

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SURAMİNLE OLUŞTURULAN SIÇAN PREEKLAMPSİ MODELİNDE
DAMAR DÜZ KAS CEVAPLARINDA OLUŞAN DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE
FOSFODİESTERAZ-5 İNHİBİSYONUNUN ETKİSİ

Uzman Eczacı Nergiz Hacer TURGUT

DOKTORA TEZİ

SİVAS

2007

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SURAMİNLE OLUŞTURULAN SIÇAN PREEKLAMPSİ MODELİNDE
DAMAR DÜZ KAS CEVAPLARINDA OLUŞAN DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE
FOSFODİESTERAZ-5 İNHİBİSYONUNUN ETKİSİ

Uzman Eczacı Nergiz Hacer TURGUT

DOKTORA TEZİ

Danışman Öğretim Üyesi
Prof. Dr. Tijen KAYA TEMİZ

SİVAS

2007

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 05.01.1984 tarih ve 84/1 sayılı kararı ile kabul edilen "Tez Yazma Yönergesi"ne göre yazılmıştır.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
İNGİLİZCE ÖZET	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
TABLolar	x
ŞEKİL VE GRAFİKLER	xi
RESİMLER	xiii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Gebelik ve Hipertansiyon	3
2.2. Preeklampsi Risk Faktörleri	5
2.3. Preeklampsi Fizyopatolojisi	5
2.4. Preeklampside Morfolojik ve Fonksiyonel Organ Değişiklikleri	10
2.4.a. Kardiyovasküler Değişiklikler	10
2.4.b. Hematolojik Değişiklikler	10
2.4.c. Böbrekler	10
2.4.d. Karaciğer	11
2.4.e. Beyin	11
2.5. Preeklampsinin Komplikasyonları	11
2.5.a. Fetal Komplikasyonlar	11
2.5.b. Maternal Komplikasyonlar	11
2.6. Preeklampsinin Önceden Belirlenmesi	12
2.7. Preeklampsinin Önlenmesi	14
2.8. Preeklampsinin Tedavisi	15
2.9. Tedavide Kullanılan İlaçlar	15
2.9.a. Antihipertansif İlaçlar	15
2.9.b. Antikonvülfiz İlaçlar	15
2.10. Preeklampsi İçin Hayvan Modelleri	16
2.11. Normal Endotel ve Fonksiyonları	18
2.12. Endotel Disfonksiyonu	20
2.13. Sildenafil Sitrat ve Düz Kas Üzerine Etkisi	21
2.14. Normal Gebelik ve Preeklampside Endotel Fonksiyonu ve PDE-5 İlişkisi	22

2.15. Çalışmamızda Kullandığımız İlaçlar ve Düz Kaslar Üzerindeki Etkileri	24
2.15.a. Asetilkolin ve Düz Kas Üzerine Etkisi	24
2.15.b. Bradikinin ve Düz Kas Üzerine Etkisi	24
2.15.c. Sodyum Nitroprussiyat ve Düz Kas Üzerine Etkisi	25
2.15.d. Fenilefrin ve Düz Kas Üzerine Etkisi	25
2.15.e. Arjinin-Vazopressin ve Düz Kas Üzerine Etkisi	25
2.15.f. Endotelin-1 ve Düz Kas Üzerine Etkisi	26
2.15.g. Potasyum Klorür ve Düz Kas Üzerine Etkisi	26
ARAÇ GEREÇ VE YÖNTEMLER	27
3.1. Gebe Sıçanların Elde Edilmesi	27
3.2. İndirekt Kan Basıncı Ölçümü	27
3.3. Sıçan İdrar Örneklerinde Protein Ölçümü	28
3.4. İzole Torasik Aorta Şeritlerinin İn Vitro Deneylere Hazırlanışı	28
3.5. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar ve İlaçlar	28
3.6. Kasılma Yanıtları	29
3.6.a. KCl Kasılma Yanıtları	29
3.6.b. Fenilefrin, Arjinin-Vazopressin ve Endotelin-1 Kasılma Yanıtları	29
3.7. Gevşeme Yanıtları	29
3.7.a. Sodyum Nitroprussiyat, Asetilkolin ve Bradikinin Gevşeme Yanıtları	29
3.8. Torasik Aorta Şeritlerinin Patolojik Değerlendirilmesi	30
3.9. Deney Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirilmesi	30
3.10. cGMP Düzeylerinin Ölçülmesi	31
BULGULAR	32
4.1. Kasılma yanıtları	32
4.1.a. KCl Kasılma Yanıtları	32
4.1.b. Fenilefrin kasılma Yanıtları	32
4.1.c. Arjinin-Vazopressin Kasılma Yanıtları	32
4.1.d. Endotelin-1 Kasılma Yanıtları	33
4.2. Gevşeme Yanıtları	33
4.2.a. Sodyum Nitroprussiyat Gevşeme Yanıtları	33
4.2.b. Asetilkolin gevşeme Yanıtları	33
4.2.c. Bradikinin Gevşeme Yanıtları	34
4.3. Patolojik Değerlendirme Bulguları	35
4.4. Sıçanlardan Ölçülen Sistolik Kan Basıncı Sonuçlarının Değerlendirme Bulguları	35

4.5. Sıçanların İdrar Örneklerinde Ölçülen Protein Sonuçlarının Değerlendirme Bulguları	36
4.6. Sıçan Torasik Aorta Doku Örneklerinde RIA Yöntemiyle Ölçülen cGMP Düzeylerinin Değerlendirme Bulguları	36
TABLolar	37
ŞEKİLLER	41
RESİMLER	51
TARTIŞMA VE SONUÇ	53
KAYNAKLAR	61

TEŞEKKÜR

Tezimi yapmamda katkıda bulunan, çalışmalarım sırasında büyük yardımlarını gördüğüm, tüm doktora eğitimim sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım tez danışmanım ve kıymetli hocam C. Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Tijen Kaya TEMİZ'e en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım. Ayrıca tezimin her aşamasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve katkıda bulunan Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. İhsan BAĞCIVAN'a teşekkür ederim.

Tezimin çeşitli aşamalarında katkılarını esirgemeyen C.Ü. Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi ve sevgili eşim Yrd. Doç. Dr. Bülent TURGUT'a, C.Ü. Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Şahande ELAGÖZ'e, C.Ü. Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Sefa GÜLTÜRK'e ve C.Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Öğr. Gör. Barış KARADAŞ'a teşekkür ederim.

Tez İzleme Komite'sinde yer alarak bana destek veren hocalarım C.Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Kemal YILDIRIM ve C.Ü. Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Taner ERSELCAN'a teşekkür ederim

Doktora eğitimim sırasında bilimsel katkılarını ve yardımlarını esirgemeyen C.Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Sayın Prof. Dr. Serdar SOYDAN, Sayın Doç. Dr. Şahin YILDIRIM ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Bülent SARAÇ'a teşekkür ederim.

Preeklampsi, hem maternal hem de fetal ölüme yol açabilen ve hamilelerin yaklaşık %5'inde görülebilen önemli bir hastalıktır. Preeklampsinin fizyopatolojisi henüz tam olarak anlaşılamamıştır ve bu nedenle tedavilerin hiçbiri hastalığı önlemede tam olarak etkili olamamaktadır. Bu çalışmada suraminle oluşturulan sıçan preeklampsi modelinde damar düz kas yanıtlarında oluşan değişiklikler ve bu değişiklikler üzerine fosfodiesteraz-5 (PDE-5) inhibisyonunun etkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda literatürde preeklampsinin pek çok klinik özelliğini oluşturmada başarılı olduğu belirtilen suramin ile sıçanlarda preeklampsi modeli oluşturulmuştur. Hamile sıçanlar kontrol (n=10), preeklampsi (suramin) (n=10) ve suramin+sildenafil sitrat grubu (n=10) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Kontrol grubundaki sıçanlara gebeliklerinin 10 ve 11. gününde intraperitoneal (i.p.) 0.3 ml serum fizyolojik, preeklampsi ve suramin+sildenafil sitrat grubundaki sıçanlara gebeliklerinin 10 ve 11.gününde 100 mg/kg i.p. tek doz suramin, suramin+sildenafil sitrat grubundaki sıçanlara suramin uygulamasına ilaveten gebelik sonuna kadar 5 mg/kg sildenafil sitrat i.p. uygulanmıştır. Preeklampsi annede artan kan basıncı ve proteinüri, bebekte ise genellikle bunlara eşlik eden büyüme geriliğiyle karakterize bir hastalık olması nedeniyle çalışmada her 3 gruptaki sıçanların kan basınçları ölçülmüş, idrar örneklerinde protein miktarına bakılmış ve fetus ağırlıkları tartılarak kaydedilmiştir. Kuyruk kaf yöntemiyle ölçülen kan basıncı düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında preeklampsi grubunda daha fazla olmak üzere deney gruplarında anlamlı bir şekilde artmıştır ($p<0.05$). İdrar örneklerinde protein miktarına "dipstick" yöntemiyle bakılmıştır. Preeklampsi grubu ve suramin+sildenafil sitrat grubunda idrar örneklerinde protein saptanmıştır. Ortalama fetus ağırlığı kontrol grubuna göre preeklampsi ve suramin+sildenafil sitrat grubunda anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0.05$). Ortalama fetus ağırlığı preeklampsi ve suramin+sildenafil sitrat grupları arasında karşılaştırıldığında ise preeklampsi grubuna göre suramin+sildenafil sitrat grubunda anlamlı bir artma saptanmıştır ($p<0.05$).

Gebeliğin sonunda (21.gün) her üç gruptaki sıçanlardan elde edilen torasik aorta şeritleri, organ banyosuna kasıcı ve gevşetici maddelerle maruz bırakılmak için asılmış ve elde edilen yanıtlar karşılaştırılmıştır. KCl kasılma yanıtları ile endotelden bağımsız gevşeme yapan sodyum nitroprussiyat gevşeme yanıtları her 3 grupta da benzer olarak bulunmuştur ($p>0.05$). Fenilefrin, arjinin-vazopressin ve endotelin-1 kasılma yanıtları preeklampsi grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı bir şekilde artmıştır ($p<0.05$). Asetilkolin ve bradikinin gevşeme yanıtları ise preeklampsi grubunda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0.05$). Sildenafil uygulaması hem gevşeme hem de kasılma

yanıtlarını preeklampsi grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde düzeltilmiş ($p<0.05$), ancak kontrol değerlere ulaştırmamıştır. Her 3 grupta da asetilkolin ve bradikinin gevşeme yanıtları L-Nitro monometil arjinin (L-NAME), 1H-[1,2,4] Oxadiazole [4,3-a] quinoxalin-1-one (ODQ) ve indometazin varlığında anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0.05$). Her 3 gruptan alınan torasik aorta doku örneklerinde siklik guanozinmonofosfat (cGMP) düzeyleri radyoimmünoassay (RIA) yöntemiyle ölçülmüştür. Preeklampsi grubu cGMP düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0.05$). Sildenafil uygulaması ise cGMP düzeylerini kısmen artırmış ancak kontrol değerlere ulaştıramamıştır. Torasik aorta dokusunun patolojik incelemesinde herhangi bir değişikliğe rastlanmamıştır.

Bu sonuçlara göre preeklampside torasik aorta düz kasında kasılma yanıtlarındaki artış reseptör sayısında veya duyarlılığında oluşan bir artmaya bağlı olabilir ya da preeklampside endotelden salınan gevşetici faktörlerin bazal salınımındaki bir azalmaya bağlı olabilir. KCl kasılma ve sodyum nitroprussiyat gevşeme yanıtlarının değişmemesi ise torasik aorta düz kas kasılma-gevşeme fonksiyonunun normal olduğunu ve nitrik oksit (NO) / cGMP yolağının sağlam olduğunu düşündürür. Preeklampside gevşeme yanıtlarının azalması endotelde bulunan reseptörlerdeki azalmaya veya reseptör aracılı yanıt olarak oluşan endotelial NO sentez veya salınımındaki yetersizliğe bağlı olabilir. Ayrıca, çalışmamızda preeklampside cGMP düzeylerinin azalması gevşetici faktörlerin bazal ya da indüklenmiş sentez veya salınımındaki azalma görüşünü desteklemektedir. Gevşeme yanıtlarının L-NAME, ODQ ve indometazin varlığında azalması gevşeme yanıtlarının NO ve prostasikline bağlı olduğunu göstermekte ve preeklampside bu sistemlerde sentez veya salınım sırasında bir bozukluk olabileceğini desteklemektedir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar preeklampside PDE-5 inhibitörlerinin tedavi edici etkiden çok koruyucu etki yapabileceğini düşündürmektedir. PDE-5 inhibitörlerinin yeterlilik ve güvenilirliğini netleştirmek için daha detaylı çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: preeklampsi, endotelial disfonksiyon, fosfodiesteraz-5 inhibisyonu, sıçan.

Preeclampsia is a serious gestational complication, which affects about 5% of all pregnancies leading to both maternal and fetal morbidity. The pathophysiology of preeclampsia are still unknown thus effective primary prevention is not possible at the stage. In this study, it was aimed to research the smooth muscle responses in the preeclampsia model with suramin treated rats and the effect of phosphodiesterase-5 inhibition on these responses.

In our study, suramin model for preeclampsia which is known to produce many clinical properties of preeclampsia was used. Rats were divided into three as control (n=10), preeclampsia (suramin) (n=10) and suramin+sildenafil citrate groups (n=10). On gestational days 10 and 11, the control rats were given intraperitoneal (i.p.) injections of 0.3 ml saline, the preeclampsia and suramin+sildenafil citrate groups were injected i.p. with 100 mg/kg suramin and the suramin+sildenafil citrate group was also given 5 mg/kg i.p. sildenafil citrate until the end of pregnancy. Preeclampsia is characterized by increased blood pressure and proteinuria in the mother, and is often accompanied by growth retardation in the offspring. Because of this in all three groups systolic blood pressure was measured, protein content of urine samples was detected and fetus weights were enrolled. The systolic blood pressure values measured with the tail cuff method was significantly higher in the experiment groups, compared to the control group ($p < 0.05$). In the urine samples the protein content was detected by dipstick method. Protein was detected in the urine samples collected from the preeclampsia and the suramin+sildenafil citrate groups. The average fetus weights were significantly lower in the preeclampsia and suramin+sildenafil citrate groups ($p < 0.05$). When the average fetus weights were compared between suramin+sildenafil citrate and preeclampsia groups, there was a significant increase in the suramin+sildenafil citrate group ($p < 0.05$).

At the end of pregnancy (21st day), thoracic aorta tissues were removed and thoracic aorta strips were suspended in 10 ml organ chambers and exposed to contractile and relaxant agents. Then, obtained responses were compared between three groups. KCl contraction responses and endothelial independent; sodium nitroprusside (SNP) relaxation responses were similar in three groups ($p > 0.05$). Contraction responses of phenylephrine, arginine-vasopressin and endothelin-1 increased significantly in preeclampsia group when compared to the control group ($p < 0.05$). Relaxation responses of acetylcholine and bradykinin decreased significantly in preeclampsia group when compared to the control group ($p < 0.05$). The use of sildenafil citrate straightens significantly both relaxation and contraction responses ($p < 0.05$), but does not reach to control values. In all three groups in the presence of L-Nitromonomethyl arginine (L-NAME), 1H-[1,2,4] Oxadiazole [4,3-a] quinoxalin-1-one

(ODQ) and indomethacin relaxation responses of acetylcholine and bradykinin decreased significantly ($p < 0.05$). The cyclic guanosine monophosphate (cGMP) content of thoracic aorta tissue, removed from the rats in all three groups was determined by radioimmunoassay (RIA) technique. When compared to the control group, the content of cGMP in preeclampsia group increased significantly ($p < 0.05$). The use of sildenafil citrate increased the cGMP content but does not reach to control values. In pathological examination of thoracic aorta tissue, no change was observed.

According to these results in preeclampsia, the increment of the contraction responses may be due to the increase of the receptor number or sensitivity. It may also be due to the reduction of relaxatile factors which release from endothelium. It suggest that NO/cGMP pathway and function of thoracic aorta smooth muscle contraction-relaxation function are normal, because contraction responses of KCl and relaxation responses of SNP did not change. In preeclampsia decrease of the relaxation responses can depend on reduction of receptors or insufficiency about synthesis or release of endothelial NO responding receptor mediated activation. Again in our study the decrease of cGMP content in preeclampsia supports the reduction of relaxatile factors which release from endothelium. The reduction of relaxation responses in the presence of L-NAME, ODQ and indomethacin show that relaxation responses depend on NO and prostacyclin, and in preeclampsia there may be deficiency in production or release in these systems. The results in this study show that in preeclampsia; PDE-5 inhibitors may be used for protection than for treatment. Further studies are needed to clear the efficiency and safety of PDE-5 inhibitors.

Key Words: preeclampsia, endothelial dysfunction, phosphodiesterase-5 inhibition, rat

NO:	Nitrik oksit
NOS:	Nitrik oksit sentaz
eNOS:	Endoteliyal nitrik oksit sentaz
PDE:	Fosfodiesteraz enzimi
PDE-5:	Fosfodiesteraz-5 enzimi
cGMP:	Siklik guanozin monofosfat
cAMP:	Siklik adenozin monofosfat
ET-1:	Endotelin-1
VCAM-1:	Vasküler hücresel adezyon molekülü-1
CRH:	Kortikotropin salıverici hormon
Beta-HCG:	Beta-Human koryonik gonadotropin
HELLP:	Hemoliz, karaciğer enzimlerinde artma ve trombosit düşme sendromu
ANP:	Arteriyel natriüretik peptid
MgSO ₄ :	Magnezyum sülfat
MBG:	Marinobufagenin
L-NAME:	L-Nitro monometil arjinin
VEGF:	Vasküler endoteliyal büyüme faktörü
PDGF:	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
bFGF:	Temel fibroblast büyüme faktörü
UK-92480:	Sildenafil
PKG:	Protein kinaz G
GS:	Guanilat siklaz
ATP:	Adenozin trifosfat
ADP:	Adenozin difosfat
PGE ₂ :	Prostaglandin E ₂
PGI ₂ :	Prostasiklin
EDHF:	Endotel kökenli hiperpolarize edici faktör
Ach:	Asetilkolin
AVP:	Arjinin-vazopressin
KCl:	Potasyum klorür
SNP:	Sodyum nitroprussiyat
RIA:	Radyoimmünoassay
ODQ:	1H-[1,2,4] Oxadiazole [4,3-a] quinoxalin-1-one

Tablo 1: Kuyruk Kaf Yöntemiyle Ölçülen Sistolik Kan Basıncı (mmHg) ve Ortalama Fetus Ağırlıkları

Tablo 2: İdrar Örneklerinde Protein Düzeyi

Tablo 3: İzole Sıçan Torasik Aorta Şeritlerinde Maksimum Kasılma (E_{maks}) ve pD_2 Değerleri

Tablo 4: İzole Sıçan Torasik Aorta Şeritlerinde Maksimum Gevşeme (E_{maks}) ve pD_2 Değerleri

Tablo 5: İzole Sıçan Torasik Aorta Şeritlerinde cGMP Değerleri

Şekil 1: Nitrik Oksit ve Sentezi.

Şekil 2: İzole sıçan torasik aorta şeritlerinde 80 mM KCL kasılma yanıtları

Şekil 3: İzole sıçan torasik aorta şeritlerinde Fenilefrin konsantrasyon yanıt eğrileri

Şekil 4: İzole sıçan torasik aorta şeritlerinde Arjinin-Vazopressin konsantrasyon yanıt eğrileri

Şekil 5: İzole sıçan torasik aorta şeritlerinde Endotelin-1 konsantrasyon yanıt eğrileri

Şekil 6: 10^{-5} M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Sodyum Nitroprussiyat konsantrasyon yanıt eğrileri

Şekil 7: 10^{-5} M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Asetilkolin konsantrasyon yanıt eğrileri

Şekil 8: Kontrol grubunda 10^{-5} M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Asetilkolin (Ach), L-NAME + Ach, ODQ+Ach, İndometazin+Ach konsantrasyon yanıt eğrileri

Şekil 9: Preeklampsi grubunda 10^{-5} M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Asetilkolin (Ach), L-NAME + Ach, ODQ+Ach, İndometazin+Ach konsantrasyon yanıt eğrileri

Şekil 10: Suramin+sildenafil sitrat grubunda 10^{-5} M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Asetilkolin (Ach), L-NAME + Ach, ODQ+Ach, İndometazin+Ach konsantrasyon yanıt eğrileri

Şekil 11: 10^{-5} M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Bradikinin konsantrasyon yanıt eğrileri

Şekil 12: Kontrol grubunda 10^{-5} M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Bradikinin, L-NAME + Bradikinin, ODQ+Bradikinin, İndometazin+Bradikinin konsantrasyon yanıt eğrileri

Şekil 13: Preeklampsi grubunda 10^{-5} M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Bradikinin, L-NAME + Bradikinin, ODQ+Bradikinin, İndometazin+Bradikinin konsantrasyon yanıt eğrileri

Şekil 14: Suramin+sildenafil sitrat grubunda 10^{-5} M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Bradikinin, L-NAME + Bradikinin, ODQ+Bradikinin, İndometazin+Bradikinin konsantrasyon yanıt eğrileri

Şekil 15: Kontrol grubunda izole edilen sıçan torasik aorta şeritlerinde Fenilefrin (10^{-5} M), Fenilefrin+Bradikinin ve Fenilefrin+Bradikinin+L-NAME varlığında cGMP düzeyleri

Şekil 16: Preeklampsi grubunda izole edilen sıçan torasik aorta şeritlerinde Fenilefrin (10^{-5} M), Fenilefrin+Bradikinin ve Fenilefrin+Bradikinin+L-NAME varlığında cGMP düzeyleri

Şekil 17: Suramin+sildenafil sitrat grubunda izole edilen sıçan torasik aorta şeritlerinde Fenilefrin (10^{-5} M), Fenilefrin+Bradikinin ve Fenilefrin+Bradikinin+L-NAME varlığında cGMP düzeyleri

Şekil 18: Kontrol grubunda izole edilen sıçan torasik aorta şeritlerinde Fenilefrin (10^{-5} M), Fenilefrin+Asetilkolin ve Fenilefrin+Asetilkolin+L-NAME varlığında cGMP düzeyleri

Şekil 19: Preeklampsi grubunda izole edilen sıçan torasik aorta şeritlerinde Fenilefrin (10^{-5} M), Fenilefrin+Asetilkolin ve Fenilefrin+Asetilkolin+L-NAME varlığında cGMP düzeyleri

Şekil 20: Suramin+sildenafil sitrat grubunda izole edilen sıçan torasik aorta şeritlerinde Fenilefrin (10^{-5} M), Fenilefrin+Asetilkolin ve Fenilefrin+Asetilkolin+L-NAME varlığında cGMP düzeyleri

Resim 1: Kontrol grubuna ait sıçan torasik aortasında Faktör VIII antikoru ile pozitif stoplazmik boyanma gösteren tek sıralı yassılaşımiş endotel hücreleri ile döşeli damar duvarı (İHK; X40)

Resim 2: Preeklampsi grubuna ait sıçan torasik aortasında Faktör VIII antikoru ile pozitif stoplazmik boyanma gösteren tek sıralı yassılaşımiş endotel hücreleri ile döşeli damar duvarı (İHK; X40)

Resim 3: Suramin+sildenafil sitrat grubuna ait sıçan torasik aortasında Faktör VIII antikoru ile pozitif stoplazmik boyanma gösteren tek sıralı yassılaşımiş endotel hücreleri ile döşeli damar duvarı (İHK; X40)

BÖLÜM 1

GİRİŞ VE AMAÇ

Her yıl gebeliğe bağlı hastalıklar nedeniyle birçok kadın yaşamını kaybetmektedir. Hipertansif hastalıklar gebeliğin en sık karşılaşılan medikal komplikasyonudur. Bu hastalıklardan biri olan preeklampsi, hem maternal hem de fetal ölüme yol açabilen ve hamilelerin yaklaşık %5'inde görülebilen önemli bir hastalıktır. Preeklampsi, annede artan kan basıncı ve proteinüri, bebekte ise genellikle bunlara eşlik eden büyüme geriliğiyle karakterizedir [1]. Gebeliğin 2.yarisında veya erken postpartum dönemde görülen preeklampsinin fizyopatolojisi henüz tam olarak anlaşılammıştır. Ancak endotelial disfonksiyonun preeklampsi patojenezinde en önemli mekanizmalardan biri olduğu düşünülmektedir. Arteriyollerin yetersiz adaptasyonu, uteroplasental kan akımının azalmasına ve bu durum da lokal hipoksiye yol açmaktadır [2].

Gebeliğe bağlı hipertansif hastalıklarda, endotel hücreleri tarafından sentez edilip salgılanan önemli bir vazodilatör olan nitrik oksit (NO) yokluğu veya azalmış konsantrasyonunun rol oynadığı düşünülmektedir. NO'nun eksikliği bazı gebe hayvanlarda preeklampsiye benzer bir klinik tablonun gelişmesine neden olmaktadır. NO yıkım ürünlerinin preeklampitik kadınlarda arttığı ve bunun uteroplasental üitedeki azalmış kan akımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [3].

Preeklampitik kadınların kasıcı ilaçların etkilerine normal gebe kadınlardan daha hassas oldukları bilinmekte olup, bu durum prostasiklin (PGI₂) gibi endojen gevşeticilerin rölatif eksikliğine bağlanmaktadır [4]. Preeklampsinin gelişmesini önlemek ve insidansını azaltmak için birçok klinik çalışma yapılmıştır. Ancak hastalığın etiyolojisinin multifaktöriyel olması ve tam olarak bilinmemesi nedeniyle yapılan tedavilerin hiçbiri hastalığı önlemede tam olarak etkili olamamıştır [5].

Miyometriyal dolaşım normal plasental fonksiyonun sürdürülmesi için gereklidir. Vasküler endotelial hücreler uyarıldıkları zaman kalsiyum aracılığıyla NO salınımına neden olurlar. NO, düz kas hücrelerinde siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşumunu stimüle ederek gevşemeyi sağlar. cGMP etkisinin uzunluğu sitozolik enzim fosfodiesteraz (PDE) kullanılarak kontrol edilir [6]. Vasküler düz kasta dominant olan PDE izoformu cGMP spesifik PDE-5'tir. PDE-5 inhibisyonu farklı vasküler yataklarda gevşemeyi artırabilir, total periferik vasküler direnç ve kan basıncında azalmaya yol açabilir [7]. Bu nedenle PDE inhibisyonunun preeklampside yeterlilik ve güvenilirliğinin araştırılması önemlidir [8].

Bugüne kadar yapılan çalışmalar incelendiğinde hayvan preeklampsi modelinde PDE-5 inhibisyonunun koruyucu ve tedavi edici etkisini in vitro düzeyde araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmanın amacı; sıçanlarda suraminle oluşturulan preeklampsi modelinde kasılma ve endotel-aracılı gevşeme yanıtları oluşturan farklı ilaçlar kullanarak preeklampsi modellemesinin damar düz kas yanıtları üzerine etkisini, PDE-5 inhibisyonunun bu modelde koruyucu ve tedavi edici etkisinin olup olmadığı ve cGMP düzeyleri ölçmek suretiyle reseptör sonrası olaylarda bir değişiklik olup olmadığını araştırmaktır.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

GEBELİK VE HİPERTANSİYON

Hipertansif hastalıklar gebeliğin en sık karşılaşılan medikal komplikasyonudur. 2000 yılında Ulusal Yüksek Kan Basıncı Eğitim Programı Çalışma Grubu (National High Blood Pressure Education Programme Working Group) tarafından kabul edilen sınıflamaya göre gebelikteki hipertansif hastalıklar 5 grup altında toplanmıştır.

- 1- Gestasyonel hipertansiyon (geçici hipertansiyon veya gebeliğin indüklediği hipertansiyon),
- 2- Kronik hipertansiyon,
- 3- Kronik hipertansiyon zemininde süperempoze preeklampsi,
- 4- Preeklampsi,
- 5- Eklampsi [9]

1- Gestasyonel Hipertansiyon:

Kan Basıncının 140/90 mmHg ve üzerinde olup, proteinürinin gözlenmediği, gebeliğin 20. haftasından sonra veya postpartum ilk 24 saatte ortaya çıkan kan basıncı yükselmesidir. Gestasyonel hipertansiyon, gebeliğin geçici hipertansiyonu olup, postpartum 12.haftaya kadar kan basıncı normal düzeye dönmektedir.

Preeklampsiye baş ağrısı, trombositopeni, epigastrik hassasiyet gibi bulgular eşlik edebilir. Gestasyonel hipertansiyonun tanısı sadece postpartum dönemde konulabilmektedir [4].

2- Kronik Hipertansiyon:

Gebeliğin 20.haftasından önce varolan, postpartum 6.haftadan sonra devam eden hipertansiyondur [4].

3- Kronik Hipertansiyon Zemininde Süperempoze Preeklampsi:

Kronik hipertansiyon tanısı konmuş bir gebede 20.gebelik haftasından sonra kan basıncının yükselmesi ve buna proteinürinin eklenmesidir [10].

4- Preeklampsi:

Preeklampsi, organ perfüzyonunda azalma ile seyreden bir sendromdur. Preeklampsi sadece gebeliğe özgü bir bozukluktur ve gebeliğin sonlanmasıyla ortadan kalkmaktadır. Plasenta da dahil olmak üzere birçok organda bozulmuş perfüzyonla seyreder. Maternal ve fetal morbidite ve mortalitenin önde gelen sebeplerinden biridir [11].

Preeklampsi sendromu; kan basıncı yüksekliği ve proteinüri içeren bir sendrom olarak tanımlanmaktadır. Gebeliğin başlangıcında kan basıncı normal olan bir hastada 20.gebelik haftasından sonra sistolik kan basıncının 140 mmHg ve üzeri ve/veya diastolik kan basıncının 90 mmHg ve üzerinde ölçülmesi hipertansiyon açısından tanı koydurucudur. Proteinüri ise, idrarda 24 saatte 300 mg ya da daha fazla proteinin olması veya spot idrar örneğinde 30 mg/dl (dipstick yöntemine göre 1+) proteinin bulunması durumudur [12,13].

Ödem, serum kolloid onkotik basıncının düşmesi ve kapiller permeabilitenin artması ile oluşur. Yaygındır ve özellikle el sırtında ve yüzde belirgindir. Ancak günümüzde birçok normal gebe kadında görüldüğü için tanısal kriter olmaktan çıkmıştır [4].

Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Koleji tarafından (American College of Obstetrics and Gynecology, ACOG) Ocak 2002’de yayınlanan bültende ağır preeklampsi tanısı için aşağıdaki kriterlerden bir veya daha fazlasının varlığı kabul edilmektedir;

- Hasta yatakta istirahat halindeyken, en az 6 saat aralıklarla 2 kez ölçülen kan basıncının 160/110 mmHg ve daha yüksek olması,
- 24 saatlik idrar örneğinde 5 gr veya daha fazla veya en az 4 saat aralıkla rastgele toplanmış ve dipstick yöntemiyle bakılan 2 idrar örneğinde 3+ veya daha fazla proteinüri,
- 24 saatte 500 ml’den az idrar miktarı (oligoüri),
- Serebral ya da görsel hastalıklar,
- Pulmoner ödem veya siyanoz,
- Epigastrik ya da sağ üst kadran ağrısı,
- Karaciğer fonksiyonlarının bozulması (AST düzeyinin 72 IU/L’nin üzerinde olması),
- Trombositopeni (100.000/mm³’ün altında)
- Fetusta gelişme geriliği [12].

5- Eklampsi:

Preeklamptik kadında başka bir nedene bağlanamayan grandmal konvülsiyonların varlığı eklampsi olarak tanımlanır [12]. Eklampside konvülsiyonlar tonik-klonik tiptedir ve

doğumdan önce, doğum sırasında ve doğumdan sonra görülebilir. Konvülsiyonlar en çok doğumdan 48 saat sonra ve nulliplarlarda görülmesine rağmen postpartum 10.güne kadar görülebilir [4].

PREEKLAMPSİ RİSK FAKTÖRLERİ

Gebelerde hipertansiyon insidansı tüm dünyada farklı toplumlarda farklı oranlarda görülmektedir. Genel insidans %6-20'dir. Ağır preeklampsiye %1'den az, eklampsiye ise %0.1 oranında rastlanmaktadır [14].

İnsidansta her ne kadar coğrafi ve ırksal farklılıklar bildirilse de, farklı popülasyonlardaki preeklampsinin gelişiminde pek çok risk faktörü tanımlanmıştır. Aşağıdaki durumlarda preeklampsi insidansı artmaktadır;

1. Önceki gebeliklerde preeklampsi,
2. Ailesinde preeklampsi-eklampsi öyküsü,
3. Nulliparite,
4. Siyah ırk,
5. Çoğul gebelik,
6. Obezite,
7. Molar gebelik,
8. Diabetes Mellitus,
9. Kronik hipertansiyon,
10. Renal hastalık,
11. Genç yaş,
12. Düşük sosyo-ekonomik yapı,
13. Bağ dokusu hastalıkları,
14. Kalıtım [15].

PREEKLAMPSİ FİZYOPATOLOJİSİ

Preeklampsinin tanımlanmasından bugüne kadar 100 yıldan uzun bir süre geçmesine rağmen fizyopatolojisi ve etiyolojisi konusunda bilgiler oldukça sınırlıdır.

Başarılı bir gebelik için gerekli plasental fonksiyon, yeterli trofoblastik invazyona bağlıdır. Preeklampside en çok üzerinde durulan noktalardan birisi yetersiz trofoblastik invazyondur [16]. Gebelikte, fetus ve plasentanın oksijen ve besin gereksiniminin

karşılanması için uterin kan akımı 10 kat artar. Bunun oluşabilmesi için spiral arterlerin fizyolojik değişimi gereklidir. Morfolojik olarak endotelyum trofoblastlarla, internal elastik lamina ve mediadaki düz kaslar trofoblast ve fibrin içeren amorf madde ile yer değiştirmektedir. Bu değişiklik başlangıçta spiral arterlerin desidual kısmında olmaktadır. Fakat gebelik ilerledikçe spiral arterlerin miyometrial kısımlarına yayılır, hatta radial arterlerin distal kısmını da içerebilir. Bu morfolojik değişikliklerin direkt veya humoral yolla trofoblastlara karşı gelişen vasküler reaksiyon olduğu düşünülmektedir. Bunun sonucunda spiral arterlerin çapı 15-20 mikron'dan 300-500 mikrona çıkmakta, intervillöz mesafede akım direnci azaltılarak yüksek akımlı hale gelmekte, vazokonstriktif yetenekleri azalmakta ve fetomaternal alışveriş artırılmaktadır.

Preeklampitik hastalarda plasental bölgedeki damarlarda bu normal fizyolojik değişiklikler olmaz veya spiral arterlerin desidual kısmı ile sınırlı kalır. Bu yüzden gebeliğin ilerleyen dönemlerinde fetoplasental kan akımında artış olmaz ve preeklampitik gebelerde görülen fetal gelişme geriliği oluşur [17].

Hipertansiyona ek olarak hemokonsantrasyon önemli bir vasküler değişikliktir. Çünkü preeklampsi ve eklampsi sendromu olan kadınlar gebeliğin normal hipervolemisini geliştiremeyebilirler. Normal gebelerde toplam kan hacmi 2.trimesterin sonunda %50 oranında artmıştır. Bu artışın nedeni artmış eritrositlerden çok, artmış plazma hacmi nedeniyledir. Bu da fizyolojik anemiye sebep olur. Preeklamptiklerde kan hacmindeki toplam artış ancak %16 seviyesinde kalmaktadır. Bunun nedeni olduğu hemokonsantrasyon perfüzyonu bozmaktadır [18].

Preeklampsi generalize endotelyal disfonksiyonla karakterizedir. Bugüne kadar elde edilen bilgiler endotelyal disfonksiyonun hem vasküler cevabı hem de intravasküler koagülasyonu değiştirerek preeklampsinin patogenezinde önemli rol oynadığını düşündürmektedir [19].

Endotelyal hücreler; vazodilatör maddelerin sekresyonu, vasküler kompartmanın bütünlüğünün sağlanması ve intravasküler koagülasyonun önlenmesi gibi çeşitli önemli fonksiyonlara sahiptir [20].

Endotelyal hücreler prostasiklinin, trombositler ise tromboksanın primer kaynağıdır. Normal gebelerde hem prostasiklin, hem de tromboksan A2'de artış gözlenir. Ancak denge prostasiklin lehinedir. Preeklampitik hastalarda ise tromboksan A2/prostasiklin oranı artar. Bunun nedeni olarak preeklampitik hastalarda hasar görmüş endotel hücrelerinden prostasiklin üretiminin azalması sonucu platelet aktivasyonunun artması ve tromboksan A2'nin salınmasına neden olması gösterilmektedir [21].

Nitrik oksit (NO), endotel hücreleri tarafından salgılanan bir diğer vazodilatör maddedir. Gebeliğe bağlı hipertansif hastalıklarda, NO'nun yokluğu veya azalmış konsantrasyonunun rol oynadığı düşünülmektedir. NO'nun azalması veya bulunmaması bazı gebe hayvanlarda preeklampsiye benzer bir klinik tablonun gelişmesine neden olmaktadır. NO yıkım ürünlerinin preeklampitik kadınlarda arttığı ve bunun uteroplasental üitedeki azalmış kan akımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [3].

Preeklampitik kadınların bütün vazokonstriktörlerin etkilerine normal gebe kadınlardan daha hassas oldukları bilinmekte olup, bu durum prostasiklin gibi endojen vazodilatörlerin rölatif eksikliğine bağlanmaktadır. Bozulmuş endotel tabakası anjiotensin-II, tromboksan-A2, endotelinler gibi vazokonstriktör ajanlara daha duyarlı hale gelirken, prostasiklin, NO gibi vazodilatör ajanlara duyarsızlaşmaktadır [4].

Endotel hücre hasarı aynı zamanda yaygın protein sızıntısına yol açan hücre membran bütünlüğünün kaybına da yol açar. Bu durum proteinüri ile periferik ve pulmoner ödem gelişmesine neden olur [20].

Birden çok doymamış yağ içeren bazı yağ asitleri oksijenli ortamda lipid peroksidasyonla parçalanmaktadır. Bu reaksiyonun sonunda doku hasarına yol açan serbest radikaller oluşmaktadır. Vücutta bulunan antioksidan maddeler ise, serbest radikallerin oluşumunu azaltarak bu sistemi kontrol altında tutmaktadır. Preeklampitik hastalarda süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit gibi serbest radikaller yükselirken antioksidan sistemin en önemli komponentlerinden olan askorbik asit ve E-vitamini düzeyinde azalma olmaktadır [22]. Endotel hasarına neden olan serbest radikaller NO'nun endotel hücreler tarafından üretimini azaltır ve prostaglandin dengesini bozar. Bu durum gebeliğe bağlı hipertansif bozuklukların önlenmesinde antioksidan tedavinin potansiyel yararlarına yönelik ilgiyi artırmıştır [4].

Endotel üzerindeki ilk olumsuz etkilere yanıt olarak birtakım maddeler salgılanır. Bunlar arasında en önemlisi sitokinlerdir. Sitokinlerin görevleri endotel üzerindeki olumsuz etkileri ortadan kaldıran lökositlerin olay yerine gelmesini ve aktivasyonunu sağlamaktır. Lökositlerin temel görevleri ise zararlı etkenleri fagosite etmek veya salgıladığı bazı maddelerle parçalamaktır. Buna karşın, asıl görevleri damar endotelini ve dokuları zararlı etkilerden korumak olan lökositler, özellikle salgıladıkları toksik maddelerle endotel hasarını artırmakta ve kısır bir döngüye neden olmaktadır. Preeklampside lökosit aktivasyonunun artışının ve disfonksiyonunun preeklampsi fizyopatolojisine ve endotel hasarının artmasına neden olduğu belirlenmiştir [23].

Normal gebelerde anjiotensin-II'ye bir direnç oluşurken, preeklampside tersine artmış bir hassasiyet mevcuttur. Bu artmış hassasiyet 17.haftadan başlayarak ortaya çıkabilmektedir. Böylelikle preeklampsi gelişme riski olanlarda hastalık klinik olarak aşikar hale gelmeden, 8-12 hafta önce bilinebileceği belirtilmektedir. Anjiotensin-II, vasküler tonüs ve kan basıncı, vasküler endotel tarafından üretilen prostoglandinler aracılığıyla kontrol edilebilir. Aspirin ve indometazin gibi prostoglandin inhibitörleri kullanıldığında anjiotensin-II'ye vasküler yanıtın azaldığı gösterilmiştir [24].

Maternal plazmada endotelden salgılanan çok güçlü vazokonstriktör bir madde olan endotein-1 (ET-1) seviyesi preeklampside yüksek bulunmaktadır. Venöz plazma ET-1 seviyesindeki yükseklik hastada klinik preeklampsi tablosu oluşumuna neden olmamakta, sadece endotel hücre hasarının bir göstergesi olmaktadır [25].

Endotel hücre fonksiyonunda yaygın değişiklikler sonucu klinik preeklampsi sendromu ortaya çıkar. İntakt endotelin antikoagülan özelliği vardır. Diğer yandan hasarlı bir endotel koagülasyonu destekleyici yönde endotel hücrelerini aktive eder ve vazopressör ajanlara karşı duyarlılığı artırır [4]. Hasarlı endotel hücrelerden salınan sellüler fibronektin, büyüme faktörleri, vasküler hücresel adezyon molekülleri (VCAM-1), faktör-8 antijen ve pek çok peptid klinik prezentasyondan önce preeklampside hastalarda artmıştır. Vasküler hasar sonucu endotel hücreleri koagülasyonu başlatabilir. Trombosit adezyonu, hasardan sonra kollajen ve mikrofibril gibi subendotelial komponentlerin açığa çıkmasıyla meydana gelebilir. Trombositlerin aktive olmasıyla koagülasyon meydana gelir. Tromboksan-A2 salınımıyla vasküler tonüs artar. Düşük molekül ağırlıklı heparin kullanımının trombofilili gebelerde preeklampsiyi ve kötü sonuçlarını azalttığı gösterilmiştir [26].

Preeklampside kadınlarda immünolojik fonksiyonlarda da değişiklik olduğu gösterilmiştir. Genellikle ilk gebeliklerde preeklampsinin gözlenmesi abortusla sonuçlansa bile, önceki gebeliklerin preeklampsiye karşı koruyucu olması, fetal antijenlerle maternal karşılaşmanın yararlı etkisi olduğunu göstermiştir. Önceki gebeliklerin koruyucu etkisinin farklı eşle oluşan gebeliklerde kaybolabileceği bazı çalışmalarda gösterilmiştir [27]. Gebeliğe bağlı hipertansif bozukluklar açısından risk, plasentadaki antijenik bölgeleri bloke eden antikörlerin oluşumunda bir bozukluk söz konusu olursa fark edilecek düzeyde artar. Bu durum, ilk gebelikte olduğu gibi bir önceki gebeliğin elektif bir immünizasyon gerçekleştirilmediğinde yetersiz kaldığı durumda ortaya çıkabilir veya çoğul gebeliklerde olduğu gibi plasenta tarafından sunulan antijenik alanların antikör miktarı ile karşılaştırıldığında bazen oldukça fazla olduğu koşulda kendini gösterebilir [28].

Genetik predispozisyon preeklampsi patogeneğinde önemli yer tutmaktadır. Preeklampsi ve eklampsinin kalıtsal olabileceği yönünde çalışmalar vardır. Anne ve kızkardeşte preeklampsi varlığında preeklampsi görülme riski artar. Chesley ve arkadaşları [29] hastalığın genetik temelini öne sürmüşler ve resesif bir genden bahsetmişlerdir. Bununla birlikte multifaktöriyel kalıtımın da göz ardı edilmemesi gerektiği bildirilmektedir [30].

Gebelikte hipertansiyon, glukoz ve lipid düzeyleri arasında ilişki olabileceği belirtilmektedir. Gestasyonel diabetli gebelerde daha belirgin olmak üzere hipertansiyon riskinin artmış olduğu bazı çalışmalarda rapor edilmiştir [31,32]. Ayrıca özellikle preeklampside olmak üzere gebelik döneminde oluşan hipertansiyonda yüksek insülin düzeyleri de rapor edilmiştir [33]. Benzer şekilde artmış trigliserid ve total kolesterol gibi lipid anormallikleri de hipertansif gebelerde rapor edilmiştir [34]. Trigliserid ve serbest yağ asitleri preeklampside normal gebelere göre iki kat daha fazla artar. Trigliserid ve yağ asitleri, hastalık klinik olarak belirgin olmadan haftalar veya aylar önce artmaktadır [34].

Gebelik boyunca trofoblastik hücreler tarafından sentezlenen kortikotropin releasing hormon (CRH) düzeyi artmaktadır. CRH konsantrasyonu, preeklamptik hastalarda normal hastalara göre daha yüksek bulunmuş, bu durum CRH bağlayan proteindeki düşmeye bağlanmıştır [35].

Normalde beta-human koryonik gonadotropin (Beta-HCG)'in maternal plazma konsantrasyonu ilk trimesterde pik yapar, sonra düşer. Preeklamptik hastalarda ve düşük doğum ağırlıklı bebeğe sahip gebelerde 17.haftadaki beta-HCG konsantrasyonunun iki kat daha fazla olduğu gösterilmiştir [36]. Şiddetli preeklampside plasentanın sekretuar cevabı olarak beta-HCG, alfa-HCG ve total HCG düzeyinin arttığı izlenmiştir. Plasental peptidlerin değerlendirilmesi preeklampsinin belirlenmesi ve hastalığın şiddetini de yansıması açısından önemlidir [37].

Preeklamptik hastalarda, hemoliz sonucu hemoglobin ve demir serbest kalmaktadır. Hemoglobin, demirin önemli bir kaynağı olarak belirgin olarak yükselir ve endotelial hücreler tarafından alınarak oksidatif stres yaratır. Homosistein de süperoksit oluşumuna neden olur [38].

MORFOLOJİK VE FONKSİYONEL ORGAN DEĞİŞİKLİKLERİ

KARDİYOVASKÜLER DEĞİŞİKLİKLER

Preeklampsi, hipovolemi, hipertansiyon ve artmış sistemik vasküler rezistans ile karakterizedir. Artmış vasküler rezistans, damar geçirgenliği ve azalmış kardiyak debi damar içindeki sıvı miktarının azalmasına yol açar. Hipovolemi ve onkotik basınçtaki azalma, kapiller sıvının damar dışına geçişini artırarak damar içi boşluğun daha da daralmasına neden olur, doğumdan birkaç saat sonra vazospazmın çözülmesiyle volüm artar [39].

HEMATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER

Preeklampsi kadınlarda özellikle preeklampsi ağır olduğu zaman çeşitli hematolojik değişiklikler olabilir. Görülen patolojiler şunlardır; trombositopeni, bazı pıhtılaşma faktörlerinin miktarında azalma, hemoliz.

Preeklampsi-eklampsi olgularında maternal trombositopeni görülmektedir. Doğumdan birkaç gün sonra normal seviyeye çıkar. Trombositopeninin her hastada derecesi farklıdır. Etiyolojisinde trombosit bağlayan antikorlar sorumlu tutulmaktadır [40].

Koagülasyon sistemindeki değişiklikler preeklampside klinik olarak belirgin değildir. Von Willebrand Faktörünün aktivitesinin Faktör-8 aktivitesine oranı artmıştır. Antitrombin-3 seviyesi ise azalmıştır [41].

Hemolizin oluş mekanizması, vazospazma bağlı endotelial yüzeyin bozulması, trombositlerin bu yüzeylere yapışması, fibrin birikimi ve sonuçta mikroanjyopatik hemolizin gerçekleşmesi şeklinde açıklanır [41].

BÖBREKLER

Normal gebelikte renal kan akımı ve glomerüler filtrasyon hızı artar. Fakat preeklampsi hastalarda normal gebelere kıyasla renal perfüzyon %20, glomerüler filtrasyon hızı %32 oranında azalır. Çok ağır olgular dışında bu azalma, plazma hacminin düşüklüğüne bağlıdır. Ağır preeklampsi gebelerde ciddi vazospazm, oligoüriye ve serum kreatinin düzeyinin 2-3 katına çıkmasına neden olabilir [12].

Preeklampsi hastalardan alınan renal biyopsilerde hastalığa ait değişiklikler izlenebilir. Bu hastaların glomerüler kapiller endotelinde şişme ve bununla birlikte endotel hücrelerinin altında ve aralarında fibrinojen derivelerinin depozitleri görülür. Bu yapıya Spargo tarafından “glomerüler kapiller endoteiozis” adı verilmiştir. Glomerüler değişiklikler ancak doğumdan haftalar sonra normale dönebilmektedir [12].

KARACİĞER

HELLP (Hemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count) sendromu, hemoliz, karaciğer enzimlerinde artma ve trombosit sayısında düşme ile karakterizedir. HELLP sendromunun eşlik ettiği preeklampsili gebelerde fonksiyon testlerinde artış izlenir. Serumda karaciğer enzimlerinin yükselmesinin muhtemel sebebi, karaciğer lobüllerinin periferinde görülen periportal hemorajik nekrozlar şeklindeki lezyonlardır. Bu lezyonlardan ve kapsülden olan kanamalar subkapsüler hematomlara neden olabilmektedir. Karaciğer kapsülü altından olan kanama o kadar ciddi boyutta olabilir ki, kapsül rüptürüne neden olup hayatı tehdit edici intraperitoneal kanamaya sebep olabilir [42].

BEYİN

Preeklampside beyine giden kan akımında ve serebral oksijen metabolizmasında herhangi bir değişiklik olmamasına rağmen normal gebelere oranla serebral vasküler dirençte belirgin bir artış olmaktadır. Eklampsi nedeniyle ölen hastaların 1/3'ünde peteşiden-geniş hematomlara kadar uzanan serebral kanamalar görülmüştür [43]. Baş ağrısı, bulanık görme, skotom ve birkaç saatten bir haftaya kadar sürebilecek geçici körlük görülebilir [44].

PREEKLAMPSİNİN KOMPLİKASYONLARI

1. FETAL KOMPLİKASYONLAR:

Preeklampitik annelerin bebeklerinde morbidite ve mortalite daha yüksektir. Plasental yetmezliğe bağlı olarak intrauterin gelişme geriliği, prematüre doğum, plasentanın erken ayrılması ve oligohidramniyoz gelişebilir. Plasenta dekolmanına bağlı perinatal ölüm ve fetal asfiksi görülebilir [45].

2. MATERNAL KOMPLİKASYONLAR:

Preeklampside anne için sözkonusu olan riskler; serebral kanama, kortikal körlük, retina dekolmanı, pulmoner ödem, hepatik rüptür, dissemine intravasküler koagülasyon, akut renal kortikal-tübüler nekroz ve dekolmandır. Bu komplikasyonların sıklığı hastalığın ciddiyetine, başladığı gestasyonel haftaya ve eşlik eden diğer medikal sorunlara bağlıdır. Özellikle eklampsi ve HELLP sendromu varlığı ciddi sorunlar yaratır [45].

PREEKLAMPSİNİN ÖNCE DEN BELİRLENMESİ

Bir hastalığın önlenmesi; o hastalığın etiyojisinin ve fizyopatolojisinin çok iyi bilinmesi, bu hastalık için yüksek risk grubunda olan hastaların önceden belirlenmesi ve tanınması için gerekli yöntemlerin etkinliği ile sağlanabilir. Preeklampsinin patolojik ve fizyopatolojik özelliklerine dayandırılarak çeşitli biyokimyasal ve biyofizik testler önerilmiştir. Ancak yazık ki bu testlerin çoğu düşük sensitivite ve düşük pozitif belirleyicilik değerlerine (positive predictive value) sahip olduklarından rutin kullanım için uygun değildirler [46].

Preeklampsisi plasenta, böbrek, beyin, karaciğer, damar, koagülasyon sistemi gibi pek çok organ sistemini etkilemektedir. Her bir organa ait spesifik belirteçlerin ölçümüyle preeklampsisi ortaya çıkmadan önce organ sistemlerinin etkilendiği gösterilebilir.

1. Roll-over Testi: Gant ve arkadaşları tarafından tarif edilmiştir [47]. 28-32.haftalar arasındaki bir gebenin lateral pozisyonundan supin pozisyona getirildikten 5 dakika sonra ölçülen diastolik kan basıncında ≥ 20 mmHg'den fazla artmış olması pozitif olarak değerlendirilir. Fakat sensitivite ve spesifisitenin yetersiz olması nedeniyle klinikte pek kullanılmamaktadır [48].
2. Anjiotensin İnfüzyon Testi: 26-30.gestasyonel haftalarda potent bir vazopressör olan anjiotensin-II'nin infüzyonu ve sonrasında diastolik kan basıncı ölçümünü gerektirir. Testin pozitif ya da negatif olması diastolik kan basıncında 20 mmHg'lik artış sağlayacak anjiotensin-II miktarına bağlıdır. 8 ng/kg/dak.'dan az infüzyona gerek duyan kadınlar preeklampsisi için risk altındadır. Uygulama zorluğu ve yanlış negatiflik oranının yüksek olması nedeniyle klinikte kullanımı kısıtlıdır [49].
3. İdrar Kalsiyum Ölçümü: Preeklampsisi ile hipokalsiüri birlikteliği birçok çalışmada gösterilmiştir [50]. Ayrıca kalsiyumun diyetle alınmadaki yetersizlik preeklampsisi patogeneğinde suçlanmıştır. Ancak günümüzde daha geniş randomize kontrollü araştırmalara ihtiyaç vardır.
4. Oksidatif Stres Belirteçlerinin Aktivitesi ve Düzeyi: Preeklampsisi oksidatif stres belirteçlerinin aktivitesi ve düzeyinin normal gebelere göre arttığı bir durumdur. Oksidatif stres belirteçleri arasında malonil dialdehit, demir, trigliseridler, serbest yağ asitleri ve lipoproteinler vardır [51].
5. Serum Ürik Asit Tayini: Preeklampside hem renal perfüzyon, hem de glomerüler filtrasyon hızı düşmekte, plazma ürik asit ve üriner sodyum yükselirken, üriner kalsiyum tübüler reabsorbsiyondan dolayı azalmaktadır [52]. Yapılan bir çalışmada preeklampsisi taramasında 24 saatlik idrarda protein miktarının ≥ 375 mg/dl olması ile

sensitivite %73 ve spesifisite %67 olarak bulunmuştur. Özellikle 375 mg/dl üzerindeki değerlerin tarama testi olarak kullanılabilmesi gösterilmiştir [53].

6. Üriner Kallikrein Atılımı: Kallikrein, vazospazma yol açan ve kan basıncını düzenleyen bir peptiddir. Aktif üriner kallikrein; hipertansif gebelerde normotansiflere göre daha düşük bulunmuştur. Testin prediktif değerini yüksek bulan çalışmalar yanında bulguları desteklemeyen çalışmalar da vardır [54].
7. Fibronektin Düzeyi: Fibronektin, endotelin bazal tabakasında bulunan ve endotel hasarı ile miktarı artan bir maddedir. Preeklampside endotel hasarına bağlı olarak yükseldiği düşünülmektedir. Xiong ve arkadaşları [55] plazma fibronektin düzeyinin preeklampside özellikle fetal büyüme geriliği gelişmişse anlamlı olarak yükseldiğini göstermiştir. Ayrıca fibronektinin gebelik kan basıncıyla ilgili olduğu, preeklampside gelişen kadınlarda 16.gebelik haftasında bile yüksek olduğu gösterilmiştir [56].
8. Plazma Antitrombin-III düzeyi: Antitrombin-III serin proteaz inhibitör ailenin bir üyesi olup, karaciğerde sentezlenir. Trombine bağlanarak trombinin fibrinojen üzerine etki etmesini engeller. Ayrıca faktör-10 ve 12'yi inhibe ederek antikoagulan etki oluşturur. Yapılan çalışmalarda preeklampitik gebelerde antitrombin-III düzeyinin belirgin olarak düşük olduğu gösterilmiştir. Bu düşüş hastalığın ağırlığının belirlenmesinde önemlidir, ancak geç bir bulgudur. Bu yüzden erken tanı testi olarak kullanımı uygun değildir [4].
9. Arteriyel Natriüretik Peptid (ANP) Düzeyi: ANP, atriumların myokardial hücrelerinden salgılanır. Tuz ve su tutulumunu artırarak renin-aldosteron sentezini azaltır. Sonuçta vazokonstrüksiyonu inhibe eder. Preeklampitik gebelerde ANP artışını gösteren çalışmalar vardır. ANP'nin preeklampitik gebelerde hipertansiyonu engellemek için arttığı düşünülmektedir [57].
10. İmmünolojik Faktörler: İmmün hücrelerden çeşitli mediatörler salgılanarak allograftın reddi önlenmeye çalışılır. Preeklampitik kadınlarda bu mediatörlerin çoğu yükselmiştir (İnterferon, interlökinler, TNF). Preeklampitik hastalarda TNF-alfa, interlökin-1 ve interlökin-10 değerlerinin yüksekliği ve bu yüksekliğin de preeklampside global endotel disfonksiyonu ile ilişkili olduğu ve plasental hipoksiye yol açtığı düşünülmüştür [58].
11. Homosistein: Yapılan birçok çalışmada plazma homosistein düzeyinin preeklampitik kadınlarda yüksek olduğu gösterilmiştir [59].

12. Doppler Ultrasonografi Kullanımı: Preeklampitik gebelerde ve fetal gelişme geriliğinde yaygın olarak kullanılır. Gebelik sırasında uteroplasental ve fetal dolaşımdaki fizyolojik ve patolojik değişikliklerin gösterilmesinde yardımcıdır [60]. Ancak ikinci trimester doppler ultrasonografinin düşük risk grubunda olan gebelerde gebelik komplikasyonlarını ve dolayısıyla preeklampsiyi saptaması düşük pozitif prediktif değere sahiptir. Bu nedenle yüksek risk grubunda olan gebelerde kullanımı önerilmektedir.

PREEKLAMPSİNİN ÖNLENMESİ

Preeklampsinin gelişmesini önlemek ve insidansını azaltmak için birçok klinik çalışma yapılmıştır. Ancak hastalığın etiolojisinin multifaktöriyel olması ve tam olarak bilinmemesi nedeniyle yapılan tedavilerin hiçbiri hastalığı önlemede tam olarak etkili olamamıştır [5]. Günümüzde diyetin düzenlenmesi, düşük doz aspirin tedavisi ve antioksidanlar preeklampsiyi önlemeye yönelik girişimlerdir.

Diyetin Düzenlenmesi:

Magnezyum ve çinko desteği, tuzdan fakir ve proteinden zengin diyet gibi yöntemlerin etkinliği ispat edilememiştir. Profilaktik anlamda diüretik ve antihipertansif kullanımının da fayda sağlamadığı gösterilmiştir. Günde 2 gr elementer kalsiyum desteğinin hem hipertansif hem de normotansif gebelerde kan basıncı üzerine olumlu etkisi olduğunu gösteren çalışmalarla birlikte [61], kalsiyumun etkisiz olduğunu gösteren çalışmalarda vardır [62]. Preeklampsinin önlenmesinde kalsiyum alınması önerilmemektedir [12]. Kalsiyumun hipotansif etkisini hangi yolla yaptığı bilinmemekle birlikte dolaşımdaki parathormon düzeyini azaltıp intrasellüler kalsiyum miktarında azalmaya neden olarak, arterioller relaksasyon sonucu kan basıncını düşürdüğü ileri sürülmektedir. Diyetle balık yağı kapsülleri verilerek dışarıdan esansiyel yağ asidi verilmiş ve prostoglandinlerin dengesini prostasiklin yönüne çekmek amaçlanmış, ancak etkili olduğu gösterilememiştir [63].

Düşük Doz Aspirin:

Aspirin düşük dozlarda trombositlerde tromboksan-A2 sentezini selektif olarak baskılamakta ve bu etkisini siklooksijenaz enzimini irreversible inhibe ederek yapmaktadır. Yapılan çalışmalarda düşük risk grubunda olan hastalarda düşük doz aspirin kullanımı preeklampsiyi önlemede etkisiz bulunmuş, ancak yüksek riskli hastalarda etkili olduğu ve bu

hasta grubunda kullanılabileceği belirtilmiştir [12]. Düşük doz aspirin kullanımına 14-16.gebelik haftaları arasında başlanması önerilmektedir ve düşük doz aspirinin hem anne, hem de fetusta güvenli olduğu düşünülmektedir.

Antioksidan Tedavi:

Yapılan çalışmalarda E ve C-vitaminlerinin verilmesinin endotel hücre aktivasyonunu azaltarak preeklampsi insidansında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. Ancak bunun için daha geniş randomize kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır [64].

PREEKLAMPSİNİN TEDAVİSİ (YÖNETİMİ)

Preeklampsik bir hasta için doğum kararı hem maternal hem de fetal riskleri dengelemelidir. Doğum kararı gebelik haftası, fetusun durumu ve değerlendirme anında maternal durumun ağırlığına bağlıdır. Preterm fetusu olan kadınlarda sürekli gözlem sadece hafif preeklampsi olgularında uygundur. Ağır preeklampsi ise anne hayatını tehdit eden bir hastalıktır. Kesin tedavisi doğum olmakla birlikte doğumun kendisi hastanın genel sağlık durumunu düzeltmez. Maternal değerlendirme öncelikle kötüleşen preeklampsi için sık değerlendirmeden ibarettir. Başlangıç laboratuvar testleri, trombosit sayımı, karaciğer enzim düzeyleri ve renal fonksiyon durumunun ve proteinürinin belirlenmesi için 12 saatten 24 saate kadar toplanmış idrarın değerlendirilmesini içerir. Hafif hastalıkta ve hastalıkta ilerleme yoksa, bu testler haftada bir tekrarlanabilir. Eğer hastalığın ilerleme şüphesi varsa bu testler daha erken tekrarlanmalıdır [12].

TEDAVİDE KULLANILAN İLAÇLAR

1. Antihipertansif İlaçlar:

Antihipertansif tedavide amaç, kan basıncının güvenli kabul edilebilir sınırlarda (S: 160 mmHg'nin, D: 110 mmHg'nin altında) tutulmasıdır. Hipertansiyon tedavisinde dikkat edilecek husus, maternal serebrovasküler hasarı ve konjestif kalp yetmezliğini önlemek ve ayrıca serebral perfüzyonu ve uteroplental kan akımını yeterli düzeyde tutmaktır. Hidralazin ve labetolol bu amaçla en yaygın kullanılan ajanlardır [12].

2. Antikonvülsif İlaçlar:

Magnezyum Sülfat (MgSO₄) konvülsiyon profilaksisinde plasebo ve diğer ilaçlara kıyasla daha etkindir. Magnezyum terapötik düzeylerde endotel hücrelerde prostasiklin

yapımını artırır ve kalsiyuma karşı antagonist etkiye sahiptir. Ayrıca uteroplazental arterlerde vazodilatör etkisinin olduğu da bildirilmiştir. MgSO₄, nöromusküler plakta asetilkolin salınımı engeller veya kalsiyum yerine geçerek membran potansiyelini etkiler ve bu yolla terapötik etkisini oluşturur. MgSO₄'ün önerilen tedavi edici düzeyi 4.3-8.4 mg/dl'dir. Serum düzeyi 9 mg/dl'nin üzerinde olduğunda, magnezyum toksisitesi riski vardır [5].

Hafif preeklampatik veya gestasyonel hipertansif kadınlarda nöbetlerin önlenmesi için MgSO₄'ün profilaktik kullanımına ilişkin fikir birliği yok ise de, veriler ağır preeklampatik ya da eklampatik kadınlarda nöbetleri önlemek üzere MgSO₄ kullanımını desteklemektedir [65].

PREEKLAMPSİ İÇİN HAYVAN MODELLERİ

Preeklampsi için geliştirilen hayvan modelleri hastalığın etiyojisi ve patolojisinin açıklanması açısından bir değer taşımaktadır. Preeklampsi için pek çok hayvan modeli geliştirilmesine rağmen bunların birçoğu başarısız olmuştur. Günümüzde halen kullanılan preeklampsi hayvan modellerine örnek olarak, uteroplazental iskemi modeli, kronik NO sentaz inhibisyonu, adriamisin nefropati modeli, kronik stres, sempatik hiperstimülasyon, Na⁺/K⁺ ATPase inhibitörü, Marinobufagenin (MBG) uygulanması, endotoksin infüzyonu, süramin uygulanması gibi deneyler yapılmıştır. Bu preeklampsi modellerinin hiçbiri hastalığın bütün klinik özelliklerini oluşturmada başarılı olamamıştır.

Preeklampsili gebelerde uteroplazental kan akımı azalmaktadır. Kronik preeklampsili hastalarda ise "akut aterosiz" olarak bilinen uterin vasküler lezyon görülmektedir. İlk kez 1939'da Ogden ve arkadaşları [66] "hamile hayvanlarda uteroplazental iskemi hipertansiyonu indükler mi?" sorusunu araştırmışlardır. Araştırmacılar, hamile olmayan köpeklerin anestezi altında abdominal aortasına bir klips yerleştirerek, uteroplazental perfüzyon basıncının yaklaşık %50 oranında azaldığını göstermişlerdir. Sonraki yıllarda bu teknik geliştirilerek pek çok araştırmacı tarafından kullanılmıştır. Yapılan çalışmalar aortik kasılmanın hamilelik sırasında farklı türlerde hipertansiyona yol açtığını göstermektedir. Ancak bu yöntemle oluşan hipertansiyonun tamamen ya da kısmen uteroplazental perfüzyon basıncındaki azalma ile ilişkili olup olmadığı net değildir. Ayrıca metotta proteinüri artışı ve/veya fetal etkiler gibi preeklampside gözlenen şiddetli değişiklikler indüklenememiştir [67].

Damar endotelinden sentezlenen NO'nun gebelik süresince damar tonüsünün kontrolü ve düzenlenmesinde önemli rolü vardır. Preeklampatik kadınlarda NO azalması, plasental perfüzyonun azalmasına ve kan basıncının artmasına neden olur. L-NAME ya da diğer NO sentaz inhibitörleri uygulanarak oluşturulan modellerde, kronik NO sentaz inhibisyonu doza

bağımlı hipertansiyonla birlikte, renal vazokonstriksiyon, glomerüler kan basıncında artma, proteinüri ve glomerüler hasar oluşturur. Ancak inhibitörlerin intravenöz infüzyonları hamile olmayan sıçanlarda da kan basıncı artışına neden olur ve hamile sıçanlara infüzyon durumunda plasental morfoloji büyük oranda korunur [68].

Sıçanlara tek doz adriamisin uygulaması, proteinüri, hipertansiyon ve kronik renal hasarla karakterize deneysel nefropati modelini oluşturur. Bu model preeklampsiyi andırmanın dışında hamilelikte oluşabilecek renal fonksiyon bozukluklarının mekanizmalarını anlamamız açısından önem taşımaktadır [69].

Preeklampsi kadınlarda sempatik vazokonstriktör aktivite artar. Hamile sıçanlarda sempatik hiperstimülasyon artan plazma katekolaminleriyle ilişkili HELLP benzeri sendromu indükler [70]. Preeklampsi ile klinik benzerlikler gösteren bu modelin, preeklampsi patogenezinde yer alan artan sempatik aktivite, endotelial ve plasental disfonksiyon arasındaki ilişkiyi daha iyi anlamamıza yardımcı olabileceği düşünülmektedir [69].

Preeklampsi gebelerde düzeyi artan inflamatuvar sitokinler aynı zamanda endotoksin tarafından da indüklenir. Faas ve arkadaşları [71] geç hamilelik döneminde ultra düşük dozda bakteriyel endotoksinin yavaş enjeksiyonu ile hamile ratlarda preeklampsi modeli oluşturmuşlardır. Endotoksin infüzyonları kan basıncı ve proteinüriyi artırırken fetal ölümler minimal düzeyde kalmıştır.

Hipertansiyon hastalarında ekstrasellüler sıvı hacminde Na^+/K^+ ATPase inhibitörü Marinobufagenin (MBG) düzeyinin arttığı bulunmuştur. Vu ve arkadaşları [72] hamile ratlara intraperitoneal yolla MBG vererek kan basıncında artışı gözlemlemişlerdir.

İnsan popülasyonları üzerinde yapılan çalışmalar stresin hamilelikte istenmeyen etkileri olduğunu, intrauterin büyüme geriliği ve preeklampsi insidansında artışa neden olduğunu göstermektedir. Takiuti ve arkadaşları [73] kronik stres etkisi ile preeklampsi için yeni bir hayvan modeli oluşturmuşlardır. Hamilelik sırasında sıçanlara uygulanan şiddetli stres artan arteriyel kan basıncına, proteinüriye, düşük NO aktivitesine ve düşük doğum ağırlığına neden olmuştur. Takiuti ve arkadaşları bu modelin ucuz ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle gelecekteki çalışmalarda hastalığın kaynağının araştırılmasında önemli olabileceğini düşünmüşlerdir.

Nash ve arkadaşları [74] preeklampsideki bozulan plasentasyona ait bilgilerden etkilenerek sıçanlarda plasenta vasküler gelişimini etkileyerek preeklampsi benzeri bir durumun indüklenebileceğini düşünmüşlerdir. Bu nedenle hamile sıçanlara suramin verilerek insandaki preeklampsi benzeri bir durum oluşturulması hedeflenmiştir. Suraminin birçok kullanım yeri bulunmaktadır. İlk kez 1917'de bulunmuş ve tripanosomiazise karşı

antiparazitik bir ajan olarak, daha sonra da onkoserkiazise karşı kullanılmıştır. HIV’de dahil olmak üzere rethrovirüslerin reverse transkriptaz enzimini inhibe eder. Bu nedenle AIDS tedavisinde kullanılmıştır [75]. Suramin birçok insan tümör hücresine karşı da toksiktir. Klinik çalışmalarda farklı tür kanserlere karşı antineoplastik ilaç olarak da kullanılmıştır [76]. Ek olarak suraminin sıçanlara yüksek dozda verildiğinde bir teratojen gibi davrandığı da ileri sürülmüştür. Suramin tedavisinin fetal gelişme geriliği ve hatta maternal morbidite ile sonuçlanan plasental disfonksiyona neden olduğu gösterilmiştir [77]. Suramin rodentlerde angiogenезisin potent inhibitörüdür ve etkisini vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) ve temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF) gibi bazı büyüme faktörlerini antagonize ederek gösterir. Bu büyüme faktörlerinin bazılarının plasentasyonda rolü olduğu bilinmektedir. Bu nedenle suraminin uterusu angiogenезisi inhibe ederek plasentasyonu etkilediği düşünülmektedir [74].

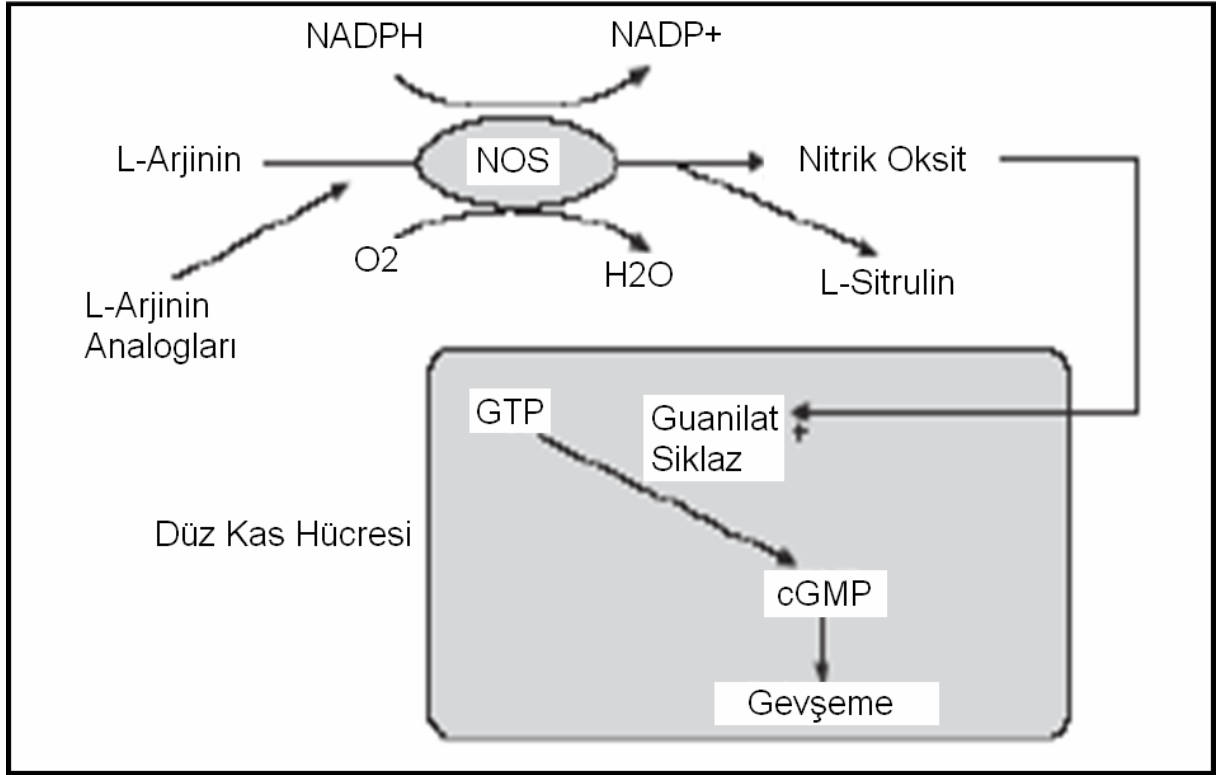
Bütün bu bilgilerin ışığı altında çalışmamızda literatürde preeklampsinin pek çok klinik özelliğini oluşturmada başarılı olduğu belirtilen Nash ve arkadaşlarının 2004 yılında geliştirdiği “Suramin uygulamasıyla oluşturulan sıçan preeklampsi modelini kullanmayı uygun bulduk”.

NORMAL ENDOTEL VE FONKSİYONLARI

Endotel, intima tabakasında tek katlı hücrelerden oluşan önemli bir yapıdır. Endotel, tek katlı basit yapısına rağmen dolaşan kan ve dokular arasında metabolik ve düzenleyici olaylarda rol alan, sentez fonksiyonu olan, sentezlediği moleküllerle vücut homeostazının sürdürülmesine katkıda bulunan önemli bir organdır [78]. Endotel tabakasının görevleri arasında vasküler tonüsün, hücre adezyonunun, inflamasyon, damar geçirgenliği ve koagülasyonun kontrolü sayılabilir. Endotelial hücre tabakası, vasküler düz kas hücrelerini kasacak ve gevşetecek vazoaaktif maddeleri sentezlemekte ve bu nedenle endotel, kan basıncı regülasyonunda kritik bir rol oynamaktadır. Endotelden sentezlenen maddelerden endotelin ve anjiyotensin-II vasküler direnci artırıcı yönde etki eder, buna karşın NO ve prostasiklin ise iki önemli vazodilatör faktördür [79].

Endotelden salınan en güçlü ve önemli mediatörlerden biri NO’dur. Endotelden salınan NO, bir aminoasit olan L-Arginin’den sentezlenir. NO daha sonra damar düz kaslarına geçerek hücre içi “guanilat siklaz” enzimine bağlanır ve bu enzimi aktive ederek “guanozin mono fosfat – cGMP” yapımını artırır. cGMP, düz kas içerisindeki cGMP bağımlı protein kinazı aktive eder, bunun sonucunda potasyum kanalları fosforile, kalsiyum kanalları

hiperpolarize olur. Hücre içi kalsiyum miktarı azalır ve bu da düz kas hücrelerinde gevşemeye yol açar [80].



Şekil 1: Nitrik Oksit ve Sentezi. (NOS: Nitrik oksit sentaz)

Endotel hücreleri birçok çeşit prostoglandin molekülü üretebilir. Hangisinin üretileceği endotelin bulunduğu dokuya bağlıdır. Damar endotelinde prostasiklin (PG I₂) hedef hücre yüzeyindeki spesifik reseptörüne bağlanarak cAMP düzeylerini artırır ve böylece vazodilatasyona yol açar. Ayrıca PG I₂, trombosit agregasyonunun potent inhibitörüdür [81].

Endotel kökenli hiperpolarize edici faktörün (EDHF) karakteristik özelliği düz kas hücrelerinde hiperpolarizasyona yol açmasıdır. Büyük arterlerde endotel bağımlı gevşemeye hem NO, hem de EDHF katılabilir ancak normal koşullarda NO'nun rolü daha baskındır [82].

Bradikinin, kininojenden endotel tarafından da salınan kallikrein tarafından üretilir. Bradikinin endotel hücrelerindeki B1 reseptörlerine bağlanır ve NO ile prostasiklin salınımına yol açar. Bradikinin, asetilkolin (Ach) estera tarafından metabolize edilir [83].

Endotelden sentezlenen kasıcı maddeler arasında iki disülfür köprüsü ile bağlanmış 21 aminoasit içeren bir polipeptid olan endotelin (ET) en güçlü kasıcıdır. Yapılan çalışmalarda endotelinin farklı 3 izoformu olduğu gösterilmiştir. Bunlara ET-1, ET-2, ET-3 adı verilmiştir. Endotelinin izoformları arasında, endotelin-1 (ET-1) diğerlerine göre en güçlü vazokonstriktör etkiye sahiptir. ET-1, başlıca endotel olmak üzere lökositler, makrofajlar ve

düz kas hücreleri tarafından üretilmektedir. Endotelin genelde düşük plazma konsantrasyonlarına ve kısa yarılanma ömrüne (4-7 dakika) sahiptir. Bu nedenle dolaşan bir endokrin hormonu gibi işlev görmez; aksine endotel hücresi tarafından salındığı zaman hızlı bir şekilde düz kas hücrelerinin yüzeyine bağlanarak parakrin etkiye sahip lokal bir hormon gibi işlev görür [84].

Anjiyotensin-II periferik vasküler direnci artırarak kan basıncı regülasyonu ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemiyle su ve elektrolit dengesinin düzenlenmesinde rol oynar. Anjiyotensin-II, damar düz kasında pek çok hücrel ve hücrelerarası olayları etkileyerek vazokonstriksiyona ve arter duvarında yapısal değişikliklere neden olmaktadır. Endotel hücrelerinde iki tip anjiyotensin-II reseptörü bulunmaktadır. Tip-1 reseptörü (AT-1) özellikle damar düz kas hücrelerinin kontraksiyonunda rol oynamaktadır. Anjiyotensin Tip-2 reseptörleri (AT-2) ve anjiyotensin-I'in metaboliti olan anjiyotensin 1-7'nin aktivasyonu ise endotelyal gevşemeyi sağlamaktadır. [80].

Endotelden salınan maddeler dışında damar içerisindeki akım hızı ve basınç da düz kas tonüsünü etkilemektedir. Akım hızındaki artış (shear stress) iyon kanallarını (Ca^{2+} , K^{+} , Na^{+}) etkileyerek eNOS enzimini aktive eder ve endotel hücrelerinden NO sentezini uyarır. Basınç artışı ve gerilme ise endotelden NO'nun açığa çıkmasını azaltır [80].

ENDOTEL DİSFONKSİYONU

Endotel tabakasının normal işlev görmesi, endotel kaynaklı gevşetici ve endotel kaynaklı kasıcı maddeler arasındaki dengeye bağlıdır. Bu denge bozulduğunda endotel disfonksiyonundan söz edilir. Endotel disfonksiyonu aterosklerozun yanında sistemik ve pulmoner hipertansiyon, kardiyomyopatiler, vaskülitler gibi birçok hastalığın patogenezinde rol oynar [79].

Normal endotelde asetilkolin vazodilatasyona neden olmaktadır. Endotel hasarında asetilkoline bağlı olan bu fizyolojik aktivite tersine dönmektedir. Başka bir deyişle endotel disfonksiyonunda vazodilatör uyarı vazokonstriktör uyarıya dönüşmektedir. Endotel fonksiyon bozukluğu, hipertansiyon, kalp yetersizliği, hiperkolesterolemi ve diabetes mellitus gibi klinik tablolarda görülmektedir [80].

SİLDENAFİL SİTRAT VE DÜZ KAS ÜZERİNE ETKİSİ

Sildenafil (UK-92480), fosfodiesteraz-5'in (PDE-5) güçlü ve selektif bir inhibitörüdür. Sildenafil, diğer fosfodiesteraz izoformlarına göre PDE-5 üzerinde 10-10.000 kat daha seçicidir. Sildenafil ilk olarak potansiyel bir antianjinal ajan olarak araştırılmıştır. Ancak sonradan erektil disfonksiyon tedavisinde etkisi kanıtlanmıştır.

Fosfodiesteraz enzimleri siklik nükleotidleri hidrolize eden (cAMP ve cGMP) ve böylece ikinci ulak sinyal yollarının modülasyonunda kritik rol alan enzimlerdir [85]. Fosfodiesteraz-5 dışında farklı dokularda yer alan başka PDE izoformları da bulunmaktadır. En az 50 değişik PDE memeli hücrelerinde tanımlanmıştır. Değişik PDE'ler farklı substratlara karşı değişen enzimatik afiniteye sahiptirler. Farklı yerleşimler ve kalsiyuma duyarlılık gösterirler. Korpus kavernozumda PDE-2 / 3 / 4 / 5'in, kalp kasında PDE-1 / 2 / 3 / 4 / 7 / 8 / 9'un, damar düz kasında PDE-1 / 2 / 3 / 4 / 5'in varlığı gösterilmiştir. PDE-1 ve PDE-5'in cGMP'ye afinitesi daha yüksekken, PDE-2, PDE-3 ve PDE-4 için tercih edilen substrat cAMP'dir. PDE-5 enzimi, damar ve korpus kavernozum düz kasları dışında barsak düz kaslarında, trombositlerde ve kondrositlerde de bulunmaktadır. Papaverin ve teofilin spesifik olmayan PDE inhibitörleridir ve cAMP ile cGMP düzeylerini artırarak vazodilatasyon oluştururlar. Ancak amrinon ve milrinon ise vazodilatör etkilerini PDE-3 ve olası PDE-1 ve PDE-2'yi inhibe ederek oluştururlar [86].

Fosfodiesteraz-5, cGMP yıkımını sağlayan bir enzimdir ve inhibisyonu dokuda cGMP artışına neden olmaktadır. cGMP, proteinkinaz-G'yi (PKG) aktive ederek birçok hücrel işlevi tetiklemektedir. cGMP oluşumunu sağlayan enzim guanilat siklaz (GS)'dir. Düz kaslar dışında da (vücuttaki hemen hemen tüm hücrelerde) cGMP ikinci haberci olarak rol oynamaktadır ve birçok hücre işlevinin tetiklenmesi sitozolik cGMP düzeylerine bağlıdır. Hücre içi cGMP düzeylerini ise sentezde GS, ve yıkımda PDE enzimleri belirlemektedir.

Nitrik oksit (NO) düz kasta "soluble" GS aktivasyonu ile cGMP sentezini artırarak gevşemeye neden olmaktadır. NO, hem bazal koşullarda, hem de çeşitli endojen ve eksojen uyarılarla (asetilkolin, ADP, ATP, anjiyotensin-2, noradrenalin, vazoaktif intestinal peptid, araşidonik asit, P maddesi, histamin, bradikinin, serotonin, endotelin, trombin, vazopressin, basınç, makaslama kuvveti) salgılanabilmektedir. NO'nun yarılanma ömrü oldukça kısadır. Saniyeler içerisinde (2-30 sn) inaktive olması nedeniyle etkisi yereldir ve kısa sürmektedir. Korpus kavernozum ve damar düz kasında NO'nun sonuç etkisi gevşemeyi sağlar.

cGMP etkisinin uzunluğu, sitozolik enzim PDE kullanılarak kontrol edilir. Yakın zamanda selektif PDE-5 inhibitörleri geliştirilmiş ve erektil disfonksiyon tedavisinde

kullanılmaktadır. Sildenafilin erkek erektil disfonksiyon tedavisinde etkili ve iyi tolere edilebilir bir ajan olduğu kanıtlanmıştır [87]. Sildenafil korpus kavernozumda yer alan cGMP'yi metabolize eden majör izozim PDE-5'i selektif olarak inhibe ederek etkisini gösterir. cGMP yıkımının inhibe edilmesi, endotelden NO salınımı ile sinerjik etki gösterir ve böylece penil düz kasta gevşemeyi sağlar ve artırır. Genelde en yaygın yan tesirleri baş ağrısı, yüz kızarması, nazal konjesyon ve dispepsi gibi gastrointestinal yan tesirlerdir. Hastaların düşük yüzdesinde görme bozukluğu rapor edilmiştir ki bu hastaların çoğu tavsiye edilen 100 mg'lık maksimum dozu aşmışlardır [86].

PDE-3'ü inhibe eden bileşiklerin (örn. amrinon, milrinon) inotropik ve vazodilatör etkiler oluşturdukları bilinmektedir. Sildenafil ise PDE-3 üzerinde çok az etki yapar. Yapılan çalışmalar sildenafilin koroner vasküler düz kasta selektif olarak cGMP düzeyini artırdığını ancak cAMP düzeyini değiştirmediğini göstermektedir. Benzer bulgular tavşan ve insan korpus kavernozum dokularında da rapor edilmiştir [88].

Sildenafil sitratın kan basıncı düşürücü etkisinin ilaçla aktive NO-GS yolağının düzeyine bağlı olduğu gösterilmiştir. Hem 50 mg hem de 100 mg sildenafil sitrat alımının sistolik kan basıncını yaklaşık 10 mmHg düşürdüğü gösterilmiştir [85].

İnhale NO ve PDE-5 inhibitörleri yetişkin ve neonatal pulmoner arteriel hipertansiyon tedavisinde kullanılmaktadır. Pulmoner hipoksik, vazokonstriktör yanıt kalkar ve pulmoner arterioller genişler. Metabolik ve solunumsal asidemi hafifler ve azalır. Yeni doğanda ve çocuklarda inhale NO'yu takiben PDE-5 inhibitörü sildenafil uygulamasının zararlı pulmoner hipertansiyonu düzelttiği gösterilmiştir [89].

Embrio transferi öncesi sildenafil kullanımının, uterin kan akımını artırarak endometrial cevabı zayıf olan hastalarda implantasyon oranlarını yükselttiğini bildiren çalışmalar vardır [90,91].

NORMAL GEBELİK VE PREEKLAMPSİDE ENDOTEL FONKSİYONU VE PDE-5 İLİŐKİŐİ

Sağlıklı gebelerde karakteristik maternal vazodilatasyon ve düşük plasental vasküler rezistanstan sorumlu olduğuna inanılan sinyal transdüksiyon yolağı nitrik oksit sentetaz (NOS) kontrolü altında NO senteziyle başlar. İnsan uterusunda bir cGMP gevşeme yolağı bulunmaktadır ve bu yolağın hamilelikte uterus modülasyonunda rolü olabileceği düşünülmektedir. cGMP bağlayan fosfodiesterazlar, cGMP bağımlı proteinkinaz ve cAMP bağımlı proteinkinaz insan plasentasında tanımlanmıştır. cGMP ve cAMP platelet

aggregasyonunu inhibe eder ve kapiller hiperpermeabilite ve vasküler sızıntıyı önleyerek vasküler bütünlüğü korurlar. Buna ek olarak, cAMP immünsupressif ve antiinflamatuvar özellik gösterir.

Preeklampside NO'nın azalan sentezi ya da artan tüketimi, NO'in varlığını sınırlar ve böylece cGMP ve cAMP ekspresyonunu azaltır. Maternal vazodilatasyonun azalması kontrolsüz maternal hipertansiyona yol açar. Şiddetli maternal vazospazmın daha ileri sonuçları plazma hacim sınırlaması, hemokonsantrasyon ve hiperviskozitedir. Platelet aggregasyonu, koagülopati ve hamileliğe karşı oluşan inflamatuvar yanıt anneyi tehdit eden diğer anormalliklere örnek olabilir. Annenin yüksek kan basıncı tarafından indüklenen spiral arter vazospazmı, plasental aterosiz ve plasental infarkt uteroplazental hipoksiye neden olur. Preeklampside uteroplazental yetersizliğin, fetoplazental birimi hedeflediği ileri sürülmektedir. Kapiller endotel bütünlüğündeki bozulma, maternal plazma hacmi, doku gelişim yetersizliği ve ödeme yol açar [92].

Buhimschi ve ark. [93] sıçan myometriyumunda PDE-5 varlığını göstermişlerdir ve bu enzimin farmakolojik inhibisyonunun aktif doğum ağrıları sırasında myometrial kasılmayı önlediğini göstermişlerdir. Çalışmada farmakolojik dozlarda PDE-5 spesifik inhibitör sildenafil kullanılarak hem erken doğum, hem de miadında doğum sırasında sildenafilin korpus kavernozum üzerindeki etkisine paralel olarak uterus düz kasını da gevşettiği gözlenmiştir. Bu çalışma erken doğum tedavisinde sildenafilin yardımcı olarak potansiyel bir rolü olabileceğini önermektedir.

Dolaşımdaki endotel hücre belirteçlerinin (örn. fibronektin, faktör-7 antijen, Von Willebrand faktör, doku plazminojen aktivatörü ve plazminojen aktivatör inhibitör-1) düzeyleri preeklampsili kadınlarda yükselmektedir. Bu da aktive endoteli göstermektedir. Preeklampsili kadınlardan izole edilen farklı kan damarlarındaki endotele bağlı yanıtlar, normal hamile kadınlardan izole edilen damarlarla karşılaştırıldığında belirgin olarak farklıdır [94].

Preeklampsili kadınlardan izole edilen myometrial resistans arterlerde bradikinine karşı azalan endotel bağımlı yanıtlar gösterilmiştir [94,95]. Ashworth ve ark. [94] preeklampsili kadınlardan alınan myometrial küçük arterlerde izobarik koşullarda endotel bağımlı yanıtların tamamen NO tarafından sağlandığını göstermişlerdir. Normal hamile kadınlarda farklı olarak endotel bağımlı gevşeme hem NO hem de endotel bağımlı hiperpolarizan faktör tarafından sağlanmaktadır. Wareing ve ark. [87] preeklampsili kadınlardan alınan myometrial küçük arterlerde tel ya da basınç myografi kullanarak NO

bağımlı vazodilatasyonun PDE-5 inhibitörü UK-343664 varlığında potansiyelize olduğunu göstermişlerdir.

ÇALIŞMAMIZDA KULLANDIĞIMIZ İLAÇLAR VE DÜZ KASLAR ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

1. ASETİLKOLİN VE KARBAKOLÜN DÜZ KAS ÜZERİNE ETKİSİ:

Asetilkolin (Ach); kolin asetiltransferaz enzimi tarafından kolin ve asetil grubunun asetilasyonu sonucu birleştirilmesiyle sentezlenir. Hem muskarinik, hem de nikotinik reseptörlere etki eder. M2 reseptörlerini uyararak vagal uyarıları taklit edecek şekilde kalp atım hızı ve debisini azaltır. M3 reseptörleri uyararak tükürük salgısını, barsak salgıları ve hareketlerini, bronş salgılarını, genitouriner sistemde detrüssör kas tonüsünü artırır, gözde siliyer kasları kasarak akomodasyon, pupil sfinkterlerini kasarak miyozis yapar. Kısaca Ach damar düz kaslarını ve sfinkter kaslarını gevşettiği halde diğer tüm yapıların düz kaslarını kasar. Ach, vazodilatasyona bağlı kan basıncında düşme oluşturur, bu etkisi damar endotelindeki M3 reseptörler aracılığıyla damar endotelinin NO salmasına bağlıdır. Endoteli sıyrılmış ya da endotel disfonksiyonu görülen damarlarda NO salınamayacağı için, Ach tam tersine damarlarda kasılma oluşturur. Ach, asetilkolinesteraz enzimi aracılığıyla hızlı bir şekilde yıkılır.

Direkt etkili kolinerjik agonist karbakol ise kolinesterazlara dayanıklıdır. Doğrudan kolinerjik reseptörlere bağlanarak asetilkolinin etkilerini taklit eder. Hem nikotinik, hem de muskarinik etkileri vardır. Etkisi 1 saat kadar sürer [96,97]. Pek çok çalışmada sıçan torasik aortasında asetilkolin ve/veya karbakolün gevşetici etkisi gösterilmiştir [98,99].

2. BRADİKİNİN VE DÜZ KAS ÜZERİNE ETKİSİ:

Yüksek molekül ağırlıklı kininojenden plazma kallikreini tarafından oluşturulur. Küçük damarlar üzerinde (özellikle arterioller) güçlü gevşetici etkisi bulunmaktadır. Bu etki esas olarak endotelden NO salıvermesine, kısmen de endotelde gevşetici prostaglandin E₂ (PGE₂) sentez ve salıverilmesini artırmasına ve yerine göre mast hücrelerinden histamin salıvermesine bağlıdır. Damar düz kaslarını gevşettiği halde, diğer düz kaslı yapıların çoğunda kasılmaya neden olur.

Ven ve venüller üzerinde hafif büzücü etki yapar ve kapiller içi basıncı yükseltir. Venler üzerindeki büzücü etkinin büyük ölçüde, kininlerin PGF_{2α} salıverilmesini artırmasına bağlı olduğu ileri sürülmüştür.

B1 ve B2 olmak üzere iki reseptörü bulunur. Bunlar G proteini ile kenetli heptahelikal reseptörlerdir. Damar endotelinde bulunan B1 reseptörleri; bradikininin endotelden NO, prostaglandin, EDHF ve diğer endotel kaynaklı vazodilatör faktörleri saklıverici etkisinde rol oynarlar. Endoteli sıyrılmış ya da endotel hasarı görülen damarlarda bradikininin tam tersine damarlarda kasılma oluşturur [100]. Ashworth ve ark. [95] preeklampsili kadınlardan izole edilen myometrial resistans arterlerde bradikinine karşı azalan endotel bağımlı yanıtları göstermişlerdir. Pascoal ve ark. [101] tarafından yapılan çalışmada ise hamile insan omental mikrodamarlarında bradikininin gevşeme mekanizması araştırılmıştır.

3. SODYUM NİTROPRUSSİYAT (SNP) VE DÜZ KAS ÜZERİNE ETKİSİ:

SNP, molekülünde bir demir iyonuna bağlı bir nitrazo (-NO) ve 5 siyanür (-CN) grubu içerir. Vücutta NO ve CN salıverir. Hipertansif krizlerde ve konjestif kalp yetmezliğinde kullanılan güçlü bir parenteral gevşeticidir. Hem arterleri hem de venülleri dilate eder. Damar dışı düz kasları da gevşetir [102].

Gevşetici etkisinde birçok mekanizma rol oynar. Potasyum kanallarını açmak suretiyle ve ayrıca membranda elektrojenik Na^+ pompasını aktive etmek suretiyle düz kas hücrelerinde hiperpolarizasyon yapar. Reseptörle çalıştırılan kalsiyum kanallarından kalsiyum girişini inhibe eder. Ayrıca etkisini hücrede NO salgılanması veya enzim stimülasyonu sonucu guanilat siklaz aktivitesini artırarak gösterir. Sonuçta intrasellüler cGMP artar ve düz kas gevşemesi gerçekleşir [102]. Bazı çalışmalarda sıçan torasik aortasında SNP'nin gevşetici etkisi gösterilmiştir [103].

4. FENİLEFRİN VE DÜZ KAS ÜZERİNE ETKİSİ:

Alfa-1 adrenerjik reseptörleri direkt olarak güçlü bir şekilde etkiler. Kasıcı etki yaparak sistolik ve diastolik kan basınçlarını artırır. Nazal dekonjestan olarak kullanılır [104,105]. Pek çok çalışmada sıçan torasik aortunda fenilefrinin kasıcı etkisi gösterilmiştir [99,106].

5. ARGİNİN-VAZOPRESSİN VE DÜZ KAS ÜZERİNE ETKİSİ:

Vazopressin, arka hipofizdeki sinir uçlarından salgılanan bir nanopeptiddir. İnsan vazopressini kimyaca 8-arginin vazopressindir (AVP). Vazopressin, damar düz kaslarının V1 reseptörlerini aktive ederek büzer. Büzülmede anjiyotensin, noradrenalin ve adrenaline duyarlılığın artırılmasının da katkısı vardır. V1 reseptörler bütün damar segmentlerinin düz kaslarını büzer. Fosfoinozitid hidrolizini artırarak hücreyi inozitol trifosfat ve diaçilgliserol

aracılığıyla etkilerler. V2 reseptörler, böbrek distal tubulus ve toplayıcı kanal hücrelerinin membranında bulunurlar. Bu reseptörler antidiüretik etkiden sorumludurlar. Vazopressin, barsakların (özellikle kalın barsakların) peristaltik hareketlerini yüksek dozda verildiğinde hızlandırır ve güçlendirir. Barsak tonusunu artırır, fakat bu etkisi motilite üzerindeki etkisi kadar belirgin değildir. Yüksek dozda uterusun kasılmasına neden olur [107]. Pascoal ve ark. hamile insan omental mikrodamarlarında arginin-vazopressin kasılma mekanizmasını araştırmışlardır [101].

6. ENDOTELİN-1 VE DÜZ KAS ÜZERİNE ETKİSİ:

Endotelden sentezlenen kasıcı maddeler arasında Endotelin (ET) en güçlü damar kasıcıdır. Damarlarda yavaş gelişen ve uzun süren bir kasılma yapar. Buna bağlı olarak tek bir dozunun i.v. enjeksiyonundan sonra arteriyel kan basıncında uzun süren yükselme olur. ET-1 sadece vasküler düz kaslarda değil barsak, uterus, trakea ve vas deferens düz kaslarında da doza bağımlı kasılmalara neden olmaktadır. Böbrekte hem afferent hem de efferent arteriollerini ve ayrıca glomerüllerin mezenseyal hücrelerini büzer. Renal kan akımında ve glomerüler filtrasyon hızında da azalmaya yol açmaktadır. Su ve tuz retansiyonu yapar. ET-1'in güçlü bronş büzücü etkisi vardır; bunda bronşlarda tromboksan A₂ sentezini artırmasının da katkısı vardır.

ET-1 hidrofilik olduğu için hücre membranını geçemez, bu nedenle hücre yüzeyindeki spesifik bir reseptöre bağlanmak zorundadır. Endotelin reseptörlerinin G proteinleri ile kenetli reseptör familyasına ait olduğu gösterilmiştir. ET-1 için 2 reseptör tanımlanmıştır (ET-A ve ET-B). ET-A reseptörleri daha çok damar düz kaslarında bulunarak düz kas proliferasyonu ve kasılma sağlar. ET-B reseptörleri ise endotel hücrelerinde bulunur ve endotele bağlı gevşemeden sorumludur [108].

7. POTASYUM KLORÜR (KCl) VE DÜZ KAS ÜZERİNE ETKİSİ:

Membran depolarize edici bir madde olan KCl, voltaja bağımlı kalsiyum kanallarının açılmasına neden olur ve bu kanallar aracılığıyla hücre içine kalsiyum girişini takiben konsantrasyona bağımlı olarak kasılma meydana getirir [109].

BÖLÜM 3

ARAÇ – GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. GEBE SIÇANLARIN ELDE EDİLMESİ:

Bu çalışmada Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarından sağlanan, vücut ağırlıkları 200-250 gr. olan 30 adet erişkin dişi albino sıçan kullanıldı. Hayvanların kullanılması ve çalışılması için hayvan etik kuruluna başvurularak izin alındı. Çalışmaya dahil edilen sıçanların yaş ve ağırlıklarının birbirine yakın olmasına dikkat edildi. Dişi sıçanların her biri 22°C sabit ısıda, 17.00 ile 09.00 saatleri arasında erişkin erkek sıçanlarla çiftleştirildi. Çiftleştirmeden sonraki gün vajinal sürüntü testi yapılarak spermeler arandı. Dişi sıçanlarda spermelerin görüldüğü gün gestasyonun 0.günü olarak kabul edildi ve bu sıçanlar ayrı bir kafese konularak üzerlerine gebelik tarihi yazıldı.

Sıçanlar gebeliklerinin 10.gününde 10'ar sıçandan oluşan 3 gruba ayrıldı. Çalışmada 1. grup (10 adet sıçan) kontrol grubu olarak planlandı ve gruptaki sıçanlara gebeliklerinin 10. ve 11.gününde 0.3 ml serum fizyolojik (%0.9 NaCl) i.p. olarak uygulandı. 2. ve 3. gruplara (10+10 adet sıçan) gebeliklerinin 10. ve 11.gününde 2 gün süreyle intraperitoneal (i.p.) yolla 100 mg/kg tek doz “suramin” verilerek preeklampsi modeli oluşturuldu. Suramin serum fizyolojik içerisinde çözüldü. Üçüncü gruptaki sıçanlara suramin uygulamasına ilaveten yine gebeliğin 10. gününden itibaren gebelik sonlanana kadar i.p. 5 mg/kg/gün “sildenafil sitrat” uygulandı.

3.2. İNDİREKT KAN BASINCI ÖLÇÜMÜ:

Sıçanların indirekt kan basınçları kuyruk kaf tekniğiyle gebelik öncesi dönemde, normal gebelik sırasında (preeklampsi öncesi dönemde) ve preeklampsi sırasında “May BPHR 9610 Blood Pressure Recorder System (Commat, Ankara, Türkiye)” cihazı kullanılarak ölçüldü [110].

Anestezi altında olmayan sıçanların kuyrukları, kuyruk damarlarını dilate etmek amacıyla 30 dak. yaklaşık 30°C’de ısıtıldı. Daha sonra kuyruğun proksimal kısmına yerleştirilen otomatik sfigmomanometre aracılığıyla sistolik kan basıncı ölçüldü. Her bir sıçanın kan basıncı ölçümleri 3 kez tekrarlanarak ortalama kan basıncı değerleri elde edildi.

3.3. SIÇAN İDRAR ÖRNEKLERİNDE PROTEİN ÖLÇÜMÜ:

Gebelik öncesi, preeklampsi öncesi ve preeklampsi sırasında sıçanlardan alınan idrar örneklerinde protein miktarına “dipstick” yöntemiyle bakıldı (Ulti Med Products (Deutschland) GmbH, 006T250) [111].

Sıçanlarda proteinüri, idrar örneklerinin kolorimetrik şeritlere damlatılması ile tanımlandı. Dipstick üzerinde oluşan renk reaksiyonu renk skalasıyla karşılaştırılarak proteinüri miktarları “-”, “1+”, “2+” ve “3+” olarak derecelendirildi. “1+” - “2+” protein (30-100 mg/dl) hafif proteinüriyi gösterirken, “3+” - “4+” protein (300-2000 mg/dl) şiddetli proteinüriyi göstermektedir.

3.4. İZOLE TORASİK AORTA ŞERİTLERİNİN İN-VİTRO DENEYLERE HAZIRLANIŞI:

Her üç gruptaki sıçanlar gebeliğin sonunda servikal dislokasyon yöntemiyle sakrifiye edildi ve torasik aorta dikkatlice çıkarıldı. Torasik aorta dokusunun bir bölümü bekletilmeden hassas terazide tartıldı, üzeri etiketlenmiş Eppendorf tüplere konularak -80°C 'de dondurularak radioimmünoassay (RIA) yöntemiyle cGMP düzeyi ölçmek için saklandı. Her bir sıçandan alınan torasik aorta dokusundan 4 adet düz kas şeriti elde edildi. Her bir torasik aorta önce halkalar halinde kesilip, daha sonra bu halkalar açılmak suretiyle düz kas şeritleri elde edildi. Bu şeritler 10 ml'lik organ banyolarına yerleştirildi. Organ banyolarında şeritler 37°C 'de ısıtılan Krebs solüsyonu içinde bir ucu organ askısına, diğer ucu ise 4/0 ipek ipele Grass-FT 03 Force Displacement Transducer'ine bağlanarak yerleştirildi. Torasik aorta şeritleri 2 gr.lık ön gerilim altında 15 dakikada bir yeni solüsyonla yıkanarak, 2 saat dengelemeye bırakıldı. Solüsyon %95 O_2 ve %5 CO_2 ile çalışma boyunca gazlandırıldı. Bu dengeleme süresinin sonunda fenilefrin, arjinin-vazopressin ve endotelin-1 kasılma yanıtlarının değerlendirilmesinde ölçüt olması amacıyla damar şeritleri 80 mM KCl solüsyonu ile kasıldılar. Daha sonra kasılma ve gevşeme yanıtları oluşturan farklı ilaçlar kullanılarak, damar düz kas yanıtlarında oluşan değişiklikler kaydedildi.

Çalışmanın bu bölümü Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yapıldı.

3.5. DENEYLERDE KULLANILAN KİMYASALLAR VE İLAÇLAR:

Deneylede kullanılan Krebs Bikarbonat solüsyonunun içeriği mM/L olarak şu şekildedir: (NaCl 119 mM, KCl 4.7 mM, CaCl_2 2.5 mM, MgCl_2 1 mM, NaHCO_3 25 mM, K_2HPO_4 1.2 mM ve Glukoz 11.0 mM)

Deneylerde Kullanılan İlaçlar:

- Suramin (Sigma)
- Endotelin-1 (Sigma)
- Bradikinin Asetat (Sigma)
- ARG 8 – Vazopressin Asetat (Sigma)
- Sildenafil Sitrat (Fako)
- İndometazin (Sigma)
- Asetilkolin (Sigma)
- Papaverin (Sigma)
- Sodyumnitroprussiyat (Sigma)
- L-NAME (Sigma)
- ODQ (Sigma)

Tüm ilaçlar distile suda çözüldü ve her deney için günlük hazırlandı.

3.6. KASILMA YANITLARI:

3.6.a. KCl Kasılma Yanıtları:

Kontrol grubu, suramin uygulanan preeklampsi grubu ve suramin+sildenafil sitrat uygulanan gruptaki sıçanlardan elde edilen ve organ banyosuna asılan torasik aorta şeritleri 80 mM KCl ile kastırıldı. KCl ile alınan kasılma yanıtları miligram (mg) olarak grafikleildi.

3.6.b. Fenilefrin, Arjinin-Vazopressin ve Endotelin-1 Kasılma Yanıtları:

Her üç gruptaki sıçanlardan elde edilen ve organ banyosuna asılan torasik aorta şeritlerine; fenilefrin (10^{-10} - 10^{-4} M), arjinin-vazopressin (10^{-10} - 10^{-5} M) ve endotelin-1 (10^{-11} - 10^{-6} M) kümülatif olarak ilave edildi ve konsantrasyon-yanıt eğrileri alındı. Her bir konsantrasyondaki kasılma yanıtı dengeye eriştikten sonra bir üst konsantrasyona geçildi. Kontrol grubu, suramin grubu ve suramin+sildenafil sitrat grubunda ilaçlara bağlı olarak oluşan kasılmalar, KCl kasılmasının %'si olarak grafikleildi.

3.7. GEVŞEME YANITLARI:

3.7.a. Sodyum Nitroprussiyat, Asetilkolin ve Bradikinin Gevşeme Yanıtları:

Her 3 gruptaki sıçanlardan elde edilen izole torasik aorta şeritleri submaksimal dozda fenilefrin (10^{-5} M) ile olarak kasıldıktan ve bu kasılma yanıtı dengeye ulaştıktan sonra sodyum nitroprussiyat (10^{-12} - 10^{-7} M), asetilkolin (10^{-11} - 10^{-5} M) ve bradikinin (10^{-10} - 10^{-4} M) gevşeme yanıtları kümülatif olarak alındı. Ayrıca asetilkolin ve bradikinin gevşeme yanıtları her grup için L-NAME (3×10^{-5} M), ODQ (10^{-5} M) ve indometazin (3×10^{-5} M) varlığında tekrar alındı.

Her bir konsantrasyondaki gevşeme yanıtı dengeye eriştikten sonra bir üst konsantrasyona geçildi. Her 3 gruptaki gevşeme yanıtları da fenilefrinin (10^{-5} M) oluşturduğu kasılma yanıtı üzerinden % gevşeme olarak grafiklendi.

3.8. TORASİK AORTA ŞERİTLERİNİN PATOLOJİK DEĞERLENDİRMESİ:

Her 3 gruptaki sıçanlardan alınan doku örnekleri 24-48 saat formaldehit solüsyonu (%10'luk) ile tesbit edildikten sonra, dehidratasyon ve şeffaflandırma yapılarak parafine gömüldü. Parafin bloklardan alınan 5 µm'lik kesitler önce hematoksilin-eozin (HE) boyası ile boyandı. Ayrıca parafin bloklardan 5 µm'lik kesitler hazırlanarak immünohistokimyasal avidin-biotin peroksidaz yöntemi kullanılarak IHK boyası yapıldı. Bu amaçla Faktör VIII antikoru kullanıldı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda X4 ve X40 büyütmeyle damar duvarı ve endotel özellikleri yönünden değerlendirildi. Alınan torasik aorta şeritleri Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda ışık mikroskopunda aynı patolog tarafından değerlendirildi.

3.9. DENEY SONUÇLARININ İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRMESİ:

Kasılma verileri hesaplanırken 80 mM KCl ile elde edilen kasılma cevabı %100 (kontrol) olarak kabul edildi. Fenilefrin, endotelin-1, arjinin-vazopressinin kümülatif konsantrasyonları uygulandıktan sonra elde edilen yanıt bu kasılmanın “%” değişimi olarak hesaplandı.

Gevşeme yanıtları hesaplanırken submaksimal dozda fenilefrin ile indüklenmiş (10^{-5} M) kasılma cevabı referans yanıt (% 100) olarak kabul edildi. SNP, asetilkolin ve bradikininin kümülatif konsantrasyonu uygulandıktan sonra elde edilen gevşemeler bu kasılmanın “%” değişimi olarak hesaplandı.

Deney sonuçları metin içerisinde aritmetik ortalama±standart hata olarak sunuldu. İki deneme arasında fark olup olmadığı tekrarlayıcı ölçüm varyans analizi (ANOVA) ile test edildi. Anlamlı bulunan verilerin grup içi ve gruplararası karşılaştırılması Newman-Keuls Testi ile yapıldı. *p* değerinin <0.05 olması durumunda fark anlamlı kabul edildi.

Agonist ilaçların oluşturduğu maksimum yanıtın %50'sini oluşturmak için gereken konsantrasyon (EC_{50}), her bir deneyin logaritma-konsantrasyon yanıt eğrilerinden elde edildi ve aritmetik ortalama±standart hata olarak gösterildi.

pD_2 değerleri aşağıdaki formüle göre hesaplandı:

$$pD_2 = \log A - \log(E_{max}/E_A - 1)$$

A: Agonist ilacın molar konsantrasyonu

E_{max} : Agonist ilacın oluşturduğu maksimum etki

E_A : Agonist ilacın belirli bir konsantrasyonda oluşturduğu etki

Ayrıca ilaçların oluşturdukları maksimum etkileri her bir deneyden elde edilen verilerin "Scatchard" Denklemine uygulanması ile çizilen grafiklerden saptandı.

3.10. cGMP DÜZEYLERİNİN ÖLÇÜLMESİ:

Her üç deney grubundaki sıçanlardan alınan torasik aorta doku örneklerinde cGMP düzeyleri Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Nükleer Tıp Anabilim Dalı'nda radioimmünoassay (RIA) yöntemi kullanılarak analiz edildi.

Doğum zamanı gelen her üç gruptaki gebe sıçanların ($n=30$) herbirinden 2 adet toplam 60 adet torasik aorta şeriti elde edildi. Şeritler $37^{\circ}C$ 'de (pH 7,4), %95 O_2 ve %5 CO_2 ile sürekli gazlandırılan Krebs bikarbonat tampon çözeltisinde 60 dakika dengelenmeye bırakıldı. İlaçlarla 10 dakika, antagonistlerle 30 dakika, fenilefrin (10^{-5} M, $n=6$), fenilefrin (10^{-5} M) + bradikinin (10^{-5} M) ($n=6$), fenilefrin (10^{-5} M) + bradikinin (10^{-5} M) + L-NAME (3×10^{-5} M) ($n=6$), ve fenilefrin (10^{-5} M) + asetilkolin (10^{-5} M) ($n=6$), fenilefrin (10^{-5} M) + asetilkolin (10^{-5} M) + L-NAME (3×10^{-5} M) ($n=6$) ile inkübe edildi. İnkübasyondan sonra hızlı bir şekilde alınan şeritler sıvı nitrojende donduruldu. Dondurulan şeritler 1 ml %80 etanole transfer edildi. Örnekler etanolle homojenize edildi ve 30 dakika $4^{\circ}C$ 'de inkübe edildi. Daha sonra homojenat hücre debris ve proteinleri çöktürmek için $4^{\circ}C$ 'de 15 dakika $12.000 \times g$ 'de santrifüj edildi. Etanolü uzaklaştırmak için, süpernatantlar temiz deney tüpüne alındı ve $50^{\circ}C$ 'de uçuruldu. Bunun sonucunda kalan materyal cGMP kitinde belirtilen talimatlara göre işlenilerek radioimmünoassay (RIA) yöntemiyle (IBL-Hamburg GmbH, Hamburg, Germany) cGMP düzeyi ölçmek için kullanıldı. Her bir torasik aorta şeridindeki cGMP düzeyi $fmol$ cGMP mg^{-1} proteine standardize edildi.

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1. KASILMA YANITLARI:

4.1.a. KCl KASILMA YANITLARI:

Her üç grupta da 80 mM KCl ile kasılma yanıtları elde edildi. Kontrol ve deney grupları (suramin verilen preeklampsi grubu ve suramin+sildenafil sitrat verilen grup) karşılaştırıldığında, deney gruplarının KCl kasılma yanıtlarının kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık göstermediği saptandı ($p>0.05$) (Tablo 3) (Şekil 2)

4.1.b. FENİLEFRİN KASILMA YANITLARI:

Her üç grupta da izole torasik aorta şeritlerinde fenilefrinin (10^{-10} - 10^{-4} M), konsantrasyona bağlı olarak kasılma meydana getirdiği görüldü. Kontrol ve deney grupları karşılaştırıldığında, deney gruplarının fenilefrin kasılma yanıtlarında, 10^{-9} M konsantrasyondan başlamak üzere tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış izlendi ($p<0.05$). Ayrıca her iki deney grubundaki sıçanlardan alınan torasik aorta şeritlerinde fenilefrin kasılma yanıtları karşılaştırıldığında 10^{-9} M konsantrasyondan başlamak üzere tüm konsantrasyonlarda suramin+sildenafil sitrat grubunun kasılma yanıtlarında preeklampsi grubuna göre anlamlı olarak azalma gözlemlendi ($p<0.05$).

Deney gruplarından alınan torasik aorta şeritlerinde, pD_2 değerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı, E_{maks} değerinde ise anlamlı bir artış olduğu saptandı ($p<0.05$). Her üç grupta da fenilefrin maksimal kasılmayı 10^{-4} M konsantrasyonda yaptı (Tablo 3) (Şekil 3).

4.1.c. ARJİNİN-VAZOPRESSİN KASILMA YANITLARI:

Her üç grupta da izole torasik aorta şeritlerinde arjinin-vazopressinin (10^{-10} - 10^{-5} M), konsantrasyona bağlı olarak kasılma meydana getirdiği görüldü. Kontrol ve deney grupları karşılaştırıldığında, deney gruplarının arjinin-vazopressin kasılma yanıtlarında, 10^{-9} M konsantrasyondan başlamak üzere tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış izlendi ($p<0.05$). Ayrıca her iki deney grubundaki sıçanlardan alınan torasik aorta şeritlerinde arjinin-vazopressin kasılma yanıtları karşılaştırıldığında 10^{-9} M konsantrasyondan başlamak üzere tüm konsantrasyonlarda suramin+sildenafil sitrat grubunun kasılma yanıtlarında preeklampsi grubuna göre anlamlı olarak azalma gözlemlendi ($p<0.05$).

Deney gruplarından alınan torasik aorta şeritlerinde, pD_2 değerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı, E_{maks} değerinde ise anlamlı bir artış olduğu saptandı ($p<0.05$). Her üç grupta da arjinin-vazopressin maksimal kasılmayı 10^{-5} M konsantrasyonda yaptı (Tablo 3) (Şekil 4).

4.1.d. ENDOTELİN-1 KASILMA YANITLARI:

Her üç grupta da izole torasik aorta şeritlerinde endotelin-1'in (10^{-11} - 10^{-6} M), konsantrasyona bağlı olarak kasılma meydana getirdiği görüldü. Kontrol ve deney grupları karşılaştırıldığında, deney gruplarının endotelin-1 kasılma yanıtlarında, 10^{-10} M konsantrasyondan başlamak üzere tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış izlendi ($p<0.05$). Ayrıca her iki deney grubundaki sıçanlardan alınan torasik aorta şeritlerinde endotelin-1 kasılma yanıtları karşılaştırıldığında 10^{-10} M konsantrasyondan başlamak üzere tüm konsantrasyonlarda suramin+sildenafil sitrat grubunun kasılma yanıtlarında preeklampsi grubuna göre anlamlı olarak azalma gözlemlendi ($p<0.05$).

Deney gruplarından alınan torasik aorta şeritlerinde, pD_2 değerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı, E_{maks} değerinde ise anlamlı bir artış olduğu saptandı ($p<0.05$). Her üç grupta da endotelin-1 maksimal kasılmayı 10^{-6} M konsantrasyonda yaptı (Tablo 3) (Şekil 5).

4.2. GEVŞEME YANITLARI:

4.2.a. SODYUM NİTROPRUSSİYAT GEVŞEME YANITLARI:

Her üç grupta da izole torasik aorta şeritleri submaksimal konsantrasyonda 10^{-5} M fenilefrin ile kasıldıktan ve kasılma dengeye ulaştıktan sonra kümülatif konsantrasyonlarda sodyum nitroprussiyat (10^{-12} - 10^{-7}) ile konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtları alındı. Tüm gruplarda sodyum nitroprussiyat gevşeme yanıtlarının herhangi bir konsantrasyonda anlamlı bir farklılık göstermediği bulundu. Ayrıca, deney gruplarından alınan şeritlerdeki sodyum nitroprussiyat gevşeme yanıtlarının E_{maks} ve pD_2 değerlerinin kontrol grubundakilere göre anlamlı bir değişiklik göstermediği saptandı ($p>0.05$). Her üç grupta da sodyum nitroprussiyat, maksimal gevşemeyi 10^{-7} M konsantrasyonda yaptı (Tablo 4) (Şekil 6).

4.2.b. ASETİLKOLİN GEVŞEME YANITLARI:

Her üç grupta da izole torasik aorta şeritleri submaksimal konsantrasyonda 10^{-5} M fenilefrin ile kasıldıktan ve kasılma dengeye ulaştıktan sonra kümülatif konsantrasyonlarda asetilkolin (10^{-11} - 10^{-5} M) ile konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtları alındı. Kontrol ve deney

grupları karşılaştırıldığında, deney gruplarında asetilkolin gevşeme yanıtları 10^{-9} M konsantrasyondan başlamak üzere tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$). Ayrıca her iki deney grubundaki sıçanlardan alınan torasik aorta şeritlerindeki, asetilkolin gevşeme yanıtları kendi aralarında karşılaştırıldığında suramin+sildenafil sitrat grubunda asetilkolin gevşeme yanıtları 10^{-9} M konsantrasyondan başlamak üzere tüm konsantrasyonlarda, suramin grubuna göre anlamlı olarak arttı ($p<0.05$). Deney gruplarından alınan torasik aorta şeritlerinde pD_2 değerleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik bulunmazken, E_{maks} değerlerinde anlamlı bir azalma olduğu saptandı ($p<0.05$). Her üç grupta da asetilkolin maksimal gevşemeyi 10^{-5} M konsantrasyonda yaptı (Tablo 4) (Şekil 7).

Ayrıca; her üç grup için izole torasik aorta şeritleri submaksimal konsantrasyonda 10^{-5} M fenilefrin ile kastırıldıktan ve bu kasılma dengeye ulaştıktan sonra her bir şeritte L-NAME (3×10^{-5} M), ODQ (10^{-5} M) ve indometazin (3×10^{-5} M) varlığında, kümülatif konsantrasyonlarda asetilkolin (10^{-11} - 10^{-5} M) gevşeme yanıtları alındı. Yanıtlar, E_{maks} ve pD_2 değerleri üzerinden değerlendirildi. Her üç gruptaki asetilkolin gevşeme yanıtları, L-NAME, ODQ ve indometazin varlığındaki asetilkolin gevşeme yanıtlarıyla karşılaştırıldığında, antagonist varlığındaki gevşeme yanıtları tek başına asetilkolin yanıtlarına göre anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$). Antagonist varlığında alınan gevşeme yanıtlarında pD_2 değerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı, E_{maks} değerindeyse anlamlı bir azalma olduğu saptandı ($p<0.05$) (Tablo 4) (Şekil 8-10).

4.2.c. BRADİKİNİN GEVŞEME YANITLARI:

Her üç grupta da izole torasik aorta şeritleri submaksimal konsantrasyonda 10^{-5} M fenilefrin ile kastırıldıktan ve kasılma dengeye ulaştıktan sonra kümülatif konsantrasyonlarda bradikinin (10^{-10} - 10^{-4} M) ile konsantrasyona bağlı gevşeme yanıtları alındı. Gevşemeler, E_{maks} ve pD_2 değerleri üzerinden değerlendirildi. Kontrol ve deney grupları karşılaştırıldığında, deney gruplarında bradikinin gevşeme yanıtları 10^{-8} M konsantrasyondan başlamak üzere tüm konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldı ($p<0.05$). Ayrıca her iki deney grubundaki sıçanlardan alınan torasik aorta şeritlerindeki, bradikinin gevşeme yanıtları kendi aralarında karşılaştırıldığında suramin+sildenafil sitrat grubunda bradikinin gevşeme yanıtlarında 10^{-8} M konsantrasyondan başlamak üzere tüm konsantrasyonlarda, suramin grubuna göre anlamlı olarak arttığı gözlemlendi ($p<0.05$). Deney gruplarından alınan torasik aorta şeritlerinde pD_2 değerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı, E_{maks} değerlerindeyse anlamlı bir

azalma olduğu saptandı ($p<0.05$). Her üç grupta da bradikinin maksimal gevşemeyi 10^{-4} M konsantrasyonda yaptı (Tablo 4) (Şekil 11).

Her üç grup için ayrıca izole torasik aorta şeritleri submaksimal konsantrasyonda 10^{-5} M fenilefrin ile kastırıldıktan ve kasılma dengeye ulaşıldıktan sonra her bir şeritte L-NAME (3×10^{-5} M), ODQ (10^{-5} M) ve indometazin (3×10^{-5} M) varlığında, bradikinin (10^{-10} - 10^{-4} M) gevşeme yanıtları tekrar alındı. Gevşemeler, E_{maks} ve pD_2 değerleri üzerinden değerlendirildi. Her üç gruptaki bradikinin gevşeme yanıtları, L-NAME, ODQ ve indometazin varlığındaki gevşeme yanıtlarıyla karşılaştırıldığında, antagonist varlığındaki gevşeme yanıtlarının tek başına bradikinin yanıtlarına göre anlamlı olarak azaldığı bulundu ($p<0.05$). Antagonist varlığında alınan gevşeme yanıtlarında pD_2 değerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı, E_{maks} değerindeyse anlamlı bir azalma olduğu saptandı ($p<0.05$) (Tablo 4) (Şekil 12-14).

4.3. PATOLOJİK DEĞERLENDİRME BULGULARI:

Her üç gruptan da alınan doku örneklerinden yapılan kesilerde, endotelize torasik aorta damar duvarı ve çevre yağ dokusu normal yapıda izlenmekteydi. Tüm doku örneklerinde Faktör VIII antikoru ile pozitif sitoplazmik boyanma gösteren bütünlüğü korunmuş tek sıralı yassılaştırmış endotel hücreleri ile döşeli damar duvarı izlendi (Resim 1-3).

4.4. SIÇANLARDAN ÖLÇÜLEN KAN BASINCI SONUÇLARININ DEĞERLENDİRME BULGULARI:

Her üç gruptaki sıçanların indirekt kan basınçları kuyruk kaf tekniğiyle gebelik öncesi dönemde, preeklampsi öncesi (gebeliğin 9.günü) ve preeklampsi sırasında (gebeliğin 20.günü) ölçüldü. Gebeliğin 20.gününde yapılan ölçümlerde deney grupları (suramin+sildenafil sitrat grubunda daha az olmak üzere) kan basıncı değerlerinde, kontrol grubu kan basıncı değerleriyle karşılaştırıldığında anlamlı bir artma saptandı ($p<0.05$). Suramin ve suramin+sildenafil sitrat deney grupları birbiriyle karşılaştırıldığında suramin+sildenafil sitrat grubunun kan basıncı değerlerinde anlamlı bir azalma saptandı ($p<0.05$) (Tablo 1).

Ayrıca ortalama fetus ağırlıkları karşılaştırıldığında deney grubu ortalama fetus ağırlıklarında (suramin+sildenafil sitrat grubunda daha az olmak üzere) kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma saptandı ($p<0.05$). Deney grubu fetus ağırlıkları karşılaştırıldığında suramin+sildenafil sitrat grubu ortalama fetus ağırlığının preeklampsi grubu ortalama fetus ağırlığına göre anlamlı olarak arttığı saptandı (Tablo 1).

4.5. SIÇANLARIN İDRAR ÖRNEKLERİNDE ÖLÇÜLEN PROTEİN SONUÇLARININ DEĞERLENDİRME BULGULARI:

Her üç gruptaki sıçanlarda gebelik öncesi, preeklampsi öncesi (gebeliğin 9.günü) ve preeklampsi sonrası (gebelik günü 20-21) alınan idrar örneklerinde protein miktarına “Dipstick” yöntemiyle bakıldı. Kontrol grubundaki sıçanlardan alınan idrar örneğinde protein saptanmazken, her iki deney grubu idrar örneklerinde protein saptandı. Deney grupları idrar örneği protein miktarı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$) (Tablo 2).

4.6. SIÇAN TORASİK AORTA DOKU ÖRNEKLERİNDE RIA YÖNTEMİYLE ÖLÇÜLEN cGMP DÜZEYLERİNİN DEĞERLENDİRME BULGULARI:

Her üç grupta doğum zamanı gelen hamile sıçanlardan alınan torasik aorta doku örneklerinde cGMP düzeyleri radioimmünoassay (RIA) yöntemiyle ölçüldü. Suramin grubu cGMP düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma gözlemlendi ($p<0.05$).

Fenilefrin (10^{-5} M), fenilefrin (10^{-5} M) + asetilkolin (10^{-5} M) ve fenilefrin (10^{-5} M) + bradikinin (10^{-5} M) ile inkübe edilen torasik aorta şeritlerinde cGMP düzeyi (fmol/mg) deney gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0.05$).

Fenilefrin (10^{-5} M) + bradikinin (10^{-5} M) + L-NAME (3×10^{-5} M) ve fenilefrin (10^{-5} M) + asetilkolin (10^{-5} M) + L-NAME (3×10^{-5} M) ile inkübe edilen torasik aorta şeritlerinde deney gruplarının cGMP düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir farklılık göstermediği saptandı ($p>0.05$).

Her 3 grupta da, kendi grubundaki fenilefrin + asetilkolin ve fenilefrin + bradikinin ile inkübe edilen torasik aorta şeritlerindeki cGMP düzeyleri, tek başına fenilefrin ile inkübe edilen torasik aorta şeritlerindeki cGMP düzeylerine göre anlamlı bir şekilde artmıştır ($p<0.05$).

Her 3 grupta da, kendi grubundaki fenilefrin + asetilkolin + L-NAME ve fenilefrin + bradikinin + L-NAME ile inkübe edilen torasik aorta şeritlerindeki cGMP düzeyleri, tek başına fenilefrin ile inkübe edilen torasik aorta şeritlerindeki cGMP düzeylerine göre anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0.05$) (Tablo 5) (Şekil 15-20).

Tablo 1: Kuyruk Kaf Yöntemiyle Ölçülen Sistolik Kan Basıncı (mmHg) ve Ortalama Fetus Ağırlıkları					
		Saline/Suramin/Sildenafil Sitrat (i.p.) Öncesi Kan Basıncı		Saline/Suramin/ Sildenafil Sitrat (i.p.) Sonrası Kan Basıncı	Ortalama Fetus Ağırlığı (gr)
Grup	n	Gebelik Öncesi	Gebelik Günü (9)	Gebelik Günü (20)	-
Kontrol Grubu	10	122,30±4,69	112,36±4,78	120,14±2,58	2,487±0,09
Suramin (i.p.) Uygulanan Grup	10	118,64±2,80	108,40±6,17	161,58±4,90*	2,061±0,05 ^a
Suramin ve Sildenafil Sitrat (i.p.) Uygulanan Grup	10	123,76±5,83	107,40±3,08	141,76±1,12**	2,209±0,04 ^b

* :Kontrol ve suramin+sildenafil sitrat grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

** :Kontrol ve preeklampsi grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

a: Kontrol ve suramin+sildenafil sitrat grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

b: Kontrol ve preeklampsi grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

Tablo 2: İdrar Örneklerinde Protein Düzeyi				
Grup	n	Gebelik Öncesi	Gebelik Günü (9)	Gebelik Günü (20-21)
Kontrol Grubu	10	Negatif	Negatif / +	Negatif / +
Suramin (i.p.) Uygulanan Grup	10	Negatif	Negatif / +	++ / +++ (*)
Suramin ve Sildenafil Sitrat (i.p.) Uygulanan Grup	10	Negatif	Negatif / +	++ / +++ (*)

* : Kontrol grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

Tablo 3: İzole Sıçan Torasik Aorta Şeritlerinde Maksimum Kasılma (E_{maks}) ve pD_2 Değerleri
(aritmetik ort. \pm SH)

İlaç		Kontrol Grubu (n=10)	Preeklampsi Grubu (n=10)	Suramin+sildenafil sitrat Grubu (n=10)
KCl	Emaks (mg)	1396 \pm 168	1572 \pm 224	1508 \pm 204
Fenilefrin	Emaks (%) pD_2	107,6 \pm 8,0 6,88 \pm 0,08	172,0 \pm 7,6* 7,20 \pm 0,11	144,6 \pm 8,9** 7,12 \pm 0,10
AVP	Emaks (%) pD_2	90,2 \pm 8,3 7,16 \pm 0,07	144,7 \pm 8,8* 6,96 \pm 0,07	116,2 \pm 8,0** 7,12 \pm 0,08
Endotelin	Emaks (%) pD_2	120,7 \pm 7,6 8,2 \pm 0,12	190,8 \pm 8,1* 8,18 \pm 0,09	156,6 \pm 8,3** 8,14 \pm 0,10

* :Kontrol ve suramin+sildenafil sitrat grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$)

** :Kontrol ve preeklampsi grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$)

Tablo 4: İzole Sıçan Torasik Aorta Şeritlerinde Maksimum Gevşeme (E_{maks}) ve pD_2 Değerleri (aritmetik ort. \pm SH)

İlaç		Kontrol Grubu (n=10)	Preeklampsi Grubu (n=10)	Suramin+sildenafil sitrat Grubu (n=10)
SNP	Emaks (%) pD_2	100,0 \pm 0.0 9,84 \pm 0,06	100,0 \pm 0.0 9,72 \pm 0,06	100,0 \pm 0.0 9,80 \pm 0,08
Asetilkolin	Emaks (%) pD_2	94,6 \pm 3,7 7,08 \pm 0,11	57,2 \pm 5,0* 7,16 \pm 0,10	73,5 \pm 4,5** 7,22 \pm 0,08
L-NAME + Asetilkolin	Emaks (%) pD_2	47,8 \pm 5,0 ^a 7,32 \pm 0,08	27,8 \pm 4,6 ^b 7,12 \pm 0,07	42,4 \pm 4,6 ^c 7,26 \pm 0,08
ODQ + Asetilkolin	Emaks (%) pD_2	40,1 \pm 5,2 ^a 7,02 \pm 0,10	24,8 \pm 5,2 ^b 6,96 \pm 0,07	38,5 \pm 4,9 ^c 7,20 \pm 0,10
İndometazin + Asetilkolin	Emaks (%) pD_2	57,8 \pm 4,9 ^a 7,24 \pm 0,07	34,2 \pm 5,4 ^b 7,16 \pm 0,08	46,0 \pm 4,8 ^c 7,30 \pm 0,07
Bradikinin	Emaks (%) pD_2	83,4 \pm 4,0 6,42 \pm 0,09	50,5 \pm 5,1* 6,26 \pm 0,07	68,8 \pm 4,7** 6,34 \pm 0,08
L-NAME + Bradikinin	Emaks (%) pD_2	42,3 \pm 5,0 ^d 6,30 \pm 0,10	28,8 \pm 4,7 ^e 6,12 \pm 0,11	34,4 \pm 4,8 ^f 6,26 \pm 0,09
ODQ + Bradikinin	Emaks (%) pD_2	39,7 \pm 5,1 ^d 6,18 \pm 0,08	26,5 \pm 5,2 ^e 6,24 \pm 0,06	33,4 \pm 5,7 ^f 6,28 \pm 0,08
İndometazin + Bradikinin	Emaks (%) pD_2	48,3 \pm 4,8 ^d 6,40 \pm 0,10	32,4 \pm 4,2 ^e 6,28 \pm 0,08	41,1 \pm 5,0 ^f 6,32 \pm 0,08

* :Kontrol ve suramin+sildenafil sitrat grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

** :Kontrol ve preeklampsi grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

a:Kendi grubundaki tek başına asetilkolin cevabından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

b: Kendi grubundaki tek başına asetilkolin cevabından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

c: Kendi grubundaki tek başına asetilkolin cevabından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

d: Kendi grubundaki tek başına bradikinin cevabından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

e: Kendi grubundaki tek başına bradikinin cevabından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

f: Kendi grubundaki tek başına bradikinin cevabından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

Tablo 5: İzole Sıçan Torasik Aorta Şeritlerinde cGMP Değerleri (aritmetik ort. ± SH)			
İlaç	Kontrol Grubu (n=20)	Preeklampsi Grubu (n=20)	Suramin+sildenafil sitrat Grubu (n=20)
Fenilefrin (10^{-5} M)	35,4±4,5	18,2±3,9*	28,6±4,3**
Fenilefrin (10^{-5} M) + Asetilkolin (10^{-5} M)	69,2±5,0 ^a	35,6±4,4 ^b	47,2±4,3 ^c
Fenilefrin (10^{-5} M) + Asetilkolin (10^{-5} M) + L-NAME (3×10^{-5} M)	7,4±1,7 ^d	5,9±1,5 ^d	3,9±1,2 ^d
Fenilefrin (10^{-5} M) + Bradikinin (10^{-5} M)	65,05±5,7 ^e	30,8±4,2 ^f	45,6±4,6 ^g
Fenilefrin (10^{-5} M) + Bradikinin (10^{-5} M) + L-NAME (3×10^{-5} M)	5,2±1,4 ^h	4,6±1,2 ^h	5,7±1,6 ^h

* : Kontrol ve suramin+sildenafil sitrat grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

** : Kontrol ve preeklampsi grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

a: Kendi grubundaki tek başına fenilefrin varlığında cGMP değerlerinden farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

b: Kendi grubundaki tek başına fenilefrin varlığında cGMP değerlerinden farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

c: Kendi grubundaki tek başına fenilefrin varlığında cGMP değerlerinden farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

d: Kendi grubundaki tek başına fenilefrin varlığında cGMP değerlerinden farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

e: Kendi grubundaki tek başına fenilefrin varlığında cGMP değerlerinden farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

f: Kendi grubundaki tek başına fenilefrin varlığında cGMP değerlerinden farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

g: Kendi grubundaki tek başına fenilefrin varlığında cGMP değerlerinden farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

h: Kendi grubundaki tek başına fenilefrin varlığında cGMP değerlerinden farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

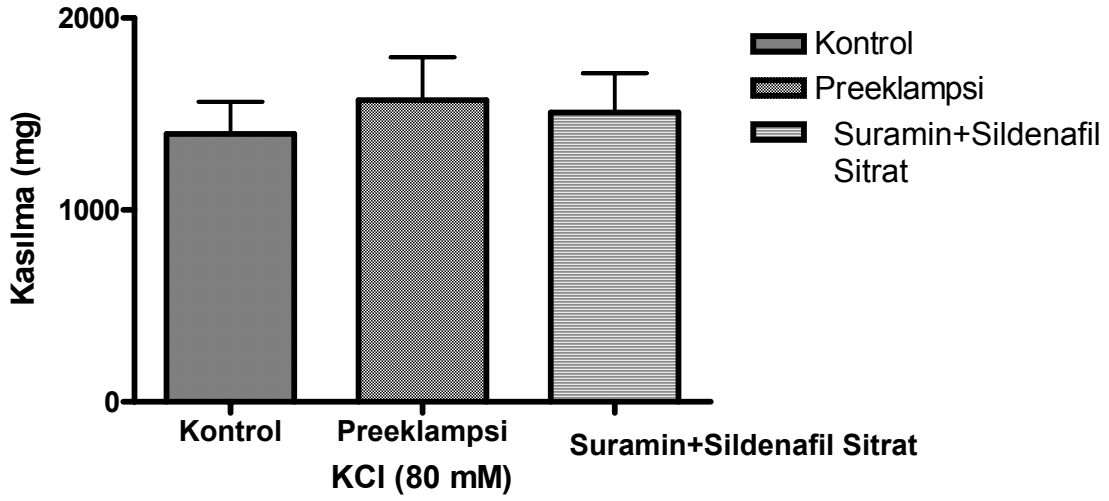
b: Kontrol ve suramin+sildenafil sitrat grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

c: Kontrol ve preeklampsi grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

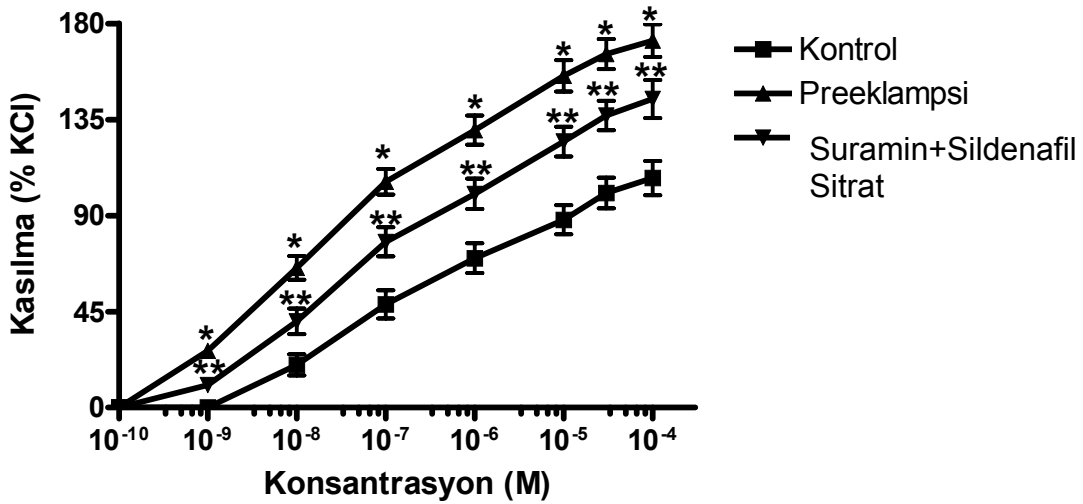
f: Kontrol ve suramin+sildenafil sitrat grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

g: Kontrol ve preeklampsi grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

GRAFİKLER



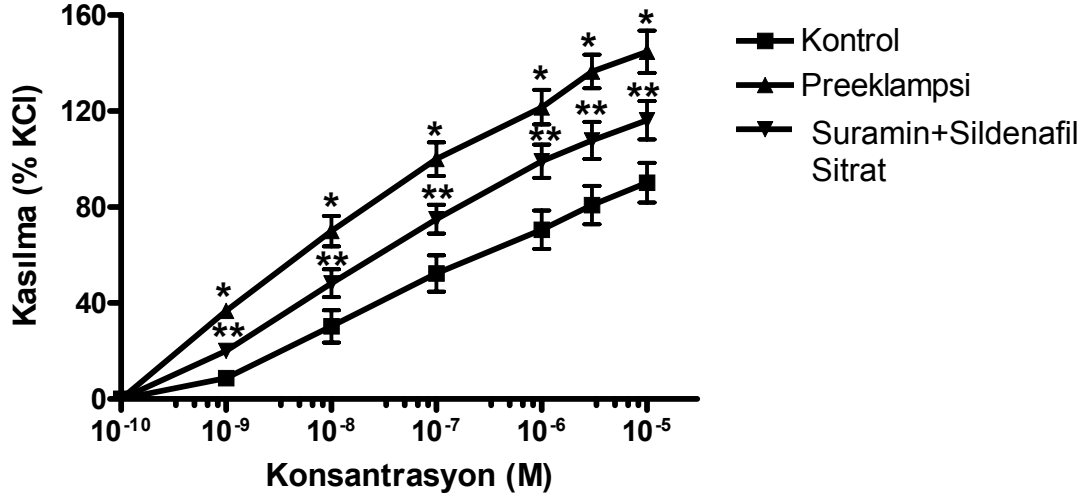
Şekil 2: İzole sıçan torasik aorta şeritlerinde 80 mM KCL kasılma yanıtları.



Şekil 3: İzole sıçan torasik aorta şeritlerinde Fenilefrin konsantrasyon yanıt eğrileri (ortalama±SH).

* : Kontrol ve suramin+sildenafil sitrat grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

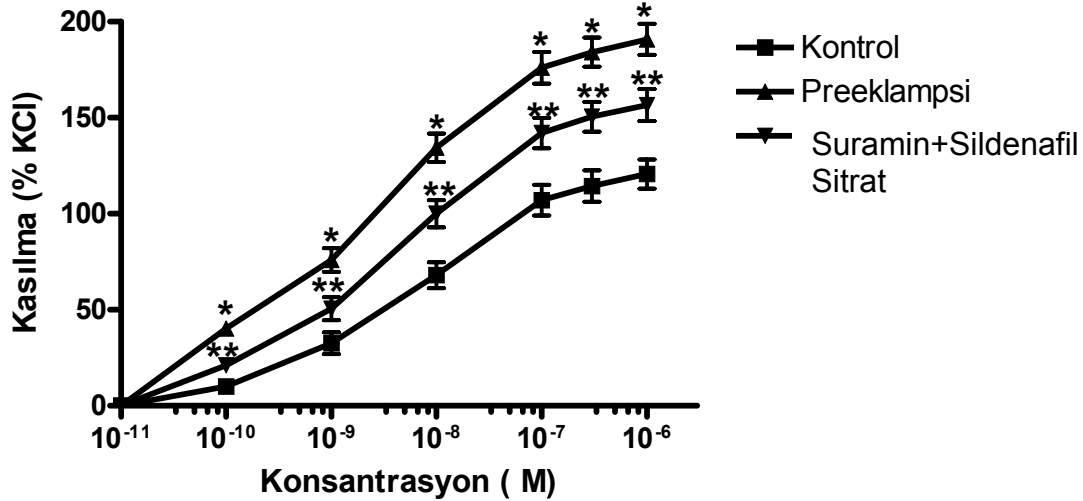
** : Kontrol ve preeklampsi grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)



Şekil 4: İzole sıçan torasik aorta şeritlerinde Arjinin-Vazopressin konsantrasyon yanıt eğrileri (ortalama±SH).

* : Kontrol ve suramin+sildenafil sitrat grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

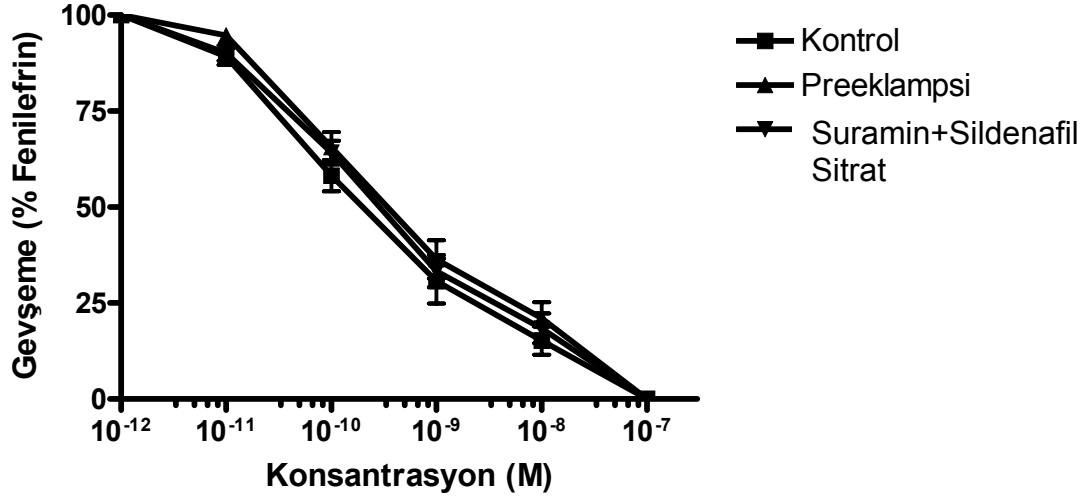
** : Kontrol ve preeklampsi grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)



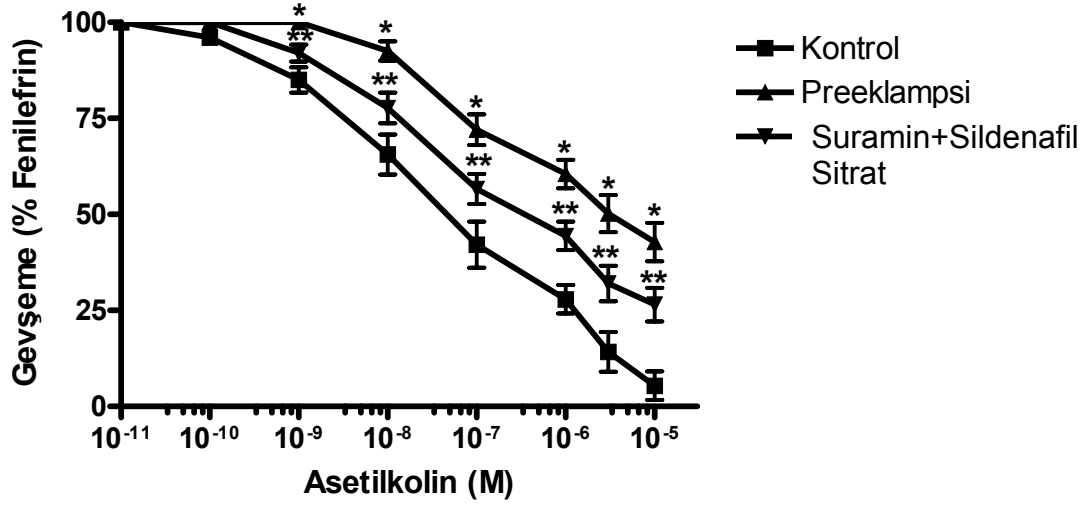
Şekil 5: İzole sıçan torasik aorta şeritlerinde Endotelin-1 konsantrasyon yanıt eğrileri (ortalama±SH).

* : Kontrol ve suramin+sildenafil sitrat grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

** : Kontrol ve preeklampsi grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)



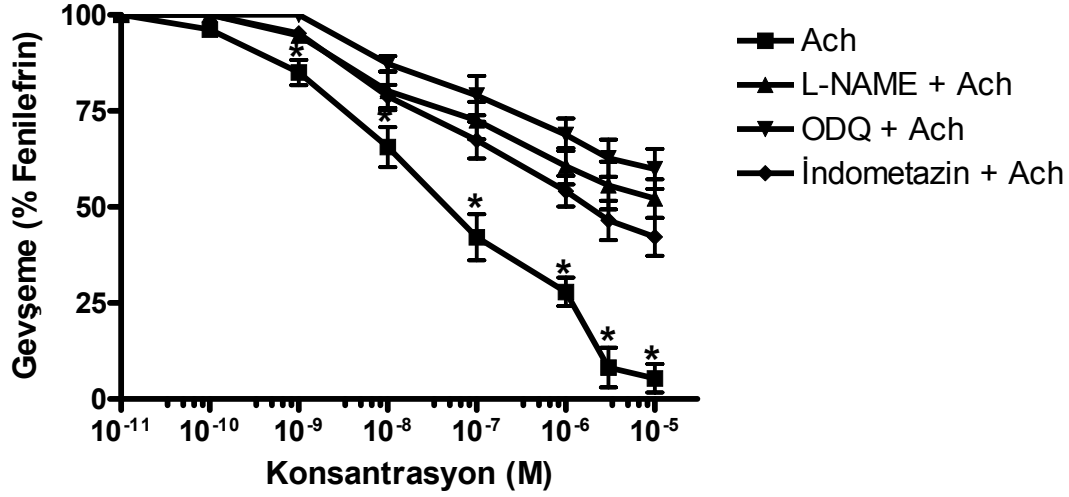
Şekil 6: 10⁻⁵ M Fenilefrin ile kastrılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Sodyum Nitroprussiyat konsantrasyon yanıt eğrileri (ortalama±SH).



Şekil 7: 10⁻⁵ M Fenilefrin ile kastrılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Asetilkolin konsantrasyon yanıt eğrileri (ortalama±SH).

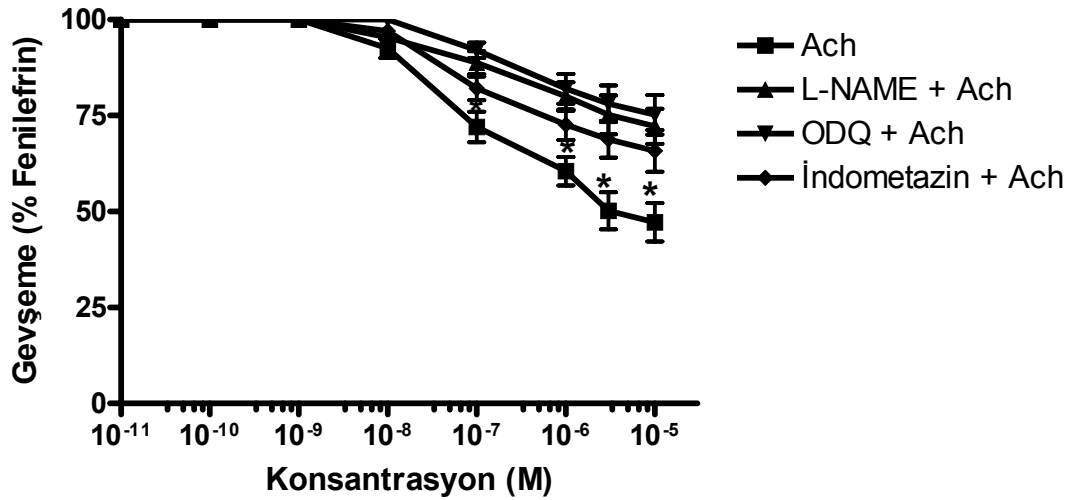
* : Kontrol ve suramin+sildenafil sitrat grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)

** : Kontrol ve preeklampsi grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05)



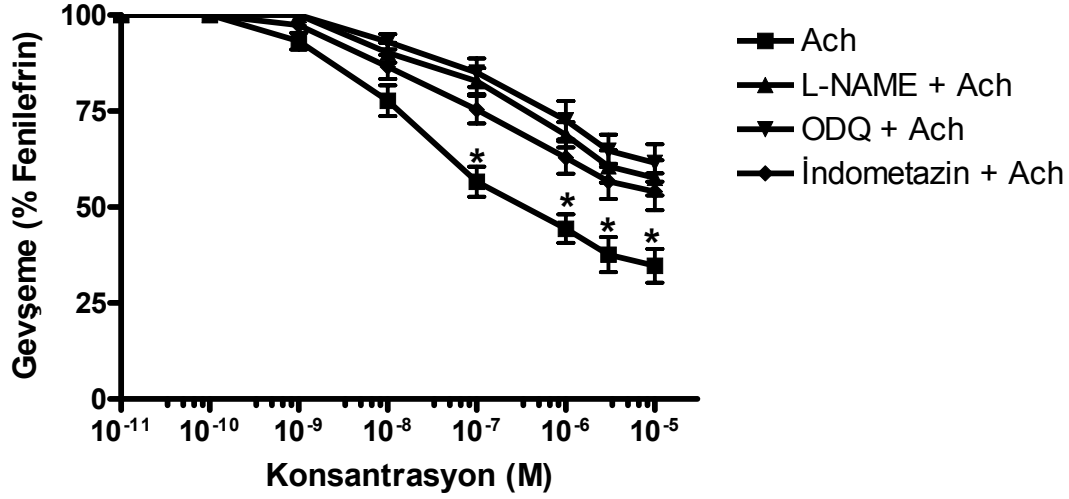
Şekil 8: Kontrol grubunda 10^{-5} M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Asetilkolin (Ach), L-NAME + Ach, ODQ+Ach, İndometazin+Ach konsantrasyon yanıt eğrileri (ortalama±SH).

* : Kontrol grubunda Asetilkolin gevşeme yanıtları L-NAME, ODQ ve İndometazin varlığındaki gevşeme yanıtlarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).



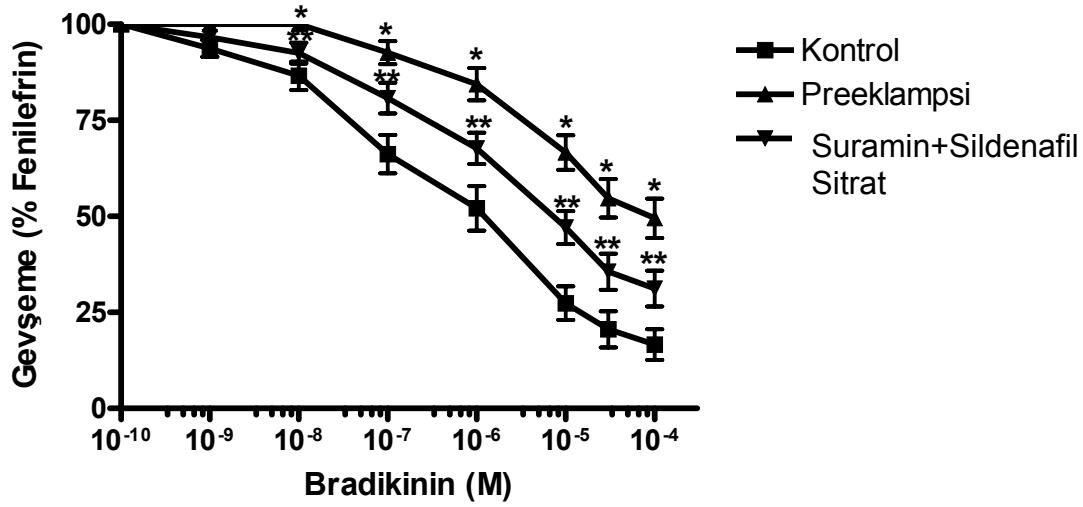
Şekil 9: Preeklampsi grubunda 10^{-5} M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Asetilkolin (Ach), L-NAME + Ach, ODQ+Ach, İndometazin+Ach konsantrasyon yanıt eğrileri (ortalama±SH).

* : Preeklampsi grubunda Asetilkolin gevşeme yanıtları L-NAME, ODQ ve İndometazin varlığındaki gevşeme yanıtlarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).



Şekil 10: Suramin+sildenafil sitrat grubunda 10^{-5} M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Asetilkolin (Ach), L-NAME + Ach, ODQ+Ach, İndometazin+Ach konsantrasyon yanıt eğrileri (ortalama±SH).

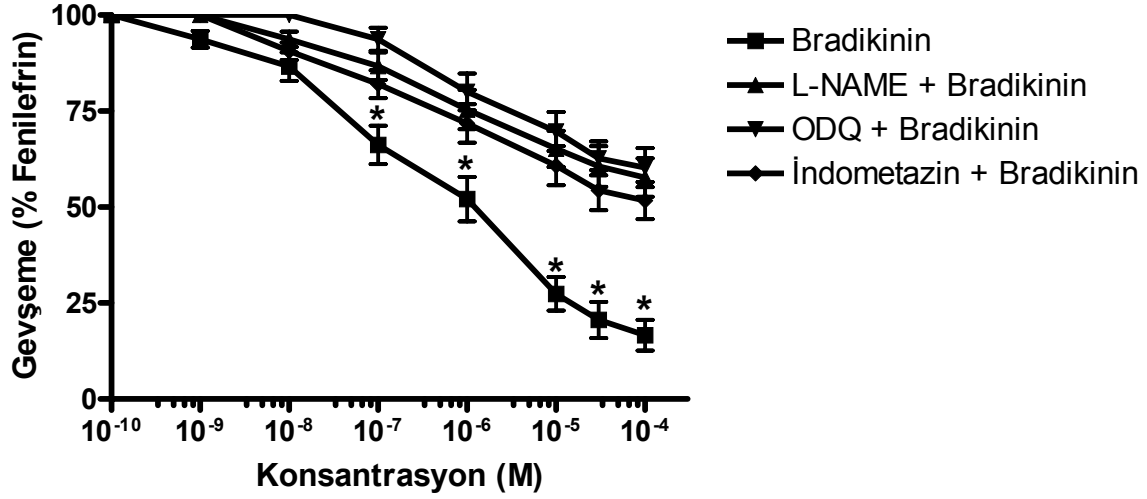
* : Suramin+sildenafil sitrat grubunda Asetilkolin gevşeme yanıtları L-NAME, ODQ ve İndometazin varlığındaki gevşeme yanıtlarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).



Şekil 11: 10^{-5} M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Bradikinin konsantrasyon yanıt eğrileri (ortalama±SH).

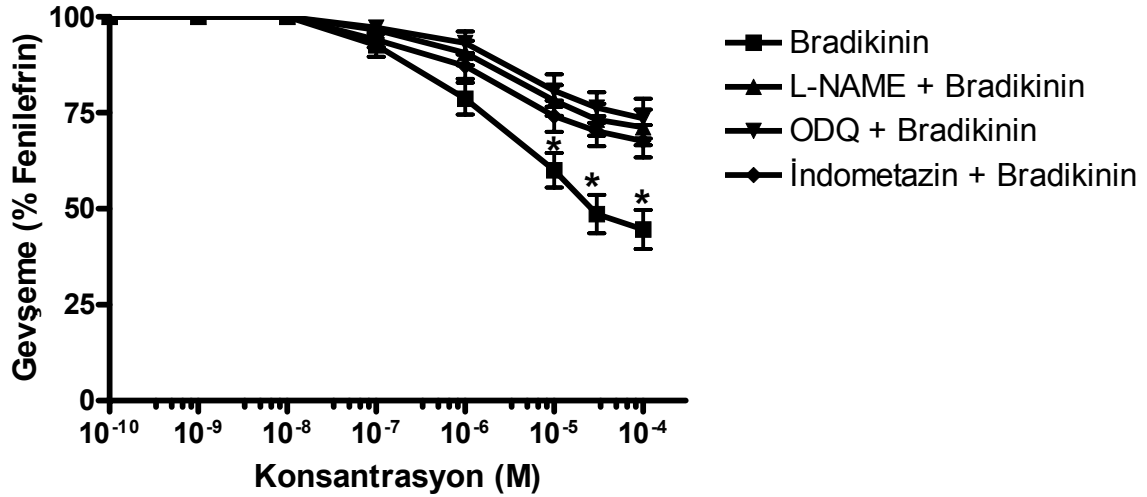
* : Kontrol ve suramin+sildenafil sitrat grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$)

** : Kontrol ve preeklampsi grubundan farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$)



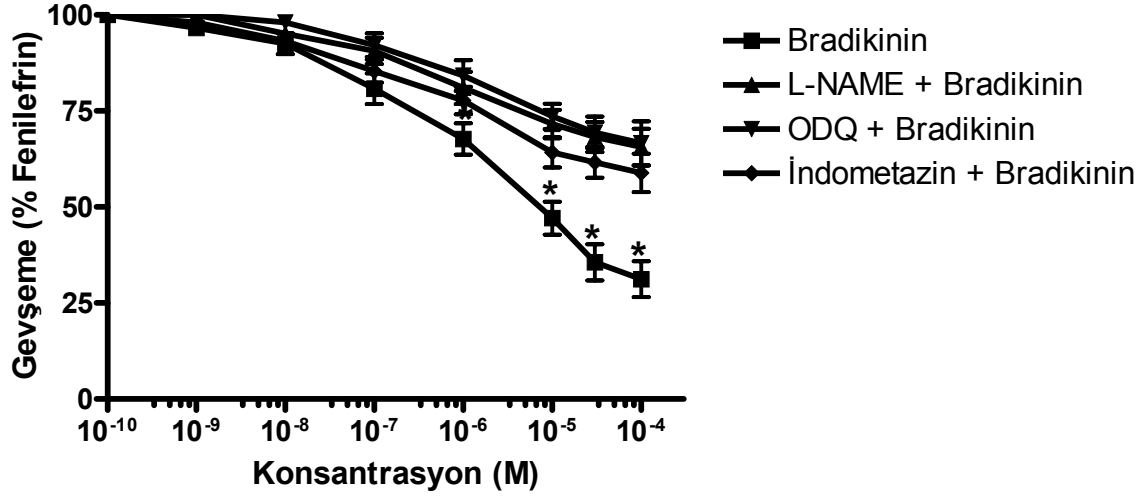
Şekil 12: Kontrol grubunda 10⁻⁵ M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Bradikinin, L-NAME + Bradikinin, ODQ+Bradikinin, İndometazin+Bradikinin konsantrasyon yanıt eğrileri (ortalama±SH).

* : Kontrol grubunda Bradikinin gevşeme yanıtları L-NAME, ODQ ve İndometazin varlığındaki gevşeme yanıtlarından farklı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).



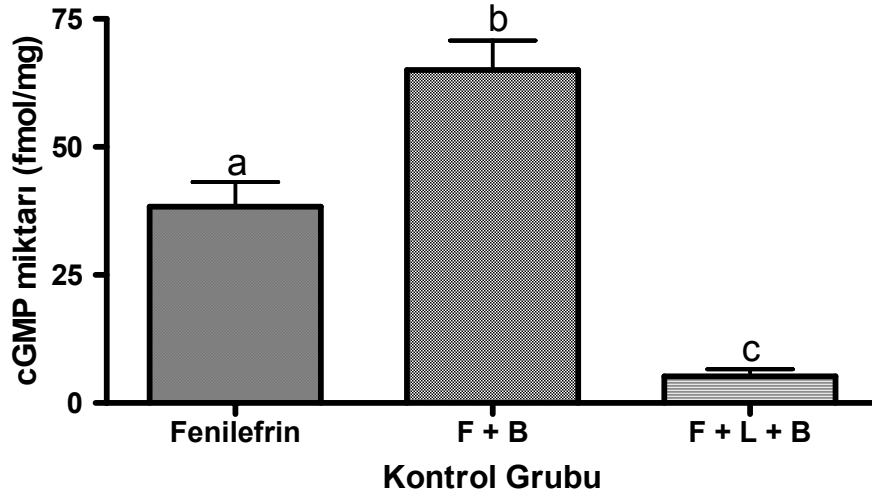
Şekil 13: Preeklampsi grubunda 10⁻⁵ M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Bradikinin, L-NAME + Bradikinin, ODQ+Bradikinin, İndometazin+Bradikinin konsantrasyon yanıt eğrileri (ortalama±SH).

* : Preeklampsi grubunda Bradikinin gevşeme yanıtları L-NAME, ODQ ve İndometazin varlığındaki gevşeme yanıtlarından farklı istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).



Şekil 14: Suramin+sildenafil sitrat grubunda 10^{-5} M Fenilefrin ile kastırılmış izole sıçan torasik aorta şeritlerinde Bradikinin, L-NAME + Bradikinin, ODQ+Bradikinin, İndometazin+Bradikinin konsantrasyon yanıt eğrileri (ortalama \pm SH).

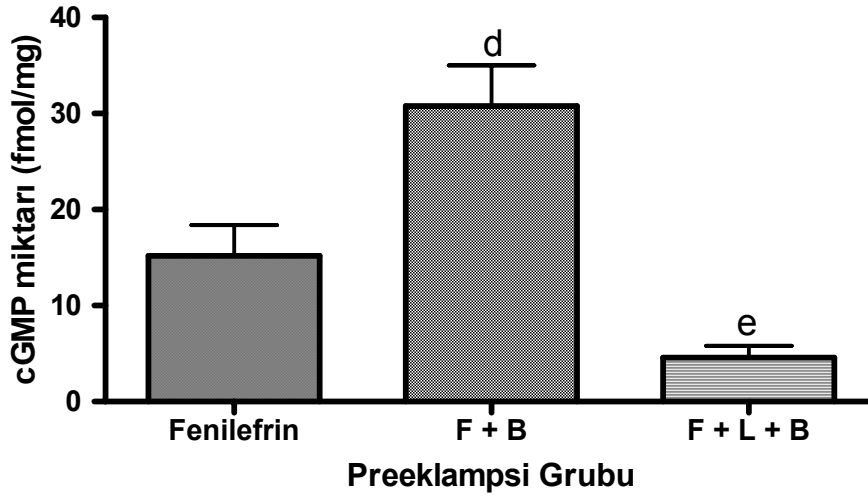
* : Suramin+sildenafil sitrat grubunda Bradikinin gevşeme yanıtları L-NAME, ODQ ve İndometazin varlığındaki gevşeme yanıtlarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).



Şekil 15: Kontrol grubunda izole edilen sıçan torasik aorta şeritlerinde Fenilefrin (10^{-5} M), Fenilefrin+Bradikinin ve Fenilefrin+Bradikinin+L-NAME varlığında cGMP düzeyleri (fmol/mg).

b: Tek başına Fenilefrin ve Fenilefrin+Bradikinin+L-NAME varlığındaki cGMP miktarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

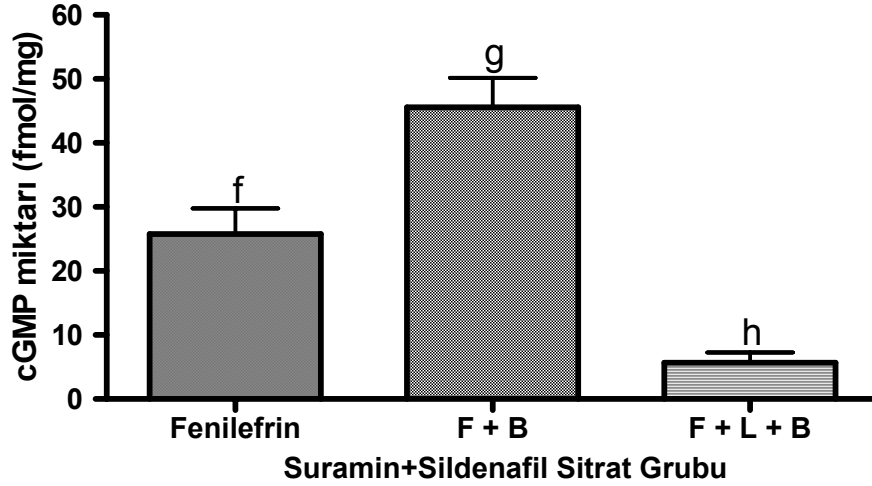
c: Tek başına Fenilefrin ve Fenilefrin+Bradikinin varlığındaki cGMP miktarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).



Şekil 16: Preeklampsi grubunda izole edilen sıçan torasik aorta şeritlerinde Fenilefrin (10^{-5} M), Fenilefrin+Bradikinin ve Fenilefrin+Bradikinin+L-NAME varlığında cGMP düzeyleri (fmol/mg).

d: Tek başına Fenilefrin ve Fenilefrin+Bradikinin+L-NAME varlığındaki cGMP miktarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

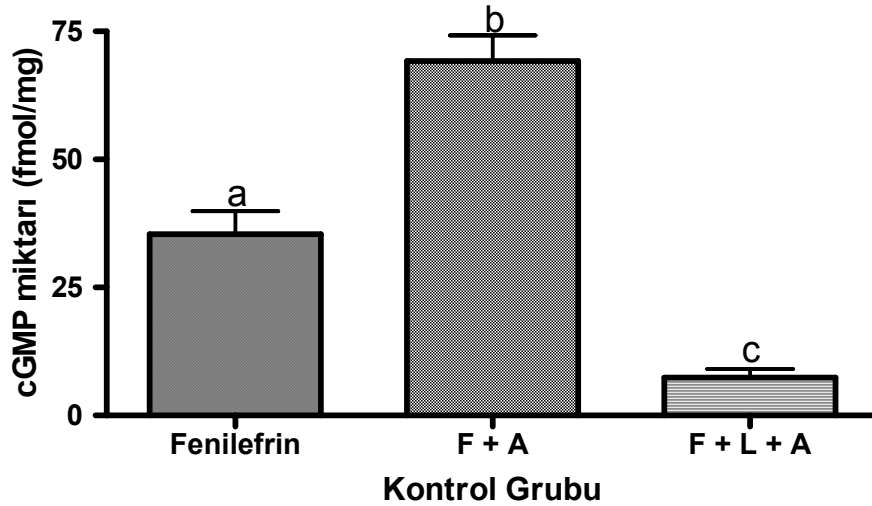
e: Tek başına Fenilefrin ve Fenilefrin+Bradikinin varlığındaki cGMP miktarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).



Şekil 17: Suramin+sildenafil sitrat grubunda izole edilen sıçan torasik aorta şeritlerinde Fenilefrin (10^{-5} M), Fenilefrin+Bradikinin ve Fenilefrin+Bradikinin+L-NAME varlığında cGMP düzeyleri (fmol/mg).

g: Tek başına Fenilefrin ve Fenilefrin+Bradikinin+L-NAME varlığındaki cGMP miktarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

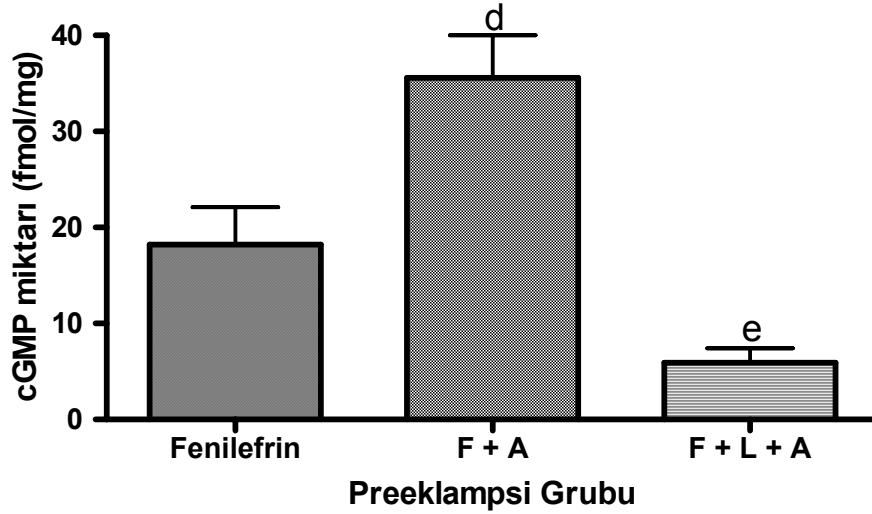
h: Tek başına Fenilefrin ve Fenilefrin+Bradikinin varlığındaki cGMP miktarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).



Şekil 18: Kontrol grubunda izole edilen sıçan torasik aorta şeritlerinde Fenilefrin (10^{-5} M), Fenilefrin+Asetilkolin ve Fenilefrin+Asetilkolin+L-NAME varlığında cGMP düzeyleri (fmol/mg).

b: Tek başına Fenilefrin ve Fenilefrin+asetilkolin+L-NAME varlığındaki cGMP miktarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).

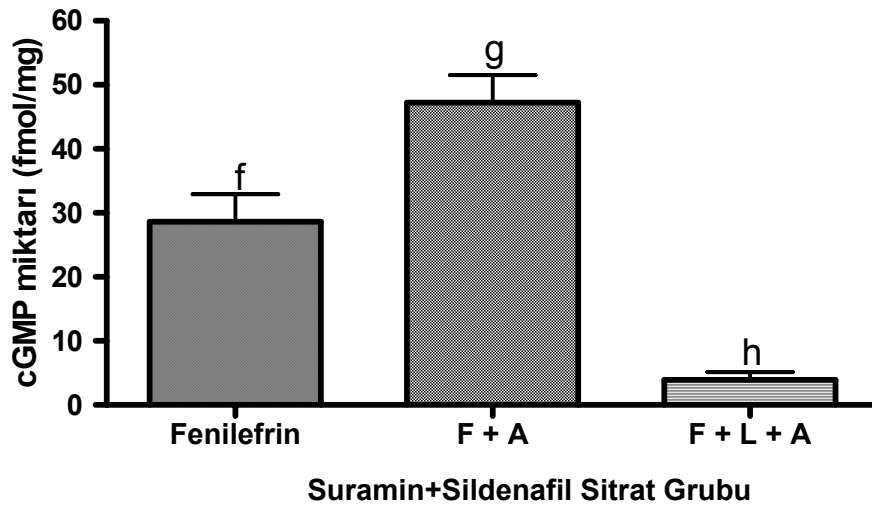
c: Tek başına Fenilefrin ve Fenilefrin+Asetilkolin varlığındaki cGMP miktarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.05$).



Şekil 19: Preeklampsia grubunda izole edilen sıçan torasik aorta şeritlerinde Fenilefrin (10^{-5} M), Fenilefrin+Asetilkolin ve Fenilefrin+Asetilkolin+L-NAME varlığında cGMP düzeyleri (fmol/mg).

d: Tek başına Fenilefrin ve Fenilefrin+asetilkolin+L-NAME varlığındaki cGMP miktarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

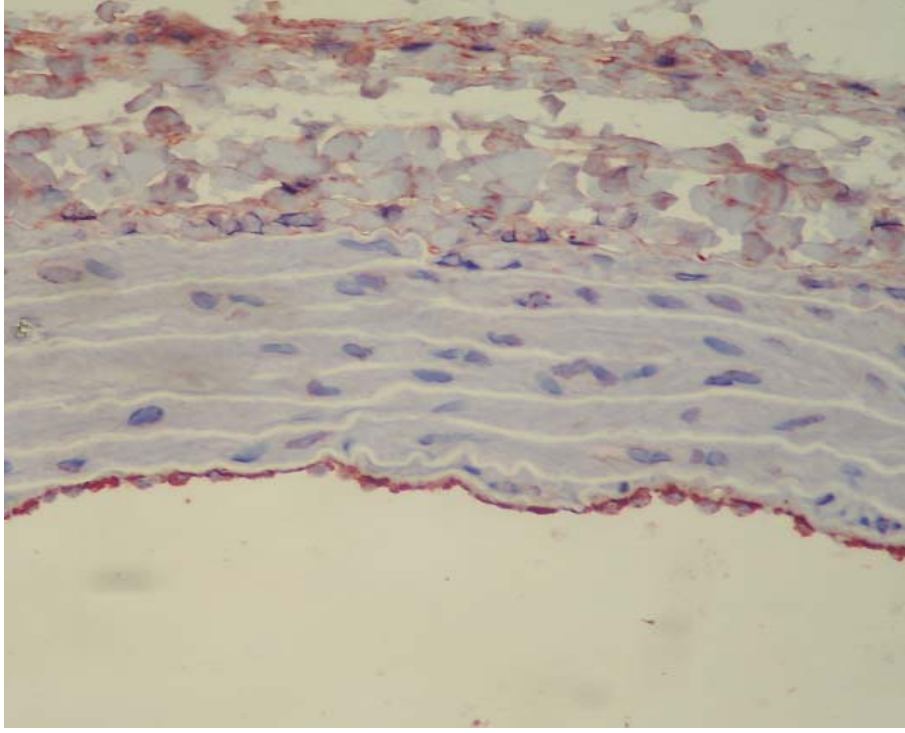
e: Tek başına Fenilefrin ve Fenilefrin+Asetilkolin varlığındaki cGMP miktarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).



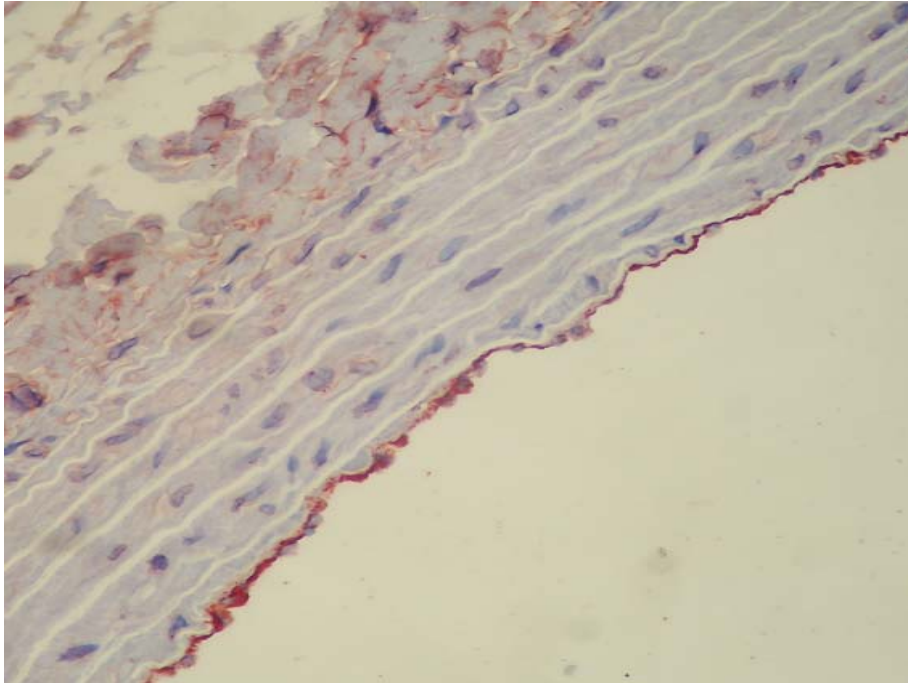
Şekil 20: Suramin+sildenafil sitrat grubunda izole edilen sıçan torasik aorta şeritlerinde Fenilefrin (10^{-5} M), Fenilefrin+Asetilkolin ve Fenilefrin+Asetilkolin+L-NAME varlığında cGMP düzeyleri (fmol/mg).

g: Tek başına Fenilefrin ve Fenilefrin+asetilkolin+L-NAME varlığındaki cGMP miktarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).

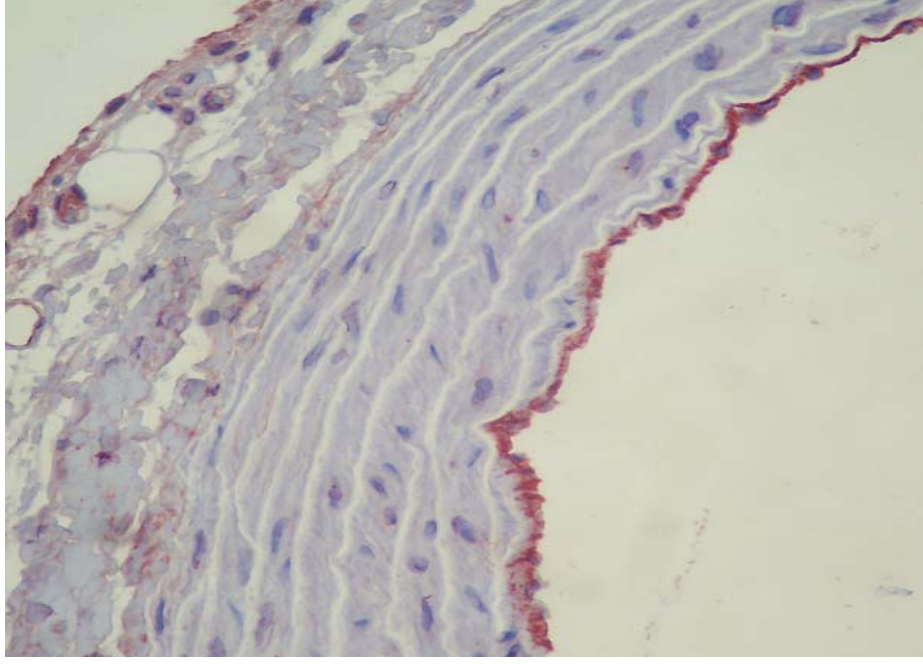
h: Tek başına Fenilefrin ve Fenilefrin+Asetilkolin varlığındaki cGMP miktarından farkı istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.05$).



Resim 1: Kontrol grubuna ait sıçan torasik aortasında Faktör VIII antikoruna ile pozitif stoplazmik boyanma gösteren tek sıralı yassılaşımiş endotel hücreleri ile döşeli damar duvarı (İHK; X40)



Resim 2: Preeklampsi grubuna ait sıçan torasik aortasında Faktör VIII antikoruna ile pozitif stoplazmik boyanma gösteren tek sıralı yassılaşımiş endotel hücreleri ile döşeli damar duvarı (İHK; X40)



Resim 3: Suramin+sildenafil sitrat grubuna ait sıçan torasik aortasında Faktör VIII antikoruna ile pozitif stoplazmik boyanma gösteren tek sıralı yassılaşımiş endotel hücreleri ile döşeli damar duvarı (İHK; X40)

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Her yıl gebeliğe bağlı hastalıklar nedeniyle birçok kadın yaşamını kaybetmektedir. Bu hastalıklardan biri olan preeklampsi organ perfüzyonunda azalmayla seyreden gebeliğe özgü bir bozukluktur. Preeklampsi gebeliğin sonlanmasıyla ortadan kalkmaktadır [11].

Preeklampsi, kan basıncı yüksekliği ve proteinüri içeren bir sendrom olarak tanımlanmaktadır. Gebeliğin başlangıcında kan basıncı normal olan bir hastada 20.gebelik haftasından sonra altı saat ara ile ölçülen iki farklı kan basıncı ölçümünün 140/90 mmHg üzerinde olması hipertansiyon açısından tanı koydurucudur. Proteinüri ise idrarda 24 saatte 300 mg ya da daha fazla proteinin olması veya spot idrar örneğinde 30 mg/dl (1+ dipstick) proteinin bulunması durumudur [12]. Serum kolloid onkotik basıncının düşmesi ve kapiller geçirgenliğin artması ile oluşan ödem ise yaygındır. Ancak günümüzde birçok normal gebe kadında görüldüğü için tanısız kriter olmaktan çıkmıştır [4].

Hamilelerin yaklaşık %5'inde görülebilen önemli bir hastalık olan preeklampsinin gelişiminde pek çok risk faktörü tanımlanmıştır. Nulliparite, siyah ırk, çoğul gebelik, kronik hipertansiyon, maternal yaş, obezite, önceki gebeliğinde preeklampsi, pregestasyonel diabet, molar gebelik, ailesel preeklampsi veya eklampsi öyküsünün olması gibi pek çok durumda preeklampsi insidansı artmaktadır [15].

Preeklampsinin fizyopatolojisi ve etiyolojisi konusunda bilgiler oldukça sınırlıdır. Yetersiz trofoblastik invazyon ve gelişen hemokonsantrasyon plasental perfüzyonu bozmaktadır [17,18]. Bugüne kadar elde edilen bilgiler endotelial disfonksiyonun hem vasküler yanıtı hem de intravasküler koagülasyonu değiştirerek preeklampsinin patojenezinde önemli rol oynadığını düşündürmektedir [19].

Preeklampsik hastalarda süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit gibi serbest radikaller artarken, antioksidan sistemin en önemli bileşenlerinden olan askorbik asit ve E-vitamini düzeyinde azalma olmaktadır. Endotel hasarına neden olan serbest radikaller NO'nun endotel hücreler tarafından üretimini azaltır ve prostaglandin dengesini bozar. Bu durum gebeliğe bağlı hipertansif bozuklukların önlenmesinde antioksidan tedavinin potansiyel yararına yönelik ilgiyi artırmıştır [4]. Preeklampsik kadınlarda immünolojik fonksiyonlarda da değişiklik olduğu gösterilmiştir. Genellikle ilk gebeliklerinde preeklampsinin gözlenmesi abortusla sonuçlansa bile, önceki gebeliklerin preeklampsiye karşı koruyucu olması fetal antijenlerle maternal karşılaşmanın yararlı etkisi olduğunu göstermiştir [27].

Preeklampsi ve eklampsinin kalıtsal olabileceği yönünde çalışmalar vardır. Anne ve kız kardeşte preeklampsi varlığında hastalığın görülme riski artar [29]. Gebelikte hipertansiyon, glukoz ve lipid düzeyleri arasında ilişki olabileceği belirtilmektedir. Gestasyonel diabetli gebelerde daha belirgin olmak üzere hipertansiyon riskinin artmış olduğu bazı çalışmalarda rapor edilmiştir [31,32].

Preeklampsi hem maternal hem de fetal ölüme yol açabilen önemli bir hastalıktır. Plasental yetmezliğe bağlı olarak intrauterin gelişme geriliği, prematüre doğum, plasentanın erken ayrılması ve oligohidramniyoz gelişebilir. Plasentanın erken ayrılmasına bağlı perinatal ölüm ve fetal asfiksi görülebilir [45]. Preeklampside anne için sözkonusu olan riskler; serebral kanama, kortikal körlük, retina dekolmanı, akciğer ödemi, hepatik rüptür, dissemine intravasküler koagülasyon, akut renal kortikal tübüler nekroz ve dekolmandır [45].

Preeklampsinin gelişmesini önlemek ve insidansını azaltmak için birçok klinik çalışma yapılmıştır. Ancak hastalığın etiolojisinin multifaktöriyel olması ve tam olarak bilinmemesi nedeniyle yapılan tedavilerin hiçbiri hastalığı önlemede tam olarak etkili olamamıştır [5].

Preeklampsi için geliştirilen hayvan modelleri hastalığın etiolojisi ve patolojisinin açıklanması açısından önemli bir değer taşımaktadır. Preeklampsi için pek çok hayvan modeli geliştirilmesine rağmen, bunların hiçbiri hastalığın bütün klinik özelliklerini oluşturmada başarılı olamamıştır. Günümüzde halen kullanılan preeklampsi hayvan modellerine örnek olarak, uteroplazental iskemi modeli, kronik NO sentaz inhibisyonu, adriamisin nefropati modeli, kronik stres, sempatik hiperstimülasyon, Na⁺/K⁺ ATPaz inhibitörü, Marinobufagenin (MBG) uygulanması, endotoksin infüzyonu, suramin uygulanması gibi deneyler yapılmıştır. Suraminle sıçanlarda preeklampsi oluşturulması kabul görmüş bir yöntemdir [74,112]. Suramin rodentlerde anjiyojenezisin potent inhibitörüdür ve bu nedenle bu yöntemde suraminin uterusu anjiyojenezisi inhibe ederek plasentasyonu etkilediği düşünülmektedir [74]. Bu çalışmada literatürde preeklampsinin pek çok klinik özelliğini oluşturmada başarılı olduğu belirtilen suramin ile sıçanlarda preeklampsi modeli oluşturuldu.

Bu çalışmada; (a) sıçanlarda suraminle oluşturulan preeklampsi modelinde kasılma ve endotel-aracılı gevşeme yanıtları oluşturan farklı ilaçlar kullanılarak preeklampsi modellemesinin damar düz kas yanıtları üzerine etkisi, (b) fosfodiesteraz inhibisyonunun preeklampsi modelinde koruyucu ve tedavi edici etkisinin olup olmadığı ve (c) siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeyleri ölçmek suretiyle reseptör sonrası olaylarda bir değişiklik olup olmadığı araştırıldı.

Preeklampsi, annede artan kan basıncı ve proteinüri, bebekte ise genellikle bunlara eşlik eden büyüme geriliğiyle karakterize bir hastalık olması nedeniyle çalışmada her üç

gruptaki sıçanların kan basınçları ölçüldü, idrar örneklerinde protein miktarlarına bakıldı ve fetus ağırlıkları tartılarak kaydedildi.

Her üç gruptaki sıçanların indirekt kan basınçları kuyruk kaf yöntemiyle ölçüldü [110]. Gebeliğin 20.gününde yapılan ölçümlerde deney grupları kan basıncı değerlerinde, kontrol grubu kan basıncı değerleriyle karşılaştırıldığında anlamlı bir artma olduğu saptandı.

Her üç gruptaki sıçanların idrar örneklerinde protein miktarına “Dipstick” yöntemiyle bakıldı [111]. Kontrol grubundaki sıçanlardan alınan idrar örneğinde protein saptanmazken, her iki deney grubu idrar örneklerinde protein saptandı. Fetus ağırlıkları karşılaştırıldığında deney grubu ortalama fetus ağırlıklarında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu saptandı. Deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise suramin+sildenafil sitrat grubu ortalama fetus ağırlıklarında preeklampsi grubuna göre anlamlı bir artış gözlemlendi. Bu bulgular literatürde Nash ve arkadaşlarının oluşturduğu suraminle preeklampsi modelinin sonuçlarıyla örtüşmektedir. Çalışmamızda sıçanlara suramin uygulamasından sonra sistolik kan basınçlarının artması, idrar örneklerinde protein gözlenmesi ve ortalama fetus ağırlıklarının azalması preeklampsinin ana bulgularını oluşturduğumuzu göstermektedir.

Gebeliğin 2.yarisında veya erken postpartum dönemde görülen preeklampsinin fizyopatolojisi henüz tam olarak anlaşılammıştır. Ancak endotelial disfonksiyonun preeklampsi patojenezinde en önemli mekanizmalardan biri olduğu düşünülmektedir [2].

Endotel tabakasının normal işlev görmesi, endotel kaynaklı gevşetici ve endotel kaynaklı kasıcı maddeler arasındaki dengeye bağlıdır. Bu denge bozulduğunda endotel disfonksiyonundan söz edilir. Endotel disfonksiyonu ateroskleroz gibi birçok hastalığın patojenezinde rol oynar [79]. Yapılan çalışmalar preeklampsi kadınların kasıcı ajanların etkilerine normal gebe kadınlardan daha hassas olduklarını göstermekte ve bu durum prostasiklin gibi endojen gevşeticilerin rölatif eksikliğine bağlanmaktadır. Bozulmuş endotel tabakası anjiyotensin-2, tromboksan-A2, endotelinler gibi kasıcı ajanlara daha duyarlı hale gelirken, prostasiklin, NO gibi gevşetici ajanlara duyarsızlaşmaktadır [4].

Membran depolarize edici bir madde olan KCl, voltaja bağımlı kalsiyum kanallarının açılmasına neden olur ve bu kanallar aracılığıyla hücre içerisine kalsiyum girişini takiben konsantrasyona bağımlı olarak kasılma meydana getirir [109]. Çalışmamızda KCl ile her üç grupta da birbirinden farklı olmayan yanıtlar alınmıştır. Kontrol ve deney gruplarındaki izole torasik aorta şeritlerinde KCl ile birbirinden farklı olmayan kasılma yanıtlarının alınması, preeklampside torasik aorta düz kasının kasılma fonksiyonunun sağlam olduğunu göstermektedir.

Sodyum nitroprussiyat (SNP), NO vericisidir ve düz kasta NO açığa çıkarır. Oluşan NO, guanilat siklaz enzimini aktive ederek cGMP'nin hücre içi düzeyini artırır ve düz kas gevşemesine neden olur [102]. Çalışmamızda fenilefrin ile önceden kastırılmış izole torasik aorta şeritlerinde SNP ile olan gevşeme yanıtlarında deney gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu bulgu preeklampside, NO/cGMP yolağının etkilenmediğini ve torasik aorta düz kasında cGMP'ye bağlı gevşemelerin normal olduğunu göstermektedir.

Fenilefrin, alfa-1 adrenerjik reseptörleri direkt olarak güçlü bir şekilde etkiler ve damar düz kaslarında kasıcı etki yaparak sistolik ve diastolik kan basınçlarını artırır. Pek çok çalışmada fenilefrinin damar düz kası üzerindeki kasıcı etkisi gösterilmiştir [99].

Arka hipofizdeki sinir uçlarından salgılanan bir nanopeptid olan vazopressin, damar düz kaslarının V1 reseptörlerini aktive ederek damarları büzer. Büzülmede anjiyotensin ve noradrenaline duyarlılığının vazopressin tarafından artırılmasının da katkısı vardır. Yapılan bir çalışmada preeklampsili kadınlardan izole edilen küçük omental arterlerde arjinin-vazopressinin kasıcı etkisinin arttığı gösterilmiş ve bu durumun azalan NO sentezine bağlı olabileceği öne sürülmüştür [101]. Suzuki ve arkadaşları [113] tarafından yapılan bir çalışmada ise preeklampsili kadınlardan izole edilen omental arterlerde vazopressin ve diğer endotel bağımlı kasıcılara karşı artan kasıcı etkide düz kasta azalan cGMP'nin rolü olabileceği ileri sürülmüştür.

Endotelde sentezlenen kasıcı maddeler arasında en güçlü kasıcı olan ET-1 sadece vasküler düz kaslarda değil, intestinal, uterus, trakeal ve vas deferens düz kaslarında da doza bağımlı kasılmalara neden olmaktadır. ET-1 damarlarda ET-A reseptörlerini aktive ederek yavaş gelişen ve uzun süren bir kasılma yapmaktadır [84].

Çalışmamızda preeklampsili deney grubunda fenilefrin, arjinin-vazopressin ve endotelin-1 kasılma yanıtları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir artış tesbit edildi. Bu artışa bu maddelerin reseptörlerinin sayısında veya duyarlılığında oluşan bir artma (up-regülasyon) neden olabilir. Ayrıca, preeklampside endotelden salınan gevşetici faktörlerin bazal sentez veya salınımında bir azalma olması da kasılma yanıtlarındaki artışa kısmen katkıda bulunabilir.

Kolin-asetiltransferaz enzimi tarafından kolin ve asetil grubunun birleştirilmesiyle sentezlenen asetilkolin, hem muskarinik, hem de nikotinik reseptörlere etki eder. Asetilkolinin vazodilatasyona bağlı kan basıncında düşme oluşturan etkisi damar endotelindeki M₃ reseptörler aracılığıyla damar endotelinden NO salmasına bağlıdır. Pascoal ve arkadaşları [101] tarafından yapılan bir çalışmada preeklampsili hastalardan izole edilen küçük omental

arterlerde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında asetilkolin gevşeme yanıtlarında azalma olduğu gösterilmiştir. Bu durumun azalan NO sentezine bağlı olabileceği öne sürülmüştür. Yapılan başka bir çalışmada ise preeklampsili kadınlardan sezaryen ameliyatı sırasında subkütan yağ tabakasından izole edilen küçük arterlerde asetilkolin gevşeme yanıtlarının normal hamile kadınlarla karşılaştırıldığında azaldığı, sodyum nitrosprussiyat gevşeme yanıtlarının ise değişmediği gösterilmiştir. Endotel bağımlı gevşeme yanıtlarındaki azalmanın preeklampside bozulan endotel fonksiyonunu desteklediği belirtilmiştir [114].

Yüksek molekül ağırlıklı kininojenden plazma kallikreini tarafından oluşturulan bradikininin özellikle arterioller üzerinde güçlü gevşetici etkisi bulunmaktadır. Damar endotelinde bulunan B₁ reseptörleri; bradikininin endotelden NO, prostaglandin, EDHF ve diğer endotel kaynaklı gevşetici faktörleri salıverici etkisinde rol oynarlar. Ashworth ve arkadaşları [95] preeklampsili kadınlardan izole edilen miyometriyal resistans arterlerde bradikinine karşı azalan endotel bağımlı yanıtları göstermişlerdir. Yapılan bir başka çalışmada da preeklampsili hastalardan izole edilen küçük omental arterlerde kontrol grubuyla karşılaştırıldığında bradikininin gevşeme yanıtlarında azalma gösterilmiş ve bu durumun azalan NO sentezine bağlı olabileceği öne sürülmüştür [101].

Çalışmamızda preeklampsisi deney grubunda endotel aracılı bradikinin ve asetilkolin gevşeme yanıtları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma tesbit edildi. Gevşeme yanıtlarındaki bu azalma endotel-kaynaklı gevşetici faktörlerin bazal ve indüklenmiş sentez veya salınımında azalmaya bağlı olabilir.

Çalışmamızda her 3 grupta asetilkolin ve bradikinin gevşeme yanıtları NOS inhibitörü L-NAME, soluble guanilat siklaz inhibitörü ODQ ve prostaglandin sentez inhibitörü indometazin varlığında azalmıştır. Bu durum gevşeme yanıtlarının en azından kısmen endotelden salınan NO ve PGI₂'ye bağlı olduğunu ve preeklampsili grupta kontrol grubuyla karşılaştırıldığında azalan gevşeme yanıtlarının bu maddelerin sentez veya salınımındaki bir bozukluğa bağlı olabileceğini göstermektedir.

Endotelden salınan en güçlü ve en önemli mediatörlerden biri olan NO, bir aminoasit olan L-Arginin'den sentezlenir. NO daha sonra damar düz kaslarına geçerek hücre içi guanilat siklaz enzimine bağlanır ve bu enzimi aktive ederek cGMP yapımını artırır. cGMP, düz kas içerisindeki cGMP bağımlı protein kinazı aktive eder, bunun sonucunda K kanalları fosforile, kalsiyum kanalları ise hiperpolarize olur. Hücre içi Ca miktarı azalır ve bu da düz kas hücresinde gevşemeye yol açar. NO'nun yarılanma ömrü oldukça kısadır. Saniyeler içerisinde (2-30 sn) inaktive olması nedeniyle etkisi lokaldır ve kısa sürmektedir [80]. Damar endotelinden sentezlenen NO'nun gebelik süresince damar tonüsünün kontrolü ve

düzenlenmesinde önemli rolü olduğu düşünülmektedir. Preeklampitik kadınlarda NO azalması, plasental perfüzyonun azalmasına ve kan basıncının artmasına neden olur [68].

Fosfodiesteraz (PDE) enzimleri siklik nükleotidleri hidrolize eden (cAMP ve cGMP) ve böylece ikinci ulak sinyal yollarının modülasyonunda kritik rol alan enzimlerdir. Değişik PDE'ler farklı substratlara karşı değişen enzimatik afiniteye sahiptirler. Farklı yerleşimler ve kalsiyuma duyarlılık gösterirler. PDE-5 enzimi damar ve korpus kavernozum düz kasları dışında barsak düz kaslarında, trombositlerde ve kondrositlerde bulunmaktadır. PDE-5, cGMP yıkımını sağlar ve inhibisyonu dokuda cGMP artışına neden olmaktadır. Düz kaslar dışında da (vücuttaki hemen tüm hücrelerde) cGMP ikinci haberci olarak rol oynamaktadır ve birçok hücre işlevinin tetiklenmesi sitozolik cGMP düzeylerine bağlıdır [86].

Yakın zamanda selektif PDE-5 inhibitörleri geliştirilmiştir. Sildenafil (UK-92480), güçlü ve selektif bir PDE-5 inhibitörüdür ve erektil disfonksiyon tedavisinde kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar sildenafilin koroner vasküler düz kasta selektif olarak cGMP düzeyini artırdığını göstermektedir [88, 115]. Sildenafil sitratın kan basıncı düşürücü etkisinin ilaçla aktive edilen NO-GS yolağına bağlı olduğu gösterilmiştir [85]. Embriyo transferi öncesinde sildenafil kullanımının, uterin kan akımını artırarak endometrial cevabı zayıf olan hastalarda implantasyon oranlarını yükselttiğini bildiren çalışmalar vardır [90,91]. İn hale NO ve PDE-5 inhibitörleri yetişkin ve neonatal pulmoner arteriyel hipertansiyon tedavisinde kullanılmaktadır. Yenidoğanda ve çocuklarda inhale NO'yu takiben sildenafil uygulamasının zararlı pulmoner hipertansiyonu düzelttiği gösterilmiştir [89].

Çalışmamızda fosfodiesteraz inhibisyonunun preeklampsi modelinde koruyucu ve tedavi edici etkisinin olup olmadığını araştırmak için suramin verilen sıçanların bir kısmına suramin+sildenafil sitrat (i.p.) verilerek bir tedavi grubu oluşturulmuştur. Sildenafil uygulaması, fenilefrin, arjinin-vazopressin ve endotelin kasılma yanıtlarını kısmen düzeltmiş ancak kontrol değerlere ulaştıramamıştır. Yine sildenafil uygulamasıyla endotel aracılı gevşeme oluşturan asetilkolin ve bradikinin yanıtları kısmen düzelmiş ancak kontrol değerlere ulaşmamıştır.

Yapılan bir çalışmada sıçan uterus duvarında PDE-5 varlığı gösterilmiş ve sildenafilin farmakolojik dozlarının mekanik uterus aktivitesini inhibe ettiği ve bu durumun erken doğum tedavisinde yararlı olabileceği belirtilmiştir [93]. Bir başka çalışmada ise preeklampsili kadınlardan izole edilen küçük miyometriyal arterlerin PDE-5 inhibitörü UK-343664 ile inkübe edildikten sonra normal hamilelerden izole edilen damarlara benzer davranış gösterdikleri saptanmıştır ve araştırmacılar PDE-5 inhibitörlerinin preeklampsi tedavisinde

potansiyel tedavi edici etkisi olabileceğini öne sürmüşlerdir [87]. Bu çalışmalardan elde edilen bulgular bizim bulgularımızı destekler niteliktedir.

Çalışmamızda her üç deney grubundaki sıçanlardan alınan torasik aorta doku örneklerinde cGMP düzeyleri RIA yöntemiyle ölçülerek reseptör sonrası olaylarda bir değişiklik olup olmadığı araştırıldı. Yapılan ölçümler sonucunda suramin grubu cGMP düzeyleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bir azalma olduğu gözlemlendi. Suramin+sildenafil sitrat grubunda ise cGMP düzeyleri suramin grubuna göre anlamlı şekilde arttı, ancak kontrol değerlere ulaşmadı. cGMP düzeylerindeki azalma, gevşetici faktörlerin bazal ya da indüklenmiş sentez veya salınımındaki azalmayı desteklemektedir.

Bu çalışmada yapılan patolojik incelemelerde her üç grupta da damar endotel bütünlüğü korunmuş olup, damar endotellerinde herhangi bir patolojik değişikliğe rastlanmamıştır.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, preeklampsi modelinin torasik aorta düz kasında fenilefrin, arjinin-vazopressin ve endotelin-1 kasılma yanıtlarını artırdığını göstermektedir. Kasılma yanıtlarındaki bu artış reseptör sayısında veya duyarlılığında oluşan bir artmaya (up-regülasyon) bağlı olabilir. Ayrıca, preeklampside endotelden salınan gevşetici faktörlerin bazal salınımında bir azalma olması da kasılma yanıtlarında artışa yol açabilir. Yine bizim çalışmamızda preeklampside torasik aorta düz kasında endotel-bağımlı bradikinin ve asetilkolin gevşeme yanıtlarının azaldığı bulunmuştur. Gevşeme yanıtlarının azalması, endotelin harap olmasına, NO/cGMP yolağında bir bozulmaya, endotelde bulunan reseptörlerin sayısında veya duyarlılığında bir azalmaya veya reseptör aracılı yanıt olarak oluşan endoteliyal NO sentez veya salınımındaki bir azalmaya bağlı olabilir. Patolojik inceleme sonuçlarına göre, endotelde herhangi bir değişikliğe rastlanmamış olması ve KCl kasılma ve SNP gevşeme yanıtlarının değişmemesi, sırasıyla NO/cGMP yolağının ve düz kas kasılma-gevşeme fonksiyonunun normal olduğunu düşündürmektedir. Preeklampsi grubunda bradikinin ve asetilkolin gevşeme yanıtlarının ve cGMP düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azalması ise gevşetici faktörlerin bazal ya da indüklenmiş sentez veya salınımındaki azalma görüşünü desteklemektedir. Her 3 grupta gevşeme yanıtlarının L-NAME, ODQ ve indometazin varlığında azalması ise, gevşeme yanıtlarının en azından kısmen endotelden salınan NO ve PGI₂'ye bağlı olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda sildenafil uygulaması preeklampsi grubunda artan kasılma yanıtlarını suramin grubuna göre anlamlı şekilde düzeltmiş ancak kontrol değerlere dönüştürememiştir. Yine sildenafil uygulaması preeklampsi grubunda azalan gevşeme yanıtlarını suramin grubuna göre anlamlı şekilde düzeltmiş, ancak kontrol değerlere dönüştürememiştir.

Preeklampside azalan cGMP değerleri, sildenafil uygulamasıyla kısmen artmış ancak kontrol değerlere ulaşamamıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar, preeklampside PDE-5 inhibitörlerinin tedavi edici etkiden ziyade kısmen koruyucu etki oluşturabileceğini düşündürmektedir. Bu konuda daha ileri hayvan ve insan çalışmaları yapılarak PDE-5 inhibitörlerinin yeterlilik ve güvenilirliği araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Granger JP, Alexander BT, Llinas MT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *Hypertension*. 2001 Sep;38(3 Pt 2):718-22.
2. VanWijk MJ, Kublickiene K, Boer K, VanBavel E. Vascular function in preeclampsia. *Cardiovasc Res*. 2000 Jul;47(1):38-48.
3. D'Anna R, Baviera G, Corrado F, Crisafulli A, Lentile R, Buemi M, Squadrito F. Neurokinin B and nitric oxide plasma levels in preeclampsia and isolated intrauterine growth restriction. *BJOG*. 2004 Oct; 111(10):1046-50.
4. Cunningham FG. Hypertensive Disorders in Pregnancy (in): (Eds) Cunningham FG, Mac Donald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LJ, Hankins GDV, Clarks SL. *Williams Obstetrics 21st Ed*. Appleton & Lange 2001, 567-618.
5. Dekker G, Sibai B. Primary, secondary, and tertiary prevention of pre-eclampsia. *Lancet*. 2001 Jan 20;357(9251):209-15.
6. Zusman RM, Morales A, Glasser DB, Osterloh IH. Overall cardiovascular profile of sildenafil citrate. *Am J Cardiol*. 1999 Mar 4;83(5A):35C-44C.
7. Wareing M, Myers JE, O'hara M, Kenny LC, Warren AY, Taggart MJ, Skillern L, Machin I, Baker PN. Effects of a phosphodiesterase-5 (PDE5) inhibitor on endothelium-dependent relaxation of myometrial small arteries. *Am J Obstet Gynecol*. 2004 May;190(5):1283-90.
8. Downing JW, Ramasubramanian R, Johnson RF, Minzter BH, Paschall RL, Sundell NW, Engelhardt B, Lewis R. Hypothesis: Selective phosphodiesterase-5 inhibitor improves outcome in preeclampsia. *Medical Hypothesis*. 2004; 64: 1057-64.
9. Report of the national high blood pressure education program working group on high blood pressure in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2000; 183:51-522.
10. Sibai BM, Lindheimer M, Hauth J, Caritis S, VanDorsten P, Klebanoff M, MacPherson C, Landon M, Miodovnik M, Paul R, Meis P, Dombrowski M. Risk factors for preeclampsia, abruptio placentae, and adverse neonatal outcomes among women with chronic hypertension. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *N Engl J Med*. 1998 Sep 3;339(10):667-71.
11. Saftlas AF, Olson DR, Franks AL, Atrash HK, Pokras R. Epidemiology of preeclampsia and eclampsia in the United States, 1979-1986. *Am J Obstet Gynecol*. 1990 Aug;163(2):460-5.

12. American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) Practice Bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. No:33, January 2002. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002; 77(1):67-75.
13. Kuo VS, Koumantakis G, Gallery ED. Proteinuria and its assessment in normal and hypertensive pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1992 Sep;167(3):723-8.
14. Douglas KA, Redman CW. Eclampsia in the United Kingdom. *BMJ.* 1994 Nov 26;309(6966):1395-400.
15. Walker JJ. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2000 Oct 7;356(9237):1260-5.
16. Pijnenborg R, Robertson WB, Brosens I. Trophoblast invasion and formation of the basal plate in the human placenta. *Bibl Anat.* 1982;(22):69-73.
17. Pijnenborg R, Anthony J, Davey DA, Rees A, Tiltman A, Vercruysse L, van Assche A. Placental bed spiral arteries in the hypertensive disorders of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol.* 1991 Jul;98(7):648-55.
18. Pritchard JA, Cunningham FG, Pritchard SA. The Parkland Memorial Hospital protocol for treatment of eclampsia: evaluation of 245 cases. *Am J Obstet Gynecol.* 1984 Apr 1;148(7):951-63.
19. Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rodgers GM, Hubel CA, McLaughlin MK. Preeclampsia: an endothelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol.* 1989 Nov;161(5):1200-4.
20. Redman CW. Immunology of preeclampsia. *Semin Perinatol.* 1991 Jun;15(3):257-62.
21. Bussolino F, Benedetto C, Massobrio M, Camussi G. Maternal vascular prostacyclin activity in pre-eclampsia. *Lancet.* 1980 Sep 27;2(8196):702.
22. Jain SK, Wise R. Relationship between elevated lipid peroxides, vitamin E deficiency and hypertension in preeclampsia. *Mol Cell Biochem.* 1995 Oct 4;151(1):33-8.
23. Greer IA, Haddad NG, Dawes J, Johnstone FD, Calder AA. Neutrophil activation in pregnancy-induced hypertension. *Br J Obstet Gynaecol.* 1989 Aug;96(8):978-82.
24. Stubbs TM, Lazarchick J, Horger EO 3rd. Plasma fibronectin levels in preeclampsia: a possible biochemical marker for vascular endothelial damage. *Am J Obstet Gynecol.* 1984 Dec 1;150(7):885-7.
25. Nova A, Sibai BM, Barton JR, Mercer BM, Mitchell MD. Maternal plasma level of endothelin is increased in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1991 Sep;165(3):724-7.
26. Mello G, Parretti E, Fatini C, Riviello C, Gensini F, Marchionni M, Scarselli GF, Gensini GF, Abbate R. Low-molecular-weight heparin lowers the recurrence rate of

- preeclampsia and restores the physiological vascular changes in angiotensin-converting enzyme DD women. *Hypertension*. 2005 Jan;45(1):86-91.
27. Need JA. Pre-eclampsia in pregnancies by different fathers: immunological studies. *Br Med J*. 1975 Mar 8;1(5957):548-9.
 28. Vinatier D, Monnier JC. Pre-eclampsia: physiology and immunological aspects. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1995 Aug;61(2):85-97.
 29. Chesley LC, Cooper DW. Genetics of hypertension in pregnancy: possible single gene control of pre-eclampsia and eclampsia in the descendants of eclamptic women. *Br J Obstet Gynaecol*. 1986 Sep;93(9):898-908.
 30. Hoff C, Peevy K, Giattina K, Spinnato JA, Peterson RD. Maternal-fetal HLA-DR relationships and pregnancy-induced hypertension. *Obstet Gynecol*. 1992 Dec;80(6):1007-12.
 31. Goldman M, Kitzmiller JL, Abrams B, Cowan RM, Laros RK Jr. Obstetric complications with GDM. Effects of maternal weight. *Diabetes*. 1991 Dec;40 Suppl 2:79-82.
 32. Lindsay MK, Graves W, Klein L. The relationship of one abnormal glucose tolerance test value and pregnancy complications. *Obstet Gynecol*. 1989 Jan;73(1):103-6.
 33. Kaaja R, Tikkanen MJ, Viinikka L, Ylikorkala O. Serum lipoproteins, insulin, and urinary prostanoid metabolites in normal and hypertensive pregnant women. *Obstet Gynecol*. 1995 Mar;85(3):353-6.
 34. Hubel CA, McLaughlin MK, Evans RW, Hauth BA, Sims CJ, Roberts JM. Fasting serum triglycerides, free fatty acids, and malondialdehyde are increased in preeclampsia, are positively correlated, and decrease within 48 hours post partum. *Am J Obstet Gynecol*. 1996 Mar;174(3):975-82.
 35. Perkins AV, Linton EA, Eben F, Simpson J, Wolfe CD, Redman CW. Corticotrophin-releasing hormone and corticotrophin-releasing hormone binding protein in normal and pre-eclamptic human pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol*. 1995 Feb;102(2):118-22.
 36. Pouta AM, Hartikainen AL, Vuolteenaho OJ, Ruukonen AO, Laatikainen TJ. Midtrimester N-terminal proatrial natriuretic peptide, free beta hCG, and alpha-fetoprotein in predicting preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 1998 Jun;91(6):940-4.
 37. Hsu CD, Chan DW, Iriye B, Johnson TR, Hong SF, Repke JT. Elevated serum human chorionic gonadotropin as evidence of secretory response in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1994 Apr;170(4):1135-8.

38. Olszewski AJ, McCully KS. Homocysteine metabolism and the oxidative modification of proteins and lipids. *Free Radic Biol Med.* 1993 Jun;14(6):683-93.
39. Cotton DB, Gonik B, Dorman KF. Cardiovascular alterations in severe pregnancy-induced hypertension: acute effects of intravenous magnesium sulfate. *Am J Obstet Gynecol.* 1984 Jan 15;148(2):162-5.
40. Samuels P, Main EK, Tomaski A, Mennuti MT, Gabbe SG, Cines DB. Abnormalities in platelet antiglobulin tests in preeclamptic mothers and their neonates. *Am J Obstet Gynecol.* 1987 Jul;157(1):109-13.
41. Weiner CP, Brandt J. Plasma antithrombin III activity: an aid in the diagnosis of preeclampsia-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1982 Feb 1;142(3):275-81.
42. Isler CM, Rinehart BK, Terrone DA, Martin RW, Magann EF, Martin JN Jr. Maternal mortality associated with HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1999 Oct;181(4):924-8.
43. Sibai BM, Spinnato JA, Watson DL, Lewis JA, Anderson GD. Eclampsia. IV. Neurological findings and future outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 1985 May 15;152(2):184-92.
44. Ozkan SO, Korbeyli B, Bese T, Erel CT. Acute cortical blindness complicating preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet.* 2001 Nov;265(4):231-2.
45. Plouin PF, Chatellier G, Breart G, Hillion D, Moynot A, Tchobroutsky C, Beaufile M, Uzan S, Blot P. Factors predictive of perinatal outcome in pregnancies complicated by hypertension. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1986 Dec;23(5-6):341-8.
46. Friedman SA, Lindheimer MD. Prediction and differential diagnosis. In: Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG, Eds. *Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy.* Stanford, Connecticut: Appleton and Lange, 1999:201-27.
47. Gant NF, Chand S, Worley RJ, Whalley PJ, Crosby UD, MacDonald PC. A clinical test useful for predicting the development of acute hypertension in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1974 Sep;120(1):1-7.
48. Kuntz WD. Supine pressor (roll-over) test: an evaluation. *Am J Obstet Gynecol.* 1980 Aug 1;137(7):764-8.
49. Dekker GA, Makovitz JW, Wallenburg HC. Prediction of pregnancy-induced hypertensive disorders by angiotensin II sensitivity and supine pressor test. *Br J Obstet Gynaecol.* 1990 Sep;97(9):817-21.
50. Taufield PA, Ales KL, Resnick LM, Druzin ML, Gertner JM, Laragh JH. Hypocalciuria in preeclampsia. *N Engl J Med.* 1987 Mar 19;316(12):715-8.

51. Myatt L, Cui X. Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol.* 2004 Oct;122(4):369-82.
52. Lim KH, Friedman SA, Ecker JL, Kao L, Kilpatrick SJ. The clinical utility of serum uric acid measurements in hypertensive diseases of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1998 May;178(5):1067-71.
53. Izumi A, Minakami H, Kuwata T, Sato I. Calcium-to-creatinine ratio in spot urine samples in early pregnancy and its relation to the development of preeclampsia. *Metabolism.* 1997 Oct;46(10):1107-8.
54. Kyle PM, Campbell S, Buckley D, Kissane J, de Swiet M, Albano J, Millar JG, Redman CW. A comparison of the inactive urinary kallikrein:creatinine ratio and the angiotensin sensitivity test for the prediction of pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol.* 1996 Oct;103(10):981-7.
55. Xiong G, Wang Z, Yu Q. [The predictive value of plasma fibronectin concentration on fetal growth retardation and preeclampsia at earlier stage of the third trimester] *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi.* 2001 Dec;36(12):734-7.
56. Ostlund E, Hansson LO, Bremme K. Fibronectin is a marker for organ involvement and may reflect the severity of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy.* 2001;20(1):79-87.
57. Hirai N, Yanaihara T, Nakayama T, Ishibashi M, Yamaji T. Plasma levels of atrial natriuretic peptide during normal pregnancy and in pregnancy complicated by hypertension. *Am J Obstet Gynecol.* 1988 Jul;159(1):27-31.
58. Rinehart BK, Terrone DA, Lagoo-Deenadayalan S, Barber WH, Hale EA, Martin JN Jr, Bennett WA. Expression of the placental cytokines tumor necrosis factor alpha, interleukin 1beta, and interleukin 10 is increased in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1999 Oct;181(4):915-20.
59. Cotter AM, Molloy AM, Scott JM, Daly SF. Elevated plasma homocysteine in early pregnancy: a risk factor for the development of severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2001 Oct;185(4):781-5.
60. Schwarze A, Nelles I, Krapp M, Friedrich M, Schmidt W, Diedrich K, Axt-Fliedner R. Doppler ultrasound of the uterine artery in the prediction of severe complications during low-risk pregnancies. *Arch Gynecol Obstet.* 2005 Jan;271(1):46-52.
61. Repke JT. Calcium, magnesium, and zinc supplementation and perinatal outcome. *Clin Obstet Gynecol.* 1991 Jun;34(2):262-7.

62. Levine RJ, Hauth JC, Curet LB, Sibai BM, Catalano PM, Morris CD, DerSimonian R, Esterlitz JR, Raymond EG, Bild DE, Clemens JD, Cutler JA. Trial of calcium to prevent preeclampsia. *N Engl J Med.* 1997 Jul 10;337(2):69-76.
63. Olsen SF, Secher NJ, Tabor A, Weber T, Walker JJ, Gluud C. Randomised clinical trials of fish oil supplementation in high risk pregnancies. Fish Oil Trials In Pregnancy (FOTIP) Team. *BJOG.* 2000 Mar;107(3):382-95.
64. Chappill LC, Seed PT, Briley AL, Kelly FJ, Lee R, Hunt BJ, Parmar K, Bewley SJ, Shannon AH, Ster PJ, Poston L. Effect of antioxidants on the occurrence of the preeclampsia in woman at increased risk: on randomized trial. *Lancet.* 1999; 354: 810-16.
65. Witlin AG, Sibai BM. Magnesium sulfate therapy in preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol.* 1998 Nov;92(5):883-9.
66. Ogden E, Hildebrand GJ, Page EW. Rise of blood pressure during ischemia of gravid uterus. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1940; 43:49-51.
67. Abitbol MM, Ober MB, Gallo GR, Driscoll SG, Pirani CL. Experimental toxemia of pregnancy in the monkey, with a preliminary report on renin and aldosterone. *Am J Pathol.* 1977 Mar;86(3):573-90.
68. Molnar M, Hertelendy F. N omega-nitro-L-arginine, an inhibitor of nitric oxide synthesis, increases blood pressure in rats and reverses the pregnancy-induced refractoriness to vasopressor agents. *Am J Obstet Gynecol.* 1992 May;166(5):1560-7.
69. Podjarny E, Baylis C, Losonczy G. Animal models of preeclampsia. *Semin Perinatol.* 1999 Feb;23(1):2-13.
70. Kanayama N, She L, Maehara K, Kajiwara Y, Terao T. Induction of HELLP syndrome-like biochemical parameters by stimulation of the celiac ganglion in rats. *J Hypertens.* 1996 Apr;14(4):453-9.
71. Faas MM, Schuiling GA, Baller JF, Visscher CA, Bakker WW. A new animal model for human preeclampsia: ultra-low-dose endotoxin infusion in pregnant rats. *Am J Obstet Gynecol.* 1994 Jul;171(1):158-64.
72. Vu HV, Ianosi-Irimie MR, Pridjian CA, Whitbred JM, Durst JM, Bagrov AY, Fedorova OV, Pridjian G, Puschett JB. Involvement of marinobufagenin in a rat model of human preeclampsia. *Am J Nephrol.* 2005 Sep-Oct;25(5):520-8.
73. Takiuti NH, Kahhale S, Zugaib M. Stress in pregnancy: a new Wistar rat model for human preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2002 Mar;186(3):544-50.

74. Nash P, Wentzel P, Lindeberg S, Naessen T, Jansson L, Olovsson M, Eriksson UJ. Placental dysfunction in Suramin-treated rats-a new model for pre-eclampsia. *Placenta*. 2005 May;26(5):410-8.
75. De Clercq E. Antiviral drug discovery and development: where chemistry meets with biomedicine. *Antiviral Res*. 2005 Aug;67(2):56-75.
76. La Rocca RV, Stein CA, Myers CE. Suramin: prototype of a new generation of antitumor compounds. *Cancer Cells*. 1990 Apr;2(4):106-15.
77. Freeman SJ, Lloyd JB. Evidence that suramin and aurothiomalate are teratogenic in rat by disturbing yolk sac-mediated embryonic protein nutrition. *Chem Biol Interact*. 1986 May;58(2):149-60.
78. Fishman AP. Endothelium: a distributed organ of diverse capabilities. *Ann N Y Acad Sci*. 1982;401:1-8.
79. Kharbanda RK, Deanfield JE. Functions of the healthy endothelium. *Coron Artery Dis*. 2001 Sep;12(6):485-91.
80. Vallance P, Chan N. Endothelial function and nitric oxide: clinical relevance. *Heart*. 2001 Mar;85(3):342-50.
81. Coleman RA, Smith WL, Narumiya S. International Union of Pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution, and structure of the receptors and their subtypes. *Pharmacol Rev*. 1994 Jun;46(2):205-29.
82. Nakashima M, Mombouli JV, Taylor AA, Vanhoutte PM. Endothelium-dependent hyperpolarization caused by bradykinin in human coronary arteries. *J Clin Invest*. 1993 Dec;92(6):2867-71.
83. Honing ML, Smits P, Morrison PJ, Rabelink TJ. Bradykinin-induced vasodilation of human forearm resistance vessels is primarily mediated by endothelium-dependent hyperpolarization. *Hypertension* 2000; 35(6):1314-8.
84. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*. 1988 Mar 31;332(6163):411-5.
85. Shinlapawittayatorn K, Sungnoon R, Chattipakorn S, Chattipakorn N. Effects of sildenafil citrate on defibrillation efficacy. *J Cardiovasc Electrophysiol*. 2006 Mar;17(3):292-5.
86. Wallis RM, Corbin JD, Francis SH, Ellis P. Tissue distribution of phosphodiesterase families and the effects of sildenafil on tissue cyclic nucleotides, platelet function, and

- the contractile responses of trabeculae carneae and aortic rings in vitro. *Am J Cardiol.* 1999 Mar 4;83(5A):3C-12C.
87. Wareing M, Myers JE, O'hara M, Kenny LC, Warren AY, Taggart MJ, Skillern L, Machin I, Baker PN. Effects of a phosphodiesterase-5 (PDE5) inhibitor on endothelium-dependent relaxation of myometrial small arteries. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 May;190(5):1283-90.
88. Jeremy JY, Ballard SA, Naylor AM, Miller MA, Angelini GD. Effects of sildenafil, a type-5 cGMP phosphodiesterase inhibitor, and papaverine on cyclic GMP and cyclic AMP levels in the rabbit corpus cavernosum in vitro. *Br J Urol.* 1997 Jun;79(6):958-63.
89. Wilkins MR, Aldashev A, Morrell NW. Nitric oxide, phosphodiesterase inhibition, and adaptation to hypoxic conditions. *Lancet.* 2002 May 4;359(9317):1539-40.
90. Sher G, Fisch JD. Vaginal sildenafil (Viagra): a preliminary report of a novel method to improve uterine artery blood flow and endometrial development in patients undergoing IVF. *Hum Reprod.* 2000 Apr;15(4):806-9.
91. Sher G, Fisch JD. Effect of vaginal sildenafil on the outcome of in vitro fertilization (IVF) after multiple IVF failures attributed to poor endometrial development. *Fertil Steril.* 2002 Nov;78(5):1073-6.
92. Downing JW, Ramasubramanian R, Johnson RF, Minzter BH, Paschall RL, Sundell HW, Engelhardt B, Lewis R. Hypothesis: selective phosphodiesterase-5 inhibition improves outcome in preeclampsia. *Med Hypotheses.* 2004;63(6):1057-64.
93. Buhimschi CS, Garfield RE, Weiner CP, Buhimschi IA. The presence and function of phosphodiesterase type 5 in the rat myometrium. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Jan;190(1):268-74.
94. Ashworth JR, Warren AY, Baker PN, Johnson IR. A comparison of endothelium-dependent relaxation in omental and myometrial resistance arteries in pregnant and nonpregnant women. *Am J Obstet Gynecol.* 1996 Nov;175(5):1307-12.
95. Ashworth JR, Warren AY, Baker PN, Johnson IR. Loss of endothelium-dependent relaxation in myometrial resistance arteries in pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol.* 1997 Oct;104(10):1152-8.
96. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Kolinomimetik ilaçlar: Parasempatomimetik ilaçlar ve antikolinesterazlar. 9.Baskı, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti. 2000, 1145-1148.

97. Süzer Ö. Farmakolojinin Temelleri. Kolinerjik Agonistler (Parasempatomimetikler). 2. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 2002, 53-58.
98. Mascher D, Paredes-Carbajal MC, Torres-Duran PV, Zamora-Gonzalez J, Diaz-Zagoya JC, Juarez-Oropeza MA. Ethanolic extract of *Spirulina maxima* alters the vasomotor reactivity of aortic rings from obese rats. *Arch Med Res.* 2006 Jan;37(1):50-7.
99. Cicala C, Morello S, Iorio C, Capasso R, Borrelli F, Mascolo N. Vascular effects of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on isolated rat thoracic aorta. *Life Sci.* 2003 May 23;73(1):73-80.
100. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Peptid Yapılı Otakoidler. 9.Baskı, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti. 2000, 1508-1512.
101. Pascoal IF, Umans JG. Effect of pregnancy on mechanisms of relaxation in human omental microvessels. *Hypertension.* 1996 Aug;28(2):183-7.
102. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Antihipertansif İlaçlar. 9.Baskı, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti. 2000, 449.
103. Ma FX, Liu LY, Xiong XM. Protective effects of lovastatin on vascular endothelium injured by low density lipoprotein. *Acta Pharmacol Sin.* 2003 Oct;24(10):1027-32.
104. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Sempatomimetik İlaçlar. 9.Baskı, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti. 2000, 1194-1195.
105. Süzer Ö. Farmakolojinin Temelleri. Adrenerjik Agonistler (Sempatomimetikler). 2. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti. 2002, 67-72.
106. Schneider JC, El Kebir D, Chereau C, Mercier JC, Dall'Ava-Santucci J, Dinh-Xuan AT. Involvement of Na(+)/Ca(2+) exchanger in endothelial NO production and endothelium-dependent relaxation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2002 Aug;283(2):H837-44.
107. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Hipofiz ve Hipotalamus Hormonları. 9.Baskı, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti. 2000, 1446-56.
108. Yanagisawa H, Hammer RE, Richardson JA, Williams SC, Clouthier DE, Yanagisawa M. Role of Endothelin-1/Endothelin-A receptor-mediated signaling pathway in the aortic arch patterning in mice. *J Clin Invest.* 1998 Jul 1;102(1):22-33.
109. Goodman LS, Gillman A: The pharmacological basic of therapeutics. 8th ed. McMillan, New York, 1992, 697-700.
110. Bunag RD, Butterfield J. Tail-cuff blood pressure measurement without external preheating in awake rats. *Hypertension.* 1982 Nov-Dec;4(6):898-903.

111. Schlembach D. Urine analysis in pregnancy. *Ther Umsch* 2006;63(9):585-9.
112. Nash P, Olovsson M, Eriksson UJ. Placental dysfunction in Suramin-treated rats: impact of maternal diabetes and effects of antioxidative treatment. *J Soc Gynecol Investig*. 2005 Apr;12(3):174-84.
113. Suzuki Y, Kajikuri J, Suzumori K, Itoh T. Mechanisms underlying the reduced endothelium-dependent relaxation in human omental resistance artery in pre-eclampsia. *J Physiol*. 2000 Aug 15;527 Pt 1:163-74.
114. McCarthy AL, Woolfson RG, Raju SK, Poston L. Abnormal endothelial cell function of resistance arteries from women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1993 Apr;168(4):1323-30.
115. Moreland RB, Goldstein I, Traish A. Sildenafil, a novel inhibitor of phosphodiesterase type 5 in human corpus cavernosum smooth muscle cells. *Life Sci*. 1998;62(20):PL 309-18.