

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOFİZİK ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof.Dr.Seralp ŞENER
II. Tez Yöneticisi
Yrd.Doç.Dr.Tammam SİPAHİ

**ANJİYOTENSİN DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM VE
ANJİYOTENSİN II TİP 1 RESEPTÖR GEN
POLİMORFİZMLERİNİN TÜRK KADINLARINDA
GÖRÜLEN PREEKLAMPSİ İLE İLİŞKİSİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Nevra ALKANLI

Destekleyen Kurum: TÜBAP 2009/78

Tez No:

EDİRNE-2010

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

ONAY

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyo-fizik Anabilim Dalı
yüksek lisans programı çerçevesinde ve Prof. Dr. S. Seralp Şener danışmanlığında yüksek
lisans öğrencisi Neysra Alkan tarafından tez başlığı
“Angiyotensin Dönüştürücü Enzim ve Angiyotensin II Tip 1 Reseptör
Gen Polimorfizmlerinin Türk Kadınlarında Görülen Preeklampsi
ile İlişkisi” olarak teslim edilen bu
tezin tez savunma sınavı 2.7.2010 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “**Yüksek
Lisans Tezi**” olarak kabul edilmiştir.

İmza

Unvanı Adı Soyadı
JÜRİ BAŞKANI

Prof. Dr. Seralp Şener

İmza

Unvanı Adı Soyadı
ÜYE

Prof. Dr. Levent Öztürk

İmza

Unvanı Adı Soyadı
ÜYE

Doç. Dr. Bolent Sabri
Çiğali

İmza

Unvanı Adı Soyadı
ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Tamınur Sipahi

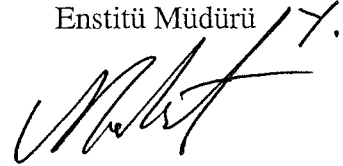
İmza

Unvanı Adı Soyadı
ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Tevfik Gilyapar

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK
Enstitü Müdürü



TEŐEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinden tezimin bitme aŐamasına kadar bana kendileri ile çalışma olanağı sağlayan, bu çalıŐmamın gerçekleŐmesinde yardımlarını ve rehberliklerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Seralp ŞENER'e ve Yrd. Doç. Dr. Tammam SİPAHI'ye, bana daima yardımcı olan değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Tefvik GÜLYAŐAR'a, hasta materyalini sağlamada yardımcı olan değerli hocam Doç. Dr. Tülay KILIÇ OKMAN'a, istatistik yönünden bana yardımcı olan değerli hocam Doç. Dr. Necdet SÜT'e ve her zaman her konuda yardımlarını benden esirgemeyen AraŐ. Gör. Arzu AY BAŞAK'a, Yüksek Lisans Öğrencisi Fulya YÜKÜ'ye, manevi desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen Dr. Fatma GENÇ'e ve aileme sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
ARTERİYEL KAN BASINCI	3
ARTERİYEL KAN BASINCINI MEYDANA GETİREN FAKTÖRLER	4
NORMAL GEBELİKTE KAN BASINCI	5
GEBELİK VE HİPERTANSİYON	6
PREEKLAMPSİNİN PATOFİZYOLOJİSİ	9
PREEKLAMPSİ RİSK FAKTÖRLERİ	13
PREEKLAMPSİNİN SINIFLANDIRILMASI	13
PREEKLAMPSİNİN KOMPLİKASYONLARI	14
PREEKLAMPSİNİN ÖNLENMESİ	16
PREEKLAMPSİNİN YÖNETİMİ	17
PREEKLAMPSİ VE GENETİK	18
RENİN ANJİYOTENSİN SİSTEMİ	19
ANJİYOTENSİN DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM GEN POLİMORFİZMİ	21
ANJİYOTENSİN II TİP 1 RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMLERİ	22
GEREÇ VE YÖNTEMLER	23
BULGULAR	32
TARTIŞMA	37
SONUÇLAR	40
ÖZET	42

SUMMARY	43
KAYNAKLAR	45
ŞEKİLLER LİSTESİ	50
ÖZGEÇMİŞ	52
EK	

SİMGE VE KISALTMALAR

ACE	: Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
AGT	: Anjiyotensinojen
bç	: Baz çifti
DKB	: Diyastolik Kan Basıncı
DNA	: Deoksi Ribonükleik Asit
dNTP	: Deoksi Nükleotid Trifosfat
EDTA	: Etilen DiamninTetra Asetik Asit
HT	: Hipertansiyon
Kb	: Kilobaz
OD	: Optik Dansisite
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	: Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi
SKB	: Sistolik Kan Basıncı
UV	: Ultraviyole
RAS	: Renin Anjiyotensin Sistemi

GİRİŞ VE AMAÇ

Gebelikte hipertansiyon (HT) sık rastlanan bir problemdir ve halen komplikasyonları maternal, fetal mortalite ve morbiditenin en önde gelen nedenlerindedir. Gebelikte görülen HT'nin %70'ini gestasyonel HT-preeklampsi oluşturmaktadır. Bu grup; hafif tansiyon yüksekliğinden, organların fonksiyonlarının etkilendiği ciddi tansiyon yüksekliğine kadar olan geniş bir hasta grubunu içermektedir (1).

Preeklampsi daha önce normotensif olan bir kadının gebeliğin 20. haftasından sonra ortaya çıkan sistolik kan basıncının (SKB) 140mmHg veya üzeri, diyastolik kan basıncının (DKB) ise 90mmHg veya üzeri olduğu ve bunlara proteinürinin eşlik ettiği durumdur (2). Preeklampsi sadece gebeliğe özgü bir bozukluktur ve gebeliğin sonlanmasıyla ortadan kalkmaktadır (3).

Preeklampsi patogenezinde birtakım faktörler etkilidir (1):

- 1) Endotelyal Disfonksiyon
- 2) İnflamatuvar Olaylar
- 3) Oksidatif Stres
- 4) Renin-Anjiyotensin Sistemindeki Dengesizlikler

Tüm bunların sonucunda vazokonstriksiyon olmakta ve kan basıncı yükselmektedir (1). Preeklampside kan basıncının düzenlenmesinde Renin-Anjiyotensin Sisteminin (RAS) gen polimorfizmleri gibi genetik faktörlerin önemli bir rol oynayabileceği öne sürülmektedir (4).

RAS gen sistemi anjiyotensinojen (AGT), renin, anjiyotensin I, anjiyotensin I dönüştürücü enzim (ACE), anjiyotensin II, anjiyotensin II tip 1,2,3 ve 4 gen reseptör tiplerinden (AT1R, AT2R, AT3R ve AT4R) oluşur (5).

Önceki çalışmalarda ACE ve AT1R gen polimorfizmlerinin HT riskini arttırdıkları bulunmuştur. Bu polimorfizmlerin preeklampsi gelişmesinde de rolleri olduğu düşünülmektedir (6).

ACE geni 17.kromozomda lokalizedir. Gen 26 ekson ve 25 intron içerir. Genin 16. intronunda 287 baz çiftlik (bç) bir kısmının tekrarlanmasıyla ACE İnsertion/Deletion (I/D) polimorfizmi meydana gelir (7).

AT1R geni ise 3.kromozomda, 5 ekson ve 4 introndan oluşan bir gendir. AT1R gen polimorfizmi (A1166C) ekson 5'in 3' çevrilmemiş bölgesi 1166.pozisyonunda Adenine/Cytosine (A/C) yer değiştirmesi ile karakterizedir (5).

RAS'ın preeklampsi gelişmesindeki rollerine ait çalışmalar yeni olmakla beraber, gittikçe önem kazanmakta ve sayıları artmaktadır. Bu çalışmalardan bazılarında preeklampsi hastalarında kontrollere göre ACE geni incelendiğinde Deletion polimorfizminin oranı yüksek bulunmuşken bazılarında da bu oranın farklı olmadığı görülmüştür. Yine AT1R (A1166C) gen polimorfizmine bakıldığında bazılarında C1166 polimorfizminin oranı yüksek bulunmuşken bazılarında ise bu oranın farklı olmadığı görülmüştür (6).

Bu çalışmanın amacı Türk kadınlarında ACE (I/D) ve AT1R (A1166C) gen polimorfizmlerinin preeklampsi hastalığının gelişmesindeki olası rollerini araştırmaktır.

Preeklampsi gelişiminde rol oynayan genlerin bilinmesi, bunların rol oynadığı fonksiyon bozukluklarının düzeltilmesine yönelik yeni ilaçların geliştirilmesini sağlayacaktır. Kişisel genetik yatkınlığın belirlenmesi, zamanında ve etkin koruyucu tedbirlerin alınabilmesini sağlayacak, ilaçlara olan kişisel duyarlılığın bilinmesi en doğru ilaç ve dozla tedaviyi mümkün kılacaktır. Çalışmanın ayrıca hastalığın erken teşhis ve tanısının saptanmasında yardımcı bilgiler vereceği düşünülmektedir.

GENEL BİLGİLER

ARTERİYEL KAN BASINCI

Kan basıncı dolaşım sistemindeki kanın damar duvarına yaptığı basınçtır. Arteriyel kan basıncı ise atardamar içerisindeki kanın damar duvarına yaptığı basınç olarak tanımlanır.

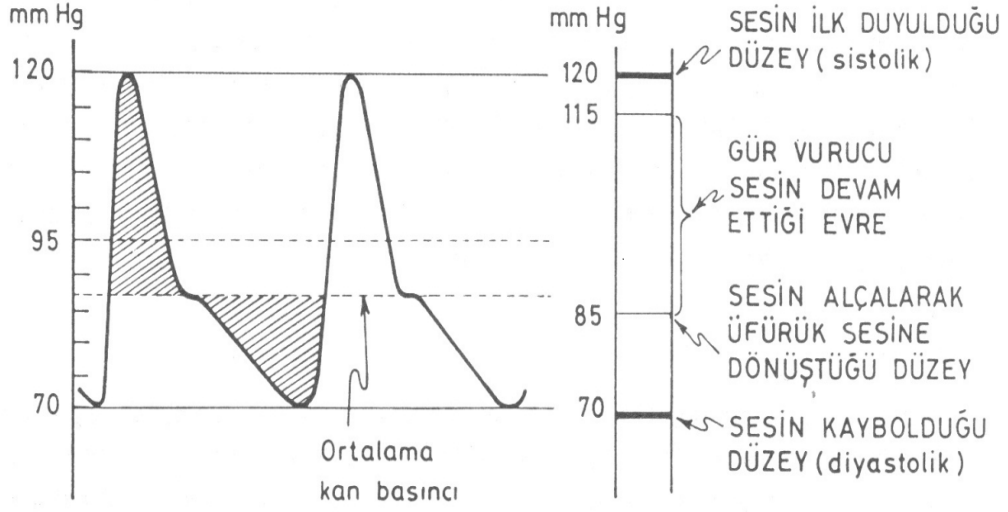
SKB ventrikülün kasılmasına karşılık gelen en yüksek atardamar basıncı değeri, DKB ise en küçük atardamar basıncı değeri olan ve halk arasında küçük tansiyon olarak bilinen değerdir (8).

Normal genç erişkinde SKB yaklaşık 120mmHg ve DKB yaklaşık 80mmHg kadardır (9). Arteriyel kan basıncı sistolik/diyastolik değerler olarak ifade edilir. Bu değerler ele alınırsa; 120/80mmHg olur (10).

Ortalama kan basıncını hesaplamak istersek sistolik ve diyastolik basınçların ortalamasını almak doğru sonuç vermez, gerçek değerden daha yüksek bir değer verir. Bunun nedeni sistolik basıncın diyastolik basınçtan daha kısa sürmesidir (10).

Klinik amaçlar için diyastolik basınca nabız basıncının 1/3'ü ilave edilerek ortalama kan basıncı değeri elde edilir. Örnek olarak; 120/80mmHg değerlerine göre, nabız basıncı 40mmHg'dir. 40mmHg'nin 1/3'ü 13.33 olur. Bu değer, diyastolik basınca ilave edilerek $80+13=93$ mmHg ortalama kan basıncı değerini verir. Halbuki sistolik ve diyastolik basınçların ortalaması alınırsa 100mmHg gibi bir değer verir (10).

120/70mmHg değerlerine göre ise nabız basıncı 50mmHg'dir (Şekil 1). Bu değer 1/3'ü 16.66 olarak bulunur. Bu değer diyastolik basınca ilave edilirse ortalama kan basıncının değeri $70+16.66= 87$ mmHg olur (10).



Şekil 1. İnsanda arteriyel kan basıncı (10)

ARTERİYEL KAN BASINCINI MEYDANA GETİREN FAKTÖRLER

Kan arterler sistemine sol ventrikülden girer, arteriyoller yoluyla sistemi terk eder. Giren miktar kalbin pompaladığı kan miktarına bağlıdır. Çıkan miktar ise, arteriyollerin yarattığı dirence bağlıdır. Eğer arterler sistemine çok kan girer, az kan bu sistemi terk ederse; başka bir deyişle, kalp çok kan pompalar fakat arteriyol direnci artarsa, kan basıncı yükselir. Kan basıncı kalbin pompaladığı kan miktarı ve periferik dirençle doğru orantılıdır. Arter çeperi esnekliğinin ortalama kan basıncı üzerine etkisi önemli değildir; bu esneklik nabız basıncı üzerine daha çok etkilidir (10).

Herhangi bir boru içinde sıvı akışı, borunun iki ucu arasındaki basınç farkı (ΔP) ile doğru orantılı, direnç (R) ile ters orantılıdır. Buna göre;

$$\text{Akış} = \Delta P / R \text{ olur (10).}$$

Bu denklem damarlar sistemi için de geçerlidir ve Akış=Kalp Debisi olarak ifade edilir. ΔP borunun iki ucu arasındaki basınç farkı ise kan damarları sisteminde;

$\Delta P = \text{Ortalama Aorta Basıncı} - \text{Vena kava'nın Son Ucu Basıncı}$ olur. R tüm kan damarları sistemindeki dirençtir. Bunları denklemde yerine koyarsak;

$\text{Kalp Debisi} = (\text{Ortalama Aorta Basıncı} - \text{Vena kava Basıncı}) / (\text{Total Periferik Direnç})$ olur. Vena kava'nın son ucunda basınç 0 olduğundan denklem;

$$\text{Kalp Debisi} = (\text{Ortalama Aorta Basıncı}) / (\text{Total Periferik Direnç}) \text{ ya da}$$

$\text{Arteriyel Basınç} = \text{Kalp Debisi} \times \text{Total Periferik Direnç}$ olur. Kalp debisi ya da sistemik vasküler direnç artışı, bazen ise her ikisinin de birden artması sonucunda arteriyel

kan basıncı yükselir. Sistemik vasküler direncin artışından ise arteriyoler tonüs artışı ile arteriyel duvar kalınlaşması, bazen de her ikisi birden sorumlu olmaktadır (10).

NORMAL GEBELİKTE KAN BASINCI

Gebelik, kalp damar sistemi üzerinde önemli bir yük oluşturmaktadır (11). Gebelikte birtakım hemodinamik değişiklikler görülmektedir (Tablo 1). Kan basıncı gebeliğin erken döneminde düşer; diyastolik değerler gebeliğin ortalarına gelindiğinde gebelik öncesi değerlerin ortalama 10mmHg altına düşer. Kan basıncındaki düşme, vazodilatasyon sonucu olan periferik vasküler direncin düşmesiyle belirgin olarak ilişkilidir (2). Vazodilatasyondan östrojen ve progesteronun damar düz kasına yaptığı gevşetici etki sorumludur. İlave faktörler vazodilatatör prostaglandin E ve prostaglandin I2 düzeylerinde artış; renin, anjiyotensin gibi vazopressörlerin etkisine karşı olan dirençtir (12).

Bununla birlikte hangi temel mekanizmanın aracılık ettiği esas değildir, prostasiklin ve nitrik oksit gibi lokal mekanizmaların da rolleri vardır (2).

Periferik vasküler rezistans gebeliğin sonuna doğru artar, ancak yine de gebelik öncesi seviyelerinden daha düşük olarak kalır. Kan basıncında meydana gelen artışın karşılığı olarak, 3.trimesterde normal gebelik öncesi değerlere ulaşır. Bu dönemde kardiyak debi, göreceli olarak sabit kalır (2).

Kardiyak debi, belirgin vazodilatasyondan dolayı kan basıncını korumak için yaklaşık %40 artar. Kardiyak debideki bu artış ayrıca uterus ve fetusun yeterli oksijenizasyonunun sağlanması ve maternal metabolik hızdaki artışın desteklenmesi için gereklidir. Kardiyak debideki artış esas olarak 1.trimester sırasında atım volümü ve kalp hızındaki artışın sonucudur. Bundan başka kan basıncındaki geçici artışlar erken postpartum dönemde görülmektedir (2).

Tablo 1. Gebelik sırasında görülen hemodinamik değişiklikler (11)

PARAMETRE	GEBELİKTEKİ DEĞİŞME
KALP HIZI	+12 Vuru/dakika
ATIM HACMİ	+ %27
KALP DEBİSİ	4.6-6.0 Litre/dakika
KAN HACMİ	+ %30-50
PLAZMA HACMİ	+ %45-%50
ERİTROSİT HACMİ	+20

GEBELİK VE HİPERTANSİYON

HT'ye tüm gebeliklerin %6-20'sinde rastlanmaktadır. HT, dünyadaki hem maternal hem de perinatal mortalitenin en sık rastlanan dört sebebi arasında yer alır (13).

Dünya Sağlık Örgütü tarafından yedi ülkede gerçekleştirilmiş bir çalışmada gebelerde diyastolik HT'ye %5-33, proteinüriye %0.9-21, ödeme %1-38 gibi çok farklı oranlarda rastlanmıştır (14).

Gebelikten önce de mevcut olan HT ile gebeliğin neden olduğu HT (PIH=Pregnancy Induced Hypertension) ayrımı kritiktir. Bunların patofizyolojileri ayrı, gerek maternal gerekse fetal prognozları farklı olup bunlara bağlı olarak tedavileri de farklıdır. İkisinin bir arada olabileceği durumlar da görülebilir (13).

Son yıllarda gebelikte birlikte bulunan hipertansif hastalıkları tarif etmede kullanılan terminoloji ve sınıflandırma gittikçe karışık ve yanıltıcı olmaktadır (13).

Gebelikte HT konusunda terminolojik farklılıklar ve karışıklıklar olması üzerine gebelikte görülen HT beş gruba ayrılmıştır:

- 1) Gestasyonel HT
- 2) Kronik HT
- 3) Kronik HT Zemininde Gelişen Preeklampsi
- 4) Preeklampsi
- 5) Eklampsi

Gestasyonel HT

Önceden gebeliğin indüklediği HT veya geçici HT olarak adlandırılan gestasyonel HT tanısı için kan basıncı değeri ilk defa gebelik sırasında 140/90mmHg ya da daha fazla değere yükselmiş olmalı, bu duruma proteinüri eşlik etmemeli ve postpartum 12.haftaya kadar kan basıncı değeri normal değerine dönmelidir. Bu yüzden gestasyonel HT tanısı ancak doğumdan sonra mümkün olur. Preeklampsinin baş ağrısı, trombositopeni, epigastrik hassasiyet gibi bulguları eşlik edebilir. Bu bulgular eşlik ederse hastada preeklampsi gelişme riski daha yüksektir (14).

Kronik HT

Kronik HT tanısı koyabilmek için;

- Gebelikten önce de kan basıncının 140/90mmHg üzerinde olması
- 20.gebelik haftasından önce kan basıncının 140/90mmHg üzerinde ölçülmesi (gestasyonel trofoblastik hastalık yokluğunda)

- Postpartum 6.hafta sonrasında da kan basıncının 140/90mmHg üzerinde devam etmesi

gerekmektedir. Kronik HT genellikle multigravid, obez, 30 yaş üstü hastalar ile diğer organ patolojileri (diabet, renal hastalık, vb) olan hastalarda sıktır. Etyolojisi multifaktöriyel olmasına karşın büyük bir kısmında HT sebebi bilinmemektedir (Esansiyel HT). HT’de güçlü bir aile hikayesi mevcuttur. Hasta gebe olsun veya olmasın kronik HT; ventriküler hipertrofi ve buna bağlı kardiyovasküler yetersizlik, serebrovasküler olay ile böbrek hasarına neden olur. Bu yüzden önemli bir morbidite nedenidir. Gebelikte kronik HT’si olan kadınlarda süperempoze preeklampsi, dekolman plasenta, fetal gelişme geriliği ve prematürite riski artmıştır. Eğer hasta 20.gebelik haftasına kadar görülmemişse hastaya kronik HT tanısı koymak zorlaşır. Kan basıncı gebelikte özellikle 2.trimester ve 3.trimester başlarında düşmekte, daha sonra tekrar yükselmektedir. Bu yüzden preeklampsi ve kronik HT ayrımı yapılamaz. Ancak postpartum HT’nin devam etmesi ile ayırıcı tanı yapılabilir (14).

Kronik HT olgularının preeklampside ayırıcı tanısında kullanılan belirli klinik özellikler vardır (Tablo 2). Postpartum 42.günden sonra kan basıncı yüksekliğinin devam etmesi de kronik HT olarak kabul edilir (2).

Tablo 2. Gebelik sırasında görülen preeklampsi ve kronik hipertansiyonun ayırıcı tanısı (11)

	KRONİK HİPERTANSİYON	PREEKLAMPSİ
YAŞ	YAŞ > 30	YAŞ < 20
DOĞUM SAYISI	MULTİPAR	PRİMİGRAVİDA
BAŞLANGIÇ	20.HAFTADAN ÖNCE	20.HAFTADAN SONRA
KİLO ARTIŞI VE ÖDEM	TEDRİCİ	ANİ
SİSTOLİK KAN BASINCI	> 160mmHg	<160mmHg
GÖZ DİBİ	A-V ÇENTİKLENME, EKSÜDA	SPAZM, ÖDEM
PROTEİNÜRİ	YOK	VAR
PLAZMA ÜRİK ASİDİ	NORMAL	ARTMIŞ
GEBELİK SONRASI KAN BASINCI	YÜKSEK	NORMAL

Kronik HT Zemininde Gelişen Preeklampsi

Kronik HT tanısı konmuş bir gebede 20.gebelik haftasından sonra kan basıncının yükselmesi ve buna proteinüri eklenmesidir. Kronik hipertansif bir gebede preeklampsi gelişmesi gebe için önemli bir tehlikedir. Kronik hipertansif gebelerin %25 ve fazlasında süperempoze preeklampsi görülür. Ayrıca bu hastalarda plasenta dekolmanı riski de belirgin olarak artmıştır(14).

Kronik HT'si olan gebeler tipik olarak 24.gebelik haftasından sonra daha da kötüleşir ve kronik HT olmadan preeklampsi gelişen gebelere göre durumları daha ağır seyreder. Ayrıca kronik HT zemininde preeklampsi gelişen hastalarda fetal gelişme geriliği insidansı daha fazladır (14).

Preeklampsi

Preeklampsi, bilinen bir nedeni olmayan ve sadece insan gebeliği sırasında görülen bir multisistem hastalıktır. Plasentasyona anormal vasküler cevaba bağlı olarak yüksek sistemik vasküler direnç, platelet agregasyonunda artış, koagülasyon sisteminde aktivasyon ve endotel hücre disfonksiyonu ile karakterizedir (15).

Preeklampsi tanısı genelde HT ile proteinürinin birlikte olması halinde konur. Hamileliğin 20.haftasından sonra ve eskiden normotensif olan bir kadında, kan basıncının 4-6 saat aralıkla en az iki ölçümde en düşük 140 mmHg (sistolik) veya 90mmHg (diyastolik) olarak tespit edilmesi halinde HT tanısı konur. Tanıyı kesinleştirmek için kan basıncı ölçümleri arası yedi günden fazla olmamalıdır. Eğer kan basıncı en az 160 mmHg (sistolik) ve/veya en az 110mmHg (diyastolik) biçiminde uzun süreli yükselmeler gösteriyorsa HT ciddi kabul edilir (15).

Proteinüri, 24 saatte idrarla 300 miligram veya daha fazla protein atılması şeklinde tanımlanır. Eğer 24 saatlik idrar toplanmamışsa, 4-6 saat arayla alınmış iki idrar örneğinde protein konsantrasyonunun 300miligram/litre veya üzerinde olması (dipstikle \geq 1+) halinde de proteinüri var demektir. Proteinüriyi belirlemek üzere yapılan iki idrar dipstik ölçümü arasında yedi günden fazla geçmemelidir. Ancak, bu kriterler Amerika Birleşik Devletleri dışındaki çalışma gruplarınca desteklenmemektedir. Doğru preeklampsi tanısı obez kadınlarda önem taşıyan doğru kan basıncı ölçümlerine bağlıdır (15).Yapılan çalışmalarda dipstik ile tespit edilen protein düzeyi ve 24 saatlik idrardaki protein miktarı arasında zayıf bir korelasyon vardır. O yüzden 24 saatlik idrarla protein miktarı proteinüri için ara belirleyici test olmalıdır (14).

Preeklampsi zaman zaman renal damarlardaki spazm ile karakterize bir durum olduğu için farklı idrar örneklerinde değişen miktarlarda protein bulunur. İdrardaki protein miktarı kan, bakteri, vajinal sekresyon ve amniyon sıvısı kontaminasyonu ile değişebilir. Dansitenin 1010'un altında ya da 1030'un üzerinde olması, pH'nın 8'in üzerinde olması ile egzersiz ve postür de proteinüri miktarını değiştirebilir (14).

Ödem; serum kolloid onkotik basıncının düşmesi ve kapiller permeabilitenin artmasıyla oluşur. Preeklampitik hastalarda, hem proteinüri hem de vasküler endotel hasarı ile permeabilite artışı ve ödem oluşur. Bazı çalışmalarda hafif ve orta derecede ödemin %80 oranında görüldüğünün gösterilmesi, ödemin tanındaki yerinin sorgulanmasına neden olmuştur (14).

Eklampsi

Eklampsi, preeklampsinin semptom ve bulgularının olduğu hastalarda; gebelikte, doğum sırasında veya postpartum dönemde oluşan, diğer serebral durumlarla ilgisi olmayan, açıklanamayan koma veya konvulsiyonların gelişmesi olarak tanımlanır. Bu konvulsiyonlar Grand-mall yani tonik-klonik tiptedir (2). Doğumdan 48-72 saat sonra hastada ilk defa görülen Grand-mall konvulsiyonda tanı büyük olasılıkla eklampsidir. Konvulsiyon ve komanın başka nedenleri dışlanmalıdır. Önceki iki dekatta görülme sıklığı 1/700 iken günümüzde insidansı 1/2000-3250 arasındadır (14).

PREEKLAMPSİNİN PATOFİZYOLOJİSİ

Preeklampsinin patofizyolojisi net olarak aydınlatılamamıştır. Patofizyolojisi ile ilgili olarak J.Whitridge Williams (1903), hastalığın kanda dolaşan zararlı bir maddeye bağlı olduğunu ve bu maddenin çeşitli organların küçük damarlarında tromboza neden olarak, organlarda dejeneratif nekrozlarla sonuçlanan bir patolojiye yol açtığını ileri sürmüştür (14).

Preeklampsi-eklampsi patofizyolojisinin temeli vazospazmdır. Bu görüş ilk kez Valhard (1918) tarafından öne sürülmüştür. Hinselmann (1924), Landesman ve arkadaşları da (1954) bunu doğrulayan gözlemler yapmışlardır (14).

Günümüzde damar endotel hasarı ve vazospazmın preeklampsi patofizyolojisinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Vazospazm ile kan akımına karşı direnç ve arter basıncında artış olur. Damar endotel hasarı ve vazospazm oluşumunda artmış presör cevap, prostaglandinler, nitrik oksit, endotelin, vasküler büyüme faktörü, genetik predispozisyon, immünolojik faktörler, inflamatuvar faktörler ve sonuçta endotelial hücre aktivasyonu ile yakın ilişki gösterilmiştir (14).

Preeklampsinin patofizyolojisini açıklamaya çalışan teoriler şunlardır (2):

- 1) Preeklampsinin Plasentasyon ve Anormal Trofoblastik İnvazyon Teorisi
- 2) İmmünolojik Teori
- 3) Endotelyal Hücre Disfonksiyonu ve İnflamasyon Teorisi
- 4) Aktive Olmuş Koagulasyon
- 5) Genetik Predispozisyon

Preeklampsinin Plasentasyon ve Anormal Trofoblastik İnvazyon Teorisi

Bu teoride, trofoblastların maternal desidua ve myometriyumdaki arteriyollere invazyonunda yetersizlik olduğu ve bu durumda da immünolojik faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir (2).

Fetus genlerinin yarısını babadan alır ve bu paternal allograft ile ilk karşılaşma implantasyon sırasında maternal desiduanın trofoblastlar tarafından invazyonu ile olmaktadır. Trofoblastların invazyonu iki aşamada gerçekleşir. Birinci aşama spinal arteriyollerin desidual segmentindeki endovasküler trofoblast invazyonudur, bu olay 1.trimesterde gerçekleşir. İkinci aşama ise myometriyumun iç 1/3'ündeki arteriyollerin invazyonudur ve bu da 2.trimesterde gerçekleşir. Trofoblastik invazyon ile ekstravillöz sitotrofoblastlar, maternal spinal arterlerdeki düz kas hücrelerinin yerini alır. Bu yapı değişikliği ile spinal arterler; düşük dirençli, düşük basınçlı, yüksek akımlı damar yapısına dönüşür. Preeklampsi ve fetal büyüme geriliği ile komplike gebelerde plasentasyona maternal vasküler yanıtın yetersiz olduğu gösterilmiştir. Bu gebelerde, vasküler değişiklikler sadece uteroplental arterlerin desidual segmentinde görülür. Dolayısıyla spinal arteriyollerin myometriyal segmenti muskuloelastik yapısını sürdürür. Plasentasyonun bu defektli vasküler cevabı, endovasküler trofoblast migrasyonunun ikinci aşamasının inhibisyonu sonucunda ortaya çıkar. Bu patolojik değişiklikler, fetoplental ünitenin artmış kan miktarına ihtiyacının olacağı gebeliğin ileri evrelerinde yetersizliğe yol açar ve uteroplental kan akımında azalmayla birlikte gerçekleşir (2).

İmmünolojik Teori

Bu yetersizliğin, trofoblastların spinal arterlere invazyonunu engelleyen immünolojik bir problem nedeniyle olduğu düşünülmektedir. Bu durum ilk gebelikte olduğu gibi bir önceki gebeliğin elektif bir immünizasyon gerçekleştirilmede yetersiz kaldığı durumlarda da ortaya çıkabilir veya çoğul gebeliklerde olduğu gibi plasenta tarafından sunulan antijenik alanların antikör miktarıyla karşılaştırıldığında bazen oldukça fazla olabildiği koşulda görülebilir.

Preeklampsinin yaygın olarak ilk gebeliklerde olması, multiporlarda ise yeni eşinden veya donör inseminasyon sonucu gebe kalmasıyla preeklampsi riskinin artması immünolojik teoriyi desteklemektedir (2).

Endotelial Hücre Disfonksiyonu ve İnflamasyon Teorisi

Preeklampside meydana gelen yetersiz trofoblast invazyonu sonucunda desidual dokuda serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidazın üretimi artar. Bunlar maternal dolaşıma geçer ve endotel hasarına sebep olur. Lipid peroksidaz, siklooksijenaz (COX) enzimini aktive ederek endotelial prostaglandin (PGI₂) sentezini bozar, serbest radikaller ise vazokonstriktör olan endotelinleri artırır (2).

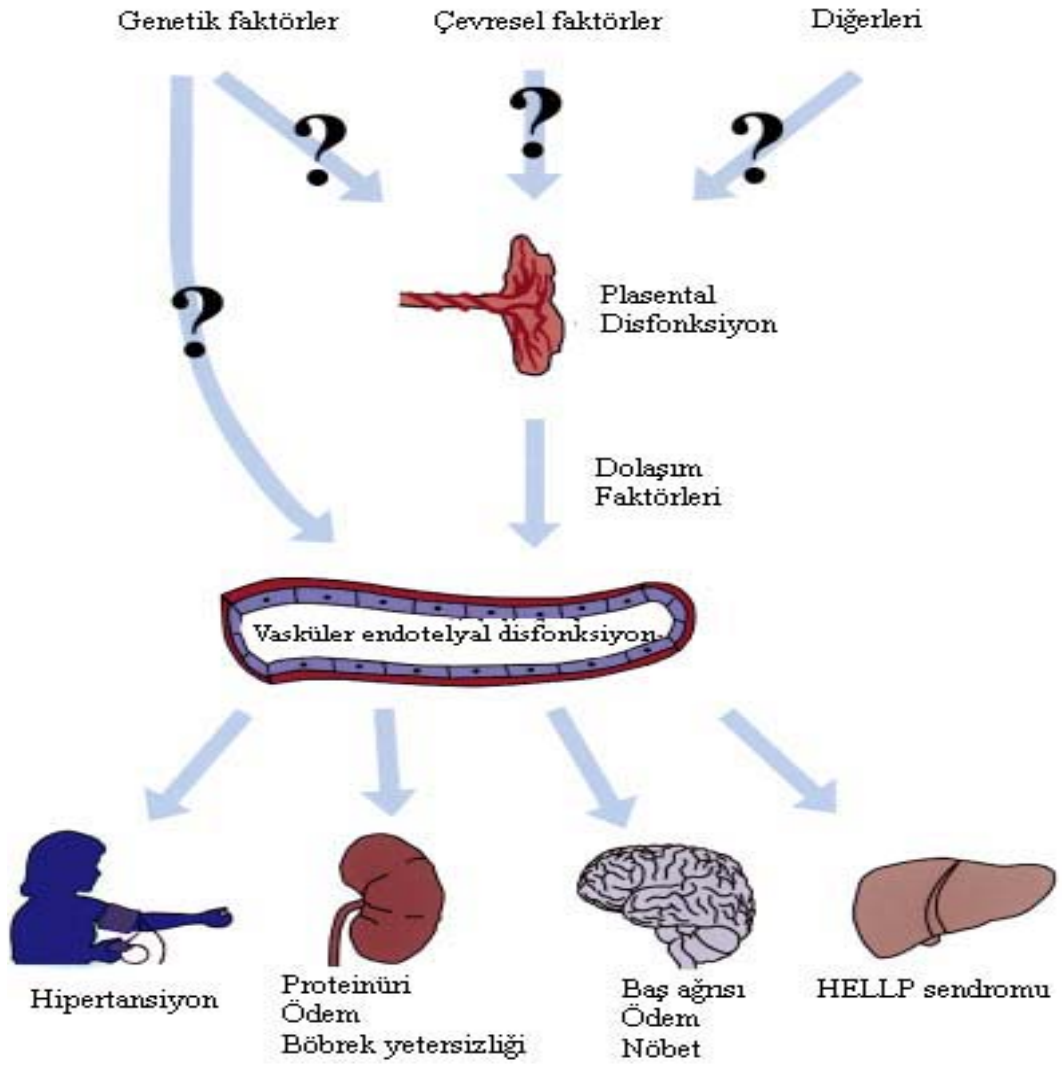
Desidua aktive olduğunda bol miktarda inflamatuvar hücre içerir ve immünolojik metabolizmaya sekonder olarak nötrofil aktivasyonu başlar. Özellikle tümör nekrozis faktör alfa (TNF α) ve interlökinler (IL) gibi sitokinler oksidatif strese katkıda bulunurlar (2).

Preeklampitik gebeler, normal gebelere göre vazokonstriktörlere daha duyarlıdırlar. Bu durumun endotel hasarına sekonder olarak prostasiklin gibi vazodilatatörlerin rölatif eksikliğinden dolayı olduğu düşünülmektedir. Artmış hassasiyetin sonucunda arteriyel ve venöz vazokonstriksiyon oluşmakta, bu da hipertansiyon, plazma volümünde azalma ve periferik ödemle sonuçlanmaktadır (2).

Damar endotelinin hem endokrin hem de metabolik fonksiyonları vardır. Damar endoteli vasküler bütünlüğü sağlar, intravasküler koagülasyonu önler, ayrıca vazodilatatör maddelerin sekresyonunu sağlar. Endotelden salgılanan prostaglandin I₂, nitrik oksit, prostaglandin E gibi vazodilatatör maddelerin vazodilatasyon etkilerinin dışında örneğin prostaglandin I₂'nin trombosit agregasyon inhibisyonu ve trombolizis, nitrik oksit'in de trombosit adezyon ve agregasyon inhibisyonu gibi etkileri vardır (2).

Preeklampside vazodilatatör ve vazokonstriktör Tromboksan A₂, anjiyotensin II gibi maddeler arasındaki denge bozulmuştur. Tromboksan A₂ / prostaglandin I₂ oranının tromboksan lehine bozulması vazokonstriksiyona, trombosit agregasyonunda artmaya ve plasental perfüzyonda azalmaya yol açar (2).

Endotel hücre disfonksiyonun preeklampsi patofizyolojisinde anahtar rol oynadığı düşünülmektedir (Şekil 2). Hasar görmüş endotelde ayrıca endotelin ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü gibi vazokonstriktör ve mitojen maddelerin üretilmesi başlar. Endotel hücreleri damar bütünlüğünü de sağladığından bu hücrelerin harabiyeti, hücre membran bütünlüğünün bozulmasına ve bunun sonucu olarak da protein kaybına yol açar. Sonuçta preeklampitik gebelerde ödem gelişir (2).



Şekil 2. Preeklampsi patofizyolojisinde endotel hasarının önemi (1)

Aktive Olmuş Koagulasyon

Gebeliğin sağlıklı devamı ve başarıyla sonuçlanması plasental dolaşımın yeterli gelişmesini gerektirir. Plasental dolaşımda meydana gelen trombüsler, preeklampsi, intrauterin gelişme geriliği ve ölümüyle sonuçlanabilir (2).

Endotel hücrelerinin fonksiyonlarından biri olan intravasküler koagülasyonun önlenmesi endotel hasarıyla birlikte bozular. Endotel hasarıyla trombosit adezyon ve agregasyonu oluşur, tromboksan ve serotonin salgılanmasıyla bu durum daha da hızlanır. Sonuçta koagülasyon sisteminin aktivasyonu ile lokal trombüsler gelişir. Hiperkoagülasyon ve vazokonstriksiyon sonucu hipoperfüzyon; onun da sonucu olarak organlarda ve placentada iskemi ve nekrozlar meydana gelir (2).

Endotel ile örtülmüş damarlarda yeterli kan akımının sağlanması ve damar onarımı için prokoagulanlarla antikoagulanlar arasındaki denge önemlidir. Preeklampside doğal antikoagulan ya da bir yetmezlik olduğu düşünülmektedir. Gebelikte zaten var olan hiperkoagulobilité durumuna kazanılmış veya herediter koagulopatilerin eklenmesi preeklampsi ve komplikasyonlarına yatkınlığı arttırır (2).

Genetik Predispozisyon

Preeklampsi ve eklampsiye kalıtsal eğilimin olabileceği yönünde çalışmalar mevcuttur. Anne ya da kız kardeşte preeklampsi öyküsünün olması, riski arttırır. Kilpatrick ve arkadaşları (1989) multifaktöriyel kalıtımın rolü ile ilgili HLA-DR4 (insan lökosit antijenleri) ile preeklampsi arasında ilişki bildirirken, Hayward ve arkadaşları (1992) kendi çalışmalarında böyle bir ilişki bulamamışlardır (2).

PREEKLAMPSİ RİSK FAKTÖRLERİ

Başlıca preeklampsi risk faktörleri aşağıda sıralanmıştır (2):

- 1) Daha önceki gebeliğinde preeklampsi veya eklampsi hikayesi
- 2) Nulliparite
- 3) İleri anne yaşı (40 yaş üstü)
- 4) Çoğul gebelik
- 5) Kronik hipertansiyon
- 6) Kronik renal hastalık
- 7) Genetik (Anne ve/veya kız kardeşte preeklampsi öyküsü varsa risk artar.)
- 8) Diabetes mellitus
- 9) Antifosfolipid sendromu
- 10) Non-immun hidrops fetalis
- 11) Gestasyonel trofoblastik hastalık

PREEKLAMPSİNİN SINIFLANDIRILMASI

Preeklampsi hafif ve ağır preeklampsi olmak üzere iki gruba ayrılır:

1) Ağır Preeklampsi:

- Kan basıncının en az 6 saat arayla ölçülmesi sonucunda sistolik basıncın 160mmHg ve üzeri, diyastolik basıncın 110mmHg ve üzeri bulunması

- 24 saatlik idrarda 5 gram ve üzeri proteinüri saptanması, en az 4 saat arayla yapılan iki rastgele alınmış idrar örneğinde dipstikle 3+ ya da daha fazla proteinüri saptanması
- Oligüri (24 saatlik idrar çıkışının 500 mililitreden az olması)
- Serebral ya da vizüel bozukluklar (göz dibi muayenesinde papilla ödemi, eksüda ya da hemoraji saptanması)
- Pulmoner ödem veya siyanoz
- Epigastrik ağrı veya sağ üst kadran ağrısı
- Karaciğer fonksiyonlarının bozulması
- Trombositopeni
- Fetal büyüme geriliği

Bu bulguların dışında kalan hastalar hafif preeklampitik olarak değerlendirilir (14).

Renal tutulum ağır olduğu zaman, renal damar vazospazmı ve glomerüler filtrasyondaki azalmaya bağlı olarak plazma kreatinin seviyesi artar. Plazma ürik asit konsantrasyonu ağır preeklampitik hastalarda daha fazla olmak üzere yükselmiştir. Proteinüri, preeklampitik hastalarda glomerüler lezyonlara bağlıdır ve geç dönemde ortaya çıkar. Ferrazzoni (1990), hipertansiyonun proteinüri ile birlikteliğinin perinatal mortalite ve morbidite riskini arttırdığını göstermiştir (14).

Karaciğer enzim artışı ve epigastrik ağrı ise hepatoselüler nekroz, iskemi ve ödemden kaynaklanır. İskemi sonucu infarkt hatta subkapsüler kanama oluşarak şiddetli ağrıya yol açabilir ve nadir de olsa karaciğer rüptürü izlenebilir. Trombositopeni ise endotel aktivasyonu sonrası oluşan vazospazm sonucunda trombosit aktivasyonu ve agregasyonu ile seyreden mikroanjyopatik hemoliz nedeniyledir. Mikroanjyopatik hemoliz nedeniyle hemoglobinemi, hemoglobinüri ve hiperbilirubinemi oluşması hastalığın ağırlığını gösterir (14).

Görme bozukluğu preeklampside izlenebilir. Ancak körlük sık izlenen bir bulgu değildir ve geçicidir. Retinal arter vazospazmı ve retina dekolmanı körlük etyolojisinde sorumlu tutulan iki faktördür. Preeklampitik hastalarda eklampsi gelişiminin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Eklampside serebral kan akımında değişiklik olmaktadır. Patofizyolojik olayın serebral vazospazm olduğu düşünülmektedir (14).

PREEKLAMPSİNİN KOMPLİKASYONLARI

Preeklampsinin komplikasyonları fetal ve maternal komplikasyonlar olmak üzere iki grupta toplanır (3):

1) Fetal Komplikasyonlar:

- Fetal gelişme geriliği
- Perinatal ölüm (dekolman plasentaya bağlı)
- Prematüre doğum
- Oligohidroamnias
- Fetal asfiksi

2) Maternal Komplikasyonlar:

- Konvülsiyonlar
- Akut böbrek yetmezliği
- Kalp yetmezliği
- Pulmoner ödem
- İntrakraniyel kanama
- Serebral ödem
- Körlük
- Karaciğer subkapsüler hematomu ve rüptürü
- Akut karaciğer yetmezliği
- Abruptio placentae-Damar içi koagülasyon
- Hellp Sendromu

HELLP SENDROMU

Hellp sendromunu ilk kez Weinstein 1985'te tanımlamıştır. Ciddi karaciğer tutulumu ile birlikte endotel hasarına bağlı trombosit agregasyonu ve mikroanjyopatik hemolitik anemi ile karakterizedir. Tüm preeklampsiklerin %2-12'sinde, ağır preeklampsi ve eklampsi olgularının %20'sinde tespit edilmiştir. Olguların %70'inde antepartum, %30'unda postpartum görülür. Hastaların çoğu 27.-36. gebelik haftaları arasındadır .

Hellp sendromu hemoliz-H (hemolysis), karaciğer enzim yüksekliği-EL (elevated liver enzyme), düşük platelet sayısı-LP (low platelets) ile karakterize bir durumdur.

Hellp sendromu komponentleri

- 1) Karaciğer enzimleri (SGOT ve SGPT) > 70 Ünite/Litre
- 2) Düşük trombosit sayısı <100000

- 3) Hemoliz: Anormal periferik yayma, 600IU üzerinde Laktat Dehidrojenaz (LDH) ve bilirubin düzeyinde artma (>1.2miligram/desilitre)
- 4) Bulantı, kusma, şiddetli epigastrik ağrının yanında sıklıkla sağ üst kadranda ağrısı tabloya eşlik eder (14).

PREEKLAMPSİNİN ÖNLENMESİ

Preeklampsisi gelişmesini önlemek ve insidansını azaltmak için birçok klinik çalışma yapılmıştır. Ancak hastalığın etyolojisinin multifaktöriyel olması ve tam olarak bilinmemesi nedeniyle yapılan tedavilerin hiçbiri hastalığı önlemede tam olarak etkili değildir (14).

Çeşitli risk faktörlerine sahip kadınlarda preeklampsiyi engellemek üzere protein veya tuz kısıtlanmasını; çinko, magnezyum, balık yağı veya vitamin C ve E desteğini; diüretik ve diğer antihipertansif ilaçların veya heparinin kullanımını değerlendiren birkaç çalışma vardır (15).

Diyetin düzenlenmesi, düşük doz aspirin tedavisi ve antioksidanlar preeklampsiyi önlemeye yönelik güncel girişimlerdir (14).

Diyetin Düzenlenmesi

Preeklampsiyi önlemede bilinen en eski yöntem sodyum kısıtlamasıdır. Ancak yapılan randomize kontrollü klinik çalışmalarda sodyum kısıtlayıcı diyetin gebelikte görülen hipertansiyonu önlemede etkisiz olduğu gösterilmiştir (14).

İlk kez Belizon (1989) diyetle kalsiyum alımında azlığın gebeliğe bağlı hipertansif hastalık gelişiminde etkili olduğunu göstermiştir. Preeklampside hiperparatiroidizm gelişmesi ile iyonize kalsiyumun artarak düz kaslarda kasılmaya ve bunun da kan basıncında artmaya yol açtığı gösterilmiştir. Diyetle verilen kalsiyum ile hiperparatiroidinin önlenmesi düşünülmektedir. Bucher (1996) preeklampsinin önlenmesinde kalsiyumun etkili olduğunu göstermiştir. Ancak Levin ve arkadaşları (1997), 4589 sağlıklı nullipar hastayı kapsayan çalışmada hastalara diyetle günde 2gr kalsiyum ve plasebo vermişler, verilen kalsiyumun gebelikte görülen hipertansif hastalıkların hiçbirini engellemediğini göstermişlerdir. Yine Sıbai (1998) ve Crowther (1999) kalsiyumun etkisiz olduğunu göstermişlerdir. Preeklampsinin önlenmesinde kalsiyum alınması önerilmemektedir (14).

Diyetle balık yağı kapsülleri verilerek dışarıdan esansiyel yağ asidi verilmiş ve prostaglandinlerin dengesini prostasiklin yönüne çekmek amaçlanmış, ancak etkili olduğu gösterilememiştir (14).

Düşük Doz Aspirin

Aspirin düşük dozlarda tromboksan A2 sentezini selektif olarak baskılamakta ve bu etkisini siklooksijenazı irreversibl inhibe ederek gerçekleştirmektedir. Günlük 60-100 miligram aspirin desteğinin preeklampsiyi önlemede etkili ve etkisiz olduğunu gösteren çalışmalar vardır (14).

Vainio ve arkadaşları (2002) aspirin kullanımının preeklampsi ve gebelik hipertansiyonu insidansını anlamlı olarak azalttığını göstermişlerdir. Özellikle 37.gebelik haftası öncesi preeklampsi görülme insidansı belirgin olarak azalmıştır. Yapılan çalışmalarda düşük risk grubunda olan hastalarda düşük doz aspirin kullanımı preeklampsiyi önlemede etkisiz bulunmuş, ancak yüksek riskli hastalarda etkili olduğu ve bu hasta grubunda kullanılabileceği belirtilmiştir. Düşük doz aspirin kullanımına 14.-16.gebelik haftaları arasında başlanması önerilmektedir ve düşük doz aspirinin hem anne hem de fetusta güvenli olduğu düşünülmektedir (14).

Antioksidan Tedavi

Preeklampside oksidatif strese maruz kalınmaktadır. Yapılan çalışmalarda E ve C vitamini verilmesinin endotel hücre aktivasyonunu azaltarak preeklampsi insidansında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. Chappell (1999) günlük 1000 miligram C vitamini ve 400 miligram E vitamininin preeklampsiyi önlediğini göstermiştir. Ancak bunun için daha geniş randomize kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır (14).

PREEKLAMPSİNİN YÖNETİMİ

Preeklampside yönetim hafif ve ağır preeklampside yönetim olarak iki şekilde sınıflandırılır (14).

Hafif Preeklampside Yönetim:

- Bu grupta altta yatan patoloji hafiftir.
- Annenin hayatı ciddi tehlikede değildir.
- Gebeliğin devamı anneyi ciddi riske atmaz ve bebek için zaman kazandırır.
- 38 hafta üzerinde doğum gerçekleştirilmelidir. Gebeliğin 40 haftayı aşmasına izin verilmemelidir.
- Vajinal doğum tercih edilen doğum şeklidir.
- Takipte yatak istirahati ve hastanede takibin yararı gösterilememiştir

- Antihipertansif tedaviye gerek yoktur.
- Antenatal takipte:
 - Evde her gün kan basıncı ölçümü
 - Haftada iki kez dipstik ile idrarda proteinüri takibi
 - Haftada bir kere kanda ürik asit, karaciğer enzimleri (SGOT, SGPT), bilirubin ve tam kan sayımı
 - Fetusun gelişimi, amnion sıvı miktarı ve fetal iyilik hali yakından takip edilmelidir. Fetal endikasyon doğarsa doğum gerçekleştirilmelidir.
- Doğumdan 6 hafta sonra kan basıncı normale dönmüyorsa hipertansiyon, etyolojisi açısından araştırılmalıdır.

Ağır Preeklampside Yönetim

Ağır preeklampsi anne hayatını tehdit eden bir hastalıktır. Obstetrik acil bir durumdur ve gebeler yoğun bakımın gerektiği, ciddi olarak hasta kişilerdir. Kesin tedavisi doğum olmakla birlikte, doğumun kendisi hastanın genel sağlık durumunu düzeltmez. Dolayısıyla hastanın klinik ve laboratuvar durumunun tüm detayları ile ortaya konulması ve hemodinamik dengenin sağlanması gerekir. Anne ve çocuk açısından olumlu sonuçların elde edilebilmesi için bu tip gebelerin bir ekip anlayışı içinde ve uygun koşulların bulunduğu merkezlerde takipleri gerekmektedir (14).

PREEKLAMPSİ VE GENETİK

Preeklampsi ve genetik faktörler arasında ilişki olabileceği düşüncesi, preeklampsi olan olguların annesi, kızı, kız kardeşi ve torunlarında preeklampsi riskinin arttığı gözlemine dayanır. Monozigotik dişi ikizlerde, ikiz eşlerinin her ikisinde birden preeklampsi gelişme oranı dizogotiklere kıyasla daha yüksektir. Anneye ait genler dışında, fetusa ait genlerin de etkili olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur. Preeklampsi riski fetal kromozom anomalileri mol hidartiform durumlarında da artmaktadır (1).

Preeklampsi oluşumunda genetik faktörlerin etkili olduğu genel anlamda kabul görmeye birlikte, genetik geçiş paterni tartışmalıdır. Preeklampsi oluşumunda etkili olabilecek genlerin geçiş paterninin inkomplet penetranslı otomozal dominant veya resesif geçiş gösterdiğini öne süren çalışmacılar mevcuttur (1).

Bunun yanısıra preeklampsi oluşumunu kolaylaştıran genetik alt yapının iki veya daha fazla maternal gen, çevresel faktörler ve fetal genotip arasındaki karmaşık ilişki sonucu ortaya çıktığını savunan araştırmacılar da vardır. Gerçekten de preeklampsi ile ilişkili belirgin tek bir

genetik mekanizma ortaya konamamıştır. Kan basıncının düzenlenmesi, plasentasyon, spiral damarların yeniden yapılanması, oksidatif stres ve endotel hücre fonksiyonlarında rol alan pek çok gen aynı zamanda preeklampsi oluşumundan sorumlu genler olarak da yorumlanabilirler (1).

Küçük çalışmalarda preeklampsi ile kan basıncı kontrolü, koagulasyon, serbest oksijen radikalleri ile ilgili genlerde polimorfizm gösterilmiş (renin, anjiyotensinojen, endotelyal nitrik oksit sentetaz faktör V leiden, metilentetrahidrofolat, lipoprotein lipaz) fakat kanıtlanamamıştır. Preeklampsi duyarlılığı ile ilgili (2p13, 2p25 ve 9p13) üç potansiyel lokus belirlenmiştir (16). Son zamanlarda belirlenen dördüncü gen 10q22, preeklampitik kardeşler arasındaki maksimal allel paylaşımına sahip gen olup maternal kalıtım göstermektedir (17).

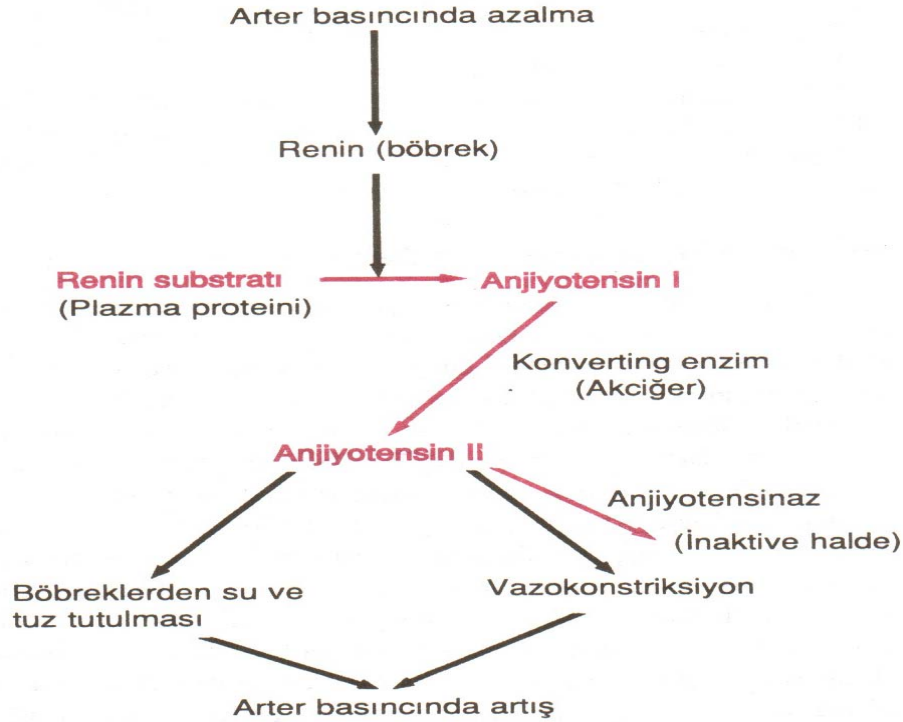
İngiltere'den 657 preeklampitik kadın ve ailesinin genotipleri 28 tek gen polimorfizmi açısından incelenmiş olup (anjiyotensin aktivitesi ve oksidatif stres) hastalık riski açısından yüksek risk belirleyicisi olabilecek gen varyantı bulunamamıştır (18).

Sonuç olarak, birden fazla maternal ve fetal gen, çevresel faktörler ve bunlar arasındaki karmaşık ilişki preeklampsiye eğilimin ortaya çıkmasında etkili gibi gözükmektedir (1)

RENİN ANJİYOTENSİN SİSTEMİ

Vasküler tonus ve kan basıncı regülasyonunda RAS önemli rol oynamaktadır (Şekil 3). Glomerüler afferent arteriyollerin giriş yerleri yakınındaki kan basıncına duyarlı jukstaglomerüler hücreler ve henle kulpu yakınlarındaki osmotik basınca duyarlı makula densa hücreleri jukstaglomerüler apporatus olarak adlandırılmaktadır. Bu bölgeden renin salgılanmaktadır ve hipovolemi, hiponatremi gibi renal perfüzyon basıncının azaldığı durumlarda renin salınımı artmaktadır. Anjiyotensin II, renin ve β 2 sempatomimetiklerin salınımını antidiüretik hormon (ADH) inhibe eder. Renin başlıca karaciğerde sentezlenen inaktif protein olan AGT'yi inaktif bir protein olan anjiyotensin I'e çevirir. Anjiyotensin I, plasenta kaynaklı ve çeşitli dokularda bulunan ACE ile aktif form olan anjiyotensin II'ye dönüşür. Anjiyotensin II bilinen en güçlü vazokonstriktör protein olup arteriyol ve prekapiller sfinkterlere güçlü etkilidir. Aldosteron salınımını uyarak böbreklerden sodyum tutulumunu sağlamaktadır. Böylece hipertansif etkisi yanında antidiüretik etkiyi de sağlamaktadır (1). Dolaşımda 1 ile 2 dakika kaldıktan sonra anjiyotensinazlar olarak adlandırılan, değişik dokularda ve kanda bulunan enzimlerce inaktive edilir. Anjiyotensin II dolaşımda kaldığı süre içinde kan basıncını iki ayrı nedenle artırır. Bunlardan birincisi hızla oluşan vazokonstriksiyondur. Vazokonstriksiyon arteriyollerde oldukça güçlü iken venlerde daha az oranda meydana gelir. Arteriyollerin kasılması periferik direnci arttırarak arter basıncını

yükseltir. Venlerde meydana gelen orta dereceli kasılma ise kalbe venöz dönüşü arttırarak, kalbin yükselen basınca karşı pompalama gücünü arttırır. Anjiyotensinin arter basıncını arttırıcı diğer etkisi böbreklerden su ve tuz atılımını azaltmak yoluyla gerçekleşir. Bunun sonucunda ekstrasellüler sıvı hacmi yavaş yavaş artmakta, bu da saatler ve günler içinde arter basıncının yükselmesine neden olmaktadır (9).



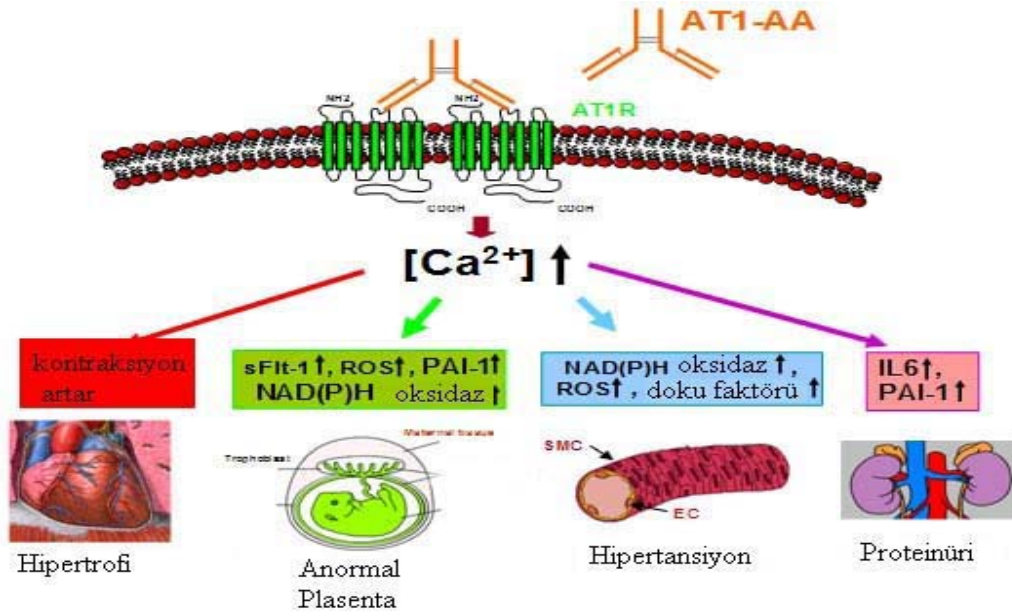
Şekil 3. Renin anjiyotensin sistemi (9)

Plasentada iki adet RAS vardır:

- 1) Fetal kaynaklı plasental doku
- 2) Maternal kaynaklı plasental doku-desidua

Preeklampsi patogenezinde suçlanan önemli nedenlerden bir tanesi de RAS'taki bozukluktur. Birinci trimesterde AGT'nin, renin, ACE ve anjiyotensin tip II'nin desiduada sentezlendiği gösterilmiştir. RAS östrojen, progesteron ve desidualizasyonda rol oynayan pek çok faktör tarafından kontrol edilmektedir. Normal gebelikte RAS'ın konsantrasyonları artmış ancak anjiyotensin II'ye karşı vasküler cevap azalmıştır. Normal gebelikte RAS'ın tüm komponentlerinin konsantrasyonu artmaktadır. Ancak buna rağmen, prostaglandin sistemindeki değişikliklerden dolayı bu güçlü maddelere karşı damar cevabı zayıflamaktadır. Preeklampsik gebelerde anjiyotensin I otoantikor (AT1-AA) düzeyleri artmıştır (Şekil4).

Otoantikorlar, reseptörlerine bağlanarak hücre içi kalsiyum mobilizasyonuna ve pek çok genin aktive olmasına neden olmaktadır. Sonuçta preeklampsi patogenezinde rol oynayan pek çok sistem aktive olmakta ve klinik semptomlar oluşmaktadır(1).



Şekil 4. Anjiyotensin reseptör antikorlarının etkileri (1)

ANJİYOTENSİN DÖNÜŞTÜRÜCÜ ENZİM GEN POLİMORFİZMİ

Anjiyotensin II hormonunun yapımında ve fonksiyonunda görev alan genler arasında ACE'yi kodlayan ACE geni ve iki hücre yüzeyi reseptörü yani anjiyotensin tip I ve II reseptörlerini kodlayan AT1 ve AT2 genleri yer alır (19,20).

ACE anjiyotensin I'i anjiyotensin II'ye dönüştürmesinden başka endotelial yüzeyde bir vazodilatatör olan bradikinin degradingasyonunu sağlayan ve bunun sonucu olarak vazoaktif peptit metabolizmasında önemli olan, aktif merkezinde çinko bulunan metallopeptidaz bir enzimdir (21). Bradikinin, damar düz kas hücrelerinin poliferasyonunu inhibe eder ve nitrik oksit, prostasiklin gibi vazodilatatörlerin endotelden salınmasını inhibe eder. ACE vazodilatatör bradikinin inaktivasyonunda primer rolü oynadığı için ve bu olayın kan basıncı ile elektrolit homeostazisindeki önemi nedeniyle ACE inhibisyonunun hipertansiyon ve konjestif kalp yetmezliği tedavisindeki başarısından bahsedilir. Tüm bunların neticesinde ACE kardiyovasküler sistemin ve kan basıncının düzenlenmesinde önemli role sahiptir (22).

ACE vasküler endotelial hücreler tarafından sentezlenir ve klas 1 integral ektoenzim olarak plazma membranına eksprese edilir (23). ACE gen ekspresyonu hala büyük ölçüde bilinmemekle birlikte bunun doku spesifik olabileceği düşünülmektedir (24). ACE geninin 78

polimorfizmi saptanmıştır. Bunların arasında en çok çalışılan ACE (I/D) polimorfizmidir. ACE geni 17.kromozomda lokalizedir ve genin intron 16'sında 287bç'lik bir kısmının tekrarlanmasıyla bu polimorfizm meydana gelir (24-26).

Bu polimorfizmde ACE(D/D) ve ACE(I/I) homozigot, ACE(I/D) ise heterozigottur (27). ACE genindeki bu insertion ACE ekspresyonunu azaltır, böylece II homozigotlara göre DD homozigotlar %65, I/D heterozigotlar ise %31 daha fazla ACE'ye sahiptir (27). I allellilerde gözlenen düşük ACE aktivitesi, bradikininin yarı ömrünün artması ve anjiyotensin II üretimindeki azalma, endotele bağlı artmış vazodilatasyon sebebiyle ACE genotipinin fizyolojik önemini vurgulamaktadır (28).

Normal popülasyonda ACE genindeki I/D polimorfizmi sonucunda enzim aktivitesinde değişiklik görüldüğünden plazma ve doku ACE aktivitesinin genetik kontrol altında olduğuna inanılmaktadır (29). Homozigot D alleli varlığında endotel disfonksiyonunun ve hipertansiyonun görüldüğü bildirilmiştir. Ancak bazı çalışmalar bunu doğrulamamaktadır (30-32).

Endotel hasarının görüldüğü hastalıklar aynı zamanda preeklampsi için predispozan bir faktör oluşturmaktadır. Bu nedenle endotel hücre aktivasyonu ve disfonksiyonu preeklampsi patogenezinin ana sebebi olarak görülmektedir (33). Preeklampsinin etiyopatogenezine yönelik çalışmalarda genetik yatkınlık olduğu gözlenmiş ve ACE (I/D) polimorfizmi ile preeklampsi arasındaki bağıntının önemli olabileceği düşünülmüştür(34, 35).

ANJİYOTENSİN II TİP 1 RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMLERİ

RAS; kan basıncının, sodyum metabolizmasının ve renal hemodinamiğinin düzenlenmesinde kilit role sahiptir. RAS gen sistemi; (AGT), renin, anjiyotensin I, ACE, anjiyotensin II ve anjiyotensin II reseptör tip 1,2,3 ve 4 (AT1R, AT2R, AT3R ve AT4R) genlerinden oluşur. ACE anjiyotensin I'i AT1R'ye bağlayan anjiyotensin II'ye dönüştürür. AT1R de işlevini fosfotidilinositol-kalsiyum ikincil ulak sistemini etkileyen G proteini üzerinden gerçekleştirir ve vazokonstriksiyona neden olur (5).

AT1R geni 3.kromozomda (3q21-q25), 45.123 kb uzunluğunda, 5 ekson ve 4 introndan oluşan bir gendir. AT1R gen polimorfizmi ekson 5'in 3' çevrilmemiş bölgesi 1166.pozisyonunda adenine/cytosine (A/C) yer değiştirmesiyle karakterizedir (5).

Birtakım çalışmalar ACE ve AT1R genlerindeki genetik değişimlerin preeklampsinin patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (36,37).

GEREÇ VE YÖNTEM

GEREÇLER

Çalışmamız 75 hasta ve 75 kontrol grubu olmak üzere toplam 150 kişi ile gerçekleştirildi. Hasta grubunun yaş ortalaması (27.87 ± 6.444) ve kontrol grubunun yaş ortalaması (27.39 ± 6.865) olarak hesaplandı.

Hasta grubu oluşturulurken 20.gebelik haftasından sonra SKB'leri 140mmHg ve üzeri olanlar ile DKB'leri 90mmHg ve üzeri olanlar; kontrol grubu oluşturulurken ise yine 20.gebelik haftasından sonra SKB'leri 140mmHg'ya, DKB'leri de 90mmHg'ya kadar olan kadınlar çalışmaya alındı.

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol gruplarından 2'şer ml'lik kan örnekleri EDTA'lı vakumlu tüplere alındı. Alınan kan örneklerinden tuz çöktürme yöntemi ile DNA'lar izole edildi. %0.8'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek DNA kalitesi gözlemlendi. DNA izolasyonundan sonra polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ile ACE geninin 16.intronunun I/D allellerinden hangisine sahip olduğunu belirlemek için ürünler %2'lik agaroz jellere yüklenip EtBr ile boyanarak elektroforezde 110 voltta yürütüldü. Sonra UV ışık altında incelenerek polimorfizm olup olmadığına karar verildi. AT1R (A1166C) polimorfizmi için yine DNA'lar PZR ile istenen bölgelere özgün primerlerle çoğaltıldı. PZR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek ürün oluşup oluşmadığına bakıldı. Daha sonra PZR ürünleri AT1R geninin A1166C polimorfizm bölgesine özgü HaeIII restriksiyon enzimi kullanılarak Restriksiyon Fragment Uzunluk Polimorfizmi (RFLP) yöntemi ile enzim, 37°C'de 3 saat inkübasyon yapılarak kesime bırakıldı. Kesim sonucu ürünler %2.5'luk agaroz jelde EtBr ile boyanarak elektroforezde 110 voltta yürütüldükten sonra UV ışık altında polimorfizmler saptandı.

KULLANILAN KİMYASAL MALZEMELER

Agaroz (Sigma)

Borik Asit (Sigma)

DNA Marker seti, 50bç-100bç (Fermentas)

dNTP (deoksi Nükleotit Tri Fosfat; dATP, dCTP, dGTP, dTTP) (MBI)

Etanol %100 (Riedel)

Etidyum Bromit (Sigma)

Etilendiamintetraasetik Asit (EDTA) (Sigma)

Magnezyum klorür (Bio Basic)

HaeIII restriksiyon enzimi (Takara)

Primerler (Fermentas)

Proteinaz K (Bio Basic)

Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) (Sigma)

Taq DNA polimeraz seti (Bio Basic)

Trisma (Base) (Bio Basic)

KULLANILAN CİHAZLAR

Agaroz elektroforez tankı (MINICELL PRIMO EC 320)

Derin dondurucu (AEG)

Dijital fotoğraf makinesi (Kodak Easy Share 2330)

Güç kaynağı (EC-105)

Manyetik karıştırıcı (Nüve)

Otoklav (Heraeus)

Otomatik mikro pipetler (ISOLAB)

pH metre (Hanna)

Santrifüj (Allegra X-22R)

Spektrofotometre (Shimadzu UV-1208)

Terazi (Sartorius)

Thermal Cyclers (Boeco TS-100)

Vorteks (VELP Scientifica)

ÇÖZELTİLER

10xTris Borat Elektroforez (TEB) Çözeltisi (1 litre) pH: 7.4

60.5 gr Tris

3.72 gr Na₂EDTA.2H₂O

30.85 gr borik asit

DNA izolasyonunda kullanılan çözeltiler

Hücre Parçalama Çözeltisi:

155 mM NH₄Cl

10 M KHCO₃

0.1mM EDTA

Çekirdek Parçalama Çözeltisi

10 mM Tris-HCl pH:8.2

400 mM NaCl

2mM EDTA

Sodyum Dodesil Sülfat (SDS): %10 gr/ml stok olarak hazırlandı.

Proteinaz K: 20 mg/ml

TE Çözeltisi:

10mM Tris-HCl pH:7.4

0.1mM EDTA

YÖNTEMLER

DNA İZOLASYONU

Hasta ve kontrol gruplarından EDTA'lı tüplere alınan 2ml kan örneklerinden tuz çöktürme yöntemi (Şekil5) ile DNA'lar izole edildi. İzole edilen DNA'lar TE çözeltisi içinde çözüldü. DNA miktarları aşağıdaki formül kullanılarak belirlendi:

DNA ($\mu\text{g/ml}$) = 260nm 'deki optik yoğunluğu (OD) x Seyreltme faktörü (Dilution factor) x Katsayı (DNA için 50)

DNA'nın saflığı 260nm ile 280nm dalga boylarındaki optik yoğunluk değerlerinin oranıyla belirlendi. DNA'ların kalitesini belirlemek için DNA'lar agaroz jellere yüklendi.

1ml EDTA'lı kan+4ml hücre parçalama çözeltisi

Çözelti 15 dakika 0°C 'de inkübasyona bırakıldı. Daha sonra $3000\times\text{g}$ 'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında çözeltinin üst fazı atıldı.

Çökelti+4ml hücre parçalama çözeltisi

$3000\times\text{g}$ 'de 10 dakika santrifüj edildi. Oluşan çözeltinin yine üst fazı atıldı.

Çökelti+1ml çekirdek parçalama çözeltisi+ $25\mu\text{l}$ %10 SDS+15ml proteinaz K (20mg/ml)
+ $200\mu\text{l}$ dH₂O

37°C 'de gece boyu bekletildi.

Çözelti+1ml dH₂O+5ml 5M NaCl çözeltisi

$10000\times\text{g}$ 'de 20 dakika santrifüj edildi. Oluşan çözeltideki üst sıvı ayrı bir tüpe alındı.

Üst sıvı+2 hacim soğuk etanol eklendi.

Sıvı içerisindeki DNA'nın çökmesi sağlandı. Etanol ile çöken DNA pipet ucu ile alınarak TE çözeltisi içerisinde çözüldü.

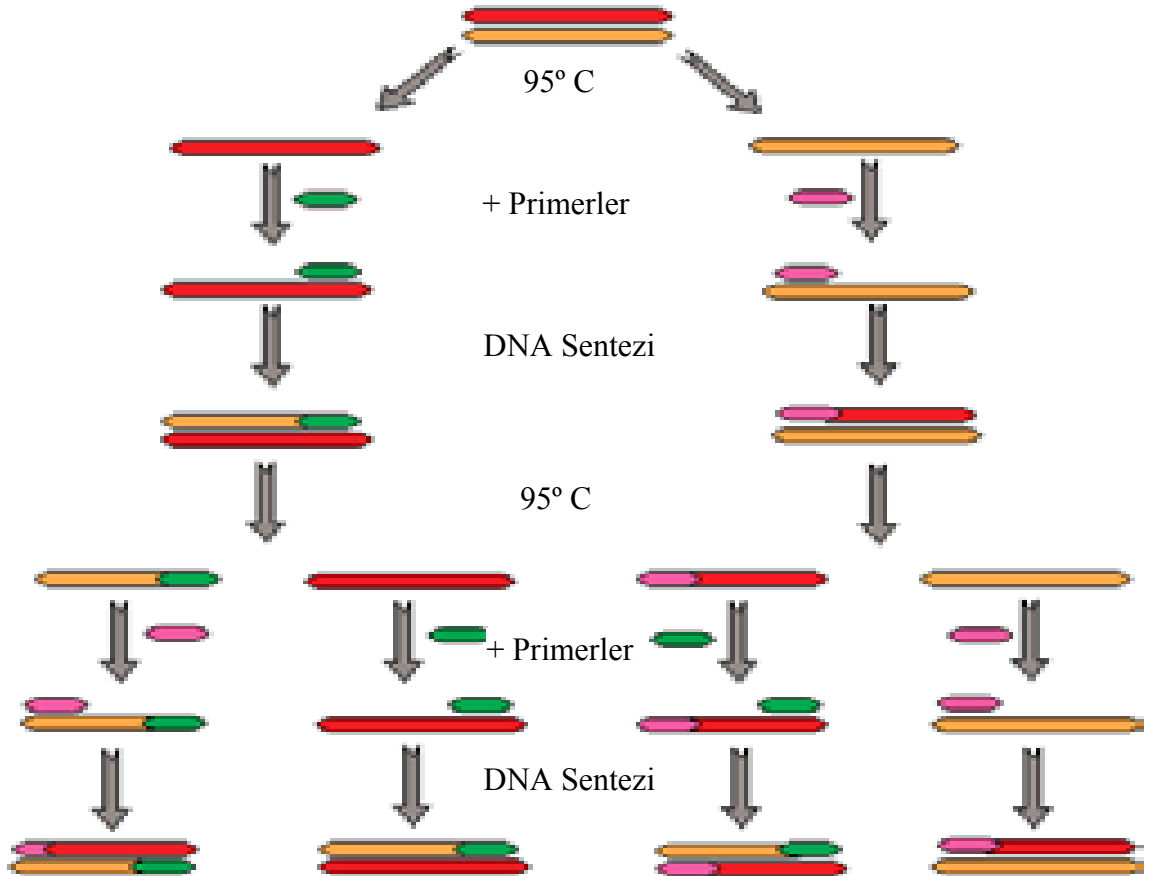
Şekil 5. Tuz Çöktürme Yöntemi ile DNA izolasyonu (38)

Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR)

PZR, ilk kez 1985 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan, Cetus şirketine bağlı olarak çalışan Henry A. Erlich, Kary Mullis ve Randall K. Saiki tarafından geliştirilen metodla bilim dünyasına sunulduğundan itibaren hem araştırmada hem de klinik laboratuvarlarında tanıda yeni bir çığır açmıştır. PZR invitro koşullarında DNA'nın çoğaltılması olarak tanımlanmıştır. PZR'de üç temel basamak vardır ve çoğaltılmış DNA miktarı, bu üç adımın tekrarına bağlıdır.

- 1) Denatürasyon (90-95°C)
- 2) Primer bağlanması (50-70°C)
- 3) DNA sentezi (70-75°C)

Bu üç adım bir PZR siklüsünü oluşturur. (Şekil 1). İlk adımda çoğaltılacak DNA denatüre edilerek tek zincirli hale getirilir. İkinci adımda primerlerin tek zincirli hale getirilmiş DNA'ya bağlanması sağlanır. Son aşamada ise DNA sentezi gerçekleşir.



Şekil 6. Bir PZR döngüsü (39)

PZR'nin temel bileşenleri; kalıp olarak kullanılan DNA molekülü, DNA polimeraz enzimi (Taq polimeraz), enzim tamponu, primerler, dNTP (dATP, dGTP, dCTP ve dTTP) karışımı ve MgCl₂'dir.

İlgili gen bölgeleri verilen primer dizileri (Tablo 3) kullanılarak çoğaltıldı. Reaksiyon toplam 25µl'lik hacimde gerçekleştirildi. Daha sonra PZR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek, ilgili hastaların ACE geni bakımından II, ID ya da DD genotiplerinden hangisine sahip oldukları, ürünler EtBr ile boyandıktan sonra UV ışık altında incelendi.

A1166C polimorfizmi için ise yine istenilen gen bölgeleri verilen primer dizileri kullanılarak çoğaltıldı. PZR ürünleri %2'lik agaroz jelde yürütülerek ürün oluşup oluşmadığı UV ışık altında incelendi.

PZR'de kullanılan Primer Dizileri:

ACE için:

ACE F:5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3'

ACE R:5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGAT-3'

A1166C için:

A1166C F:5'-GCA GCA CTT CAC TAC CAA ATG GGC-3'

A1166C R:5'-CAG GAC AAA AGC AGG CTA GGG AGA-3'

Tablo 3. ACE gen polimorfizmi için kullanılan primer tablosu

ACE I/D	Kullanılan Primer Dizileri	Ürün Uzunluğu
I/D	ACE-ID F: 5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3' ACE-ID R: 5'-GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3'	Dalleli için 190 bç I alleli için 490 bç

PZR İçin Hazırlanan Karışımlar

ACE için:

Bir hasta için kullanılan miktarlar:

2mM MgCl ₂	1.5µl MgCl ₂
1x PZR Tamponu	1.5µl Buffer
65pmol primer 1	0.3µl primer 1
65pmol primer 2	0.3µl primer 2
0.2 mM dNTP	0.6µl dNTP
0.75 U	0.15µl Taq polimeraz
	7.15µl dH ₂ O
	3.5µl izole edilmiş DNA
Toplam hacim:	15µl

A1166C için:

Bir hasta için kullanılan miktarlar:

1.5 mM	1.875µl MgCl ₂
1x PZR Tamponu	2.5µl Buffer
65pmol primer 1	0.5µl primer 1
65pmol primer 2	0.5µl primer 2
0.2 mM dNTP	1µl dNTP
1.25 U	0.25µl Taq polimeraz
	14.375µl dH ₂ O
	4.0µl izole edilmiş DNA
Toplam hacim:	21µl

PZR İçin Gerekli Koşullar

ACE için:

Başlangıç:	94°C, 5dakika	
	94°C, 1dakika	} 30 döngü
	58°C, 1dakika	
	72°C, 1dakika	
Sonlanma:	72°C, 7dakika	

A1166C için:

Başlangıç:	94°C, 5dakika	
	94°C, 1dakika	} 35 döngü
	55°C, 1dakika	
	72°C, 1dakika	
Sonlanma:	72°C, 7dakika	

Restriksiyon Enzim Kesimi Yöntemi

Restriksiyon enzimleri, kısa DNA dizilimlerini özgül olarak tanıyan ve bu dizilimlere yakın bölgelerden veya bu dizilimler içindeki spesifik bölgelerden çift yönlü simetrik olarak DNA'yı kesen enzimlerdir. Bu enzimlerin büyük bir kısmı bakterilerde, çok az bir kısmı da virüs ve ökaryotlarda bulunmaktadır (40,41). Belli bir restriksiyon enzimi DNA'yı keseceği, 4-8 nükleotitlik (genelde 6) restriksiyon noktası tanır. DNA parçalarının büyüklüğü restriksiyon noktalarının dağılımına bağlıdır (42).

Hastaların AT1R (A1166C) polimorfizmi için A veya C allellerinden hangilerine sahip oldukları; PZR aşamasından sonra PZR ürünlerinin HaeIII restriksiyon enzimi ile 3 saat 37°C'de kesime bırakılmaları, %2.5'luk agaroz jelde yürütülmeleri ve UV ışık altında incelenmeleri sonucunda belirlendi.

A1166C İçin Restriksiyon Enzim Kesimi Yöntemi

PZR sonucu elde edilen ürünler kullanılarak;

1xM (Enzim kesme) tamponu	1.0µl
5 U HaeIII Restriksiyon enzimi	0.5µl HaeIII Restriksiyon enzimi
	5.0µl PZR reaksiyon ürünü
	3.5µl dH ₂ O
Toplam hacim:	10 µl

ile karışım birkaç saniye yavaşça karıştırıldı. 37°C'de 3 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresinin sonunda ürünler 4.5µl EtBr ile hazırlanan %2.5'luk agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında oluşan bantlar gözlendi. Elde edilen sonuçlar tablodaki enzim kesimi sonuçları ile karşılaştırıldı.

HaeIII İçin Restriksiyon Enziminin Mekanizması

HaeIII restriksiyon enzimi 5'-....GG CC....-3' baz dizisinin bulunduğu bölgeden GC bazları arasından kesim yapar.



Tablo 4. A1166C polimorfizmi için kullanılan primer tablosu ve restriksiyon enziminin kesim sonuçları

Polimorfizm Bölgesi	Kullanılan Primer Dizileri	Ürün Uzunluğu		
		PZR ürünleri	Enzim Kesimi Sonucu	
			A Alleli Normal Allel	C Alleli Mutant Allel
A1166C	A1166CF: 5'GCAGCACTTCACTAC CAAATGGC3' A1166CR: 5'CAGGACAAAAGCAG GCTAGGGAGA3'	255 b	255 b	231 b 24 b

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Sonuçlar sayı (yüzde) ya da ortalama \pm std.sapma olarak ifade edildiler. Yaş, VKİ, SKB ve DKB değişkenlerinin gruplar arasında karşılaştırmalarında Student t testi kullanıldı. ACE genotiplerinin gruplar arası karşılaştırmalarında ki-kare testi kullanıldı. $P<0.05$ değeri istatistiksel anlamlılık sınırı olarak kabul edildi.

BULGULAR

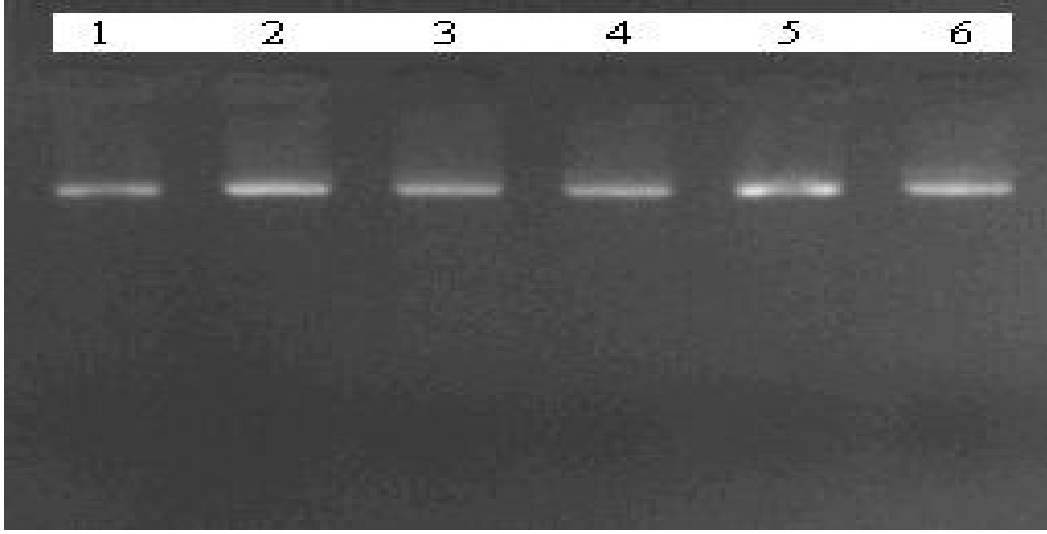
Çalışmaya alınan, yapılan tetkikler sonucu preeklampsi oldukları saptanan hasta ve kontrol gruplarının yaş, vücut kitle indeksi, SKB ve DKB klinik bulguları T-testi sonucuna göre incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar (Tablo 5) gösterilmiştir.

Tablo 5. ACE ve A1166C için kontrol ve hasta gruplarının klinik bulguları.

Hasta ve kontrol bilgileri	Kontrol grubu (n=75)	Hasta grubu (n=75)	P
YAŞ	27.4 ±6.9	27.9 ±6.4	0.660
VKİ (kg/m ²)	23.8 ±3.4	26.9 ±5.6	0.001
SKB (mmHg)	114.8 ±5.0	156.7 ±14.1	0.001
DKB (mmHg)	73.3±4.7	100.1±11.8	0.001

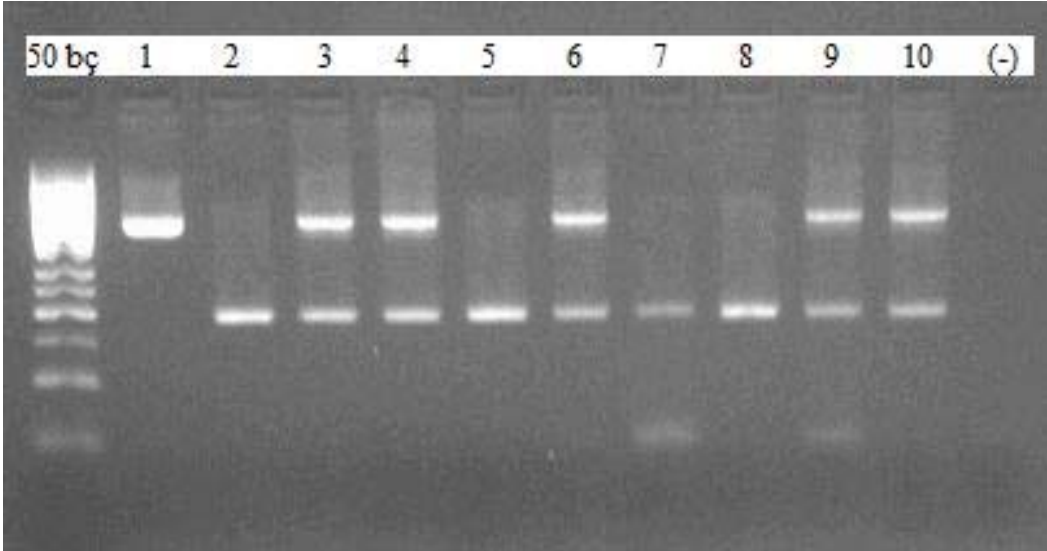
VKİ: Vücut kitle indeksi; **SKB:** Sistolik kan basıncı; **DKB:** Diyastolik kan basıncı, Student t testi

Hasta ve kontrol gruplarından alınan kanlardan tuz çöktürme yöntemi ile DNA'lar izole edildi. DNA örnekleri PZR'den önce %0.8'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında izlendi (Şekil 7).



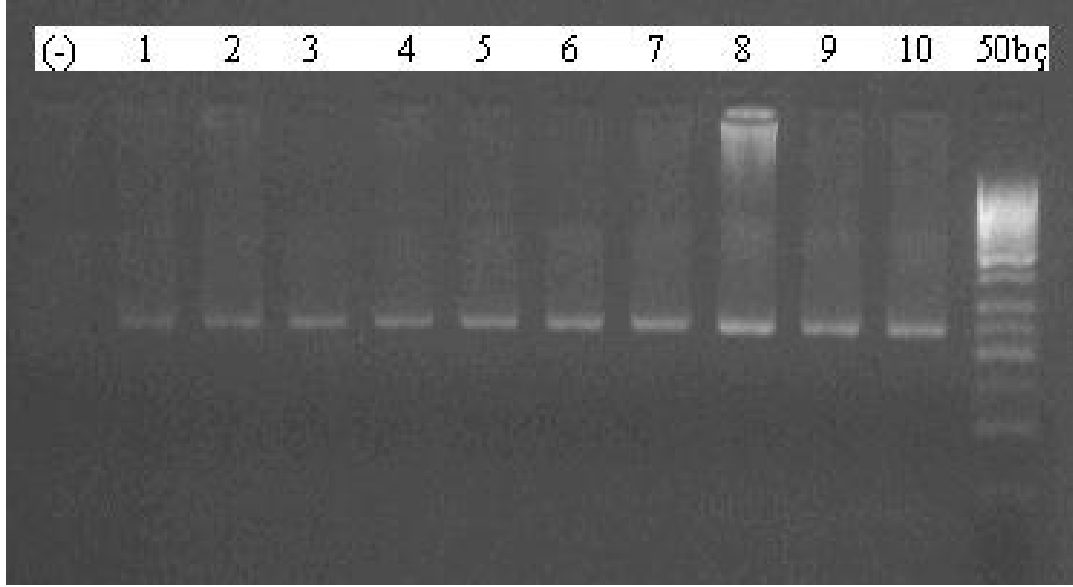
Şekil 7. Hasta ve kontrol DNA örneklerinin %0.8 lik agaroz jelde yürütülmesi ve UV ışık altında görüntülenmesi

DNA'lar %0.8'lik agaroz jelde gözlendikten sonra ACE gen polimorfizmi için PZR işlemi yapıldı ve PZR ürünleri de %2'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında izlendi (Şekil 8).



Şekil 8. ACE gen polimorfizmi için hasta ve kontrol PZR ürünlerinin %2 lik agaroz jelde yürütülmesi ve UV ışık altında görüntülenmesi

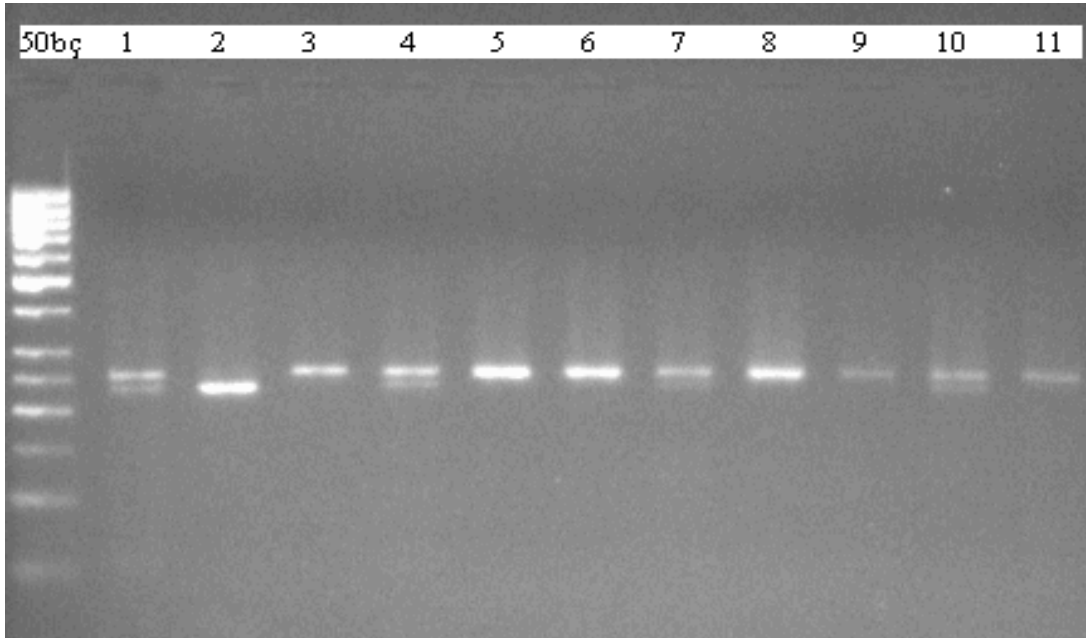
1166. pozisyonunu içerecek şekilde istenilen bölge o bölgeye özgü primerler kullanılarak ve uygun PZR koşullarında çoğaltılarak %2'lik agaroz jelde yürütülerek UV ışık altında görüntülendi (Şekil 9).



Şekil 9. Hasta ve kontrol DNA'larının 1166. pozisyonunu içeren bölgelerin PZR ürünlerinin %2 lik agaroz jelde yürütülmesi ve UV ışık altında görüntülenmesi

A1166C İçin Restriksiyon Enzim Kesimi

A1166C bölgesinin kesimi için PZR sonucu elde edilen ürünlerle uygun restriksiyon enzimi kullanılarak yöntemde gösterilen şekilde enzim kesimi gerçekleştirildi (Şekil 10).



Şekil 10. Hasta ve kontrol DNA'larının 1166. pozisyonunu içeren bölgelerin enzim kesimi sonucu %3'lük agaroz jelde yürütülmesi ve UV ışık altında görüntülenmesi

Çalışılan preeklampsili hasta ve kontrol gruplarının ACE genotipleri ve 1166. pozisyonundaki genotip dağılımları incelendiğinde;

ACE genotipleri için preeklampsili grubun DD genotipi 27 hasta olup % 36.0, ID genotipi 33 hasta olup % 44.0 ve II genotipi 15 hasta olup % 20.0'dır. Kontrol grubunun DD genotipi 29 hasta olup % 38.7, ID genotipi 38 hasta olup %50.7 ve II genotipi 8 hasta olup %10.7'dir. Preeklampsili grubun II genotipleri kontrole göre daha yüksek bulunmuşken ID ve DD genotipleri daha düşük bulunmuştur. Ancak istatistiksel değerlendirildiğinde preeklampsilerde ACE genotipleri arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 6)

Tablo 6. ACE genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarına göre dağılımı

ACE I/D GENOTİP	GRUP		TOPLAM	P
	HASTA	KONTROL		
DD	27 (% 36.0)	29 (% 38.7)	56 (% 37.3)	0.279
ID	33 (% 44.0)	38 (% 50.7)	71 (% 47.3)	
II	15 (% 20.0)	8 (% 10.7)	23 (% 15.3)	
TOPLAM	75 (% 100.0)	75 (% 100.0)	75 (%100.0)	

DD: Deletion-Deletion; ID: İnsertion-Deletion; II: İnsertion-İnsertion

Ki kare testi

1166. pozisyonu için; preeklampsili grubun AA genotipi 43 hasta olup % 57.3, AC genotipi 25 hasta olup % 33.3 ve CC genotipi 7 hasta olup % 9.3'tür. Kontrol grubunun AA genotipi 53 hasta olup % 70.7, AC genotipi 18 hasta olup % 24.0 ve CC genotipi 4 hasta olup % 5.3'tür. Preeklampsili grubun AC ve CC genotipleri kontrole göre daha yüksek bulunmuşken AA genotipi daha düşük bulunmuştur. Ancak istatistiksel olarak değerlendirildiğinde preeklampsili A1166C'deki genotipler arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 7).

Tablo 7. A1166C genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarına göre dağılımı

A1166C	GRUP		TOPLAM	P
	HASTA	KONTROL		
AA	43 (% 57.3)	53 (% 70.7)	96 (% 64.0)	0.223
AC	25 (% 33.3)	18 (% 24.0)	43 (% 28.7)	
CC	7 (% 9.3)	4 (% 5.3)	11 (% 7.3)	
TOPLAM	75 (% 100.0)	75 (% 100.0)	150 (% 100.0)	

AA: Adenine-Adenine; **AC:** Adenin yerine Cytosine; **CC:** Cytosine-Cytosine

Ki kare testi

ACE (I/D) ve AT1R (A1166C) gen polimorfizmleri için 150 kişinin (hasta+kontrol) istatistiksel sonuçlarına göre preeklampsili hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

TARTIŞMA

RAS; kan basıncının, sodyum metabolizmasının ve renal hemodinamiğinin düzenlenmesinde kilit role sahiptir. RAS gen sistemi; AGT, renin, anjiyotensin I, ACE, anjiyotensin II ve anjiyotensin II reseptör tip 1,2,3 ve 4 (AT1R, AT2R, AT3R ve AT4R) genlerinden oluşur (5).

Vasküler endotel hücrelerinde genellikle ektoenzim olarak bulunan ACE anjiyotensin I'ın anjiyotensin II'ye dönüşümünü ve endotel yüzeyinde bradikinin yıkımını sağlar (43). Anjiyotensin II ise hücrelerin yüzeysel reseptörlerine bağlanarak Ca^{+2} 'nin hücreye girişini ve fosfolipid alışverişini uyarır (44). Anjiyotensin II reseptörü tiplerinden olan anjiyotensin tip 1 reseptörü böbrek, kalp, damar düz kas hücreleri, beyin, böbreküstü bezleri, trombositler, adipositler ve plasentada belirlenmiştir (45). Anjiyotensin II RAS'ın primer vazoaktif hormonudur ve anjiyotensin tip 1 reseptörü yoluyla HT patofizyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır (46).

Normal popülasyonda ACE genindeki (I/D) polimorfizmi sonucunda enzim aktivitesinde değişiklik görüldüğünden plazma ve doku ACE aktivitelerinin genetik kontrol altında olduğuna inanılmaktadır (29). Homozigot D alleli varlığında endotel disfonksiyonun ve hipertansiyonun görüldüğü bildirilmiştir (30). Ancak bazı çalışmalar bunu doğrulamamaktadır (31,32).

ACE geni (I/D) polimorfizminin preeklampsi ile ilişkisini inceleyen çalışmalarda popülasyona ve yerleşim bölgesine göre farklı sonuçlar elde edilmiştir (47).

Uzakdoğu'da, DD genotip sıklığı ile gebeliğe bağlı hipertansiyon arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (47).

Avrupa’da 72 preeklampitik gebede yapılan bir çalışmada ise allel dağılımında anlamlı bir fark görülmemiştir (47).

Kore’de yapılan bir çalışmada, Kore’nin genel popülasyonunda ACE gen polimorfizminin sıklığı DD: %16, ID: %49 ve II: %35 olarak bulunmuştur. D ve I allellerinin sıklıkları ise sırasıyla %41 ve %59 bulunmuştur (48). Preeklampsili hastalarda DD genotipinin sıklığı, Kore’de genel popülasyonla ve hamilelik boyunca normotensif olan kadınlarla karşılaştırıldığında bunlara göre yüksek bulunmuştur (49,50).

Kolombiya’nın beş şehriden seçilen preeklampsili ve genç hamile kadınlar üzerinde yapılan bir çalışmada da ACE (I/D) polimorfizmi ile preeklampsi arasında güçlü bir ilişki gözlenmiştir (51).

Bizim popülasyonumuzda, preeklampsinin gelişimi ile I/D polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki gözlenmiştir. Kontrol popülasyonumuzda D alleli sıklığı (%55.6), Japonlardan daha yüksek (%33) iken, Alman popülasyonu (%50) ile hemen hemen aynıdır (30,32).

İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde yapılan bir çalışmada normotensif olgularda ACE genotip dağılımı DD: %34.8, ID: %41.6 ve II: %23.6 olarak bulunmuşken; preeklampitik olgularda bu dağılımlar DD: %49.5, ID: %32.6 ve II: %17.9 olarak bulunmuştur. Bu olgularda D ve I allellerinin dağılımı %65.8 ve %34.2 bulunmuştur. Allel dağılımına göre D allelinin yüzdesi preeklampitik olgularda normotensif olgulara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (52).

Çoğu araştırmacı ACE ve AT1R genlerindeki genetik değişimlerin preeklampsinin patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığını ileri sürmüştür (6).

Karayıp, Asya ve Kafkasya’dan seçilen preeklampitik ve normal gebe kadınların oluşturduğu bir toplulukla yapılan çalışmada Karayıplı preeklampitik kadınlarda AT1R (A1166C) polimorfizminin sıklığı AA: %94, AC: %6 ve CC: %0 bulunmuşken; normotensif gebe kadınlarda AA: %82.5, AC: %15 ve CC: %2.5 olarak bulunmuştur. Asyalı preeklampitik kadınlarda AA: %81.1, AC: %17.2 ve CC: %1.6 bulunmuşken; normotensif gebe kadınlarda AA: %82.6, AC: %16.8 ve CC: %0.5 olarak bulunmuştur. Son olarak Kafkasyalı preeklampitik kadınlarda ise AA: %46.8, AC: %38.3 ve CC: %14.9 bulunmuşken; normotensif gebe kadınlarda AA: %58.8, AC: %35.3 ve CC: %5.9 olarak bulunmuştur. Bu çalışmada preeklampsi ile AT1R (A1166C) gen polimorfizmi arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (53).

Buna karşılık Japonlarla ve Polonyalılarla yapılan bir çalışmada AT1R (A1166C) gen polimorfizmi ile preeklampsi arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (53).

Çin’de 2007 yılında ACE (I/D) ve AT1R (A1166C) gen polimorfizmleri ile preeklampsi arasındaki ilişkiyi incelemek üzere yapılan bir çalışmada; preeklampitik kadınlarda ACE genotip dağılımı DD: %27.8, ID: %34.9 ve II: %37.6 olarak bulunmuşken; preeklampitik olgularda bu dağılımlar DD: %23.8, ID: %29.5 ve II: %46.7 olarak bulunmuştur. Preeklampitik olgularda I ve D allellerinin sıklığı ise sırasıyla %54.9 ve %45.1 bulunmuştur (6).

Yine aynı çalışmada A1166C genotip dağılımına bakıldığında ise preeklampitik kadınlarda AA: %82, AC: %19.3 ve CC: %0.07 bulunmuşken; normotensif gebe kadınlarda AA: %89.5, AC: %9.5 ve CC: %1 olarak bulunmuştur. Preeklampitik olgularda A ve C allellerinin sıklığı ise sırasıyla %90.6 ve %9.4 bulunmuştur (6).

Bu çalışmada ACE (I/D) ve AT1R (A1166C) polimorfizmlerinin preeklampsi gelişiminde önemli bir rol oynadığına dair bir kanıt bulunamamıştır (6).

Bizim çalışmamızda preeklampsi şikayeti ile Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilim Dalına başvuran ve yapılan tetkikler sonucu preeklampsi oldukları saptanan 75 hasta grubu ile 75 kontrol grubu olmak üzere toplam 150 kişide ACE (I/D) ve AT1R (A1166C) polimorfizmleri incelendi.

ACE (I/D) gen polimorfizmi için DD, ID ve II allellerinin sıklığı hasta grubunda sırasıyla 27 (% 36.0), 33 (% 44.0), ve 15 (% 20.0) ; kontrol grubunda sırasıyla 29 (% 38.7), 38 (% 50.7) ve 8 (% 10.7) bulunmuştur. Ki-kare Testi değerlerine bakıldığında hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

AT1R (A1166C) gen polimorfizmi için de yine 75 hasta ve 75 kontrol grubu olmak üzere toplam 150 kişi üzerinde yapılan çalışmamızda AA, AC ve CC allellerinin sıklıkları hasta grubunda sırasıyla 43 (% 57.3), 25 (% 33.3) ve 7 (% 9.3); kontrol grubunda ise 53 (% 70.7), 18 (% 24.0) ve 4 (% 5.3) bulunmuştur. Ki-kare Testi değerlerine bakıldığında hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır.

Çalışma sonucunda elde edilen bu değerler ACE (I/D) ve AT1R (A1166C) gen polimorfizmlerinin preeklampsi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı göstermiştir.

Bizim çalışmamız da dahil olmak üzere yapılan birtakım çalışmalarda ACE (I/D) ve AT1R (A1166C) gen polimorfizmlerinin preeklampsi üzerindeki etkileri ile ilgili değişik bilgilerin bulunmasının ve genetik çalışmalardaki çeşitliliğin etnik farklılıklardan veya hasta ve kontrol grupları için farklı seçim kriterlerinin olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

SONUÇLAR

Çalışmaya alınan preeklampsili hasta ve kontrol gruplarının yaş, vki, DKB ve SKB klinik bulguları belirlendikten sonra çalışma Biyofizik Anabilim Dalı'nda başlatılmıştır.

Bizim çalışmamızda preeklampsisi şikayeti ile Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilim Dalına başvuran ve yapılan tetkikler sonucu preeklampsisi oldukları saptanan 75 hasta grubu ile 75 kontrol grubunun ACE (I/D) ve AT1R (A1166C) gen polimorfizmleri incelendi.

Bu polimorfizmlerden ACE (I/D) polimorfizmi için DD, ID ve II allellerinin sıklığı preeklampsili hasta grubunda sırasıyla 27 (% 36.0), 33 (% 44.0) ve 7 (% 9.3) bulunmuşken; kontrol grubunda sırasıyla 29 (% 38.7), 38 (% 50.7) ve 4 (% 5.3) bulunmuştur. I ve D allellerinin sıklıkları ise hasta grubunda 63 (%42) ve 87 (%58) iken; kontrol grubunda 54 (%36) ve 96 (%64)'tür. Ki-kare Testi değerlerine bakıldığında preeklampsili hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

AT1R (A1166C) polimorfizmi için ise AA, AC ve CC allellerinin sıklığı preeklampsili hasta grubunda sırasıyla 43 (% 57.3), 25 (% 33.3) ve 7 (% 9.3) bulunmuşken; kontrol grubunda sırasıyla 53 (% 70.7), ve 18 (% 24.0) bulunmuştur. A ve C allellerinin sıklığı ise hasta grubunda 111 (%74) ve 39 (%26) iken; kontrol grubunda 124 (%82.7) ve 26 (%17.3) olarak bulunmuştur. Ki-kare Testi değerlerine bakıldığında preeklampsili hasta grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Çalışma sonucunda elde edilen bu değerler ACE (I/D) ve AT1R (A1166C) gen polimorfizmlerinin preeklampsisi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı yönünde bilgi vermektedir.

Yaptığımız çalışma da dahil birtakım çalışmaların sonuçlarından görüldüğü gibi ACE (I/D) ve AT1R (A1166C) polimorfizmlerinin preeklampsi üzerindeki etkileri açısından çeşitli bilgiler bulunmuştur. Bu genetik çalışmalardaki çeşitliliğin etnik farklılıklardan veya hasta ve kontrol grupları için farklı seçim kriterlerinin olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

İleride çalışmanın geliştirilmesi ve çalışmaya devam edilmesi tasarlanmaktadır.

ÖZET

Preeklampsi idrarda önemli miktarda proteinin bulunması ile ilişkili olarak hamilelikte hipertansiyonun ortaya çıktığı tıbbi bir durumdur. Hassas kadınların maternal kan damarlarında endotel disfonksiyona neden olan plasentadan gelen maddelerin olduğu muhtemel görülmektedir.

Renin anjiyotensin sisteminin preeklampsinin patofizyolojisinde bir rol oynadığı belirtilmiştir. Renin anjiyotensin sistemi angiotensinojen, renin, anjiyotensin I, anjiyotensin I-dönüştürücü enzim, anjiyotensin II ve anjiyotensin II reseptör tip 1,2,3 ve 4 genlerinden oluşur.

Anjiyotensin dönüştürücü enzim anjiyotensin I'in karboksi-terminal dipeptidine bağlanır, fizyolojik olarak aktif oktapeptid anjiyotensin II'yi açığa çıkarır. Anjiyotensin II vasküler tonu ayarlama kilit bir rol oynayan vazokonstriktif etkili bir moleküldür.

Bu çalışmanın amacı Türk kadınlarındaki preeklampsi hastalarında anjiyotensin dönüştürücü enzim ve anjiyotensin II tip 1 reseptör gen polimorfizmlerinin sıklığını araştırmaktır.

Çalışma 75 preeklampsili hasta ve 75 kontrol grubu içermektedir. Anjiyotensin dönüştürücü enzim gen polimorfizmi polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak araştırılmış, anjiyotensin II tip 1 reseptör gen polimorfizmleri de polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi yöntemleri kullanılarak belirlenmiştir.

Çalışmamızda anjiyotensin dönüştürücü enzim ve anjiyotensin II tip 1 reseptör gen polimorfizmlerinin Türk kadınlarında preeklampsi gelişmesinde genetik risk faktörleri olmadıkları belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Preeklampsi, anjiyotensinojen, hipertansiyon, polimorfizm

ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME AND ANGIOTENSIN II TYPE 1 RECEPTOR GENE POLYMORPHISMS IN ASSOCIATION WITH PREECLAMPSIA IN TURKISH WOMEN

SUMMARY

Preeclampsia is a medical condition in which hypertension arises in pregnancy in association with significant amounts of protein in the urine. It appears likely that there are substances from the placenta that can cause endothelial dysfunction in the maternal blood vessels of susceptible women.

The renin angiotensin system has been implicated to play a role in the pathophysiology of preeclampsia. This system comprises the angiotensinogen, renin, angiotensin I, angiotensin I-converting enzyme, angiotensin II and angiotensin II receptor types 1,2,3 and 4 genes.

Angiotensin converting enzyme cleaves the carboxy-terminal dipeptide of angiotensin I, releasing the physiologically active octapeptide angiotensin II. Angiotensin II is a potent vasoconstrictive molecule that plays a key role in modulating vascular tone.

The aim of this study was to investigate the frequency of angiotensin converting enzyme and angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in preeclampsia patients in Turkish women.

The study involved 75 patients with preeclampsia and 75 control subjects. The angiotensin converting enzyme gene polymorphism was investigated using polymerase chain

reaction, and the angiotensin II type 1 receptor gene polymorphism was identified using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism assay.

Our results show that angiotensin converting enzyme and angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms were not genetic risk factors for preeclampsia in Turkish women.

Key Words: Preeclampsia, angiotensinogen, hypertension, polymorphism

KAYNAKLAR

1. Hatipoğlu F. 11-14. Hafta Taramasında Serum Soluble CD40 Ligand Konsantrasyonu Ölçülmesinin Preeklampsi Öngörüsündeki Yeri (tez). İstanbul: Süleymaniye Kadın Hastalıkları ve Doğum Eğitim ve Araştırma Hastanesi;2008.
2. Onbaşıoğlu M. Fetal Trombofilinin Preeklampsi ve İntrauterin Büyüme Geriliği Olgularında Etkisi (tez). Adana: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi;2008.
3. Kireçci A. Ağır Preeklampsi ve Trombofili İlişkisi (tez). İstanbul: İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi;2005.
4. Choi H, Kang JY, Yoon HS, Han SS, Whang CS, Moon IG, et al. Association of Angiotensin Converting Enzyme and Angiotensinogen Gene Polymorphisms with Preeclampsia. J Korean Med Sci 2004;19:253-7.
5. Sipahi T, Güldiken B, Güldiken S, Üstündağ S, Turgut N, Budak M, et al. Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim ve Anjiyotensin II Tip 1 Reseptörü Gen Polimorfizmlerinin Trakya Bölgesindeki Türk Hastalarda Görülen İskemik İnme ile İlişkisi. Trakya Üniv Tıp Fak Derg 2009;26 (1):1-8.
6. Li H, Ma Y, Fu Q, Wang L. Angiotensin Converting Enzyme Insertion/Deletion (ACE I/D) and Angiotensin II Type 1 Receptor (AT1R) Gene Polymorphism and Its Association with Preeclampsia in Chinese Women. Hypertension in Pregnancy 2007;26:293-301.
7. Budak M. Hipertansiyonlu Hastalarda ACE Gen Polimorfizminin Araştırılması (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fkültesi;2006.
8. Güneş Tıp Sözlüğü.1. Baskı. Editör: Çağatay Güler; 1997. Ankara; s.214-5.
9. Tıbbi Fizyoloji (Çeviri: H.Çavuşoğlu). Yeğen B, Aydın Z, Alican İ (Editörler). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri;1996.S.173.
10. Noyan A. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. Ankara: Meteksan A.Ş; 1993.s.827-9.

11. Önder MR, Akıllı A. Hipertansiyon. İzmir: Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi;1998.s.91.
12. Büyükaşık H. Preeklampsiyi Öngörmeye İkinci Trimester Maternal Serum Fibronektin Ölçümünün Yeri (tez). İstanbul: Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi;2006.
13. Özbilen N. Preeklampşik Gebelerde Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü ve Solubl FMS Benzeri Tirozin Kinaz-1 Düzeyleri ve Bunların Birbirleri ile Olan İlişkileri (tez). Adana: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi;2007.
14. Kireççi H. Ağır Preeklampside Plazma Homosisteinin Yeri (tez). İstanbul: İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi;2005.
15. Literatür Tıp Dergisi 2005;251 (42):280-91.
16. Noris M, Perico N, Remuzzi G. Mechanisms of Disease: Pre-eclampsia. Nat Clin Pract Nephrol 2005;1:98-114.
17. Oudejans CB, Mulders J, Lachmeijer AM, et al. The Parent-of-Origin Effect of 10q22 in Pre-eclamptic Females Coincides with Two Regions Clustered for Genes with Down-Regulated Expression in Androgenetic Placentas. Mol Hum Reprod 2004;10:589-98.
18. GOPEC Consortium. Disentangling Fetal and Maternal Susceptibility for Pre-eclampsia: A British Multicenter Candidate-Gene Study. Am J Hum Genet 2005;77:127-31.
19. Kaysuya T, Horiuchi M, Koike G, Dzau V.J. Cloning and Characterization of Human Angiotensin II Type 2 Receptor Gene and Its Polymorphism. Circulation 1995;92 Suppl:I-282.
20. Rigat B, Hubert C, Corvol P, Soubrier F. PCR dedection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). Nucleic Acid Res 1992;20(6):1433.
21. Soubrier F, Hubert C, Testut P, Nadaud S, Alhenc-Gelas F, Corvol P. Molecular Biology of The Angiotensin I Converting Enzyme, I: Biochemistry and Structure of The Gene. J Hypertens 1993;11:471-6.
22. Pelc LR, Gross GJ, Warltier DC. Mechanisms of Coronary Vasodilatation Produced by Bradykinin. Circulation 1991;83:2048-56.
23. Baudin B, Berard M, Carrier JL, Legrand Y, Drouet L. Vascular Origin Determines Angiotensin I-Converting Expression in Endothelial Cells. Endothelium 1997;5:73-84.
24. Baudin B. New Aspect on Angiotensin-Converting Enzyme: From Gene to Disease. Clin Chem Lab Med 2002;40:256-65.
25. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, Cambien F, Corvol P, Soubrier F. An Insertion/Deletion Polymorphism in The Angiotensin-1-Converting Enzyme Gene Accounting for Half The Variance of Serum Enzyme Levels. J Clin Invest 1990;86:1343-6.

26. Prasad A, Narayanan S, Waclawiw MA, Epstein N, Quyyumi AA. The Insertion/Deletion Polymorphism of The Angiotensin-Converting Enzyme Gene Determines Coronary Vascular Tone and Nitric Oxide Activity. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:1579-86.
27. Villard E, Soubrier F. Molecular Biology and Genetics of The Angiotensin I-Converting Enzyme: Potential Implications in Cardiovascular Diseases. *Cardiovasc Res* 1996;32:999-1007.
28. Butler R, Morris AD, Burchell B, Struthers AD. DD Angiotensin-Converting Enzyme Gene Polymorphism is Associated with Endothelial Dysfunction in Normal Humans. *Hypertension* 1999;33:1164-8.
29. Tiret L, Rigat B, Visvikis S, Breda C, Corvol P, Cambien F. Evidence, from Combined Segregation and Linkage Analysis, That A Variant of The Angiotensin- I-Converting Enzyme (ACE) Gene Controls Plasma ACE Levels. *Am J Hum Genet* 1992;51:197-205.
30. Nakai K, Itoh C, Miura Y, Hotta K, Musha T, Itoh T, Miyakawa T, Iwasaki R, Hiramori K. Deletion Polymorphism of The Angiotensin I-Converting Enzyme Gene is Associated with Serum ACE Concentration and Increased Risk for CAD in The Japanese. *Circulation* 1994; 90: 2199-202.
31. Jeunemaitre X, Lifton RP, Hunt SC, Williams RR, Lalouel JM. Absence of Linkage Between The Angiotensin Converting Enzyme Locus and Human Essential Hypertension. *Nat Genet* 1992;19:72-5.
32. Burg M, Mene J, Ostendorf T, Kliem V, Floege J. Gene-Polymorphisms of Angiotensin-Converting Enzyme and Endothelial Nitric Oxide Synthase Inpatients with Primary Glomerulonephritis. *Clin Nephrol* 1997;48:205-11.
33. Dekker GA, de Vries JIP, Doelitzsch PM, Huijgens PC, von Blomberg BME, Jakobs C, van Geijn HP. Underlying Disorders Associated with Severe Earlyonset Preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995;173:1042-8.
34. Ray JG, Laskin CA. Folic Acid and Homocysteine Metabolic Defects and The Risk of Placental Abruption, Preeclampsia and Spontaneous Pregnancy Loss: A Systematic Review. *Placenta* 1999;20:519-29.
35. Wang J, Trudinger BJ, Duarte N, Wilcken DE, Wang XL. Elevated Circulating Homocysteine Levels in Placental Vascular Disease and Associated Preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 2000;107:935-8.
36. Morgan L, Foster F, Hayman R, Crawshaw S, Baker PN, Broughton Pipkin F, et al. Angiotensin Converting Enzyme Insertion-Deletion Polymorphism in Normotensive and Preeclamptic Pregnancies. *J Hyperten* 1999;17:765-8.
37. van Ittersum FJ, de Man AM, Thijssen S, de Knijff P, Slagboom E, Smulders Y, et al. Genetic Polymorphisms of The Renin-Angiotensin System and Complications of Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15:1000-7.
38. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells 1987;16:1215.

39. Genetic Engineering: PCR, RFLP Analysis & Gene Therapy, <http://members.aol.com/BearFlag45/Biology1A/LectureNotes/LNPics/Recomb/pcr.gif>;2005.
40. Murray NE. Type I Restriction Systems: Sophisticated Molecular Machines. *Microbiol Mol Biol Rev* 2000;64:412-34.
41. Pingoud A, Jeltsch A. Recognition and Cleavage of DNA by Type II Restriction Endonucleases. *Eur J Biochem* 1997;246:1-22.
42. Ay A. Hipertansiyonlu Hastalarda Anjiyotensinojen M235T/T174M Gen Polimorfizminin Araştırılması (tez). Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fkültesi;2007.
43. Ehlers RWM, Riordan JF. Angiotensin-Converting Enzyme. New Concepts Concerning Its Biological Role. *Biochemistry* 1989;28:5311-7.
44. Görür DA. Tip I Aort Diseksiyonu ve Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) Gen Polimorfizmi (tez). İstanbul: Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp ve Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi;2006.
45. Timmermans PBMWM, Wong PC, Chiu AT, et al. Angiotensin II Receptors and Angiotensin II Receptor Antagonists. *Pharmacol Rev* 1993;45:205-51 (Pubmed).
46. Nussberger J, Cugno M, Amstutz C, Cicardi M, Pellacani A, Agostini A. Plasma Bradykinin in Angio-Oedema. *Lancet* 1998; 351:1693-7.
47. Zhou N, Yu P, Chen J, Huang H, Jiang S. Detection of Insertion/Deletion Polymorphism of Angiotensin Converting Enzyme Gene in Preeclampsia. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 1996;16:29-31.
48. Kim DK, Kim JW, Kim S, Gwon HC, Ryu JC, Huh JE, et al. Polymorphism of Angiotensin Converting Enzyme Gene is Associated with Circulating Levels of Plasminogen Activator Inhibitor-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3242-7.
49. Fatini C, Gensini F, Battaglini B, Prisco D, Cellai AP, Fedi S, et al. Angiotensin Converting Enzyme DD Genotype, Angiotensin Type 1 Receptor CC Genotype, and Hyperhomocysteinemia Increase First-Trimester Fetalloss Susceptibility. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2000;11:657-62.
50. Roh CR, Kim DK, Yoon BK, Yang SH, Chung JH, Bae DS, et al. A Common Genetic Variant of The Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Gene and Pregnancy Induced Hypertensive Disorders. *Korean J Obstet Gynecol* 1997;40:1189-99.
51. World Health Organization International Collaborative Study of Hypertensive Disorders of Pregnancy Geographic Variation in The Incidence of Hypertension in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1988;158:80-3.
52. Villar J, Abalos E, Nardin JM, Merialdi M, Carroli G Strategies to Prevent and Treat Preeclampsia: Evidence From Randomized Controlled Trials. *Semin Nephrol* 2004 24:607-15.

53. Akbar SA, Khawaja NP, Brown PR, Ttayyeb R, Bomfo J, Nicolaides KH. Angiotensin II Type 1 and 2 Receptors Gene Polymorphisms Inpre-eclampsia and Normal Pregnancy in Three Different Populations. *Acta Obstetricia et Gynecologica* 2009;88:606-11.

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekiller:	Sayfa
Şekil 1: İnsanda arteriyel kan basıncı	4
Şekil 2: Preeklampsi patofizyolojisinde endotel hasarının önemi	12
Şekil 3: Renin anjiyotensin sistemi	20
Şekil 4: Anjiyotensin reseptör antikorlarının etkileri	21
Şekil 5: Tuz çöktürme yöntemi ile DNA izolasyonu.....	26
Şekil 6: Bir PZR döngüsü	27
Şekil 7: Hasta ve kontrol DNA örneklerinin %0.8'lik agaroz jelde yürütülmesi ve UV ışık altında görüntülenmesi	33
Şekil 8: ACE gen polimorfizmi için hasta ve kontrol RZR ürünlerinin %2'lik agaroz jelde yürütülmesi ve UV ışık altında görüntülenmesi	33
Şekil 9: Hasta ve kontrol DNA'larının 1166.pozisyonunu içeren bölgelerin PZR ürünlerinin %2'lik agaroz jelde yürütülmesi ve UV ışık altında görüntü lenmesi.....	34
Şekil 10: Hasta ve kontrol DNA'larının 1166. Pozisyonunu içeren bölgelerin enzim kesimi sonucu %3'lük agaroz jelde yürütülmesi ve UV ışık altında görüntü lenmesi.....	34

Tablolar:

Tablo 1: Gebelik sırasında görülen hemodinamik değişiklikler.....	5
Tablo 2: Gebelik sırasında görülen preeklampsi ve kronik hipertansiyonun ayırıcı tanısı ..	7
Tablo 3: ACE gen polimorfizmi için kullanılan primer tablosu.....	28
Tablo 4: A1166C polimorfizmi için kullanılan primer tablosu ve restriksiyon enziminin kesim sonuçları.....	31
Tablo 5: ACE ve A1166C polimorfizmleri için hasta ve kontrol gruplarının klinik bulguları	32
Tablo 6: ACE genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarına göre dağılımı	35
Tablo 7: A1166C genotiplerinin hasta ve kontrol gruplarına göre dağılımı	36

ÖZGEÇMİŞ

Nevra ALKANLI

Doğum Tarihi: 29.10.1979

EĞİTİM:

1985-1990 İstanbul, Bahçelievler İlköğretim Okulu

1990-1993 İstanbul, Bahçelievler Ortaokulu

1993-1996 İstanbul, Bahçelievler Lisesi

1997-2000 Edirne, Trakya Üniversitesi Sağlık Meslek Yüksekokulu Anestezi Bölümü

2002-2007 Edirne, Trakya Üniversitesi Fen- Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü

2007-2009 Anadolu Üniversitesi Açıköğretim Fakültesi Sağ. Kur. İşl. Ön Lisans Programı

2008- Edirne, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Yüksek Lisansı

YAYINLAR:

Uluslararası Kongre ve Sempozyum Bildirileri:

Alkanlı N, Sipahi T, Okman KT, Başak AA, Yükçü F, Şener S. The Association of Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Gene Polymorphism and Preeclampsia in The Turkish Women. The 2nd International Biophysics and Biotechnology Congress at GAP October 5-9, 2009 Dicle University Medicine Faculty, Diyarbakır.

EKLER

Ek 1

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
YEREL ETİK KURULU Edirne, Türkiye
ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYI

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTFEK 2009 /25
	PROTOKOL ADI	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim ve anjiyotensin II Tip 1 Reseptörü Gen Polimorfizmlerinin Türk Kadınlarında Görülen Preeklampsi ile İlişkisi
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI	Prof. Dr. Seralp ŞENER
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	T.Ü.T.F. Biyofizik Anabilim Dalı
	BAŞVURULAN ETİK KURUL	T.Ü.T.F. Yerel Etik Kurulu
	DESTEKLEYİCİ FIRMA	Trakya Üniversitesi Araştırma Projeleri (TÜBAP)
	FAZİ	
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	<input checked="" type="checkbox"/> Tek Merkez <input type="checkbox"/> Çok Merkez <input checked="" type="checkbox"/> Ulusal <input type="checkbox"/> Uluslararası

DEĞERLENDİRİLEN İLGİLİ BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Değişiklik No.su	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	27.01.2009		<input checked="" type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce
	ARAŞTIRICI BROŞÜRÜ			<input type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU ÖRNEĞİ	27.01.2009		<input checked="" type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce
	OLGU RAPOR FORMU			<input type="checkbox"/> Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 05 / 17	Tarih: 12.03.2009
	<p>Üniversitemiz Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Seralp ŞENER'in sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen Yüksek Lisans Öğrencisi Nevra ALKANLI'nın tezinin araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeleri araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelendi. Başvuru dosyasının uygun formatta hazırlanmış bir örneğinin araştırma yürütücüsü tarafından Sağlık Bakanlığı Tedavi Hizmetleri Genel Müdürlüğü'ne gönderilmesi gerekmektedir. Araştırmaya ilişkin giderlerin T.Ü. Araştırma Projeleri (TÜBAP) tarafından karşılanması koşuluyla ve araştırmanın TÜBAP onay yazısının Yerel Etik Kurulumuza gönderilmesinden ve Bakanlık onayından sonra başlatılmasında etik sakınca bulunmadığına mevcudun oybirliği ile karar verilmiştir.</p>	

ETİK KURUL BİLGİLERİ							
ÇALIŞMA ESASI		Helsinki Bildirgesi, İlaç Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF Etik Kurul Yönergesi					
ÜYELER							
Ünvanı / Adı / Soyadı Ek Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza	
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECI Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F. Farmakoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	İzinli	
Doç. Dr. Ümit N. BAŞARAN Başkan Yardımcısı	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	İzinli	
Prof.Dr. Betül Biner ORHANER Üye	Çocuk Sağ. Ve Hst.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hst. A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	İzinli	
Doç. Dr. Dilek MEMİŞ Üye	Anesteziyoloji	T.Ü.T.F. Anesteziyoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	İzinli	
Doç. Dr. Ömer Nuri PAMUK Üye	Romatoloji	T.Ü.T.F. İç Hst. A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	İzinli	
Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ Üye	Biyokimya	T.Ü.T.F. Biyokimya A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	İzinli	
Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA Üye	Patoloji	T.Ü.T.F. Patoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	İzinli	
Yrd. Doç. Dr. Esin KARLIKAYA Üye	Deontoloji ve Tıp Tarihi	T.Ü.T.F. Deontoloji ve Tıp Tarihi A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	İzinli	
Ecz. Emine SAKMAN Üye	Eczacı	T.Ü.T.F. Başhekimliği	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	İzinli	
Avukat Barış DEMİREL Üye	Hukuk	T.Ü. Rektörlüğü	E	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	İzinli	

* Araştırma ile ilişki

** Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Murat DİKMEN GİL
Dekan