'nın, PI3K-Akt-FOX yolunun sırasıyla aktivasyonu ve inaktivasyonu ile gerçekleşecek nükleer veya sitoplazmik ekspresyon nedeniyle, ekstrasvillöz trofoblastların kusurlu poliploidizasyonu olduğu varsayımında bulunmuştur (van Dijk ve ark, 2005).

İlginçtir ki SEMA3B PE hastaların geç başlangıçlı formunda anlamlı sonuçlar vermiştir. Geç başlangıçlı PE'de plasental ve serum SEMA3B seviyelerinin karşılaştırılmasıyla, plasentada çok daha yüksek bir artışla birlikte, hem serum hem de plasental SEMA3B seviyelerinde önemli artışlar olduğu belirlenmiştir (Samara ve ark, 2019). STOX1 varyantlarını ve SEMA3B'nin artan seviyelerini birlikte taşıyan gebelerde, erken başlangıçlı PE formun görülmesi ihtimalinin daha yüksek olduğu söylenebilir. Bu proteinler arasındaki ilişkinin aydınlatılması için SEMA3B varyasyonları ile PE arasındaki ilişki ve bu varyasyonların, STOX1 varyasyonları ile kombine olduğunda PE üzerine etkisinin incelenmesi önemli bir adım olacaktır.

-922T>C ve Y153H varyasyonlarını taşıyan STOX1 etkilerinin birçok yolağın aktivasyonu ile gerçekleşebileceğini söylemek mümkündür. Örneğin; 2013 yılında yapılan bir çalışmada, TGF- β süperailisi üyesinden olan NODAL'ın (Nodal Büyüme Farklılaşma Faktörü), hücreler arası etkileşim yoluyla STOX1'i nasıl etkilediğinden bahsedilmiştir. H165R SNP'sini taşıyan desidual (maternal) NODAL'ın ekspresyonundaki bir azalmanın, fetal-maternal ara-yüzde Aktivin-A salınımını

artırdığı ve artan Aktivin-A'nın trofoblast hücrelerindeki NODAL ve STOX1 ekspresyonunun artmasına sebep olduğu gösterilmiştir (Thulluru ve ark, 2013). NODAL'ın, erken başlangıçlı IUGR ile komplike PE'nin ailesel formları ile ilişkili bulunmuş duyarlılık geni STOX1 ile aynı kromozomal bağlantı bölgesinde bulunduğu bilinmektedir (van Dijk ve ark, 2005). Bu iki gen arasındaki bağlantıyı daha dikkat çekici kılacak olan ise çocukları STOX1 Y153H SNP'si taşıyan preeklampatik annelerin, önemli ölçüde azalmış biyoaktivite sergileyen NODAL H165R SNP'si taşıdığı belirlenmesidir (Thulluru ve ark, 2013). Visser ve arkadaşları tarafından 2018 yılında, NODAL ve STOX1 arasındaki bağlantı farklı bir yolak üzerinden gösterilmişlerdir. Endometrial stromal hücrelerindeki NODAL ekspresyon düşüşünün, IGR-1 (İnsuline-benzer Büyüme Faktörü-1) salınımını artırmasıyla beraber, MAPK sinyal yolu boyunca ekstrasvillöz trofoblastlardaki STOX1 ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir (Visser ve ark, 2018). Yani maternal desidual hücrelerde meydana gelebilecek değişimlerin, maternal fetal ara-yüzdeki moleküler modifikasyonlara sebep olması, mutant STOX1 seviyesini artırarak, trofoblast hücrelerinin istilasını engelleyebileceği anlamına gelmektedir.

STOX1 promotor bölge mutasyon taraması sonuçlarında rastladığımız -922T>C değişiminin, Y153H'la birlikte, PE için anlamlılık ifade ediyor olması, araştırmayı promotor bölge kontrolünden görevli transkripsiyon faktörlerine (TF) yöneltmiştir. STOX1'in promotor bölgesindeki değişimler hangi transkripsiyon faktörlerinin bağlanma dizisine denk geldiğini bulmak için yapılan biyoinformatik araştırmalarda, -922. bazın 10 ileri ve 10 geri bazlarını kapsayan DNA dizisi araştırılmıştır. Araştırma sonucunda tam bu bölgeye bağlanan 4 TF'den birisinin HIF1- α olması son derece dikkat çekicidir ve buradan hareketle HIF1- α ve STOX1 arasında ince bir bağlantı olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, hipoksi kaynaklı genlerin PE'de artış gösterdiği bilinmektedir (Vaiman ve ark, 2005) ve STOX1'i aşırı eksprese eden JEG-3 hücrelerinde gen indüksiyonu ile anlamlı şekilde korele oldukları tespit edilmiştir (Rigourd ve ark, 2008). Hipoksi indüksiyonu ile etkilenen genlerin, sadece STOX1 indüksiyonundan sonra yapılan mikroarray sonuçları ile kesişmiş olması bu iki genin bağlantısını göstermektedir (Rigourd ve ark, 2008). Bu da; -922T>C varyasyonunun hipoksik koşullarda STOX1 ekspresyon seviyesine olan etkisinin

araştırılmasının, PE için bir anlamlılık ifade etmesi nedeniyle de oldukça önemli olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak; STOX1 ve PE arasındaki ilişkiden yola çıkılarak, TÜRK popülasyonunda ilk kez STOX1 promotor bölge mutasyon taraması yapılmış ve tespit edilen -922 T>C varyasyonu ile hastalık arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Çalışma popülasyonu erken ve geç başlangıçlı olarak iki gruba ayrıldığında; erken başlangıçlı PE’de anlamlı bir dağılım söz konusuysen, geç başlangıçlı PE ve bulunan promotor varyantı arasında anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür. Bunlara ek olarak, Y153H polimorfizmi bakımından yapılan istatistiksel analizler, bu iki varyasyonun beraber kalıtıldığını göstermektedir. STOX1 ve erken başlangıçlı PE arasındaki bağlantı göz önüne alındığında, STOX1’in daha ayrıntılı çalışılması ve daha fazla fonksiyonel çalışmalar ile STOX1 biyoaktivitesinin incelenmesi gerekmektedir. PE gebelerindeki kusurlu trofoblast istilasının nedenlerinin çözülmesinde, STOX1’in lokalizasyonunu ve ekspresyonunu etkileyen faktörlerin (varyasyon, impirinte) araştırılması, daha açıklayıcı olacak gibi görünmektedir. Ayrıca STOX1’in transkripsiyon faktörü olarak DNA bağlanma bölgesinin belirlenmesi, olası hedef genlerin ve yolakların daha iyi aydınlatılmasını sağlayacaktır. Sadece PE olarak değil, nörodejeneratif hastalıklar için de oldukça dikkat çekici hücresel olaylarda görev yapıyor olması, STOX1’in daha detaylı çalışılmasının bilim ve klinik dünyasına çok sayıda katkı yapacağını göstermektedir.

6. KAYNAKLAR

Abalos E, Cuesta C, Grosso AL, Chou D, Say L. Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013 Sep;170(1):1-7. doi: 10.1016/j.ejogrb.2013.05.005. Epub 2013 Jun 7. Review. PubMed PMID: 23746796.

Abel D, Abdul-Hamid O, Dijk M, et al. Transcription factor STOX1A promotes mitotic entry by binding to the CCNB1 promotor. *PLoS One.* 2012;7:e29769

Aggarwal S, Makris A, Hennessy A. Linking the old and new -- do angiotensin II type 1 receptor antibodies provide the missing link in the pathophysiology of preeclampsia? *Hypertens Pregnancy.* 2015;34(3):369-82. doi: 10.3109/10641955.2015.1051227. Epub 2015 Jul 8. Review. PubMed PMID: 26153629.

Amaral LM, Cunningham MW Jr, Cornelius DC, LaMarca B. Preeclampsia: long-term consequences for vascular health. *Vasc Health Risk Manag.* 2015 Jul 15;11:403-15. doi: 10.2147/VHRM.S64798. eCollection 2015. Review. PubMed PMID: 26203257; PubMed Central PMCID: PMC4508084.

American College of Obstetricians and Gynecologists; Task Force on Hypertension in Pregnancy. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2013; 122:1122–1131. doi: 10.1097/01.AOG.0000437382.03963.88

Andraweera PH, DekkerGA, Jayasekara RW, Dissanayake VHW, Roberts CT. Polymorphisms in the inflammatory pathway genes and the risk of preeclampsia in Sinhalese women *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2015;Early Online:1–5.

Aoki, M., Jiang, H. and Vogt, P.K. (2004) Proteosomal degradation of the FoxO1 transcriptional regulator in cells transformed by the P3k and Akt oncoproteins. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, 101, 13613–13617.

Armaly Z, Jadaon JE, Jabbour A, Abassi ZA. Preeclampsia: Novel Mechanisms and Potential Therapeutic Approaches. *Front Physiol.* 2018 Jul 25;9:973. doi: 10.3389/fphys.2018.00973. eCollection 2018. Review. PubMed PMID: 30090069; PubMed Central PMCID: PMC6068263.

Armaly Z, Jadaon JE, Jabbour A, Abassi ZA. Preeclampsia: Novel Mechanisms and Potential Therapeutic Approaches. *Front Physiol.* 2018 Jul 25;9:973. doi: 10.3389/fphys.2018.00973. eCollection 2018. Review. PubMed PMID: 30090069; PubMed Central PMCID: PMC6068263.

Arngrimsson R, Bjornsson S, Geirsson RT, Bjornsson H, Walker JJ, Snaedal G (1990) Genetic and familial predisposition to eclampsia and preeclampsia in a defined population. *Br J Obstet Gynaecol* 97(9):762–769

Arngrimsson R, Sigurard TS, Frigge ML, Bjarnadottir RI, Jonsson T, Stefansson H, Baldursdottir A, Einarsdottir AS, Palsson B, Snorraddottir S et al. A genome-wide scan reveals a maternal susceptibility locus for pre-eclampsia on chromosome 2p13. *Hum Mol Genet* 1999;8:1799–1805.

Askie LM, Duley L, Henderson-Smart DJ, Stewart LA; PARIS Collaborative Group. Antiplatelet agents for prevention of pre-eclampsia: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet.* 2007 May 26;369(9575):1791-1798. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60712-0. Review. PubMed PMID: 17512048.

Barber AG, Castillo-Martin M, Bonal DM, Jia AJ, Rybicki BA, Christiano AM, Cordon-Cardo C. PI3K/AKT pathway regulates E-cadherin and Desmoglein 2 in aggressive prostate cancer. *Cancer Med.* 2015 Aug;4(8):1258-71. doi: 10.1002/cam4.463. Epub 2015 May 29. PubMed PMID: 26033689; PubMed Central PMCID: PMC4559037.

Bdolah Y, Karumanchi SA, Sachs BP. Recent advances in understanding of preeclampsia. *Croatian Med J.* 2005;46(5):728–736.

Bdolah Y, Lam C, Rajakumar A, Shivalingappa V, Mutter W, Sachs BP, Lim KH, Bdolah-Abram T, Epstein FH, Karumanchi SA. Twin pregnancy and the risk of preeclampsia: bigger placenta or relative ischemia? *Am J Obstet Gynecol.* 2008 Apr;198(4):428.e1-6. doi: 10.1016/j.ajog.2007.10.783. Epub 2008 Jan 14. PubMed PMID: 18191808.

Bdolah Y, Palomaki GE, Yaron Y, Bdolah-Abram T, Goldman M, Levine RJ, Sachs BP, Haddow JE, Karumanchi SA. Circulating angiogenic proteins in trisomy 13. *Am J Obstet Gynecol.* 2006 Jan;194(1):239-45. PubMed PMID: 16389038.

Berends AL, Bertoli-Avella AM, de Groot CJ, van Duijn CM, Oostra BA, Steegers EA. STOX1 gene in pre-eclampsia and intrauterine growth restriction. *BJOG*. 2007 Sep;114(9):1163-7. Epub 2007 Jul 6. PubMed PMID: 17617193.

Bhatnagar S, Bhattacharjee J, Vaid M, Madan T, Trivedi SS, Sarma PU. Inducible nitric oxide synthase (iNOS) gene polymorphism in pre-eclampsia: a pilot study in North India. *Aust N Z J Obstet Gynaecol*. 2007;47:477–82. <https://doi.org/10.1111/j.1479-828X.2007.00783.x>.

Brosens I. A Study Of The Spiral Arteries Of The Decidua Basalis In Normotensive And Hypertensive Pregnancies. *J Obstet Gynaecol Br Commonw*. 1964 Apr;71:222-30. PubMed PMID: 14138383.

Brown MA, Wang J, Whitworth JA. The renin-angiotensin-aldosterone system in pre-eclampsia. *Clin Exp Hypertens*. 1997; 19:713–726. doi: 10.3109/10641969709083181.

Brown, L.M., Lacey, H.A., Baker, P.N. and Crocker, I.P. (2005) E-cadherin in the assessment of aberrant placental cytotrophoblast turnover in pregnancies complicated by pre-eclampsia. *Histochem. Cell. Biol.*, 124, 499–506.

Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2011 Jun;25(3):287-99. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2010.10.016. Epub 2010 Dec 3. Review. PubMed PMID: 21130690; PubMed Central PMCID: PMC3101336.

Burton GJ, Yung HW, Cindrova-Davies T, Charnock-Jones DS. Placental endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathophysiology of unexplained intrauterine growth restriction and early onset preeclampsia. *Placenta*. 2009;30:S43–S48.

Buurma AJ, Turner RJ, Driessen JH, et al. Genetic variants in pre-eclampsia: a meta-analysis. *Hum Reprod Update*. 2013;19(3):289–303.

Calleja-Agius J, Muttukrishna S, Jauniaux E. The role of tumor necrosis factor-receptors in pregnancy with normal and adverse outcome. *Int J Interferon Cytokine Mediat Res*. 2012;4:1–15.

Caniggia I, Mostachfi H, Winter J, Gassmann M, Lye SJ, Kuliszewski M, Post M. Hypoxia-inducible factor-1 mediates the biological effects of oxygen on human trophoblast differentiation through TGFbeta(3). *J Clin Invest*. 2000 Mar;105(5):577-87. PubMed PMID: 10712429; PubMed Central PMCID: PMC289179.

Castro-Rivera E, Ran S, Brekken RA, Minna JD. Semaphorin 3B inhibits the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway through neuropilin-1 in lung and breast cancer cells. *Cancer Res.* 2008;68(20):8295–8303. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-6601>

Chappell S, Morgan L (2006) Searching for genetic clues to the causes of preeclampsia. *Clin Sci (Lond)* 110(4):443–458. <https://doi.org/10.1042/CS20050323>

Chen P, Gong Y, Pu Y, Wang Y, Zhou B, Song Y, et al. Association between polymorphisms in IL-27 gene and pre-eclampsia. *Placenta.* 2016;37:61–4. <https://doi.org/10.1016/j.placenta.2015.11.003>.

Chen R, Zhuge X, Huang Z, Lu D, Ye X, Chen C, et al. Analysis of SEMA3B methylation and expression patterns in gastric cancer tissue and cell lines. *Oncol Rep.* 2014;31(3):1211–1218. <https://doi.org/10.3892/or.2014.2972>

Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy. Susan J. Fisher, Michael McMaster And James M. Elsevier Inc. All rights reserved. Roberts. 2015 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-407866-6.00005-5>

Cross DA, Alessi DR, Cohen P, Andjelkovich M, Hemmings BA. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin mediated by protein kinase B. *Nature.* 1995;378(6559):785–789.

Cross JC, Werb Z, Fisher SJ. Implantation and the placenta: key pieces of the development puzzle. *Science.* 1994 Dec 2;266(5190):1508-18. Review. PubMed PMID: 7985020.

de Lima TH, Sass N, Mattar R, Moron AF, Torloni MR, Franchin CS, et al. Cytokine gene polymorphisms in preeclampsia and eclampsia. *Hypertens Res.* 2009;32:565–9. <https://doi.org/10.1038/hr.2009.58>.

Dechend R, Homuth V, Wallukat G, et al. Agonistic antibodies directed at the angiotensin II, AT1 receptor in preeclampsia. *J Soc Gynecol Investig* 2006;13:79–86.

Doridot L, Châtre L, Ducat A, Vilotte JL, Lombès A, Méhats C, Barbaux S, Calicchio R, Ricchetti M, Vaiman D. Nitroso-redox balance and mitochondrial homeostasis are regulated by STOX1, a pre-eclampsia-associated gene. *Antioxid Redox Signal.* 2014 Aug 20;21(6):819-34. doi: 10.1089/ars.2013.5661. Epub 2014 Jun 20. PubMed PMID: 24738702; PubMed Central PMCID: PMC4116089.

Doridot, L.; Passet, B.; Mehats, C.; Rigourd, V.; Barbaux, S.; Ducat, A.; Mondon, F.; Vilotte, M.; Castille, J.; Breuiller-Fouche, M.; et al. Preeclampsia-like symptoms induced in mice by fetoplacental expression of STOX1 are reversed by aspirin treatment. *Hypertension* 2013, 61, 662–668

Duley L. The global impact of pre-eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol.* 2009 Jun;33(3):130-7. doi: 10.1053/j.semperi.2009.02.010. Review. PubMed PMID: 19464502.

Egan KM et al. Genetic polymorphisms in GSTM1, GSTP1, and GSTT1 and the risk for breast cancer: results from the Shanghai Breast Cancer Study and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2004;13(2):197–204.

England L, Zhang J. Smoking and risk of preeclampsia: a systematic review. *Front Biosci.* 2007 Jan 1;12:2471-83. Review. PubMed PMID: 17127256.

Erlandsson L, Ducat A, Castille J, Zia I, Kalapotharakos G, Hedström E, Vilotte JL, Vaiman D, Hansson SR. Alpha-1 microglobulin as a potential therapeutic candidate for treatment of hypertension and oxidative stress in the STOX1 preeclampsia mouse model. *Sci Rep.* 2019 Jun 12;9(1):8561. doi: 10.1038/s41598-019-44639-9. PubMed PMID: 31189914; PubMed Central PMCID: PMC6561956.

Fenstad MH, Johnson MP, Loset M, et al. STOX2 but not STOX1 is differentially expressed in decidua from pre-eclamptic women: data from the Second Nord-Trøndelag Health Study. *Mol Hum Reprod.* 2010; 16(12):960–968. [PubMed: 20643876]

Founds SA, Conley YP, Lyons-Weiler JF, Jeyabalan A, Hogge WA, Conrad KP. Altered global gene expression in first trimester placentas of women destined to develop preeclampsia. *Placenta.* 2009 Jan;30(1):15-24. Doi: 10.1016/j.placenta.2008.09.015. Epub 2008 Nov 21. PubMed PMID: 19027158; PubMed Central PMCID: PMC2667803.

Gant NF, Daley GL, Chand S, Whalley PJ, MacDonald PC. A study of angiotensin II pressor response throughout primigravid pregnancy. *J Clin Invest.* 1973; 52:2682–2689. doi: 10.1172/JCI107462

Gathiram P, Moodley J. Pre-eclampsia: its pathogenesis and pathophysiology. *Cardiovasc J Afr.* 2016 Mar-Apr;27(2):71-8. doi: 10.5830/CVJA-2016-009. Review. PubMed PMID: 27213853; PubMed Central PMCID: PMC4928171.

Genbacev O, Joslin R, Damsky CH, Polliotti BM, Fisher SJ. Hypoxia alters early gestation human cytotrophoblast differentiation/invasion in vitro and models the placental defects that occur in preeclampsia. *J Clin Invest.* 1996 Jan 15;97(2):540-50. PubMed PMID: 8567979; PubMed Central PMCID: PMC507049.

George EM, Bidwell GL. STOX1: a new player in preeclampsia? *Hypertension.* 2013 Mar;61(3):561-3. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.111.00721. Epub 2013 Jan 28. PubMed PMID: 23357180; PubMed Central PMCID: PMC4199576

Gerretsen G, Huisjes HJ, Elema JD. Morphological changes of the spiral arteries in the placental bed in relation to pre-eclampsia and fetal growth retardation. *Br J Obstet Gynaecol.* 1981 Sep;88(9):876-81. PubMed PMID: 7272259.

Giguère Y, Charland M, Bujold E, Bernard N, Grenier S, Rousseau F, Lafond J, Légaré F, Forest JC. Combining biochemical and ultrasonographic markers in predicting preeclampsia: a systematic review. *Clin Chem.* 2010 Mar;56(3):361-75. doi: 10.1373/clinchem.2009.134080. Epub 2009 Dec 31. Review. PubMed PMID: 20044446.

Graves JA (1998) Genomic imprinting, development and disease – is preeclampsia caused by a maternally imprinted gene? *Reprod Fertil Dev* 10(1):23–29

Guenther, C. & Gariga, G. Asymmetric distribution of the *C. elegans* HAM-1 protein in neuroblasts enables daughter cells to adopt distinct fates. *Development* 122, 3509–3518 (1996).

Günay T, Turgut A, Yardımcı OD. Şiddetli Preeklampsiye Eşlik Eden HELLP Sendromu Olgularında Maternal ve Perinatal Sonuçların Değerlendirilmesi. *Konuralp Tıp Dergisi.* 23.12.2018. DOI: 10.18521/ktd.451746

Haram K, Mortensen JH, Nagy B. Genetic aspects of preeclampsia and the HELLP syndrome. *J Pregnancy.* 2014;2014:1–14. <https://doi.org/10.1155/2014/910751>.

Harrison GA, Humphrey KE, Jones N, Badenhop R, Guo G, Elakis G, Kaye JA, Turner RJ, Grehan M, Wilton AN et al. A genomewide linkage study of preeclampsia/eclampsia reveals evidence for a candidate region on 4q. *Am J Hum Genet* 1997;60:1158–1167.

Hattori, N., Davies, T.C., Anson-Cartwright, L. & Cross, J.C. Periodic expression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p57(Kip2) in trophoblast giant cells defines a G2- like gap phase of the endocycle. *Mol. Biol. Cell* 11, 1073–1045 (2000).

He C, Shan N, Xu P, Ge H, Yuan Y, Liu Y, Zhang P, Wen L, Zhang F, Xiong L, Peng C, Qi H, Tong C, Baker PN. Hypoxia-induced Downregulation of SRC-3 Suppresses Trophoblastic Invasion and Migration Through Inhibition of the AKT/mTOR Pathway: Implications for the Pathogenesis of Preeclampsia. *Sci Rep.* 2019 Jul 17;9(1):10349. doi: 10.1038/s41598-019-46699-3. PubMed PMID: 31316078; PubMed Central PMCID: PMC6637123.

Heiskanen J, Romppanen E, Hiltunen M, Iivonen S, Mannermaa A, Punnonen K, et al. Polymorphism in the tumor necrosis factor- α gene in women with preeclampsia. *J Assist Reprod Genet.* 2002;19(5):220–3. <https://doi.org/10.1023/A:1015306818507>.

Hod T, Cerdeira AS, Karumanchi SA. Molecular Mechanisms of Preeclampsia. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2015 Aug 20;5(10). pii: a023473. doi: 10.1101/cshperspect.a023473. Review. PubMed PMID: 26292986; PubMed Central PMCID: PMC4588136.

Hogan MC, Foreman KJ, Naghavi M, Ahn SY, Wang M, Makela SM, Lopez AD, Lozano R, Murray CJ. Maternal mortality for 181 countries, 1980-2008: a systematic analysis of progress towards Millennium Development Goal 5. *Lancet.* 2010 May 8;375(9726):1609-23. doi: 10.1016/S0140-6736(10)60518-1. Epub 2010 Apr 9. PubMed PMID: 20382417.

Huber A, Grimm C, Jirecek S, Zeillinger R, Husslein P, Hefler L. Polymorphisms within the Interleukin-1 gene family and unexplained late intrauterine fetal death: a multi-center study. *Am J Reprod Immunol.* 2005;53:132–5. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.2005.00256.x>.

Hung TH, Burton GJ. Hypoxia and reoxygenation: a possible mechanism for placental oxidative stress in preeclampsia. *Taiwanese J Obstet Gynecol* 2006;45: 189–200.

Iglesias-Platas I, Monk D, Jebbink J, Buimer M, Boer K, et al. (2007) STOX1 is not imprinted and is not likely to be involved in preeclampsia. *Nat Genet* 39(3): 279–280.

Irani RA, Xia Y. The functional role of the renin-angiotensin system in pregnancy and preeclampsia. *Placenta* 2008;29:763–71.

Jim B, Karumanchi SA. Preeclampsia: Pathogenesis, Prevention, and Long-Term Complications. *Semin Nephrol.* 2017 Jul;37(4):386-397. Doi: 10.1016/j.semnephrol.2017.05.011. Review. PubMed PMID: 28711078.

Johnson MP, Fitzpatrick E, Dyer TD, Jowett JB, Brennecke SP, Blangero J, Moses EK. Identification of two novel quantitative trait loci for pre-eclampsia susceptibility on chromosomes 5q and 13q using a variance components-based linkage approach. *Mol Hum Reprod* 2007; 13:61–67.

Jones RL, Salamonsen LA, Findlay JK. Activin A promotes human endometrial stromal cell decidualization in vitro. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Aug;87(8):4001-4. PubMed PMID: 12161551.

Kamali-Sarvestani E, Kiany S, Gharezi-Fard B, Rabali M. Association study of IL-10 and IFN- γ gene polymorphisms in Iranian women with preeclampsia. *Am J Reprod Immunol.* 2006;72(1–2):118–26.

Kamei, T. et al. The phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway modulates the endocrine differentiation of trophoblast cells. *Mol. Endocrin.* 16, 1469–1481 (2002).

Kaufmann P, Black S, Huppertz B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. *Biol Reprod.* 2003 Jul;69(1):1-7. Epub 2003 Mar 5. Review. PubMed PMID: 12620937.

Kobayashi H. The Impact of Maternal-Fetal Genetic Conflict Situations on the Pathogenesis of Preeclampsia. *Biochem Genet.* 2015 Oct;53(9-10):223-34. doi: 10.1007/s10528-015-9684-y. Epub 2015 Jun 25. Review. PubMed PMID: 26109010.

Kolodkin AL, Tessier-Lavigne M. Mechanisms and molecules of neuronal wiring: a primer. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2011;3(6).pii: a001727.

Kulikova GV, Nizyaeva NV, Nagovitsina MN, Lyapin VM, Loginova NS, Kan NE, et al. Specific features of TLR4 expression in structural elements of placenta in patients with preeclampsia. *Placenta* 2016;43:69e76.

Kumar A, Begum N, Prasad S, Agarwal S, Sharma S. IL-10, TNF-alpha & IFN-gamma: potential early biomarkers for preeclampsia. *Cell Immunol* 2013; 283(1-2): 70-74.

Lachmeijer AM, Arngrimsson R, Bastiaans EJ, Frigge ML, Pals G, Sigurdardottir S, Stefansson H, Palsson B, Nicolae D, Kong A et al. A genome-wide scan for preeclampsia in the Netherlands. *Eur J Hum Genet* 2001;9:758-764.

Lain KY, Wilson JW, Crombleholme WR, Ness RB, Roberts JM. Smoking during pregnancy is associated with alterations in markers of endothelial function. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189(4):1196-1201

Laivuori H, Lahermo P, Ollikainen V, Widen E, Haiva-Mallinen L, Sundstrom H, Laitinen T, Kaaja R, Ylikorkala O, Kere J. Susceptibility loci for preeclampsia on chromosomes 2p25 and 9p13 in Finnish families. *Am J Hum Genet* 2003;72:168-177.

Laivuori,H.(2007).Genetic aspects of preeclampsia. *Front.Biosci.* 12:2372-2382. doi:10.2741/2239

Lam C, Lim KH, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors in the pathogenesis and prediction of preeclampsia. *Hypertension.* 2005 Nov;46(5):1077-85. Epub 2005 Oct 17. Review. PubMed PMID: 16230516.

Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, Schisterman EF, Thadhani R, Sachs BP, Epstein FH, Sibai BM, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med.* 2004 Feb 12;350(7):672-83. Epub 2004 Feb 5. PubMed PMID: 14764923.

Li, H.W., Cheung, A.N., Tsao, S.W., Cheung, A.L. and O, W.S. (2003) Expression of e-cadherin and beta-catenin in trophoblastic tissue in normal and pathological pregnancies. *Int. J. Gynecol. Pathol.*, 22, 63-70

Liu B, Li Y, Yao Y, Li H, Liang H, Xin M, et al. Polymorphisms of the IL27 gene in a Chinese Han population complicated with preeclampsia. *Sci Rep.* 2016;6:1-6.

Luizon MR, Sandrim VC, Palei AC, Lacchini R, Cavalli RC, Duarte G, Tanus-Santos JE. Epistasis among eNOS, MMP-9 and VEGF maternal genotypes in hypertensive disorders of pregnancy. *Hypertens Res.* 2012 Sep;35(9):917-21. doi: 10.1038/hr.2012.60. Epub 2012 May 10. PubMed PMID: 22573202.

Lyall F. Priming and remodelling of human placental bed spiral arteries during pregnancy--a review. *Placenta.* 2005 Apr;26 Suppl A:S31-6. Review. PubMed PMID: 15837064.

Masuyama H, Segawa T, Sumida Y, Masumoto A, Inoue S, Akahori Y, Hiramatsu Y. Different profiles of circulating angiogenic factors and adipocytokines between early- and late-onset pre-eclampsia. *BJOG.* 2010 Feb;117(3):314-20. doi: 10.1111/j.1471-0528.2009.02453.x. Epub 2009 Dec 10. PubMed PMID: 20015306.

Matsuzaki H, Daitoku H, Hatta M, Tanaka K, Fukamizu A. Insulin-induced phosphorylation of FKHR (Foxo1) targets to proteasomal degradation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Sep 30;100(20):11285-90. Epub 2003 Sep 17. PubMed PMID: 13679577; PubMed Central PMCID: PMC208749.

Mijal RS, Holzman CB, Rana S, Karumanchi SA, Wang J, Sikorskii A. Midpregnancy levels of angiogenic markers in relation to maternal characteristics. *Am J Obstet Gynecol.* 2011;204:244.e1-12.

Mohajertehran F, Afshari JT, Rezaieyazdi Z, Ghomian N. Association of single nucleotide polymorphisms in the human tumor necrosis factor- α and interleukin 1- β genes in patients with pre-eclampsia. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2012;11(3):224-9.

Mol BWJ, Roberts CT, Thangaratinam S, Magee LA, de Groot CJM, Hofmeyr GJ. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2016 Mar 5;387(10022):999-1011. doi: 10.1016/S01406736(15)00070-7. Epub 2015 Sep 2. Review. PubMed PMID: 26342729.

Moldenhauer JS, Stanek J, Warshak C, Khoury J, Sibai B. The frequency and severity of placental findings in women with preeclampsia are gestational age dependent. *Am J Obstet Gynecol.* 2003 Oct;189(4):1173-7. PubMed PMID: 14586374.

Mongraw-Chaffin ML, Cirillo PM, Cohn BA. Preeclampsia and cardiovascular disease death: prospective evidence from the child health and development studies cohort. *Hypertension.* 2010 Jul;56(1):166-71. doi:

10.1161/HYPERTENSIONAHA.110.150078. Epub 2010 Jun 1. PubMed PMID: 20516394; PubMed Central PMCID: PMC3037281.

Moses EK, Fitzpatrick E, Freed KA, Dyer TD, Forrest S, Elliott K, Johnson MP, Blangero J, Brennecke SP. Objective prioritization of positional candidate genes at a quantitative trait locus for pre-eclampsia on 2q22. *Mol Hum Reprod.* 2006 Aug;12(8):505-12. Epub 2006 Jun 29. PubMed PMID: 16809377.

Moses EK, Lade JA, Guo G, Wilton AN, Grehan M, Freed K, Borg A, Terwilliger JD, North R, Cooper DW et al. A genome scan in families from Australia and New Zealand confirms the presence of a maternal susceptibility locus for pre-eclampsia, on chromosome 2. *Am J Hum Genet* 2000;67:1581–1585.

Murphy DJ, Stirrat GM. Mortality and morbidity associated with early-onset preeclampsia. *Hypertens Pregnancy.* 2000;19(2):221-31. PubMed PMID: 10877990.

Murphy SP, Tayade C, Ashkar AA, Hatta K, Zhang J, Croy BA. Interferon gamma in successful pregnancies. *Biol Reprod.* 2009;80:848–59. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.073353>.

Mutze S, Rudnik-Schoneborn S, Zerres K, Rath W (2008) Genes and the preeclampsia syndrome. *J Perinat Med* 36(1):38–58. <https://doi.org/10.1515/JPM.2008.004>

Mutze S, Rudnik-Schoneborn S, Zerres K, Rath W (2008) Genes and the preeclampsia syndrome. *J Perinat Med* 36(1):38–58. <https://doi.org/10.1515/JPM.2008.004>

Myatt L, Cui X. Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol.* 2004 Oct;122(4):369-82. Epub 2004 Jul 10. Review. PubMed PMID: 15248072.

Ness RB, Roberts JM: Heterogeneous causes constituting the single syndrome of preeclampsia: A hypothesis and its implications. *Am J Obstet Gynecol* 175: 1365–1370, 1996

Ness RB, Sibai BM. Shared and disparate components of the pathophysiologies of fetal growth restriction and preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2006 Jul;195(1):40-9. Epub 2006 Apr 21. Review. PubMed PMID: 16813742.

Neufeld G, Cohen T, Gengrinovitch S, Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors. *FASEB J.* 1999;13(1):9–22.

Nie X, Zhang K, Wang L, et al. Transcription factor STOX1 regulates proliferation of inner ear epithelial cells via the AKT pathway. *Cell Prolif.* 2015;48:209–220

Nie X, Zhang K, Wang L, et al. Transcription factor STOX1 regulates proliferation of inner ear epithelial cells via the AKT pathway. *Cell Prolif.* 2015;48:209–220.

Obsil T, Ghirlando R, Anderson DE, Hickman AB, Dyda F. Two 14-3-3 binding motifs are required for stable association of Forkhead transcription factor FOXO4 with 14-3-3 proteins and inhibition of DNA binding. *Biochemistry.* 2003 Dec 30;42(51):15264-72. PubMed PMID: 14690436

Osol G, Mandala M. Maternal uterine vascular remodeling during pregnancy. *Physiology (Bethesda).* 2009 Feb;24:58-71. doi: 10.1152/physiol.00033.2008. Review. PubMed PMID: 19196652; PubMed Central PMCID: PMC2760472.

Oudejans CB, Mulders J, Lachmeijer AM, van Dijk M, Konst AA, Westerman BA, van Wijk I, Leegwater PA, Kato HD, Matsuda T et al. The parent-of-origin effect of 10q22 in pre-eclamptic females coincides with two regions clustered for genes with down-regulated expression in androgenetic placentas. *Mol Hum Reprod* 2004;10:589–598.

Oudejans CBM, van Dijk M. Placental gene expression and pre-eclampsia. *Placenta*, 2008; 29:78-82.

Phipps E, Prasanna D, Brima W, Jim B. Preeclampsia: Updates in Pathogenesis, Definitions, and Guidelines. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2016 Jun 6;11(6):1102-13. doi: 10.2215/CJN.12081115. Epub 2016 Apr 19. Review. PubMed PMID: 27094609; PubMed Central PMCID: PMC4891761.

Pinheiro MB, Gomes KB, Ronda CRSC, Guimaraes GG, Freitas LG, Teixeira-Carvalho A, et al. Severe preeclampsia: association of genes polymorphisms and maternal cytokines production in Brazilian population. *Cytokine.* 2015;71:232–7. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.10.021>.

Poston L, Raijmakers MT. Trophoblast oxidative stress, antioxidants and pregnancy outcome--a review. *Placenta.* 2004 Apr;25 Suppl A:S72-8. Review. PubMed PMID: 15033311.

Powe CE, Levine RJ, Karumanchi SA. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease. *Circulation*. 2011 Jun 21;123(24):2856-69. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.853127. Review. PubMed PMID: 21690502; PubMed Central PMCID: PMC3148781.

Rajakumar A, Brandon HM, Daftary A, Ness R, Conrad KP. Evidence for the functional activity of hypoxia-inducible transcription factors overexpressed in preeclamptic placentae. *Placenta*. 2004 Nov;25(10):763-9. PubMed PMID: 15451190.

Ramos JGL, Sass N, Costa SHM. Preeclampsia. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2017 Sep;39(9):496-512. doi: 10.1055/s-0037-1604471. Epub 2017 Aug 9. Review. PubMed PMID: 28793357..

Rana S, Lemoine E, Granger J, Karumanchi SA. "Preeclampsia." *Circ Res*. 2019 Mar 29;124(7):1094-1112. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.118.313276. PMID: 30920918

Redman CW, Sargent IL. Immunology of pre-eclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 2010 Jun;63(6):534-43. doi: 10.1111/j.1600-0897.2010.00831.x. Epub 2010 Mar 23. Review. PubMed PMID: 20331588.

Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*. 2005 Jun 10;308(5728):1592-4. Review. PubMed PMID: 15947178.

Rigourd V, Chauvet C, Chelbi ST, et al. STOX1 overexpression in choriocarcinoma cells mimics transcriptional alterations observed in preeclamptic placentas. *PLoS One*. 2008;3:e3905.

Rigourd V, Chelbi S, Chauvet C, et al. Re-evaluation of the role of STOX1 transcription factor in placental development and preeclampsia. *J Reprod Immunol*. 2009;82:174–181.

Roberts JM, Cooper DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet*. 2001 Jan 6;357(9249):53-6. Review. PubMed PMID: 11197372.

Roberts JM, Edep ME, Goldfien A, Taylor RN. Sera from preeclamptic women specifically activate human umbilical vein endothelial cells in vitro: morphological and biochemical evidence. *Am J Reprod Immunol (New York, NY: 1989)* 1992;27: 101–18.

Roberts JM, Hubel CA. The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. *Placenta*. 2009 Mar;30 Suppl A:S32-7. doi: 10.1016/j.placenta.2008.11.009. Epub 2008 Dec 13. PubMed PMID: 19070896; PubMed Central PMCID: PMC2680383.

Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rodgers GM, Hubel CA, McLaughlin MK. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol*. 1989 Nov;161(5):1200-4. PubMed PMID: 2589440.

Rocca B, Loeb AL, Strauss 3rd JF, Vezza R, Habib A, Li H, et al. Directed vascular expression of the thromboxane A2 receptor results in intrauterine growth retardation. *Nat Med* 2000;6(2):219e21.

Romero R, Chaiworapongsa T. Preeclampsia: a link between trophoblast dysregulation and an antiangiogenic state. *J Clin Invest*. 2013 Jul;123(7):2775-7. doi: 10.1172/JCI70431. Epub 2013 Jun 24. PubMed PMID: 23934119; PubMed Central PMCID: PMC3999621.

Rousseau P, Discorde ML, Mouillot G, Marcou C, Carsella ED, Moreau P. The 14 bp deletion-insertion polymorphism in the 3' UT region of the HLA-G gene influences HLA-G mRNA stability. *Hum Immunol* 2003;64(11):1005-10. <https://doi.org/10.1016/j.humimm.2003.08.347>.

Saito S, Shiozaki A, Nakashima A, Sakai M, Sasaki Y. The role of the immune system in preeclampsia. *Mol Aspects Med*. 2007; 28(2):192-209. [PubMed: 17433431]

Salonen Ros H, Lichtenstein P, Lipworth L, Cnattingius S (2000) Genetic effects on the liability of developing preeclampsia and gestational hypertension. *Am J Med Genet* 91(4):256-260. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1096-8628\(20000410\)91:4<256::AID-AJMG3>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-8628(20000410)91:4<256::AID-AJMG3>3.0.CO;2-T)

Samara TD, Liem IK, Prijanti AR, Andrijono. SEMA3B but Not CUL1 as Marker for Pre-Eclampsia Progression. *Malays J Med Sci*. 2019 Jan;26(1):66-72. doi: 10.21315/mjms2019.26.1.6. Epub 2019 Feb 28. PubMed PMID: 30914894; PubMed Central PMCID: PMC6419870.

Sánchez-Elsner T, Botella LM, Velasco B, Langa C, Bernabéu C. Endoglin expression is regulated by transcriptional cooperation between the hypoxia and

transforming growth factor-beta pathways. *J Biol Chem.* 2002 Nov 15;277(46):43799-808. Epub 2002 Sep 11. PubMed PMID: 12228247..

Schulz E, Gori T, Münzel T. Oxidative stress and endothelial dysfunction in hypertension. *Hypertens Res.* 2011 Jun;34(6):665-73. doi: 10.1038/hr.2011.39. Epub 2011 Apr 21. Review. PubMed PMID: 21512515.

Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2005; 365(9461):785–799. PubMed: 15733721.

Silasi M, Rana S, Powe C, Cohen B, Lim KH, Zsengeller ZK, Karumanchi SA, Stillman IE. Placental expression of angiogenic factors in Trisomy 13. *Am J Obstet Gynecol.* 2011 Jun;204(6):546.e1-4. doi: 10.1016/j.ajog.2011.02.027. Epub 2011 Apr 20. PubMed PMID: 21507376.

Sohlberg S, Mulic-Lutvica A, Lindgren P, Ortiz-Nieto F, Wikström AK, Wikström J. Placental perfusion in normal pregnancy and early and late preeclampsia: a magnetic resonance imaging study. *Placenta.* 2014 Mar;35(3):202-6. doi: 10.1016/j.placenta.2014.01.008. Epub 2014 Jan 31. PubMed PMID: 24529946.

Staines-Urias E, Paez MC, Doyle P, et al. Genetic association studies in pre-eclampsia: systematic meta-analyses and field synopsis. *Int J Epidemiol.* 2012;41(6):1764–1775.

Steegers, E. A. P., von Dadelszen, P., Duvekot, J. J. & Pijnenborg, R. Pre-eclampsia. *The Lancet* 376, 631–644, [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(10\)60279-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(10)60279-6) (2010).

Sun C, Zhang Q, Hu B, Zhang K. Investigation of the association between matrix metalloproteinase-9 genetic polymorphisms and development of pre-eclampsia in Chinese pregnant women. *Genet Mol Res.* 2016;15(3):1–6.

Sun W, Cui B, Hong F, Xu Y. Establishment of Apo E-knockout mouse model of preeclampsia and relevant mechanisms. *Exp Ther Med* 2016;12:2634e8.

Tan CY, Ho JFV, Chong YS, Longanath A, Chan YH, Ravichandran J, et al. Paternal contribution of HLA-G*0106 significantly increases risk for pre-eclampsia in multigravid pregnancies. *Mol Hum Reprod.* 2008;14(5):317–24.

Taylor BD, Ness RB, Klebanoff MA, Zoh R, Bass D, Hougaard DM, et al. First and second trimester immune biomarkers in preeclamptic and normotensive

women. *Pregnancy Hypertens.* 2016;6(4):388–93. <https://doi.org/10.1016/j.preghy.2016.09.002>.

Thakoordeen S, Moodley J, Naicker T. Candidate Gene, Genome-Wide Association and Bioinformatic Studies in Pre-eclampsia: a Review. *Curr Hypertens Rep.* 2018 Aug 29;20(10):91. doi: 10.1007/s11906-018-0891-x. Review. PubMed PMID: 30159611.

Thulluru HK, Park C, Dufort D, Kleiverda G, Oudejans C, van Dijk M. Maternal Nodal inversely affects NODAL and STOX1 expression in the fetal placenta. *Front Genet.* 2013 Aug 27;4:170. doi: 10.3389/fgene.2013.00170. eCollection 2013. PubMed PMID: 23986775; PubMed Central PMCID: PMC3753557.

Torbergesen T, Oian P, Mathiesen E, Borud O (1989) Preeclampsia – a mitochondrial disease? *Acta Obstet Gynecol Scand* 68(2):145–148

Tse C, Xiang RH, Bracht T, Naylor SL. Human Semaphorin 3B (SEMA3B) located at chromosome 3p21. 3 suppresses tumor formation in an adenocarcinoma cell line. *Cancer Res.* 2002;62(2):542–546

Ullrich A, Shine J, Chirgwin J, et al. 1997. Rat insulin genes: construction of plasmids containing the coding sequences. *Science*, 196(4296):1313-1319.

Vaiman D, Miralles F. Targeting STOX1 in the therapy of preeclampsia. *Expert Opin Ther Targets.* 2016 Dec;20(12):1433-1443. Epub 2016 Nov 8. Review. PubMed PMID: 27782763.

Vaiman D, Mondon F, Garces-Duran A, Mignot TM, Robert B, et al. (2005) Hypoxia-activated genes from early placenta are elevated in preeclampsia, but not in Intra-Uterine Growth Retardation. *BMC Genomics* 6: 111.

Valdés G. Preeclampsia and cardiovascular disease: interconnected paths that enable detection of the subclinical stages of obstetric and cardiovascular diseases. *Integr Blood Press Control.* 2017 Aug 28;10:17-23. doi: 10.2147/IBPC.S138383. eCollection 2017. Review. PubMed PMID: 28894390; PubMed Central PMCID: PMC5584914

Valenzuela FJ, Perez-Sepulveda A, Torres MJ, Correa P, Repetto GM, Illanes SE. Pathogenesis of pre-eclampsia: the genetic component. *J Pregnancy.* 2012;2012:1–8. <https://doi.org/10.1155/2012/632732>.

van Dijk M, Drewlo S, Oudejans CB. Differential methylation of STOX1 in human placenta. *Epigenetics*. 2010 Nov-Dec;5(8):736-42. doi:10.4161/epi.5.8.13084. Epub 2010 Nov 1. PubMed PMID: 20716964.

van Dijk M, Mulders J, Poutsma A, Könst AA, Lachmeijer AM, Dekker GA, Blankenstein MA, Oudejans CB. Maternal segregation of the Dutch preeclampsia locus at 10q22 with a new member of the winged helix gene family. *Nat Genet*. 2005 May;37(5):514-9. Epub 2005 Apr 3. PubMed PMID: 15806103.

van Dijk M, Oudejans C. (Epi)genetics of pregnancy-associated diseases. *Front Genet*. 2013 Sep 10;4:180. doi: 10.3389/fgene.2013.00180. Review. PubMed PMID:24058367; PubMed Central PMCID: PMC3767913.

van Dijk M, Oudejans CB. STOX1: Key player in trophoblast dysfunction underlying early onset preeclampsia with growth retardation. *J Pregnancy*. 2011; 2011:521826. [PubMed: 21490791]

van Dijk M, van Bezu J, Poutsma A, Veerhuis R, Rozemuller AJ, Scheper W, Blankenstein MA, Oudejans CB (2010) The Pre-eclampsia gene STOX1 controls a conserved pathway in placenta and brain upregulated in late-onset Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 19, 673-679.

van Dijk M, van Bezu J, van Abel D, Dunk C, Blankenstein MA, Oudejans CB, Lye SJ. The STOX1 genotype associated with pre-eclampsia leads to a reduction of trophoblast invasion by α -T-catenin up-regulation. *Hum Mol Genet* 2010b;19:2658–2667.

Van Lerberghe W, Manuel A, Matthews Z, et al. The world health report 2005 – make every mother and child count. World Health Organization; 2005.

Vaughan JE, Walsh SW. Oxidative stress reproduces placental abnormalities of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2002; 21:205–223. doi: 10.1081/PRG-120015848

Villar J, Repke JT. Calcium supplementation during pregnancy may reduce preterm delivery in high-risk populations. *Am J Obstet Gynecol*. 1990 Oct;163(4 Pt 1):1124-31. PubMed PMID: 2220915.

Visser A, Beijer M, Oudejans CBM, van Dijk M. The effect of maternal NODAL on STOX1 expression in extravillous trophoblasts is mediated by IGF1. *PLoS One*. 2018 Aug 9;13(8):e0202190. doi: 10.1371/journal.pone.0202190.

eCollection 2018. PubMed PMID: 30092105; PubMed Central PMCID: PMC6084977

von Dadelszen P, Magee LA, Roberts JM. Subclassification of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy*. 2003;22(2):143-8. Review. PubMed PMID: 12908998.

Wallukat G, Homuth V, Fischer T, et al. Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin AT1 receptor. *J Clin Invest* 1999; 103:945–52.

Wang H, Jiang L, Gao B, Dong M. Alteration of serum semaphorin 3B levels in preeclampsia. *Clin Chim Acta*. 2016 Apr 1;455:60-3. doi: 10.1016/j.cca.2016.01.030. Epub 2016 Jan 29. PubMed PMID: 26828533.

Wang L, Zhang Y, Qu H, Xu F, Hu H, Zhang Q, Ye Y. Reduced ELABELA expression attenuates trophoblast invasion through the PI3K/AKT/mTOR pathway in early onset preeclampsia. *Placenta*. 2019 Nov; 87:38-45. doi: 10.1016/j.placenta.2019.08.077. Epub 2019 Aug 7. PubMed PMID: 31546152.

Wang S, Kaufman RJ. The impact of the unfolded protein response on human disease. *J Cell Biol*. 2012;197(7):857–867.

Wang WY, Barratt BJ, Clayton DG, Todd JA. Genome-wide association studies: theoretical and practical concerns. *Nat Rev Genet*. 2005 Feb;6(2):109-18. Review. PubMed PMID: 15716907.

Wang Y, Walsh SW, Guo J, Zhang J. The imbalance between thromboxane and prostacyclin in preeclampsia is associated with an imbalance between lipid peroxidases and vitamin E in maternal blood. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165(6):1695e700.

Williams PJ, Broughton Pipkin F (2011) The genetics of preeclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 25(4):405–417. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2011.02.007>

Wu X, Yang K, Tang X, Sa Y, Zhou R, Liu J, Luo Y, Tang W. Folate metabolism gene polymorphisms MTHFR C677T and A1298C and risk for preeclampsia: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2015 May;32(5):797-805. doi: 10.1007/s10815-014-0408-8. Epub 2015 Mar 11. PubMed PMID: 25758986; PubMed Central PMCID: PMC4429450

Xie F, Van Dadelszen P, Nadeau J. CMV infection, TLR2 and -4 expression, and cytokine profiles in early-onset preeclampsia with HELLP syndrome. *Am J Reprod Immunol* 2014;71(4):379e86.

Yancopoulos GD, Klagsbrun M, Folkman J. Vasculogenesis, angiogenesis, and growth factors: ephrins enter the fray at the border. *Cell*. 1998 May 29;93(5):661-4. Review. PubMed PMID: 9630209

Young BC, Levine RJ, Karumanchi SA. Pathogenesis of preeclampsia. *Annu Rev Pathol*. 2010;5:173-92. doi: 10.1146/annurev-pathol-121808-102149. Review. PubMed PMID: 20078220.

Yung, H. W., Atkinson, D., Campion-Smith, T., Olovsson, M., Charnock-Jones, D. S., and Burton, G. J. (2005). Differential activation of placental unfolded protein response pathways implies heterogeneity in causation of early- and late-onset pre-eclampsia. *J. Pathol.* 234, 262–276.

Zhang G, Zhao J, Yi J, Luan Y, Wang Q. Association Between Gene Polymorphisms on Chromosome 1 and Susceptibility to Pre-Eclampsia: An Updated Meta-Analysis *Med Sci Monit*. 2016 Jun 27;22:2202-14. PubMed PMID: 27348238; PubMed Central PMCID: PMC4927145.

Zhang X, Jiang Y, Liu Y, Wang L. Association between interleukin-4 C-590T and C+33T genetic polymorphisms and risk of preeclampsia in pregnant women of Central China. *Int J Clin Exp Pathol*. 2017;10(3):3438–44.

Zhao X, Gan L, Pan H, Kan D, Majeski M, Adam SA, Unterman TG. Multiple elements regulate nuclear/cytoplasmic shuttling of FOXO1: characterization of phosphorylation- and 14-3-3-dependent and -independent mechanisms. *Biochem J*. 2004 Mar 15;378(Pt 3):839-49. PubMed PMID: 14664696; PubMed Central PMCID: PMC1224024.

Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *J Clin Invest*. 1997 May 1;99(9):2152-64. PubMed PMID: 9151787; PubMed Central PMCID: PMC508045.

Zhou Y, Fisher SJ, Janatpour M, et al. Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? *J Clin Invest*. 1997;99:2139–2151.

Zhou Y, Fisher SJ, Janatpour M, Genbacev O, Dejana E, Wheelock M, Damsky CH. Human cytotrophoblasts adopt a vascular phenotype as they differentiate. A strategy for successful endovascular invasion? *J Clin Invest*. 1997 May 1;99(9):2139-51. PubMed PMID: 9151786; PubMed Central PMCID: PMC508044.

Zhou Y, Gormley MJ, Hunkapiller NM, Kapidzic M, Stolyarov Y, Feng V, Nishida M, Drake PM, Bianco K, Wang F, McMaster MT, Fisher SJ. Reversal of gene dysregulation in cultured cytotrophoblasts reveals possible causes of preeclampsia. *J Clin Invest*. 2013 Jul;123(7):2862-72. doi: 10.1172/JCI66966. Epub 2013 Jun 24. Erratum in: *J Clin Invest*. 2013 Oct 1;123(10):4541. PubMed PMID: 23934129; PubMed Central PMCID: PMC3999620.

Zhou Y, McMaster M, Woo K, Janatpour M, Perry J, Karpanen T, Alitalo K, Damsky C, Fisher SJ. Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *Am J Pathol*. 2002 Apr;160(4):1405-23. PubMed PMID: 11943725; PubMed Central PMCID: PMC3277330.

Zhuang B, Luo X, Rao H, Li Q, Shan N, Liu X, Qi H. Oxidative stress-induced C/EBP β inhibits β -catenin signaling molecule involving in the pathology of preeclampsia. *Placenta*. 2015 Aug;36(8):839-46. doi: 10.1016/j.placenta.2015.06.016. Epub 2015 Jul 8. PubMed PMID: 26166436.

EKLER

EK 1. Bilgilendirilmiş Olur Formu

GENETİK ÇALIŞMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz. Sorularınıza açık

Preeklampsi hastalığının genetik (kalıtsal) nedenlerini bulmak üzere yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi "STOX1 Geni Promotor Bölge Mutasyonlarının Preeklampsi Hastalığı Üzerine Etkilerinin Araştırılması"dır. Bu çalışmanın amacı preeklampsi hastalığına neden olduğu düşünülen bir gendeki değişikliklerin araştırılmasıdır.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Bu araştırmada preeklampsi hastası olan (deney grubu) ve preeklampsi hastası olmayan (kontrol grubu) bireylerden oluşan iki grup kullanılacaktır. Eğer kontrol grubuysanız; kontrol grubunun kullanılmasının nedeni hasta grubu ile genetik değişikliklerinin karşılaştırılması ve preeklampsi hastalığına özgü değişikliklerin ortaya konmasıdır. Araştırmanın kontrol grubuna bireysel faydası olmamakla birlikte preeklampsi hastalığının sebeplerini aydınlatmak için çalışmaya katkısı bulunmaktadır.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni size preeklampsi tanısının konulmuş/konulmamış olmasıdır. Cumhuriyet Üniversitesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı bu hastalığın nedenlerini ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirilecektir. Kendinizde bir şikâyet olmasa bile katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir.

Bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 10-20 (1-2 tüp) ml. kadar kan, doğum sırasında çıkarılan plasentadan (eş) doku örneği ve kordon kanı almamız gerekmektedir. Bu örneklerden genetik materyal, DNA elde edilecektir.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Prof. Dr. Ali Yanık veya onun görevlendireceği bir hekim tarafından bulgularınız kaydedilecektir. Bu kayıtlar ileride tekrar incelenerek doğru tanı konulmasına yardımcı olacaktır. Bu kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır. İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde her türlü tedaviniz sağlanacaktır ve tedavi masrafları araştırma bütçesinden karşılanacaktır.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya kan alma bölgesinde morarma sayılabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

Doku alınması sırasında oluşabilecek riskler: Rutin doğum işlemi gerçekleştirilecektir. Doğumun gerçekleşmesi dışında, alınacak doku ile ilgili başka bir risk bulunmamaktadır. Doğum işlemi sonrasında plasenta uzaklaştırılır. Bu çalışma için amacımız bu materyal atılmadan önce bir miktar doku alarak araştırma amaçlı kullanmaktır.

Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilginin gizli kalacağına dair elimizden geleni yapacağız. Ancak hemen belirtmemiz gerekir ki; yaptığımız testler sizin veya ailenizin bir ferdinin ileriki bir zamanda bu genetik hastalıktan etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de etkileyebilir. Sizin anormal bir gen taşıdığınızı saptadığımızda bulgularımızı herhangi bir ücret talep etmeden size bildireceğiz. Ancak böylesi bir bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Yine hemen belirtmeliyiz ki; bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninizle olacaktır. Lütfen aşağıdaki kutucuklardan size uygun olanı işaretleyiniz:

- Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri öğrenmek istiyorum
- Bu çalışmada elde edilecek kendimle ilgili bilgileri öğrenmek istemiyorum

Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmeyi sağlamak için elimizden geleni yapacağız. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler katılımcının/hastanın kendisine ya da ebeveyni/sorumlusuna iletilecektir.

Yapılacak genetik testin getireceği olası yararlar: Böyle bir analiz ilgili genetik hastalığın nedeninin öğrenilmesinde yararlı olacaktır. Şu anda bu çalışmanın hemen size veya çocuğunuza bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahiptir. Eğer örneğinizin imha edilmesine karar verirseniz, bu isteğinizden önce üretilmiş her türlü veri ve yapılmış analiz ortadan kaldırılmayacak ama daha fazla analiz yapılmayacaktır. Aksi halde, saklama süresinin sonunda örneğin imha edilmesinden destekleyici/araştırmacı sorumludur.

DNA Örneklerinin Saklanması

Sizden alınan örneklerin kullanımı bu olur formunda tanımlanan araştırma ile sınırlı olacaktır. Eğer bu örnekleri bu olur formunda tanımlanmayan başka test/amaçlar için kullanmak istersek, önce Etik Kurul'a onay verilmesi için başvurulacaktır. Eğer yeni çalışma onaylanacak olursa sizden başka bir bilgilendirilmiş olur formu imzalamanız istenecektir.

Veya

Bu bilimsel araştırma sırasında alınan kan örneklerinin tamamı kullanılmayıp bir bölümü benzeri araştırmalarda kullanılmak üzere saklanabilir. Lütfen aşağıdaki seçeneklerden size uygun olan bir tanesini işaretleyiniz.

() Kan ve DNA örneklerinin sadece bu çalışmayla ilgili olarak kullanılmasını istiyorum. Çalışma bitiminde kalan örneklerin uygun şekilde yok edilmesini istiyorum. ileride yapılması olası diğer çalışmalar için onay vermiyorum.

() Kan ve DNA örnekleri bu çalışmada kullanıldığı gibi gelecekteki hastalığımla ilgili diğer bilimsel çalışmalarda kullanılabilir. Ancak kalan örneklerimin hastalığım dışındaki başka bir araştırmada kullanılmasını uygun bulmuyorum.

() Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin yalnızca önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum; ileri çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

() Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin, araştırma konusuyla bağlantılı diğer çalışmalarda kullanımını onaylıyorum, ancak farklı çalışmalar için tekrar bilgilendirilmek ve yeni onay vermek istiyorum.

() Tarafımdan alınan kodlanmış örneğin önerilen çalışma için kullanımını onaylıyorum, ve gelecekte de her türlü genetik çalışmada anonim (kimliğim ile bağlantısız) olarak kullanılmasını onaylıyorum.

*Kodlanmış örnek: Sizden alınan örneğe bir kod numarası verilir. Kod numarasını yalnızca araştırmacı bilir ve sizin kimlik bilgilerinize yalnızca araştırmacı ulaşabilir. Böylece kimlik bilgileriniz gizli tutulmuş olur.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

Sayın Prof. Dr. Ali Yanık tarafından Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'nda da tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağını bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. Ali Yanık'ı, 0505 2382146 ve Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD' den arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		


VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI & SOYADI		
TARİH		

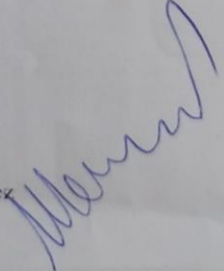
GEREKTEĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

İZİNLER

EK 2. Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Karar Formu

		CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU			
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Stox1 Geni Promotör Bölge Mutasyonlarının Preeklampsi Hastalığı Üzerine Etkilerinin Araştırılması			
ETİK KURULU BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu			
	AÇIK ADRESİ:	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıp Tarihi ve Etik Anabilim Dalı TR-58140 Merkez/Sivas			
	TELEFON	0 346 219 10 10 / Dahili: 2092			
	FAKS	-			
	E-POSTA	gokaek2014@gmail.com			
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ergün Pınarbaşı			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yüksek lisans tezi			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Muhittin Sönmez
İmza:





CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK
ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI Stox1 Geni Promotör Bölge Mutasyonlarının Preeklampsi Hastalığı Üzerine Etkilerinin Araştırılması

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>		
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>		
	İLAN	<input type="checkbox"/>		
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>		
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>		
DİĞER:	<input type="checkbox"/>			
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2018-04/11	Tarih: 30.04.2018		
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmacı/çalışmanın gerekeceği amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmacı/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerden gerekli izin alınarak gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.			

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Helsinki Bildirgesi, Cumhuriyet Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Yönergesi

BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI: Prof. Dr. Muhittin Sönmez

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Muhittin Sönmez	Anatomi	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>Muhittin Sönmez</i>
Prof. Dr. Yalçın Karagöz	Biyoistatistik	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>Yalçın Karagöz</i>
Doç. Dr. Hatice Özer	Patoloji	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>Hatice Özer</i>
Doç. Dr. Ercan Özdemir	Fizyoloji	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>Ercan Özdemir</i>
Doç. Dr. Gülay Yıldırım	Tıp Tarihi ve Etik	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	<i>Gülay Yıldırım</i>
Dr. Öğret. Üyesi Mehmet Ataş	Farmasötik Mikrobiyoloji	Cumhuriyet Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>Mehmet Ataş</i>
Dr. Öğret. Üyesi Binnur Bağcı	Beslenme ve Diyetetik	Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimler Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>Binnur Bağcı</i>
Dr. Öğret. Üyesi Engin Altinkaya	İç Hastalıkları	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>Engin Altinkaya</i>
Dr. Öğret. Üyesi Melih Ülgey	Protetik Diş Tedavisi	Cumhuriyet Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>Melih Ülgey</i>

*: Toplantıda bulunma

Etik Kurul Başkanı
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Muhittin Sönmez
İmza: *Muhittin Sönmez*

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı: Şeyda AKIN

Doğum Yeri ve Tarihi: Sivas-1993

Medeni Hali: Bekâr

Yabancı Dil: İngilizce

İletişim Adresi: Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji
Anabilim Dalı, 58140-Sivas

E-posta Adresi: syda.akn58@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise: Kongre Lisesi, 2011

Lisans: Atatürk Üniversitesi, 2016