



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

**PREEKLAMPSİ GELİŞİMİNDE HIF-1 α , TIE-2 VE CD95' İN
HASTALIĞIN PATOGENEZİ İLE İLİŞKİSİ**

FATMA ÖZÇELİK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**SİVAS
2015**



T.C.

CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PREEKLAMPSİ GELİŞİMİNDE HIF-1 α , TIE-2 VE CD95' İN
HASTALIĞIN PATOGENEZİ İLE İLİŞKİSİ**

FATMA ÖZÇELİK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI

YRD. DOÇ. DR. ENVER SANCAKDAR

SİVAS-2015

Bu alışma Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanmış ve jürimiz tarafından Biyokimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan Prof. Dr. Sevtap BAKIR _____

Üye (Danışman) Yrd. Doç. Dr. Enver SANCAKDAR _____

Üye Yrd. Doç. Dr. Savaş KARAKUş _____

ONAY

Bu tez çalışması, 26/01/2015 tarihinde Enstitü Yönetim Kurulu tarafından belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. ALİ ÇELİKSÖZ
SAğLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi senatosunun 24.09.2008 tarih ve 007 sayılı kararına göre kabul edilen Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü tez yazım kılavuzu adlı yönelgeye göre hazırlanmıştır. Bu tez çalışması Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No T-596).

ÖZET

PREEKLAMPSİ GELİŞİMİNDE HIF-1 α , TIE-2 VE CD95' İN HASTALIĞIN PATOGENEZİ İLE İLİŞKİSİ

Fatma ÖZÇELİK

Yüksek Lisans Tezi, Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Enver SANCAKDAR

2015, 70 sayfa

Preeklampsi, gebeliğin 20. haftasından sonra hipertansiyon, proteinüri ve ödem ile ortaya çıkan bir hastalık olup, hastalığın patogenezinde anjiyogenezin ve apoptozun rolü olduğu düşünülmektedir.

Çalışmamızda preeklampsi hastalarında anjiyogenetik faktörler olan hipoksi ile tetiklenen faktör 1 alfa ve tirozin endotel kinaz (Hif-1 α ve Tie-2) ile apoptotik belirteç olan hücre yüzey belirteci 95 'in (CD95) serum düzeylerinin hastalık ile olan ilişkisini araştırmayı amaçladık. Çalışmamıza 44 preeklampsi hastası ile 44 sağlıklı gebe dahil edildi.

Çalışma sonuçlarımız sağlıklı gebe grubu ile karşılaştırıldığında, preeklampsi hastalarında Hif-1 α ve CD95 yüksek iken Tie-2 serum düzeyleri düşük olarak bulundu. Bu farklılıklar kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$). Ayrıca, preeklampsi hasta grubunu hafif ($n=26$) ve şiddetli ($n=18$) olarak ikiye ayırdığımızda ise gruplar arasında serum Hif-1 α , CD95 ve Tie-2 düzeyleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$).

Sonuç olarak preeklampsi hastalarında oksidatif stres kaynaklı HIF artışı, Ang/Tie2 sistemindeki bozukluğa ya da antianjiyogenetik faktörlerin etkisinin artmasından kaynaklanabilir. Yetersiz plasantasyon sonucu artan oksidatif strese bağlı olarak, artan Hif-1 α düzeyleri apoptozu tetikleyerek apoptotik belirteç (CD95) düzeylerini artırmaktadır.

Anahtar kelimeler: Preeklampsi, Hif-1 α , Tie-2, CD95, Anjiyogenez, Apoptoz

ABSTRACT

THE RELATIONSHIP OF DEVELOPMENT OF PREECLAMPSIA WITH HIF-1 α , TIE-2, AND CD95 IN THE PATHOGENESIS OF THE DISEASE

Fatma ÖZÇELİK

Master Thesis, Department of Biochemistry

Supervisor: Assistant Professor Dr. Enver SANCAKDAR

2015, 70 page

Preeclampsia is a disease characterized by hypertension, proteinuria, and edema occurring after the 20 weeks of gestational age. The angiogenesis and apoptosis seem to play a role in the pathogenesis of the disease.

In this study, we aimed to evaluate the relation between the disease and the serum levels of the angiogenetic factors hypoxia inducible factor-1 alpha and tyrosine endothelial kinase (Hif-1 α and Tie-2) and the apoptotic indicator cluster of differentiation 95 (CD95) in the preeclamptic patients. Forty four preeclamptic patient and forty four healthy pregnant women were included in the study.

The results of our study were found as; when compared to healthy pregnant women group, the serum levels of Hif-1 α and CD95 were high, and that of Tie-2 was low in the preeclampsia group. These results were significantly different in the preeclamptic group when compared to control group ($p < 0,05$). Besides, when we separate the preeclamptic patient group as mild ($n=26$) and severe ($n=18$), the serum levels of Hif-1 α , CD95, and Tie-2 were not significantly different among the study groups ($p > 0,05$).

As a result, the oxidative stress induced increase in Hif levels in preeclamptic patients may be due to an impairment in the Ang/Tie2 system or an increase in the effect of the angiogenetic factors. The increased oxidative stress due to the inadequate placentation triggering the apoptosis by increased Hif-1 α levels increase the levels of apoptotic indicator (CD95).

Key words: Preeclampsia, Hif-1 α , Tie-2, CD95, Angiogenesis, Apoptosis

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışması boyunca değerli bilgi ve tecrübeleriyle çalışmalarımın her aşamasında, bana yol gösteren ve motive eden, sorunların çözümüne hoşgörölü, sabırlı yaklaşımını ve etik anlayışını örnek aldığım, zamanımı, bilgi ve emeğini esirgemeyen, zorluklarla mücadeleyi, hoşgörü ve disiplini öğreten, kendisini tanımaktan onur ve mutluluk duyduğum, daima sevgi ve saygı ile anacağım çok değerli danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Enver SANCAKDAR' a ve Biyokimya Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine, sayın hocalarım, başta Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sevtap BAKIR olmak üzere Prof. Dr. Hatice PINARBAŐI'na, Prof. Dr. Yavuz SİLİĞ'e, Doç. Dr. V. Kenan ÇELİK'e ve Yrd. Doç. Dr. Hüseyin AYDIN'a değerli bilgi ve emeklerinden dolayı en derin saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

Tezin laboratuvar çalışmaları aşamasında yardımcı olan tüm Biyokimya Laboratuvarı çalışanlarına, her konuda yardımını esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım kendisini abla olarak gördüğüm Arş. Gör. Dr. Duygu OĞUZ ACIBUCU ve kendisini abi olarak gördüğüm Arş. Gör. Dr. Serdar EZİN'e, numunelerin toplanmasında her türlü yardımı sağlayan, destek ve bilgilerinden yararlandığım, kendilerini tanımaktan onur ve mutluluk duyduğum, sevgi ve saygıyla anacağım, her zaman gülen yüzleriyle hatırlayacağım, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim dalı öğretim üyelerinden sayın Yrd. Doç. Dr. Savaş KARAKUŞ ve sayın Yrd. Doç. Dr. Özlem BOZOKLU AKKAR hocalarıma, Kadın Hastalıkları ve Doğum servisi çalışanlarına tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

Varlıklarını hayatta hiçbir Őeye deđiŐmeyeceğim, her zaman maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, beni ben yapan DEĞERLİ AİLEME sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ	1
2. GEBELİK	2
2.1 Gebelik Komplikasyonları	2
3. GEBELİKTE HİPERTANSİYON	3
3.1 Sınıflama	3
3.1.1 Gestasyonel Hipertansiyon.....	5
3.1.2 Kronik Hipertansiyon	5
3.1.3 Kronik hipertansiyon zemininde gelişen preeklampsi (Süperempoze preeklampsi).....	5
3.1.4 Eklampsi.....	5
4. PREEKLAMPSİ	6
4.1 Preeklampside İnsidans ve Risk Faktörleri	6
4.2 Preeklampsinin Sınıflandırılması	7
4.3 Preeklampside Sistemik Değişiklikler ve Komplikasyonlar	7
4.4 Preeklampsinin Patogenezi	8
4.5 Preeklampsinin Öngörüsü	11
4.6 Preeklampsinin Yönetimi.....	13
5. ANJİYOGENEZ.....	14
5.1 Anjiyogenez Oluşum Basamakları.....	15
5.1.1 Bazal Membranın Proteolitik Enzimler Tarafından Yıkılması	16
5.1.2 Endotel Hücrelerde Göçme ve Çoğalma.....	16
5.1.3 Kapiller Oluşumu ve Damar Olgunlaşması	16
5.2 Anjiyogenezi Etkileyen Faktörler	18
5.2.1 HIF (Hipoksi ile İndüklenen Faktör)	18
5.2.2 Tie 2	21

6. APOPTOZ	22
6.1 CD95	24
7. GEREÇ ve YÖNTEMLER	26
7.1 Gereç	26
7.1.1 Kullanılan Gereçler	26
7.2 Yöntem.....	26
7.2.1 Hasta ve Kontrol Grubu	26
7.2.2 Örneklerin Toplanması	27
7.3 İstatistiksel Analiz.....	27
8. BULGULAR.....	28
9. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	33
KAYNAKLAR	38
ÖZGEÇMİŞ	53
EKLER.....	54
EK-1 Cumhuriyet Üniveristesesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu.....	53
EK-2 Bilgilendirilmiş Olur Formu	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 5.1 Hipoksi ile indüklenen faktör-1 ile transkripsiyonel olarak aktive olan olaylar ve genler.....	20
--	----

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Gebeliğe Komplike Eden Hipertansif Hastalıkların Tanısı	4
Çizelge 4.1 Preeklampsi Risk Faktörleri	7
Çizelge 4.2 Şiddetli Preeklampsi Kriterleri	7
Çizelge 4.3 Preeklampsi Sendromunun Gelişimi İçin Öngörü Testleri.....	11
Çizelge 5.1 Doğal Anjiyogenez Modülatörleri.....	15
Çizelge 5.2 HIF-1 ile direkt olarak regüle edilen bazı genler.....	19
Çizelge 5.3 Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α ile regüle edilen anjiyogenezin aşamaları	21
Çizelge 8.1 Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik Bilgileri ve Değerlendirilmesi	28
Çizelge 8.2 Hasta ve Kontrol Gruplarının Laboratuvar Verileri ve Değerlendirilmesi..	30
Çizelge 8.3 Hasta ve kontrol gruplarında Tie-2, Hif-1 α ve CD95 sonuçları	31
Çizelge 8.4 Hastalık Şiddetine Göre Tie-2, Hif-1 α ve CD95 sonuçları	32

KISALTMALAR DİZİNİ

ACOG	American College of Obstetricians and Gynecologists
AKŞ	Açlık kan şekeri
ALT	Alanin aminotransferaz
Ang	Anjiopietin
AST	Aspartat aminotransferaz
BUN	Kan üre azotu
Ca	Kalsiyum
CD95	cluster of differentiation 95
ECM	Endotel Hücrelerini Döşeyen Ekstraselüler Matriks
GD	Gestasyonel diabetes
GHH	Gestasyonel Hipertansif Hastalık
Hb	Hemoglobin
HELLP	Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet count
HIF	Hipoksi ile tetiklenen faktör
Hif-1 α	Hipoksi ile tetiklenen faktör 1 alfa
Hif-1 β	Hipoksi ile tetiklenen faktör 1 beta
IUGR	İntra uterin gelişme geriliği
K	Potasyum
KB	Kan Basıncı
LDH	Laktat dehidrogenaz
MTP	Mikro Total Protein
Na	Sodyum
NHBPEP	National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy
NO	Nitrik oksit
PIGF	Plasental Büyüme Faktörü
PLT	Platelet sayısı
sFlt-1	Solübl fms- benzeri tirozin kinaz 1
sEng	Solübl endolgin

Tie-2	Tunica interna endothelial cell-kinase-2
TNF	Tümör nekrosis faktör
UV	Ultraviyole
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
Wbc	Beyaz kan hücresi

1. GİRİŞ

Gebelik fizyolojik bir olay olarak kabul edilmekle birlikte, gelişen çeşitli faktörlerle olumlu veya olumsuz yönde etkilenebilmektedir. Bu etkiler sonucunda gebelik sürecinde bazı hastalıklar (IUGR, preterm doğum, preeklampsi, erken membran rüptürü, amniyotik sıvı bozuklukları, Rh uyuşmazlığı, diyabet, uzamış gebelik) ortaya çıkabilir ve bu hastalıklar hem anne hem de fetusta çeşitli etkilere yol açabilmektedir. Preeklampsi de bu hastalıklar içinde önemli bir yer tutmaktadır [1,2].

Preeklampsi, genellikle 20. gebelik haftasından sonra ortaya çıkmakta olup hipertansiyon ve proteinüri yanında, vücudun tüm sistemlerini ilgilendiren sistemik ve kompleks bir hastalık olarak kabul edilmektedir [3]. Gebeliklerin yaklaşık %5-8'inde rastlanan Preeklampsi insidansı ırk, bölge ve ülkelere göre değişmekte olup, nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte preeklampsi gelişiminde iki temel patolojik neden ileri sürülmektedir [4].

1- Yetersiz trofoblastik invazyon veya plasantasyon.

2- Yaygın endotel hasarı.

Bunlara ilaveten genetik faktörler, immünolojik bozukluk veya primer trofoblast defekti gibi durumlar da plasenta yapısında ve yerleşimde sorunlara neden olmaktadır [5].

Preeklampsinin patogenezi ile ilgili en çok üzerinde durulan hipotezlerden biri de plasentanın anjiyogenezis ve gelişiminde yetersizliğe bağlı olarak meydana gelen uteroplasental yetmezliktir. Yeterli plasantasyon çeşitli anjiyogenik ve antianjiyogenik proteinlerin hassas dengesiyle sürdürülen vaskülogenezise ihtiyaç duymaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda preeklampside anjiyogenik ve antianjiyogenik proteinlerin dolaşımdaki seviyelerinin değişmesinin endotel disfonksiyonuna sebep olduğu gösterilmiştir [6, 7, 8]. Bu bilgiden yola çıkılarak preeklampsinin primer olarak vasküler endotelin bir hastalığı olduğu teorisi ortaya atılmıştır [6].

Preeklampsi ile komplike olabilecek gebeleri önceden tanıyabilmek için bazı testler bulunmaya çalışılmış fakat günümüze kadar yapılmış olan birçok araştırmaya rağmen hastalığın gelişimini öngörebilecek testler tespit edilememiştir. Günümüzde tedavisi klinik takip sonrası doğum olarak kabul edilmektedir [2].

Çalışmamızda amacımız, preeklampside hastalığın patolojisinde etkili olabileceğini ileri sürülen anjiyogenetik (Hif-1 α , Tie-2) ile apoptotik (CD95) belirteçlerin etkisini birlikte değerlendirerek, hastalığın gelişmesinde altta yatan mekanizmayı aydınlatmaya çalışmak planlandı.

2. GEBELİK

Gebelik, yeni bir canlının meydana gelmesinde kadın ovum hücresi ile erkek üreme hücresi spermin birleşmesi ile başlayan, ortalama 280 gün (40 hafta, 10 ay) süren, her üç aylık dönemine bir trimester denilen, üç trimesterden oluşan ve doğumla sona eren bir süreçtir.

Gebelik normal fizyolojik bir süreç olsa da, bu süreçte anne ya da fetus sağlığını tehdit eden fizyopatolojik olaylarla karşı karşıya kalınmaktadır. Fizyolojik değişiklikler bariz bir problem oluşturmazken, gebeliğin patolojik seyri sırasında ortaya çıkan sorunlar gerek anne gerekse fetusta morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır [1, 2].

Gebeliğin erken dönemlerinde fetal gelişime eşlik eden plasenta kütlelerinde artışa paralel olarak anjiogenik faktörlerdeki artış, plasental anjiogenezisi artırmaktadır. Doğuma yakın terminal dönemde ise antianjiogenik faktörlerdeki artış ile doğuma hazırlık başlamaktadır [9].

2.1 Gebelik Komplikasyonları

Gebe olmayan bayanlarda görülen her türlü tıbbi sorun gebe kadınlarda da görülebilmektedir. Fakat burada önemli olan tıbbi sorunların yanı sıra bir de göz ardı edilmemesi gereken gebeliğin olmasıdır. Gebelikte gelişen fizyolojik değişiklikler ve patolojik durumlar, sıklıkla tanı ve tedavide karmaşıklığa neden olabilmektedir.

Gestasyonel diyabet (GD), gestasyonel hipertansif hastalıklar (GHH), intra uterin gelişme geriliği (IUGR) ve oligohidroamnios gebelik seyrinde ortaya çıkabilecek komplikasyonlardan olup, tanı, tedavi ve takibi mutlaka yapılması gereken tıbbi sorunlardandır. Aksi takdirde fetomaternal ölüm dahil birçok komplikasyonların gelişmesine neden olabilmektedir. Bu nedenle ilk trimesterde dahi gebeliğin başlarında gebeliğin prognozunu bilmek ve gelişebilecek komplikasyonları ön görebilmek büyük önem arz etmektedir. Bu komplikasyonlardan hipertansif bozukluklar gebelikte en çok görülen tıbbi komplikasyon olup, maternal ve perinatal mortaliteyi anlamlı derecede

artırmaktadır. Gebelik esnasında görülebilen bu hipertansiyon, gebeliğin ilerleyen dönemlerinde hafifden şiddetliye kadar değişen klinik bozukluklara neden olabilmektedir.

3. GEBELİKTE HİPERTANSİYON

Hipertansif hastalıklar gebelikte görülen en sık tıbbi komplikasyonlar olup, değişik hastane, bölge ve ülkelere göre değişmekle birlikte insidansı %5-10 arasında görülmektedir. Gebelikte görülen hipertansiyon dünyada, maternal ve perinatal mortalite ve morbiditenin en önemli nedenidir. Amerika Birleşik Devletleri'nde anne ölümlerinin yaklaşık %15'ini gebelikte görülen Hipertansif hastalıklar oluşturmaktadır [10]. Gebelikte hipertansiyon terimi, hafif kan basıncı (KB) yüksekliği olan olgudan, organ fonksiyon bozukluğuna yol açan şiddetli formlara kadar uzanan geniş bir hasta aralığını tanımlamaktadır. Bu olgularda belirtiler, klinik olarak benzerlik göstermektedir (örneğin, hipertansiyon, proteinüri).

Gebelikte oluşan hipertansiyonun etiyolojisi ve patofizyolojisi, yapılan çalışmalara rağmen halen tam olarak açıklanamamıştır [1, 2].

3.1 Sınıflama

Gebelikteki hipertansif bozuklukların sınıflaması, hastalığın prognozunun belirlenmesi, yükselmiş kan basıncının ve gebeliğin yönetimi, maternal ve fetal risklerin saptanması açısından son derece önemlidir. Sınıflama konusunda literatürde günümüze kadar değişik sınıflamalar öne sürülmüş olmasına rağmen bugün bile sınıflama konusunda tam bir fikir birliğine varılmamıştır. 'National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy' (NHBPEP) tarafından 2000 yılında yayınlanan tanımlama ve sınıflandırma kriterleri kullanılmaktadır (Çizelge 3.1) [2].

Çizelge 3.1 Gebeliğe Komplike Eden Hipertansif Hastalıkların Tanısı

Gestasyonel Hipertansiyon:

- Gebelik sırasında ilk kez KB'nın $\geq 140/90$ mmHg olması
- Proteinüri izlenmez
- Kan basıncı postpartum 12. haftadan önce normale döner
- Kesin tanı ancak postpartum konur
- Preeklampsinin epigastrik ağrı veya trombositopeni gibi diğer bulguları gözlenebilir.

Preeklampsi:

Minimum Kriterler:

- 20. gebelik haftasından sonra KB'nın $\geq 140/90$ mmHg olması
- Proteinürinin ≥ 300 mg/24 saat veya $\geq 1+$ çubukla ölçüm (dipstik)

Preeklampsi açısından artmış kesinlik:

- KB'nın $\geq 160/110$ olması
- Proteinürinin 2 g/24 saat veya $\geq 2+$ dipstik
- Serum kreatinin > 1.2 mg/dl olması, daha önce yüksek olduğu bilinmiyorsa
- Trombositlerin < 100.000 /mm³ olması
- Mikroanjiyopatik hemoliz – LDH artışı
- Artmış serum transaminaz düzeyleri-ALT veya AST
- Persistan baş ağrısı veya diğer serebral veya görme bozukluğu
- Persistan epigastrik ağrı

Eklampsi:

- Preeklampitik bir gebede diğer nedenlere açıklanamayan nöbetlerin olması

Kronik Hipertansiyon Zemininde Gelişen (Süperimpoze) Preeklampsi:

- 20. gebelik haftasından önce proteinürisi olmayan hipertansif bir kadında yeni başlayan ≥ 300 mg/24 saat proteinüri olması
- 20. gebelik haftasından önce proteinürisi olan hipertansif bir kadında proteinüride ve kan basıncında ani yükselme veya trombosit düzeyinin < 100.000 /mm³ olması

Kronik hipertansiyon

- Gebelikten önce veya gebeliğin 20. haftasından önce KB'nın $\geq 140/90$ mmHg olması
- Hipertansiyonun ilk olarak 20. gebelik haftasından önce tesbit edilmesi ve postpartum 12. haftadan sonra devam etmesi

ALT: Alanin aminotransferaz, AST: Aspartat aminotransferaz, LDH: Laktat dehidrogenaz, KB: kan basıncı

3.1.1 Gestasyonel Hipertansiyon

Gestasyonel hipertansiyon tanısı, gebeliğin ikinci yarısından sonra ilk kez ölçülen kan basıncının 140/90 mm Hg veya daha yüksek olması yanında, proteinürinin olmamasıdır.

Hipertansiyon en az iki defa, 4 saat ara ile saptanmalı ve ölçümler arası süre bir haftayı geçmemelidir. Gestasyonel hipertansiyonu olan bazı kadınlarda, tanısı konulmamış, kronik hipertansiyon dikkati çekmektedir. Fakat bazı olgularda da, preeklampsi klinik sendromu (epigastrik ağrı, trombositopeni) gelişmektedir [2].

3.1.2 Kronik Hipertansiyon

Kronik hipertansiyon ise, gebelikten önce hipertansiyonun olması olup, 20. gebelik haftasından önce tespit edilmesi ve ölçülen kan basıncının $\geq 140/90$ mmHg olması yanında postpartum 12. haftadan sonrada hipertansiyonun devam etmesi olarak tanımlanmaktadır [2].

3.1.3 Kronik hipertansiyon zemininde gelişen preeklampsi (Süperempoze preeklampsi)

Kronik hipertansif gebelerin %25 ve fazlasında kronik hipertansiyon zemininde gelişen preeklampsi görülebilir. Bu durum, anne ve bebek açısından morbiditeyi artıran, süperempoze preeklampsi geliştirebilir. Kronik hipertansiyon tanısı konmuş bir gebede 20. gebelik haftasından sonra proteinüri ya da, 20. gebelik haftasından önce proteinürisi olan hipertansif bir kadında proteinüri saptanması ve kan basıncında ani yükselme veya trombosit düzeyinin $< 100.000 /\text{mm}^3$ olması, süperimpoze preeklampsi olarak kabul edilmektedir. Kronik hipertansif bir gebede preeklampsi gelişmesi, gebe için önemli bir klinik durumdur [11]. Kronik hipertansiyonu olan gebeler, tipik olarak 24. gebelik haftasından sonra daha da kötüleşir ve kronik hipertansiyon olmadan preeklampsi gelişen gebelere göre daha ağır bir tablo sergileyebilirler [12].

3.1.4 Eklampsi

Gebelik ya da lohusalık sırasında preeklampsi kriterlerini taşıyan hastalarda nörolojik hasar olmadan gelişen havale veya koma durumuna eklampsi denilmektedir. Eklampsi, preeklampsi hastalarının %50'sinde görülebilmektedir. Baş ağrısı ve görme bozukluğu eklamptik nöbetlerin gelişmesi açısından uyarıcı semptomlarıdır [13].

4. PREEKLAMPSİ

Preeklampsia, neredeyse her organ sistemini etkileyebilen gebeliğe özgü hipertansiyon olup, klasik üçlüsü: hipertansiyon, proteinüri ve ödemden oluşmaktadır. Fakat, ödemin preeklampsinin bir parçası olarak görülmemesi konusunda evrensel bir fikir birliği bulunmaktadır [14, 15]. Aslında, preeklampsia tanısının doğrulanmasında ödem ne yeterlidir, ne de gereklidir. Çünkü, ödem normal gebelikte sık görülen bir bulgu olup, eklampitik kadınların üçte birinde ödem görülmemektedir [16]. Proteinüri, en az iki kez rastgele, 4 saat ve fazla ara ile alınan, idrar örneğinde 0,1 g/L protein kaybı veya 24 saatlik idrarda 0,3 g (300 mg) protein kaybı olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca preeklampside idrarda protein /kreatin oranı $\geq 0,30$ tespit edilmesi de tanı için kullanılmaktadır [1, 17]. Amerikan Kadın Hastalıkları ve Jinekoloji birliğinin (ACOG) tanımladığı kriterlere göre proteinüri yokluğunda da, yeni başlanğıçlı hipertansiyonla birlikte, trombosit sayısı $< 100.000 \mu\text{l}$, kreatin $> 1,1 \text{ mg/dl}$ veya diğer böbrek hastalıklarının yokluğunda serum kreatin oranının iki kat artmasıyla, akciğer ödemi, santral sinir sistemi ve görme bozukluğu ile karaciğer enzimlerinin normalin iki katı artmasıyla preeklampsia tanısı konulmaktadır [18]. Preeklampsinin klinik bulguları, maternal sendrom (sistemik anormalliklerin eşlik ettiği veya etmediği hipertansiyon ve proteinüri) ya da fetal sendrom (fetal büyüme kısıtlılığı, amniyon sıvısında azalma ve anormal oksijenizasyon) olarak kendini belli etmektedir [1].

Ülkemizde anne ölümlerinin önde gelen nedenlerinden (kanama, enfeksiyon, tansiyon gibi) biri de preeklampsidir [19].

4.1 Preeklampside İnsidans ve Risk Faktörleri

Preeklampsia, sıklıkla genç ve nullipar gebelerde görülür iken, yaşlı gebelerde kronik hipertansiyon zemininde preeklampsia gelişme riski daha yüksektir.

Preeklampsia için maternal ve fetal risk faktörleri Çizelge 4.1 'de özetlenmiştir [2,17].

Çizelge 4.1 Preeklampsi Risk Faktörleri

Maternal	Fetal
İlk gebelik	
Daha önce Preeklampsi öyküsünün varlığı	Çoğul gebelik
<20 yaş 35> yaş grubu	Plasental hidrops
Preeklampsi- eklampsi aile öyküsünün varlığı	
Vücut kitle indeksi	
Partner değişimi	
Afrikan- Amerikan ırkından olmak	
Düşük sosyo- ekonomik yapı	
Nulliparite	
Kan grubu ve Rh faktörü	
Kalıtım	
Obezite	
Diabetes mellitus	
Kronik hipertansiyon	
Bağ doku hastalıkları	
Renal hastalıklar	

4.2 Preeklampsinin Sınıflandırılması

Preeklampsi, hafif ve şiddetli olarak iki gruba ayrılır [2]. Çizelge 4.2 'de şiddetli preeklampsi kriterleri özetlenmiştir [18].

Çizelge 4.2 Şiddetli Preeklampsi Kriterleri

Kriterler
4 saat ara ile ölçülmüş KB \geq 160/110 mmHg olması
Trombosit sayısı $<$ 100.000 μ l
Karaciğer fonksiyon enzimlerinin (ALT, AST) normalin iki katı artmasıyla
Şiddetli, kalıcı sağ üst kadranda ağrısı veya epigastrik ağrı
İlerleyen böbrek yetmezliği (serum kreatin $>$ 1,1 mg/dl veya diğer böbrek hastalıkları yokluğunda normal serum kreatin konsantrasyonunun iki kat artması)
Akciğer ödemi
Yeni başlangıçlı beyin ve görme bozuklukları

4.3 Preeklampside Sistemik Değişiklikler ve Komplikasyonlar

Preeklampside karşılaşılabilecek başlıca komplikasyonlar hem anneyi hem de bebeği etkileyebilir. Fetusde, fetal gelişme geriliği, perinatal ölüm (dekolman plasentaya bağlı),

prematüre doğum, oligohidroamnios, fetal asfiksi gibi komplikasyonlar görülür iken, gebe annede ise; konvülsiyonlar, akut böbrek yetmezliği, kalp yetmezliği, pulmoner ödem, intrakranyal kanama, körlük, karaciğer subkapsüler hematomu ve rüptürü, trombositopeni, dissemine intravasküler koagülasyon, HELLP sendromu gelişmesine neden olabilir.

Preeklampitik gebelerin yaklaşık olarak %5-8 kadarında HELLP (Hemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet count) sendromu denilen hemoliz, karaciğer enzimlerinde yükselme ve trombosit sayısında düşme ile karakterize olan, preeklampsi ve eklampsinin şiddetli organ tutulumlarıyla seyreden daha ağır bir sendrom da gelişebilmektedir [1, 2, 20].

Preeklampside maternal ölümün en sık nedeni de şiddetli hipertansiyon ve eklampsidir [20].

4.4 Preeklampsinin Patogenezi

Preeklampsinin gelişim nedeni hala bilinmese de, gebelik ilerledikçe hız kazanan çeşitli patofizyolojik değişikliklerin gebeliğin başından itibaren meydana geldiği ve sonuçta, klinik olarak belirgin hale geldiğini gösteren kanıtlar bulunmaktadır. Doğum gerçekleşmezse, bu değişiklikler güçlükle fark edilen semptomlardan, anne ve bebeğin yaşamını tehdit eden ölümcül patofizyolojik sonuçlara kadar değişebilen bir klinik spektrumda multi-organ tutulumuna neden olmaktadır. Bu bozuklukların vazospazm, endotel fonksiyon bozukluğu ve iskemi nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir [2].

Preeklampsi-eklampsi patofizyolojisinin temelini vazospazm olduğuna dair ilk görüş Volhard (1918) tarafından öne sürülmüş olup [21], Hinselmann eklampsi hastalarında vazospazmı geliştiğini belirlemiş [22], Landesman ve ark.'ı preeklampsi hastalarında yaptıkları çalışmada, göz küresini örten kısımda, histolojik değişikliklerin vazospazmdan kaynaklandığı öne sürmüşlerdir [23]. Günümüzde de damar endotel hasarı ve vazospazmın preeklampsi patofizyolojisinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir [24, 25]. Endotel hücre aktivasyonu, son 20 yıldır preeklampsi patogenezinin araştırılmasında odak nokta olmuştur. Bu görüşte, anormal plasentasyona bağlı olarak plasentadan, anormal sitokin salınımı, oksidatif stres ve serbest radikallerin açığa çıkması, lokosit ve makrofajların uyarılması, kompleman sisteminin aktivasyonu ve apoptosiz sonucu mikropartiküllerin maternal dolaşıma salınımı, vasküler endotel aktivasyonu ve disfonksiyonunu uyararak, preeklampside yaygın olan endotel

hücrelerinde değişikliğe sebep olduğu düşünülmektedir [2, 26, 27, 28]. Damar endotel hasarı ve vazospazm oluşumunda artmış presör cevap, prostaglandinler, nitrik oksit, endotelin, vasküler büyüme faktörü, genetik yatkınlık, immünolojik faktörler, inflamatuvar faktörler sebep olmakta ve sonuçta endotelial hücre aktivasyonu ile trofoblastik invazyon meydana gelmekte ve vazopressör ajanlara karşı duyarlılık artmaktadır. Endotel hücrelerinde meydana gelen değişiklik sonucu oluşan vazospazma bağlı olarak kan akışına karşı direnç meydana gelmekte, bu da arter basıncında artışa neden olmaktadır [25, 29]. Oluşan endotel hasarı damar duvarında trombosit ve fibrinojen birikimine yol açarak sonuçta iskemi, nekroz, kanama ve ardından organ yetmezliğine neden olabilmektedir [2].

Yeterli plasenta işlevi, yeterli trofoblastik invazyona bağlı olup, preeklampsi etiyolojisini açıklamak için en çok üzerinde durulan nokta, yetersiz trofoblastik invazyondur. Madazlı ve ark. preeklampsi/eklampsi hastalarında yaptıkları çalışmada, trofoblastik invazyon bozukluğunun derecesi ile hipertansiyon şiddetinin korele olduğunu göstermiştir [30].

Preeklampsi patofizyolojisinde rolü olan trofoblastlar, anne ile bebek arasındaki gaz, besin maddeleri ve artık maddelerin değiş-tokuşunu düzenlediğinden, trofoblastlardaki apoptozis ve kontrol mekanizmalarının iyi anlaşılması normal plasental gelişim ve preeklampsi, IUGR gibi bazı riskli gebeliklerde görülen plasental disfonksiyonunun nedenini açıklayabilir [31, 32].

Plasental damar gelişimi, damar gelişimini düzenleyen pro-anjiogenik ve anti-anjiogenik faktörler arasındaki dengeye bağlıdır. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ailesinin üyeleri [33, 34] ve anjiopietin (Ang) gen ürünleri [34, 35] bu konuda en yoğun çalışılanlardır. Çalışmalarda VEGF aile ürünlerinin üretiminin preeklampsi hastalarının plasenta ve trofoblastlarında, VEGF-A ve VEGFR-1 üretiminin azalmakta iken solüble VEGFR-1 üretiminin arttığı, buna karşın yapılmış çalışmalarda, preeklampsi hasta plasentalarında Ang gen ürünlerinden Ang1 üretimi artar iken, Ang2 üretiminin ise azaldığı gösterilmiştir [34, 35, 36]. Anjiogenik dengesizlik, uteroplasental ara yüzde kötüleşen hipoksinin uyardığı varsayılan antianjiogenik faktörlerin çok fazla artışını tanımlamak için kullanılmaktadır [2]. Preeklampsi gelişimine yönelik gebelerin trofoblastik dokularında, maternal dolaşıma giren (Solüble (çözünür) Fms-benzeri tirozin kinaz 1 (sFlt-1), Solüble endolgin (sEng) gibi) en az iki antianjiogenik faktör aşırı üretilmektedir [37].

Günümüzde araştırmalar immünolojik mekanizmalar [38, 39], oksidatif stres [40], mitokondrial patoloji [41] ve hipoksi genlerinin [42, 43] üzerine odaklanmıştır [37].

Preeklampsi patogenezinde öne sürülen ve araştırılan konulardan biri de immünolojik faktörlerin etkisidir [39]. Gebelik bařlanđıcında fizyolojik olarak immün sistem aktive olmaktadır. Plasentadaki antijenik bölgeleri bloke eden antikorların oluşumunda bir bozukluk olduğunda, gebeliğe bağlı hipertansif bozuklukların oluşma riski artar. Bu durum, ilk gebelikte olduğu gibi, bir önceki gebeliğinde elektif bir immunizasyon gerçekleştirmede yetersiz kaldığı durumlarda da ortaya çıkabilir veya çoğul gebeliklerde olduğu gibi plasenta tarafından sunulan, antijenik alanların antikor miktarından çok fazla olduğu durumlarda kendini gösterebilir [2].

Gebeliđin bir oksidatif stres durumu olması nedeniyle oluşan oksidatif stresin etki sonucunda, lipid peroksidasyonu ve serbest radikal aktivitesinin artmasının yanı sıra, antioksidan aktivitede de artış meydana gelmektedir. Böylece sağlıklı gebelerde oksidan ve antioksidan aktivite birbirini dengelemekte iken preeklampside, antioksidan aktivitenin gebelik boyunca yeterince gelişmediği bildirilmektedir [44]. Preeklampsi ve fetal gelişme geriliği gibi durumlarda reaktif oksijen radikalleri daha fazla üretilmektedir [45]. Preeklampside geç gebelik döneminde etkin antioksidan defansın yetersizliği sonucunda, bunun trofoblast apoptozisi ve plasental vasküler reaktivitede değişikliğe yol ağtığı düşünölmüştür [46]. Artan serbest oksijen radikallerine bağlı olarak lipid peroksitlerin oluşumu artmakta, bu da endotel hasarına yol ačan oldukça toksik radikallerin oluşumuyla sonuçlanmaktadır. Bu tip bir hasar NO'in endotel hücrelerce üretimini azaltır ve prostoglandin dengesini bozmaktadır [47]. Oksidatif stresin diğer sonuçları arasında; aterosisin karakteristik bulgusu olan lipid yüklü makrofajların (köpük hücreleri) üretimi, mikrovasküler koagölasyonun aktivasyonu (trombositopeni) ve artmış kapiller permeabilite (ödem ve proteinüri) sayılabilir [2, 48].

Preeklampside, apoptosiz belirteçlerinden olan p53 [49], TNF- α [50] ve CD95 [51] gibi apoptotik markırların birçoğu çalışılmıştır. Bu çalışmalardan Sharp ve ark., preeklampsi hastalarının trofoblastlarındaki, oksidatif stres ve hipoksi tarafından artan apoptoziste, trofoblastlardaki p53 yoluna katılan proteinlerin değişen miktarları tespit edilmiş ve artan apoptozisin p53'ün kritik rolünün olduğunu [49], Ma ve ark. ise plasental trofoblastlarda artan TNF- α düzeylerinin, oksidatif stres indükleyicilerini artırarak, plasenta fonksiyon bozukluklarına sebep olduğunu düşünmüşlerdir [50]. Roh ve ark. ise preeklampsi hastalarının plasentalarında meydana gelen apoptosizin,

trofoblastlardaki artan CD95 seviyesinin, CD95/CD95L sistemini aktifleştirerek artırabileceğini düşünmüşlerdir [51].

4.5 Preeklampsinin Öngörüsü

Preeklampsi patofizyolojisiyle ilişkili olduğu düşünülen çeşitli biyokimyasal ve biyofiziksel göstergelerin, erken gebelikte veya gebelik boyunca ölçümünün, preeklampsi gelişimini öngörebileceği öne sürülmüştür. Araştırmacılar hatalı plasentasyon, azalmış plasental perfüzyon, endotel hücre disfonksiyonu ve koagülasyon aktivasyonu gibi durumlara ait erken göstergeleri tanımlamaya yönelik çalışmalar yapmışlardır [52, 53, 54]. Bu çabaların çoğu preeklampsinin önceden tayini için düşük duyarlılık gösteren test stratejileri ile sonuçlanmıştır. Klinik testlerin hiçbirisi pratikte tarama testi olarak yeterli güvenilirlikte değildir [2]. Preeklampsi öngörüsündeki testlerin bazıları Çizelge 4.3’ de verilmiştir.

Çizelge 4.3 Preeklampsi Sendromunun Gelişimi İçin Öngörü Testleri

İlişkili Testler	Örnekler
Plasental perfüzyon/ damar direnci	Roll-over testi, anjiotensin-II infüzyon, renin, 24-saatlik ayaktan kan basıncı monitörizasyonu, trombosit anjiotensin-II bağlama
Fetal-plasental ünite	İnsan koryonik gonadotropin (hCG), inhibin A, plasental endokrin disfonksiyonu protein 13, alfa-fetoprotein (AFP)
Böbrek fonksiyon bozukluğu	Serum ürik asit, mikroalbüminüri, N-asetil- β -glukozaminidaz
Endotel fonksiyon bozukluğu/ oksidatif stres	Trombosit sayısı ve aktivasyonu, fibronektin, prostaglandin, C-reaktif protein, sitokinler, endotelin, lipidler, plazminojen aktivatör-inhibitörü (PAI), leptin, plasental büyüme faktörü (PIGF), vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), fms-benzeri tirozin kinaz reseptör-1 (sFlt-1), endojen gibi anjiyogenik faktörler
Diğerleri/çeşitli	Antitrombin-III (AT-3), genetik belirteçler, serbest fetal DNA, serum proteonomik belirteçler

Provakatif Basıncı Testleri: Bir uyarıya yanıt olarak kan basıncındaki artışları belirlemek için yaygın olarak üç test değerlendirilmiştir. Roll-over testte 28 ile 32. haftalar arasındaki gebelerde sol yan pozisyonda yatan ve daha sonra sırt üstü pozisyonda

hipertansif yanıt ölçülmektedir. Roll-over testi basit olmakla beraber belirleyiciliği düşük bir testtir. İzometrik egzersiz testi aynı prensiple bir el topunu sıkarak yapılmaktadır. Anjiotensin II infüzyon testi intravenöz olarak artan dozlarda anjiotensin II verilerek yapılır ve hipertansif yanıt ölçülmektedir. Uygulama açısından zaman alıcı ve güçtür bu yüzden klinik pratikte kullanılmamaktadır. Conde-Agudelo ve arkadaşları (2009) yeni yaptıkları çalışmalarda üç testin tümünün duyarlılığını %50- 70, özgüllüğünü yaklaşık %85 olarak bulmuşlardır [2, 53].

Uterin Arter Doppler Velosimetrisi: Bu işlemin mantığı, preeklampsi patofizyolojisinde spiral arterlerin bozulmuş trofoblastik invazyonu sonucu oluşan uteroplasental akımdaki azalmaya dayandırılmaktadır. Doppler ultrasonografide artmış uterin arter akım hızının belirlenmesi birinci veya ikinci trimesterde bu sürece dolaylı bir kanıt sağlar ve böylece, preeklampsi için bir öngörü testi olarak görev yapmaktadır [55, 56, 57]. Günümüzde hiçbir klinik kullanım için uygun değildir [2, 58].

Serum Ürik Asit: Preeklampsinin erken laboratuvar bulgularından biri hiperürisemidir [59]. Hiperürisemi, muhtemelen azalmış glomerül filtrasyonu, artmış tubüler geri emilim ve azalmış sekresyon nedeniyle ürik asid klerensinin azalmasından kaynaklanmaktadır [60]. Ürik asit düzeyi, henüz gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi ayırımını yapmada dahi yararlılığı kanıtlanmadığından yaygın olarak kullanılmamaktadır [2].

Fibronektin: Bu yüksek moleküler ağırlıklı glikoproteinler adezyon ve morfoloji, migrasyon, fagositoz ve hemostaz gibi çeşitli hücre fonksiyonlarında görev yapmaktadır [61]. Fibronektinler endotel hasarını takiben endotel hücreleri ile ekstrasellüler matriksten salgılanmaktadır. 20 yıldan daha uzun süre önce, plazma konsantrasyonlarının preeklampsili gebelerde yükseldiğini bildirilmiştir [2, 62].

Oksidatif Stres: Yapılan çalışmada preeklampside plasenta kaynaklı oksidatif stresde artışın olduğunu ve maternal dolaşımda da oksidatif stres ürünlerinin yükseldiğini, buna karşılık antioksidan aktivitenin ise azaldığını ortaya koymaktadır [44, 45, 63]. Oksidatif stress markerları arasında malondialdehit, demir, trigliseridler, serbest yağ asitleri, lipoproteinler gibi kan lipitleri ve askorbik asit, E vitamini gibi antioksidanlar vardır

[64, 65, 66]. Öngörü değerleri yoktur, bazıları ile preklampsiyi önleme tedavisinde kullanılmıştır [2].

Anjiogenik Faktörler: Preeklampsinin patogeneziyle ilişkili olan proanjiogenik ve antianjiogenik faktörler arasında dengesizlik olduğunu gösteren çok sayıda kanıt vardır [2, 25]. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve plasental büyüme faktörü (PlGF) gibi proanjiogenik faktörlerin serum düzeyleri, klinik preeklampsi gelişmeden önce azalmaya başlamaktadır. Solübl fms- benzeri tirozin kinaz 1 (sFlt-1) ve solübl endoglin (sEng) gibi bazı antianjiogenik faktörlerin düzeyleri artmaktadır [37, 67].

Araştırma sonuçları preeklampsi öngörüsünde klinik rolünün olduğunu göstermiş olsa da doğruluğu kanıtlanana kadar, klinik kullanımları önerilmemektedir [68].

Serbest Fetal DNA: Endotel aktivasyonu ve inflamasyon olduğu sırada aynı zamanda fetal hücrelerin ve hücre içeriğinin maternal dolaşıma karıştığı gerçeğinden yola çıkarak, maternal serumda fetal DNA tespitinin preeklampsi öngörüsünde kullanılabileceği düşünülmüştür. Polimeraz zincir reaksiyonu kullanılarak maternal plazmada serbest fetal DNA saptanabilir [69]. Serbest DNA'nın sitotrofoblastların hızlanmış apoptozu sonucu salgılandığını varsayılmaktadır [70].

İmmunolojik Faktörler: Preeklampitik kadınlarda interferon, interlökinler, TNF yükselmiştir. Preeklampitik kadınlarda TNF α , interlökin1 ve interlökin10 değerlerinin yükseldiği ve bu yüksekliğin de, preeklampside global endotel disfonksiyonu ile ilişkili olduğu ve plasental hipoksiye yol açtığı düşünülmüştür [37].

4.6 Preeklampsinin Yönetimi

Preeklampsiyle komplike herhangi bir gebede yönetimin temel amaçları: Anne ve fetus açısından olanaklı olan en az travma ile gebeliğin sonlandırılması, daha sonra gelişecek bir bebeğin doğumu, annenin sağlığının yeniden sağlanmasıdır [2].

Gebeliğin oluşturduğu hipertansiyonun kesin tedavisi doğumdur. Doğum dışındaki bütün tedavi ve yaklaşımlar semptomatik olup alta yatan patolojiye yönelik değildir. Preeklampsi yönetiminde hem anne hem de fetusu dikkate alınmalıdır. Anne açısından tedavi amaçlı doğum kararı verildiğinde, fetus erken doğum ve prematürite riski ile karşı karşıya kalabilmektedir. Genel bir yaklaşım olarak hafif preeklampsi

grubunda fetusu düşünerek yakın ve sürekli izlem altında gebelik mümkün mertebede miada kadar devam ettirilirken, ağır grupta fetusun iyilik hali ve prognozu dikkate alınmadan maternal endikasyonla gebelik sonlandırılmaktadır [29].

5. ANJİYOGENEZ

İnsan hayatının sürdürülmesi için; besin ve oksijenin organ ve dokulara taşınmasında ve sonrasında dokulardan artık maddelerin uzaklaştırılmasında, kompleks yapıdaki damar ağı önemli bir yer tutmaktadır. Vücudumuzdaki kan damarlarının oluşmasında vaskülojen ve anjiyogen birlikte görev almaktadır. Damarsal yapının oluştuğu ilk evreye vaskülojen denmekte iken anjiyogen ise damarların oluşmasından önceki evrede endotel hücrelerinin kümelenmesi ile oluşan kapillerin dallanması ve genişlemesi ve küçük damarların büyüüp filizlenmesidir. Kısaca anjiyogen, yeni damar gelişimi olarak tanımlanmaktadır [71].

Anjiyogen çoğu zaman doku ve organların oluşumu için embriyonik fazda meydana gelmektedir. Gelişimin ilk haftalarında çevre dokudan difüzyon ile beslenen embriyo, büyüdükçe artan besin ve oksijen talebini karşılayamamaktadır. Bu nedenle erken dönemde (üçüncü haftanın başında) anjiyogenez (kan damarı oluşumu) başlamaktadır [72]. Anjiyogenez, döllenmeden sonra plasentanın gelişmesi, yara iyileşmesi, menstruasyondan sonra uterus iç tabakasının yenilenmesi gibi fizyolojik durumlar dışında organizmada oldukça sınırlıdır [73]. Normal koşullarda anjiyogen, endotel hücrelerinin çoğalmasını ve etkinleşmesini sağlayan pek çok büyüme faktörü, buna karşı gelen anti-anjiogenik etkenler arasında oluşan bir denge ile düzenlenir [74]. Anjiyogeni tetikleyen ve önleyen faktörler arasındaki denge bozulduğu takdirde anjiyogenezde eksiklik veya fazlalık görülebilir ve bu durumda anjiyogenez kontrol edilemez. Bu olay özellikle tümörlerin yayılmasında önemlidir [75].

Anjiyogenin fizyolojik ve patolojik olmak üzere 2 çeşidi vardır. Fizyolojik anjiyogen, embriyogen, yara iyileşmesi ve kadın üreme sisteminde gözlenmekte iken, bazı patolojik durumlarda da (kanserlerde, romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi inflamatuvar hastalıklarda, maküler dejenerasyon gibi değişik göz hastalıklarında) anjiyogen meydana gelmektedir. Fizyolojik anjiyogen gelişmekte olan fetüste başlamakta ve doğum sonrasında, erişkin dokulardaki normal kan damarlarını oluşturacak biçimde devam etmektedir. Fizyolojik anjiyogen kendi kendini sınırlayan bir olay olmasına rağmen patolojik anjiyogen uzun süre devam

etmektedir. Fizyolojik anjiyogenez ve patolojik anjiyogenez sonucu oluşan damar yapılarında farklılıklar mevcuttur. Fizyolojik anjiyogenezde kan damarları, düzenli, birbirinden yakın boşluklarla ayrılmış ve iyi düzenlenmiş bir dağılım gösterir iken patolojik anjiyogenezde ise uyarılan yeni kan damarları (örneğin tümörler tarafından) son derece anormaldir, düzensiz dallanırlar ve belirli bir düzene uymazlar. Ayrıca yapısal ve işlevsel açıdan heterojen, plazma proteinlerine ve plazmaya karşı genellikle yüksek derecede geçirgendirler. Yüzeylerinde pek çok büyüme ile ilgili reseptör taşırlar [76, 77]. Anjiyogenezi uyarıcı ve inhibe eden faktörler Çizelge 5.1’ de gösterilmiştir [78]

Çizelge 5.1 Doğal Anjiyogenez Modülatörleri

Anjiyogenezi inhibe edenler	Anjiyogenezi Uyarıcılar
Trombospondin	Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF)
Anjiostatin (plasminojen kısmı)	Ana Fibroblast büyüme faktörü (bFGF)
Endostatin (kollajen XVIII kısmı)	Asid Fibroblast büyüme faktörü (aFGF)
AaAt (antithrombin III kısmı)	Platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF)
Vazostatin	Hepatosit büyüme faktörü
Prolaktin	Epidermal büyüme faktörü (EGF)
Troponin 1	Insulin-benzeri büyüme faktörü
Anjiopoetin-2	Dönüşen büyüme faktörü α (TGF α)
Alfa interferon	Dönüşen büyüme faktör β (TGF β)
Gamma interferon	Tümör nekrosis faktör α (TNF α)
İnterlökin 12	Plasental büyüme faktörü (PIGF)
Fibronektin	Anjiopoetin-1
Metalloproteinaz doku inhibitörleri	Anjiojenin
Plazminojen aktivatör inhibitör 1 (PAI-1)	Pleotrofin
Platelet faktör 4 (PF 4)	İnterlökin 8
Pigment epitelial hücre faktörü	Granulosit-koloni uyarıcı faktör (G-CSF)
Retinoik asid	Proliferin
2-Metoksi-östradiol	Leptin
Dopamin	

5.1 Anjiyogenez Oluşum Basamakları

Yeni damar yapılarının oluşumu genel olarak dört basamakta gerçekleşmektedir; bazal membranın ve ekstra-sellüler matriksin proteazlar tarafından yıkılması, anjiyogenik uyarıya doğru endotel hücrelerinin göçü, endotel hücrelerin proliferasyonu ve kapiller tüp formasyonu ve endotel hücrelerin olgunlaşmasıdır [75].

5.1.1 Bazal Membranın Proteolitik Enzimler Tarafından Yıkılması

Anjiyogenez süreci damar endotelini döşeyen kollajen, laminin gibi glikoproteinlerden ve heparan sülfat gibi proteoglikanlardan oluşan bazal membranın proteolitik yıkımı ile başlamaktadır [79]. Endotel hücreleri göç etmek ve çoğalmak üzere uyarıldığında membran ve hücreler arasında bir bölünme meydana gelmektedir. Normalde, endotel hücreleri yayılma etkisi göstermeyen tek bir tabaka oluşturmakta iken, ancak anjiyogenez sırasında çoğalıp yayılma gösterirler. Normal, hastalıklı veya hasarlı dokularda üretilip salgılanan anjiogenik büyüme faktörleri komşu dokulara difüzyon yolu ile geçmektedir. Anjiyogenik büyüme faktörleri, etrafında var olan kan damarlarının endotel hücrelerinde bulunan özgün reseptörlere bağlanmaktadır. Büyüme faktörleri tarafından aktive edilen proteolitik enzimler bazal membranın ve endotel hücrelerini döşeyen ekstraselüler matriks (ECM) bileşenlerinin yıkımına neden olmaktadır. ECM'nin enzimatik yıkılımını, endotel hücrelerinin uyarılması ve kapiller filizlenme izlemektedir [80].

5.1.2 Endotel Hücrelerde Göçme ve Çoğalma

Anjiogenik uyarı, proteolitik yıkım ile kısa bir süre içinde endotel hücrelerini aktive etmektedir. Endotel hücreleri ekstraselüler matrikse göç ederek çoğalmaktadır. Bu süreçte en etkili anjiogenik faktör ise vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF)'dür [81].

5.1.3 Kapiller Oluşumu ve Damar Olgunlaşması

Endotel hücre çoğalmasından sonra ECM bileşenlerinin depolanması ve bir araya getirilmesi için ekstraselüler proteoliz mutlaka lokal olarak inhibe edilmelidir. Kapiller filizlenme oluşuktan sonra yine bu filizlenmenin ucunda yeni oluşmuş ECM'de yıkılma ortaya çıkmaktadır ve bu sayede daha ileri yayılım mümkün olmaktadır. Bazal membranın yıkılması endotel hücre göçüne ve filiz oluşumuna izin vermektedir. Endotelin yol alması ve uzaması sırasında hücre içi ve hücreler arası boşlukta, sonunda kendilerinden damarların oluştuğu lümenler gelişmektedir. Böylece, ekstraselüler matriks proteolizinin birbirini sırayla izleyen aktivasyon ve inhibisyonları sonucunda

kapiller damar ağı oluşmaktadır. Proteolitik yıkılma ve endotel hücresi göçünden sonra yeni oluşan kapillerler, yeni bazal membranı oluşturmaktadır. Bu nedenle, endotel hücrelerinin yeni kapiller yapılar oluşturabilmeleri için birbirlerine ve ECM'e tutunma gereksinimleri vardır. Damar olgunlaştıktan ve uygun anjiyogenez ortaya çıktıktan sonra anjiyogenik faktörlerde azalma görülür iken, anjiyogenez inhibitörlerinde artış gözlenmektedir. Böylece endotel hücreleri sessiz bir hale bürünerek, damarlar kan akımını başlatmaya hazır hale gelmektedir [82, 83].

Yeni oluşan mikrodamarların olgunlaşması ve yapılandırılması proanjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler arasındaki dengeye bağlıdır. Bu faktörler içerisinde en önemli olanı vasküler endotelial büyüme faktörüdür (VEGF). VEGF'nin anjiyogenezde rolü; Nitrik oksit salınımını indükleyerek damar permeabilitesini, bazal membran ve matriks yıkımını ve anjiyopietinler sayesinde endotel hücrelerin farklılaşmasında ve maturasyonunda rol oynamaktadır [84].

VEGF, erken vasküler gelişimden tüp formasyonu oluşumuna kadar ki sürece etki etmektedir. Bu aşamadan sonra damar stabilizasyonu için anjiyopietin (Ang) endotel hücreleri ile birleşerek, periendotelial hücreleri toplamakta ve damar stabilizasyonu sağlamaktadır.

Vasküler endotel üzerine etkili bir büyüme faktör ailesi olan anjiyopietinler son yıllarda tümör biyolojisindeki çalışmalarda VEGF araştırılırken keşfedilmiştir. 46 kDa ağırlığında, glikoprotein yapıda moleküller olup, amino terminal ucunda anjiyopietine spesifik alan içeren glikoprotein yapıda moleküllerdir. Ang 1, 2, 3 ve 4 olmak üzere dört üyesi bulunmaktadır. En iyi bilinen üyeler Ang 1 ve Ang 2'dir [85].

Hipoksi ile anjiogenezin regülasyonu hemostatik kontrol mekanizmalarının önemli bir parçasıdır. Bu sayede kardio-pulmoner-vasküler O₂ desteği ile dokuların metabolik ihtiyaçları arasında denge sağlanmaktadır [86]. Preeklampside uteroplental sirkülasyonun azalması nedeniyle plasentada hipoksi oluşmaktadır. Hipoksidede, azalan hücre içi oksijen konsantrasyonuna cevap olarak artan hipoksi ile tetiklenen faktör (HIF) ve ona bağlı transkripsiyon faktörleri fizyolojik cevabın oluşmasında önemli rol oynamaktadır [87].

5.2 Anjiyogenezi Etkileyen Faktörler

5.2.1 HIF (Hipoksi ile İndüklenen Faktör)

Dokulara yeterli düzeyde oksijen salınımının sağlanamadığı duruma hipoksi adı verilir. HIF-1 (Hipoksiyle İndüklenen Faktör 1) bir nükleer proteindir ve hücrenin O₂ homeostazında önemli bir role sahiptir. HIF-1 proteini, O₂ tarafından kontrol edilen HIF-1 alfa (HIF-1 α) alt ünitesi ile hücrede sürekli olarak ekspres edilen HIF-1 beta (HIF-1 β) alt ünitesinin bir araya gelmesi ile oluşan bir heterodimerdir. HIF-1 tarafından aktive edilen 40'tan fazla gen olduğu bilinmektedir (Çizelge 5.2) [88].

Oksijen konsantrasyonundaki değişimlere bağlı olarak HIF-1 ile regüle edilen genlerin transkripsiyonunda düzenlemeler gerçekleşir. Hipoksiye hızlı bir şekilde cevap verebilmek için hücreler HIF-1 α proteinini düzenli ve devamlı olarak hipoksik olmayan koşullarda da sentez ve elimine ederler [89]. Hipoksik ortamda ise HIF-1 α yıkımı inhibe olur ve miktar olarak artmaktadır (Şekil 5.1) [90, 91].

Hipoksik koşullar altında, HIF-1 α alt ünitesi sitoplazmadan çekirdeğe yer değiştirerek HIF-1 β ile dimer oluşturmaktadır. Çekirdekteki diğer kofaktörlerin de bağlanması ile aktive olan HIF-1, DNA üzerinde hipoksi cevap elemanı olarak tanımlanan özgül diziyeye bağlanarak hedef genlerin ekspresyonunu tetiklemektedir [92].

Anjiyogenez birbirinden bağımsız pek çok mekanizmaya bağlıdır. Bu mekanizmaların etkileşimi ile, damar duvarında bütünlüğün kaybolmasına, endotel hücrelerin dinlenme döneminden çıkmasına ve proliferatif fenotipe dönmesine neden olmaktadır (Çizelge 5.3) [93]. Hipoksik ortamda, düzeyi hızla artan HIF-1 sayesinde endotel hücreleri üzerinde güçlü bir mitojenik etkisi olan vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), hücrelerden salınarak anjiyogenezi uyarabilmektedir. VEGF aracılı artmış damar geçirgenliği ile matriks elemanları ve proteazlar lokal bir alanda damar dışına çıkarlar. Endotel hücreleri proliferer olur ve yeniden yapılanan matrikse doğru yönelerek içinden kanın rahatça geçebileceği tubal yapılar oluştururlar. Bunlara ek olarak, mezenkimal hücreler de proliferer olurlar ve yeni damarlar etrafına göç ederek perisitlere dönüşürler. Hücreler arası ilişkinin güçlenmesi ve yeni matriks elemanlarının varlığı ile yeni damar stabilize edilmektedir [94].

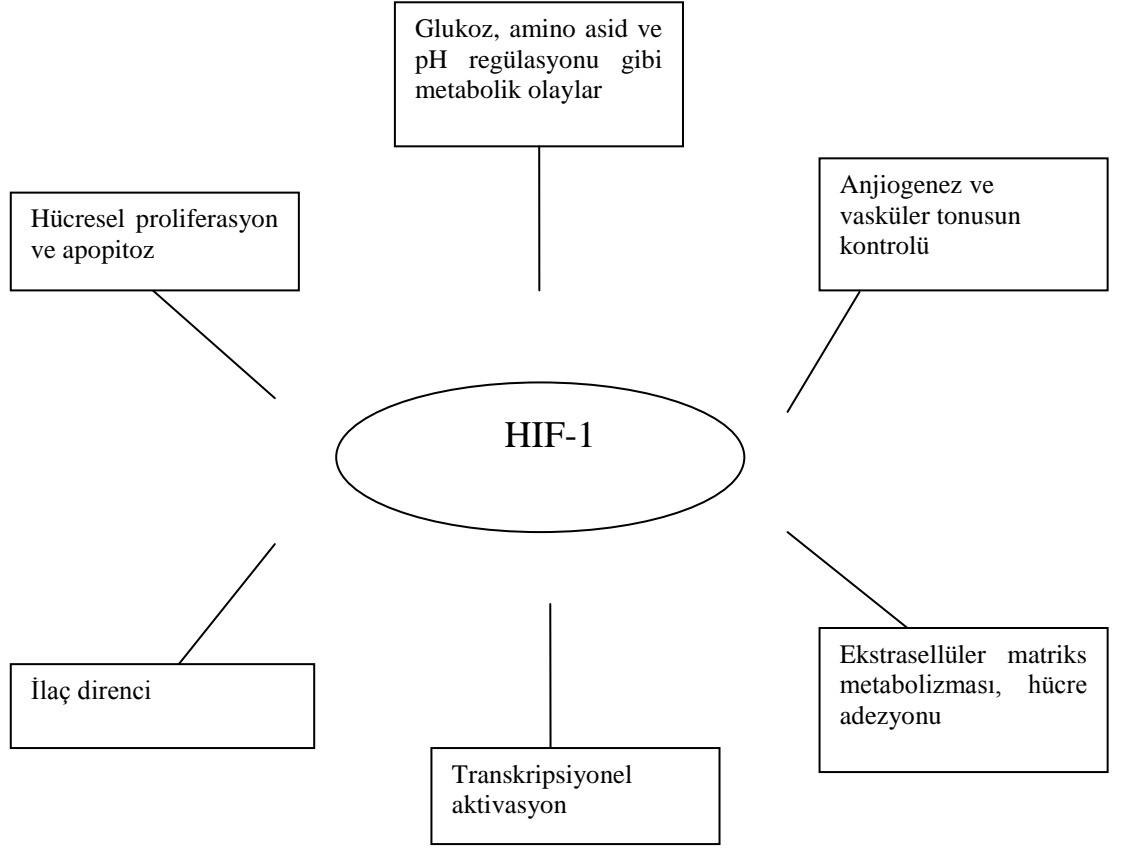
Çizelge 5.2 HIF-1 ile direkt olarak regüle edilen bazı genler [88]

Gen Ürünü

α 1B-Adrenerjik reseptör
Adrenomedüllin
Aldolaz A (ALDA)
Atrial natriüretik peptid
Endotelin-1
Enolaz 1
Eritropoetin
Fosfogliserat kinaz 1
6 Fosfofrükto-2-kinaz / früktoz-2,6-bifosfotaz-3 (PFKFB3)
6-Fosfofrükto-2-kinaz / früktoz-2,6-bifosfotaz-4 (PFKFB4)
Glukoz transporter 1 (GLUT1)
Gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz
Hem oksijenaz-1
HIF-1 α prolil hidroksilaz PHD3 (EGLN3)
HIF-1 α prolil hidroksilaz PHD2 (EGLN1)
İntegrin β 2
Karbonik anhidraz 9
Laktat dehidrogenaz A (LDHA)
Laktaz
Leptin
Membran tip-1 matriks metalloproteinaz
Myeloid hücre faktörü 1 (MNL1)
Nitrik oksit sentaz 2
Plasminojen aktivatör inhibitörü 1
Seruloplasmin
Telomeraz (TERT)
Transferrin
Transferrin reseptör
Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)
Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptör-1 (VEGFR-1)

ALDA : Aldolaz A, PFKFB3: 6-Fosfofrükto-2-kinaz / früktoz-2,6-bifosfotaz-3, PFKFB4: 6-Fosfofrükto-2-kinaz / früktoz-2,6-bifosfotaz-4, GLUT1: Glukoz transporter 1, HIF-1 α : Hipoksi ile indüklenen faktör - 1 alfa, EGLN3: HIF-1 α prolil hidroksilaz PHD3, EGLN1: HIF-1 α prolil hidroksilaz PHD2, LDHA: Laktat dehidrogenaz A, MNL1: Myeloid hücre faktörü 1, TERT: Telomeraz, VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü, VEGFR-1: Vasküler endotelyal büyüme faktörü reseptör-1.

Hipoksi dışındaki bazı fizyolojik uyarılar sonrasında da HIF-1 aktive olabilir ve hipoksik olmayan ortamda, hipoksi ile indüklenen genlerin transkripsiyonu gerçekleşebilir. Büyüme faktörlerine ek olarak prostaglandin E2, trombin, anjiotensin II, asetilkolin ve nitrik oksit oluşumu hipoksik olmayan koşullarda da HIF-1 α sentezini arttırabilirler [95].



Şekil 5.1 Hipoksi ile indüklenen faktör-1 ile transkripsiyonel olarak aktive olan olaylar ve genler [91] (HIF-1: Hipoksi ile indüklenen faktör-1.)

HIF-1 genlerinin fonksiyonlarına aykırı görünmekle beraber hücrenin hipoksiye adaptasyonu sadece hücre proliferasyonu ve sağ kalımına sebep olmakla kalmayıp aynı zamanda bazı durumlarda hücre ölümüne de sebep olabilir. Yapılan bir çalışmada HIF-1'in, hipoksik koşullarda apoptozisi indüklediği bildirilmiştir [96]. HIF-1, plasenta ve embriyonik gelişim için gereklidir. Herhangi bir subünite ait genetik eksiklik, defektif kan damarı ve defektif plasenta gelişimine sebep olarak embriyonun kaybına yol açmaktadır [97].

Çizelge 5.3 Hipoksi ile indüklenen faktör-1 α ile regüle edilen anjiyogenezin aşamaları [93]

Anjiogenezin aşaması	Faktör
Arterde destabilizasyon	VEGF, PIGF, Flt-1
Artmış vasküler geçirgenlik	VEGF, Flt-1, anjiopoetin-2, Tie-2
Ekstrasellüler matrikste yeniden şekillenme (remodelling)	MMPs, kollajen prolil-4-hidroksilaz
Endotel hücrelerinin proliferasyonu ve göçü	VEGF, PIGF, anjiopoetin-1, MCP-1, PDGF, SDF-1
Tubal oluşum ve hücreler arası kontakt	VEGF, PIGF, anjiopoetin-1
Damar bütünlüğünün sağlanması	PDGF, PAI-1, anjiopoetin-1, Tie-2

VEGF: vasküler endotelial büyüme faktörü, PIGF: plasental büyüme faktörü, Flt-1: fms-benzeri tirozin kinaz-1, Tie-2: tirozin kinaz ile immünooglobulin ve epidermal büyüme faktörü homolojisi, MMP: matriks metalloproteinaz, MCP-1: monosit kemoatraktan protein 1, PDGF: trombosit kaynaklı büyüme faktörü, SDF-1: stromal hücreler-derive faktör 1, PAI: plazminojen aktivatör inhibitörü.

5.2.2 Tie 2 (tyrosine endothelial kinase (TEK)- endotel özgü reseptör tirozin kinaz – Tunica interna endothelial cell-kinase-2)

Tie-1 ve Tie-2 reseptörleri immünooglobulin ve epidermal büyüme faktör homoloğu olan tirozin kinaz reseptörleridir. Anjiyopoietinler, endotele özgü tirozin kinaz üyesi bu reseptörlere bağlanarak etkilerini göstermektedir. 46 kDa ağırlığında glikoprotein yapıda molekül olan anjiyopoietinler, amino terminal ucunda anjiyopoietine spesifik alan içeren glikoprotein yapıda moleküllerdir. Ang 1, 2, 3 ve 4 olmak üzere dört üyesi vardır. En iyi bilinen üyeler Ang 1 ve Ang 2'dir [98]. Tie reseptörleri anjiyopoietinlerin bağlandığı ekstrasellüler amino terminal alan, transmembranal alan ve hücre içi tirozin kinaz alanı olmak üzere üç bölümden oluşmaktadır. Anjiyopoietinler, Tie-2 reseptörüne bağlandığında, reseptörde dimerizasyon, otofosforilasyon ve hücre içi sinyal iletim yollarında aktivasyon başlatarak damar stabilizasyonunu sağlamaktadır [99].

Plasenta büyüdükçe, plasental yatağa eklenen damar sayısında artma meydana gelir. VEGF reseptörleri gibi reseptör tirozin kinaz üyesi de yeni damar oluşumuyla ilgilidir. Tie-1 ve Tie-2 reseptörleri selektif olarak endotel hücreleri üzerinde bulunur ve embriyonik vasküler yapının oluşumu için gereklidirler [100]. Bu reseptörler endojen anjiyogenez aktivatörü olan Anjiyopoietin-1 (Ang-1)'in reseptörleridir. Ang-1 kapiller damarları güçlendirir, perisitleri stabilize ederek endotel hücre yaşam süresini artırır ve

yeni oluşan vasküler yapıyı güçlendirir [101, 102]. Tie-2, VEGF aktivitesinin sonrasında ortaya çıkan anjiyogenik yeniden yapılanma ve vasküler stabilizasyona aracılık etmektedir [103].

Ang 2, ortamda Ang 1 varlığında etkisini ters yönde gösterir iken, Ang 1 yokluğunda Ang 1 ile aynı etkiyi göstermektedir. Ang 2'nin bu etkisi doz bağımlıdır. Endotel hücreleri tarafından üretilerek, Weibel-Palade cisimciklerinde depolanan Ang 2'nin salınımı, endotel hücrelerinin stres altında olduğu durumlarda VEGF, fibroblast büyüme faktörü ve hipoksi tarafından indüklenmektedir. Weibel-Palade cisimciklerinden salınan Ang 2, Tie-2 reseptörlerine bağlanarak Ang 1'in etkisini inhibe ederek, endoteli inflamatuvar ajanlara duyarlı hale getirir (damar destabilizasyonu) ve VEGF'in aracılık ettiği anjiyogenezi kolaylaştırmaktadır [104].

Bütün damar endotelinde bulunan Ang-1'in, tirozin kinaz reseptör Tie-2 'ye bağlanmasıyla vasküler olgunlaşmayı sağladığı, damar bütünlüğünün korunmasını düzenlediği, apoptozisde rolü olduğu, çalışmalarla gösterilmiştir. Sonuçta Ang-1 vasküler permeabiliteyi güçlü bir şekilde azaltmaktadır [105, 106, 107].

Preeklampside de embriyonik vasküler yapının oluşumu için gerekli olan anjiyogenik faktörlerden Tie-2 ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır [108, 109]. Aref ve ark. yaptığı çalışmada hafif ve şiddetli preeklampsi hastalarının serumunda, VEGF ve Ang-1 konsantrasyonları yüksek bulunmuş iken Tie-2 konsantrasyonları ise düşük bulunmuş ve bunun preeklampsinin şiddetiyle ilişkili olduğu ileri sürülmüştür [99]. Sung ve ark. yapmış olduğu çalışmada ise preeklampside azalan Tie-2 seviyelerinin, hamileliğin 24-28 haftalar arasında başladığını bulmuştur [109].

6. APOPTOZ

Apoptozis (programlı hücre ölümü), gelişmiş organizmalarda fonksiyonları bozulan hücrelerin, çevreye zarar vermeden kontrollü olarak yok edilmesidir [110]. Eski Yunanca apo (ayrı) ve ptosis (düşmek) kelimelerinin birleşmesiyle ve Homeros tarafından sonbaharda yaprak dökümünü tanımlamak için kullanılmış bir sözcüktür [111]. Apoptozis, 1972 yılında İskoç araştırmacılar olan Kerr, Wyllie ve Currie tarafından kullanılmış ve canlı dokulardaki hücre azalmalarından sorumlu, yapısal olarak özgün bir hücre ölüm tipi şeklinde tanımlanmıştır [112]. Bütün yüksek canlılarda apoptozis embriyogenez, gelişme, homeostazis, yenilenme ve tamir olaylarında, organların büyüklüklerinin korunmasında ve organların patofizyolojisinde kritik öneme

sahiptir [113]. Embriyo döneminden başlayarak tüm yaşam boyunca apoptotik mekanizma ve programlı hücre ölümü vardır. Bazı hücreler yıllarca yaşarken bir kısmı sadece birkaç saat yaşamaktadır. Deri, gastrointestinal sistem ve immun sistem gibi pek çok dokuda devamlılık apoptozis ve hücre yenilenmesine bağlıdır [110].

Apoptoz hem patolojik hem de fizyolojik şartlarda meydana gelmekte olup yapım (mitoz) ve yıkım (apoptoz) arasında kontrollü bir denge vardır. Bu dengenin herhangi bir yönde bozulması birçok hastalığın patogeneze katkıda bulunmaktadır [114, 115]. Büyüme faktörlerinin eksikliği, hücrenin oksidatif stres, hipoksi, UV ya da çeşitli ilaçlar gibi farklı etkenlerin etkisinde kalması sonucunda zarar gören hücrelerin yok edilebilmesi için apoptotik mekanizmalar devreye girmektedir [116].

Apoptozis mekanizması oldukça kompleks ve karmaşık enerji bağımlı moleküler kaskat olaylarını içermektedir. Yapılan araştırmalar ekstrensek ve intrinsek yol (mitokondrial yol) olarak iki ana apoptotik yolunun olduğunu, bu iki yolun birbiri ile bağlantılı olduğu ve bir yolda rol alan moleküllerin diğer yoldakini etkilediğini göstermiştir [117]. Bu iki yola ilave olarak T-hücre aracılı sitotoksitesiteyi ve perforin-granzim bağımlı hücre ölümünü içeren bir yol daha vardır [118].

Hücrenin apoptozise gidebilmesi için ilgili genetik mekanizmayı harekete geçirecek hücre içi veya hücre dışı bir sinyale ihtiyaç vardır [119].

Hücre Dışı Sinyaller

- a) Çevresel yaşam sinyallerinin ve büyüme faktörlerinin yetersizliği
- b) Ölüm reseptörlerinin aktivasyonu
 - FAS-FAS Ligand (CD95-CD95L) aracılığıyla gerçekleşen apoptozis
 - TNF aracılığıyla gerçekleşen apoptozis
- c) Sitotoksik T lenfosit aracılığıyla gerçekleşen apoptozis
- d) Dış etmenler (iskemi, toksinler, radyasyon)

Hücre İçi Sinyaller

- a) DNA hasarı
- b) Hücre içi kalsiyum (Ca^{++}) düzeyi artışı
- c) Metabolik veya hücre siklus bozuklukları
- d) Hücre içi pH artışı

6.1 CD95 (cluster of differentiation 95)

CD95, Apo 1 (apoptoz 1) veya FAS olarak da adlandırılır. CD95 (Fas), 45 kDa ağırlığında TNF reseptör ailesi alt grubunda olan bir tip 1 membran reseptörüdür. TNF reseptör ailesi üyeleri, immün sistemin düzenlenmesinde önemli role sahiptirler. CD95L (Fas Ligand) ise 40 kDa ağırlığında TNF ve CD 40 ligand ailesi alt grubunda (TNFR) tip 2 membran reseptörüdür. CD95 pek çok doku tarafından eksprese edilmekte olup T ve B lenfosit yüzeyinde istirahat halinde düşük düzeylerde bulunurken, lenfosit aktivasyonunu takiben ekspresyonunda artış olmaktadır. CD95 Ligand ise CD95'in aksine ekspresyonu oldukça kısıtlı olup sıklıkla ekspresyon için hücre aktivasyonunun olması gerekmektedir. FAS, doğal ligandının (FASL) bağlanmasıyla apoptotik sinyali iletir ve ana fonksiyonu olan apoptozu tetiklemektedir [120-123].

FAS'ın kendisinin enzimatik aktivitesi yoktur. Bu nedenle apoptotik sinyalin sitoplazmik FAS bağlayıcı proteinler ve/veya FAS modifikasyon yolu ile iletiildiği düşünülmektedir. Kaspaz ailesi proteinleri, FAS ve TNFR-1'in ana ölüm yolunda bulunurlar. Kaspazların son ürünlerinin ayrılmasının hücrenin apoptotik değişimlerine yol açtığı düşünülmektedir [124]. FAS'ın kendi ligandıyla bağlanması apoptozisi tetikleyen bir seri proteini aktive etmektedir. Öncelikle kendilerine doğal olarak bağlı bulunan DD (death domain), TRADD (TNFR-1 associated death domain) ve FADD (FAS associated death domain) ile etkileşime girerler. Bu ölüm bölgeleri ise pro- kaspaz 8'i aktiveleştirerek kaspazların şelale tarzında aktivasyonlarını başlatırlar [125].

Yapılmış çalışmalarda, plasental yataktaki ekstravillöz trofoblastlarda ve villöz trofoblastlarda artmış apoptozisin olduğu preeklampitik hastalarda gösterilmiştir [126, 127, 128]. Bununla beraber Allaire ve ark. yaptıkları çalışmalarında, preeklampsi hastasından alınan plasenta örneklerinde immunhistokimyasal analiz yaparak, apoptozis mediatörlerinin ekspresyonunu araştırdıklarında, villöz trofoblastlarda Fas ekspresyonunun artışının azalmış FasL ekspresyonu ile birlikte olduğunu göstermişlerdir [127]. Neale ve ark.'da preeklampsi hastaları ile yapmış oldukları çalışmada preeklampitik kadınların serumlarında trofoblast viabilitesinin azaldığını göstermişlerdir. Bunun da trofoblastların Fas aracılı apoptozise olan duyarlılıklarını artmasıyla meydana geldiğini, bozulmuş trofoblastik invazyonun plasenta oluşum sorununa yol açtığını, iddea etmektedirler [128].

Kang ve ark. preeklampsi hastalarında yapmış oldukları apoptozla ilişkili genetik çalışmada, Fas geninin 670. pozisyonunda bulunan bir polimorfizmin, T

hücrelerinde Fas üretiminde azalmaya neden olduğunu ve bu polimorfizmin preeklampitik kadınlarda fazla sıklıkta olduğu tesbit edilmiştir [129]. Hipoteze göre maternal fetal bileşkedeki trofoblastlardaki defektif Fas geni dolaşımdaki aktive olmuş T lenfositlerin uzaklaştırılmasını sağlayamamaktadır. Aktive olmuş T lenfositler inflamatuvar cevabı uyararak trofoblastların parçalanıp yok olmasını güçlendirmektedir [130].

7. GEREÇ VE YÖNTEMLER

7.1 Gereç

7.1.1 Kullanılan Gereçler

Santrifüj (Hettich)

Derin dondurucu (Wise Cryo)

Otomatik Elisa (Chemwell 2902)

Ependorf tüp (1500 ml)

Mikropipetler (Gilson)

Biyokimya Otoanalizörü (Beckman Coulter Shyncron LX-20)

7.2 Yöntem

7.2.1 Hasta ve Kontrol Grubu

Preeklampsi için hasta grubu, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine başvuran preeklampsi tanısı konmuş ve öyküsünde primer olarak; karaciğer, böbrek, kardiyovasküler, diyabet veya hipertansiyon hastalığı olmayan 44 kadın bireyden oluşmaktadır. Kontrol grubunu ise geçmişinde sistemik bir hastalık öyküsü ve gebelik süresince preeklampsi ve hipertansiyon öyküsü olmayan 44 sağlıklı gebe bireyden oluşmaktadır.

Hasta grubunda preeklampsi tanısı en az 4 saat ara ile ölçülen kan basıncının $\geq 140/90$ mmHg olarak ölçülmesi ve 24 saatlik idrarda ≥ 300 mg protein ya da spot idrarda dipstik ölçümle $\geq 1+$ protein veya protein/kreatin oranının ≥ 0.3 saptanmasıyla ya da proteinüri olmadan trombosit sayısının $< 100.000 \mu l$, kreatin > 1.1 mg/dl ve karaciğer transaminazlarının normalin iki katı artmasına göre tanı konmuştur.

Çalışmamızda preeklampsi hastaları Amerikan Kadın Hastalıkları ve Jinekoloji birliğinin tanımladığı kriterlere göre hafif ve şiddetli olarak iki gruba ayrıldı. Şiddetli preeklampsi kriterleri tansiyonun $\geq 160/110$ mmHg, trombosit sayısı $< 100.000 \mu l$, kreatin $> 1,1$ mg/dl, akciğer ödemi, santral sinir sistemi ve görme bozukluğu ile karaciğer enzimlerinin normalin iki katı artması olarak tanımlanmıştır. Bu tanımlamaya göre preeklampsi hastalarından 26 kişi hafif, 18 kişi ise şiddetli preeklampsi olarak tanımlandı.

7.2.2 Örneklerin Toplanması

Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne başvuran ve preeklampsi tanısı almış hastalardan ve sağlıklı gebelerden 10 ml kan ve idrar örnekleri alınmıştır. Alınan idrar örnekleri ependorf tüplere ayrılırken, kan örnekleri 4000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra ependorf tüplere ayrılarak ilgili parametreler çalışılmak üzere çalışma gününe kadar -80°C 'de muhafaza edildi.

Tüm hastaların yaşı, paritesi, doğum gebelik haftası, doğum şekli, kan basıncı ve proteinüri düzeyi, rutin biyokimya (açlık kan şekeri (AKŞ), kan üre azotu (BUN), kreatin, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrogenaz (LDH), sodyum (Na), potasyum (K), kalsiyum (Ca), idrar kreatin, idrar protein) ve tam kan sayımı (Hemoglobin (Hb), beyaz kan hücresi sayısı (Wbc), platelet sayısı (PLT)) sonuçları ile bebek doğum kiloları kaydedilerek bir veritabanı oluşturuldu. Proteinüri tanısı toplanan idrar örneklerinden protein ve kreatin ile mikro total protein çalışılarak spot idrarda protein/kreatin oranına göre hesaplandı.

Serum HIF-1 α , Tie2 ve CD95 düzeyleri ELISA yöntemiyle (enzym-linked immunosorbent assay) uygun ticari kitler (SunRed, Baoshan, Shanghai) kullanılarak çalışıldı.

7.3 İstatistiksel Analiz

Hasta ve kontrol grubunda yer alan bireylere ait elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi amacıyla SPSS (Ver:14.0) bilgisayar programına yüklenerek verilerin değerlendirilmesinde parametrik testlerde iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi, khi-kare testi kullanılır iken, non parametrik testlerde ise man-whitney U testi kullanıldı. Verilerden normal dağılım gösterenler tablolara aritmetik ortalama \pm standart sapma (SD), normal dağılım göstermeyenler ise median (minumum-maksimum) şeklinde belirtilmiş olup, yanılma düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

8. BULGULAR

Çalışmamız, 44 preeklampsi gebe ve 44 sağlıklı gebe olmak üzere toplam 88 bireyden oluşmaktadır. Yapılan çalışmada hasta ve kontrol grubuna ait demografik bilgiler Çizelge 8.1’de özetlenmiştir.

Çizelge 8.1 Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik Bilgileri ve Değerlendirilmesi

	Preeklampsi	Kontrol	p değeri
Diastolik Basınç 1 (mmHg)	98,9±21,0	70,5±14,3	0,001
Sistolik Basınç 1 (mmHg)	151,4±26,6	111,1±14,0	0,001
Diastolik Basınç 2 (mmHg)	99,3± 23,6	70,4±12,3	0,001
Sistolik Basınç 2 (mmHg)	156,3±27,4	111,3±16,2	0,001
Yaş (yıl) (ort±st. sapma)	30,4±6,7	30,1±5,4	0,829
Kilo (kg)	83,0±15,0	76,4±16,7	0,091
Boy (cm)	160,9±5,1	160,9±5,9	0,997
Gebelik Haftası	36,5±4,3	37,9±2,0	0,052
Çocuk kilosu (kg)	2,9±0,8	3,2±4,7	0,042
Doğum Şekli			
Vajinal	16 (%39)	25 (%61)	0,054
Sezeryan	28 (%59)	19 (%41)	0,054
Gebelik Sayısı	3,2±1,8	3,2±1,9	0,990
Düşük Sayısı			
0 olanlar	32 (%72,3)	34 (%77,3)	0,622
1 olanlar	12 (%27,3)	10 (%22,7)	0,622

Hasta grubunda yer alan bireylerin yaş ortalaması 30,4±6,7 yıl iken kontrol grubunda ise 30,1±5,4 yıl olarak bulundu. Boy ortalaması hasta grubunda 160,9±5,1 cm iken kontrol grubunda ise 160,9±5,9 cm olarak tespit edilmiştir. Hasta ve kontrol grubundaki bireylerin yaş ve boy dağılımları yönünden karşılaştırıldığında iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$). Hasta grubunda yer alan bireylerin gebelik haftası ortalaması 36,5±4,3 hafta iken kontrol grubunda 37,9±2,0 hafta olarak bulunmuştur. Gebelik haftası bakımından iki grup arasında her ne kadar fark olsada bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p=0,052$).

Hasta ve kontrol grubu kiloları yönünden karşılaştırıldığında, hasta grubunda yer alan bireylerin kilolarının ortalaması 83,0±15,0 kg, kontrol grubunun kilosu ise

76,4±16,7 kg olarak bulunmuş ve bu iki grup arasında kilo yönünden fark olmasına karşın, bu fark istatistiksel açıdan anlamlı değildi (p=0,091).

Birinci Sistolik-1(SB-1) ve diastolik-1(DB-1) kan basıncı ölçüldükten 6 saat sonra ikinci sistolik-2(SB-2) ve diastolik-2(DB-2) kan basıncı değerleri ölçülmüştür. Hasta grubunda ortalamalar SB-1/DB-1 151,4±26,6 / 98,9±21,0 mmHg ve SB-2/DB-2 156,3±27,4 / 99,3±23,6 iken kontrol grubunda ise SB-1/DB-1 111,1±14,0 / 70,5± 14,3 mmHg ve SB-2/DB-2 111,3±16,2 / 70,4±12,3 mmHg olarak bulunmuştur. Sistolik ve diastolik kan basıncının 1. ve 2. parametreleri açısından bakıldığında gruplar arasında kan basıncı ortalamaları yönünden önemli bir fark tespit edilmiştir (p=0,001). Gruplar arasında sistolik ve diastolik kan basıncı arasında istatistiksel önemli farkın olması, preeklampsi hastalığının kliniğinin yüksek tansiyon ile karakterize olmasından kaynaklanmaktadır.

Hasta ve kontrol grubunda yer alan bireylerin çocuk kiloları karşılaştırıldığında, hasta grubunda çocuk kilosu ortalaması 2,9±0,8 kg iken, kontrol grubunda ise 3,2±4,7 kg olarak bulunmuştur. Hasta ve kontrol grupları yönünden çocuklarının kiloları yönünden bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi (p=0,042).

Hasta grubunda 16 vajinal doğum, kontrol grubunda 25 vajinal doğum bulunmaktadır. Hasta ve kontrol grupları vajinal doğum şekilleri yönünden kıyaslandığında her ne kadar kontrol grubunda vajinal doğum sayısı fazla bulunsada bu fazlalık istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,054). Sezeryan doğum şekli yönünden karşılaştırdığımızda hasta grubunda 28, kontrol grubunda 19 birey sezeryan olmuş olarak bulundu. Fakat bu farkında istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (p=0,054).

Düşük gebelik yönünden gruplar kıyaslandığında, hasta grubunda hiç düşüğü olmayanlar 32 kişi iken, 1 düşüğü olanlar ise 12 kişi idi. Kontrol grubunda ise hiç düşüğü olmayanlar 34 kişi ve 1 düşüğü olanlar ise 10 kişi olarak bulundu. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak kıyaslandığında fark bulunmamıştır (p=0,622).

Gebelik sayısı yönünden gruplar karşılaştırıldığında hasta grubunda gebelik sayısı ortalaması 3,2±1,8 kontrol grubunda ise 3,2±1,9 tespit edilmiştir. Hasta ve kontrol grubu gebelik sayısı yönünden kıyaslandığında iki grup arasında istatistiksel açıdan bir fark yoktur (p=0,990) (Çizelge 8.1).

Yapılan çalışmada hasta ve kontrol serum ve idrarlarına ait veriler Çizelge 8.2'de özetlenmiştir.

Hasta ve kontrol grubuna ait biyokimyasal değerleri karşılaştırdığımızda, açlık kan şekeri (AKŞ) ortalamaları hasta grubunda $97,1 \pm 27,2$ mg/dL kontrol grubunda ise $84,81 \pm 19,2$ mg/dL olarak bulunmuş ve AKŞ yönünden gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,019$). Kan üre azotu (BUN) ortalamaları ise hasta grubunda $8,5 \pm 3,1$ mg/dL kontrol grubunda $6,4 \pm 1,9$ mg/dL bulunmuş ve BUN yönünden gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,012$). Kreatin ortalamaları ise hasta grubunda $0,7 \pm 0,3$ mg/dL kontrol grubunda $0,5 \pm 0,1$ mg/dL olarak bulunmuş ve kreatin yönünden gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,001$).

Çizelge 8.2 Hasta ve Kontrol Gruplarının Laboratuvar Verileri ve Değerlendirilmesi

	Preeklampsi	Kontrol	P değeri
AKŞ mg/dL	$97,1 \pm 27,2$	$84,81 \pm 19,2$	0,019
BUN mg/dL	$8,5 \pm 3,1$	$6,4 \pm 1,9$	0,012
Kreatin mg/dL	$0,7 \pm 0,3$	$0,5 \pm 0,1$	0,001
AST U/L	117,5 (12,0-902,0)	20,7 (13-38)	0,010
ALT U/L	76,7 (6-710)	14,0 (8-42)	0,026
LDH U/L	405,6 (182-1106)	250,5 (142-516)	0,001
Na mmol/L	$136,9 \pm 3,9$	$136,2 \pm 1,6$	0,268
K mmol/L	$4,3 \pm 0,4$	$4,1 \pm 0,4$	0,132
Ca mg/dL	10,8 (7,1-10,6)	8,8 (7,8-9,7)	0,280
Hb g/dL	$12,7 \pm 1,5$	$12,3 \pm 1,3$	0,187
Wbc $10^3/uL$	$12,1 \pm 4,0$	$10,7 \pm 3,0$	0,072
PLT $10^3/uL$	$207,5 \pm 88,2$	$225,4 \pm 60,5$	0,271
İdrar kreatin mg/dL	110,9 (13,5-268,0)	104,0 (11,9-250,5)	0,652
İdrar protein (MTP) mg/dL	96,0 (19,8-342,9)	15,9 (3,2-42,9)	<0,001
İdrar protein/ Kreatin	1,1 (0,3-4,7)	0,2 (0,07-0,28)	<0,001

Aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) değerleri yönünden karşılaştırıldığında, hasta grubunda AST median (min-max) değerleri $117,5(12,0-902,0)$ U/L, kontrol grubunda $20,7(13-38)$ U/L olarak bulunmuş ve gruplar arasında istatistiksel açıdan fark bulunmuştur ($p=0,01$). Hasta grubunda ALT ortalamaları $76,7(6-710)$ U/L, kontrol grubunda $14,0(8-42)$ U/L bulunmuş ve ALT yönünden gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,026$). Laktat dehidrogenaz (LDH) median (min-max) değerleri, hasta grubunda $405,6(182-1106)$ U/L iken kontrol grubunda ise $250,5(142-516)$ U/L olarak bulunmuş ve gruplar arasındaki fark istatistiksel

olarak anlamlıydı (p=0,001). Sodyum (Na), potasyum (K) ortalamaları, kalsiyum (Ca) median (min-max) değerleri karşılaştırıldığında, hasta grubunda Na⁺ ortalamaları 136,9±3,9 mmol/L kontrol grubunda 136,2±1,6 mmol/L iken, hasta grubunda K⁺ ortalamaları 4,3±0,4 mmol/L kontrol grubunda ise 4,1± 0,4 mmol/L ve hasta grubunda Ca⁺ median (min-max) değerleri 10,8(7,1-10,6)mg/dL ike kontrol grubunda 8,8(7,8-9,7) mg/dL olarak bulunmuş ve bu değerler açısından gruplar arasındaki fark anlamlı değildi (p> 0,05).

Preeklampsili hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının, hemoglobin (Hb), beyaz kan hücresi sayısı (Wbc), platelet sayısı (PLT) ortalamaları karşılaştırıldığında, preeklampsili hasta grubunda Hb ortalamaları 12,7±1,5 g/dL kontrol grubunda ise 12,3±1,3 g/dL iken hasta grubunda Wbc ortalamaları 12,1±4,0 10³/uL kontrol grubunda ise 10,7±3,0 10³/uL ve hasta grubunda PLT ortalamaları 207,5±88,2 10³/uL kontrol grubunda ise 225,4±60,5 10³/uL olarak bulunmuş ve bu değerler açısından gruplar arasında anlamlı fark yoktu (p> 0,05).

Hasta ve kontrol grubunun idrar kreatin, idrar protein (MTP= mikro total protein) ve idrar kreatin ve idrar protein oranlarının median(min-max) değerleri karşılaştırıldığında, hasta grubunda idrar kreatin median(min-max) değerleri 110,9(13,5-268,0) mg/dL, kontrol grubunda 104,0(11,9-250,5) mg/dL olarak bulunmuştur ve gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmaz iken (p=0,652), hasta grubunda idrar protein median(min-max) değerleri 96,0(19,8-342,9) mg/dL iken, kontrol grubunda 15,9(3,2-42,9) mg/dL olarak bulunmuş ve gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmuştur (p<0,001). Hasta ve kontrol grupları idrar protein / idrar kreatin median(min-max) değerleri karşılaştırıldığında ise hasta grubunda idrar protein / idrar kreatin median(min-max) değerleri 1,1(0,3-4,7) iken kontrol grubunda 0,2(0,07-0,28) bulunmuş ve gruplar arasında istatistiksel olarak fark bulunmuştur (p<0,001). Preeklamsi tanısı konulmasında idrar protein / idrar kreatin oranı >0,30 olması da bulduğumuz sonuçları desteklemektedir.

Çizelge 8.3 Hasta ve kontrol gruplarında Tie-2, Hif-1α ve CD95 sonuçları

	Preeklampsii	Kontrol	p değeri
Tie-2 (ng/ml)	30,1(10,7-95,6)	39,5(16,9-102,3)	0,032
Hif-1α (pg/ml)	91,4(20,7-322,9)	45,2(20,5-258,5)	0,001
CD95 (ng/ml)	60,6(10,9-199,8)	39,9(10,9-163,1)	0,041

Yapılan analizler sonucunda Çizelge 8.3’de görüldüğü gibi Tie-2 düzeyi median değerleri hasta grubunda 30,1(10,7-95,6) ng/ml, kontrol grubunda ise 39,5(16,9-102,3) ng/ml olarak bulunmuş ve gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0,032). Hasta grubumuzda Hif-1 α düzeyi median değeri 91,4(20,7-322,9) pg/ml iken kontrol grubumuzda ise 45,2(20,5-258,5) pg/ml olarak bulunmuş ve gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0,001). Hasta ve kontrol grubumuzu CD95 düzeyi median değerleri ile karşılaştırdığımızda da hasta grubunda 60,6(10,9-199,8) ng/ml, kontrol grubunda ise 39,9(10,9-163,1) ng/ml olarak bulunmuş ve gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p=0,041).

Çizelge 8.4 Hastalık Şiddetine Göre Tie-2, Hif-1 α ve CD95 sonuçları

	Hafif Preeklampsi (n=26)	Şiddetli Preeklampsi (n=18)	p değeri
Tie-2 (ng/ml)	25,3 (10,7-54,7)	33,5 (13,5-95,6)	0,081
Hif-1α (pg/ml)	95,6 (20,7-322,9)	88,6 (21,5-271,1)	0,694
CD95 (ng/ml)	51,9 (10,9-199,8)	66,6 (13,9-162,1)	0,223

Çalışmamızda hasta grubunda Çizelge 4.2’de verilen kriterlere göre preeklampsi hastaları, hafif ve şiddetli preeklampsi olarak 2 gruba ayrıldığında, grupların Tie-2, Hif-1 α ve CD95 sonuçları Çizelge 8.4’de görülmektedir Tie-2 düzeyi median değerleri hafif preeklampsi hastalarında 25,3(10,7-54,7) ng/ml, şiddetli preeklampsi hastalarında 33,5(13,5-95,6) ng/ml olarak bulunmuş iken, Hif-1 α düzeyi median değerleri hafif preeklampsi hastalarında 95,6(20,7-322,9) pg/ml şiddetli preeklampsi hastalarında 88,6(21,5-271,1) pg/ml, CD95 düzeyi median değerleri ise hafif preeklampsi hastalarında 51,9(10,9-199,8) ng/ml, şiddetli preeklampsi hastalarında ise 66,6(13,9-162,1) ng/ml olarak bulunmuş olup gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05).

9. TARTIŞMA VE SONUÇ

Preeklampsinin kesin olarak nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte sadece gebelik durumunda gözlemlenmesi, hastalığın plasenta oluşum sorunlarından kaynaklandığını ya da tetiklendiğini düşündürmektedir. Gebeliğin erken dönemlerinde fetal gelişime eşlik eden plasenta kütlelerinde artışa paralel olarak anjiogenik faktörlerdeki artış, plasental anjiogenezisi artırmaktadır. Doğuma yakın terminal dönemde ise antianjiogenik faktörlerdeki artış ile doğuma hazırlık başlamaktadır [9].

Plasenta oluşum sorunu, gebelik sürecinde anne ve bebek açısından kötü sonuçlanmasına yol açan önemli bir sebep olduğundan, preeklampsi, IUGR, preterm doğum gibi gebelik sorunları üzerine yapılan incelemeler, normal plasental gelişimin önemine dikkat çekmektedir [131]. Plasenta oluşum sorununda ise, muhtemelen plasentadan kaynaklanan bilinmeyen faktörlerin maternal dolaşıma salgılanarak vasküler endotel aktivasyonu ve disfonksiyonunu uyarmakta ve yaygın endotel hasarına neden olmaktadır. Yaygın endotel hasarı da preeklampsi maternal tablosunun ortaya çıkmasına yol açmaktadır [2, 26, 27, 28].

Çalışmamızda hastalarımızın demografik verileri literatür ile karşılaştırıldığında, Hubel ve ark.'nın yaptığı çalışmada gebelik haftası üçüncü trimesterde, bizim çalışmamızda da gebelik haftası üçüncü trimesterde olduğu için uyumlu [64] iken, Kappou ve ark. yaptıkları çalışmada anne yaşı, boyu ve kilosu ve çocuk kilosu bizim çalışmamızdaki verilerle uyumlu bulundu [132]. Rajakumar ve ark. yapmış oldukları çalışmada ise anne yaşı ve gebelik haftası üçüncü trimesterde olduğu [133] için bizim çalışmamızla uyumlu bulunmuştur. Taşın ve ark.'nın çalışmasında ise gebeliği üçüncü trimesterde olduğu ve laboratuvar verilerinden Hb, WBC, PLT, BUN, kreatinin değerleri ve normal ve sezaryen doğum yapan gruplarla ayrıca hafif ve şiddetli preeklampsi hastalarıyla çalıştığından, bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir [134].

Preeklampsinin patogeneziyle ilişkili olan proanjiogenik ve antianjiogenik faktörler arasında dengesizlik olduğunu gösteren çok sayıda kanıt vardır [37, 67, 135]. Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve plasental büyüme faktörü (PlGF) gibi proanjiogenik faktörlerin serum düzeyleri, klinik preeklampsi gelişmeden önce azalmakta iken solübl fms- benzeri tirozin kinaz 1 (sFlt-1) ve solübl endoglin (sEng) gibi

bazı antianjiogenik faktörlerin düzeyleri artmaktadır [67]. sFlt-1 plasenta tarafından üretilen endojen bir proteindir. sFlt-1'in PlGF, VEGF ve anjiogenik growth faktörlere bağlanma özelliği vardır ve matenal serum sFlt-1 düzeylerindeki artış dolaşımdaki serbest PlGF ve VEGF konsantrasyonlarını etkisiz hale getirerek ve azaltarak endotel fonksiyon bozukluğuna yol açmaktadır [135].

Çalışmamızda anjiogenetik faktörlerden Tie-2 seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşüktü ve bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlıydı. Kappou ve ark. ise preeklampsi, IUGR olan preeklampsi ve normal gebelerin plasentaları ile yaptıkları çalışmada, alınan plasenta örneklerinde Tie-2 reseptör geninin ekspresyonunu incelemişler ve hem preeklampsi hastalarında hem de preeklampsi-IUGR hastalarında Tie-2 ekspresyonunu, normal gebelerden düşük olmasının bozulmuş anjiyogenetik dengeden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşler [136]. Embriyonik vasküler yapının oluşumu için gerekli olan Tie-2 reseptörü VEGF aktivitesinin sonrasında, ortaya çıkan anjiyogenik yeniden yapılanma ve vasküler stabilizasyona aracılık ettiğinden, preeklampsi hastalarında sFlt-1 düzeyindeki artış anjiyogeneze anahtar rol oynayan VEGF konsantrasyonunu azalttığı için Tie-2 de bu azalıştan dolayı olarak etkilenebilir. Çünkü azalmış VEGF konsantrasyonu Ang/Tie-2 sinyal sistemi uyaramayabilir ve vasküler gelişim sağlanamayabilir. Hayvanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, embriyogeneze vasküler gelişim için gerekli olan Ang/Tie 2 sinyal sistemi inaktif olan farelerde primer vasküler kompleks oluşumuna kadarki süreçte anormallik saptanmamış iken bu aşamadan sonraki kompleks damar ağlarının oluşumu ve damar stabilizasyonuna geçiş gözlenmemiştir [137, 138]. Dunk ve ark. yaptıkları hayvan çalışmasında Tie-2 gen ekspresyonu engellenmiş ve çalışma sonucunda trofoblastların fonksiyonunun bozulduğu plasentada damarların stabilizasyon kontrolünün sağlanamadığı ve gelişemediğini bulmuş ve bunun da plasental yetmezliğe ve IUGR oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir [139]. Leinonen ve ark. [140] ile Aref ve ark. [141] ise, preeklampsi hastalarının serumlarında yapmış oldukları çalışmalarında, Tie-2 konsantrasyonu düşük bulunmuştur. Nadar ve ark. ise, anjiyenez markırları ile Tie-2 seviyelerini gebeliğe bağlı hipertansiyonu olan hastalarda araştırmışlar ve sağlıklı kontrol grubuna göre hasta grubunda Tie-2 seviyelerini yüksek bulmuşlar [142]. Ayrıca bizim çalışmamızdaki preeklampsi hastalarındaki bu düşüklük daha önce yapılan çalışmalar ile uyumluydu [140, 141]. Bunun sebebini dolaylı yollardan da olsa yukarıda da anlatıldığı gibi plasentadan kaynaklanan sFlt-1 gibi antianjiyogenik faktörlerin miktarının artıp VEGF gibi proanjiyogenik faktörlere bağlanarak serum düzeylerinin azalmasından dolayı

Ang/Tie-2 sinyal sisteminin uyarılamadığından kaynaklanmış olabilir. Ayrıca Tie-2 reseptörü endotel hücreler üzerinde bulunduğundan maternal dolaşımında bulunan antianjiyogenik faktörler endotel hücrelerin fonksiyonunu bozduğundan Tie-2 reseptörünün işlevini azaltabilir veya yok edebilir diyebiliriz. Gebelikte oluşan komplikasyonlardan olan IUGR hastalarında da yapılan bir çalışmada Tie-2 seviyeleri preeklampsi de olduğu gibi düşük bulunmuştur [140]. Damarlar tam olarak gelişemediği için plasental disfonksiyonundan dolayı fetal ihtiyaçlar için artan kan akımı gereksinimine cevap veremeyebilir ve fetal gelişme geriliği oluşmuş olabilir.

Preeklampside uteroplazental sirkülasyonun azalması nedeniyle plasentada hipoksi oluşmaktadır [143]. Hipoksi, mitokondriyal kompleks III de üretilen reaktif oksijen türlerini artırarak, ikincil habercilerle hipoksiye yanıt elemanlarının sinyal yoluyla iletilmesini sağlarlar [144]. Oluşan hipoksidede, azalan hücre içi oksijen konsantrasyonuna cevap olarak artan hipoksi ile tetiklenen faktör (HIF) ve ona bağlı transkripsiyon faktörleri fizyolojik cevabın oluşmasında önemli rol oynamaktadır [86]. Preeklampside trofoblastik invazyona ve spiral arterdeki değişikliklerin plasental hipoksiden meydana geldiği düşünülmektedir [145, 146]. Hipoksik koşullarda artan HIF-1 α seviyesi preeklampside de artmaktadır [146]. HIF-1 α seviyeleri plasentada olduğu gibi damarlanmanın yoğun olduğu doku hücrelerinde hayati bir rol oynar. HIF-1 α birçok anjiyogenik etmeni etkinleştirerek damar oluşumuna yol açar ve oksijen düzeyini yükseltir [147].

Çalışmamızda da HIF-1 α seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ve bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlıydı. Ayrıca bizim çalışmamızdaki preeklampsi hastalarındaki bu yükseklik daha önce yapılan çalışmalar ile uyumluydu [148, 149]. HIF-1 α 'nın antianjiyogenik faktörlerden sFlt [150] ve sEng [151, 152] miktarlarının plasentada artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu nedenle preeklampside yükselen sFlt ve sEng seviyelerinin, HIF-1 α seviyesinin artmasından kaynaklanıyor olabilir.

HIF-1 genlerinin fonksiyonlarına aykırı görünmekle birlikte hücrenin hipoksiye adaptasyonu sadece hücre proliferasyonu ve sağ kalımına sebep olmakla kalmayıp aynı zamanda bazı durumlarda da hücre ölümüne de sebep olabileceğine dair çalışmalar mevcuttur [153, 154]. Yapılan bir çalışmada HIF-1'in kompleks bir rol oynayarak, hipoksik koşullarda apoptozisi indüklediği bildirilmiştir ve düşük oksijen basıncında

HIF-1 α delesyonlu kök hücre genetik çalışmalarında, delesyonlu olanlardaki apoptozisin normallerden daha az olduğu gösterilmiştir [154].

Başka bir çalışmada ise düşük oksijen seviyelerinin trofoblast apoptosizine sebep olduğu ve trofoblast invazyonunda artan HIF-1 α seviyelerinin etkili olduğuna dair kanıtlar mevcuttur [155].

Apoptosizde Fas Ligand – Fas (CD 95 veya Apo1) en önemli ligand-ölüm reseptör sistemi içinde yer almaktadır [156]. Fas – Fas Ligand sistemi immün tolerans ile fetomaternal bileşkede implantasyona, plasental oluşumda trofoblast invazyonuna ve yeniden spiral arter şekillenmesine katkıda bulunmaktadır [157]. Fas ligand membrana bağlı veya soluble olabilir. Soluble fas ligand (FasL, CD95L) immün sistem hücreleri tarafından oluşturulur. Bu ligandın T hücreleri membranında bulunan Fas reseptörüne bağlanmasıyla, aktive olmuş ve görevlerini tamamlamış olan lenfositlerin apoptozis ile yok olmaları sağlanmaktadır [158].

Kuntz ve ark. preeklampsi hastalarında yaptıkları çalışmada trofoblastlarda artmış apoptozisin olduğunu ve bunun da sebebinin Fas-Fas ligand etkileşiminin artmasından kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir [159].

Çalışmamızda da CD95 seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ve bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlıydı. Ayrıca bizim çalışmamızdaki preeklampsi hastalarındaki bu yükseklik daha önce yapılan çalışmalar ile uyumluydu [159, 160].

Prusac ve ark. preeklampsi ve HELLP hastaların plasentalarında yaptıkları çalışmada ise Fas seviyeleri düşük bulmuş iken [161] artan apoptozisin farklı bir mekanizmayla olduğunu, Mendilcioglu ve ark. preeklampsi hastalarında yaptıkları çalışmada ise Fas seviyelerinde kontrol grubuyla arasında, artış ve azalış bakımından fark olmadığını bulmuş [162] ve artan apoptozisin Fas aracılığıyla olmadığını düşünmüşlerdir.

Ayrıca preeklampsi hasta grubunu hafif ve şiddetli olarak 2 gruba ayırdığımızda, gruplar arasında Tie-2, CD95 ve Hif-1alfa serum düzeyleri yönünden gruplar arasında anlamlı fark bulunamadı. Bizim çalışmamızla, literatürde yapılan çalışmalar, hafif ve şiddetli preeklampsi grupları arasında fark olmadığına dair çalışmalarla uyumluydu [163, 164].

Sonuç olarak, kontrol grubuna göre preeklampsi hastalarında HIF-1 alfanın seviyesinde artış olması, HIF-1 alfa'nın artmasına sebep olan plasentadan kaynaklı bir oksidatif stres artışı olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, preeklampsi hastalarında

görülen trofoblastik gelişim bozukluğuna bağlı olarak fetomaternal dolaşımın bozulmasına cevap olarak Tie düzeylerinde artış olması beklenirken, bu artışın olmaması muhtemelen, anjiyogenezi artıran Ang/Tie2 sisteminde bir bozukluğun ya da antiangiyojenik faktörlerin etkisinin artmış olmasına bağlı olabilir. Buna bağlı olarak plasental anjiyogenezin yeterli ve düzgün gelişmemesi de, HIF-1 alfa'nın serum düzeylerinin artmasına neden olmuş olabilir. Bunun sonucunda yetersiz plasentasyona bağlı olarak artan oksidatif stres sonucu artan HIF-1 alfa düzeyleri apoptozisi tetikleyerek apoptotik markır olan CD95 serum düzeylerindeki artışı açıklayabilir. Preeklampsi hastalarında patolojik mekanizmanın daha iyi anlaşılması için antiapoptotik ve apoptotik markırların da dahil edildiği çalışmaların yapılmasının daha fazla bilgi sağlayacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- [1] Steven G. Gabbe, Jennifer R. Niebyl, Joe Leigh Simpson. *Obstetri Normal ve Sorunlu Gebelikler*. Nobel ve Güneş Kitabevi. 5 th edition; 863-912
- [2] Cunningham- Leveno- Bloom Hauth- Rouse- Spong. *Williams Obstetrik*. Nobel Tıp Kitabevleri. 23 th edition; 706-756
- [3] Magdy SM, Akolisa A, David G, et al. Preeclampsia and antioxidant nutrients: Decreased plasma levels of reduced ascorbic acid, tocopherol and betacarotenein woman with preeclampsia. *Am J Obstet gynecol* 1994; 171:150-7.
- [4] Tal R. The Role of Hypoxia and Hypoxia-Inducible Factor-1Alpha in Preeclampsia Pathogenesis. *Biol Repod*. 2012; 87(6): 134
- [5] Matthiesen L, Berg G, Ernerudh, Ekerfelt C, Jonsson Y. Sharma S. Immunology of preeclampsia. *Chem Immunol Allergy*. 2005;89:49-61
- [6] Mutter WP, Karumanchi SA. Molecular mechanisms of preeclampsia. *Microvascular Research* 2008 ;75 :1-8.
- [7] Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, Sibai BM, Epstein FH, Romero R, Thadhani R, Karumanchi SA. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med* 2006;355:992–1005.
- [8] Szpera-Gozdziewicz A, Breborowicz GH. Endothelial dysfunction in the pathogenesis of pre-eclampsia. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2014 Jan 1;19:734-46.
- [9] Bdolah Y, Sukhatme VP, Karumanchi SA. Angiogenic imbalance in the pathophysiology of preeclampsia: newer insights. *Semin Nephrol* 2004; 24: 548–556.
- [10] Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2000 Jul;183(1):S1-S22.
- [11] 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.
- [12] Cunningham FG, Mac Donald PC, Gant NF, et al. Hypertensive Disorders in Pregnancy . *Williams Obstetrics*. 21th. Ed. Appleton & Lange , 2001 ; 567-618.

- [13] Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Cifren LA, Izzo Jr JL, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright Jr JT, Roccella EJ. Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *Hypertension*. 2003; 42: 1206-1252
- [14] Report of the National High Blood Pressure Education Program. Working Group Report on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 183:S 1, 2000.
- [15] ACOG Committee on Practice Bulletins—Obstetrics. Diagnosis and Management of Preeclampsia and Eclampsia. *Obstet Gynecol* 99:159, 2002.
- [16] Mattar F, Sibai BM: Eclampsia VIII risk factors for maternal morbidity. *Am J Obstet Gynecol* 182:307, 2000.
- [17] Sibai BM, Ewell M, Levine RJ, Klebanoff MA, Esterlitz J, Catalano PM, Goldenberg RL, Joffe G. Risk factors associated with nulliparous women preeclampsia in healthy.
- [18] Hypertension in Pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy .VOL. 122, NO. 5, November 2013
- [19] Madazlı R, Özgön M, Aksu MF, Köse Y. Maternal Mortality in Cerrahpaşa Medical Faculty Department of Obstetrics and Gynecology and Intensive Care Unit. Weinstein D, Chervenak F (eds). *The First World Congress on Maternal Mortality*. Monduzzı Editore, 1997; 145-148.
- [20] Noris M, Perico N, Remuzzi G. Mechanisms of disease: Pre-eclampsia. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2005;1:98-114
- [21] Frankfurt AM, Meidinger Sohn, 1856, p 778 Volhard F: Die doppelseitigen haematogenen Nierenerkrankungen. Berlin, Springer, 1918
- [22] Hinselmann H: Die Eklampsie. Bonn, F Cohen, 1924
- [23] Landesman R, Douglas RG, Holze E: The bulbar conjunctival vascular bed in the toxemias of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 68:170, 1954
- [24] Kaya MD, Başer E, Kaya S, Takal MK, Sahin F, Kuşçu E, Yanık F. The effect of Silymarin on VEGF, VEGFR-1 and IL-1 α levels in placental cultures of severe preeclamptic women. *J Turk Ger Gynecol Assoc*. 2014; 15(1): 30–35.
- [25] Dechanet C, Fort A, Barbero-Camps E, Dechaud H, Richard S, Virsolvy A. Endothelin-Dependent Vasoconstriction in Human Uterine Artery: Application to Preeclampsia. *PLoS One*. 2011; 6(1): e16540.
- [26] Walker JJ. Pre-eclampsia. *Lancet* 2000;356:1260–1265

- [27] Roberts JM: Preeclampsia: What we know and what we do not know. *Semin Perinatol* 2000; 24 :24-28.
- [28] Madazlı R. Etiopathogenesis of Preeclampsia. *Kadın Hastalıkları ve Doğum AD, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst-Special Topics* 2012;5(4):5-12
- [29] Kireççi H, 2005. Ağır Preeklampside Plazma Homosisteininin Yeri (tez). İstanbul: İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi.
- [30] Madazlı R, Budak E, Calay Z, Aksu MF. Correlation between placental bed biopsy findings, vascular cell adhesion molecule and fibronectin levels in preeclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 2000; 107: 514-518
- [31] Levy R, Nelson DM: Current Topic. To Be, or Not to Be, That is the Question. *Apoptosis in Human Trophoblast Placenta* 2000;21:1-13
- [32] Huppertz B, Kadyrow M Kingdom JC: Apoptosis and its role in the trophoblast. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 2006; 195, 29–39
- [33] Andraweera PH, Dekker GA, Laurence JA, Roberts CT. Placental expression of VEGF family mRNA in adverse pregnancy outcomes. *Placenta* 2012 Jun;33(6):467-72.
- [34] Zhou Y, McMaster M, Woo K, Janatpour M, Perry J, Karpanen T, Alitalo K, Damsky C, Fisher SJ. Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. *Am J Pathol.* 2002 Apr;160(4):1405-23.
- [35] Geva E, Ginzinger DG, Zaloudek CJ, Moore DH, Byrne A, Jaffe RB. Placental vascular development: vasculogenic and angiogenic (branching and nonbranching) transformation is regulated by vascular endothelial growth factor-A, angiopoietin-1, and angiopoietin-2. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Sep;87(9):4213-24
- [36] Zhang EG, Smith SK, Baker PN, Charnock-Jones DS. The regulation and localization of angiopoietin-1, -2, and their receptor Tie2 in normal and pathologic human placentae. *Mol Med.* 2001 Sep;7(9):624-35.
- [37] Karumanchi SA, Stillman IE, Lindheimer MD: Angiogenesis and preeclampsia. In Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG (eds): *Chesley's Hypertensive Disorders of Pregnancy*, 3rd ed. New York, Elsevier, In press, 2009, p 87

- [38] Parrish MR, Murphy SR, Rutland S, Wallace K, Wenzel K, Wallukat G, Keiser S, Ray LF, Dechend R, Martin JN, Granger JP, LaMarca B. The Effect of Immune Factors, Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α), and Agonistic Autoantibodies to the Angiotensin II Type I Receptor (AT1-AA) on Soluble fms-Like Tyrosine-1 (sFlt-1) and Soluble Endoglin (sEng) Production in Response to Hypertension During Pregnancy. *Am J Hypertens*. 2010 Aug; 23(8):911-6.
- [39] Trott DW, Harrison DG. The immune system in hypertension. *Adv Physiol Educ*. 2014 Mar;38(1):20-4.
- [40] Raijmakers MT, Dechend R, Poston L. Oxidative stress and preeclampsia: rationale for antioxidant clinical trials. *Hypertension*. 2004 Oct;44(4):374-80. Epub 2004 Aug 23. Review.
- [41] Goulopoulou S, Matsumoto T, Bomfim GF, Webb RC. Toll-like receptor 9 activation: a novel mechanism linking placenta-derived mitochondrial DNA and vascular dysfunction in preeclampsia. *Clin Sci (Lond)*. 2012 Oct;123(7):429-35.
- [42] Ashur-Fabian O, Yerushalmi GM, Mazaki-Tovi S, Steinberg DM, Goldshtein I, Yackobovitch-Gavan M, Schiff E, Amariglio N, Rechavi G. Cell free expression of hif1 α and p21 in maternal peripheral blood as a marker for preeclampsia and fetal growth restriction. *PLoS One*. 2012;7(5):e37273. 2012 May.
- [43] Tal R, Shaish A, Barshack I, Polak-Charcon S, Afek A, Volkov A, Feldman B, Avivi C, Harats D. Effects of hypoxia-inducible factor-1 α overexpression in pregnant mice: possible implications for preeclampsia and intrauterine growth restriction. *Am J Pathol*. 2010 Dec;177(6):2950-62.
- [44] Kharb S. Total free radical trapping antioxidant potential in preeclampsia. *Int J Gynecol Obstet* 2000;69:23-6
- [45] Myatt L, Cui X. Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol* 2004 Oct;122(4):369-82
- [46] Al-Gubory KH, Fowler PA, Garrel C. The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. *Int J Biochem Cell Biol*. 2010 Oct;42(10):1634-50.
- [47] Takagi Y, Nikaido T, Toki T, Kita N, Kanai M, Ashida T, Ohira S, Konishi I. Levels of oxidative stress and redox-related molecules in the placenta in preeclampsia and fetal growth restriction. *Virchows Arch* 2004 Jan;444(1):49-55

- [48] Von Dadelszen P, Magee LA. Could an infectious trigger explain the differential maternal response to the shared placental pathology of preeclampsia and normotensive intrauterine growth restriction? *Acta Obstet Gynecol Scand* 2002
- [49] Sharp AN, Heazell AE, Baczyk D, Dunk CE, Lacey HA, Jones CJ, Perkins JE, Kingdom JC, Baker PN, Crocker IP. Preeclampsia is associated with alterations in the p53-pathway in villous trophoblast. *PLoS One*. 2014 30;9(1):e87621
- [50] Ma R, Gu Y, Groome LJ, Wang Y. ADAM17 regulates TNF α production by placental trophoblasts. *Placenta*. 2011 Dec;32(12):975-80.
- [51] Roh CR, Lee JW, Kang BH, Yang SH, Kim BG, Bae DS, Kim JH, Lee JH. Differential expressions of Fas and Fas ligand in human placenta. *J Korean Med Sci*. 2002;17(2):213-6.
- [52] Conde-Agudelo A, Romero R, Lindheimer MD: Tests to predict preeclampsia. In Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG (eds): *Chesley's Hypertensive Disorders of Pregnancy*, 3rd ed. New York, Elsevier, In press, 2009, p 191
- [53] Lindheimer MD, Taler SJ, Cunningham FG: Hypertension in pregnancy [Invited Am Soc Hypertension position paper]. *J Am Soc Hypertens* 2:484,2008
- [54] Sibai BM: Diagnosis and management of gestational hypertension and preeclampsia. *Obstet Gynecol* 102:181, 2003
- [55] Gebb J, Landsberger E, Merkatz I, et al: First trimester uterine artery Doppler, PAPP-A and 3D power Doppler of the intervillous space in patients at risk for preeclampsia. Abstract No 251. Presented at the 29th Annual Meeting of the Society for Maternal-Fetal Medicine, January 26-31, 2009a
- [56] Gebb J, Einstein F, Merkatz IR, et al: First trimester 3D power Doppler of the intervillous space in patients with decreased PAPP-A levels and increased uterine artery pulsatility index. Abstract No 279. Presented at the 29th Annual Meeting of the Society for Maternal-Fetal Medicine, January 26-31, 2009b
- [57] Groom KM, North RA, Stone PR, et al: Patterns of change in uterine artery Doppler studies between 20 and 24 weeks of gestation and pregnancy outcomes. *Obstet Gynecol* 113(2):332, 2009
- [58] Conde-Agudelo A, Romero R, Lindheimer MD: Tests to predict preeclampsia. In Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG (eds): *Chesley's Hypertensive Disorders of Pregnancy*, 3rd ed. New York, Elsevier, In press, 2009, p 191

- [59] Powers RW, Bodnar LM, Ness RB, et al: Uric acid concentrations in early pregnancy among preedamptic women with gestational hyperuricemia at delivery. *Am J Obstet Gynecol* 194:160.e1, 2006
- [60] Lindheimer MD, Conrad K, Karumanchi SA: Renal physiology and disease in pregnancy. In Alpern RJ, Hebert SC,(eds): *Seldin and Giebisch's The Kidney: Physiology and Pathophysiology*,4th ed.New York, Elsevier ,2008a, p 2339
- [61] Chavarria ME, Lara-Gonzalez L, Gonzalez-Gleason A, et al: Maternal plasma cellular fibronectin concentrations in normal and preeclamptic pregnancies: A longitudinal study for early prediction of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 187:595, 2002
- [62] Stubbs TM, Lazarchick J, Horger EO III: Plasma fibronectin levels in preedampsia: A possible biochemical marker for vascular endothelial damage. *Am J Obstet Gynecol* 150: 885, 1984
- [63] Zusterzeel PL,Rutten H , Roelofs HM, Peters WH, Steegers EA.Protein carbonyls in decidua and placenta of pre-eclamptic women as markers for oxidative stress. *Placenta* 2001;22:213-219
- [64] Bainbridge SA, Sidle EH, Smith GN: Direct placental effects of cigarette smoke protect women from pre-eclampsia: The specific roles of carbon monoxide and antioxidant systems in the placenta. *Med Hypotheses* 64:17, 2005
- [65] Hubel CA, McLaughlin MK, Evans RW, et al: Fasting serum triglycerides, free fatty acids, and malondialdehyde are increased in preeclampsia, are positively correlated, and decrease within 48 hours postpartum. *Am J Obstet Gynecol* 174:975,1996
- [66] Powers RW, Evans RW, Ness RB, et al: Homocysteine is increased in preedampsia but not in gestational hypertension. *J Soc Gynecol Investig* 7(1):(Suppl), 2000
- [67] Maynard S, Epstein FH, Karumanchi SA: Preeclampsia and angiogenic imbalance. *Annu Rev Med* 59:61, 2008
- [68] Widmer M, Villar J, Benigni A, et al: Mapping the theories of preedampsia and the role of angiogenic factors. *Obstet Gynecol* 109:168, 2007
- [69] Lo YM, Corbetta N, Chamberlain PF, et al: Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum. *Lancet* 350:485, 1997
- [70] DiFederico E, Genbacev O, Fisher SJ: Preeclampsia is associated with widespread apoptosis of placental cytotrophoblasts within the uterine wall. *Am J Pathol* 155:293, 1999

- [71] Folkman J, Shing Y. Angiogenesis. *J Biol Chem* 1992; 267:10931- 10934
- [72] Daly ME, Makris A, Reed M, Lewis CE. Hemostatic regulators of tumor angiogenesis: a source of antiangiogenic agents for cancer treatment? *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1660-73.
- [73] Allure R. Basement membranes: Structure, assembly and role in tumor angiogenesis. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 422- 433.
- [74] Haroon ZA, Peters KG, Greenberg CS ve ark. İçinde Teicher BA, editör. Angiogenesis and Oxygen Transport in Solid Tumors. Antiangiogenic Agents in Cancer Therapy. Totowa, Humana Pres; 1999. 3- 21.
- [75] Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 2003;9:653-60.
- [76] Dibbens JA, Miller DL, Damert A ve ark. Hypoxic regulations of vascular endothelial growth factor mRNA stability requires the cooperation multiple RNA elements. *Mol Biol Cell* 1999; 10: 907-19.
- [77] Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ ve ark. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science* 1989; 246:1306-309.
- [78] Erdem F, Gündoğdu M. Anjiojenesis ve anti-anjiojenik tedavi. *AÜTD* 2005;37:1-6.
- [79] Mignatti, P, ve DB Rifkin. Plasminogen activators and matrix metalloproteinases in angiogenesis. *Enzyme Protein*, 1996: 49:117-137.
- [80] Ausprunk, DH, ve J Folkman. Migration and proiferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvasc Res.*, 1997: 14:53-65.
- [81] Ferrara, N, HP Gerber, ve J Le Couter. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med.*, 2003: 9:669-676.
- [82] Pepper MS, R Montesano, SJ Mandriota, L Orci, JD Vassalli. A paradigm for balanced extrasellüler proteolysis during cell migration and morphogenesis. *Enzyme Protein*, 1996: 49:138-162.
- [83] Haroon, ZA, KG Peters, CS Greenberg, ve MW Dewhirst. Angiogenesis and Oxygen Transport in Solid Tumors. Teicher BA (eds). Antiangiogenic Agents in Cancer Therapy. Totowa-New Jersey: Humana Pres, 1999. 3-21.
- [84] Saaristo A, Karpanen T, Alitalo K. Mechanisms of angiogenesis and their use in the inhibition of tumor growth and metastasis. *Oncogene* 2000;19:6122-9.

- [85] van Meurs MJ, Kümpers P, Ligtenberg J, Meertens J, Molema G, Zijlestra JG. Bench-to-bedside review: Angiopoietin signalling in critical illness – a future target? *Crit Care* 2009;13:207. Epub 2009 Mar 9.
- [86] vGiaccia AJ, Simon MC, Johnson R. The biology of hypoxia: the role of oxygen sensing in development, normal function, and disease. *Genes Dev* 2004;18:2183-94.
- [87] Zamudio S, Wu Y, Ietta F, et al. Human placental hypoxia-inducible factor-1 α expression correlates with clinical outcomes in chronic hypoxia in vivo. *Am J Pathol* 2007;170(6):2171–9
- [88] Kiichi H, Semenza GL. Regulation of angiogenesis by hypoxia-inducible factor 1. *Crit Rev Oncol Hematol* 2006;59:15-26.
- [89] Salceda S, Caro J. Hypoxia-inducible factor 1 α (HIF-1 α) protein is rapidly degraded by the ubiquitin-proteasome system under normoxic conditions. Its stabilization by hypoxia depends on redoxinduced changes. *J Biol Chem* 1997;272:22642-7.
- [90] Ruas JL, Poellinger L, Pereira T. Role of CBP in regulating HIF-1-mediated activation of transcription. *J Cell Sci* 2005;118:301-11.
- [91] Quintero M, Mackenzie N, Brennan PA. Hypoxia-inducible factor 1 (HIF-1) in cancer. *EJSO* 2004;30:465-8.
- [92] Weidemann A, Johnson RS. Biology of HIF-1 α . *Cell Death Differ* 2008; 15(4): 621-27.
- [93] Jiang BH, Semenza GL, Bauer C, Marti HH. Hypoxia-inducible factor 1 levels vary exponentially over a physiologically relevant range of O₂ tension. *Am J Physiol* 1996;271:C1172-80.
- [94] Papetti M, Herman IM. Mechanisms of normal and tumor-derived angiogenesis. *Am J Physiol* 2002;282:C947-70
- [95] Page EL, Robitaille GA, Pouyssegur J, Richard DE. Induction of hypoxia-inducible factor-1 α by transcriptional and translational mechanisms. *J Biol Chem* 2002;277:48403-9.
- [96] Carmeliet P, Dor Y, Herbert JM, Fukumura D, Brusselmans K, Dewerchin M, Neeman M, Bono F, Abramovitch R, Maxwell P, et al. Role of HIF-1 α in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis. *Nature*. 1998; 394: 485–490.
- [97] Iyer, NV., Kotch, LE., Agani, F., et al, Cellular and developmental control of O₂ homeostasis by hypoxia-inducible factor 1 α , *Genes Dev*, 12, 149-162, 1998.

- [98] Van Meurs MJ, Kümpers P, Ligtenberg J, Meertens J, Molema G, Zijlestra JG. Bench-to-bedside review: Angiopoietin signalling in critical illness – a future target? *Crit Care* 2009;13(2):207.
- [99] van Meurs MJ, Kümpers P, Ligtenberg J, Meertens J, Molema G, Zijlestra JG. Bench-to-bedside review: Angiopoietin signalling in critical illness – a future target? *Crit Care* 2009;13:207. Epub 2009 Mar 9.
- [100] Sato TN, Qin Y, Kozak CA et al. Tie-1 and Tie-2 define another class of putative receptor tyrosinase kinase genes expressed in early embryonic vascular system. *Proc Natl Acad Sci.* 1993; 90: 9355-9358.
- [101] Suri C, Jones PF, Patan S et al. Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the Tie2 receptor, during embryonic angiogenesis. *Cell* 1996; 87: 1171-80.
- [102] Koblizek TI, Weiss C, Yancopoulos GD et al. Angiopoietin-1 induces sprouting angiogenesis in vitro. *Curr Biol* 1998; 8: 529-32.
- [103] Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, Bartunkova S, Wiegand SJ, Radziejewski C, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for tie 2 that disrupts in vivo angiogenesis. *Science* 1997;277:55-60.
- [104] Fiedler U, Scharpfenecker M, Koidl S, Hegen A, Grunow V, Schmidt JM, et al. The Tie-2 ligand angiopoietin-2 is stored in and rapidly released upon stimulation from endothelial cell Weibel-Palade bodies. *Blood* 2004;103:4150–56. Epub 2004 Feb 19.
- [105] Salmon AH, Neal CR, Sage LM, Glass CA, Harper SJ, Bates DO: Angiopoietin-1 alters microvascular permeability coefficients in vivo via modification of endothelial glycocalyx. *Cardiovasc Res.* 2009; 83(1): 24-33
- [106] Holopainen T, Huang H, Chen C, Kim KE, Zhang L, Zhou F, Han W, Li C, Yu J, Wu J, Koh GY, Alitalo K, He Y. Angiopoietin-1 overexpression modulates vascular endothelium to facilitate tumor cell dissemination and metastasis establishment. *Cancer Res.* 2009 Jun 1;69(11):4656-64.
- [107] Harfouche R, Hassessian HM, Guo Y, Faivre V, Srikant CB, Yancopoulos GD, Hussain SN. Mechanisms which mediate the antiapoptotic effects of angiopoietin-1 on endothelial cells. *Microvasc Res.* 2002 Jul;64(1):135-47.
- [108] Aref S, Goda H, Abdelaal E. Circulating Vascular Growth Factor (VEGF) Angiopoietin-1 (Angi-1) and Soluble Tie-2 Receptor in Pregnancy Complicated with Pre-eclampsia: A Prospective Study. *J Obstet Gynaecol India.* 2013; 63(5): 316–320.

- [109] Sung JF, Fan X, Dhal S, Dwyer BK, Jafari A, El-Sayed YY, Druzin ML, Nayak NR. Decreased circulating soluble Tie2 levels in preeclampsia may result from inhibition of vascular endothelial growth factor (VEGF) signaling. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011; 96(7): E1148–E1152.
- [110] Cohen, J.J. (1998). Apoptosis. To Be Or Not To Be. Postgraduate Syllabus (AA-AA-I) 1: 1–19
- [111] Öniz, H. (2004). Apoptosis: The Death Decision. *SSK Tepecik Hast Derg.* 14(1): 1-20
- [112] Kerr JF, Wyllie AH ve Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972 Aug;26(4):239-57.
- [113] Kinloch, R.A., Treherne, J.M., Furness, L.M., Hajimohamadreza, I., (1999). The Pharmacology of Apoptosis, *Trends in Pharmacological Sciences*; 20: 35-42
- [114] Haider S, Knöfler M. Human tumour necrosis factor: physiological and pathological roles in placenta and endometrium. *Placenta.* 2009 Feb;30(2):111-23
- [115] Stoian M, State N, Stoica V, Radulian G. Apoptosis in colorectal cancer. *J Med Life.* 2014 Jun 15;7(2):160-4.
- [116] Cryns VL, Yuan J. (1998). The cutting edge: caspases in apoptosis and disease. In *When Cells Die.* Edited by Lockshin RA, Zakeri Z, Tilly JL. New York: Wiley-Liss Inc;177 210.
- [117] Igney FH, Krammer PH. Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nat Rev Cancer* 2:277–88, 2002.
- [118] Martinvalet D, Zhu P, Lieberman J. Granzim A induces caspase- independent mitochondrial damage, a required first step for apoptosis. *Immunity* 22:355–70, 2005.
- [119] B. Erdoğan, E. Uzaslan, Apoptosis Mechanism: Fas-FasL-Mediated Apoptosis in Tumour Development, *Akciğer Arşivi.* 2003; 4: 1 165-174
- [120] Hughes SJ, Nambu Y, Soldes OS et al.: Fas/Apo1 (CD95) is not translocated to the cell membrane in esophageal adenocarcinoma. *Cancer Res* 1997; 57: 5571-8.
- [121] Jackel M, □elman L, Dorudian MA, Youssef S, Fuzesi L : Prognostic significance of p53/bcl-2 coexpression in patients with laryngeal squamous cell carcinoma. *Laryngoscope* 2000; 110: 1339-45.

- [122] Koufman JA, Burke AJ: The etiology and pathogenesis of laryngeal carcinoma. *Otolaryngol Clin North Am.* 1997 Feb; 30 (1) : 1-19.
- [123] Mani JJ, Terhaard CHJ, Boer MF, et al.: Prognostic factors for survival in patients with T3 laryngeal carcinoma. *Am J Surg* 1992;164:683-7.
- [124] Jackel MC, Dorudian MA, Marx D, Brinck U, Schauer A, Steiner W: Spontaneous apoptosis in laryngeal squamous cell carcinoma is independent of bcl-2 and bax protein expression. *Cancer* 1999; 85: 591-9.
- [125] Lazaris AC, Lendari I, Kavantzias N, et al.: Correlation of tumor markers p53, bcl-2 and cathepsin-D with clinicopathologic features and disease free survival in laryngeal squamous cell carcinoma. *Pathol Int* 2000; 50: 717-24.
- [126] DiFederico E, Genbacev O, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with widespread apoptosis of placental cytotrophoblasts within the uterine wall. *Am J Pathol.* 1999; 155(1) 293-301
- [127] Allaire AD, Ballenger KA, Wells SR, McMahan MJ, Lessey BA. Placental apoptosis in Preeclampsia. *Obstets and Gynecol.* 2000; 96(2): 271-6
- [128] Neale D, Demasio K, Illuzi J, Chaiworapongsa T, Romero R, Mor G. Maternal serum of women with pre-eclampsia reduces trophoblast cell viability: evidence for an increased sensitivity to Fas-mediated apoptosis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2003; 13 (1): 39-44
- [129] Kang SM, Schneider DB, Lin Z, Hanahan D, Dichek DA, Stock PG, Baekkeskov S. Fas ligand expression in islets of Langerhans does not confer immune privilege and instead targets them for rapid destruction. *Nat Med.* 1997; 3 (7): 738-43
- [130] Neale DM, Mor G. The role of Fas mediated apoptosis in preeclampsia. *J Perinat Med.* 2005; 33 (6): 471–7
- [131] Khong TY, De Wolf F, Robertson WB, Brosens I. Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by pre-eclampsia and by small-for-gestational age infants. *Br J Obstet Gynaecol.* 1986 Oct; 93(10): 1049- 59
- [132] Kappou D, Sifakis S, Androutsopoulos V, Spandidos DA, Papantoniou N. Placental mRNA expression of angiopoietins (Ang)-1, Ang-2 and their receptor Tie-2 is altered in pregnancies complicated by preeclampsia. *Placenta.* 2014 Sep;35(9):718-23
- [133] Rajakumar A, Brandon HM, Daftary A, Ness R, Conrad KP. Evidence for the functional activity of hypoxia-inducible transcription factors overexpressed in preeclamptic placentae. *Placenta* 2004; 25(10): 763–769.

- [134] Taşın C, Yıldız Y, Ünlü BS, Energin H, Ceylan N. Hafif ve Şiddetli Preeklampsi Olgularında Maternal ve Perinatal Bulguların Değerlendirilmesi. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2014;15(1):7-12
- [135] Maynard SE, Min J-Y, Merchan J, et al: Excess placental soluble frns-like tyrosine kinase 1 (sFltl) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest* 111(5):649, 2003
- [136] Kappou D, Sifakis S, Androutsopoulos V, Spandidos DA, Papantoniou N. Placental mRNA expression of angiopoietins (Ang)-1, Ang-2 and their receptor Tie-2 is altered in pregnancies complicated by preeclampsia. *Placenta*. 2014 Sep;35(9):718-23
- [137] Dumont DJ, Gradwohl G, Fong GH, Puri MC, Gerstenstein M, Auerbach A, et al. Dominant-negative and targeted null mutations in the endothelial receptor tyrosine kinase, tek, reveal a critical role in vasculogenesis of the embryo. *Genes Dev* 1994;8:1897-909.
- [138] Suri C, Jones PF, Patan S, Bartunkova S, Maisonpierre PC, Davis S, et al. Requisite role of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, during embryonic angiogenesis. *Cell* 1996;87:1171-8
- [139] Dunk C, Shams M, Nijjar S, Rhaman M, Qiu Y, Bussolati B, Ahmed A. Angiopoietin-1 and Angiopoietin-2 Activate Trophoblast Tie-2 to Promote Growth and Migration during Placental Development. *Am J Pathol*. 2000 Jun;156(6):2185-99.
- [140] Leinonen E, Wathén KA, Alftan H, Ylikorkala O, Andersson S, Stenman UH, Vuorela P. Maternal Serum Angiopoietin-1 and -2 and Tie-2 in Early Pregnancy Ending in Preeclampsia or Intrauterine Growth Retardation. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95(1):126–133
- [141] Aref S, Goda H, Abdelaal E. Circulating Vascular Growth Factor (VEGF) Angiopoietin-1 (Angi-1) and Soluble Tie-2 Receptor in Pregnancy Complicated with Pre-eclampsia: A Prospective Study. *The Journal of Obstetrics and Gynecology* 2013; 63(5):316–320
- [142] Nadar SK, Karalis I, Al Yemeni E, et al. Plasma markers of angiogenesis in pregnancy induced hypertension. *Thromb Haemost*. 2005;94:1071–6.
- [143] Soleymanlou N, Jurisica I, Nevo O, Ietta F, Zhang X, Zamudio S, Post M, Caniggia I Molecular evidence of placental hypoxia in preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(7):4299–308

- [144] Chandel NS, McClintock DS, Feliciano CE, Wood TM, Melendez JA, Rodriguez AM, Schumacker PT. Reactive Oxygen Species Generated at Mitochondrial Complex III Stabilize Hypoxia-inducible Factor-1 α during Hypoxia: a Mechanism of O₂ Sensing. *J Biol Chem*. 2000 Aug 18;275(33):25130-8.
- [145] Singh HJ. Pre-eclampsia: is it all in the placenta? *Malays J Med Sci*. 2009 Jan;16(1):7-15.
- [146] Tal R. The Role of Hypoxia and Hypoxia-Inducible Factor-1Alpha in Preeclampsia Pathogenesis *Biology of Reproduction* 2012;87(6):134, 1–8
- [147] Ho T, Rajkumar V, Ponticos M ve ark. Increased endogenous angiogenic response and hypoxia- inducible factor-1alfa in human cricial limb ischemia. *J Vasc Surg* 2006; 43: 125-33.
- [148] Rajakumar A, Brandon HM, Daftary A, Ness R, Conrad KP. Evidence for the functional activity of hypoxia-inducible transcription factors overexpressed in preeclamptic placentae. *Placenta* 2004; 25(10): 763–769.
- [149] Caniggia I, Winter JL. Adriana and Luisa Castellucci Award Lecture 2001. Hypoxia inducible factor-1: oxygen regulation of trophoblast differentiation in normal and preeclamptic pregnancies—a review. *Placenta* 2002; 23(suppl A):S47–S57.
- [150] Nevo O, Soleymanlou N, Wu Y, Xu J, Kingdom J, Many A, Zamudio S, Caniggia I. Increased expression of sFlt-1 in in vivo and in vitro models of human placental hypoxia is mediated by HIF-1. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 291(4):R1085–R1093.
- [151] Sanchez-Elsner T, Botella LM, Velasco B, Langa C, Bernabeu C. Endoglin expression is regulated by transcriptional cooperation between the hypoxia and transforming growth factor-beta pathways. *J Biol Chem* 2002; 277(46):43799–43808.
- [152] Yinon Y, Nevo O, Xu J, Many A, Rolfo A, Todros T, Post M, Caniggia I. Severe intrauterine growth restriction pregnancies have increased placental endoglin levels: hypoxic regulation via transforming growth factor-beta 3. *Am J Pathol* 2008; 172(1):77–85.

- [153] Chen B, Longtine MS, Sadovsky Y, Nelson DM. Hypoxia downregulates p53 but induces apoptosis and enhances expression of BAD in cultures of human syncytiotrophoblasts. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2010 Nov;299(5):C968-76.
- [154] Carmeliet P, Dor Y, Herbert JM, Fukumura D, Brusselmans K, Dewerchin M, Neeman M, Bono F, Abramovitch R, Maxwell P, et al. Role of HIF-1alpha in hypoxia-mediated apoptosis, cell proliferation and tumour angiogenesis. *Nature*. 1998; 394: 485–490.
- [155] Caniggia I, Winter JL. Adriana and Luisa Castellucci Award lecture 2001. Hypoxia inducible factor-1: oxygen regulation of trophoblast differentiation in normal and pre-eclamptic pregnancies a review. *Placenta* 2002 ;23 Suppl a: S47-57.
- [156] Mollinedo F, Gajate C. Fas /CD95 death receptor and lipid rafts: new targets for apoptozis-directed cancer therapy. *Drug Resist Updat*. 2006;9(1-2):51-73
- [157] Nagata S . Fas ligand-induced apoptosis. *Annu Rev Genet*. 1999; 33:29–55
- [158] Thompson CB. Apoptosis. In: Paul WE, ed. *Fundamental Immunology*. Lippincott-Raven Publishers. 1999.
- [159] Kuntz TB, Christensen RD, Stegner J, Duff P, Koenig JM. Fas and Fas Ligand Expression in Maternal Blood and in Umbilical Cord Blood in Preeclampsia. *Pediatric Research* 2001;50(6):743-9.
- [160] Hu WS, Wang ZP, Dong MY, Wang HZ. Expression of Fas and Fas L in serum and plasenta of preeclamptic pregnancy and its significance, *Zhejiang DaXue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2005; 34(6):499-502
- [161] Prusac IK, Zekic Tomas S, Roje D. Apoptosis, proliferation and Fas ligand expression in placental trophoblast from pregnancies complicated by HELLP syndrome or pre-eclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2011;90(10):1157-63
- [162] Mendilcioglu I, Karaveli S, Erdoğan G, Simsek M, Taksin O, Ozekinci M..Apoptosis and expression of Bcl-2, Bax, p53, caspase-3, and Fas, Fas ligand in placentas complicated by preeclampsia. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2011;38 (1):38-42.
- [163] El-Sherbiny W, Soliman A, El-Mazny A. Elevated serum-soluble Fas in preeclampsia: correlation with clinical, laboratory, and Doppler parameters. *Hypertens Pregnancy*. 2011;30(2):221-30.

[164] Gotsch F, Romero R, Kusanovic JP, Chaiworapongsa T, Dombrowski M, Erez O, Than NG, Mazaki-Tovi S, Mittal P, Espinoza J, Hassan SS. Preeclampsia and small-for-gestational age are associated with decreased concentrations of a factor involved in angiogenesis: soluble Tie-2. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2008 Jun;21(6):389-402.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı	Fatma ÖZÇELİK
Doğum Yeri ve Tarihi	Sivas, 19.04.01989
Medeni Hali	Bekar
Yabancı Dil	İngilizce
Mesleği	Biyolog
İletişim Adresi	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 58140-SİVAS
Eğitim Durumu	
Lise	İmranlı Çok Programlı Lisesi
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

EKLER

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Preeklampsi Gelişiminde HIF-1 α , Tie-2 ve CD95'in Hastalığın Patogenezi İle İlişkisi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Cumhuriyet Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Cumhuriyet Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başhekimlik Girişi TR-58140 Merkez/Sivas
	TELEFON	0 346 258 00 25
	FAKS	0346 258 00 24
	E-POSTA	cuetikkurul@gmail.com

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç. Dr. Enver Sancakdar/YL öğrencisi Fatma Özçelik			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi			
	DESTEKLEYİCİ				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 4	<input type="checkbox"/>		
		Gözlemsel ilaç çalışması	<input type="checkbox"/>		
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
	Diğer ise belirtiniz				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin
İmza:

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Preeklampsi Gelişiminde HIF-1 α , Tie-2 ve CD95'in Hastalığın Patogenezi İle İlişkisi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	İLAN	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>				
	DİĞER:	<input type="checkbox"/>				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2014-03/02	Tarih: 04.03.2014				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerden gerekli izin alınarak gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.					
Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.						

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Emin Yener Gültekin

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Emin Yener Gültekin	Üroloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Kürşat Karadayı	Genel Cerrahi	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Hülya Toker	Periodontoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ayşe Demirkazık Çançalar	Biyofizik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Aynur Engin	Enfeksiyon Hastalıkları	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Özlem Kayım Yıldız	Nöroloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ziyet Çınar	Biyostatistik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Gülay Yıldırım	Tıp Tarihi ve Etik	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Ahmet Altun	Tıbbi Farmakoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin
İmza:

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Preeklampsi Gelişiminde HIF-1 α , Tie-2 ve CD95'in Hastalığın Patogenezi İle İlişkisi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

Yrd. Doç. Dr. Fatih Kılıç	Endokrinoloji	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Levent Sağlam	Aile Hekimi	Sivas Halk Sağlığı Müdürlüğü	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uzm. Dr. Mutlu Doğan	Genel Cerrahi	Sivas Numune Hastanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğr. Gör. Engin Daşlı	Avukat	Cumhuriyet Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Öğret. Şemsettin Ağaş	Biyoloji Öğretmeni	Sivas Lisesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Emin Yener Gültekin
İmza:

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.

EK-2 Bilgilendirilmiş Olur Formu

Sayın ...

Bu katılacağınız çalışma bilimsel bir araştırma olup, araştırmanın adı “Preeklampsi (tansiyon yüksekliği ve idrarda normalin üstünde protein görülmesiyle seyreden gebeliğe özgü bir hastalık) gelişiminde HIF-1 α , Tie-2 ve CD95’in hastalığın patogenezi (hastalığın kaynağı ve gelişmesi) ile ilişkisi” dir.

Araştırmanın amacı, bu hasta grubunda kanda test edilebilen bir takım değişkenlerin serum düzeylerinin artıp artmadığını, hastalığın seyri ile ilişkili olup olmadığını değerlendirmek ve böylece Preeklampsi hastalığının tedavisine katkıda bulunabilmektir. Çalışmaya katılım, gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Bu araştırmada sizin sağ veya sol kolunuzdaki bir damarınızdan az miktarda kan alınacak olup bu işlem sırasında canınız az da olsa acıyabilir ve işleme bağlı olarak kan alma yerinde kanamanın durması biraz uzayabilir. Bu işlem sadece birkaç dakika sürecektir. Kan alma işleminden sonra kan alınan yerden biraz kanama ve morarma oluşabilir. Nadir de olsa kan alınan bölgede enfeksiyon ve sinir hasarı sebebiyle kolda ağrı, uyuşma görülebilir. Bunun dışında 5-10 ml (1-2 tüp) kan kaybının bilinen bir yan etkisi yoktur. Preeklampsi olmayan sağlıklı gebelerden de kontrol grubu için kan ve idrar örnekleri aynı şekilde alınacak ve sonuçlar hasta grubuyla karşılaştırılacaktır. Çalışmamızın güvenilirliğini test etmek için bu gereklidir. Kontrol grubunda da kan alınımı sırasındaki riskler aynı şekildedir. Bu alınan kan tüplerde saklanacak ve bir takım laboratuvar analizleri (HIF-1 α , Tie-2, CD95) yapılacaktır. Ayrıca bir miktar idrar örneği alınıp idrarınızda ise protein miktarı ölçülecektir. Sizden alınan kan ve idrar özel tüplerde saklanacak ve Biyokimya bölümümüzde analiz edilecektir.

Bu araştırma ile ilgili olarak sizden beklenen istenen tahlilleri yaptırmak, araştırmacının sorularına uygun ve doğru cevap vermek ve sonuçlarını zamanında araştırmacıya ulaştırmaktır. Bu araştırmada sizin için herhangi bir risk ve zarar söz konusu değildir. Bu araştırma esnasında size ilaç adı altında herhangi bir madde verilmeyecek veya herhangi bir cerrahi müdahalede bulunulmayacaktır. Sadece sizden tanı aldığımız tarihten bugüne kadar olan dosyalarınızdaki bilgilerinizi (yaş, cinsiyet gibi demografik verileriniz ve kan testleri sonuçlarınız) incelemek ve az miktarda kan ve idrar almak için

izin istemekteyiz. İster doğrudan, ister dolaylı olsun bu araştırma esnasında sizden sadece kan ve idrar alınacağından herhangi bir sağlık sorunu oluşmayacaktır. Sizden sadece kan ve idrar alınacak ve sizin normal tedavi süreciniz esnasında yapılan işlemler kayıt altına alınacak ve çalışmamızda kullanılacaktır. Bu araştırmada yer almanız için bir defa gelmeniz yeterli olacaktır. Çalışmamıza 44 Preeklampsi hastası ve 44 sağlıklı gebe gönüllü, kontrol grubu olarak alınacaktır. Çalışmaya katılmak için gönüllülük esas olacak ve çalışma, 10 ay sürecektir.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Yrd. Doç. Dr. Savaş KARAKUŞ veya onun görevlendireceği bir hekim tarafından muayene edileceksiniz ve bulgular kaydedilecektir. Muayene sonucunda doktorunuz uygun görürse bu çalışmaya alınacaksınız. Araştırma sırasında sizi ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bu durum size veya yasal temsilcinize derhal bildirilecektir. Araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 05447729910 numaralı telefondan 24 saat Dr. Enver SANCAKDAR 'a başvurabilirsiniz .

Ayrıca bu araştırma kapsamındaki bütün muayene, tetkik, testler ve tıbbi bakım hizmetleri için sizden veya bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kuruluşundan hiçbir ücret istenmeyecektir.

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz. Bu durum herhangi bir cezaya ya da sizin yararlarınıza engel duruma yol açmayacaktır. Araştırmacı bilginiz dahilinde veya isteğiniz dışında, uygulanan tedavi şemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle sizi araştırmadan çıkarabilir. Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır, çalışmadan çekilmeniz ya da araştırmacı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz.

Çalışmaya Katılma Onayı:

Yukarıda yer alan ve araştırmaya başlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırmacıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koşullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve işlenmesi konusunda araştırma yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın gönüllü olarak kabul ediyorum.

Bu formun imzalı bir kopyası bana verilecektir.

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Açıklamaları yapan araştırmacının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza:

Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının,

Adı-Soyadı:

Görevi:

Adresi:

Tel.-Faks:

Tarih ve İmza: