



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, ANTALYA SAĞLIK
UYGULAMA VE ARAŞTIRMA MERKEZİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ**

**HAFİF VE ŞİDDETLİ PREEKLAMPTİK GEBELERDE
KAN REOLOJİSİNİN VE eNOS ENZİM AKTİVİTESİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Tülay Turan Bütün

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANTALYA/2020



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ, ANTALYA SAĞLIK
UYGULAMA VE ARAşTIRMA MERKEZİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ**

**HAFİF VE ŞİDDETLİ PREEKLAMPTİK GEBELERDE
KAN REOLOJİSİNİN VE eNOS ENZİM AKTİVİTESİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Tülay Turan Bütün

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Burak Karadağ

(TIPTA UZMANLIK TEZİ)

ANTALYA/2020

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
KISALTMALAR.....	ii
TABLO LİSTESİ.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
GEREÇ VE YÖNTEM	45
BULGULAR	51
TARTIŞMA.....	57
SONUÇLAR.....	65
KAYNAKLAR.....	67
ÖZGEÇMİŞ.....	82
EKLER.....	84

TEŞEKKÜR

Sağlık Bakanlığı Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum kliniğinde asistanlık sürecimin ilk gününden son gününe kadar eğitim öğretimimde büyük emeği olan, klinik ve cerrahi tecrübelerini aktarmaktan kaçınmayan, tez çalışmam boyunca her defasında sabırla desteğini benden esirgemeyen, gerek iş hayatındaki profesyonelliğiyle gerek sosyal hayatıyla örnek aldığım büyüğüm, yeri geldiğinde bana abilik yapıp ilerideki hayata hazırlayan, gelecek hayatımda da desteğini her daim hissedeceğim öz abim gibi sevdiğim, benim için çok kıymetli olan güzel insan, değerli abim, hocam **Doç.Dr.Burak Karadağ'a** sonsuz teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan büyük zevk aldığım, bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen ve gelecekte de esirgemeyeceğinden emin olduğum sevgili hocam **Doç.Dr. Onur Erol'a** emekleri için teşekkür ederim.

Kısa süre önce kliniğimizden ayrılan, cerrahi eğitimimde büyük katkısı olan, bilgi ve emekleriyle bize ışık olan ve yeni ufuklar açan kıymetli hocam **Prof.Dr. Barış Mülayim'e** teşekkürü borç bilirim.

Mesleğini en kıymetli şekilde icra eden, cerrahi alanında çok değerli olan bilgi ve tecrübelerini bana en iyi şekilde aktaran Jinekolojik Onkoloji Cerrahisinden değerli hocam **Doç.Dr. Tayfun Toptaş** ve ekibine teşekkür ederim. Klinik eğitim sorumlumuz hocam **Doç.Dr. Aysel Uysal'** a asistanlığım süresi boyunca eğitimime verdiği katkıları için teşekkürü borç bilirim.

Klinik başasistanları **Op.Dr. Bekir Sıtkı İsenlik, Op.Dr. Özgür Özdemir** ve kliniğimizde beraber çalıştığım tüm uzman doktor abilerime ve ablalarım bana verdikleri emekler için teşekkür ederim.

Tez çalışmamda bana yardımcı olan Akdeniz Üniversitesi Fizyoloji A.B.D'den **Doç.Dr. Pınar Ülker'e** teşekkür ederim.

Asistanlığım süresince 4 yıl boyunca omuz omuza çalıştığım, birlikte güldüğüm, birlikte üzüldüğüm, birlikte sabahladığım birlikte emek verdiğim tüm asistan doktor arkadaşlarıma yoldaşlıkları adına teşekkür ederim.

Beni bu günlere getiren, yoktan var ederek okutan, maddi manevi hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, bana hep en doğruyu gösteren ve öğreten, varoluş sebeplerim, canım Annem **Hülya Turan** ve canım Babam **Ahmet Turan'a**, kardeşlerim Avukat **Kübra Turan** ve Psikolog **Bekir Turan'a** sonsuz teşekkürler.

Bu uzun soluklu yolda, Tıp fakültesinin başından beri bana olan desteğini koşulsuz hissettiğim, en büyük destekçim, hayat arkadaşım **Dr. Şevket Cem Bütün'e** sonsuz teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

Dr. Tülay Turan Bütün

KISALTMALAR

NO: Nitrik Oksit

NOS: Nitrik Oksit Sentetaz

eNOS: Endotelyal Nitrik Oksit

NHBPEP: Ulusal Yüksek Kan Basıncı Eğitim Programı

MFMU: Maternal Fetal Tıp Ünitesi

BMI: Beden Kitle İndeksi

IVF: In Vitro Fertilizasyon

TNF: Tümör Nekroz Faktör

IL: Interlökin

TXA2: Tromboksan A2

iNOS: İndiklenebilir Nitrik Oksit

nNOS: Nöronal Nitrik Oksit

EDRF: Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör

RBC: Eritrosit

ATP: adenzin trifosfat

DIC: Yaygın Damar İçi Pıhtılaşma

Th: T helper

PIGF: Plesantal Growth Faktör

VEGF: Vasküler Endotelyal Growth Faktör

sFlt-1: Soluble fms-like tyrosine kinase

VEGFR1: Vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü 1

sEng: soluble endoglin

HELLP: haemolysis, elevated liver enzymes, low platelet

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Preeklampsi tanı kriterleri

Tablo 2. Şiddetli Preeklampsi kriterleri

Tablo 3. Preeklampatik ve sağlıklı gebelerin klinik özelliklerinin karşılaştırılması

Tablo 4. Preeklampatik ve sağlıklı gebelerin laboratuvar özelliklerinin

karşılaştırılması



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Plazmada içindeki eritrositlerin laminar akım çizgilerine etkileri.

Şekil 2. Tavşan torasik aortalarına %95 ve %1 oksijen içeren ortamlarda eritrosit eklenmesinin damar tonüsüne etkisi

Şekil 3. Eritrositlerden ATP salınımı aracılığıyla kan akımının düzenlenmesi

Şekil4. Normal sağlıklı gebelerde trofoblast invazyonu

Şekil5. Preeklampside yetersiz trofoblast invazyonu

Şekil6. Preeklampsi ve sağlıklı gebelerin peNOS değerlerinin karşılaştırılması

Şekil7.Preeklampsi ve sağlıklı gebelerin intNO değerlerinin karşılaştırılması

Şekil8.Preeklampsi ve sağlıklı gebelerin intCa değerlerinin karşılaştırılması

Şekil9: Preeklamptik ve sağlıklı gebelerin Apopoz oranlarının karşılaştırılması

ÖZET

Giriş: Normal gebelikte artan periferik vazodilatasyon önemli fizyolojik bir hemodinamik adaptasyondur. Preeklampside ise en karakteristik değişiklik jeneralize periferik vazokonstrüksiyondür. Bunun esas sebebi endotelden salınan maternal kan nitrik oksit (NO) düzeyinin düşük olmasıdır. Hafif veya şiddetli preeklampside maternal kan NO düzeyinin sağlıklı gebelerdeki maternal kan NO düzeyine kıyasla azaldığı düşünülmektedir. Eritrositler de tıpkı endotel hücreleri gibi fonksiyonel olarak aktif endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimi taşımaktadır. Bundan dolayı preeklampside endotel hücrelerinde olduğu gibi eritrositlerden de salınan NO düzeyinin azaldığı düşünülmektedir. Bu çalışmada, preeklampitik gebelerde sağlıklı gebelere göre eritrositte eNOS aktivitesinin azaldığının gösterilmesi amaçlanmıştır.

Metod: Araştırma, Kasım 2018- Kasım 2019 tarihleri arasından Sağlık Bakanlığı Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde gerçekleştirilmiştir. Hastalar preeklampitik gebeler ve sağlıklı komplikasyonsuz gebelikler (kontrol grubu) olmak üzere 2 gruba ayrılmıştır. Hastalardan, eritrosit eNOS enzim aktivitesi, hücre içi kalsiyum, apoptosis (eritrosise) yatkın eritrositlerin belirlenmesi (hücre zarında fosfotidilserin tespiti) ve hücre içi reaktif oksijen radikali ölçümü için birer tüp venöz kan örneği alınarak Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı laboratuvarında çalışılmıştır.

Bulgular: Preeklampsi grubunda 58, kontrol grubunda 36 olmak üzere toplamda 94 gebe çalışmaya dahil edildi. Preeklampsi grubunda intrasellüler NO $3150 \pm 874,70$ kontrol grubunda ise $3547 \pm 791,14$ idi ($p=0.039$). Preeklampsi grubunda fosforile eritrosit NO $14,19 \pm 4,19$ kontrol grubunda $17,40 \pm 3,62$ idi ($p=0.043$). Preeklampsi grubunda intrasellüler kalsiyum düzeyi kontrol grubuna göre belirgin düşük ($p=0.007$) ve ortama apoptozis oranı preeklampsi grubunda belirgin yüksekti ($p=0,031$).

Sonuç: Çalışmamızda, preeklampitik hastalarda eNOS enzim aktivitesinin ve eritrositten salınan nitrik oksitin azaldığı gösterilmiştir. Hem hücre içi kalsiyum miktarı hem de fosfotidil serinin hücre membranı dışındaki ekspresyonu preeklampitik gebelerde sağlıklı gebelere göre daha yüksek bulundu. Sonuçta

preeklampitik gebelerdeki eritrositlerin apoptozis ve agregasyona belirgin yatkın olduğu görüldü.

Anahtar Kelimeler: Kan reolojisi; eNOS aktivitesi, Nitrik Oksit, Preeklampsi



EVALUATION OF BLOOD REOLOGY AND ENOS ENZYM ACTIVITY IN MILD and SEVERE PREEKLAMPTIC PREGNANCIES

ABSTRACT

Introduction: Increased peripheral vasodilation in normal pregnancy is an important physiological haemodynamic adaptation. The most characteristic change in preeclampsia is generalized peripheral vasoconstriction. The main reason for this is the low level of maternal blood nitric oxide (NO) released from the endothelium. It is thought that in mild or severe preeclampsia, maternal blood NO level decreases compared to maternal blood NO level in healthy pregnant women. Erythrocytes carry functionally active endothelial nitric oxide synthase (eNOS) enzyme just like endothelial cells. Therefore, it is thought that the level of NO released from erythrocytes decreases in preeclampsia as in endothelial cells. In this study, it was aimed to show decreased eNOS activity in preeclampsia.

Method: The research was carried out between November 2018- November 2019 at the Ministry of Health Antalya Training and Research Hospital Gynecology and Obstetrics Clinic. The patients were divided into 2 groups as preeclamptic pregnant and healthy uncomplicated pregnancies (control group). A tube venous blood sample was taken from the patients for the determination of erythrocyte eNOS enzyme activity, intracellular calcium, apoptosis (eryptosis) and determination of intracellular reactive oxygen radical. Venous blood sample was studied in Department of Physiology, Akdeniz University Faculty of Medicine.

Results: A total of 94 pregnant women, 58 in the preeclampsia group and 36 in the control group were included in the study. Intracellular NO was 3150 ± 874.70 in the preeclampsia group and 3547 ± 791.14 in the control group ($p = 0.039$). Phosphorylated erythrocyte NO was $14,19 \pm 4,19$ in the preeclampsia group and $17,40 \pm 3,62$ in the control group ($p = 0.043$). The intracellular calcium level in the pre-eclampsia group was significantly lower than the control group ($p = 0.007$) and the mean apoptosis rate was significantly higher in the preeclampsia group ($p = 0.031$).

Conclusion: In our study, eNOS enzyme activity and nitric oxide released from erythrocyte have been shown to decrease in preeclamptic patients. The amount of intracellular calcium and the expression of the phosphatidyl serine outside the cell membrane were higher in preeclamptic pregnant than in healthy pregnant. As a result, erythrocytes in preeclamptic pregnant were prone to apoptosis and aggregation.

Keywords: Blood rheology; eNOS activity, Nitric Oxide, Preeclampsia



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hipertansif hastalıklar tüm gebeliklerin %5-%10'unu komplike ederler. Maternal morbidite ve mortalite oranını artırırılar. Gelişmiş ülkelerde maternal ölümlerin %16'sı hipertansif hastalıklara bağlıdır, bu oran diğer ölüm nedenlerinden 3 kat daha fazladır (1).

Preeklampsi vücudun tüm sistemlerini etkileyebilen gebeliğe özgü bir hastalıktır. Obstetrideki en önemli komplikasyonlardan biridir. Gebeliklerin %2-8'ini etkilemektedir (2). Preeklampsi gebeliğin 20. haftasından sonra ortaya çıkan ve doğumdan sonra da devam edebilen proteinüri ve hipertansiyon olarak tanımlanır ancak mevcut durum proteinüri ve hipertansiyondan da öte, vücudun tüm sistemlerini etkileyen sistemik ve kompleks bir hastalıktır.

Preeklampsi ve komplikasyonlarına bağlı her yıl dünyada 50 000 maternal ve 900 000 bebek ölümü meydana gelmektedir, bu da tüm maternal ölümlerin %12'sini oluşturmaktadır (2-3). Hastalığın başlangıcı ve klinik seyri çok öngörülebilir değildir.

Preeklampsi insidansı ırk ve etnisite bağlıdır bundan dolayı genetik predispozisyonla da ilişkilidir. Diğer faktörler; çevresel, sosyoekonomik ve hatta mevsimsel etkilerdir. Genç ve nullipar gebelerde gelişme riski daha fazladır. Preeklampsiyle ilişkili diğer risk faktörleri; obezite, çoğul gebelik, anne yaşının 40'dan fazla olması ve gebenin Afrika Amerika kökenli olmasıdır (1).

Normal gebelik sürecinde; kan hacminde artma, damar direncinde azalma gibi pek çok fizyolojik vasküler adaptasyonlar meydana gelir. Tüm bu vasküler düzeydeki değişimler, endotelden nitrik oksit (NO) üretimindeki artışa bağlıdır. Nitrik oksit L-arjinin aminoasidinden nitrik oksit sentetaz (NOS) aracılığı ile sentezlenen ve tüm memelilerde var olan biyolojik bir amindir. Preeklampsi patogeneğinde ise birçok faktör suçlanmaktadır. Bunlardan, NO açısından en önemlisi endotel disfonksiyonudur. Endotel disfonksiyona bağlı olarak NO/endotelin oranının endotelin lehine artışı ve süperoksit radikallerindeki artış; preeklampsinin klinik bulgularından hipertansiyonu, trombosit agregasyonundaki artışı ve preeklampside meydana gelen pek çok prelinik değişikliği açıklamaktadır.

Normal gebelikte artan periferik vazodilatasyon önemli fizyolojik bir hemodinamik adaptasyondur. Preeklampside ise en karakteristik değişiklik jeneralize periferik vazokonstrüksiyondür. Bunun esas sebebi endotelden salınan maternal kan NO düzeyinin düşük olmasıdır. Hafif veya şiddetli preeklampside maternal kan NO düzeyinin sağlıklı gebelerdeki maternal kan NO düzeyine kıyasla azaldığı düşünölmektedir. Eritrositler de tıpkı endotel hücreleri gibi fonksiyonel olarak aktif endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimi taşımaktadır. Bundan dolayı preeklampside endotel hücrelerinde olduğu gibi eritrositlerden de salınan NO düzeyinin azaldığı düşünölmektedir. Bu çalışmada, preeklampitik gebelerde NO salınımının endotel hücrelerinde azaldığı gibi eritrositlerde de eNOS aktivitesinin azaldığının gösterilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kan Akımı

Dolaşım sisteminin temel görevi dokulara besin maddeleri ile oksijenin taşınması ve dokularda oluşan metabolizma yan ürünlerinin ortamdaki uzaklaştırılmasıdır. Bunun yanında farklı fizyolojik koşullarda vücut sıcaklığının ve sıvı dengesinin ayarlanması gibi homeostatik mekanizmalarda da rol oynar. Bu fonksiyonları yerine getirmek üzere dolaşım sistemi bir pompa (kalp) ve içinde oksijen, besin maddeleri ve diğer birçok maddeyi içeren bir sıvıyı (kanı) taşıyan yoğun şekilde dallanmış kan damarları sisteminden oluşur (4,5).

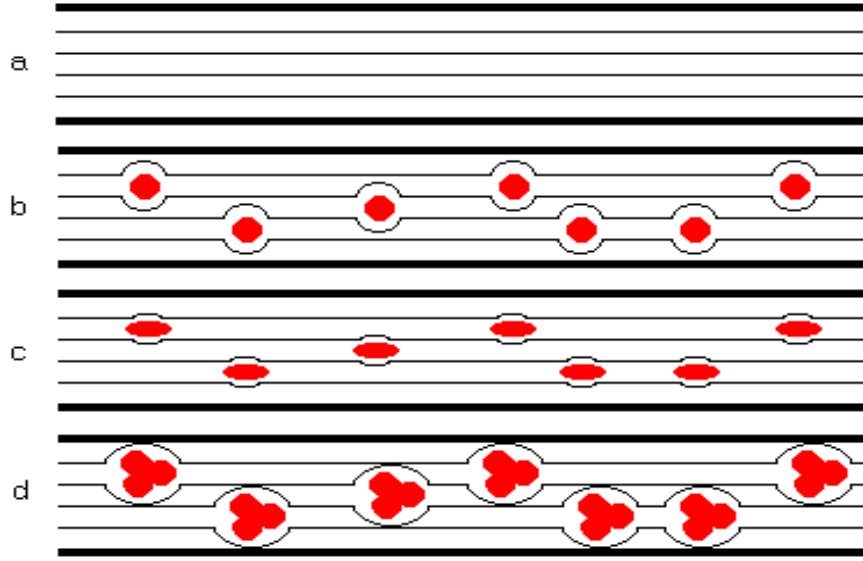
Kan damarları, kanı kalpten dokulara taşıyan arteriyal sistem, kan ve dokular arasında madde alışverişine izin veren kapiller damarlar ve kanın tekrar kalbe dönüşünü sağlayan venöz sistemden meydana gelir. Arteriyal sistem kanın dokulara yüksek basınç altında taşınmasını sağlayan arterler ve kan akımına en büyük direnci oluşturarak kan basıncı düzeyinin belirlenmesinde rol oynayan aynı zamanda kasılıp gevşeme özellikleri kapiller damarlara gidecek kan miktarını belirleyen arteriyollerden oluşur. Kapiller damarlar kan ile interstisyel alan arasında sıvı, besin maddeleri, elektrolitler ve diğer maddelerin değişimini sağlayan ve tek sıra endotel hücrelerinden oluşmuş oldukça ince çeperli damarlardır. Venöz sistem ise kapillerlerden gelen kanı toplayan venüller ve venüllerden kalbe dönen kan için taşıma boruları olarak görev yapan venlerden oluşmaktadır. Venlerin bir diğer önemli fonksiyonu ise dolaşım sisteminin ihtiyacına göre kontrol edilebilir bir kan deposu olmasıdır (4,5).

Kan akımı basit olarak dolaşımın belirli bir noktasından belirli bir zaman içinde geçen kan miktarı anlamına gelir. Kan akımı dolaşımın farklı bölgelerinde farklı şekilde düzenlenir.

2.1.1. Kitle Halinde Kan Akımı

Kan, büyük boyuttaki damarlarda iki fazlı bir süspansiyon özelliğindedir (6,7). Bu koşullarda, damar sisteminin geometrik özelliklerine, kanın fiziksel özelliklerine ve akım hızına bağımlı olarak laminer veya türbülant karakterde akım görülebilir. Laminer akım, sıvı tabakalarının birbiri üzerinde kayması şeklinde gerçekleşir ve buradaki hidrolik direnç oldukça düşüktür (7). Fizyolojik koşullarda kan akımının karakteri laminerdir. Damar geometrisinde yerel değişikliklerle beraber kan akım hızında ani artışlar görülürse kan akımının karakteri türbülant hale dönüşebilir. Bu koşullarda akım direnci de artar.

Laminer akım koşullarında sıvının akışkanlığı, sıvı tabakaları (laminalar) arasındaki sürtünme kuvvetiyle belirlenir. Kan dokusu gibi iki fazlı sıvılarda, birinci faza (plazma) ait laminalar arasındaki sürtünme ikinci fazı oluşturan parçacıkların, bu laminaları ne ölçüde distorsiyona uğrattığı ile yakından ilişkilidir (8). Kanın hücresel elemanlarından oluşan ikinci fazdaki parçacıkların kolay şekil değiştirebilen bir özellikte olmaları, onların laminer akım çizgilerine oriyantasyonunu kolaylaştırarak, tabakalar arasındaki sürtünmeyi, dolayısıyla sıvının viskozitesini azaltır (6,7,9,10). Tersine, eğer laminalar arasında yer alan parçacıkların büyüklüğü artarsa, tabakalar arasındaki sürtünme ve viskozite artar (11,12) (Şekil 1). Eritrositlerin tersinir kümelenme (agregasyon) eğilimi, özellikle düşük kayma kuvvetlerinin etkisinde parçacık büyüklüğünü arttırarak, viskoziteyi etkiler (13).



Şekil 1: Plazmada içindeki eritrositlerin laminar akım çizgilerine etkileri. (a) eritrositlerin olmadığı durumda plazmanın oluşturduğu laminar akım çizgileri, (b) şekil değiştiremeyen (rijid) eritrositlerin varlığında akım çizgilerinin distorsiyonu, (d) şekil değiştirebilen eritrositlerin varlığında akım çizgilerinin azalmış distorsiyonu, (e) eritrosit agregasyonundan dolayı artmış distorsiyon

Kayma kuvvetleri yeterince büyükse, eritrositler plazma içinde bir sıvı damlası gibi davranırlar. Hidrodinamik kuvvetler küçüldükçe, eritrositler geniş diskoid yüzeylerinden birbirlerine yaklaşarak kümelenirler ve üç boyutlu agregatlar meydana getirirler (10). Akım hızının yavaşlaması halinde böyle agregatlar oluşması kan akımı içinde sıvı tabakaları arasındaki sürtünme kuvvetini artırır ve kanı daha visköz hale dönüştürürler (13).

2.1.2. Kapiller Kan Akımı (Mikrodolaşım)

İnsan dolaşım sisteminde kapiller damarlar 3–8 μm çaptadır. Bu koşullarda, kanın bütün olarak iki fazlı bir sıvı sistemi gibi düşünülmesi olanaksızdır. Bunun yerine, kanın hücresel elemanlarının ve plazmanın bu boyuttaki damarlardan geçişi

ayrı ayrı değerlendirilmelidir. Yer yer kan hücrelerinin boyutlarından daha küçük bir çapa sahip olabilen bu damarlarda akım hızı, büyük ölçüde kan hücrelerinin şekil değiştirme yetenekleri (deformabilite) ile yakından ilişkilidir (14,15).

2.2. Kan Akımına Etkili Fiziksel Faktörler

Kan akım hızı ise kanın bir saniye süresince katettiği mesafe olup birimi cm/saniyedir. Kanın damarlar içindeki akım hızı birçok fizyolojik faktörden etkilenir. Bunlar arasında damarların yarıçapı, uzunluğu gibi geometrik özellikleri, damarların yapı ve dallanmaları gibi mekanik özellikleri, akımı oluşturmak için kalp tarafından oluşturulan basınç ve kanın reolojik özellikleri yer alır (16,17).

19. Yüzyılın ortalarında kan akımını sağlayan fiziksel faktörleri inceleyen J.L.M Poiseuille, bir borudaki sıvının akım hızı ile borunun çapı, uzunluğu ve sürücü kuvvet (basınç) arasındaki ilişkiyi tanımlamıştır. Poiseuille bu çalışmasında rijit bir boru kullanmış ve içinden de basit bir sıvı geçirmiştir. Bu nedenle borunun çapı ve sıvının viskozitesi sabit kalmıştır. Oysa dolaşım sistemindeki damarlar rijit olmayıp kasılıp gevşeme yeteneğine sahip olduklarından çapları akıma göre değişebilmektedir. Bunun yanında damarların içinden akan kan ise basit bir sıvı olmayıp viskozitesi akım koşullarına göre değişmektedir. Buna rağmen Poiseuille yasası dolaşımın hemodinamiklerini anlamak açısından temel oluşturur. Poiseuille yasasına göre, damar içinde akan kanın reolojik özellikleri ve sistemin geometrik yapısı damar yatağının akıma gösterdiği direnci belirler (17).

$$Q = \frac{\pi \Delta P \cdot r^4}{8 L \cdot \eta}$$

Poiseuille eşitliğinde; akım direnci yarıçapın (r) dördüncü kuvveti ile ters, damarın uzunluğu (L) ve sıvının viskozitesi (η) ile doğru orantılıdır. Direncin yarıçapın dördüncü kuvveti ile ters orantılı olması nedeniyle, damar çapındaki en ufak değişim kan akımını büyük oranda etkilemektedir.

2.3. Kan Akımının Düzenlenmesi

Kan, seri ve paralel şekilde düzenlenmiş kan damarları içinde sistemik dolaşımın yüksek basınçlı bölgelerinden düşük basınçlı bölgelerine doğru hareket eder. Bu hareketi sağlayan itici güç kanın kalp tarafından pompalanmasıyla oluşturulur. Kalbin 1 dakikada pompaladığı kan miktarına kardiyak output (CO) denir ve organlara akıma gösterdikleri dirençle ilişkili olarak dağılır. Bir organa olan kan akımı ise (Q) aşağıdaki formülle belirlenir (5,18):

$$Q = (TPVR/R) CO$$

Bu formülde TPVR sistemik dolaşımın total periferik vasküler direnci, R ise dokunun içindeki vasküler dirençtir. Dolaşım sisteminde kan akımının belirleyen 3 ana mekanizma vardır. Bunlar nöral, hümorale ve lokal mekanizmalar olup her biri birbirinden bağımsız olarak çalışır (5). Nöral mekanizmalar merkezi sinir sistemi tarafından düzenlenir ve başlıca sempatik sinir sonlanmalarından norepinefrin salınmasına dayanır. Hümorale mekanizmalar dolaşımda bulunan anjiyotensin II ve epinefrin gibi vazoaaktif etkili hormonlar tarafından düzenlenir. Lokal mekanizmalar ise bir dokunun kendi iç dinamikleriyle belirlenir. Lokal mekanizmalar aşağıda ayrıntılı bir şekilde anlatılacaktır.

2.3.1. Kan Akımının Lokal Olarak Düzenlenmesi

Organizmadaki dokular ve organlar metabolik ve fonksiyonel ihtiyaçlarını karşılamak üzere kendi kan akımlarını düzenleyebilirler. Bu olay, kan akımının lokal ya da yerel kontrolü olarak tanımlanan kompleks bir mekanizmadır (19,20). Kan akımının lokal kontrolü iki kısımda incelenir: Akut kontrol ve uzun süreli (kronik) kontrol. Akut kontrol, dolaşım sisteminde arteriyoller, metarteriyoller ve prekapiller sfinkterler düzeyinde gerçekleşir ve doku için gerekli olan kan akımının saniyeler içinde düzenlenmesini sağlar. Kan akımının kronik kontrolü ise uzun sürede meydana gelen ve mevcut damarların boyutlarında ve/veya sayısında değişiklik olması ile kendini gösteren mekanizmadır (18,21).

Kan akımının lokal düzenlenmesinde rol alan mekanizmalar aşağıda sıralanmıştır (19,21).

- 1) Metabolik ve miyojenik kontrol
- 2) Endotel aracılı kontrol
- 3) Eritrosit aracılı kontrol

2.3.1.1. Metabolik ve Miyojenik Kontrol

Birçok fizyoloji kitabında kan akımının lokal kontrolü kan akımının otoregülasyonu başlığı altında incelenir. Bu terim, kan akımındaki ani değişikliklere rağmen doku kan akımının sabit tutulmasını sağlayan miyojenik ve metabolik mekanizmaları tanımlar (21).

Bir dokunun metabolik aktivitesi dokuya olan kan akımını düzenler. Bu olaya kan akımının metabolik olarak düzenlenmesi denir. Dokunun metabolizma hızı arttıkça ya da oksijen düzeyi azaldıkça dokulardan vazodilatör metabolitler salınır. Bu vazodilatör metabolitler lokal olarak arteryollere, metarteriyollere ve prekapiller sfinkterlere difüze olarak kas tonüsünü azaltır (21). Böylelikle bu bölgede kan akımının artmasına neden olarak dokudaki oksijen ve besin maddesi açığı kapatılır. Dokudaki metabolik aktivite arttıkça ya da dokuya oksijen sunumu azaldıkça dokudan daha fazla miktarda vazodilatör madde salınır ve vazodilatasyon devam eder. Metabolik regülasyonda rol alan vazodilatör maddeler arasında adenozin, karbon dioksit (CO₂), laktik asit, adenozin fosfat bileşikleri, histamin, potasyum (K⁺) ve hidrojen (H⁺) iyonları yer almaktadır (21).

Dokunun metabolizma hızının değişmesiyle dokulardan vazodilatör metabolitlerin salınmasının yanı sıra dokudaki oksijen seviyeleri de vasküler düz kas hücrelerinin kasılma durumunu etkiler. Çünkü düz kas dokusu kasılı kalabilmek için oksijene ve besin faktörlerine ihtiyaç duyar. Oksijen veya besin faktörlerinin eksikliği durumunda ise kan damarları dilate olarak dokuya kan akımını artırır. Buna ters şekilde dokudaki oksijen konsantrasyonu arttıkça kasın kasılma gücü de artacak ve prekapiller sfinkterler kapanacaktır (22).

Miyojenik düzenlenme, kan akımı kontrolünün doku metabolizmasıyla ilgili olmayan kısmını oluşturur. Bu teori, küçük kan damarlarının intralüminal basınç artışına bağlı olarak gerilmesi durumunda damar duvarında bulunan düz kas hücrelerinin kasılması ilkesine dayanır (23). Bu nedenle kan basıncının artmasına bağlı olarak damar duvarının gerildiği durumlarda damarlar ani bir şekilde kasılarak dokuya olan kan akımını kısıtlar. Kan basıncının düşük olduğu durumlarda ise düz kasın gerilmesi de az olur ve damarlar gevşer. Burada amaç kan basıncında meydana gelen değişimlere rağmen dokuya olan kan akımını sabit tutmaktır. Miyojenik kontrol, düz kas hücrelerinin doğal bir özelliği olup nöral ve hormonal mekanizmalardan bağımsız olarak gerçekleşir (24). Miyojenik vazokonstriksiyon sırasında meydana gelen olaylar aşağıda sırasıyla verilmiştir (25).

1. Lümen çapında artış
2. Gerime bağlı olarak düz kasta depolarizasyon
3. Voltaja bağlı kalsiyum (Ca^{+2}) kanallarının açılması
4. Hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunda artış
5. Miyozin ince zincirinin fosforlanması

İntralüminal basıncın düz kas hücreleri tarafından nasıl algılandığı henüz tam olarak bilinmemektedir. Bu konuda üstünde durulan olasılıklardan biri düz kas hücre membranında bulunan mekanosensitif iyon kanallarının kan basıncındaki artış ile aktive olmasıdır. Buna göre intralüminal basınçtaki artışla aktive olan kanallardan hücre içine Na^{+2} ve Ca^{+2} iyonlarının girişi olmaktadır (26).

2.3.1.2. Endotel Aracılı Kontrol

Endotel tabakası bütün kan damarlarının luminal yüzeyini saran ve salgıladığı birçok endotel kaynaklı faktörle vasküler homeostasisin oluşumunda rol alan yüksek düzeyde özelleşmiş ve metabolik olarak aktif bir organdır. Bu tabakayı oluşturan endotel hücreleri salgıladıkları birçok vazoaaktif mediatör aracılığı ile vasküler düz kas hücrelerinin tonüsü ve büyümesini etkilediği gibi bunun yanında dolaşımdaki lökositlerin, eritrositlerin ve trombositlerin reaktivitesini ve vasküler geçirgenliği de düzenleyerek vasküler homeostasisin sağlanmasında önemli roller alır (27).

Endotel hücreleri tarafından salındığı ve düz kas hücrelerinin tonüsünü etkilediği bilinen faktörler arasında nitrik oksit, araşidonik asid metabolitleri, endotelin ve adrenomedüllin gibi peptitler, çeşitli pürinler, adenozin ve reaktif oksijen radikalleri yer alır (28,29). Her ne kadar endotel kaynaklı vazoaktif maddeler daha önce tanımlanmış olsa da “Endotel aracılı yanıtlar” terimi Robert Furchgott ‘un 1980 yılında yaptığı bir dizi çalışma sonucu kullanılmaya başlanmış ve endotel hücrelerinin vasküler düz kas hücrelerinin tonüsünü belirlemedeki esas rolleri anlaşılmaya başlanmıştır (30). Endotel aracılı yanıtlarda rol alan maddelerden aşağıda kısaca bahsedilmiştir. Çalışmamız açısından önem taşıyan NO’dan ise daha ayrıntılı olarak söz edilecektir.

Endotelinler:

Endotelinler (ET), 21 aminoasitden oluşan ve damar düz kasında kasılmaya neden olan peptitlerdir (31). Başlıca endotel hücreleri tarafından üretilip salgılandığında lökositler, makrofajlar ve kardiyomiyositler gibi başka hücreler tarafından da üretildiği gösterilmiştir. ET’lerin gen sekansı 1987 yılında tanımlanmış ve aynı yıl endotelin olarak isimlendirilmiştir (32).

ET, preproendotelin olarak sentez edilip, endotelin dönüştürücü enzim (ECE) aracılığıyla aktif ET’ye dönüştürülerek salınır (33). ET’ler, ET-A, ET-B ve ET-C reseptörleri aracılığıyla vasküler etkilerini gösterirler. ET-A reseptörü damar düz kasında daha fazlayken ET-B reseptörü endotel hücrelerinde bulunur. İlk aktive olduğunda güçlü vazokonstriksiyonu uyarmasına karşın ilerleyen süreçte NO salınımını uyararak etkisini azaltır (34).

ET ailesi ET-1, ET-2, ET-3 ve ET-4 olmak üzere 4 farklı izotipten oluşur. Bunlar arasından en baskın olarak sentez edilen izoform ET-1’dir ET-1 diğer ajanlara kıyasla 10 kat daha güçlü bir vazokonstriksiyon yapar (35). Deney hayvanlarında sistemik olarak ET-1’e ait reseptörler bloke edilirse damarlarda vazodilatasyona ve kan basıncında %10-20 azalma görülür (35). Benzer şekilde ECE enziminin inhibisyonu da normotansif insanlarda kan basıncının düşüşüne sebep olmuştur. ET-1, kasıcı etkisini IP3 yolağı aracılığıyla gösterir (36). Düşük konsantrasyonlarda, ANG II, serotonin, α -adrenerjik agonistler gibi protein kinaz C aracılıklı etki gösteren diğer vazokonstriktörleri de arttırır.

Prostasiklin:

Prostasiklin endojen prostanoid ailesinin bir üyesi olup prostaglandin I₂ (PGI₂) olarak da bilinir. PGI₂, endotelden salındığı keşfedilen ilk vazodilatör ajandır ve endotelden salındıktan sonra damar düz kasında cAMP aracılığıyla gevşemeye yol açar (37).

PGI₂, siklooksijenaz 1 (COX 1) ve siklooksijenaz 2 (COX 2) enzimleri aracılığıyla araşidonik asitten üretilir (38). PGI₂, vasküler homeostazisin sürdürülmesinde ve kan akımının kontrolünde esansiyel rol oynar (39). Bütün bunların yanında PGI₂ trombosit agregasyonunu güçlü şekilde baskılayarak hemostaz sürecini etkiler. Prostasiklinlerin, iskelet kaslarında kan akımı ve metabolik vazodilatasyonu düzenlemede büyük önemi vardır (40). Prostosiklin sentezini uyaran agonistler arasında en güçlü uyaran bradikinin, bunun yanı sıra substans P, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü ve adenin nükleotidleridir (35).

Endotel Kaynaklı Hiperpolarize Edici Faktör (EDHF):

EDHF, damar düz kas hücrelerini hiperpolarize ederek gevşemelerine yol açıp damar çapında artışa neden olan bir ajandır. İlk olarak NO ve PGI₂ dışında endotel hücrelerinden sentezlenen bir vazodilatör madde olarak tanımlanmıştır (41).

EDHF kaynaklı vazodilatör yanıtların potasyum kanallarının bloke edilmesiyle ortadan kalktığı tespit edilmiştir. Literatürde EDHF'nin etkisiyle ilgili üç farklı mekanizma önerilmektedir. Bu mekanizmalar türler arasında, damar yatakları arasında ve endotelial uyaranlara göre farklılık göstermektedir. Bunlardan ilkinine göre EDHF Ca⁺² bağımlı K⁺ kanalları aracılığıyla endotelde hiperpolarizasyon oluşturur. Oluşan hiperpolarizasyon, gap junctionlar aracılığıyla vasküler düz kasa iletilerek düz kasta gevşemeye yol açar (42). Bu fikre göre; endotelial K⁺ kanalları, düz kasta voltaj bağımlı Ca⁺² kanalları aracılığıyla Ca⁺² girişini azaltarak vasküler düz kasın kasılabilirliğine etki eder (43). İkinci mekanizmaya göre EDHF, epoksieikosatrienoik asit (EET) gibi sitokrom p450 yolağının bir ürünüdür ve EET, BK_{Ca} kanalları aracılığıyla düz kasta hiperpolarizasyona yol açar (43). Üçüncü mekanizmaya göre ise; endotel hücrelerinden orta ve küçük Ca⁺² bağımlı K⁺ kanalları aracılığıyla K⁺ çıkışı düz kas hücrelerindeki inward rectifying potasyum

kanallarını (K_{IR}) ve sodyum potasyum ATPaz'ları (Na^+/K^+ ATPaz) aktive ederek düz kasta gevşemeye neden olur (44).

Her ne kadar EDHF'nin varlığı ve etkisi bilinse de literatürde EDHF'nin kimyasal bileşimine ilişkin kesin veriler bulunmamaktadır. Bu konuda yapılan çalışmalarda K^+ , hidrojen peroksit (H_2O_2), C-natriüretik peptid, anandamid, EET gibi birçok mediyatör EDHF olarak tanımlanmıştır. EDHF aracılı gevşeme iletim ve direnç damarlarının her ikisinde de tanımlansa da direnç arterlerinde ve damar boyu küçüldükçe katkısı daha fazladır (37).

Nitrik Oksit:

Nitrik oksit, birçok fizyolojik olayda önemli rolü olan, nonpolar, renksiz bir gazdır (45). 1987 yılına kadar vücutta bulunuş nedeni ve metabolizması tam olarak bilinmeyen NO'nun fizyolojik ve patolojik olaylardaki rollerinin anlaşılmasıyla 1992'de yılın molekülü seçilmiştir (46,47). Furchgott 1980 yılında ilk defa, izole edilmiş tavşan aortalarında, düz kas hücreleri tarafından asetilkoline gevşeme yanıtının oluşturulması için endotel bütünlüğünün şart olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada asetilkoline cevaben görülen gevşeme yanıtının endotel hücrelerinden Ca^{+2} aracılı salınan bir faktör tarafından oluşturulduğu düşünülmüş ve orjini tam olarak bilinmeyen bu faktöre endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) adı verilmiştir (30). Aynı yıl Dr. Robert Furchgott, endotelial muskarinik reseptörlerin asetilkolin ile aktive edilmesi durumunda EDRF salıverildiğini göstermiştir. Ardından 1987'de Dr. Moncada ve Dr. Ignarro'nun EDRF'nin NO olabileceğine dair kanıtlar elde etmesiyle bilimde birçok sorunun yanıtının NO olduğu anlaşılmıştır. Dr. Furchgott, Dr. Ignarro ve Dr. Moncada NO'nun kardiyovasküler sistemde bir sinyal molekülü olarak rolü ile ilgili çalışmaları nedeniyle 1998 yılında Nobel Tıp ve Fizyoloji Ödülüne layık görülmüşlerdir (47,48). Bu çalışmalar, atmosferi kirlettiği, ozon tabakasını deldiği ve asit yağmurlarına neden olduğu bildirilen NO'nun kaderini bir anda değiştirmiştir.

Suda az çözünen, lipofilik bir molekül olan nitrik oksit hücre membranından kolaylıkla geçer. Nitrik oksitin yüksüz bir molekül olması, çifleşmemiş elektron taşınması hücreden hücreye hiçbir bariyerle karşılaşmadan kolaylıkla geçmesini

sağlamaktadır (45,49). Aynı zamanda NO, taşıdığı çifleşmemiş elektron nedeniyle bir radikal molekül olarak isimlendirilebilir. Diğer serbest radikaller genelde hücreler için zararlı iken NO, düşük konsantrasyonlarda bile çok önemli fizyolojik işlevlerde rol almaktadır. Ancak, aşırı ve kontrolsüz NO sentezi hücreler için zararlı olabilmektedir (50). NO, bu özellikleri ile ideal bir fizyolojik haberci molekül özelliği kazanmaktadır.

Nitrik Oksidin Fonksiyonları:

NO'nun Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri: NO sentez inhibitörleri ile yapılan çalışmalarda NO yokluğunun vasküler dirençte artışa ve kan basıncında yükselmeye neden olduğu bulunmuştur (47,51,52). Bu çalışmalar, damar direncinin dengelenmesinde NO'nun önemli oranda homeostatik rolü olduğunu göstermektedir (53,54).

Endotel hücresinde oluşan nitrik oksitin bir kısmı damar düz kas hücresine difüze olurken, geri kalan kısmı kana geçerek dolaşımdaki komşu hücreler (lökosit, trombosit) üzerinde etkili olur (54,55). NO, düz kas hücresine difüze olduktan sonra cGMP'yi arttırarak düz kas gevşemesine neden olur, cGMP artışı 6 farklı mekanizma ile gevşemeyi meydana getirebilir. Bu mekanizmalar şunlardır (45):

1. Sarkoplazmik retikulumda Ca^{+2} -ATPaz'ın aktivasyonu ile hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunun azalması.
2. Miyozin hafif zincirinin defosforilasyonu.
3. Düz kas hücresi membranındaki reseptör aracılı Ca^{2+} kanallarının inhibe edilmesi.
4. Hücre içi Ca^{+2} düzeyinin düşmesini sağlayan Ca^{+2} taşıyıcılarının, G proteinlerinin, reseptörlerin ve kanal proteinlerinin fosforile edilmesi.
5. Memrandaki Ca^{+2} -ATPaz'ın uyarılması.

6. Potasyum kanallarından potasyum geçişinin arttırılmasıyla hiperpolarizasyon oluşması.

Nitrik Oksit Üretimi:

Nitrik oksit, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi tarafından sentezlenir. Fonksiyonel olarak 1990 yılında Bult ve arkadaşları tarafından tanımlanan NOS'un primer yapıları yüksek homolojiye sahip, üç farklı izoformu bulunmaktadır: 1) nöronal NOS (NOS I veya nNOS); 2) indüklenebilir NOS (NOS II veya iNOS); 3) endotelial NOS (NOS III veya eNOS) (51,56,57).

Nöronal NOS ve endotelial NOS yapısal olarak eksprese edilirken (NOS 1, NOS 3) diğer NOS izoformu olan indüklenebilir NOS yapısal değildir ve çeşitli sitokinler tarafından indüklenebilir (NOS 2).

Nitrik oksit, NOS enzimlerinin katalizlemesiyle L-arginin'in terminal guanido nitrojeninden sentezlenir. Bu sentez iki basamaktan oluşur: Birinci basamak L-arginini N-oksidasyonu ile L-OHarginin oluşumudur. İkinci basamakta ise L-OH arginin C-N bağı oksidatif olarak parçalanır ve sonuçta sitrulin ve NO oluşur. NOS enzimi, L-arginin amino asidinin terminal guanidino grubundaki nitrojenin oksidasyonunu sağlar (58,59). Bu reaksiyon hem oksijen hem de nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) bağımlıdır ve nitrik oksidin yanısıra L-sitrullin oluşmasıyla sonuçlanmaktadır. NOS aracılı NO oluşumu için gerekli olan substratlar, L- arginin aminoasiti, moleküler oksijen ve NADPH'dır. Kofaktör olarak ise tetrahidrobiopterin (BH4), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN) ve sitokrom P450 kullanılmaktadır (45,57,58,60). NO sentezi yapan hücreler arjininin hücre içine aktif bir şekilde alınmasını sağlayan mekanizmalara sahiptir. Bu mekanizma diğer katyonik aminoasitlerin taşınımında da kullanılabilen bir y^+ taşıyıcıyı içerir (61).

Bu üç NOS izoformunun subselüler lokalizasyonu da değişkenlik gösterir. nNOS ve iNOS çözümlü sitozolik proteinlerdir. eNOS ise hücresel membranda partiküler subselüler fraksiyonda özellikle de plazmalemmal kaveola'da bulunur

(62). Endotel hücrelerinde bulunan eNOS enzim aktivitesi lokalizasyonu ile belirlenir. Yeni sentezlenen eNOS enzimi Golgi kompleksinde membrana myristol ve palmitol gruplarıyla bağlı halde bulunur (63). Daha sonra veziküler taşıma yoluyla hücre membranına taşınarak burada kolesterol ve lipitten zengin membran girintileri olan ve kaveola adı verilen yapılara yerleşir. eNOS proteini burada oldukça fazla eksprese edilen kaveolin-1 proteinine bağlanır (64). Bu bağlanma eNOS enziminin katalitik aktivitesi inhibe eder. Çünkü kaveolin-1 proteini eNOS enziminin aktive olmasında önemli bir basamak olan kalmodulin bağlanmasını engeller. Hücreye Ca^{+2} girişiyle ise kalmodulin eNOS enzimine bağlanır ve eNOS ile kaveolin-1 arasındaki ilişkiyi ortadan kaldırarak enzimin aktive olmasını sağlar. Böylelikle eNOS enzimi membrandan ayrılarak sitoplazmaya geçer.

Sitoplazmada Protein kinaz B olarak da bilinen Akt enzimi eNOS enziminin serin 1177 bölgesinden fosforlayarak aktivitesinin daha da artmasına yol açar. Ayrıca eNOS'un bir stres proteini olan HSP 90 ile bağlanması da hem kalmodulinin hem de Akt'nin enzime bağlanmasını kolaylaştırarak enzim aktivasyonunda önemli bir rol oynar. eNOS'un inhibe olması ise hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonlarında azalma ve enzimin defosforile olması ile gerçekleşir. Bu faktörler eNOS'un tekrar kaveolin-1 proteinine bağlanmasına ve golgi kompleksine geçerek burada palmitol gruplarının enzime eklenmesiyle kaveolaya taşınarak inaktive olmasına neden olur.

Belli koşullar altında; NOS, NO yerine O_2^- üretebilir (57). NOS tarafından O_2^- oluşumu, oksijenaz domaininin hem grubu aracılığıyla olur, sübstrat (L-arginin) ve kofaktör (BH4) varlığına bağlıdır (65,66). NOS, her iki faktörün veya birinin konsantrasyonunun düşük olması durumunda O_2^- oluştururken, sübstratı ve kofaktörü yeterli miktarda olduğu zaman NO üretir.

NOS enzimi, oksijenaz (1- 491 aminoasit) ve redüktaz (492- 1205 amino asit) olmak üzere 2 adet globüler protein motifine sahiptir (50). Memeli NOS'ları sadece dimerik formda oldukları zaman fonksiyonel olarak aktiftirler. Redüktaz bölgesi, NO üretimi için gereken elektronları, redükte olmuş NADPH'ı dehidrojenize ederek üretir (57). Elektronlar daha sonra oksijenaz bölgesine geçerler. Kalsiyum bağlı kalmodulinin NOS'un COOH-terminal redüktaz ve NH₂ terminal oksijenaz domaininin arasına bağlanmasından sonra elektron transferi aktive olur. Kalmodulin,

flavinlerden NOS'un hem bölgesine elektron transferinde görevli olup, NO biyosentezinde önemli bir basamak olan, flavin indirgenmesinin hızını belirler (67,68). Oksijenaz bölgesi, NO üretim yeridir ve hem, L-arjinin ve BH4 bağlar. Ayrıca çinko (Zn) bağlama bölgesine sahiptir (69). Her NOS dimeri bir çinko iyonu içerir ve bu da dimerik molekülün stabilizasyonunu sağlar. Tüm NOS izoformları kalmodulin bağlanma bölgesi içerse de kalmodulinin NOS II'ye bağlanması onu kalıcı bir alt birim haline getirir. eNOS ve nNOS'a kalmodulin bağlanması ve aktivasyonu fizyolojik Ca^{+2} konsantrasyon değişikliklerine cevaben meydana gelirken, kendisine sıkıca bağlı kalmoduline sahip olan iNOS düşük Ca^{+2} konsantrasyonlarında bile maksimum flavin redüksiyonuna imkân sağlar (53,55,70).

Nitrik Oksit'in Metabolizması:

İnsan plazmasında oksijen varlığında NO hızlı bir şekilde esas yıkım ürünü olan nitrite (NO_2^-) dönüşür. Plazmada bulunan nitrit, eritrositler tarafından hücre içine alınarak methemoglobin tarafından nitrate (NO_3^-) oksitlenebilir. Nitrat daha sonra plazmaya tekrar geçer (71). Plazmada bulunan NO'nun bir diğer yıkım yolu da güçlü bir antioksidan olan peroksinitriti ($ONOO^-$) oluşturmak üzere O_2^- anyonlarıyla hızlı bir şekilde reaksiyona girmesidir. Fazla miktarda bulunan peroksinitrit daha sonra nitrate parçalanabilir. Bunların yanında NO oksijen ile de reaksiyona girer ve reaktif bazı ara ürünler oluşturabilir. NO'nun sıvı bir ortamda otooksidasyonu, dinitrojen trioksit (N_2O_3) gibi reaktif nitrojen oksit ürünlerinin oluşumuna neden olabilir (60). Bu ürün farklı substratları okside veya nitroze ederek nitrozaminler veya nitrozotiollerin ortaya çıkmasına sebep olabilir. Yapılan çalışmalar plazmada yüksek konsantrasyonlarda bulunan redoks aktif tiollerin NO ile ilişki kurarak onu memeli dolaşımında biyoaktif S-nitrosotioller (RSNO) şeklinde taşıyabildiklerini göstermiştir (72). Plazmadaki RSNO'lar yüksek moleküler ağırlıklı RSNO'lar (S-nitrosoalbumin) ve düşük moleküler ağırlıklı RSNO'lar (S-nitrosoglutatyon) olmak üzere iki gruba ayrılır. Oksijen varlığında NO'nun plazmada tioller ile girdiği reaksiyon sonucu oluşan esas ürünün SNOAlb olduğu düşünülmektedir (47,54).

Plazmaya ek olarak NO, eritrositlerde direk Hb'le reaksiyona girerek de metabolize olur (71,72). Eritrosit içinde bulunan Hem proteininin oksijenasyon durumuna göre NO ile Hb arasında üç farklı reaksiyon gerçekleşebilir: Sıvı ortamlarda NO hızlı bir şekilde oksihemoglobin (OksiHb) ile reaksiyona girerek NO₃⁻ ve methemoglobin (MetHb) oluşumuna sebep olur. Genel olarak, bu reaksiyonun NO'nun in-vivo ortamdaki esas inaktivasyon yolağı olduğu düşülmesine rağmen son zamanlardaki çalışmalar bunun her koşul altında doğru olmayabileceğini düşündürmektedir. NO'nun eritrosit içindeki oksihemoglobin ile reaksiyon hızı onun eritrosit içine difüzyon hızı ile sınırlı olup, serbest oksihemoglobin ile reaksiyon hızına göre 650 kat daha yavaştır. Alternatif olarak, NO deoksihemoglobinin hem grubuna bağlanarak nitrozilhemoglobin (NOHb) oluşumuna sebep olur. Üçüncü bir yol ise NO veya NO₂ ve N₂O₃ gibi daha yüksek oksidasyon ürünlerinin beta hemoglobin zincirlerinin sülfhidril gruplarının 93. sistein rezidüsü ile reaksiyona girerek SNOHb oluşumuna sebep olmasıdır (72,73). NO ile hemoglobin arasındaki bu 3 farklı reaksiyonun gerçekleşme oranı oksijen parsiyel basıncına bağlıdır. Venöz kanın NO ile muamele edilmesi sonucu daha fazla NOHb daha az NO₃, arteriyal kanın muamelesi sonucu ise daha fazla NO₃ daha az NOHb oluştuğu gösterilmiştir. Ek olarak hemoglobinin oksijenasyon durumu SNOHb oluşumunu kolaylaştırır. Stamler ve arkadaşları hem demirine oksijen bağlanmasının hemoglobinin beta zincirinde bulunan sistein rezidüsüne NO bağlanmasını arttırarak, SNOHb oluşumunu sağladığını göstermişlerdir (73). Deoksijenasyon ise SNOHb'nin allosterik dönüşümüne sebep olarak NO salınımını sağlar.

eNOS Aktivitesinin Kontrolü:

eNOS, bazal koşullarda endotel hücresinde sürekli olarak ancak az miktarda NO sentezi yapar. Kültüre edilmiş endotel hücrelerinde eNOS enzimi yapısal olarak eksprese olmasına rağmen bazı faktörlerin de enzim aktivitesini ve bazal ekspresyonunu etkilediği bilinmektedir. Kayma gerilimi, eNOS aktivitesini arttırmaktadır. Düzenli egzersiz yaptırılan köpeklerde de eNOS düzeylerinin arttığı bildirilmiştir (74). TNF- α , okside LDL artışı ve hipoksi gibi faktörler ise eNOS aktivitesini azaltmaktadır. Ayrıca kaveolanın transmembran proteini olan kaveolin de

eNOS'u inhibe edebilir (62). Bu inhibisyon Ca-kalmodulin kompleksi tarafından tamamen ortadan kaldırılabilir (62).

eNOS fosforilasyonu, eNOS aktivitesini kontrol eden kritik regülatör mekanizma olarak tanımlanır. eNOS üzerinde en az 5 spesifik fosforilasyon bölgesi tanımlanmıştır (75). eNOS fonksiyonunda fosforilasyonun önemini destekleyen veriler bulunması ve giderek artmasına rağmen fosforilasyonun regülasyonunda rol alan protein kinazlar ve fosfatazlarla ilgili çelişkili bilgiler bulunmaktadır. Örneğin, eNOS'un serin 1177 aminoasitinin, in vivo ve in vitro koşullarda 5 farklı protein kinaz tarafından fosforillendiği gösterilmiştir (76,77). Serin 1177 bölgesi ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen diğer bölgelerin fosforilasyonunun önemi hala tartışmalıdır (75). eNOS enzimi fizyolojik uyarılara cevaben serin 1177, serin 633, serin 615, threonin 495 ve serin 114 bölgelerinden fosforillenmektedir.

eNOS-serin 1177 bölgesinin fosforillenmesi, enzim aktivitesinin artmasına neden olur. Bu bölgenin fosforillenmesi ile bazal aktivitenin 2 kat arttığı bildirilmiştir (78,79). eNOS-threonin 495 bölgesinin fosforillenmesiyle ise enzim aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (62,75,80,81). Literatürde diğer fosforilasyon bölgelerinin eNOS enzim aktivitesi üzerine etkilerine dair çelişkili bilgiler bulunmaktadır (75).

2.3.1.3. Eritrosit aracılı kontrol

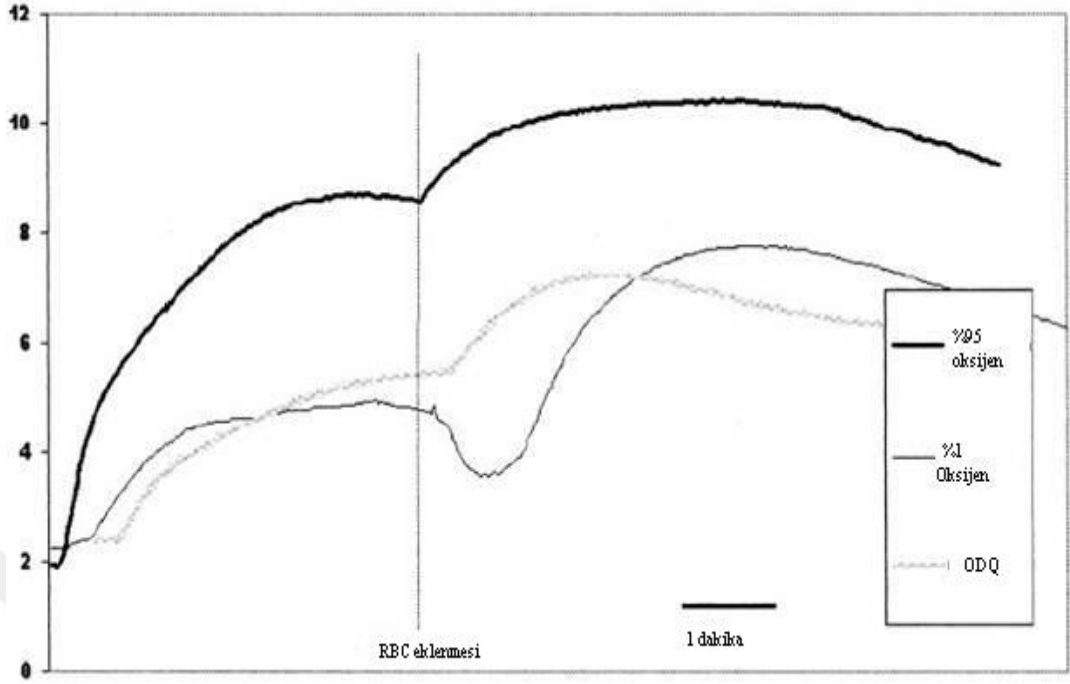
Eritrositler yüksek miktardaki hemoglobin içerikleri nedeniyle genel olarak solunum yüzeyleri (akciğerler, solungaçlar) ile metabolik olarak aktif dokular arasında O₂ taşınmasını sağlayan hücreler olarak tanımlanırlar. Ancak son yıllarda eritrositlerin çok önemli bir görevi daha olduğu açığa çıkmıştır. Bu da kan akımının lokal olarak düzenlenmesidir (73,82-84). Dokulara oksijen sunumunun gerçekleşmesi kan akımıyla ilişkili olduğundan eritrositler tarafından kan akımının düzenlenebiliyor olması fizyolojik açıdan büyük önem taşımaktadır.

Lokal kan akımının eritrositler tarafından düzenlenmesine ilişkin son yıllarda oldukça fazla çalışma yapılmıştır. Bunlardan ilki James ve arkadaşlarına ait olup bu

çalışmada tavşan torasik aortaları farklı oksijen parsiyel basıncı içeren ortamlarda fenilefrin ile kastırılmış ve damar gerimleri platoya ulaştığı anda ortama eritrosit eklenmiştir. %1 oranında oksijen içeren koşullarda damar banyosuna eritrosit eklenmesiyle damar düz kasında %35 oranında gevşeme yanıtı gelişirken oksijene koşullarda damar banyosuna eritrosit eklenmesi kasılma yanıtına neden olmuştur. Hipoksik koşullarda gözlenen bu gevşeme yanıtı bir siklik guanozin monofosfat (cGMP) inhibitörü olan 1H- [1,2,4] oxadiazole[4,3-a] quinoxalin-1-one (ODQ) varlığında ise inhibe olmaktadır. Bu nedenle damar preparatlarının üzerine eklenen eritrositlerin yalnızca hipoksik koşullarda ve düz kas hücrelerinde cGMP yolağını kullanarak dilatasyon yanıtına neden olduğu söylenebilir (Şekil 2) (85). Öte yandan Stamler ve arkadaşları endotel tabakası sıyrılmış damar segmentlerine hipoksik koşullarda eritrosit eklenmesiyle damar düz kas tonüsünün azaldığını göstererek eritrositlerin endotelden bağımsız olarak gevşeme yanıtına neden olduğunu kanıtlamıştır (86). Bütün bunların yanı sıra, eritrositlerin özellikle hipoksi ve mekanik stres koşullarında endotel aracılı yollar ile de damar düz kas hücrelerinde oldukça hızlı ve büyük miktarda gevşemeye neden olduğu bilinmektedir (87,88).

Yukarıda bahsedildiği gibi eritrositler hem endotel aracılı hem de endotelden bağımsız mekanizmalarla damar düz kasında gevşemeye neden olmaktadır. Bu mekanizmalar eritrositlerden salınan moleküllere göre 2 ana başlıkta toplanabilir (85-87).

Bunlar; 1) Eritrositlerden ATP salınımı 2) Eritrositlerden NO ya da NO biyoaktivitesine sahip moleküllerin salınımıdır.



Şekil 2. Tavşan torasik aortalarına %95 ve %1 oksijen içeren ortamlarda eritrosit eklenmesinin damar tonüsüne etkisi (85).

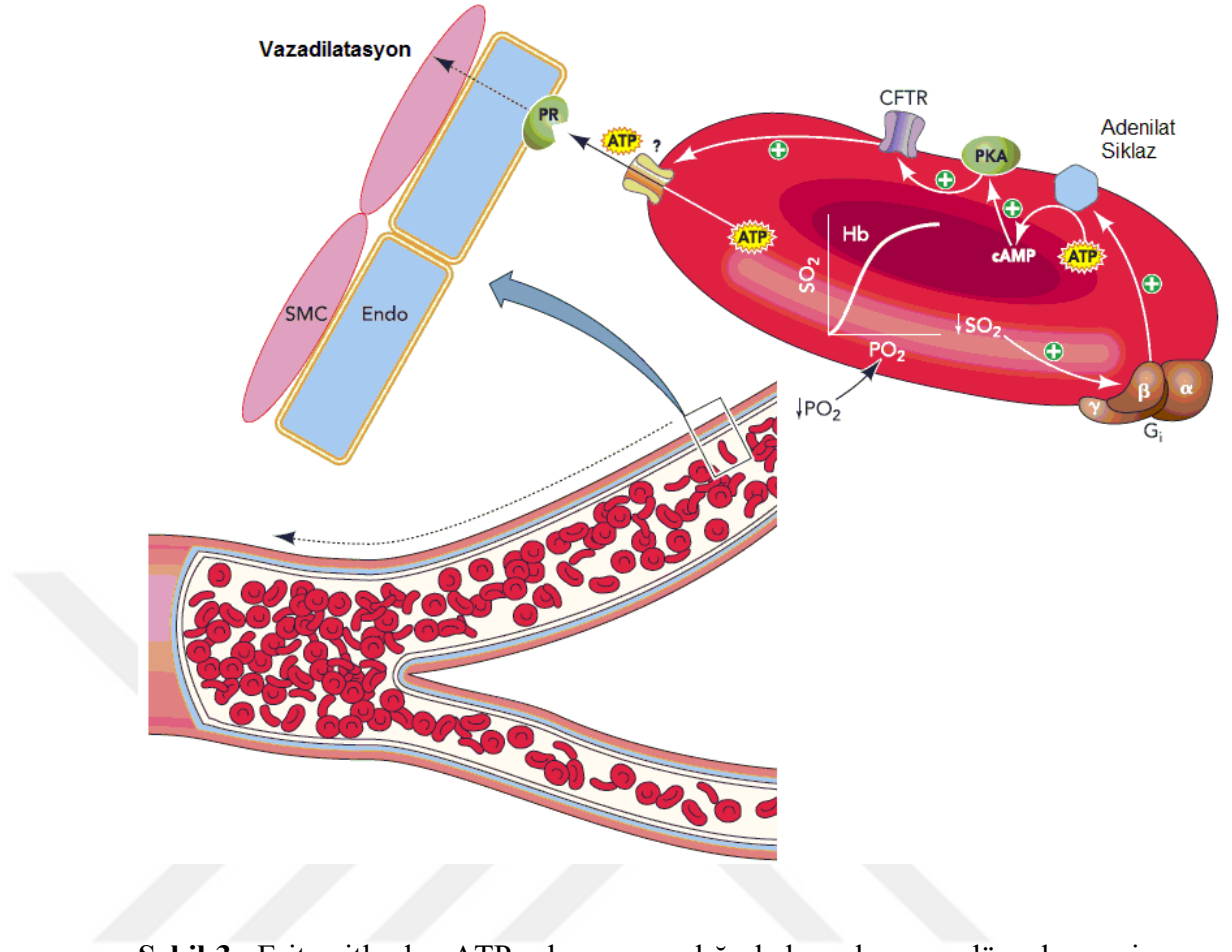
Eritrositler'den ATP Salınımı:

ATP, hücrelerde koenzim olarak kullanılan bir nükleotit olup en önemli işlevi hücre içi biyokimyasal reaksiyonlar için gereken kimyasal enerjiyi taşımaktır. Eritrositler, hücre membranında yerleşmiş glikolitik enzimler tarafından üretilen milimolar düzeylerde ATP içerir (89).

Eritrositlerden ATP salınımı tarihsel olarak eritrositlerin kan akımı düzenlenmesinde tanımlanan ilk rolleridir ve ilk defa 1992 yılında Forrester ve arkadaşlarının insan eritrositleri ile yaptıkları bir çalışmada gösterilmiştir (83,87,90). Eritrositlerden plazmaya salınan ATP endotel hücreleri üzerinde bulunan reseptörlerine bağlanarak etkisini gösterir. ATP'nin endotel hücrelerinde bulunan hedef reseptörleri purinerjik reseptörlerdir. Eritrositlerden salınan ATP parakrin yolla etki ederek endotel hücre yüzeyinde bulunan P2y reseptörlerine bağlanır. Bu reseptörler Gq proteini ile eşleşen G protein bağlı reseptörler olup aktive olunca fosfolipaz C (PLC) aktivasyonu üzerinden hücre içinde inositol 3 fosfat yapımını arttırmırlar. Endotel hücrelerinde nitrik oksit (NO) ve araşidonik asit metabolitlerinin

sentezi başlar ve sentezlenen NO, düz kas hücrelerine difüze olarak burada guanilat siklaz aktivasyonu üzerinden gevşeme yanıtına neden olur (91). Günümüzde çeşitli fizyolojik ve farmakolojik uyaranlara cevaben eritrositlerden kontrollü bir şekilde ATP salınımının gerçekleştiği bilinmektedir. Eritrositlerden ATP salınımını sağlayan fizyolojik uyaranlar arasında eritrositlerin mikrodolaşımdan geçerken karşılaştıkları mekanik kuvvetler (92-94) ve düşük oksijen parsiyel basınçları (90,95,96) yer almaktadır. Her iki durumda da hücreden salınan ATP miktarı uyarının büyüklüğünden etkilenmektedir. Hücreden ATP çıkışına neden olan farmakolojik uyaranlar arasında ise eritrosit membranında bulunan beta adrenerjik reseptörleri aktive eden ajanlar yer almaktadır. Bunlar da doza bağımlı olarak ATP salınımını düzenlerler (97).

ATP bir polivalen anyon olup hücre membranından geçemediği kabul edilir (99). Literatürde eritrositlerden ATP salınımını açıklayan mekanizmalar arasında Pannexin-1 adı verilen bir gap junction proteini, kistik fibrosis gen ürünü klor kanalı (CFTR) ve voltaj bağımlı anyon kanalları (VDAC) yer almaktadır (98,100).



Şekil 3. Eritrositlerden ATP salınımı aracılığıyla kan akımının düzenlenmesi (101).

Eritrositlerden ATP salınımını gerçekleştiren mekanizmalar da açıklığa kavuşturulmuş olup bunlar heterotrimerik G proteinleri olan stimütör G proteini (Gs) ve inhibitör G proteini (Gi) adenilat siklaz, protein kinaz A ve kistik fibrosis transmembran iletkenlik düzenleyicisini (CFTR) içermektedir (Şekil 3). Yapılan çalışmalar Gs ile ilişkili olan adrenerjik reseptörlerin ve prostasiklin reseptörlerinin konsantrasyona bağımlı şekilde hücrede siklik adozin monofosfat (cAMP) artışına neden olarak hücreden ATP salınmasına yol açtığını göstermiştir. Ancak, mekanik kuvvetlere ya da düşük oksijen basınçlarına maruz kalan eritrositlerde aktive olan G proteini Gs değil Gi'dir.

Bu uyarılar Gi proteinlerinin adenilat siklaz aktivasyonuna neden olan $\beta\gamma$ subunitelerini aktive ederek hücre içinde cAMP seviyelerinde artışa neden olmaktadır (101,102).

Bütün bunların yanında eritrositlerden plazmaya ATP salınımını inhibe eden mekanizmalar da iyi bilinmektedir. Bunlar arasından ilki NO aracılığı ile gerçekleşmektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar lümeneye salınan ATP'nin endotel hücrelerini uyarılmasıyla bu hücrelerden yapıp salıverilen NO'nun sadece düz kas hücrelerine değil bunun yanında lümeneye doğru da difüze olduğu ve eritrositleri etkilediği hipotezine dayanmaktadır. Buna göre eritrositler bol miktarda NO bulunan bir damar yatağına girdiklerinde fazladan NO salınımı gerekli değildir ve NO eritrositlerden ATP çıkışını inhibe etmektedir. NO'nun bu etkisini, fizyolojik uyarılara cevaben eritrositlerden ATP salınmasını sağlayan Gi proteinini inaktive ederek gerçekleştirdiği gösterilmiştir (103). Ayrıca lümeneye salınan ATP'nin burada bulunan enzimler tarafından metabolize edilmesiyle oluşan adenozin difosfat (ADP)'ında ATP salınımında rolü olduğu öne sürülmektedir. ADP, eritrositler üzerinde bulunan purinerjik reseptörlere bağlanmakta ve hücre içinde cAMP düzeylerini azaltarak ATP salınımında azalmaya neden olmaktadır (104).

Eritrositler'den NO ve NO Biyoaktivitesine Sahip Moleküllerin Salınımı:

Eritrosit ve NO ilişkisini araştıran ilk çalışmalar eritrositlerde bulunan hemoglobinin 'NO tüketici' etkisi üzerinde durmuştur (105-107). Bu nedenle eritrositlerin damar düz kas tonüsünün belirlemedeki tek temel fonksiyonlarının plazma içindeki NO seviyelerinin azaltılması yönünde olduğu düşünülmüştür. Eritrositlerin NO tüketici etkileri kan akımıyla ve hemoglobinin lokalizasyonu ile yakından ilişkilidir. Kan akımında meydana gelen artış NO tüketici etkiyi azaltırken (108), hemoglobinin plazmada serbest halde olması bu etkiyi 600 kat arttırmaktadır (105). Ayrıca parsiyel oksijen basıncı da hemoglobinin NO'ya afinitesini etkilemektedir. Yüksek oksijen parsiyel basınçlarında hemoglobinin NO'ya afinitesi artarken, parsiyel oksijen basıncının düşmesiyle bu afinite azalmaktadır (109,110).

Bütün bunların yanında son yıllarda yapılan çalışmalar eritrositlerin NO biyoaktivitesindeki rollerinin sadece NO tüketimi değil; bunun plazmaya NO salınımını gerçekleştirmek de olduğunu göstermiştir. Bugün eritrositler tarafından NO salınmasına ilişkin 3 farklı mekanizmadan bahsetmek mümkündür:

1) Eritrositler endotel hücreleri tarafından üretilen NO'yu S-nitrosohemoglobin halinde taşıyarak hipoksik koşullarda NO şeklinde salarlar (73)

2) Eritrositler plazmada bulunan nitriti hipoksik koşullarda NO'ya çevirirler (84,111)

3) Eritrositler eNOS enziminin aktivasyonu ile NO üretirler (82,112,113)

Eritrositlerde gerek eNOS enzimi aracılığıyla gerekse diğer yollarla üretilen NO'nun hücreden nasıl çıktığı ise henüz tam olarak netlik kazanmamıştır. Bu konuda öne sürülen görüşler arasında NO'nun eritrositlerden serbest olarak difüzyona uğraması ve membranda yerleşmiş proteinler tarafından NO çıkışının kolaylaştırılması yer almaktadır (114,115). Bahsedilen membran proteinleri arasında Band 3 (anyon deşirici) en önemlisidir (116).

NOS aracılığıyla NO Sentezi:

Doku kan akımının düzenlenmesinde önemi rolleri olduğu bilinen NO'nun sentezinden son yıllara kadar sadece endotel hücreleri sorumlu tutulmuştur (117,118). Ancak deneysel çalışmalar ve teorik analizler, dolaşım sisteminde endotel hücrelerinin dışında başka hücrelerden de NO sentezlendiğini ve dolaşıma salındığını göstermiştir (115,119). Bu hücreler arasında özellikle eritrositler vurgulanmaktadır (177).

Bu konuda yapılan ilk çalışmalar eritrositlerde bir NOS enziminin var olduğunu gösterse de bu çalışmalarda enzimin aktif olduğu kanıtlanamamış ve eritrositlerin gelişim sürecinde fonksiyonunu kaybeden inaktif bir protein olarak tanımlanmıştır (120).

İlk olarak 2006 yılında Kleinbongard ve arkadaşları tarafından yapılan kapsamlı bir çalışmada kan hücrelerinden köken alan NO'nun büyük oranda eritrositler tarafından üretildiği gösterilmiştir (112,121). Eritrositlerde bu enzim hem sitozolde hem de membranın iç yüzünde yerleşmiş durumdadır ve membranda sitoplazmadan %20-30 daha fazla miktarda bulunur. Ayrıca bu iki kompartmandaki enzimler arasında diğer NOS taşıyan hücrelerde de olduğu gibi fonksiyonel bir ilişki olduğuna dair deliller mevcuttur (112).

Eritrositlerde bulunan NOS enzimi endotel hücrelerinde bulunan eNOS enzimi gibi L-arjinin tarafından uyarılır ve genel NOS inhibitörlerine duyarlıdır. Enzimin aktivitesi serin 1177 bölgesinden fosforilasyon ile olur. Bu fosforilasyon hücre içi kalsiyum miktarı ve fosfotidol inositol 3 kinaz (PI3K) tarafından düzenlenmektedir (112). Bu nedenlerle eritrosit NOS enziminin eNOS enzimine benzerliği dikkat çekmektedir. Ayrıca L-arjininin L-sitrüline dönüşüm hızıyla belirlenen NOS enzim aktivitesi eritrositlerde ve endotel hücrelerine birbirine yakındır (0.3-0.7 pmol/pg/dk) (112).

Eritrositlerde NOS ile İlişkili Proteinler:

eNOS enzimi eritrositler içindeki lokalizasyonlarına göre 3 farklı proteinle ilişki kurar. Bunlar kaveolin-1, kalmodulin ve hücre içi stres proteinleridir (122).

Kaveolin-1: Membranda bulunan NOS enzimi, hücre membranının kaveola adı verilen ve kolesterol ve lipitten zengin membran girintileri içinde bulunan kaveolin-1 adlı proteine bağlanır. eNOS enziminin bu proteine bağlanması enzimin inaktif hale geçmesine neden olur (122).

Kalmodulin (CaM): CaM hücrelerde yüksek miktarda bulunan küçük, asidik bir Ca^{+2} bağlayıcı proteindir (123). Hücrede çeşitli proteinlere bağlanıp onları aktive ederek Ca^{+2} sinyalinin hücreye yanıtı çevrilmesini sağlar. Eritrositlerde CaM, Ca^{+2} pompası, hücre iskeleti proteinleri ve eNOS enzimi ile ilişkiye girer (124). Hücre içine kalsiyum girişinin ardından kalsiyum bağlanmasıyla aktive olan CaM, membranda kaveolin-1 proteinine bağlı halde bulunan eNOS enzimine bağlanır ve enzimin membrandan sitoplazmaya geçerek aktifleşmesine olanak sağlar (122).

Stres proteinleri: Bütün hücreler çevresel değişimlere karşı koruma sağlayan ve genel olarak Hsp (heat shock protein) ya da stres proteinleri adı verilen bir seri protein içerir. Eritrositlerde Hsp'lerin bir grubunun bulunduğu gösterilmiştir. Olgun eritrositler yapısı bozulmuş olan proteinlerin yenileriyle değişmesini sağlayacak hücre içi mekanizmalara sahip olmadığından şaperonların proteinleri koruyucu ve sabitleştirici etkisi çok önemlidir (125). eNOS enziminin sitoplazmaya geçmesinin ardından HSP proteinleri enzime bağlanır ve bu şekilde enzimin aktivitesi korunur (122).

Eritrosit NOS Kofaktörleri:

L-arginin: Eritrositlerdeki NOS aktivitesi L-arginin eklenmesiyle artmaktadır. L-arginin, sığır eti ve ceviz gibi günlük besin öğelerini de içeren birçok farklı besinde bulunmakla birlikte hepatik üre siklusunda endojen olarak da üretilmektedir (126). Eritrositlerde L-arginin metabolizmasında görevli enzimler bulunmaktadır. Bunlardan biri, L-arginini üre ve L-ornitine çeviren arginaz-1 enzimidir. Diyabetik hastalarda arginaz-1 ekspresyonunun artmasıyla NOS aracılı NO yapımının azaldığı gösterilmiştir (127,128). Koroner arter hastalığı, pulmoner hipertansiyonu, periferel arteriyel tıkanıklık hastalığı olan bireylerde de diyetle L-arginin eklenmesinin yararlı olduğu gösterilmiştir (128). Ayrıca flavanoldan zengin kakao ile beslenmenin insan eritrositlerindeki arginaz-1 aktivitesini azaltarak NOS aktivitesinde artışa neden olduğu da bilinmektedir (129).

CAT1 transporter: CAT1, L-lizin, L-histidin, L-ornitin ve L-arginin gibi katyonik aminoasitlerin hücreye taşınmasında rol alan ve hücrelerde oldukça fazla düzeyde eksprese edilen bir proteindir (130). İnsanlarda bulunan CAT1, eritroid hücre kolonunda glikoforin-A pozitif nükleer hücrelerde 8 kat fazla bulunarak seçici bir ekspresyon paterni izler. CAT-1, L-argininin hücre içine taşınmasını sağlayarak NO sentezinin düzenlenmesine katıldığı bilinmektedir (131).

Kalsiyum (Ca^{+2}): Eritrositlerde bulunan kalsiyumun büyük kısmı hücre membranında yer almaktadır (132). Hücre içi Ca^{+2} düzeylerinin artışı hücrede bir dizi biyokimyasal ve morfolojik değişimlerin başlamasına neden olur (133).

Ca^{+2} konsantrasyonunun artışı membran protein paterninin değişmesine, hücreden su çıkışıyla ve hücre büzülmesiyle sonuçlanan potasyum çıkışının aktivasyonuna neden olur (134,135). Eritrositlerde bulunan Ca^{+2} pompası hücre içi Ca^{+2} seviyelerini 0.634 $\mu\text{g/ml}$ düzeyinde tutmak için hücreye giren Ca^{+2} 'u uzaklaştırır (197). Eritrositler yaşlandıkça hücre Ca^{+2} düzeylerinde artış gözlenir. Bu artışa paralel olarak hücre ATP içeriği ve CaM aktivitesi azalır. Bütün bunlar hücre membranının viskoelastik karakterini etkileyecek şekilde hücre iskeleti yapısında yeniden düzenlenmelere neden olabilir (136).

Asetilkolin (ACh): ACh reseptörleri (AChR) lenfositler ve eritrositler gibi kan hücrelerinin yüzeyinde bulunmaktadır. ACh ile inkübe edilen eritrositlerin deformabilitesi artarken agregasyon eğilimi de azalmaktadır. Bunun yanında, eritrositlerin ACh ile inkübasyonu hücre yüzeyinde bulunan muskarinik reseptörleri aracılığı ile NO metabolitleri olan nitrit ve nitrat konsantrasyonunu artırır. Endotel hücrelerinde bulunan asetilkolin reseptörleri (AChR) eNOS enziminin çok belirgin bir aktivatörüdür. Bu reseptörler ligand kapılı katyon kanalları olup 4 farklı polipeptid subünitesinden oluşur. AChR'nin 2 ana sınıfı liganda cevabına göre muskarinik ve nikotinik reseptörler olarak 2'ye ayrılır. Eritrositler muskarinik reseptörlerin agonisti olan koline cevap verirler.

Eritrosit NOS Aktivitesinin Düzenlenmesi:

Enzim aktivitesinin serin 1177 bölgesinden fosforilasyon ve hücre içi kalsiyum düzeyleri tarafından belirlenmesi ve genel NOS inhibitörlerine duyarlı olmasıyla endotel kaynaklı eNOS enzimine benzerlikler taşıyan eritrosit kaynaklı NOS, bazı noktalarda da bu enzimden ayrılır (112). Eritrositler çekirdek, endoplazmik retikulum ve golgi kompleksi gibi hücre organelleri içermediğinden birçok NOS düzenleme mekanizmasına da sahip değildirlere (137). Bunun yanında eritrosit NOS enziminin aktivitesi endotel hücrelerinde olduğu gibi enzimin hücre içindeki lokalizasyonuna bağlıdır ve yine endotel hücrelerinde olduğu gibi dögüsel olarak işlemektedir. Bu mekanizmalar henüz teorik olsa da eritrosit NOS enziminin düzenlenme mekanizması şöyle işlemektedir: Eritrosit NOS enzimi sitoplazmada kaveolin-1 proteinine bağlı olarak inaktif halde bulunur ve buradan membrana

veziküler tansport yoluyla taşınarak membranda lipitten zengin bölgelere bağlanır. Kayma gerilimi sinyalleri ya da reseptör aracılı uyarım bir yandan enzimin serin 1177 bölgesinden fosforilasyonuna neden olurken bir yandan da hücreye Ca^{+2} girişine neden olur. Hücreye giren Ca^{+2} 'un kalmodulin ile bağlanmasıyla kalmodülün aktif hale geçer ve membranında bulunan NOS enzimine bağlanır. Bu bağlanma NOS enzimi ile kaveolin-1 proteini arasındaki bağı koparıp NOS'un aktifleşerek membrandan sitoplazmaya geçmesine neden olur. Sitoplazmada bulunan Hsp90 proteinleri aktif hale geçen NOS'a bağlanarak enzimin aktivitesini stabilize eder ve böylece NO oluşumunu artırır. Hücre içi konsantrasyonlarında meydana gelen düşüş ile birlikte ise NOS ile kalmodulin arasındaki bağ zayıflar ve NOS kaveolin-1 proteinine yeniden bağlanır. Böylece enzim tekrar inaktif duruma geçer. Bu mekanizmaların yanında enzimin serin 1177 bölgesinden fosforilasyonu ve hücre membranındaki asetilkolin reseptörünün aktive olması da enzim aktivasyonunu arttırmaktadır.

2.4. GEBELİKTE HİPERTANSİYON

Gebelikte hipertansiyon dünyada önde gelen maternal ve perinatal mortalitenin sebeplerinden biridir. Dünya genelinde gebeliklerin %2-8'i preeklampsi ile komplike olmaktadır (138). Morbidite ve mortalite açısından önem taşıyan gebelikte hipertansiyon, aynı zamanda maliyetli bir komplikasyondur. Yapılan bir çalışmada Amerika Birleşik Devletleri'nde preeklampsinin maliyetinin doğum sonrası ilk bir yılda tahmini 1,18 milyon dolar olarak açıklanmıştır (1). Gebelikte hipertansiyondan etkilenmiş annelerin ve yenidoğanların takip, tedavi ve yoğun bakım ihtiyaçları yüksek oranda maliyetli bir tablo oluşturmaktadır.

Gebelikte Hipertansiyon, Ulusal Yüksek Kan Basıncı Eğitim Programı (NHBPEP) tarafından 4 tip olarak sınıflandırılmıştır (139):

2.4.1. Gestasyonel Hipertansiyon

2.4.2. Herhangi bir etiyojiye bağlı Kronik Hipertansiyon

2.4.3. Kronik Hipertansiyon Zemininde Süperempoze Preeklampsi

2.4.4. Preeklampsi ve Eklampsi

Gebelikte hipertansiyon tanısı 4 saat ara ile en az iki defa uygun bir şekilde ölçülen kan basıncının sistolik 140 mmHg ve/veya diyastolik 90 mmHg 'yı geçmesi ile konulur.

2.4.1. Gestasyonel hipertansiyon

Gestasyonel hipertansiyon proteinüri olmadan gebeliğin 20.haftasından sonra ölçülen kan basıncının sistolik 140 mmHg, diyastolik 90mmHg'nın üzerinde olmasıdır. Gestasyonel hipertansiyonda kan basıncı postpartum 12. haftaya kadar normale döner.

Gestasyonel hipertansiyonlu gebelerin yarısında epigastrik ağrı, baş ağrısı, trombositopeni ve proteinüri başlayarak preeklampsi sendromu gelişir (140). Gestasyonel hipertansiyonun takibi preeklampsi gelişmesi açısından önemlidir.

2.4.2. Kronik hipertansiyon

Kadınlarda gebelikten önce hipertansiyon varsa ya da 20. gebelik haftasından önce hipertansiyonu varsa kronik hipertansiyon tanısı konulur. Postpartum dönemde 6. haftadan itibaren kan basıncı 140/90 mmHg üzerinde devam eder. Risk faktörlerinin başında etnik köken, obezite ve diyabet gelmektedir. 56 milyon doğumun değerlendirildiği bir çalışmada kronik hipertansiyon riski ile ilişkili hastalıklar arasında pregestasyonel diyabet, tiroit hastalıkları ve kollajen-vasküler hastalıklar bulunmuştur (141).

Hasta gebe olsun ya da olmasın kronik hipertansiyon kardiyovasküler yetmezlik, serebrovasküler olay ve böbrek hasarına sebep olur. Bundan dolayı anne için önemli bir mortalite nedenidir. Gebelikte kronik hipertansiyonu olan hastalarda ise süperempoze preeklampsi, fetal ölüm, fetal büyüme kısıtlılığı ve preterm doğum riski artmıştır (142).

2.4.3. Kronik hipertansiyon zemininde gelişen süperempoze preeklampsi

Kronik hipertansiyon tanısı almış gebelerin 20. gebelik haftasından sonra tansiyonlarının yükselmesi ve tabloya proteinürinin eklenmesi ile konulur. Kronik hipertansiyona sahip gebelerin preeklampsi tablosuna dönmesi tehlikeyi artırır. Risk doğrudan bazal tansiyonun yüksekliğiyle ilişkilidir. Maternal Fetal Tıp Ünitesi tarafından yapılan bir çalışmada süperempoze preeklampsi oranı %25 ve fazlası olarak bildirilmiştir (143).

24. gebelik haftasından sonra kronik hipertansiyonu olan gebelerde durum daha da kötüleşir. Kronik hipertansiyona sahip olup preeklampsi gelişen gebeler, kronik hipertansiyonu olmadan preeklampsi gelişen gebelere göre daha ağır bir tabloya sahiptir (140). Süperempoze preeklampside ablasyo plasenta ve fetal gelişme geriliği oranları daha yüksektir (140).

2.4.4. Preeklampsi ve Eklampsi

Preeklampsili kadında ani başlangıçlı yaygın tonik klonik konvülziyon varlığı eklampsi olarak tanımlanır. Anne ve fetusta önemli risk artışına neden olur. Maternal komplikasyonlar; ablasyo plasenta, nörolojik defisit, aspirasyon pnömonisi, akciğer ödemi ve kardiyopulmoner arresttir.

Konvülziyonlar doğumdan önce, doğum sırasında ve doğumdan sonra da olabilir. En çok üçüncü trimesterde görülür ve miada doğru sıklığı artar. Doğum sonrası en sık ilk 48 saatte olsa da postpartum 10. güne kadar da görülebilir. Günümüzde doğum öncesi bakımın artması preeklampsinin erken tespit edilmesi gibi sebeplerden dolayı görülme sıklığı azalmıştır.

2.5. PREEKLAMPSİ

Preeklampsi gebeliklerin %2-8'ini etkileyen, 20. gebelik hastasından sonra ortaya çıkan, hipertansiyon proteinüri ve endorgan hasarının eşlik ettiği insana özgü bir hastalıktır (144). Proteinüri glomerüler hasarın bir göstergesidir. Proteinüri; 24 saatlik idrarda >300 mg protein, idrar protein/kreatinin oranınının 0.3'ten büyük olması

veya rastgele alınan idrar örneğinde idrar yolu enfeksiyonu olmaksızın 2 pozitif (300mg/dl) proteinüri olması olarak tanımlanmaktadır. İdrar konsantrasyonunun gün içinde değişkenlik göstermesi sebebiyle idrarda yeterli proteinürinin olmaması hastalığın tanısını geciktirebilir. “Dipstick” idrar örneğindeki proteinürinin yanlış pozitiflik oranı yüksek olduğu için 24 saatlik idrar toplamak daha güvenilirdir. Preeklampsi progresif bir durumdur. Tablo hafif veya şiddetli izleyebilir. Saatler içinde tablo hafiften şiddetliye dönebilir. Gerçek tedavi ise doğumdur.

Tablo 1’de Preeklampsi tanı kriterleri özetlenmiştir. 2013 yılında “ *American College of Obstetricians and Gynecologist* ” preeklampsi tanısı için proteinüriyi zorunlu kriter olmaktan kaldırdı (145).

Tablo 1: Preeklampsi tanı kriterleri (145)

Daha önce normotansif olan hastada 20. gebelik haftasından sonra arteriyel kan basıncı değerinin en az 2 defa 4 saat ara ile sistolik 140mmHg ve/veya diyastolik 90 mmHg üzerinde ölçülmesi
Sistolik kan basıncı ≥ 160 mmHg veya diastolik kan basıncı ≥ 110 mmHg ise birkaç dakika ara ile tekrar ölçülmesi yeterlidir.
Proteinüri 24 saatlik idrarda ≥ 300 mg ve protein(mg/dL) / kreatinin (mg/dL) oranı ≥ 0.3 mg/dl veya “Dipstick” ile proteinüri 2+, eğer kantitatif ölçüm yapılamıyorsa
20. gebelik haftasından sonra hipertansiyonu gelişen proteinürisi olmayan hastalarda, aşağıdakilerden herhangi birisinin olması preeklampsi için tanısaldır.
Serum kreatinin $>1,1$ mg/dL veya iki kat yükselmesi
Trombositopeni (<100000 mm ³)
Karaciğer enzimlerinin en az iki kat yükselmesi
Pulmoner ödem
Serebral veya görsel bozukluklar

2.5.1. Preeklampsi İnsidansı ve Risk Faktörleri

Gebelikte hipertansiyon insidansı tüm dünyada farklı toplumlarda farklı oranlarda görülür. Genel oran %5-10 arasında değişmektedir. Preeklampsi için bilinen risk faktörleri; nulliparite, önceki gebeliğinde preeklampsi hikayesi, gebenin yaşının 40'tan büyük veya 18'den küçük olması, kronik hipertansiyon, pregestasyonel diyabet, gestasyonel diyabet, trombofili, uyku apnesi, kronik renal hastalık, diyabet, otoimmün hastalıklar, bağ doku hastalıkları, çoğul gebelik, siyah ırk ve obezitedir (146-148). Bunun yanında genetik ve çevresel faktörler de mevcuttur. İnsidans, ırk ve etnik kökenle de ilişkilidir. Maternal Fetal Tıp Ünitesi (MFMU) çalışmasına göre preeklampsi insidansı beyazlarda %5, Latinlerde %9, Afrika kökenlilerde %11'dir (146). Maternal kilo ile hastalığın riski arasında doğru orantı vardır. İnsidans; vücut kitle indeksi (BMI) $<20\text{kg/m}^2$ olan gebelerde %4,3 iken, (BMI) $>35\text{kg/m}^2$ olan gebelerde ise %13,3'e yükselmiştir (147). Çoğul gebeliklerde de tekil gebeliklere göre insidans artmıştır fakat zigositeyle ilişki bulunamamıştır (147).

2.5.1.1.Preeklampsi risk faktörleri

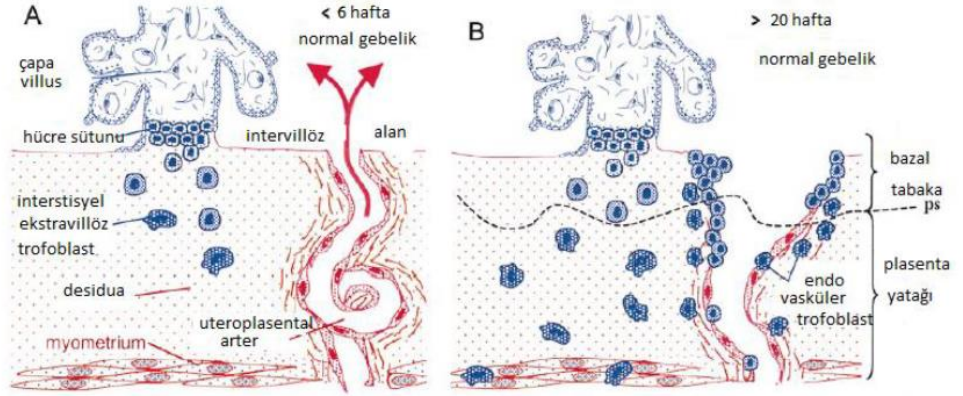
- Daha önceki gebeliğinde preeklampsi veya eklampsi hikayesi
- Nulliparite
- Anne yaşının 40 ve üstü veya 18 ve altı olması
- Çoğul gebelik
- Kronik hipertansiyon
- Kronik renal hastalık
- Genetik (anne ve/veya kız kardeşte preeklampsi öyküsü varsa, risk artar.)
- Diabetes mellitus, pregestasyonel / gestasyonel DM
- Antifosfolipid Sendromu
- Non-immun hidrops fetalis
- Gestasyonel trofoblastik hastalık
- Siyah ırk
- Obezite
- In vitro fertilizasyon (IVF)

2.5.2. Preeklampsi Patofizyolojisi

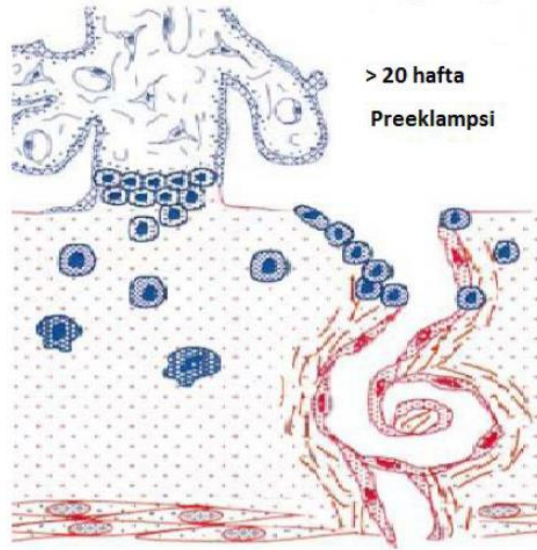
Preeklampsi hem anneyi hem fetüsü etkileyen multisistem bir hastalıktır. Preeklampsi gelişimde temel rol plasentanın varlığıdır. Fetüs preeklampsi için gerekli değildir. Preeklampsi için koryonik villus gereklidir fakat koryonik villusun uterus içine yerleşmesine gerek yoktur. Preeklampsiye yol açan olaylar zinciri, vasküler endotel hasarı ve daha sonra vazospazm, plazmanın transüdayonu ile birlikte iskemik ve trombotik hasardır. Preeklampsi tablosu uteroplental iskemi, immün yetmezlik ve abartılı inflamatuvar cevabı içerir (149,150). Preeklampsi patogeneğinde anjiyogenik faktörlerin rol oynadığı düşünülür (149). Uteroplental iskemi, antianjiyogenik faktör salınımına ve dengesizliğine yol açar (151).

Uterin arterler uterusun asıl kan kaynağıdır. Gebelikte uterusu giden kan miktarı 10 katına çıkar. Placenta ve fetusun oksijen ve besin ihtiyacı bu şekilde karşılanır. Bu ihtiyaç uterusu bulunan spiral arterlerin uteroplental arterlere dönüşmesi ile olur. Trofoblastlar spiral arterlerin desidual ve miyometriyal tabakalarına invaze olarak spiral arterlerin çapını artırıp intervillöz alanda akım direncini azaltmaktadır. Direnç azalmasıyla birlikte intervillöz mesafede yüksek akım oluşur ve fetomaternal alışveriş sağlanır (151,152).

Broses ve ark. (153) plasental yataktaki kan damarlarını mikroskopik olarak incelemişlerdir. Sağlıklı gebelerde spiral arterlerin sitotrofoblastik hücrelerce istila edildiğini ve bu arterlerde lümenin genişlediğini ve müküler tabakanın tamamen kaybolduğunu görmüşlerdir. Preeklampside ise damarların desidual kısmında invazyon oluşur fakat miyometriyal tabakada invazyon oluşmaz. Böylelikle spiral arterlerin lümen çapı daha dar olur ve kalın kas yapısına sahip olurlar (154) (Şekil4,5).



Şekil 4: A, B Normal sağlıklı gebede trofoblast invazyonu (154)



Şekil 5: Preeklampside yetersiz trofoblast invazyonu (154)

Preeklampside yetersiz invazyon vardır ve bu inkomplet trofoblastik invazyon diye adlandırılır (151). Yetersiz trofoblastik invazyon fetal trofoblast ve maternal desidua arasındaki normal olmayan bir iletişime neden olur. Bu durum da plasental invazyon ve maternal vaskülarizasyonun yetersiz olmasına yol açar.

Kötü plasentasyon sonucu kan damarında aterosiz görülür. Aterosiz; endotelin bozulması, plazma proteinlerinin ve köpüksü makrofajların endotel altına toplanmasıyla spiral arter lümenlerinde daralmaya sebep olan bir lezyondur (155). Spiral arterlerde oluşan bu daralma, aterosiz ve infarkta bağılı plasental kan akımını azaltır. Uteroplasental iskemi oluşur. Bunun sonucunda preeklampside gebelerin fetuslarında gelişme geriliğine neden olur (151).

Preeklampside hatalı plasentasyon sonucu iskemik reperfüzyon doku hasarına yol açar. İskemik reperfüzyon tipi hasar; plasentada oksidatif stres ve serbest radikallerin açığa çıkmasına, sitokinler (Tümör Nekroz Faktör (TNF- α), interlökin (IL) ve büyüme faktörlerinin salınımında bozukluğa, lökosit ve makrofaj aktivasyonuna yol açarak preeklampsi tablosuna neden olabilir (156,157). TNF- α , IL gibi sitokinler preeklampsile ilişkili oksidatif strese katkıda bulunabilirler ve bu da lipid peroksitlerin oluşumuna neden olan oksijen türleri ve serbest oksijen radikalleriyle olur. Bunlar ise başta endotel hücre hasarına, nitrik oksit üretiminde değişikliğe ve prostoglandin salınım değişikliklerine neden olarak toksite sebebidir. Oksidatif stres sonucu salınan serbest radikaller tüm dolaşıma katılarak yaygın endotel hasarına sebep olurlar. Oluşan yaygın endotel hasarı da preeklampsi tablosuna neden olur. Hasara uğrayan endotel tabakası anjiyotensin II, tromboksan A₂(TXA₂), endotelinler gibi vazokonstriktör radikallere duyarlı hale gelir. Prostaglandin, nitrik oksit (NO) gibi vazodilatatör ajanlara ise duyarsızlaşır (158,159).

Damar endotel tabakası kapiller madde taşınımı ve damar çevresi düz kas aktivitesini düzenler (152). Nitrik oksit sentetaz (NOS) vücudun farklı bölgelerinde bulunur. Bunlar; damar endoteli, beyin, makrofaj, eritrosit, üriner sistem dokularıdır. NO, nitrik oksit sentetaz (NOS) tarafından L-arjininden salgılanan bir vazodilatatördür (160). Tüm memelilerde var olan biyolojik bir amindir. Normal bir gebelikte plasentanın ve fetal perfüzyonun devamı için bölgedeki damar direncinde belli bir düşme olmalıdır. Gebelikte bu durumun devamı için önemli olan faktörlerin biri de NO'tir (152). Preeklampsi gibi gebeliğin hipertansif hastalıklarında NO'in salınımının azaldığı düşünölmektedir. NO sentezinin inhibisyonu ile kan basıncı artar, kalp hızı azalır ve vazopresörlere karşı duyarlılık artar. Conrad ve Vernier gebe hayvanlarda da NO çekilmesinin insanlarla aynı semptomları verdiğini

göstermişlerdir. İnsanlarda, nitrik oksit fetoplasental akımın düşük basınçlı normal vazodilate durumunu sağlar.

Hipertansiyon; multifokal kompleks kardiyovasküler bir hastalıktır. Yapılan çalışmalar, Nitrik oksit üretimi ile kan basıncı arasında bir korelasyon olduğuna işaret eder (161).

3 adet Nitrik Oksit Sentetaz (NOS) izoformu vardır. Bunlar; endotel nitrik oksit sentetaz (eNOS), indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) ve nöronal nitrik oksit sentetaz (nNOS)'dır (162). NOS; endotel, epitel, lökosit, trombosit, eritrosit ve nöronda bulunur. iNOS; inflamatuvar süreç, havayolu epiteli ve konakçı savunma sisteminde bulunur. eNOS ve nNOS ise nöron sinyal iletimi, hemostatik sistem, vazodilatasyon ve kan basıncı kontrolünü içeren fizyolojik süreçte önemli bir yer kaplar. NO, endotelden salgılanan vasküler fizyoloji için kısa ömürlü bir sinyal düzenleyicidir. Önceleri sadece vazodilatasyon yeteneği ile bilinir ve "endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF)" olarak tanımlanırdı. Şimdiki bilgilere göre vasküler tonus, kan akış kontrolü, kardiyovasküler sistemde sinyal oluşumu ve nörotransmisyonunda önemli bir etkiye sahiptir (162,163).

Sağlıklı bir sistemde eNOS kaynaklı NO; kan akışını, kan basıncını, trombosit agregasyonunun inhibisyonunu ve lökosit adezyonunu, migrasyonunu düzenler. Vasküler endoteldeki eNOS, otokrin ve parakrin NO sinyalleri sayesinde bazal kan basıncı kontrolüne katılır. Kan dolaşımındaki çoğu kan hücresinde (lökosit, trombosit ve eritrosit (RBC)) varlığı gözlenmiştir. Normooksik şartlarda eritrositlerin NO üretebileceği öne sürülmüştür (164).

Eritrosit, dolaşımda en fazla bulunan kan hücresidir. Eritrositteki eNOS aktivitesi NO havuzunda önemli bir yer kaplar. Dolayısıyla NO dolaşımının ve kan basıncı cevabının potansiyel düzenleyicisidir. Eritrositler, methemoglobin ve nitrat oluşturmak için oksihemoglobin ile hızlı reaksiyona girerek endotel kaynaklı NO'ü alır, inaktive eder ve böylece vazodilatasyona neden olan NO'ün salınımını sınırlar (165). Eritrositlerin sadece NO sentezlediği değil aynı zamanda NO metabolit ürünlerini sentezlediği, sakladığı ve taşıdığı da gösterilmiştir. Özellikle hipoksik durumlarda ATP'ı bırakarak sistemik NO biyoyararlanım düzenlemesine katkıda bulunurlar (166).

Eritrositlerin NO metabolitleri ve ATP da dahil olmak üzere biyoaktif moleküller salgılaması fonksiyonlarının önemli özelliklerindedir. Fare deneylerinde, genetik olarak eritrosit bağımlı eNOS, içermeyen farelerde nitrik ve nitrat seviyeleri az bulunmuş ve kontrollerine kıyasla daha yüksek kan basıncı görülmüştür. Bu deneyler ile dolaşımda en fazla bulunan kan hücreleri eritrositlerin vasküler tonus ve kan basıncı kontrolünde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (167-169).

Normal gebelikte artan periferik vazodilatasyon önemli fizyolojik bir hemodinamik adaptasyondur. Preeklampside ise en karakteristik değişik jeneralize periferik vazokonstriksiyondür. Bunun esas sebeplerinden biri de endotelden salınan maternal kan NO düzeyinin düşük olmasıdır. Hafif veya şiddetli preeklampside maternal kan NO düzeyinin sağlıklı gebelerdeki maternal kan NO düzeyine kıyasla azaldığı düşünülmektedir. Eritrositler de tıpkı endotel hücreleri gibi fonksiyonel olarak aktif eNOS enzimi taşımaktadır. Bundan dolayı preeklampside endotel hücrelerinde olduğu gibi eritrositlerden de salınan NO düzeyinin azaldığı düşünülmektedir.

Endotel tüm vücutta olduğu için ve preeklampside endotel disfonksiyonu mevcut olduğu için maternal semptomlar sistemattir. Vazokonstriksiyon hipertansiyona, kapiller permalite artışı üçüncü boşluğa sıvı geçişine ve ödeme, koagülasyon bozukluğu da yaygın damar içi pıhtılaşmaya (DIC) neden olur (170).

Sağlıklı bir gebelikte immün sistemde tip2 T-helper (Th) lenfositleri aktivitesi tip 1'e göre fazladır. Bu tip 2'ye eğilim olarak tanımlanmaktadır (171). Th2 hücreleri hümmoral immün sistemi düzenlerken, Th1 hücreleri ise inflamatuvar sitokin sekresyonunu uyarır. Preeklampsi gelişen gebelerde ise Th1 etkisi artar ve Th1/Th2 oranı değişir. Artmış immün yanıt inflamatuvar sürece katkıda bulunur (171).

Preeklampside görülen yetersiz uteroplesantal gelişim, hipoksiye neden olur bu da plasentadan maternal endotel disfonksiyona katkı yapan anjiojenik ve antianjiojenik maddelerin salınımına zemin oluşturur (169,172). Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), plasentada bulunan bir glikoproteindir. "Plasental büyüme faktörü" (PlGF) ve "Vasküler endotelyal büyüme faktörü" (VEGF), VEGF ailesinin birer üyeleridir.

Bu glikoproteinler vaskülogenez ve vasküler permeabilitede rol oynar. sFlt-1, VEGFR-1'in transmembran ve sitoplazmik etki alanı eksikliğinde sekrete edilen çözünebilir formda bir reseptördür ve VEGFR-1 benzeri bir yapıdadır (172). sFlt-1 serbest PIGF ve VEGF'ü etkisiz hale getirerek endotel disfonksiyonuna yol açar. sFlt-1 düzeyleri gebede preeklampsi tablosu ortaya çıkmadan maternal serumda seviyesinin artmaya başladığı görülmüştür (171).

“Soluble endoglin” (sEng) plasenta kaynaklıdır. Endotel reseptörlerine bağlanarak endotelde nitrik oksite bağlı vazodilatasyonun azalmasına neden olur. sEng de aynı sFlt-1 gibi preeklampsi tablosu ortaya çıkmadan aylar önce serum düzeyleri artmaya başlar. Haggerty ve ark.; sFlt-1 ve sEng salınımının iki katına çıkmasının, preeklampsi riskini sırasıyla, %39 ve %74 arttırdığını bildirmiştir (173).

Bugünkü bilgilerle sonuca bakıldığında endotel hücre aktivasyonu preeklampsi patogenezinde temel noktadır. Hayman ve ark. , Ness ve Roberts, Walker, çalışmalarında endotel hücre fonksiyonlarındaki değişiklikler sonucu preeklampsi klinik bulgularının ortaya çıktığını göstermişlerdir (140).

2.5.3. Preeklampside klinik durum

Preeklampsi hafif ve şiddetli olarak ikiye ayrılır. Tablo 2'de şiddetli preeklampsi belirtileri özetlenmiştir. 2013 yılında “*American College of Obstetricians and Gynecologists* ” ağır preeklampsi kriterlerinden masif proteinüri (5 gr/ 24 saat) ve fetal büyüme kısıtlılığını kaldırdı (Tablo 2) (145).

Tablo 2: Şiddetli Preeklampsi belirteçleri (bulgulardan herhangi biri) (145)

Arteriyal kan basıncı değerinin en az 2 defa 4 saat ara ile 160/110 mmHg üzerinde ölçülmesi
Yeni oluşan serebral ya da görme bozukluğu
Pulmoner ödem ya da siyanoz
Artmış karaciğer enzim yüksekliği, tedaviye cevap vermeyen epigastrik ya da sağ üst kadranda ağrısı
Progresif renal yetmezlik (serum kreatinin konsantrasyonu >1,1 mg/dL ya da herhangi bir böbrek hastalığı olmadan serum kreatinin konsantrasyonunun ikiye katlanması)
Trombositopeni ya da hemoliz

Bu bulguların dışında kalan hastalar Hafif Preeklampsi olarak sınıflanır.

Normal gebelikte böbrek kan akımı ve glomerüler filtrasyon artar. Preeklampside ise renal damar tutulumu sebebiyle kan miktarı ve glomerüler filtrasyon azalır. Glomerüler filtrasyon azalmasıyla plazma kreatinin miktarı artar. Plazma ürik asit miktarı da sağlıklı gebeye göre yüksektir (145,174). Tübüler geçirgenlik sonucu protein, albümin, globülin, transferrin ve hemoglobin kaçağı olur (175).

Karaciğer enzimlerinde artma ve epigastrik ağrı; hepatoselüler iskemi, hipoksi ve ödeme bağlıdır. İskemi sonucu infarkt bunun sonucu da subkapsüler kanama alanları oluşabilir. İleri düzeyde ise sık olmasa da karaciğer rüptürü görülebilir. Trombositopeni ise endotel aktivasyonu sonrası vazospazma bağlı trombosit aktivasyonu ve agregasyonu sonucu mikroanjyopatik hemolize bağlı gelişir (176).

2.5.4. Preeklampside Maternal ve Fetal Komplikasyonlar

2.5.4.1. Fetal Komplikasyonlar: Perinatal Ölüm, fetal gelişme geriliği, prematüre doğum, oligohidroamniyos, fetal asfiksi (142).

2.5.4.2. Maternal Komplikasyonlar: Konvülsiyonlar, akut böbrek yetmezliği, kalp yetmezliği, intrakraniyal kanama, körlük, pulmoner ödem, karaciğer subkapsüler kanaması ve rüptürü, trombositopeni, disemine intravasküler koagülasyon (DIC) ve HELLP Sendromu (142).

HELLP Sendromu:

İlk defa Weinstein 1985'te tanımlamıştır. Ciddi hemoliz ve trombositopeniye ek olarak, serum karaciğer enzimlerinin artış vardır. Şiddetli preeklamptik hastalarda hepatoselüler nekrozu göstermesi açısından kıymetlidir.

HELLP sendromu; Hemoliz-H ("hemolysis"), karaciğer enzim yüksekliği-EL ("elevated liver enzym"), düşük trombosit sayısı-LP ("low platelets") ile karakterize bir durumdur. HELLP sendromu maternal mortalite morbitenin yüksek olduğu ve hızlıca kötüleşen bir tablodur. Kliniğinde çeşitlilik olup %12-18'i normotansif ve %13'ünde de proteinüri yoktur (177). Tanı konulduğunda hastaların %52'si preterm, %18'i term ve %30'u postpartumdur. (178).

2.5.5. Preeklampside yönetim

Gebeliğe bağlı hipertansiyonun kesin tedavisi doğumdur. Verilen tedaviler semptomatiktir ve altta yatan hastalığa neden olan patolojiyi düzeltmez. Olayda anne ve fetüs olmak üzere iki hasta vardır. Şiddetli preeklamptik gebelerde fetüs düşülmeden gebelik sonlandırılır. Hafif preeklamptik gebelerde ise fetüsün doğum zamanlaması düşünülerek en doğru zaman beklenir. Gebeliğin oluşturduğu hipertansiyon vücudun tüm sistemini etkiler. Şiddetli preeklamptik gebelerde anne

hayatı tehlikelidir ve bu tablo acil obstetrik bir durumdur. Doğum sonrası annenin hemodinamik durumu önemle takip edilmelidir (177).

2.5.5.1. Şiddetli preeklampsi ve HELLP sendromunda tedavi ve yönetim (145)

“*American College of Obstetricians and Gynecologists*” göre şiddetli preeklampsi ve HELLP Sendromunda yönetim (142).

- Şiddetli preeklampitik semptomları olmayan gebelerde ya da gestasyonel hipertansiyonu olan gebelerin takibinde, haftada 2 kez kan basıncı ölçümleri, annenin günlük fetal hareket takibi ve maternal semptomlar, haftalık trombosit ve karaciğer enzim miktarının ölçümü önerilmektedir.
- Gestasyonel hipertansiyonlu ya da hafif preeklampitik gebelere sıkı yatak istirahati önerilmez.
- Gelişme geriliği mevcut olan preeklampsili gebelerin fetuslarında, içerisinde umbilikal arter dopplerini de içeren yardımcı yöntemlerle değerlendirme yapılmalıdır.
- Hafif preeklampsili ya da gestasyonel hipertansiyonlu gebeler eğer doğum endikasyonu yoksa 37. gebelik haftasına kadar takip edilebilir.
- Hafif preeklampsili ya da hafif gestasyonel hipertansiyonu olan gebeler eğer 37. gebelik haftasından büyük iseler doğum kararı verilebilir.
- Tansiyonları 160/110 mmHg'nın altında olan ya da şiddetli preeklampsi semptomları gözlenmeyen preeklampitik gebelerde eklampsiyi önlemek amacıyla magnezyum sülfat önerilmemektedir.
- Fetal ve maternal bulguları güven vermeyen, 34. gebelik haftasını doldurmuş veya daha büyük şiddetli preeklampitik gebeler gebelik haftasına bakılmaksızın maternal şartlar uygun hale getirildikten sonra doğum önerilir.
- 34. Gebelik haftasından küçük şiddetli preeklampsilerde anne ve bebek durumu güven verici ise anne ve bebek yoğun bakım şartlarının uygun olduğu durumlarda gebeliğin devamı önerilir.
- 34 ya da daha küçük haftada eğer gebeliğin devamı planlanıyorsa şiddetli preeklampitik gebelere, fetal akciğer gelişimi amacıyla kortikosteroid yapılması önerilir.

- Gebeliği boyunca tansiyonları 160/110 mmHg veya daha yüksek olan gebelere antihipertansif tedavi önerilmektedir.
- Şiddetli preeklampsili gebede doğum kararı proteinüri miktarına ve değişkenliğine göre verilmez.
- Yaşama sınırının altındaki gebelik haftasına sahip olan şiddetli preeklampsilerde maternal şartlar uygun hale geldikten sonra doğum önerilir.
- 48 saat ertelenebilecek, 34 ve daha küçük gebelik haftasına sahip şiddetli preeklampitik gebelere kortikosteroid önerilir.
- 34 hafta ve altındaki gebelere fetüs akciğer matürasyonu amacıyla kortikosteroid önerilir fakat aşağıdaki durumlarda acil doğum gereklidir.

1. Kontrol edilemeyen şiddetli hipertansiyon
2. Eklampsi
3. Pulmoner ödem
4. Ablasyo plasenta
5. DIC
6. Fetal iyilik halinin güven vermemesi
7. İntrapartum fetal ölüm

- Şiddetli preeklampside doğum şeklinin sezaryen olması şart değildir. Maternal durum, servikal durum, gestasyonel yaş ve fetal prezentasyona göre karar verilmelidir.
- Eklampsili kadınlarda parenteral magnesium sulfat verilmesi önerilmektedir.
- Şiddetli preeklampsili kadınlarda eklampsiyi önlemek için intrapartum ve postpartum magnezyum sülfat verilmesi önerilmektedir.
- Sezaryen doğuma alınan preeklampsilerde, operasyon esnasında eklampsiyi önlemek amacıyla magnezyum sülfata devam edilmelidir.
- HELLP sendromunda gestasyonel yaş 34 hafta altı ya da üstünde uygun şartlar sağlanıp beklenmeden hasta doğuma alınmalıdır.

2.5.5.2. Magnezyum Sülfat:

Magnezyum sülfat nöromusküler geçişi azaltır ve büyük ölçüde tansiyonu etkilemeden merkezi sinir sistemi irritasyonunu deplase eder. Magnezyum sülfat şiddetli preeklampitik gebelerin eklampsiye girmesini önlemek için verilir (180,181). Magnezyum sülfat tedavisi gestasyonel hipertansif ve hafif preeklampside tartışmalıdır ve yapılan çalışmalarda maternal morbitite ve fetal mortalite açısından fark bulunamamıştır (180). Magnezyum sülfat alan kadınlarda sıklıkla sıcak basması görülür ve magnezyum sülfat sezaryen ile doğum oranını %5 artırır (182). Magnezyum sülfat düzeyi; yükselen serum kreatinin düzeyi, saatlik idrar çıkışı ve derin tendon refleksi ile takip edilir. Magnezyum sülfat toksisitesi; derin tendon refleksi kaybı, solunum paralizisi ve kardiyak areste neden olur. Antidotu kalsiyum glukonattır ve %10 solüsyon 10 ml, 3 dakika boyunca İV verilir.

Magnezyum sülfatın tedavi dozu 4,8-8,4 mg/dl'dir. Derin tendon refleksi kaybı magnezyum sülfat düzeyi 9 mg/dl üzerinde gerçekleşir. Solunum paralizisi 12mg/dl ve kardiyak arrest 30mg/dl ve üzerinde gerçekleşir (180).

Şiddetli preeklampsilerde konvülziyon profilaksisi yapılırken 20-30 dakika boyunca 4-6 gr magnezyum sülfat intravenöz ve yükleme dozu, takiben saatte ortalama 1-2 gr gidecek tarzda serum içinde perfüzyon yapılmalıdır.

2.5.5.3. Antihipertansif Tedavi:

Maternal komplikasyonlarına neden olan faktörlerin başında şiddetli hipertansiyon gelmektedir. Antihipertansif tedavi komplikasyonları önlemek amacıyla başlanır (183). Antihipertansif tedavide amaç hastanın tansiyonunu 160/110 mm Hg'nin altında tutmaktır. Antihipertansif tedavi kalp yetmezliği, kardiyak istemi ve iskemik hemorajik inmeyi önler. Hasta tansiyonlarında ani yükselme (diyastolik >120 mm Hg) intraserebral kanama, akut renal yetmezliği, hipertansif ensefalopati, konjestif kalp yetmezliği, ventriküler aritmi ve plasenta dekolmanına neden olabilir (183).

2.5.5.4.Sıvı Tedavisi:

Fazla sıvı yüklemesi antihipertansif hastalarda kardiyovasküler yüklenme asit ve pulmoner ödeme neden olur. Az sıvı replasmanı ise intravasküler volümü kısıtlar endorgan hasarına götürür. İdrar çıkışı ise saatte 30 ml'den fazla olmalıdır (184).

2.5.5.5. Postpartum Yönetim

Preeklampsili gebelerin çoğunda doğum sonrası tansiyonlarında düzelme görülür. Eklampsi için doğum sonrası ilk 48 saat önemlidir. Magnezyum sülfat doğum sonrası 24 saat devam edilmesi önerilmektedir (185). Postpartum dönemde NSAID'ların preeklampsi hastalarında da güvenli olduğu bulunmuştur (185,186).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu prospektif çalışma, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği tarafından tıpta uzmanlık tezi olarak belirlenmiştir. Araştırma öncesi, kurum bünyesindeki tıpta uzmanlık eğitim kurulu ve etik kuruldan gerekli izinler alınmıştır (Tarih: 08.10.2018, Karar No:069).

Araştırmada, Kasım 2018- Kasım 2019 tarihleri arasından Sağlık Bakanlığı Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine başvuran preeklampitik gebelerin ve sağlıklı gebelerin kayıtları çalışma verisi olarak kaydedilmiştir. Sağlıklı komplikasyonsuz gebeler kontrol grubu olacak şekilde hastalar sağlıklı gebeler ve preeklampitik gebeler olarak iki gruba ayrılmıştır.

Preeklampsi olarak tanımlanan grupta; hipertansiyon (sistolik 140mmHg ve/veya diyastolik 90 mmHg üzerinde) ile birlikte idrarda proteinüri (>300mg/gün) olan hastalar kabul edilmiştir. Şiddetli preeklampsi ise hipertansiyon (sistolik 160mmHg ve/veya diyastolik 110 mmHg üzeri) ile birlikte son organ hasarı varlığı; renal fonksiyon bozukluğu, kreatinin 1,1 mg/dl ve üzeri olması, merkezi sinir sistemi bulguları, pulmoner ödem, karaciğer disfonksiyonu, epigastrik ağrı, trombositopeni, HELLP) olan hastalar kabul edilmiştir. Çoğul gebelikler, İntrauterin ex fetus olan gebeler, Antikoagülan kullanan gebeler, sigara kullanan gebeler, dolaşım problemine yol açan kronik hastalığı olan gebeler ve kronik hipertansif gebeler çalışmaya dahil edilmemişlerdir.

Araştırmaya katılan gönüllü hastalardan aydınlanmış onam formu okutulup imzalatılarak izin alınmıştır. Araştırmaya katılan iki gruptan birer tüp venöz kan örneği alınıp Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı laboratuvarlarında kitlerle çalışılmıştır. Kan örnekleri alındıktan sonra 2 saat içerisinde çalışılmıştır.

3.1. Kan Örneklerinin Toplanması ve Eritrosit Süspansiyonlarının Hazırlanması

Çalışmada, kan örnekleri antikoagülan olarak “ethylenediaminetetraacetic acid” (EDTA; 1,5 mg/ml) içeren vakumlu tüplere dirsek önü venlerinden alınmıştır. İşlem sırasında turnike sadece venin yerini tespit için kullanılmış, kanın enjektöre doldurulmasından önce mutlaka gevşetilmiştir. Belirlenen iki gruptan alınmış venöz kan örnekleri kullanılmıştır. Örnekler kan alımını takiben hemen değerlendirilmiş ve her örnek üzerindeki çalışmalar kan alımını izleyen iki saat içinde tamamlanmıştır.

Kan örneklerindeki lökositler “polysucrose” (6.0 g/dl) ve “sodium diatrizoate” (16.7 g/dl) içeren dansite gradiyenti (Histopaque 1119; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, ABD) kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Buna göre, 20 ml kan örneği, 50 ml plastik tüp içine konulmuş olan 20 ml dansite gradiyenti üzerine tabakalandırılmış, 700 ppm’de 30 dakika santrifüj edildikten sonra dipteki eritrosit kitlesinin üzerinde kalan bölüm aspire edilip atılmıştır. Aspirasyonun ardından dipte çökmüş halde bulunan eritrosit paketi 3 defa Krebs solüsyonunda (NaCl 119 mM, KCl 4.7 mM, NaHCO₃ 24, KH₂PO₄ 1.18 mM, MgSO₄ 7H₂O 1.17 mM, CaCl₂ 2.5 mM ve glukoz 11.2 mM) yıkanmış ve yine aynı solüsyon içinde resuspanse edilerek hematokriti %0,1’e ayarlanmıştır. Bu şekilde hazırlanmış alan eritrosit süspansiyonları aşağıda bahsedilen çalışmanın Aşama I ve Aşama II kısımlarını oluşturan aşamalarında kullanılmıştır. Örneklerden yapılan yayma preparatları boyanarak (Giemsa; Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, ABD) ışık mikroskobu altında incelenmiş ve lökosit bulunmadığı teyit edilmiştir. Her bir süspansiyondan iki ml başlangıç parametrelerini saptamak için ayrılmıştır.

3.1.1.: Bazal koşullarda eritrosit eNOS enzim aktivitesinin belirlenmesi

3.1.1.1. Hücrede NO oluşumunun gösterilmesi

Eritrositler NO’ye spesifik bir floresan boya olan “4-amino-5-methylamino-2',7'-difluorofluorescein diacetate” (DAF FM-DA invitrogen, USA) ile yüklenmiş ve NO oluşumu akış sitometrik yöntemle ölçülmüştür. Hücrelerin DAF-FM DA ile yüklenmesi için 20 µM DAF-FM DA eritrosit süspansiyonuna eklenmiş ve 30 dakika

boyunca oda ısısında inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından eritrosit süspansiyonları 2500 rpm’te 5 dakika santrifüj edilerek hücreye girmeyen boya uzaklaşmış ve Krebs solüsyonu ile 2 kez yıkandıktan sonra tekrar aynı solüsyon içinde resuspanse edilmiştir. 30 dakika boyanın hücre içinde esterifikasyonu için beklendikten sonra DAF-FM DA ile yüklenmiş eritrosit süspansiyonlarında hücre içi NO düzeyleri ölçülmüştür.

3.1.1.2. Eritrosit eNOS enzim Aktivitesinin Gösterilmesi

3.1.1.2.1. eNOS’un Serin 1177 Fosforilasyonu:

Eritrositlerde NOS enzim aktivitesinin bir göstergesi olan enzimin serin 1177 bölgesinden fosforilasyon düzeyi akış sitometrik yöntemle incelenmiştir. eNOS enziminin serin 1177 bölgesinden fosforilasyonunda PI3K’ın rolünü tespit etmek amacıyla PI3 kinaz inhibitörü “wortmannin” (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA, 10 µM) ile 30 dakika boyunca 37°C ‘de inkübe edilmiş eritrositlerde NOS fosforilasyonu incelenmiştir. Eritrosit süspansiyonundan 10 µl alınarak %0.05 dilüsyonda soğuk glutaraldehit içinde 10 dakika boyunca inkübe edilerek fiksasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. İnkübasyonun ardından eritrosit süspansiyonlarının bulunduğu tüpün içine 5 ml PBS eklenerek 200 ppm’de 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda süpernatant atılmış ve geriye kalan eritrosit paketine %0,1’lik Triton X-100’dan 0.5 ml eklenerek 10 dakika boyunca oda ısısında inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından eritrosit süspansiyonları tekrar 200 ppm’de 5 dakika santrifüj edilmiş ve eritrosit paketi 0.5 ml PBS ile resuspanse edilmiştir. Daha sonra eritrositlerin primer antikor ile işaretlenme basamağına geçilmiştir. Bu amaçla her bir örneğin içine serin-1177 bölgesinden fosforlanmış eNOS proteinine karşı geliştirilmiş ve tavşandan izole edilmiş primer antikor (Cell Signaling, Boston, USA) eklenmiş ve eritrositler ile 20 dakika oda ısısında inkübasyonu sağlanmıştır. İnkübasyon periyodunun ardından örnekler 2 ml PBS eklenmiş ve 200 ppm’de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Son olarak sekonder antikor ile işaretleme basamağı gerçekleştirilmiştir. Bunun için her bir örnek oda ısısında FITC-konjuge sekonder antikor (Invitrogen, Carlsbad CA, USA) ile 20 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından örnekler yıkanmış ve akış sitometri analizine geçilmiştir.

Hücre içi Kalsiyum Ölçümü:

Eritrosit süspansiyonlarına spesifik floresan kalsiyum boyası olan Fluo-4 AM (invitrogen, USA 5 μ M) eklenecek ve 30 dakika boyunca oda ısısında inkübe edilerek eritrositlerin boya ile yüklenmesi sağlanmıştır. İnkübasyonun ardından eritrosit süspansiyonları 2500 rpmde 5 dakika santrifüj edilerek hücreye girmeyen boya uzaklaştırılmış ve Krebs solüsyonu ile 2 kez yıkandıktan sonra tekrar aynı solüsyonda resuspanse edilmiştir. Daha sonra fluo-4 ile yüklenmiş eritrositlerde hücre içi kalsiyum düzeyleri akış sitometrik metodla ölçülmüştür (187).

Apoptosis (Eriptosise) Yatkın Eritrositlerin Belirlenmesi (Hücre Zarında Fosfotidilserin Tespiti):

Hemolize yatkın eritrositleri belirlemek amacıyla hücre membranında fosfotidilserin bulunan eritrositler akış sitometri yöntemiyle tayin edilmiştir. Bu amaçla eritrosit süspansiyonundan 10 mikrolitre alınarak %0.05 dilüsyonda soğuk glutaraldehit içinde 10 dakika boyunca inkübe edilerek fiksasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. İnkübasyonun ardından eritrosit süspansiyonlarının bulunduğu tüpün içine 5 ml PBS eklenerek 200 ppm'de 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda süpernatant atılarak 0.5 ml PBS ile resuspanse edilmiştir. Daha sonra eritrositler, eritrosit belirteci olan primer antikor ve fosfotidilserin belirteci olan Annexin V primer antikor ile işaretlenme basamağına geçilmiştir. Primer antikor inkübasyonu sonrası örnekler 2 ml PBS eklenerek ve 200 ppm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra sekonder antikor ile işaretleme basamağı gerçekleştirilmiştir. Bunun için her bir örnek oda ısısında PE-konjuge sekonder antikor ile 30 dakika boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından örnekler yıkanmış ve akış sitometri analizine geçilmiştir.

Hücre içi Reaktif Oksijen Radikali Ölçümü:

Eritrosit süspansiyonlarına spesifik total ROS belirteci olan Oxidative Stress Detection Reagent (Green, Ex/Em 490/525 nm) ve süperoksit radikal belirteci olan Superoxide Detection Reagent (Orange, Ex/Em 550/620 nm) (abcam, USA 2,5 μ M)

eklenerek ve 30 dakika boyunca oda ısısında inkübe edilerek eritrositlerin boya ile yüklenmesi sağlanmıştır. İnkübasyonun ardından eritrosit içinde total ROS ve süperoksit radikali akış sitometri analizi ile ölçülmüştür.



4.İSTATİSTİKSEL ANALİZ:

Verilerin analizinde Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) 25 ve GraphPad Prism 8 programları kullanılmıştır. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ve Shapiro-Wilk testi ile incelenmiş olup; normal dağılıma sahip değişkenlerin analizinde parametrik yöntemler, normal dağılıma sahip olmayan değişkenlerin analizinde non-parametrik yöntemler kullanılmıştır. Bağımsız iki grubun karşılaştırılmasında Independent-Samples T test ve Mann-Whitney U test kullanılmıştır. Kategorik verilerin karşılaştırılması ise Pearson Chi-Square ve Fisher exact testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım gösteren veriler ortalama \pm standart sapma olarak gösterilirken normal dağılmayan veriler ortanca (minimum-maksimum) şeklinde ifade edilmiştir. Kategorik veriler ise n (sayı) ve yüzdelerle (%) ifade edilmiştir. Veriler %95 güven aralığında incelenmiş olup, $p < 0.05$ istatistiksel anlamlı kabul edilmiştir.

5.BULGULAR

Araştırma, Kasım 2018- Kasım 2019 tarihleri arasından Sağlık Bakanlığı Üniversitesi Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine başvuran sağlıklı ve preeklampitik hastaların kayıtları çalışma verisi olarak kayıt edildi. Toplam değerlendirmeye alınan hasta sayısı 94'tü. Preeklampsi grubunda 58 hasta, kontrol grubunda 36 hasta vardı. Preeklampsi grubu yaş ortalaması $28,19\pm 4,14$, kontrol grubu yaş ortalaması $26,97\pm 5,30$ 'du ($p=0.096$). Preeklampsi grubunda ortalama boy $1,62\pm 0,056$ m, kontrol grubunda ise $1,64\pm 0,064$ m olarak bulundu ($p=0.172$). Preeklampsi grubunda ortalama kilo $81,28\pm 7,62$ kg, kontrol grubunda ise $81,03\pm 7,20$ kg olarak bulundu ($p=0.761$).

Hastaların BMI'leri karşılaştırıldığında BMI, Preeklampsi grubunda ortalama değeri $30,80\pm 2,08$ kg/m², kontrol grubunda $30,11\pm 2,1$ kg/m² olarak bulundu ($p=0.15$). Preeklampsi grubunda ortanca gravide sayısı 2 (1-6), kontrol grubunda ise 2 (1-6) olarak bulundu ($p=0.169$). Ortalama gebelik haftası Preeklampsi grubunda $34,48\pm 3,78$, kontrol grubunda $36,58\pm 3,44$ bulundu ($p=0.004$). Preeklampsi grubunda ortalama sistolik tansiyon değeri $158,86\pm 16,93$ mmHg, kontrol grubunda $115,06\pm 8,98$ mmHg bulundu ($p=0.001$). Preeklampsi grubunda ortalama diyastolik tansiyon değeri $105,22\pm 12,35$ mmHg, kontrol grubunda $70,75\pm 10,55$ mmHg bulundu ($p=0.001$). Preeklampsi grubunda ortalama Bun (kan üre azotu) değeri $10,40\pm 3,519$, kontrol grubunda ise $7,56\pm 2,41$ bulundu ($p=0.001$). Preeklampsi grubunda ortalama kreatin değeri $0,7\pm 0,132$, kontrol grubunda ise $0,618\pm 0,086$ bulundu ($p=0.001$). Preeklampsi grubunda ortalama AST değeri $36,93\pm 50,47$, kontrol grubunda ise $17,44\pm 6,412$ bulundu ($p=0.021$). Preeklampsi grubunda ortalama ALT değeri $30,02\pm 43,31$, kontrol grubunda ise $11,25\pm 5,828$ bulundu ($p=0.012$). Preeklampsi grubunda ortalama trombosit değeri $207,40\pm 78,65$, kontrol grubunda ise $230,94\pm 81,31$ bulundu ($p=0.143$). Preeklampsi grubunda idrarda $2,03\pm 1,02$ pozitif proteinüri mevcut iken kontrol grubunda ise $0,17\pm 0,44$ pozitif proteinüri bulundu ($p=0.001$). Preeklampsi grubunda 24 saatlik idrarda ortamala proteinüri değeri $2613,04\pm 3711,85$ mg'dı.

Preeklampsi grubunda hastaların ortalama hemoglobin değeri 11,29±1,50 gr/dl, kontrol grubunda ise 11,24±1,52 gr/dl bulundu (p=0.988). Preeklampsi grubunda hastaların ortalama hemotokrit değeri 33,16±3,75, kontrol grubunda ise 33,11±3,95 bulundu (p=0.950). Preeklampsi grubunda hastaların ortalama eritrosit hacim değeri 82,74±6,67, kontrol grubunda ise 81,41±6,14 bulundu (p=0.337).

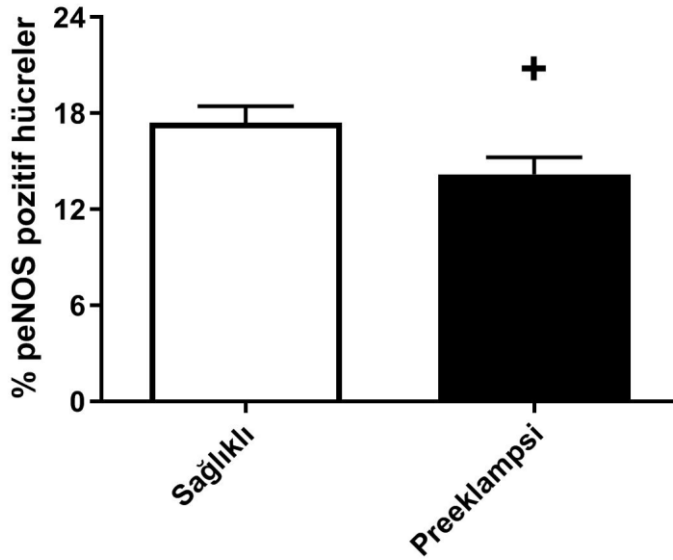
Önceden geçirilmiş operasyonu olan hasta sayısı Preeklampsi grubunda 20 (%34,5) olup kontrol grubunda ise 7 (%19,4)'dü. Preeklampsi grubunda antihipertansif ilaç kullanan hasta sayısı 10 (%17,2), kullanmayan hasta sayısı 48 (%82,8)'di. Sezaryena alınan hasta sayısı Preeklampsi grubunda 53 (%91,4), kontrol grubunda ise 21 (%58,3)'tü. Vajinal doğum yapan hasta sayısı Preeklampsi grubunda 5 (%8,6), kontrol grubunda ise 15 (%41,7)'ydi. Preeklampsi grubunda Magnezyum Sülfat profilaksisi alan hasta sayısı 26 (%55,2), almayan hasta sayısı 32 (%44,8)'ydi.

Tablo3: Preeklampsi ve Sağlıklı gebelerin klinik özelliklerinin karşılaştırılması

	Preeklampsi (n=58)	Kontrol (n=36)	p
Yaş (yıl)	28,19±4,14	26,97±5,30	0.096
Boy (m)	162±0,056	164±0,064	0.172
Kilo (kg)	81,28±7,62	81,03±7,20	0.761
BMI (kg/m ²)	30,80±2,08	30,11±2,1	0.150
Gravide	2 (1-6)	2 (1-6)	0.169
Parite	1 (0-5)	1 (0-5)	0.100
Abort	0 (0-2)	0 (0-2)	0.788
Küretaj	0 (0-1)	0 (0-0)	0.431
Gebelik Haftası	34,48±3,78	36,58±3,44	0.004
Tansiyon sistol (mmHg)	158,86±16,93	115,06±8,98	0.001
Tansiyon diyastol (mmHg)	105,22±12,35	70,75±10,55	0.001
Bun (mg/dl)	10,40±3,519	7,56±2,41	0.001
Kreatin (mg/dl)	0,7±0,132	0,618±0,086	0.001
AST (U/L)	36,93±50,47	17,44±6,412	0.021
ALT (U/L)	30,02±43,31	11,25±5,828	0.012

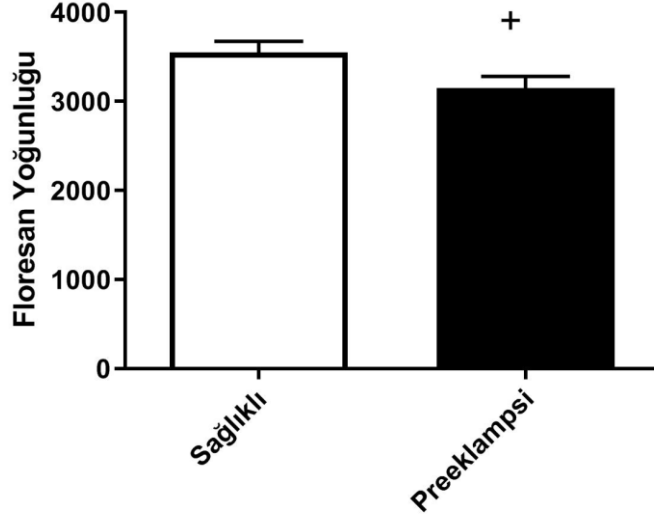
Platelet		207,40±78,65	230,94±81,31	0.143
İdrarda protein		2,03±1,02	0,17±0,44	0.001
24 saatlik idrar (mg/24h)		2613,04±3711,85	-	-
Hemoglobin (g/dl)		11,29±1,50	11,24±1,52	0.988
Hematokrit		33,16±3,75	33,11±3,95	0.950
Ortalama Eritrosit Hacmi		82,74±6,67	81,41±6,14	0.337
Geçirilmiş	Var	20 (%34,5)	7 (%19,4)	0.117
Operasyon	Yok	38 (%65,5)	29 (%80,6)	
Antihipertansif	Var	10 (%17,2)	-	-
Kullanımı	Yok	48 (%82,8)	-	
Doğum Şekli	svd	5 (%8,6)	15 (%41,7)	0.001
	c/s	53 (%91,4)	21 (%58,3)	
Magnezyum	Var	26 (%55,2)	-	-
Alımı	Yok	32 (%44,8)	-	

Preeklampsi grubunda ortalama peNOS değeri 14,19, kontrol grubunda ise 17,40'dı (p=0.0439). Bu iki sonuç arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (Şekil 6)



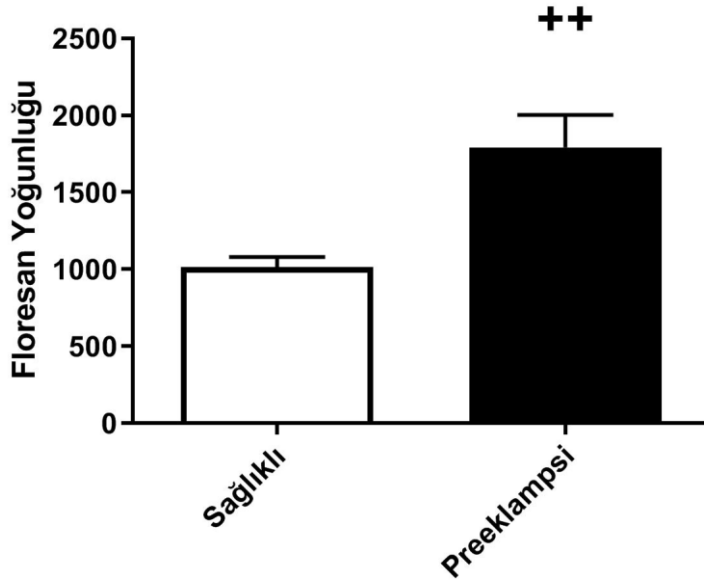
Şekil 6: Preeklampsi ve sağlıklı gebelerin peNOS değerlerinin karşılaştırılması

Preeklampsi grubunda ortalama int NO değeri 3150, kontrol grubunda ise 3547'yd i ($p=0.0392$). Bu iki sonuç arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (Şekil 7)



Şekil 7: Preeklamptik ve sağlıklı gebelerin int NO değerlerinin karşılaştırılması

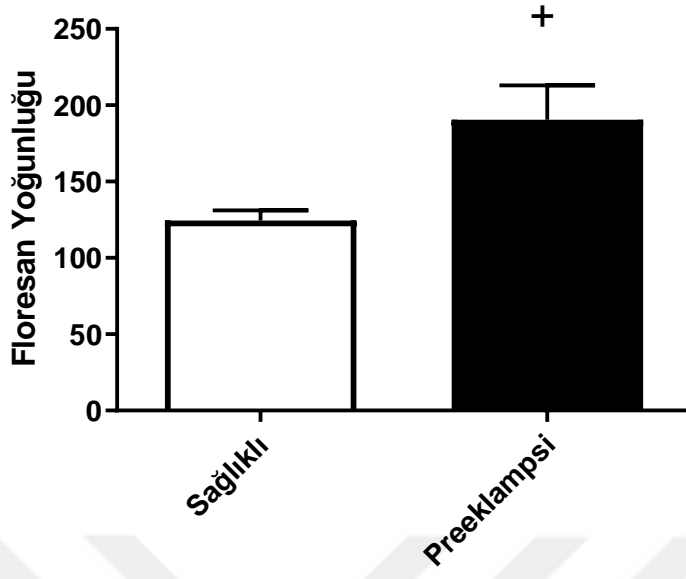
Ortalama İnt Ca değeri preeklampsi grubunda 1793, kontrol grubunda ise 1014'dü ($p=0.0074$). Bu iki sonuç arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (Şekil 8)



Şekil 8: Preeklampitik ve sağlıklı gebelerin int Ca değerlerinin karşılaştırılması

Preeklampsi grubunda ortalama Elmax değeri 0,6913 iken kontrol grubunda ise 0,6950'ydı ($p=0.9417$).

Ortama Apoptozis oranı preeklampsi grubunda 190,6 iken kontrol grubunda 124,5'di ($p=0.0311$). Bu iki sonuç arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (Şekil 9)



Şekil 9: Preeklampitik ve sağlıklı gebelerin Apoptozis oranlarının karşılaştırılması

Tablo 4: Preeklampitik ve sağlıklı gebelerin laboratuvar sonuçlarının karşılaştırılması

	Preeklampsi (n=58)	Kontrol (n=36)	p
peNOS	14,19±4,19	17,40±3,62	0.043
İnt NO	315±874,7	3547±791,14	0.039
İnt Ca	1793±866,64	1014±761	0.007
Elmax	0,7040±0,07	0,7±0,07	0.918
Aİ	73,66±3,47	67,47±7,09	0.020
Apoptoz	190,6±18,86	124,5±78,73	0.031
İnt ROS	3058±135,9	2437±172,7	0.018

peNOS= Fosforile eritrosit nitrik oksit

intNO= İntrasellüler nitrik oksit

intCa= İntrasellüler kalsiyum

Elmax= Maximum elengasyon indexi

Aİ= Agregasyon indeksi

İnt ROS=Hücre içi reaktif oksijen radikali

6.TARTIŞMA

Bilindiği gibi preeklampsi ve eklampsi maternal fetal mortalite ve morbilite artışında önemli bir etken olmuştur. Bugüne kadar yapılan pek çok çalışma hastalığın nedenini net olarak ortaya koyamamıştır. Ancak ortaya konan yeni bulgular patofizyolojiyi anlamamıza yardım etmektedir. Bugün endotel hücrelerinin fonksiyon bozukluğunun hastalığın oluş mekanizmasında büyük rol oynadığı bilinmektedir (139). Endotel hücrelerinden salınan vazokonstriktör ve vazodilatör maddeler arasındaki dengenin bozulması bu nedenler arasındadır. Ancak hastalığın sebebini ya da bu dengenin bozulma nedeni tam olarak ortaya konulamadığından çalışmalar diğer vazoaktif mediatörler üzerinde de sürdürülmektedir (3).

Preeklampsi, patogenezinde birçok faktör suçlanmaktadır. Bunlar arasında en önemlisinin endotel hücrelerinin disfonksiyonu olduğu yönünde büyük oranda fikir birliği vardır. Endotel hücreleri, vasküler bütünlüğü koruyan temel hücrelerdir. Endotel hücrelerinden salgılanan NO, endotel aracılı hiperpolarize edici (EDHF), prostasiklin gibi vazoaktif maddeler ile endotelin gibi vazokonstriktör maddeler arasındaki denge fizyolojik koşullarda vasküler tonüsün önemli belirleyicileridir. Öte yandan sağlıklı koşullarda endotel hücreleri anti-koagülan ve anti-inflamatuar faktörler salgılayarak tromboz ve inflamasyon gelişimini baskılar. Endotel hasarı ise endotelden salgılanan vazo-relaksan, anti-koagülan ve anti inflamatuvar faktörlerin azalması anlamına gelir. Bu faktörler arasında NO biyoyararlanımının azalması preeklampsi patogenezinde temel rol oynayabileceği düşünülmektedir (188-190). Başlıca endotel hücreleri tarafından üretilen NO, siklik GMP aracılı vasküler düz kas gevşemesi yaptığından vazodilatasyonun sürdürülmesinde kritik öneme sahiptir. NO önemli bir vazodilatör olmasının yanında trombosit agregasyonu, lökosit adezyonu ve düz kas hücre proliferasyonunu inhibe ederek tromboz, inflamasyon ve

aterosklerotik yapılaşmanın temel inhibitörü olarak görev görür. Bu nedenlerle plazma NO biyoyararlanımındaki azalma sadece vasküler tonusute artışa neden olmaz, bunun yanında tromboza ve aterosklerotik yapılanmaya da zemin hazırlar. NO üretiminde rol oynayan enzim nitrik oksit sentaz (NOS) enzimidir ve nöronal(nNOS), indüklenebilir(iNOS) ve endotelial(eNOS) olmak üzere farklı izoformları bulunmaktadır (191,192).

Dolaşım sisteminde NO salgılayarak vazodilatasyonu gerçekleştiren temel form eNOS'tur. eNOS enzimi başlıca damar duvarını çevreleyen endotel hücrelerinde ve kan hücrelerinde bulunur. Bununla birlikte plasental trofoblast hücrelerinde de eNOS enzimi gösterilmiştir. Preeklampside normotansif koşullara göre eNOS enzimi tarafından NO üretiminin düştüğü ve plazmada NO ve NO yıkım ürünlerinin azaldığı gösterilmiştir. Endotel disfonksiyona bağlı olarak NO/endotelin oranının endotelin lehine artışı ve süperoksit radikallerindeki artış, preeklampsinin klinik bulgularından hipertansiyonu, trombosit agregasyonundaki artışı ve preeklampside meydana gelen pek çok prelinik değişikliği açıklamaktadır.

Preeklampside NO biyoyararlanımının azaldığı iyi bilinse de nedeni tam olarak ortaya konulamamıştır. Bu nedenle preeklampsiye neden olan mekanizmalar günümüzde önemli bir araştırma konusudur. eNOS enzimi yeterli substrat ya da kofaktör bulamadığı durumlarda eşleşemez ve NO üretemez; süperoksit radikali (O_2^-) üretir. eNOS enziminin NO yerine O_2^- üretmesine eNOS uncouplingi' ya da eNOS eşleşmemesi denir. Preeklampside ise eNOS enzimi uncoupled durumdadır ve enzimin NO üretimi azalırken O_2^- üretimi artmıştır. Üretilen O_2^- radikali ise ortamda az miktarda bulunan NO ile reaksiyona girerek bir diğer serbest radikal olan peroksinitriti ($ONOO^-$) oluşturur. Hem $ONOO^-$ hem de O_2^- artışı organizmada oksidatif stres artışı yaparak eNOS eşleşmesini daha da bozarak endotel disfonksiyonuna neden olur. Bu şekilde organizmada bir kısır döngü oluşur ve endotel disfonksiyonu daha da ilerler. Preeklampside eNOS eşleşme mekanizmasının bozulmasının temel nedenleri olarak; substrat olan L-arginin ve ko-faktör olan Tetrahydrobiopterin'in (BH_4) eNOS enzime bağlanamaması gösterilmektedir. L-argininin eNOS enzime bağlanamaması ya hücre içinde l-arginin eksikliğinden ya da eNOS enzime L-arginin yerine bağlanıp enzim aktivitesini inhibe eden Asimetrikdimetilarjinin (ADMA) nedeniyle gerçekleşir. Hücrede L-arginin eksikliği

genellikle hücre içinde artan arginaz aktivitesinden kaynaklanır. Arginaz enzimi L-arginini sürekli üre ve ornitin yıkar. Fizyolojik koşullarda aktivitesi çok düşük olan arginaz enziminin preeklampside aktivitesinin arttığı bilinmektedir. Öte yandan endojen eNOS inhibitörü olan ADMA üretimi de preeklampside artış gösterir. Bu iki mekanizma endotel hücrelerinde eNOS enziminin substratı ile eşleşmesini engeller. Bununla birlikte eNOS'un ko-faktörü olan BH4 seviyeleri de preeklampitik gebelerde normotansif gebelere göre düşük düzeydedir (193). Bunun nedeni büyük ihtimalle BH4'ün peroksinitrit tarafından biyolojik olarak inaktif bileşiklere yıkımıdır. Sonuç olarak, preeklampsi eNOS'un hem substrat hem kofaktör eksikliği nedeniyle NO yerine O_2^- radikali ürettiği ve böylece oksidatif stres artışı ile endotel disfonksiyonunun ilerlediği bir tablodur. Yukarıda bahsedilen ve preeklampside NO biyoyararlanımının azalmasını konu alan bu çalışmaların çoğunluğu endotel hücrelerini hedef almıştır. Oysa eritrositlerde de aktivitesi endotel hücrelerinde bulunan eşleniğine yakın düzeylerde olan aktif bir eNOS enzimi bulunur. Ancak, bugüne kadar eritrositlerde bulunan eNOS enziminin preeklampside görülen endotel disfonksiyonuna katkı sağlayıp sağlamadığı bugüne kadar hiç araştırılmamıştır. Bu tez çalışmasının konusu eritrosit eNOS enzim aktivitesinin preeklampside değişip değişmediğinin araştırılmasıdır.

Eritrositler, yakın geçmişe kadar sadece solunum gazlarını taşıyan hücreler olarak nitelendirilse de bugün eritrositlerin hücre içi sinyal mekanizmalarını etkin şekilde kullanan dolaşım sisteminin aktif hücreleri olduğu bilinmektedir. Fizyolojik koşullarda eritrositler bir yandan benzersiz mekanik davranışları (deformabilite ve agregasyon) ile kan viskozitesini ve kanın akışkanlığını belirlerken; diğer yandan plazmaya salgıladığı etkin vazo-aktif maddeler sayesinde kan basıncının, doku perfüzyonunun ve kalp fonksiyonlarının düzenlenmesine aracılık eder (194-205). Patolojik koşullarda ise eritrosit mekanik özelliklerindeki bozulma kan akışkanlığını etkileyip doku perfüzyonunu bozarken, eritrosit kaynaklı vazoaktif madde salınımındaki bozukluklar ise ROS üretiminde artış ve NO biyoyararlanımında azalmaya bağlı endotel disfonksiyonuna neden olarak hipertansiyon, tromboz ve iskemi/reperfüzyon hasarı gibi patolojilerin gelişmesinde etkin rol oynar (162,199,201,202,205,206).

Eritrositler 3 farklı mekanizma ile plazmaya NO salınımı gerçekleştirir. Bunlardan ilki plazmada bulunan nitritin NO'ya indirgenmesi, ikincisi plazmada bulunan NO'nun hücre içinde alınarak bağlanması, taşınması ve hipoksik bölgelerde salınmasıdır (207-213). Eritrositlerden NO salınımına neden olan son ve en önemli mekanizma ise aktif eNOS enzimi tarafından gerçekleştirilir (54,121,187). Eritrositlerde hem aktivasyon ve inhibisyon mekanizmaları hem de NO üretim kapasitesi bakımından endotel hücrelerindeki özeş, aktif bir eNOS enzimi bulunmaktadır (112). Eritrosit eNOS enziminin plazma NO biyoyararlanımına katkısı endotel hücrelerine oldukça yakın olduğundan eritrositlerin de endotel hücreleri gibi fizyolojik ve patofizyolojik mekanizmalarda önemli roller üstlendiği kanıtlanmıştır: Bunlar arasında fizyolojik açıdan kan basıncının, damar tonusunun düzenlenmesi, endotel fonksiyonlarının ile kalbin yapı ve fonksiyonlarının korunması yer alırken (200-203,214); patolojik açıdan hipertansiyon, miyokardial iskemi-reperfüzyon hasarı, tromboz gelişimi gibi çeşitli kardiyovasküler hastalıklar bulunur (199,201,204). Eritrosit eNOS enzimi endotel hücrelerindeki eşleniği gibi substratı olan L-arginini ya da kofaktörü olan tetrahidrobiopterini (BH₄) ortamda bulamayınca aktive olamaz ve NO yerine süperoksit radikali (O₂⁻) üretir. Oluşan süperoksit radikali bir taraftan lokal çevrede oksidatif stresi artırırken diğer taraftan ortamda bulunan NO'yu peroksinitrite indirgeyerek NO biyoyararlanımının azalmasına neden olur. Bu mekanizmanın Tip2 diyabette bağlı gelişen endotel disfonksiyonun ve miyordiyal iskemi sonrası miyokard hasarının en önemli nedenlerinden biri olduğu kanıtlanmıştır (202,205). Bu nedenlerle eritrosit eNOS enzimi, eritrosit sayısı da göz önüne alındığında plazma NO havuzuna büyük katkı sağladığı için hastalıkların patofizyolojisinde endotel hücreleri kadar önemlidir.

Çalışmamızın sonuçları preeklampatik hastalarda eritrositler tarafından üretilen potent vazodilatatör olan nitrik oksit sentezinin ve eNOS aktivitesinin azaldığını göstermektedir. Eritrositler de tıpkı endotel hücreleri gibi fonksiyonel olarak aktif eNOS enzimi taşımaktadır. Bundan dolayı preeklampside endotel hücrelerinde olduğu gibi eritrositlerden de salınan NO düzeyinin azaldığı düşünülmektedir. Azalmış nitrik oksit sentezinin preeklampatik hastalarda artmış vasküler dirence yol açtığı ve bunun preeklampsi kliniğine neden olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda eritrositten nitrik oksit sentezinin ve e NOS enzim

aktivitesinin preeklampitik ve sağlıklı gebelik arasında fark olup olmadığı araştırılmıştır. Bulgularımız preeklampitik hastalarda eritrositte e NOS enzim aktivitesinin azaldığını ve buna bağlı olarak eritrositten salınan nitrik oksitin azaldığı gösterilmiştir.

Çalışmamızda bazal koşullarda sağlıklı ve preeklampitik gebelerde e NOS un NO üretimini gösteren intraselüler NO (intNO) değeri özel bir NO indikatörü olan DAF ile yüklenmiş eritrositlerde akış sitometrik olarak bazal koşullarda NO miktarının ölçülmesiyle değerlendirilmiştir. Buna göre preeklampitik hastalarda sağlıklı gebelere göre bazal koşullarda eritrositlerin NO retme kapasitesi daha düşüktür. Ayrıca alışmamızda e NOS enziminin serin 1177 bölgesinden fosforlanmış yani aktif enzim miktarını gösteren fosforile eritrosit nitrik oksit sentaz (peNOS) miktarına da bakılmış, bazal koşullarda aktif e NOS düzeyi preeklampitik gebelerde sağlıklı gebelere göre daha düşük bulunmuştur.

Hücre içi kalsiyum artışı eritrositlerde membranın dış yüzeyine fosfotidil serinin çıkarılmasına neden olur. Hücre membranının dış yüzeyinde fosfotidil serinin bulunması ise eritrositlerin dalaktan geçişi esnasında makrofajlar tarafından toplanmasına ve yıkılmasına neden olur. Hücre içi kalsiyum düzeyinin ykseklıği ile birlikte fosfotidil serinin hücre membranının yüzeye çıkarılması eritrositlerde birçok fonksiyon bozukluğuna işaret edebileceğine dair deliller vardır. Eritrositlerde bu olay apoptoza benzediği için eriptozis olarak bilinir. Fonksiyonu bozulmuş eritrositlerde hücre içi kalsiyum artar ve dolaşımdan toplanır. Çalışmamızda hem hücre içi kalsiyum (intCa) miktarına hem fosfotidil serinin hücre membranı dışındaki ekspresyonuna bakılmış ve her iki parametre de preeklampitik gebelerde sağlıklı gebelere göre daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuçlar preeklampitik gebelerde eritrositlerin apoptoza yatkınlığını kanıtlamaktadır.

Eritrositler kendi boyutlarından küçük damarlardan geçerken Şekil değiştirir, çapları kısalır ve boyları uzar. Buna deformabilite denir ve deformabilite yeteneği maximum elengasyon indexi (Elmax) ile gösterilir. Elmax preeklampitik gebe

grubunda sağlıklı gebe grubuna göre yüksek bulunmuştur fakat anlamlı bulunmamıştır($p=0.9187$).

Agregasyon eritrositlerin akımın azaldığı koşullarda birbirleri üzerine bağlanmasıdır. Bu durum akıma direnç oluşturur. Agregasyon artışı ve degermabilitenin düşmesi kan viskozitesini artırarak etkin perfizyonu bozar. Preeklampsi hasta grubunda da agregasyon artışı görülmüştür.

Literatüre bakıldığında Preeklampsi ile maternal NO seviyelerinin ilişkisini inceleyen birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda araştırmacıların çoğu Preeklampside NO'in primer ya da sekonder bir rol oynadığı üzerinde dururken az bir kısmı preeklampside NO seviyelerinde meydana gelen değişikliklerin hastalığın sonucu oluşan metabolik bozukluklara sekonder olarak geliştiğini savunmaktadır (140,215).

Seligman ve ark (215) gebeliğin hipertansif hastalığının patogenezinde nitrik oksit'in rolünü araştırmak amacıyla 26 normotansif 26 hipertansif gebede yaptıkları çalışmalarında, NO'in metabolitleri olan nitrit ve nitratın konsantrasyonlarına bakmışlar ve bizim sonuçlarımıza benzer şekilde preeklampitik grupta bu maddelerin düzeylerini sağlıklı gebelere göre anlamlı derecede daha düşük bulmuşlardır. Benzer bir şekilde Li ve ark 'nın (216) yaptığı çalışmada da bu maddelere ek olarak NO için ikinci haberci olan cGMP düzeylerine bakılmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında nitrit, nitrat ve cGMP düzeylerinin preeklampitiklerde anlamlı şekilde daha düşük olduğunu göstermişlerdir. Osawa ve ark'nın (217) gebe ratlarda yapmış oldukları çalışmalarda ratlara NOS inhibitörleri vermişler ve hem semptomatik hem de patolojik anlamda preeklampsiye benzer değişiklikler elde etmişlerdir. Tüm bu veriler doğrultusunda preeklampsinin gelişiminde NO'in belli bir etkisinin olduğu gösterilmiştir.

Literatürdeki çalışmaların bir kısmında farklı olarak araştırmacılar preeklampitik NO düzeylerinin arttığını kabul etmişlerdir. Bunun kompensasyon mekanizmasına bağlı olduğu düşünülmüştür.

Shaamash ve ark'nın (31) 31 preeklampitik ve eklampitik hasta ile 32 sağlıklı gebeyi karşılaştırdıkları çalışmalarında maternal ve fetal serum NO seviyelerinin preeklampitik ve eklampitik grupta normal gebelerden daha yüksek olduğunu, bu

durumun maternal ve fetal dolaşımında koruyucu bir rol üstleniyor olabileceğini ve hastalığın şiddeti ile direk ilişkili buldukları bu yükselmenin hastalığın gelişiminden önce teşhisinde diagnostik bir öneminin olabileceğini savunmuşlardır.

Bartha ve ark (218) gebelikteki hipertansiyonun maternal NO seviyeleri ile ilişkisini araştırdıkları çalışmalarında 10 normotansif, 17 preeklampitik, 18 gestasyonel hipertansiyonlu, 15 kronik hipertansiyonlu toplam 60 gebe üzerinde yaptıkları araştırmada preeklampitik grupta yüksek olarak buldukları NO seviyelerinin hemokonsantrasyon ve trombosit agregasyonuna karşı koruyucu bir rol oynayabileceğini bildirmişlerdir.

Benzer bir şekilde Ranta ve ark'nın (219) yaptığı bir diğer çalışmada da preeklampitik hastalarda NO seviyeleri yüksek bulunmuş ve bu artışın vazokonstrüksiyona kompanzatuvar bir yanıt olabileceği savunulmuştur.

Hipertansiyon; multifokal kompleks kardiyovasküler bir hastalıktır. Yapılan çalışmalar, Nitrik oksit üretiminin azalması ile kan basıncının artması arasında bir korelasyon olduğuna işaret eder (161).

3 adet Nitrik Oksit Sentetaz (NOS) izoformu vardır. Bunlar; endotel nitrik oksit sentetaz (eNOS), indüklenebilir nitrik oksit sentetaz (iNOS) ve nöronal nitrik oksit sentetaz (nNOS)'dır (52). NOS; endotel, epitel, lökosit, platelet, eritrosit ve nöronda bulunur. iNOS; inflamatuvar süreç, havayolu epitel ve konakçı savunma sisteminde bulunur. eNOS ve nNOS ise nöron sinyal iletimi, hemostatik sistem, vazodilatasyon ve kan basıncı kontrolünü içeren fizyolojik süreçte önemli bir yer kaplar. NO, endotelden salgılanan vasküler fizyoloji için kısa ömürlü bir sinyal düzenleyicidir. Önceleri sadece vazodilatasyon yeteneği ile bilinir ve "endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF)" olarak tanımlanırdı. Şimdiki bilgilere göre vasküler tonus, kan akış kontrolü, kardiyovasküler sistemde sinyal oluşumu ve nörotransmisyonunda önemli bir etkiye sahiptir (162,163).

Sağlıklı bir sistemde eNOS kaynaklı NO; kan akışını, kan basıncını, trombosit agregasyonunun inhibisyonunu ve lökosit adezyonunu, migrasyonunu düzenler. Vasküler endoteldeki eNOS, otokrin ve parakrin NO sinyalleri sayesinde bazal kan basıncı kontrolüne katılır. Kan dolaşımındaki çoğu kan hücresinde (lökosit, trombosit ve eritrosit (RBC)) varlığı gözlenmiştir. Normooksik şartlarda eritrositlerin NO üretebileceği öne sürülmüştür (164).

Eritrosit, dolaşımda en fazla bulunan kan hücresidir. Eritrositteki eNOS aktivitesi NO havuzunda önemli bir yer kaplar. Dolayısıyla NO dolaşımının ve kan basıncı cevabının potansiyel düzenleyicisidir. Eritrositler, methemoglobin ve nitrat oluşturmak için oksihemoglobin ile hızlı reaksiyona girerek endotel kaynaklı NO'ı alır, inaktive eder ve böylece vazodilatasyona neden olan NO'in salınımını sınırlar (165). Eritrositlerin sadece NO sentezlediği değil aynı zamanda NO metabolit ürünlerini sentezlediği, sakladığı ve taşıdığı da gösterilmiştir. Özellikle hipoksik durumlarda ATP'ı bırakarak sistemik NO biyoyararlanım düzenlemesine katkıda bulunurlar (166).

Eritrositlerin NO metabolitleri ve ATP da dahil olmak üzere biyoaktif moleküller salgılaması fonksiyonlarının önemli özelliklerindedir. Fare deneylerinde, genetik olarak eritrosit bağımlı eNOS, içermeyen farelerde nitrik ve nitrat seviyeleri az bulunmuş ve kontrollerine kıyasla daha yüksek kan basıncı görülmüştür. Bu deneyler ile dolaşımda en fazla bulunan kan hücreleri eritrositlerin vasküler tonus ve kan basıncı kontrolünde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (167-169).

Literatürde Preeklampsi patogenezinde endotelden salınan NO ile ilgili farklı görüşler içeren çalışmalara ek olarak bizim çalışmamızla, literatürde daha önce çalışılmamış olan preeklampitik hasta grubunda eritrositte bulunan e NOS enzim aktivitesinin azalması ve buna bağlı olarak eritrositten salınan nitrik oksitin azalmasında Preeklampitik grup ile kontrol grubu arasında önemli bir fark tespit ederek literatüre katkıda bulunulmuştur.

7.SONUÇLAR

Araştırma, Kasım 2018- Kasım 2019 tarihleri arasından Sağlık Bakanlığı Üniversitesi Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine başvuran sağlıklı ve Preeklampitik hastaların kayıtları çalışma verisi olarak kayıt edildi. Toplam değerlendirmeye alınan hasta sayısı 94'di. Preeklampsi grubunda 58 hasta, kontrol grubunda 36 hasta vardı.

Çalışmanın sonuçlarına göre;

Preeklampitik gebe grubunda doğumda gebelik haftasının kontrol grubuna göre daha düşük olduğu saptandı.

Preeklampitik gebe grubunda sistolik ve diyastolik basıncın kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu görüldü.

Bun, kreatin, AST, ALT değerlerinin ve TİT de pozitif proteinüri miktarının preeklampitik hasta grubunda daha yüksek olduğu saptandı.

Preeklampitik hasta grubunda sezaryen ile doğumun kontrol grubunda göre anlamlı yüksek olduğu görüldü.

Çalışmamızda enzim miktarını gösteren fosforile eritrosit nitrik oksit sentaz (peNOS) miktarına da bakıldı, bazal koşullarda aktif e NOS düzeyi preeklampitik gebelerde sağlıklı gebelere göre daha düşük bulundu.

Bazal koşullarda sağlıklı ve preeklampitik gebelerde e NOS un NO üretimini gösteren intraselüler NO (intNO) değeri özel bir NO indikatörü olan DAF ile yüklenmiş eritrositlerde akış sitometrik olarak bazal koşullarda NO miktarının ölçülmesiyle değerlendirildi. Buna göre preeklampitik hastalarda sağlıklı gebelere göre bazal koşullarda eritrositlerin NO üretme kapasitesi daha düşük olduğu saptandı.

Çalışmamızda hem hücre içi kalsiyum (intCa) miktarına hem fosfotidil serinin hücre membranı dışındaki ekspresyonuna bakıldı ve her iki parametre de preeklampitik gebelerde sağlıklı gebelere göre daha yüksek bulundu. Bu sonuçlar preeklampitik gebelerde eritrositlerin apoptoza yatkınlığını kanıtladı.

Eritrositler kendi boyutlarından küçük damarlardan geçerken şekil değiştirir, çapları kısılar ve boyları uzar. Buna deformabilite denir ve deformabilite yeteneği maximum

elengasyon indexi (Elmax) ile gösterilir. Elmax preeklampitik gebe grubunda sağlıklı gebe grubuna gore yuksek bulundu fakat anlamlı bulunmadı.

Agregasyon eritrositlerin akımın azaldığı koşullarda birbirleri uzerine bağlanmasıdır. Bu durum akıma direnç oluşturur. Agregasyon artışı ve degormabilitenin duşmesi kan viskozitesini artırarak etkin perfizyonu bozar. Preeklampsi hasta grubunda da agregasyon artışı goruldu.



8.KAYNAKLAR

1. Stevens W, Shih T, Incerti D, Ton TGN, Lee HC, Peneva D, et al. Short-term costs of preeclampsia to the UnitedStates health care system. *Am J Obstet Gynecol* 2017; 217:237–48.e16. (Level III)
2. Wallis AB, Saftlas AF, Hsia J, Atrash HK. Secular trends in the rates of preeclampsia, eclampsia, and gestationalhypertension, United States, 1987-2004. *Am J Hypertens* 2008; 21:521–6. (Level II-3).
3. Mohaupt M. Molecular aspects of preeclampsia. *Mol Asp Med* 2007; 28(2): 169-191.
4. Berne, R.M., Levy M.N., Stanton, B.A., *Physiology*. 2008: Güneş Tıp Kitapevi.
5. Guyton, A.C., Hall, J.E. , *Circulatory System in Medical Physiology*. 2013, Elsevier Saunders.
6. EW, M., *Rheology of blood*. *Physiol Reviews*, 1969. **49**: p. 863-888.
7. L., D., *Rheology of blood in diagnostic and preventive medicine*. Butterwords, London, 1976: p. 1-259.
8. G, L., *Clinical Blood Rheology*. 1988, Boca Raton FL: CRC Press. 93-106.
9. Charm SE, K.G., *Blood flow and microcirculation*. Newyork: John Willy - Sons, 1974. **164**(9): p. 3-210.
10. GDO, L., *Nature and clinical importance of blood rheology*, ed. L. GDO. 1988, Inc Florida: CRC Press. 19-23.
11. Schmid-Schonbein, H., R.E. Wells, and J. Goldstone, Fluid drop-like behaviour of erythrocytes--disturbance in pathology and its quantification. *Biorheology*, 1971. **7**(4): p. 227-34.
12. Wells, R. and H. Schmid-Schonbein, Red cell deformation and fluidity of concentrated cell suspensions. *J Appl Physiol*, 1969. **27**(2): p. 213-7.
13. Stoltz, J.F., Hemorheology: Importance of erythrocyte aggregation. *Clin Hemorheol Microcirc*, 1987. **7**: p. 15-23.
14. Shiga, T., N. Maeda, and K. Kon, Erythrocyte rheology. *Crit Rev Oncol Hematol*, 1990. **10**(1): p. 9-48.
15. Gordon, R.J. and M.B. Ravin, Rheology and anesthesiology. *Anesth Analg*, 1978. **57**(2): p. 252-61.
16. Badeer, H.S., Hemodynamics for medical students. *Adv Physiol Educ*, 2001. **25**(1-4): p. 44-52.
17. Pfitzner, J., Poiseuille and his law. *Anaesthesia*, 1976. **31**(2): p. 273-5.

- 18.** Fronck, K. and B.W. Zweifach, Microvascular pressure distribution in skeletal muscle and the effect of vasodilation. *Am J Physiol*, 1975. **228**(3): p. 791-6.
- 19.** Johnson, P.C. and H.A. Henrich, Metabolic and myogenic factors in local regulation of the microcirculation. *Fed Proc*, 1975. **34**(11): p. 2020-4.
- 20.** Meininger, G.A. and M.J. Davis, Cellular mechanisms involved in the vascular myogenic response. *Am J Physiol*, 1992. **263**(3 Pt 2): p. H647-59.
- 21.** Clifford, P.S., Local control of blood flow. *Adv Physiol Educ*, 2011. **35**(1): p. 5-15.
- 22.** Hester, R.L. and L.W. Hammer, Venular-arteriolar communication in the regulation of blood flow. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2002. **282**(5): p. R1280-5.
- 23.** W, I., The Arc of Quito. *Science*, 1902. **16**(396): p. 194-5.
- 24.** Davis, M.J., Myogenic response gradient in an arteriolar network. *Am J Physiol*, 1993. **264**(6 Pt 2): p. H2168-79.
- 25.** Hill, M.A. and M.J. Davis, Coupling a change in intraluminal pressure to vascular smooth muscle depolarization: still stretching for an explanation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007. **292**(6): p. H2570-2.
- 26.** Drummond, H.A., S.C. Grifoni, and N.L. Jernigan, A new trick for an old dogma: ENaC proteins as mechanotransducers in vascular smooth muscle. *Physiology (Bethesda)*, 2008. **23**: p. 23-31.
- 27.** Feletou, M., E.H. Tang, and P.M. Vanhoutte, Nitric oxide the gatekeeper of endothelial vasomotor control. *Front Biosci*, 2008. **13**: p. 4198-217.
- 28.** Chen, G., H. Suzuki, and A.H. Weston, Acetylcholine releases endothelium-derived hyperpolarizing factor and EDRF from rat blood vessels. *Br J Pharmacol*, 1988. **95**(4): p. 1165-74.
- 29.** Griffith, T.M., Endothelium-dependent smooth muscle hyperpolarization: do gap junctions provide a unifying hypothesis? *Br J Pharmacol*, 2004. **141**(6): p. 881-903.
- 30.** Furchgott, R.F. and J.V. Zawadzki, The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*, 1980. **288**(5789): p. 373-6.
- 31.** Shaamash AH, Elsnosy ED, Makhlof AM, Zakhari MM, Ibrahim OA, EL-dien HM. Maternal and fetal serum nitric oxide (NO) concentrations in normal pregnancy, pre-eclampsia and eclampsia. *Int J Gyneacol Obstet* 2000; **68**: 207-14.
- 32.** Yanagisawa, M., et al., A novel peptide vasoconstrictor, endothelin, is produced by vascular endothelium and modulates smooth muscle Ca²⁺ channels. *J Hypertens Suppl*, 1988. **6**(4): p. S188-91.
- 33.** Attina, T., et al., Endothelin antagonism in pulmonary hypertension, heart failure, and beyond. *Heart*, 2005. **91**(6): p. 825-31.
- 34.** Luscher, T.F. and R.R. Wenzel, Endothelin and endothelin antagonists: pharmacology and clinical implications. *Agents Actions Suppl*, 1995. **45**: p. 237-53.

35. Griendling, K.K., Biology of the Vessel Wall, in Hurst's The Heart, V. Fuster, Editor. 2007, The McGraw-Hill Companies. p. 137-139.
36. Simonson, M.S. and M.J. Dunn, Cellular signaling by peptides of the endothelin gene family. *FASEB J*, 1990. 4(12): p. 2989-3000.
37. Bellien, J., C. Thuillez, and R. Joannides, Contribution of endothelium-derived hyperpolarizing factors to the regulation of vascular tone in humans. *Fundam Clin Pharmacol*, 2008. 22(4): p. 363-77.
38. Ruan, K.H., Advance in understanding the biosynthesis of prostacyclin and thromboxane A2 in the endoplasmic reticulum membrane via the cyclooxygenase pathway. *Mini Rev Med Chem*, 2004. 4(6): p. 639-47.
39. Parkington, H.C., H.A. Coleman, and M. Tare, Prostacyclin and endothelium-dependent hyperpolarization. *Pharmacol Res*, 2004. 49(6): p. 509-14.
40. Vallance, P., Endothelial regulation of vascular tone. *Postgrad Med J*, 1992. 68(803): p. 697-701.
41. Fleming, I. and R. Busse, Vascular cytochrome P450 in the regulation of renal function and vascular tone: EDHF, superoxide anions and blood pressure. *Nephrol Dial Transplant*, 2001. 16(7): p. 1309-11.
42. Little, T.L., J. Xia, and B.R. Duling, Dye tracers define differential endothelial and smooth muscle coupling patterns within the arteriolar wall. *Circ Res*, 1995. 76(3): p. 498-504.
43. Coleman, H.A., M. Tare, and H.C. Parkington, Endothelial potassium channels, endothelium-dependent hyperpolarization and the regulation of vascular tone in health and disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2004. 31(9): p. 641-9.
44. Edwards, L.A., Symposium on diarrhea. 6. Infectious diarrhea. *Can Med Assoc J*, 1977. 116(7): p. 753-5.
45. Marin, J. and M.A. Rodriguez-Martinez, Role of vascular nitric oxide in physiological and pathological conditions. *Pharmacol Ther*, 1997. 75(2): p. 111-34.
46. Koshland, D.E., Jr., The molecule of the year. *Science*, 1992. 258(5090): p. 1861.
47. Shinde, U.A., A.A. Mehta, and R.K. Goyal, Nitric oxide: a molecule of the millennium. *Indian J Exp Biol*, 2000. 38(3): p. 201-10.
48. Janero, D.R., Nitric oxide (NO)-related pharmaceuticals: contemporary approaches to therapeutic NO modulation. *Free Radic Biol Med*, 2000. 28(10): p. 1495-506.
49. Osorio, J.C. and F.A. Recchia, The role of nitric oxide in metabolism regulation: from basic sciences to the clinical setting. *Intensive Care Med*, 2000. 26(9): p. 1395-8.
50. Lowenstein, C.J., J.L. Dinerman, and S.H. Snyder, Nitric oxide: a physiologic messenger. *Ann Intern Med*, 1994. 120(3): p. 227-37.
51. Bhagat, K. and P. Vallance, Nitric oxide 9 years on. *J R Soc Med*, 1996. 89(12): p. 667-73.

52. Vallance, P. and A. Hingorani, Endothelial nitric oxide in humans in health and disease. *Int J Exp Pathol*, 1999. 80(6): p. 291-303.
53. Moncada, S., R.M. Palmer, and E.A. Higgs, Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev*, 1991. 43(2): p. 109-42.
54. Lloyd-Jones, D.M. and K.D. Bloch, The vascular biology of nitric oxide and its role in atherogenesis. *Annu Rev Med*, 1996. 47: p. 365-75.
55. Ignarro, L.J., Nitric oxide-mediated vasorelaxation. *Thromb Haemost*, 1993. 70(1): p. 148-51.
56. Mohandas, N. and J.A. Chasis, Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. *Semin Hematol*, 1993. 30(3): p. 171-92.
57. Govers, R. and T.J. Rabelink, Cellular regulation of endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2001. 280(2): p. F193-206.
58. Stuehr, D.J., Structure-function aspects in the nitric oxide synthases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1997. 37: p. 339-59.
59. Boucher, J.L., C. Moali, and J.P. Tenu, Nitric oxide biosynthesis, nitric oxide synthase inhibitors and arginase competition for L-arginine utilization. *Cell Mol Life Sci*, 1999. 55(8-9): p. 1015-28.
60. Pfeilschifter, J., Signalling pathways of nitric oxide. *Kidney Blood Press Res*, 2000. 23(3-5): p. 159-61.
61. Mendes Ribeiro, A.C., et al., Identification of system y+L as the high-affinity transporter for L-arginine in human platelets: up-regulation of L-arginine influx in uraemia. *Pflugers Arch*, 1999. 438(4): p. 573-5.
62. Michel, T. and O. Feron, Nitric oxide synthases: which, where, how, and why? *J Clin Invest*, 1997. 100(9): p. 2146-52.
63. Liu, J., G. Garcia-Cardena, and W.C. Sessa, Palmitoylation of endothelial nitric oxide synthase is necessary for optimal stimulated release of nitric oxide: implications for caveolae localization. *Biochemistry*, 1996. 35(41): p. 13277-81.
64. Feron, O., et al., The endothelial nitric-oxide synthase-caveolin regulatory cycle. *J Biol Chem*, 1998. 273(6): p. 3125-8.
65. Vasquez-Vivar, J., et al., Superoxide generation by endothelial nitric oxide synthase: the influence of cofactors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998. 95(16): p. 9220-5.
66. Wever, R.M., et al., Tetrahydrobiopterin regulates superoxide and nitric oxide generation by recombinant endothelial nitric oxide synthase. *Biochem Biophys Res Commun*, 1997. 237(2): p. 340-4.
67. Palmer, R.M., D.S. Ashton, and S. Moncada, Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature*, 1988. 333(6174): p. 664-6.

68. Radomski, M.W., R.M. Palmer, and S. Moncada, An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1990. 87(13): p. 5193-7.
69. Raman, C.S., et al., Crystal structure of constitutive endothelial nitric oxide synthase: a paradigm for pterin function involving a novel metal center. *Cell*, 1998. 95(7): p. 939-50.
70. Cooke, J.P. and V.J. Dzau, Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med*, 1997. 48: p. 489-509.
71. Ortega Mateo, A. and A. Amaya Alexandre de, Nitric oxide reactivity and mechanisms involved in its biological effects. *Pharmacol Res*, 2000. 42(5): p. 421-7.
72. Lauer, T., P. Kleinbongard, and M. Kelm, Indexes of NO bioavailability in human blood. *News Physiol Sci*, 2002. 17: p. 251-5.
73. Jia, L., et al., S-nitrosohaemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control. *Nature*, 1996. 380(6571): p. 221-6.
74. Wang, J., M.S. Wolin, and T.H. Hintze, Chronic exercise enhances endothelium-mediated dilation of epicardial coronary artery in conscious dogs. *Circ Res*, 1993. 73(5): p. 829-38.
75. Boo, Y.C. and H. Jo, Flow-dependent regulation of endothelial nitric oxide synthase: role of protein kinases. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2003. 285(3): p. C499-508.
76. Butt, E., et al., Endothelial nitric-oxide synthase (type III) is activated and becomes calcium independent upon phosphorylation by cyclic nucleotide-dependent protein kinases. *J Biol Chem*, 2000. 275(7): p. 5179-87.
77. Fleming, I., et al., Phosphorylation of Thr(495) regulates Ca(2+)/calmodulin-dependent endothelial nitric oxide synthase activity. *Circ Res*, 2001. 88(11): p. E68-75.
78. Dimmeler, S., et al., Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature*, 1999. 399(6736): p. 601-5.
79. McCabe, T.J., et al., Enhanced electron flux and reduced calmodulin dissociation may explain "calcium-independent" eNOS activation by phosphorylation. *J Biol Chem*, 2000. 275(9): p. 6123-8.
80. Chen, Z.P., et al., AMP-activated protein kinase phosphorylation of endothelial NO synthase. *FEBS Lett*, 1999. 443(3): p. 285-9.
81. Behrendt, D. and P. Ganz, Endothelial function. From vascular biology to clinical applications. *Am J Cardiol*, 2002. 90(10C): p. 40L-48L.
82. Chien, S., Red cell deformability and its relevance to blood flow. *Annu Rev Physiol*, 1987. 49: p. 177-92.
83. Ellsworth, M.L., et al., The erythrocyte as a regulator of vascular tone. *Am J Physiol*, 1995. 269(6 Pt 2): p. H2155-61.
84. Cosby, K., et al., Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. *Nat Med*, 2003. 9(12): p. 1498-505.

85. Datta, B., et al., Red blood cell nitric oxide as an endocrine vasoregulator: a potential role in congestive heart failure. *Circulation*, 2004. 109(11): p. 1339-42.
86. Diesen, D.L., D.T. Hess, and J.S. Stamler, Hypoxic vasodilation by red blood cells: evidence for an s-nitrosothiol-based signal. *Circ Res*, 2008. 103(5): p. 545-53.
87. Sprague, R.S., et al., Rabbit erythrocytes release ATP and dilate skeletal muscle arterioles in the presence of reduced oxygen tension. *Pharmacol Rep*, 2009. 61(1): p. 183-90.
88. Isbell, T.S., et al., SNO-hemoglobin is not essential for red blood cell-dependent hypoxic vasodilation. *Nat Med*, 2008. 14(7): p. 773-7.
89. Miseta, A., et al., Relationship between cellular ATP, potassium, sodium and magnesium concentrations in mammalian and avian erythrocytes. *Biochim Biophys Acta*, 1993. 1175(2): p. 133-9.
90. Bergfeld, G.R. and T. Forrester, Release of ATP from human erythrocytes in response to a brief period of hypoxia and hypercapnia. *Cardiovasc Res*, 1992. 26(1): p. 40-7.
91. You, J., et al., Endothelial-mediated dilations of rat middle cerebral arteries by ATP and ADP. *Am J Physiol*, 1997. 273(3 Pt 2): p. H1472-7.
92. Sprague, R.S., et al., ATP: the red blood cell link to NO and local control of the pulmonary circulation. *Am J Physiol*, 1996. 271(6 Pt 2): p. H2717-22.
93. Sprague, R.S., et al., Deformation-induced ATP release from red blood cells requires CFTR activity. *Am J Physiol*, 1998. 275(5 Pt 2): p. H1726-32.
94. Sprague, R.S., et al., Reduced expression of G(i) in erythrocytes of humans with type 2 diabetes is associated with impairment of both cAMP generation and ATP release. *Diabetes*, 2006. 55(12): p. 3588-93.
95. Jagger, J.E., et al., Role of erythrocyte in regulating local O₂ delivery mediated by hemoglobin oxygenation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001. 280(6): p. H2833-9.
96. Ellsworth, M.L., The red blood cell as an oxygen sensor: what is the evidence? *Acta Physiol Scand*, 2000. 168(4): p. 551-9.
97. Olearczyk, J.J., et al., Receptor-mediated activation of the heterotrimeric G-protein G_s results in ATP release from erythrocytes. *Med Sci Monit*, 2001. 7(4): p. 669-74.
98. Sridharan, M., et al., Pannexin 1 is the conduit for low oxygen tension-induced ATP release from human erythrocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2010. 299(4): p. H1146-52.
99. Jensen, F.B., Red blood cell pH, the Bohr effect, and other oxygenation-linked phenomena in blood O₂ and CO₂ transport. *Acta Physiol Scand*, 2004. 182(3): p. 215-27.
100. Sridharan, M., et al., Prostacyclin receptor-mediated ATP release from erythrocytes requires the voltage-dependent anion channel. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012. 302(3): p. H553-9.
101. Ellsworth, M.L., et al., Erythrocytes: oxygen sensors and modulators of vascular tone. *Physiology (Bethesda)*, 2009. 24: p. 107-16.

102. Sprague, R.S., et al., Participation of cAMP in a signal-transduction pathway relating erythrocyte deformation to ATP release. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2001. 281(4): p. C1158-64.
103. Olearczyk, J.J., et al., Nitric oxide inhibits ATP release from erythrocytes. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004. 309(3): p. 1079-84.
104. Wang, L., et al., ADP acting on P2Y₁₃ receptors is a negative feedback pathway for ATP release from human red blood cells. *Circ Res*, 2005. 96(2): p. 189-96.
105. Gladwin, M.T., J.H. Crawford, and R.P. Patel, The biochemistry of nitric oxide, nitrite, and hemoglobin: role in blood flow regulation. *Free Radic Biol Med*, 2004. 36(6): p. 707-17.
106. Han, T.H., et al., Nitric oxide reaction with red blood cells and hemoglobin under heterogeneous conditions. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2002. 99(11): p. 7763-8.
107. Vaughn, M.W., L. Kuo, and J.C. Liao, Effective diffusion distance of nitric oxide in the microcirculation. *Am J Physiol*, 1998. 274(5 Pt 2): p. H1705-14.
108. Liao, J.C., et al., Intravascular flow decreases erythrocyte consumption of nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999. 96(15): p. 8757-61.
109. Stamler, J.S., et al., Blood flow regulation by S-nitrosohemoglobin in the physiological oxygen gradient. *Science*, 1997. 276(5321): p. 2034-7.
110. Azarov, I., et al., Nitric oxide scavenging by red blood cells as a function of hematocrit and oxygenation. *J Biol Chem*, 2005. 280(47): p. 39024-32.
111. Rifkind, J.M., et al., Nitrite-induced improved blood circulation associated with an increase in a pool of RBC-NO with no bioactivity. *Adv Exp Med Biol*, 2009. 645: p. 27-34.
112. Kleinbongard, P., et al., Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase. *Blood*, 2006. 107(7): p. 2943-51.
113. Ulker, P., et al., Mechanical stimulation of nitric oxide synthesizing mechanisms in erythrocytes. *Biorheology*, 2009. 46(2): p. 121-32.
114. Kim-Shapiro, D.B., A.N. Schechter, and M.T. Gladwin, Unraveling the reactions of nitric oxide, nitrite, and hemoglobin in physiology and therapeutics. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006. 26(4): p. 697-705.
115. Chen, K., et al., Nitric oxide from nitrite reduction by hemoglobin in the plasma and erythrocytes. *Nitric Oxide*, 2008. 18(1): p. 47-60.
116. Pawloski, J.R., D.T. Hess, and J.S. Stamler, Export by red blood cells of nitric oxide bioactivity. *Nature*, 2001. 409(6820): p. 622-6.
117. Lancaster, J.R., Jr., Simulation of the diffusion and reaction of endogenously produced nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1994. 91(17): p. 8137-41.
118. Buerk, D.G., Nitric oxide regulation of microvascular oxygen. *Antioxid Redox Signal*, 2007. 9(7): p. 829-43.

- 119.** Moncada, S., Nitric oxide in the vasculature: physiology and pathophysiology. *Ann N Y Acad Sci*, 1997. 811: p. 60-7; discussion 67-9.
- 120.** Kang, E.S., et al., Normal circulating adult human red blood cells contain inactive NOS proteins. *J Lab Clin Med*, 2000. 135(6): p. 444-51.
- 121.** Bor-Kucukatay, M., et al., Effects of nitric oxide on red blood cell deformability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003. 284(5): p. H1577-84.
- 122.** Ozuyaman, B., et al., RBC NOS: regulatory mechanisms and therapeutic aspects. *Trends Mol Med*, 2008. 14(7): p. 314-22.
- 123.** Hoeflich, K.P. and M. Ikura, Calmodulin in action: diversity in target recognition and activation mechanisms. *Cell*, 2002. 108(6): p. 739-42.
- 124.** Anderson, J.P. and J.S. Morrow, The interaction of calmodulin with human erythrocyte spectrin. Inhibition of protein 4.1-stimulated actin binding. *J Biol Chem*, 1987. 262(13): p. 6365-72.
- 125.** Gromov, P.S. and J.E. Celis, Identification of two molecular chaperons (HSX70, HSC70) in mature human erythrocytes. *Exp Cell Res*, 1991. 195(2): p. 556-9.
- 126.** Kleinbongard, P., S. Keymel, and M. Kelm, New functional aspects of the L-arginine-nitric oxide metabolism within the circulating blood. *Thromb Haemost*, 2007. 98(5): p. 970-4.
- 127.** Jiang, M., et al., Arginase-flotillin interaction brings arginase to red blood cell membrane. *FEBS Lett*, 2006. 580(28-29): p. 6561-4.
- 128.** Wang, B.Y., et al., Regression of atherosclerosis: role of nitric oxide and apoptosis. *Circulation*, 1999. 99(9): p. 1236-41.
- 129.** Schnorr, O., et al., Cocoa flavanols lower vascular arginase activity in human endothelial cells in vitro and in erythrocytes in vivo. *Arch Biochem Biophys*, 2008. 476(2): p. 211-5.
- 130.** Kilberg, M.S., B.R. Stevens, and D.A. Novak, Recent advances in mammalian amino acid transport. *Annu Rev Nutr*, 1993. 13: p. 137-65.
- 131.** Shima, Y., et al., L-arginine import via cationic amino acid transporter CAT1 is essential for both differentiation and proliferation of erythrocytes. *Blood*, 2006. 107(4): p. 1352-6.
- 132.** Harrison, D.G. and C. Long, The calcium content of human erythrocytes. *J Physiol*, 1968. 199(2): p. 367-81.
- 133.** Allan, D., P. Thomas, and A.R. Limbrick, The isolation and characterization of 60 nm vesicles ('nanovesicles') produced during ionophore A23187-induced budding of human erythrocytes. *Biochem J*, 1980. 188(3): p. 881-7.
- 134.** Anderson, D.R., J.L. Davis, and K.L. Carraway, Calcium-promoted changes of the human erythrocyte membrane. Involvement of spectrin, transglutaminase, and a membrane-bound protease. *J Biol Chem*, 1977. 252(19): p. 6617-23.
- 135.** Allan, D. and P. Thomas, Ca²⁺-induced biochemical changes in human erythrocytes and their relation to microvesiculation. *Biochem J*, 1981. 198(3): p. 433-40.

136. Nash, G.B. and H.J. Meiselman, Red cell and ghost viscoelasticity. Effects of hemoglobin concentration and in vivo aging. *Biophys J*, 1983. 43(1): p. 63-73.
137. Bratosin, D., et al., Programmed cell death in mature erythrocytes: a model for investigating death effector pathways operating in the absence of mitochondria. *Cell Death Differ*, 2001. 8(12): p. 1143-56.
138. Steegers EA, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet* 2010; 376:631–44. (Level III)
139. American college of obstetricians and gynecologists: hypertension in pregnancy. Report of American college of obstetricians and gynecologists' task force on hypertension in pregnancy. *Obstet gynecol* 122:1122,2013b
140. Cunningham FG, Mac Donald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LJ, Hanks GDV, Clark SL. *Williams Obstetrics*. 21th edition Connecticut, the McGraw-Hill 2001; p:567-609
141. Betaman BT, bansil P, hernandez-Diaz S, et al: Prevalence, trends, and outcomes of chronic hypertension: a nationwide sample of delivery admissions. *Am J Obstet gynecol* 206(2): 134.e1, 2012
142. Levels of maternal care. *Obstetric Care Consensus No. 2. American College of Obstetricians and Gynecologists. Obstet Gynecol* 2015;125:502–15. (Level III)
143. Sibai BM, Lindheimer M, Hauth J, Caritis S, et al. Risk factors for preeclampsia, abruptio placenta, and adverse neonatal outcomes among women with chronic hypertension. *N Eng J Med* 1998; 339:667
144. Homer CS, Brown MA, Mangos G, Davis GK. Non-proteinuric pre-eclampsia: a novel risk indicator in women with gestational hypertension. *J Hypertens* 2008; 26:295–302. (Level II-3)
145. Gestational hypertension and preeclampsia. *ACOG Practice Bulletin No. 202. American College of Obstetricians and Gynecologists. Obstet Gynecol* 2019;133: e1–25.
146. Myatt L, Clifton RG, Roberts JM, et al: First trimester prediction of preeclampsia in nulliparous women at low risk. *Obstet Gynecol* 119(6):2012
147. Williams PJ, Broughton Pipkin F. The genetics of preeclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011; 25:405–17.(Level III)
148. Zhang JJ, Ma XX, Hao L, Liu LJ, Lv JC, Zhang H. Asystematic review and meta-analysis of outcomes of pregnancy in CKD and CKD outcomes in pregnancy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015; 10:1964–78. (Systematic Review and Meta-Analysis)
149. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006; 355(10): 992-1005.

- 150.** Sargent IL, Germain SJ, Sacks GP, Kumar S, Redman CW. Trophoblast deportation and the maternal inflammatory response in pre-eclampsia. *J Reprod Immunol* 2003; 59:153–60. (Level III)
- 151.** Espinoza J. Uteroplacental ischemia in early- and late-onset pre-eclampsia: a role for the fetus? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2012; 40:373–82. (Level III)
- 152.** Fisher S, Roberts JM: The Placenta in normal pregnancy and preeclampsia. In Taylor RN, Roberts JM, Cunningham FG (eds): *Chesley's hypertensive Disorders in Pregnancy*, 4th ed. Amsterdam, Academic Press, 2014
- 153.** Brosens IA, Robertson WB, Dixon HG. The role of spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. In: Wynn RM, editor. *Obstetrics and gynecology annual*. New York: Appleton-century-crofts 1972; p. 177-191.
- 154.** Starzky KA, Salafie CM, Pezzulo JC, Lage JM, Parkash V, Vercurysse L, et al. Quantitative differences in arterial morphometry define the placental bed in preeclampsia. *Hum Pathol* 1997; 28(3): 353-358.
- 155.** Katabuchi H, Yih S, Ohba T, Matsui K, Takahashi K, Takeya M, et al. Characterization of macrophage in the decidual atherotic spiral artery with special reference to the cytology of foam cells. *Med Electron Microsc* 2003; 36(4): 253-262
- 156.** G. J. Burton, H.-W. Yung, T. Cindrova-Davies, and D.S. Charnock-Jones, "Placental endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathophysiology of unexplained intrauterine growth restriction and early onset preeclampsia," *Placenta*, vol. 30, Suppl A, pp. 43–48, 2009.
- 157.** T. Chaiworapongsa, P. Chaemsaihong, L. Yeo, and R. Romero, "Pre-eclampsia part 1: Current understanding of its pathophysiology," *Nature Review Nephrology*, vol. 10, no. 8, pp. 466–480, 2014.
- 158.** E. Lecarpentier and V. Tsatsaris, "Angiogenic balance (sFlt-1/PlGF) and preeclampsia," *Annales d'Endocrinologie*, vol. 77, no. 2, pp. 97–100, 2016.
- 159.** Kupferminc MJ, Fait G, Many A, Gordon D, Eldor A, Lessing JB. Severe preeclampsia and high frequency of genetic thrombophilic mutations. *Obstet Gynecol* 2000; 96(1): 45-49.
- 160.** Li F, Hagamon JR, Kim H, Maeda N, et al. eNOS deficiency acts through endothelia to aggravate sFlt-1 induced preeclamptic-like phenotype. *J Am Soc Nephrol* 2012;23(4):652e60.
- 161.** Webb AJ, Patel N, Loukogeorgakis S, Okorie M, Aboud Z, Misra S, Rashid R, Miall P, Deanfield J, Benjamin N, MacAllister R, Hobbs AJ, Ahluwalia A. Acute blood pressure lowering, vasoprotective, and antiplatelet properties of dietary nitrate via bioconversion to nitrite. *Hypertension*. 2008;51:784–790.

- 162.** Kuhn V, Diederich L, Keller TCS, Kramer CM, Lu'cksta'dt W, Panknin C, Suvorava T, Isakson BE, Kelm M, Cortese-Krott MM. Red blood cell function and dysfunction: redox regulation, nitric oxide metabolism, anemia. *Antioxid Redox Signal* 2017; 26:718–742.
- 163.** Salgado MT, Cao Z, Nagababu E, Mohanty JG, Rifkind JM. Red blood cell membrane-facilitated release of nitrite-derived nitric oxide bioactivity. *Biochemistry* 2015; 54:6712–6723.
- 164.** Rifkind JM, Mohanty JG, Nagababu E, Salgado MT, Cao Z. Potential modulation of vascular function by nitric oxide and reactive oxygen species released from erythrocytes. *Front Physiol* 2018; 9:690
- 165.** C. Helms, D.B. Kim-Shapiro, Hemoglobin-mediated nitric oxide signaling, *Free Radic. Biol. Med.* 61c(2013)464–472.
- 166.** A. Webb, A. Milsom, K. Rathod, W. Chu, S. Qureshi, M. Lovell, F. Lecomte, D. Perrett, C. Raimondo, E. Khoshbin, Z. Ahmed, R. Uppal, N. Benjamin, A. Hobbs, A. Ahluwalia, Mechanisms underlying erythrocyte and endothelial nitrite reduction to nitric oxide in hypoxia: role for xanthine oxidoreductase and endothelial nitric oxide synthase, *Circ. Res.* 103(2008)957–964.
- 167.** P. Kleinbongard, A. Dejam, T. Lauer, T. Rassaf, A. Schindler, O. Picker, T. Scheeren, A. Godecke, J. Schrader, R. Schulz, G. Heusch, G. A. Schaub, N. S. Bryan, M. Feelisch, M. Kelm, Plasmanitrite reflects constitutive nitric oxide synthase activity in mammals, *Free Radic. Biol. Med.* 35(2003)790–796.
- 168.** P. L. Huang, Z. Huang, H. Mashimo, K. D. Bloch, M. A. Moskowitz, J. A. Bevan, M. C. Fishman, Hypertension in mice lacking the gene for endothelial nitric oxide synthase, *Nature* 377(1995)239–242.
- 169.** A. Godecke, U. K. Decking, Z. Ding, J. Hirchenhain, H. J. Bidmon, S. Godecke, J. Schrader, Coronary hemodynamics in endothelial NO synthase knockout mice, *Circ. Res.* 82(1998)186194.
- 170.** Poston L, Raji markers MT. Trophoblast Oxidative Stress, Antioxidants and Pregnancy Outcome. A Review. *Placenta* 2004; 18: 72-78.
- 171.** Redman CWG, Sargent IL. Circulating microparticles in normal pregnancy and preeclampsia. *Placenta* 2008; 29 Suppl A: S73-77.
- 172.** Woolcock J, Hennessy A, Xu B, Thornton C, Tooher J, Makris A, et al. Soluble flt-1 as a diagnostic marker of preeclampsia. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology* 2008; 48(1): 64-70.
- 173.** Haggerty CL, Seifert ME, Tang G: Second trimester anti-angiogenic proteins and preeclampsia. *Pregnancy hypertension* 2(2):158, 2012
- 174.** Svenningsen P, Friis UG, Versland JB, Buhl KB, Moller Frederiksen B, Andersen H, et al. Mechanisms of renal NaCl retention in proteinuric disease. *Acta Physiol (Oxf)* 2013; 207:536–45. (Level III)
- 175.** Hennessy A, Makris A. Preeclamptic nephropathy. *Nephrology (Carlton)* 2011; 16:134–43. (Level III)

- 176.** Leduc L, Wheeler JM, Kirshon B, Mitchell P, Cotton DB Coagulation profile in severe preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1992; 79:14–8. (Level III)
- 177.** Sibai BM. Diagnosis, controversies and management of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count. *Obstet Gynecol* 2004; 103(5Pt1): 981-991.
- 178.** Woudstra DM, Chandra S, Hofmeyr GJ, Dowswell T. Corticosteroids for HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, low platelets) syndrome in pregnancy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2010, Issue 9. Art. No.:CD008148. (Systematic Review and Meta-Analysis)
- 179.** Pickering TG, Hall JE, Appel LJ, Falkner BE, Graves J, Hill MN, et al. Recommendations for blood pressure measurement in humans and experimental animals: part 1: blood pressure measurement in humans: a statement for professionals from the Subcommittee of Professional and Public Education of the American Heart Association Council on High Blood Pressure Research. *Circulation* 2005; 111:697–716. (Level III)
- 180.** Altman D, Carroli G, Duley L, Farrell B, Moodley J, Nielson J et al. Do women with pre-eclampsia, and their babies, benefit from magnesium sulphate? The Magpie Trial: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2002; 359(9321): 1877-1890.
- 181.** Belfort MA, Anthony J, Saade GR, Allen JC, for the Nimodipine Study Group. A comparison of magnesium sulfate and nimodipine for the prevention of eclampsia. *N Engl J Med* 2003; 348(4): 304-311.
- 182.** Duley L, Gulmezoglu AM, Henderson-Smart DJ. Magnesium sulphate and other anticonvulsants for women with pre-eclampsia. *Cochrane Database Syst Rev* 2003; (2): CD000025
- 183.** Von Dadelszen P, Magee LA. Antihypertensive Medications in Management of Gestational Hypertension- Preeclampsia. *Clin Obstet Gynecol* 2005; 48(2): 441-459
- 184.** Dildy GA. Complications of preeclampsia. In: *Critical Care Obstetrics*. 4th ed. Malden, Mass. Blackwell Publishing; 2004.
- 185.** Blue NR, Murray-Krezan C, Drake-Lavelle S, Weinberg D, Holbrook BD, Katukuri VR, et al. Effect of ibuprofen vs acetaminophen on postpartum hypertension in preeclampsia with severe features: a double-masked, randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol* 2018; 218:616. e1–8. (Level I)
- 186.** Viteri OA, England JA, Alrais MA, Lash KA, Villegas MI, Ashimi Balogun OA, et al. Association of nonsteroidal antiinflammatory drugs and postpartum hypertension in women with preeclampsia with severe features. *Obstet Gynecol* 2017; 130:830–5. (Level II-3)
- 187.** Pinar Ulker, Nazmi Yaras, Ozlem Yalcin, Ciler Celik Ozenci, Paul C. Johnsonc, Herbert J. Meiselmane, Oguz K. Baskurtf. Shear stress activation of nitric oxide synthase and increased nitric oxide levels in human red blood cells, 2011

- 188.** Périgola PE, Kellogg DL Jr, Johnson JM, Kosiba WA, Solomon DE. Am J Physiol. Role of sympathetic nerves in the vascular effects of local temperature in human forearm skin, 1993 Sep;265(3 Pt 2):H785-92.
- 189.** Duk-Hee Kang, Sung-Kwang Park, In-Kyu Lee and Richard J. Johnson. Uric Acid–Induced C-Reactive Protein Expression: Implication on Cell Proliferation and Nitric Oxide Production of Human Vascular Cells, JASN December 2005, 16 (12) 3553-3562
- 190.** Jane A. Mitchell, Ferhana Ali, Lucy Bailey, Laura Moreno, Louise S. Harrington. Role of nitric oxide and prostacyclin as vasoactive hormones released by the endothelium, 2007
- 191.** K. Takagi, Y. Kawaguchi, M. Hara, T. Sugiura, M. Harigai, N. Kamatani. Serum nitric oxide (NO) levels in systemic sclerosis patients: correlation between NO levels and clinical features, 2003
- 192.** Pattanaik P.K., Sahoo G.*, Barik N.1, Palai T.K., Bisoi P.C. Nitric Oxide and hydrogen peroxide production by goat mucosal epithelial tissue, 2011
- 193.** Lissette C. Sánchez-Aranguren^{1,2}, Carlos E. Prada^{1,3,4}, Carlos E. Riaño-Medina^{1,5} and Marcos Lopez¹. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress, 2014
- 194.** M.L. Ellsworth. The red blood cell as an oxygen sensor: what is the evidence?, 2002
- 195.** Li Jia, Celia Bonaventura, Joseph Bonaventura & Jonathan S. Stamler. S-nitrosohaemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control, 1996, 380, p221–226,
- 196.** Oguz K. Baskurt, Herbert J. Meiselman. Blood Rheology and Hemodynamics, 2003
- 197.** Kenyatta Cosby, Kristine S Partovi, Jack H Crawford, Rakesh P Patel, Christopher D Reiter, Sabrina Martyr, Benjamin K Yang, Myron A Waclawiw, Gloria Zalos, Xiuli Xu, Kris T Huang, Howard Shields, Daniel B Kim-Shapiro, Alan N Schechter, Richard O Cannon III & Mark T Gladwin. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation, Nature Medicine 2003, 9, p1498–1505,
- 198.** Nadezhda N. Barvitenko¹, Norma C. Adragna² and Roy E. Weber³ 1 I.M. Erythrocyte Signal Transduction Pathways, their Oxygenation Dependence and Functional Significance, 2005
- 199.** Miriam M. Cortese-Krott, Ana Rodriguez-Mateos, Roberto Sansone, Gunter G. C. Kuhnle, Sivatharsini Thasian-Sivarajah, Thomas Krenz, Patrick Horn, Christoph Krisp, Dirk Wolters, Christian Heiß, Klaus-Dietrich Kröncke, Neil Hogg, Martin Feelisch, Malte Kelm. Human red blood cells at work: identification and visualization of erythrocytic eNOS activity in health and disease, 2012
- 200.** Ulker, Pinar. Gunduz Filiz, Meiselman, Herbert J., Baskurt, Oguz K. Nitric oxide generated by red blood cells following exposure to shear stress dilates isolated small mesenteric arteries under hypoxic conditions, 2013

- 201.** Sonia Eligini, Benedetta Porro, Alessandro Lualdi, Isabella Squellerio, Fabrizio Veglia, Elisa Chiorino, Mauro Crisci, Anna Garlaschè, Marta Giovannardi, Josè-Pablo Werba, Elena Tremoli and Viviana Cavalca. Nitric Oxide Synthetic Pathway in Red Blood Cells Is Impaired in Coronary Artery Disease, 2013
- 202.** Jiangning Yang, Adrian T. Gonon, Per-Ove Sjöquist, Jon O. Lundberg, and John Pernow. Arginase regulates red blood cell nitric oxide synthase and export of cardioprotective nitric oxide bioactivity, PNAS September 10, 2013 110 (37) 15049-15054
- 203.** Katherine C. Wood, Miriam M. Cortese-Krott, Jason C. Kovacic, Audrey Noguchi, Virginia B. Liu, Xunde Wang, Nalini Raghavachari, Manfred Boehm, Gregory J. Kato, Malte Kelm, and Mark T. Gladwin. Circulating Blood Endothelial Nitric Oxide Synthase Contributes to the Regulation of Systemic Blood Pressure and Nitrite Homeostasis, Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2013;33:1861–187
- 204.** Viktoria Kuhn, Lukas Diederich, T.C. Stevenson KellerIV, Christian M. Kramer, Wiebke Lückstädt, Christina Panknin, Tatsiana Suvorava, Brant E. Isakson, Malte Kelm, and Miriam M. Cortese-Krott. Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia, 2017
- 205.** Sheng Zhou , Yang Zong , Paul A. Ney , Geeta Nair , Clinton F. Stewart , Brian P. Sorrentino. Increased expression of the Abcg2 transporter during erythroid maturation plays a role in decreasing cellular protoporphyrin IX levels, Blood , 2005, 105 (6): 2571–2576.
- 206.** James R. Byrnes, Alisa S. Wolberg. Red blood cells in thrombosis, Blood (2017) 130 (16): 1795–1799.
- 207.** Jonathan S. Stamler, Li Jia, Jerry P. Eu, Timothy J. McMahon, Ivan T. Demchenko, Joseph Bonaventura, Kim Gernert, Claude A. Piantadosi. Blood Flow Regulation by S-Nitrosohemoglobin in the Physiological Oxygen Gradient, Blood Flow Regulation by S-Nitrosohemoglobin in the Physiological Oxygen Gradient. Science 27 Jun 1997:Vol. 276, Issue 5321, pp. 2034-2037
- 208.** Ryon M. Bateman, Justin E. Jagger, Michael D. Sharpe, Mary L. Ellsworth, Sanjay Mehta, and Christopher G. Ellis. Erythrocyte deformability is a nitric oxide-mediated factor in decreased capillary density during sepsis, 2001

- 209.** Mark T. Gladwin, Alan N. Schechter, and Daniel B. Kim-Shapiro. Unraveling the Reactions of Nitric Oxide, Nitrite, and Hemoglobin in Physiology and Therapeutics, Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2006;26:697–705
- 210.** Anne Jeffers, Mark T. Gladwin, Daniel B. Kim-Shapiro. Computation of plasma hemoglobin nitric oxide scavenging in hemolytic anemias, 2006
- 211.** John M. Robinson, and Jack R. Lancaster Jr. Hemoglobin-Mediated, Hypoxia-Induced Vasodilation via Nitric Oxide Mechanism(s) and Physiologic versus Pathophysiologic Relevance, All AJRCMB Issues, Vol. 32, No. 4, Apr, 2005
- 212.** Diana L. Diesen, Douglas T. Hess, and Jonathan S. Stamler. Hypoxic Vasodilation by Red Blood Cells, Circulation Research. 2008;103:545–553
- 213.** Yann S. Dufour, 1, 2 Patricia J. Kiley, 3 and Timothy J. Donohue. Reconstruction of the Core and Extended Regulons of Global Transcription Factors, PLoS Genet. 2010 Jul; 6(7): e10010271
- 214.** Marc W. Merx, Simone Gorressen, Annette M. van de Sandt, Miriam M. Cortese-Krott, Jan Ohlig, Manuel Stern, Tienush Rassaf, Axel Gödecke, Mark T. Gladwin & Malte Kelm. Depletion of circulating blood NOS3 increases severity of myocardial infarction and left ventricular dysfunction, Basic Research in Cardiology (2013) vol 109, n: 398
- 215.** Seligman SP, Buyon SP. The role of nitric oxide in pathogenesis of preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 1994; 171:944-8.
- 216.** Li L, Chen Xu Y. The changes of plasma nitric oxide in patients with pregnancy induced hypertension. Chin J Obstet Gynecol 1996; 31 :454-7.
- 217.** Osawa H. Study on the morphological changes in the placenta of rats administered nitric oxide synthase inhibitor. Acta Obstet Gynecol Japon 1996; 48: 813-20.
- 218.** Bartha JL, Comino-Delgado R, Bedoya FJ, Barahona M, Lubian D, Garcia-Benasach F. Maternal serum nitric oxide levels associated with biochemical and clinical parameters in hypertension in preeclampsia. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 1999; 82: 201-7
- 219.** Ranta V, Viinikka L, Halmesmaki E, Ylikorkala O. Nitric oxide production with preeclampsia. Obstet Gynecol 1999; 93: 442-5

9.ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler:

Adı-Soyadı: Tülay Turan Bütün

Doğum yeri ve tarihi: Sandıklı, 21.04.1989

Uyruğu: T.C

Medeni durumu: Evli

Askerlik durumu:

İletişim adresi ve telefonu: drtulayturan@hotmail.com

Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi:

2008-2015: Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi

2003-2007: Isparta Süleyman Demirel Fen Lisesi

1995-2003: Mirelay Reşatbey İlköğretim Okulu

III- Ünvanları:

IV- Mesleki Deneyimi:

2015-2016: Kızılören Toplum Sağlığı Merkezi

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

VI- Bilimsel İlgi Alanları

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Aldığı burslar

Ödüller

Projeleri

Verdiği konferans ya da seminerler

Katıldığı paneller (panelist olarak)

VIII- Diğer Bilgiler

Eğitim programı haricinde aldığı kurslar ve katıldığı eğitim seminerleri

Organizasyonunda katkıda bulunduğu bilimsel toplantılar

Diğer üyelikleri



10.EKLER

HASTA TAKİP FORMU

- ADI SOYADI: TELEFON KENDİSİ: BOY:
- DOSYA NUMARASI: TELEFON EŞİ: KİLO:
- YAŞ: GRAVİDA: PARİTE: ABORTUS:
- KÜRETAJ:
- ÖZGEÇMİŞ:
- HG:
- MCV:
- SON ADET TARİHİ:
- HCT:
- ANTİHİPERTANSİF KULLANIMI:
- DOĞUM ŞEKLİ:
- TANSİYON:
- BUN:
- KREATİNİN:
- AST:
- ALT:
- PLT:
- TİT PROTEİN:
- MGSO4 TEDAVİSİ: