

**T.C. CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**KADIN HASTALIKLARI ve DOĞUM**  
**ANABİLİM DALI**

**SIÇAN MODELİNDE PREEKLAMPSİ BULGULARI VE**  
**PLASENTAL OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİ**

**Dr. Özgül BALTA**

**UZMANLIK TEZİ**

**SİVAS**

**2007**

**T.C. CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**KADIN HASTALIKLARI ve DOĞUM**  
**ANABİLİM DALI**

**SIÇAN MODELİNDE PREEKLAMPSİ BULGULARI VE**  
**PLASENTAL OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİ**

**Dr. Özgül BALTA**  
**UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI: Prof. Dr. MERAL ÇETİN**

**SİVAS**

**2007**

Bu tez Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fakülte Kurulu'nun 12/03/2002 tarih ve 2002/1 sayılı kararı ve Cumhuriyet Üniversitesi Rektörlüğü'nün 28/03/2002 tarih ve 463 sayılı yazısı ile uygun görülen tez yazım kılavuzuna göre hazırlanmıştır.

## TEŞEKKÜR

Bu tezin proje ve deneysel aşamalarının gerçekleştirilmesinde verdiği destek için Tıp Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Okay Bulut'a içten teşekkürlerimi sunarım. Kadın Doğum eğitimim süresince yetişmemde emeği olan, aynı zamanda tez çalışmam sırasında bilgi ve desteğini gece gündüz esirgemeyen, bana meslek yaşamımda yepyeni ufuklar açıp, bilimsel düşünmeyi ve yaşamayı, ülke ve insan sevgisini yepyeni bir bakışla öğreten saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ali Çetin'e çok teşekkür ederim. Sürekli çalışarak üretmenin ve görev yerinin en kutsal değerlerden olduğunu, sorumluluk ve vefa duygusunu aşıl原因an değerli hocam Prof. Dr. Meral Çetin'e, cerrahinin zerafetini ve hiyerarşisini öğreten değerli hocam Doç. Dr. Tevfik Güvenal'a, Doç. Dr. Ali Yanık'a ve Yrd. Doç. Dr. A. Gonca İmir'e ve eğitimime katkıları bulunan tüm hocalarıma çok teşekkür ederim. Bu araştırmanın proje, deney ve sonuçlarının değerlendirilmesi aşamalarında desteğini ve dostluğunu her zaman hissettiğim Yrd. Doç. Dr. Sefa Gültürk'e sonsuz teşekkür ederim. Bu tezin deneysel çalışmasının yürütüldüğü Erciyes Üniversitesi DEKAM yönetici ve çalışanlarına, bilgisini ve zamanını esirgmeden sevgiyle sunan Erciyes Üniversitesi Biyokimya AD'dan Doç. Dr. Cevad Yazıcı'ya ve tüm Biyokimya AD çalışanlarına, araştırmanın spektrofotometrik çalışmalarını yürüten Gazi Osman Paşa Üniversitesi Fizyoloji AD'dan Yrd. Doç. Dr. Fatih Ekici'ye saygılarımı ve teşekkürlerimi sunuyorum. CÜTFAM'dan Zübeyde Polat ve CÜTF Biyokimya laboratuvarında serumları inceleyen laboratuvar teknikeri Demet Özdemir'e teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, asistanlığım süresince beraber çalıştığım tüm doktor, hemşire, sekreter, personel ve Sivas Eczacılar Odası Birliğindeki arkadaşlarıma da paylaştığımız bu güzel çalışma ortamı için teşekkür ederim.

Ayrıca bilimsel ve mesleki anlayışımın globalleşmesinde, cerrahi becerinin ve çalışma azminin kişisel yaşamla bağlantısını gösteren Cleveland Clinic Foundation Kadın Doğum AD Başkanı saygıdeğer hocam Prof. Dr. Tomasso Falcone'ye ve binlerce kilometre uzaktan, farklı ülkelerden en kötü günlerimde yanımda olan çok sevdiğim dostlarıma teşekkür ediyorum.

Son olarak, hayatım boyunca bana ve hayallerime inanarak yol açan aileme, sevgili dostum Cem Berksoy'a ve her zaman olduğu gibi tezimde büyük katkısı

olan eşim ve “en iyi arkadaşım” Kemal Balta’ya sonsuz teşekkür ederim.

Bu tıpta uzmanlık tezi Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında “PREEKLAMPTİK SIÇANLARIN PLASENTA VE YAVRU ORGANLARINDAKİ OKSİDATİF STRES DÜZEYİ” adlı T-300 nolu tez projesi ile gerçekleştirilmiştir.



# İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER .....	vii
SIÇAN MODELİNDE PREEKLAMPSİ BULGULARI VE PLASENTAL OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİ .....	x
ÖZET .....	x
PREECLAMPTIC PARAMETERS AND PLACENTAL OXİDATİVE STRESS MARKERS IN A RAT MODEL .....	xi
ABSTRACT .....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	xii
ŞEKİLLER.....	xiv
TABLolar .....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. Genel Bilgiler .....	3
2.1. Preeklampsi.....	3
2.1.1. Tanım.....	3
2.1.2. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri:.....	5
2.1.3. Patofizyoloji .....	6
2.1.4. Preeklampside Plasental Bozukluklar.....	7
2.1.4.1. Trofoblastik invazyonun yetmezliği.....	7

2.1.4.2.	Preeklampitik Plasentada Vasküler Zedelenme .....	11
2.1.4.3.	Preeklampitik Plasentada Artmış Oksidatif Stres ve Vazokonstriksiyon.....	12
2.1.5.	Oksidatif stres.....	13
2.1.6.	Preeklampsi Hayvan Modelleri .....	14
2.1.6.1.	Utero-Plasental Basınç Azaltılması Modeli (UPBAT) .....	15
2.1.7.	Preeklampside Artmış Oksidatif Stres.....	15
2.1.7.1.	Preeklampside Artmış Oksidatif Stresin Kanıtı .....	15
1.1.1.1.1.	Dolaşımdaki Markerlar .....	16
1.1.1.1.2.	Desidualarda:.....	16
2.1.7.2.	İzoprostanlar.....	17
2.1.7.3.	Malondialdehid .....	17
2.1.8.	Preeklampside Artmış Oksidatif Stres Mekanizmaları .....	18
2.1.8.1.	Preeklampside Artmış Oksidan Aktivite .....	18
1.1.1.1.3.	Aktive Olmuş Nötrofiller.....	18
1.1.1.1.4.	NADPH oksidaz .....	19
1.1.1.1.5.	Ksantin Oksidaz Enzimi.....	20
2.1.8.2.	Preeklampside azalmış antioksidan aktivite .....	20
1.1.1.1.6.	Antioksidan Savunma Sistemleri.....	20
1.1.1.1.7.	Süperoksid dismutaz (SOD).....	21
1.1.1.1.8.	Glutasyon Redoks Siklusu .....	22



1.1.1.1.9. Glutasyon Peroksidaz .....	23
3. Gereç ve Yöntem .....	25
3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması.....	25
3.2. Deney Protokolü .....	25
3.2.1. Gebelik Dönemi İşlemleri.....	25
3.2.1.1. UPBAT grubu.....	25
3.2.1.2. Ağırlık ve Kan Basıncı Ölçümü.....	31
3.2.1.3. Kan Örneklerinin Hematolojik Ve Biyokimyasal Analizi....	31
3.2.1.4. İdrar Örneklerinin Biyokimyasal Analizi.....	31
3.2.2. Dokularda Oksidatif Stres Belirteçlerinin İncelenmesi.....	32
3.2.2.1. Deney Hayvanlarının Çalışma İçin Hazırlanması .....	32
3.2.2.2. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü .....	32
3.2.2.3. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Tayini .....	34
3.2.2.4. Malondialdehit (MDA) Tayini .....	35
3.2.2.5. Protein Karbonil (PC) Tayini .....	35
3.2.3. İstatiksel İnceleme .....	35
4. Sonuçlar.....	37
5. Tartışma .....	53
6. Kaynaklar.....	64

# SIÇAN MODELİNDE PREEKLAMPSİ BULGULARI VE PLASENTAL OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİ

## ÖZET

Bu çalışmanın amacı preeklampsinin maternal ve fetal bulguları ve plasental oksidatif stres belirteçlerini araştırmaktır. Preeklampsi gebelik günü belirlenmiş Sprague-Dawley sıçanlarda, uterin perfüzyon basıncının azaltılması tekniği (UPBAT) modeli ile oluşturulmuştur. Gebeliğin 14. gününde renal arter seviyesinin altına aorta çevresine ve sağ ve sol ovaryan arterlere gümüş klips yerleştirilmiştir. UPBAT modelindeki hayvanlar (n=15) normotansif grupla (n=15) karşılaştırıldığında, gebeliğin 19. gününde UPBAT modelindeki sıçanlarda ( $151.73 \pm 17.65$  mmHg) normal gebelere göre tansiyonları ( $113.87 \pm 11.44$  mmHg) anlamlı olarak yüksekti. UPBAT modelindeki sıçanlarda normal gebelere göre artmış protein atılımı izlendi ( $0.28 \pm 0.04$  vs  $0.47 \pm 0.07$ ) ( $p < 0.05$ ). UPBAT modelindeki sıçanlarda hipertansiyonla beraber malondialdehid ( $2.42 \pm 0.25$ 'e karşın  $1.60 \pm 0.21$  umol/gm doku), protein karbonil ( $1.42 \pm 0.29$ 'e karşın  $0.90 \pm 0.26$  nmol/mg protein) düzeylerinde artış, ve süperoksit dismutaz ( $0.03 [0.01-0.40]$  vs  $0.42 [0.03-0.20]$  U/mg protein) ile glutatyon peroksidaz ( $1.04 \pm 0.31$ 'e karşın  $0.76 \pm 0.22$  U/g protein) düzeylerinde azalma görüldü. Canlı fetus sayısı ( $6.6 \pm 3.13$ 'e karşın  $9.93 \pm 2.02$ ) ve toplam fetus ağırlığı ( $17.37 \pm 7.73$ 'e karşın  $22.86 \pm 6.70$  g) preeklampitik grupta daha düşük olarak izlendi. Tam kan sayımı ve biyokimyasal değerlerden sodyum ve klor hariç preeklampitik grupta anlamlı fark izlenmedi.

Anahtar sözcükler: Preeklampsi, Oksidatif Stres, Sıçan Modeli.

# **PREECLAMPTIC PARAMETERS AND PLACENTAL OXIDATIVE STRESS MARKERS IN A RAT MODEL**

## **ABSTRACT**

The aim of the study was to investigate maternal and fetal parameters of preeclampsia and placental oxidative stress markers in a rat model. Preeclampsia was induced experimentally in timed-pregnant Sprague-Dawley rats using the reduced uterine perfusion pressure (RUPP) model. On day 14 of gestation, silver clips were placed around the aorta below the renal arteries and on the left and right uterine arcade at the ovarian artery. The RUPP model animals (n=15), when compared with the normotensive controls (n=15), arterial pressure at day 19 of gestation was significantly higher in the RUPP rats ( $151.73 \pm 17.65$  mmHg) as compared to normal pregnant rats ( $113.87 \pm 11.44$  mmHg). The RUPP rats showed a significant increase in protein excretion when compared with the normal pregnant rats ( $0.28 \pm 0.04$  vs  $0.47 \pm 0.07$ ) ( $p < 0.05$ ). Associated with the hypertension in RUPP rats placental levels of malondialdehyde ( $2.42 \pm 0.25$  vs.  $1.60 \pm 0.21$   $\mu\text{mol/gm}$  tissue), protein carbonyl ( $1.42 \pm 0.29$  vs.  $0.90 \pm 0.26$   $\text{nmol/mg}$  protein) were increased and superoxid dismutase ( $0.03$  [0.01-0.40] vs  $0.42$  [0.03-0.20] U/mg protein) and glutathione peroxidase ( $1.04 \pm 0.31$  vs  $0.76 \pm 0.22$  U/g protein) were decreased. Pup number ( $6.6 \pm 3.13$  vs.  $9.93 \pm 2.02$ ) and litter weight ( $17.37 \pm 7.73$  vs.  $22.86 \pm 6.70$  g) were lower in the preeclamptic group. None of the complete blood count and biochemical values except sodium and clor were significantly different in preeclamptic group.

Keywords: Preeclampsia; Oxidative Stress; Rat Model.

## SİMGELER VE KISALTMALAR

İUGG: intrauterin gelişme geriliği

VEGF: vascular endothelial growth factor

PIGF: placental growth factor

sVEGFR-1: soluble vascular endothelial growth factor

Flt-1: fms-like tyrosine kinase

RTKs: reseptör tirozin kinazların

LDH: laktat dehidrojenaz

AST: aspartat aminotransferaz

ALT: alanin aminotransferaz

DM: diyabetes mellitus

PGI<sub>2</sub>: prostoglandin I<sub>2</sub>

TXA<sub>2</sub>: tromboksan

anti-HLA-G: anti-human leukocyte antigen-G

MMP-9: matriks metalloproteinaz-9

HIF-1: hipoxia inducible factor-1

GSH-Px: glutation peroksidaz

SO: süper oksit

SOD: süper oksit dismutaz

AT III: antitrombin III

TGF $\beta$ -3: transforming growth factor beta 3

LDL: low density lipoprotein

NOS: nitrik oksit sentetaz

ROT: reaktif oksijen türevleri

UPBAT: uterin perfüzyon basınç azaltılması tekniği

MDA: malondialdehid

MPO: myeloperoksidaz

Cu: bakır

Zn: çinko

Mn: mangan

Se: selenyum

Na: sodyum

K: potasyum

Cl: klor

SD: standart deviyasyon

PHOX: Phagocyte Oxidase

## ŞEKİLLER

Şekil 1. Spiral arter kan akımı ve villöz yapıyı gösteren maternal-fetal yüzeyin şekli.

Şekil 2. Normal (a) ve preeklampitik (b) gebelikte endometriyumun trofoblastik invazyonu.

Şekil 3. Uterin basınç azaltılması tekniğinde klipslerin yerleştirildiği noktalar.

Şekil 4. Ameliyat prosedürü. A. Anestezi altında iyodürle boyanmış sıçan. B. Örtüm sonrası. C. Abdominal cilt kesisi. D. Abdominal kasların açılması. E. Sağ uterin horn ve mesane. F. Gümüş klipsler.

Şekil 5. A. Aort diseksiyonu. B. Aorta klips yerleştirilmesi. C. Ovaryan artere klips yerleştirilmesi. D. Abdominal kasların kapatılması. E. Abdominal cilt kapatılması. F. Metabolik kafesde 24 sa idrar toplanması.

Şekil 6. A. Tansiyon ölçümü için kuyrukların ısıtılması. B. Kuyruk kaf metodu ile tansiyon ölçümü. C. Sezaryen sırasında önceden takılmış klipslerin görünümü. D. Fetus ve plasentalar. E. Fetus, plasenta ve rezorbe olmuş gebelik materyali. F. İntrakardiyak kan alınması.

## TABLÖLAR

Tablo 1. Şiddetli preeklampsi tanı kriterleri.

Tablo 2. Maternal ağırlık, kan basıncı ve tam kan sayımı sonuçları.

Tablo 3. Kan elektrolitleri ve karaciğer fonksiyon testleri sonuçları.

Tablo 4. Kan biyokimyası ve böbrek fonksiyon testleri sonuçları.

Tablo 5. 24 saatlik idrar biyokimyası sonuçları.

Tablo 6. Plasental oksidatif stres belirteçleri.

Tablo 7. Fetal sonuçlar.

## 1. GİRİŞ

Preeklampsia gebeliklerin yaklaşık %5'ini etkiler ve maternal morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerindedir. Hipertansiyonun gebelikte görülmesi halinde gelişen uteroplazental yetmezlik nedeniyle fetal büyüme geriliği, preterm eylem, plasenta dekolmanı ve intrauterin fetal hipoksi gibi komplikasyonların bir sonucu olarak fetus risk altındadır. Hastalığın şiddeti ile paralel olarak hipertansif gebeler myokardiyal iskemi, kalp yetmezliği, ilerleyici renal hasar, hipertansif ensefalopati ve hemoraji gibi serebrovasküler olaylar yönünden artmış risk altındadır.

İnsanlarda embriyonun maternal kandan beslenmesi sitotrofoblast denilen plasentanın özelleşmiş epitel hücreleri ile sağlanır. Koryonik villusların bir kısmında bu hücreler konseptusun uterin duvara tutunması için agregatlar oluştururlar. Bu bölgelerden çıkan sitotrofoblastlar desidual interstiyumu, myometriyumun iç üçte birini ve uterin kan damarlarını invaze ederler. Bu olay sırasında, fetal kaynaklı plasental hücreler implantasyon bölgesinin yakınındaki uterin damarların yüzeyel kısımlarına intravaze olurlar. Başlangıçta bu damarlar sitotrofoblast kümeleri ile tıkalıdır. İnvazyon ilerledikçe plasental hücreler endotel ile heterotopik bağlantılar kurar ve yer değiştirirler. Hatta tunica muscularis arasına girip damar rezistansını azaltırken damar çapını artırır. Bu şekilde uterin arterioller, daha az olmak üzere de venler, fetal ve maternal hücreler içeren hibrid damarlara dönüşürler. Lümen oluştuğunda uterin kanın akımı besin, gaz ve atık değişiminin yapıldığı intervillöz alana doğru yönelir. Bu epitelden endotele fenotipik değişime "psödoaskülogenezis" denir. Uterin invazyon sırasında hücre adezyon molekülü yapımında da değişiklikler olur. Sitotrofoblast kök hücreleri epitel benzeri reseptörlerini endotel hücrelerinin tipik adezyon molekülleri ile yer değiştirir. Preeklampside bu invazif yolak boyunca sitotrofoblast farklılaşmasında bozukluk vardır. Preeklampşik kadınların uterin duvar biyopsileri invazif sitotrofoblastların adezyon reseptör yapımının kök hücreninki ile aynı kaldığını ve invazyonu sağlayıcı reseptörlere değişemediğini göstermiştir.



Preeklampsi spiral arteriyollerin desidual ve intramyometriyal kısımlarının yetersiz adaptasyonu, lokal plasental hipoksiye yol açan azalmış uteroplazental kan akımı ile sonuçlanır. Artmış süperoksit oluşumuna bağlı olarak gelişen plasental oksidatif stres preeklampsi patogenezinde önemlidir (1). Maternal oksidatif strese sonucu oluşan süperoksit ve serbest radikaller lipidler, proteinler ve nükleik asitleri bozarak plasental hücre, doku ve organ yaralanmalarına neden olabilir. Ek olarak maternal vasküler endotelial disfonksiyona ve lökosit aktivasyonuna yol açar. Preeklampsinin patogenezinde endotelial disfonksiyonun en belirgin mekanizma olduğu düşünülmektedir (2). Maternal uterin vaskularizasyon ve plasental kan akımındaki değişiklikler fetal büyümeyi bozar.

Nedeni hala belli olmamasına rağmen, sendrom plasental faktörlerin maternal dolaşıma girmesi ve endotelial disfonksiyona neden olması ile başlayabilir. Anormal plasentasyon sitokinlerin ve diğer ürünlerin salınıp maternal dolaşıma girmesi ve endoteli hasara uğratması ile sonuçlanabilir.

Preeklampsi ile ilgili deneysel çalışmalarda kullanılmak üzere birçok model denenmiştir. Bu çalışmada sıçanlarda aorta ve ovaryan arter klipslemesi yöntemi ile uterin perfüzyon basıncı kronik olarak azaltılması metodu kullanılacaktır (3).

Bizim çalışmamızda ise bu metodla oluşturulan sıçan modelinde preeklampsiye bağlı maternal ve fetal bulgular ile plasental dokudaki oksidatif stres belirteçlerinin incelenmesi amaçlandı.

## 2. Genel Bilgiler

### 2.1. Preeklampsi

#### 2.1.1. Tanım

Preeklampsi, gebeliğin 20. haftasından sonra oluşan gebeliğe özgü bir hastalıktır. Ulusal Hipertansiyon Eğitim Programı Çalışma Grubu (The National High Blood Pressure Education Program Working Group) gebeliğin 20. haftasından sonra proteinüri gelişmeksizin yüksek kan basıncı gelişmesi ve postpartum kan basıncı düzeylerinin normale döndüğü olguları tarif etmek için “gebeliğin indüklediği hipertansiyon” terimini önermiştir (4). Çalışma grubu tarafından oluşturulan kriterlere göre hipertansiyon, gebe kadında gebelik öncesi kan basıncının normal olması ve gebeliğin 20. haftasından sonra sistolik kan basıncının 140 mmHg veya daha yüksek veya diyastolik kan basıncının 90 mmHg veya daha yüksek olması şeklinde tanımlanmıştır. Gestasyonel hipertansiyonlu kadınların dörtte birinden fazlasında proteinüri gelişir. Proteinüri, üriner sistem enfeksiyonu dışlandıktan sonra 24 sa'lik idrarda 0.3 g veya daha fazla veya en az 4 sa arayla yapılan iki farklı idrar test çubuğunda 1+ veya daha fazla protein bulunmasıdır. Proteinüri, HELLP sendromlu ve eklampitik hastalarda bulunmayabilir. Preeklampsi, hipertansiyon ve proteinüri ile tanımlanan ve hatta ödem, görme bozuklukları, baş ağrısı ve epigastrik ağrı gibi çok sayıda diğer semptom ve bulgularla ilgili olabilecek bir sendromdur. HELLP sendromunun laboratuvar bozukluklarında ise hemoliz [karakteristik periferik yayma bulgusu ve serum laktat dehidrojenaz (LDH) > 600 U/l veya serum total bilirubin 1.2 mg/dl], yükselmiş karaciğer enzimleri [serum aspartat aminotransferaz (AST) > 40 U/l ve alanin aminotransferaz (ALT) > 40 U/l] ve düşük trombosit sayısı (< 100,000/mm<sup>3</sup>) bulunmaktadır (5).

Şiddetli preeklampsi kriterleri Tablo 1'de tanımlanmıştır. Bu kriterlerden bir veya daha fazlası mevcutsa preeklampsi şiddetli olarak kabul edilir.

**Tablo 1. Şiddetli preeklampsi tanı kriterleri.**

Yatar pozisyonda en az 6 sa arayla iki tansiyon ölçümünde 160 mmHg veya daha yüksek sistolik, 110 mmHg veya daha yüksek diyastolik kan basıncı
24 sa'lik idrarda 5 g veya daha fazla veya en az 4 sa arayla alınan iki rastgele idrar örneğinde 3+ ve daha fazla proteinüri
Oligüri (< 500 ml/24 sa),
Serebral veya görme bozuklukları
İUGG
Trombositopeni
Epigastrik veya sağ üst kadranda ağrı
Akciğer ödemi veya siyanoz

Eklampsi, preeklampsili bir kadında yeni başlangıçlı “grand mal” tipi epileptik nöbetlerin olması şeklinde tanımlanır. Eklampsi dışında nöbetlerin diğer nedenleri arteriyovenöz malformasyon kanaması, rüptüre anevrizma veya idiyopatik epilepsiyi içermektedir. Bu tanılar yeni başlayan nöbetlerin doğumdan 48-72 saat sonra geliştiği vakalarda daha olasıdır. Gestasyonal hipertansiyon gebeliğin 20. haftasından sonra başlayan ve proteinürinin olmayışıyla preeklampside ayrılan bir durumdur. Benign bir durum olup doğum sonrası kan basıncı normale döner. Kronik hipertansiyon ise gebelik öncesi tansiyonun yüksek olmasıdır. Kan basıncı yüksekliği 20. haftadan önce saptanıyorsa veya doğum sonrası 12 hafta içinde normale dönmüyorsa retrospektif olarak da tanı konulabilir. Bu kadınlarda “süperempoze” preeklampsi riski artmıştır. Süperempoze preeklampsi tanı kriterleri gebeliğin 20. haftasından önce hipertansif bir kadında “yeni başlangıçlı proteinüri”, erken gebelikte mevcut olan proteinüride ani bir artış, hipertansiyonda ani bir artış veya HELLP sendromu gelişimini içerir. Baş ağrısı, görme bozuklukları, veya epigastrik ağrı gelişen kronik hipertansiyonlu kadınlarda da süperempoze preeklampsi gelişebilir (5).

### **2.1.2. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri:**

Preeklampsinin gerçek insidansı bilinmemektedir. Fakat yaklaşık %5-8 olduğunu bildiren yayınlar bulunmaktadır (5). HELLP sendromu çoğunlukla prematüriteye bağlı olarak perinatal mortalitenin %10-20’sinden sorumludur. Şiddetli preeklampsilerin %4’ünde plasenta dekolmanı gelişebilir (6). Bozulmuş uteroplental kan akımı veya plasental infarkt nedeniyle preeklampsinin bulguları fetoplental ünite de görülebilir. Bu bulgular arasında İUGG (intrauterin gelişme geriliği), oligohidramnios, plasenta dekolmanı ve fetal distres sayılabilir. Preeklampside neonatal morbidite sıklıkla respiratuvar distres sendromu, uzamış yoğun bakımda kalış süresi, nekrotizan enterokolit, intraventriküler kanama, sepsis ve ölüm dahil prematüritenin ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerin sekellerine bağlıdır (7-9).

Preeklampsi genellikle ilk gebelikte görülür. Çoğul gebelikler, önceki gebelikte preeklampsi öyküsü, kronik hipertansiyon, gebelik öncesi diyabetes mellitus (DM), vasküler ve bağ doku hastalıkları, nefropati, antifosfolipid antikor

sendromu, obezite, dislipidemi, yüksek testosteron ve homosistein düzeyi, 35 yaş ve üzeri gebelikler ve Afrika-Amerika ırkından olmak diğer risk faktörleri arasındadır (5, 10, 11). Ayrıca, preeklampsi gebelikler arası sürenin uzun olması ve gebelik öncesi çiftlerin kısa süre birlikte olması ile de ilgilidir (7). Genetik ve çevresel faktörlerin preeklampsi riski ve insidansı üzerine rolü net olarak belli değildir (10).

Bir çalışmada preeklampsinin kardiyovasküler hastalığa neden olmadığı gösterilmişse de (12) inme, iskemik kalp hastalığı ve kronik hipertansiyonlu kadınlar arasında kardiyovasküler morbidite ve mortalitenin arttığı da gösterilmiştir. Preeklampside endotel fonksiyon bozukluğunu gösteren azalmış endotel bağımlı vazodilatasyon, uzun yıllarca devam etmektedir (7). Fisher ve arkadaşları preeklampsi gelişmeden gebelik geçiren bir kadının sonraki yaşamında daha az kardiyovasküler risk taşıdığını göstermişlerdir (13). Ancak, ilginç bir şekilde preeklampsi kadınlarda malignensi riskinin azaldığı gösterilmiş ve bunun da gebelik dışında devam eden anti anjiyojenik ortamdan dolayı olabileceği düşünülmüştür (7).

### **2.1.3. Patofizyoloji**

Çok yaygın olarak görülen bir hastalık olmasına ve birçok literatür plasentada trofoblastik invazyonun derecesi üzerine odaklanmasına rağmen preeklampsinin etyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Preeklampsinin nedeni olarak tek bir faktör gösterilememiştir. Bozulmuş prostaglandin I<sub>2</sub> (PGI<sub>2</sub>) – tromboksan (TXA<sub>2</sub>) dengesi ve nitrik oksit metabolizması, artmış oksidatif stres, vazokonstriktör ajanların üretimi, değişmiş plasental sitokin yapımı ve plasenta tarafından üretilen diğer toksik bileşiklerin oluşumu gibi birçok etken preeklampsideki endotel disfonksiyonuna neden olmaktadır. Bunun gibi plasental faktörlerin maternal vasküler hücreler (örn. endotel hücreleri, nötrofiller ve trombositler) üzerine etkileri, mevcut maternal risk faktörleri (vasküler, renal ve metabolik hastalıklar), immün bozukluklar ve genetik faktörlerle birleştiğinde gebelikte preeklampsi gelişimi için gerçek risk faktörleri ortaya çıkar (10, 14, 15).

Vazopressör ajanlara karşı damarların artmış sensitivitesi nedeniyle oluşan

yoğun vazospazma sekonder olarak tüm organlara giden kan akımı azalmıştır. Perfüzyon daha ileri aşamada koagülasyon kaskatının aktivasyonu ile daha da bozulur. Ayrıca plazma volümü intravasküler alandan sıvı kaybıyla daha da azalır (5, 14, 16).

#### **2.1.4. Preeklampside Plasental Bozukluklar**

Preeklampsi, sadece plasenta varlığında oluşur ve plasentanın çıkarılması ile iyileşme gösterir. Preeklamptik ekstrauterin gebeliklerde yalnız fetusun çıkarılması yetersiz kalmış; semptomlar plasenta doğurtuluncaya kadar devam etmiştir (12).

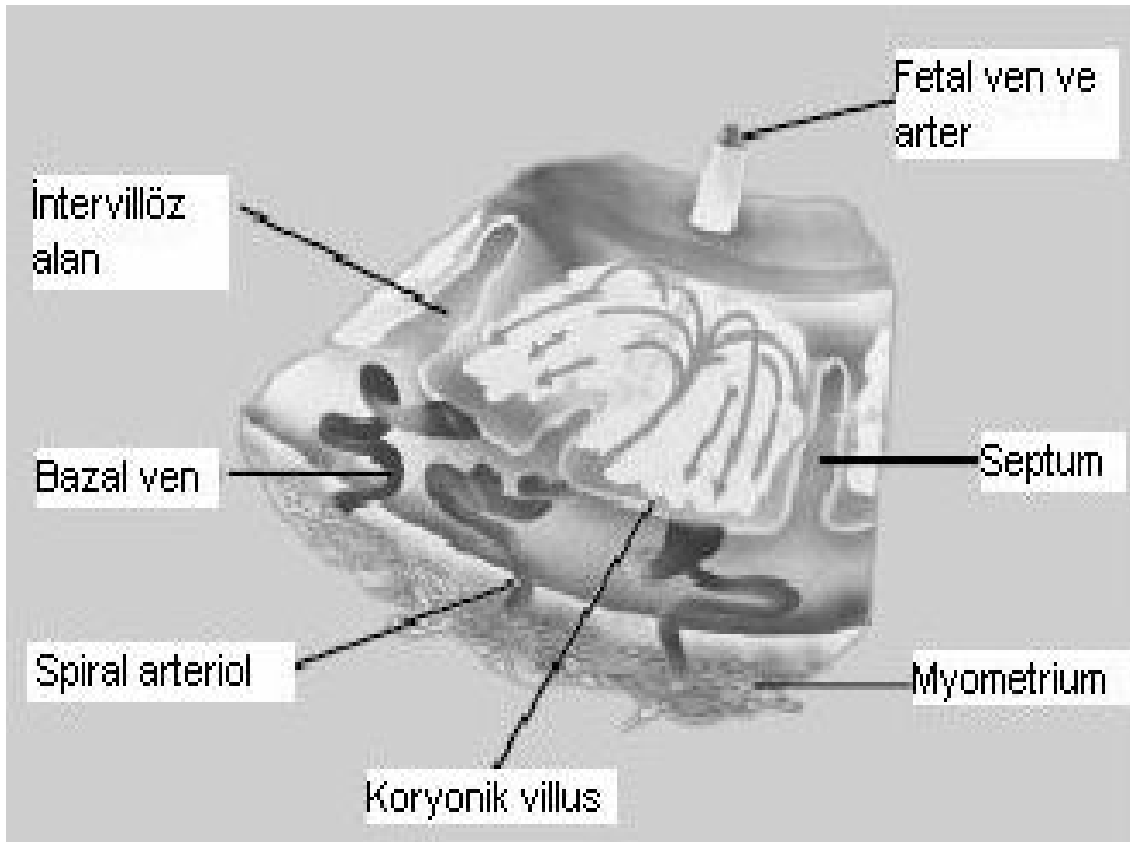
İnsan plasentasında, maternal kan direkt sinsityotrofoblastlar arasında yüzer. Normal oksijen ve besin transportu, atıkların temizlenmesi, hormon sekresyonu ve netice itibarıyla fetal gelişim için normal trofoblast fonksiyonu çok önemlidir. Ancak, plasentadaki bazı biyokimyasal bozuklukların preeklampsi patofizyolojisine katkıda bulunduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur. Örneğin: (1) plasentada artmış vazokonstriktör ve azalmış vazodilatatör üretimini gösteren kanıt vardır, (2) preeklampside hem plasental redoks hem de antioksidan durumunun değiştiğini gösteren kanıt vardır ve (3) plasental sitokin üretiminin şeklinin değiştiğini gösteren kanıtlar vardır.

Uzun süren ve şiddetli preeklampside plasental hipoperfüzyon ve iskeminin patolojik bulguları gösterilmiştir. Bu bulgular ortak olmamakla beraber, hastalığın klinik şiddeti ile korele olduğu görülmüştür (6, 12, 13). Gebe primatlarda uterin kan akımının kesilmesiyle proteinüri oluşturulmuştur (17). Bu gözlemler plasental iskeminin erken ve uyarıcı bir olay olduğunu göstermektedir. Fakat plasental iskeminin nedeni tam olarak anlaşılamamıştır. Örneğin uterin hipoperfüzyon temeline dayanan hayvan çalışmalarında preeklampsinin multiorgan tutulum bulguları oluşturulamamıştır (7).

##### **2.1.4.1. Trofoblastik invazyonun yetmezliği**

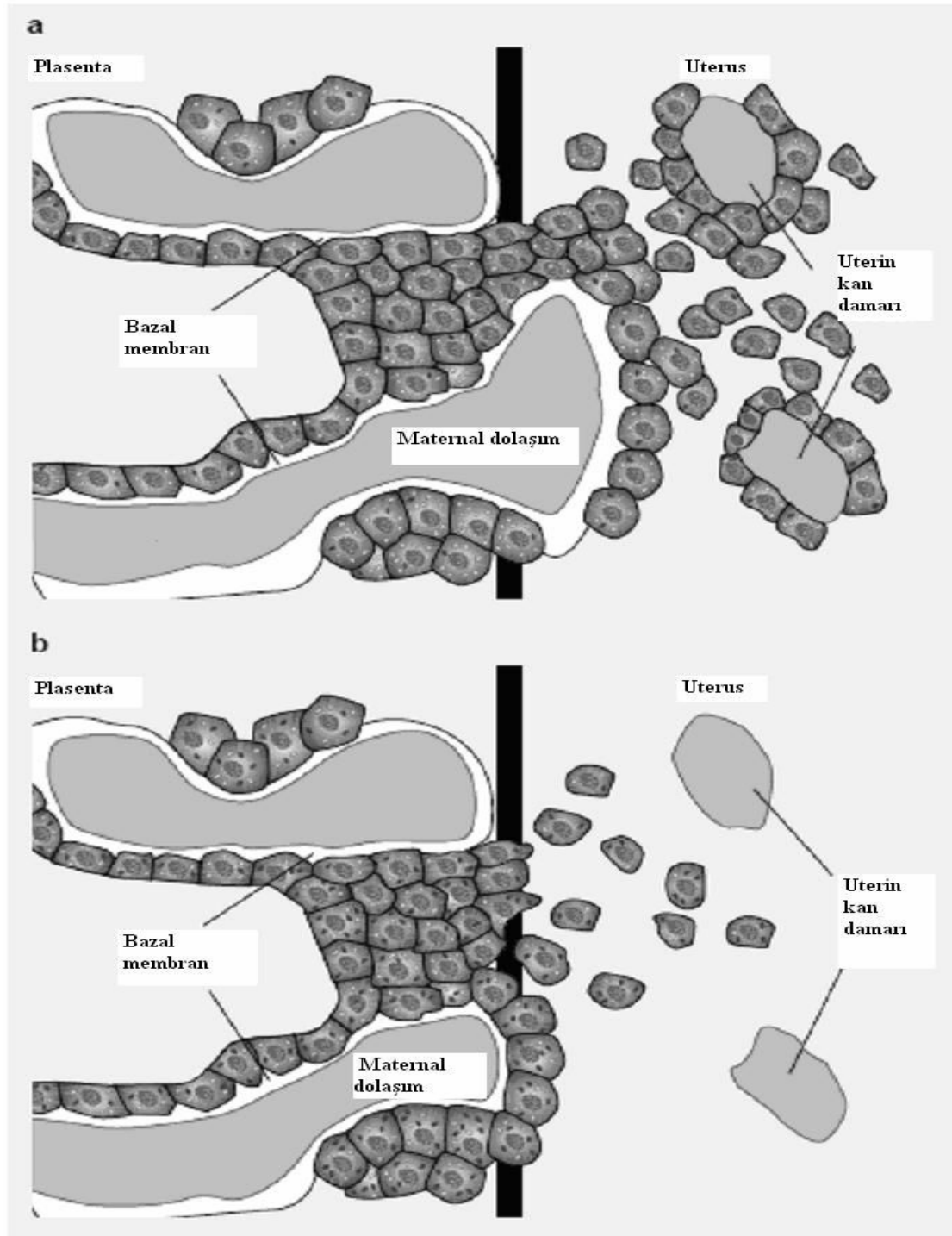
Normal gebelikte, spiral arterlerin lümen çapı oldukça genişlemiş ve duvarları çok az düz kas içerecek şekilde yeniden şekillenmiştir. Bu değişiklikler

myometriyumun iç üçte birindeki damarlara kadar uzanarak intervillöz alana geniş çaplı ve düşük dirençli akım sağlar. Bu değişiklikler fetal trofoblastların maternal damarlara endovasküler invazyonu ile ilgilidir (10) (Şekil 1). Trofoblast invazyonu normal gebelikte 20-22. haftaya kadar tamamlanır. Ancak, preeklampsi olgularında bu zamana kadar uterin spiral arteriollerin sitotrofoblast invazyonu tamamlanmamış ve spiral arterler muskuloelastik yapısını kaybetmede yetersiz kalmıştır (14, 16) (Şekil 2).



**Şekil 1. Spiral arter kan akımı ve villöz yapıyı gösteren maternal-fetal yüzeyin şekli. (Lancet 2000; 356: 1260–65'den alınmıştır.)**





**Şekil 2.** Normal (a) ve preeklampitik (b) gebelikte endometriyumun trofoblastik invazyonu. (Molecular Medicine Today, 1998: 286-291'den alınmıştır.)

Sonuç olarak plasental hipoksi ve azalmış plasental perfüzyon preeklampsideki esas problemlerdir. Fox ve Path trofoblastlar üzerine hipoksinin etkisini inceledikleri çalışmada düşük O<sub>2</sub> ile inkübe edilen villusların değişken sinsityal dejenerasyon ve sitotrofoblast hücrelerinin sayısında belirgin artış olduğunu göstermişlerdir (18). Bu gözlem in vivo olarak preeklampitik plasentada artmış sitotrofoblast proliferasyonu ile uyumludur. Fisher ve ark. in vitro organ kültür modelinde hipoksinin sitotrofoblastların "invazif" fenotipli hücrelere dönüşmesini bloke ettiğini göstermişlerdir (19). Ayrıca, invazif fenotip belirteçleri olan anti-integrin  $\alpha$ 1 ve anti-HLA-G (anti-human leukocyte antigen-G) yapımı incelenmiş ve hipoksik sitotrofoblastların integrin  $\alpha$ 1 üretmediğini göstermişlerdir (19). İnsan trofoblast invazyonu için hayati öneme sahip olan MMP-9 (matriks metalloproteinaz-9) yapımında ve anjiogenezis için anahtar rol oynayan VEGF (VEGFR-1) reseptör yapımında azalma söz konusudur (20). Diğer bir adezyon molekülü olan vasküler endotel (VE)-Cadherin'in sitotrofoblastların endotel hücrelerinde gözlenen adezyon molekülü yapımını taklit etmesini sağlayarak invazyon olayını düzenlediği bilinmektedir. Preeklampitik plasentada sitotrofoblast hücrelerde VE-Cadherin yapımı az olmaktadır (21). Preeklampside HIF-1 (hipoxia inducible factor-1) artmıştır ve TGF $\beta$ -3 (transforming growth factor beta-3) gibi HIF-1 hedef genleri sitotrofoblast invazyonunu bloke edebilir (22).

İnvazif sitotrofoblastlar, VEGF-A, sVEGFR-1 ve PlGF dahil olmak üzere birçok anjiyojenik faktör ve reseptörün yapımını sağlar ve preeklampside bu proteinlerin yapımı değişmiştir (23). Böylece sitotrofoblastların yapışkan ve yıkıcı özelliklerinin zarar görmesine bağlı olarak uterin arteriyoller küçük ve yüksek dirençli damarlar olarak kalır.

#### **2.1.4.2. Preeklampitik Plasentada Vasküler Zedelenme**

İnfarktlar, kanamalar, ateros ve villöz doku nekrozunu içeren plasental vasküler değişiklikler preeklampsi/eklampsi olgularında ortak özelliklerdir. Trofoblastlarca vazokonstriktör maddelerin fazla yapımı sonucu meydana

gelen vasküler hasar plasental perfüzyonu belirgin olarak azaltır. Plasental damarlarda artmış köpük hücreleri, artmış lipid peroksidasyonun sonucu olabilir. Artmış lipid peroksidasyonu, vazokonstriktör ajanların salınımına neden olur (10,14).

#### **2.1.4.3. Preeklampitik Plasentada Artmış Oksidatif Stres ve Vazokonstriksiyon**

Aterosklerozda endotelyal değişikliklerin oksidatif stresi uyarmasının patolojik olarak önemli olduğunu gösteren yeni hipotezler vardır (10). Aterojenik dislipideminin bir parçası olan LDL (low density lipoprotein)'ler proteoglikanlara bağlandıkları subendotelyal alana daha kolay girebilirler ve diğer LDL'lerden daha uzun kalırlar. Düşük yoğunluklu LDL (Small dense LDL) kalıtsal olarak daha kolay okside olur özelliindedir. Subendotelyal alanda dolaşımdaki antioksidanlardan korunurlar ve okside LDL oluştururlar. Okside LDL oldukça reaktiftir ve membran protein ve fosfolipidlerini değiştirir ve monositleri uyaran sinyal moleküllerinin yapımını artırır. Monositler okside LDL'leri alıp köpük hücreleri ve sonunda aterosklerozun özelliği olan damar duvarındaki yağlanmayı oluştururken okside LDL tarafından oluşturulan membran hasarı endotel fonksiyonunu değiştirir (16). Ateroskleroz ve diyabetik vaskülopatide olduğu gibi oksidatif stres preeklampsinin de bir komponentidir (10). Normal plasentada gebelik yaşı ilerledikçe süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz'ın antioksidan aktiviteleri giderek artarken, lipid peroksit üretimi azalmaktadır. Preeklampitik plasentada daha fazla lipid peroksit ve daha az Vitamin E düzeyi, Vitamin A,  $\beta$ -karoten ve SOD ve glutation peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi saptanmıştır. Antioksidanlar, dokuları reaktif oksijen ürünleri ile hasarlanmaya karşı korumada önemli oldukları için, antioksidanların azlığı ve düşük antioksidan enzim aktivitesi nedeniyle preeklampside süper oksit (SO) ve diğer reaktif oksijen metabolitlerinin yapımı artmıştır (15, 24).

Trofoblastlar lipid peroksitlerin ana kaynağıdır. TXA2 ve PGI2 gibi bazı prostanoidlerin yapımını artıran siklooksijenazın uyarılması lipid peroksitlerin etkileri arasındadır. Lipid peroksitler, PGI2 sentazı inhibe edip PGI2 yapımını da azaltırlar. Bu, TXA2/PGI2 oranının artmasına neden olur. Bu dengesizliğin

maternal hipertansiyona, trombosit agregasyonunda artışa ve uteroplental kan akım azalmasına katkısı olduğuna inanılır (14, 16, 25). Artmış lipid peroksidasyonu proteinlere endotelial geçirgenliği artırabilir ve endotel hücre zarına yağ asitlerinin yapışmasını artırır. Renal glomerüllerde endotel permeabilitesindeki değişim, proteinüriye ve sistemik dolaşımda kapillerlerin permeabilitesinin artması, ödeme neden olur. Lipid peroksitler ve oksidanlar ayrıca birlikte trombus oluşumuna neden olan trombin yapımında artış ve antitrombin III (AT III) düzeyinde azalma yapabilirler.

### **2.1.5. Oksidatif stres**

Toplam oksidan üretimi antioksidan kapasiteyi aştığında oksidatif stres oluşur. Önceki çalışmalar reaktif oksijen türevleri (ROT) kardiyovasküler bozukluklarla giden hiperlipidemi, diabetes mellitus ve hipertansiyon gibi hastalıkların başlangıç ve progresyonunda rol oynayabileceğini göstermiştir (26, 27). Hipertansiyonun pek çok formunda artmış NAD (P) H oksidazlardan türemiş ROT'lar oksidanlarla endotelial NOS'ların birleşmesini engelleyen mekanizmayı tetikler (27). Migrasyondaki inflamatuvar hücreler ve/veya vasküler hücrelerce üretilen ROT'lar her hücre tipi üzerinde farklı fonksiyonel etkilere sahiptir (26). Bu etkiler endotelial disfonksiyon, renal tübül sodyum transportu, hücre büyümesi, migrasyon, enflamatuvar gen ekspresyonu ve matriks regülasyonudur. ROT, vasküler endotelial, düz kas ve renal tübül hücre fonksiyonunu düzenleyerek renal basınç, natriürezis ve kan basıncının ayarlanmasında rol oynar (28, 29). Giderek artan çeşitli hayvan modellerindeki deneysel bulgular göstermektedir ki ROT'lar sodyum duyarlı hipertansiyonda rol oynamaktadır (26, 29).

İnsan hipertansiyonunda oksidatif stresin önemi belirsizdir. Hipertansiyonda total oksidan üretimi ile antioksidan kapasite arasında dengesizlik olduğu hepsinde olmamakla birlikte bazı raporlarda bildirilmiştir (26). İnsan çalışmalarındaki farklılıklar oksidatif stresin değerlendirmesinin insanlarda güç olmasına bağlı görünmektedir. Ayrıca pek çok çalışma düşük doz vitamin E ve C'nin kan basıncı üzerinde az veya hiç etkisi olmadığını göstermiştir (26).

### 2.1.6. Preeklampsi Hayvan Modelleri

Normal gebelerdeki vasküler fonksiyon değişiklikleri ile ilgili pek çok çalışma yapılmış olmasına rağmen gebelerde çalışma gclğne bağlı olarak preeklampsideki mediyatörler konusundaki bilgiler sınırlıdır. Preeklampsinin deneysel ortamda çalışılabilmesine yönelik birkaç hayvan modeli geliştirilmişse de uzun dönemde vasküler direnç ve arteryal basıncıdaki artış mekanizması açıklanamamıştır. Uteroplasental kan akımındaki azalma hayvanlarda hipertansiyona neden olduğundan kronik uteroplasental iskemi oluşturulan deneysel çalışmalar kadınlardaki preeklampsiyi en iyi taklit eden model olmuştur. Plasental kan akımı ve preeklampsi arasındaki ilişkiyi gösteren ilk çalışmada Ogden ve ark. gebe köpeklerde gebe olmayanlardan farklı olarak infrarenal aortanın kısmi kapatılmasının hipertansiyon oluşturduğunu göstermişlerdir (30). Sonraki çalışmalarda utero-ovaryan arterlerin bilateral bağlanması ve uterin arterler etrafına non-konstrüktif bantlar yerleştirilmesinin gebe köpeklerde hipertansiyona neden olduğu gösterilmiştir (31).

Bu hipertansif dönem postpartum periyoda kadar devam etmiş, doğum sonrası normale dönmüştür. Bu bulgular Abitbol ve ark'nın tavşanlarda ve yine Abitbol ve ark'nın köpeklerde renal arter seviyesinin altında aortanın daraltılmasının hipertansiyon ve proteinüri oluştuğunu göstermeleriyle desteklenmiştir (32,33). Bu hayvalarda ayrıca klasik olarak preeklampitik kadınlarda görülen glomerüler endotelyal lezyonlara benzer yapılar gösterilmiştir. Daha sonra, Losonczy ve ark. aorta konstrüksiyonu yapılmış ve sürekli monitörize edilen bilinçli tavşanlarda ölçümler yapmışlardır (34). Bu çalışmalarda preeklampitik kadınlarda görülen arter basınclarında artış gösterilmiştir.

Gebelikde azalmış uteroplasental perfüzyon ve hipertansiyon arasındaki ilişki primatlarda da gösterilmiştir. Cavanagh ve ark. yine bir başka çalışmalarında Cavanagh ve ark. babunlarda utero-ovaryan artelerin bağlandığı ve uterin arterler çevresine bantlar yerleştirildiği bir çalışma planlamışlardır (35, 36). Cerrahi sonrası gebelerin; gebe olmayan ve opere sham grubuna göre tansiyonları yüksek bulunmuştur. Bu hayvanlarda aynı zamanda glomerüler

endotelyal değişiklikler gösterilmiştir. Combs ve ark. rhesus maymunlarında aort konstriksiyonu modelinde erken gebelik haftalarından doğuma kadar etkilerini çalışmışlardır (37). Bu modelde aort konstriksiyonunun derecesi önceden ayarlanmış ve progresif hipertansiyon, proteinüri ve glomerüler endotelyoz oluşumu izlenmiştir.

#### **2.1.6.1. Utero-Plasental Basınç Azaltılması Modeli (UPBAT)**

Granger ve arkadaşları gebe ratlarda uteroplasental perfüzyon basıncının kronik azaltılmasının ratlardaki preeklampsi (UPBAT) modelini geliştirmişlerdir (Şekil 2). Gebeliğin 19. gününde kontrol grubundaki gebe ratlarla karşılaştırıldığında arteriyal basınçta 20-30 mmHg civarında kalıcı bir artış olduğunu göstermişlerdir. UPBAT modeliyle oluşturulmuş hipertansiyonda proteinüri, renal plazma akım ve glomerüler filtrasyon hızında azalmalar ve kan basıncı ve natriürezis ilişkisinde değişiklik gözlenir. Ayrıca UPBAT hipertansiyonlu ratlarda endotelyal bileşkedeki bozulma ciddi düzeydedir. Ek olarak aynı ratlarda normal gebelere göre gebeliğin 19. gününde tromboksan ve endotelin sentezi artarken, vasküler dokuda nitrik oksit üretimi azalmaktadır (38). Ayrıca UPBAT hipertansiyonlu ratlarda intrauterin gelişme geriliği gözlenmektedir. Bu model preeklampsinin pek çok karakteristik özelliğini taşımaktadır ve kronik uteroplasental perfüzyon basıncının azalmasına bağlı renal ve kardiyovasküler anormalliklere neden olan ROT'ların önemi tam olarak bilinmemektedir.

#### **2.1.7. Preeklampside Artmış Oksidatif Stres**

##### **2.1.7.1. Preeklampside Artmış Oksidatif Stresin Kanıtı**

Oksidatif stres endotelyal hücre fonksiyon bozukluğuna neden olabilir ve preeklampsinin patofizyolojisinde rol oynayan artmış pro-oksidan aktivite ve azalmış anti-oksidan koruma bunun kanıtıdır (39). Preeklampside artmış oksidatif stres annedeki obesite, diabet ve hiperlipidemi ve plasentadaki lipid peroksidlerin salınımına bağlı olabilir. Aşağıda preeklamptik kadınlarda oksidatif stresi gösteren markerların bir listesi yer almaktadır.

**1.1.1.1.1. Dolaşımdaki Markerlar**

Nonlipid markerlar

Low density lipoproteinlere (LDL) karşı antikorlar, askorbat okside edici aktivite ve artmış nitrozotiyoller .

Lipid markerlar

Lipid oksidasyon ürünleri and okside LDL antikorları.

Maternal Sistemik Dokularda:

Damarlarda nitrotirozin kalıntılarının artarak nötrofil ve monositlerin aktive olması

**1.1.1.1.2. Desidualarda:**

Lipid-laden makrofajların aterosizi ve artmış lipid peroksidazlar

İzoprostanlarda (8 iso PGF<sub>2a</sub>) artış ve protein karbonilleri

Plasenta

Non lipid markerlar

Trofoblast hücrelerinde artmış ksantin oksidaz ve fetal damarlarda nitrotirozin kalıntılarının artması

Lipid markerlar

Malondialdehid ve lipid peroksidaz artışı

Protein karbonilleri

Antioksidanlar

Superoksid dismutaz ve glutatyon peroksidaz azalması (40).

### 2.1.7.2. İzoprostanlar

F2-izoprostanları prostaglandin F2 benzeri yapılar olup insanda araşidonik asit peroksidasyonunu etkileyen non-siklooksijenaz serbest radikal katalize edici mekanizma tarafından üretilir. Pek çok çalışma F2 izoprostanların miktarının in vivo lipid peroksidasyonu ve oksidatif stresin değerlendirilmesinde güvenilir ve kullanışlı bir yöntem olduğunu göstermiştir. Oksidatif stres koşullarında prooksidanlar antioksidanlardan fazla olduğunda reaktif oksijen ürünleri DNA ve lipidler ile hücresel protein bağlantılarını etkiler (41). Lipidlerin oksidatif hasarı lipid peroksidasyonu ile ilgilidir ve membran entegrasyonu ve bileşkelerinde kayıplara neden olur. İzoprostanlar içinde 15-F (2t)-IsoP ve 15-E (2t)-IsoP biyolojik olarak aktif ve vazokonstriksiyon ile bronkokonstriksiyondan sorumlu mediatörlerdir. İzoprostanlar bu etkileri prostanoid TP reseptörleri üzerinden tam veya parsiyel agonistik etki ile yaparlar. F2-izoprostanlar iskemi-reperfüzyon, ateroskleroz ve inflamasyon gibi durumlarda ortaya çıktığından bu gibi hastalıklar ve lipid peroksidasyonu arasında güçlü ilişki saptanmıştır (42).

F2-izoprostanlar oksidatif strese bağlı çeşitli hastalıklarda dramatik olarak artar ve pro-oksidan ve anti-oksidanlar arasındaki dengesizlik direkt vasküler veya vazoktif mediyatörler aracılığıyla endotelial disfonksiyona neden olur (1). Serbest radikal hasarının çalışıldığı hayvan modellerinde F2-izoprostanların ölçümü doku hasarıyla uyumludur. Ayrıca F2-izoprostanlar artmış oksidan strese bağlı olarak insanlardaki hastalıklarda da artar (43). 8-izoPGF<sub>2</sub> $\alpha$ , izoprostanın, serbest formu olup preeklampatik kadınların gestasyonel endometriumunda da yükselir (44). Walsh ve ark preeklampside plasental izoprostanların belirgin olarak arttığını göstermişlerdir (45).

### 2.1.7.3. Malondialdehid

Lipid peroksidasyonu hücresel zedelenmenin en iyi bilinen mekanizmalarından olup hücre ve dokularda oksidatif stresin indikatörü olarak kullanılır. Malondialdehid çoklu doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ve araşidonik asit metabolizmasından oluşan yüksek reaktif üç karbon yapısıdır. Çoklu doymamış yağ asitlerinden türeyen lipid



peroksidleri anstabil ve kompleks yapılar oluşturmak üzere bozulurlar. Bu reaktif karbonil bileşiklerinden en fazla görüleni malondialdehid (MDA). Bu nedenle MDA ölçümü lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılır (46). Lipid peroksidasyonu ürünleri kronik hastalıklarda hem insanlarda hem hayvan modellerinde artmış olarak bulunmuştur (47-49). MDA proteinlerdeki amino gruplarıyla ve diğer biyomoleküllerle reaksiyona girer (46). Çapraz bağlı ürünler dahil MDA , DNA bazlarıyla mutajenik ve karsinojenik yapılar oluşturur (50- 52). Walsh ve ark 48 sa 37 °C de %95 hava ve %5 CO<sub>2</sub> ortamında inkübe edilen plasental dokularda MDA konsantrasyonlarında giderek artan konsantrasyonlar göstermiştir (45). MDA oranlarının 48 sa inkübasyon sonrası preeklampitik kadınlarda normal gebelere göre anlamlı olarak yüksek olduğu gösterilmiştir.

Preeklampside oksidatif stresin etkilerinin olduğu konusunda giderek güçlenen kanıtlar olmasına rağmen ROT'ların preeklampside renal ve kardiyovasküler anomaliler üzerindeki önemi gebe kadınlarda mekanik çalışma yapmak güç olduğundan tam olarak aydınlatılamamıştır.

## **2.1.8. Preeklampside Artmış Oksidatif Stres Mekanizmaları**

### **2.1.8.1. Preeklampside Artmış Oksidan Aktivite**

#### **1.1.1.1.3. Aktive Olmuş Nötrofiller**

Aktivasyona bağlı nötrofiller, preeklampsinin yaygın belirtilerine neden olduğuna inanılan reaktif oksijen radikallerini salgırlar. Plazma nötrofil elastaz düzeyinin ölçülmesi preeklampside nötrofil aktivasyonunun ölçülmesinde kullanılan ilk tekniktir. Sonraki yıllarda aynı amaçla nötrofil yüzey markerları ve intrasellüler reaktif oksijen türleri de in vivo nötrofil aktivasyonunun gösterilmesinde kullanılmıştır. Gebeliğe bağlı hipertansiyonda bu aktivasyon maternal dolaşımda sınırlıdır (53). Nötrofillerde bulunan NADPH oksidaz enzimi ROT'ların üretimini katalize eder. Lee ve ark Preeklampside nötrofillerde bulunan NADPH oksidaz enzimi ve ROT'ların yapımını incelemiştir (54). Bu çalışmada Lee ve ark. enzim yapıtaşlarının protein yapımını western blotting yöntemiyle ve agonist stimülasyonuna cevaben süperoksid üretimini ölçerek enzim aktivitesini

değerlendirmişlerdir. Lee ve ark. üçüncü üçay preeklampsili kadınlardan izole edilen nötrofillerde, agonist stimülasyonuna artmış duyarlılık ve yaş uyumlu normotensif grupla karşılaştırıldığında belirgin olarak daha fazla reaktivite gösteren oksijen türevleri üretildiğini göstermişlerdir (54). Mellenbakken ve ark. preeklamside uteroplasental pasaj sırasında lökositlerin aktive olduğunu göstermişlerdir (55). Aly ve ark. ise preeklampsili kadınlarda sinsityotrofoblast mikrovillus membranınca uyarılan nötrofillerin süperoksid radikaller ürettiğini bildirmişlerdir (56). Myeloperoksidaz enzimi (MPO) nötrofil ve monositlerin azurofil granüllerinin içinde bulunan bir hem proteindir. Hücre aktivasyonuna bağlı fagolizom veya ekstrasellüler boşluğa salgılanır. MPO süperoksid anyonunun dismutasyonu ile reaktif ara ürünler yaparak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin toksik potansiyelini artırır. Klorid iyonunun plazma konsantrasyonlarında MPO'nun majör ürünü hipoklorik asittir. Bu güçlü oksidan, elektron zengin yapıları klorlayarak hem protein hem de nükleotidleri okside eder (57).

#### **1.1.1.1.4. NADPH oksidaz**

NADPH oksidazlar, mezodermal orjinli bazı hücrelerde bulunan plazma membranıyla bağlantılı bir grup enzimdir. Bunlardan en çok çalışılanı lökosit NADPH oksidazı olup fagositlerde ve B lenfositlerde bulunandır. Süperoksid (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) oluşumunu NADPH elektron donörü olarak kullanıp oksijenden bir elektron indirgeyerek katalizler.

Enzim 5 komponentden oluşur: p40PHOX (PHOX- Phagocyte Oxidase), p47 PHOX, P67 PHOX p22 PHOX ve gp91 PHOX. Dinlenme halindeki hücrede bunlardan üçü, p40 PHOX, p47 PHOX ve p67 PHOX sitozolde kompleks halinde bulunur. Diğer ikisi olan p22 PHOX ve gp91 PHOX ise heterodimerik flavohemoprotein olan sitokrom b558 adı altında sekretuar veziküllerin membranlarında özel granüllere yerleşmiştir. Bu iki grubun birbirinden uzak subselüler kompartmanlarda yerleşmiş olması dinlenme halindeki hücrelerde oksidazın inaktive olmasını garanti altına alır. Hücre herhangi bir stimulusa maruz kaldığında ise sitozolik komponent olan p47 PHOX fosforile hale geçerek tüm sitozolik kompleks membrana doğru hareket eder ve sitokrom b558 ile birleşerek oksidazı aktive eder. Bu haliyle oksidaz substrattan oksijene flavin ve hem gibi prostatik gruplarıyla elektron transfer edebilir.

Aktivasyon için sadece komponentlerin birleşmesi yeterli değildir. Ayrıca iki tane düşük moleküler ağırlıklı guanin nükleotid bağlayıcı protein gereklidir: Rac5 dinlenme halindeki hücrenin sitoplazmasında Rho-GDI (Guanine nucleotide Dissociation Inhibitor) ile dimerik kompleks halindedir ve Rap1A ise membranlarda bulunur. Aktivasyon sırasında, Rac2 guanozin trifosfatı bağlar.

Griendling ve ark. membran bağlı NADPH oksidazın vasküler dokuda ROT'ların ana kaynağı olduğunu gösterdiler (58).

#### **1.1.1.1.5. Ksantin Oksidaz Enzimi**

Ksantin dehidrogenazeloksidaz in vivo olarak iki formda bulunur. Ksantin oksidazın dehidrogenaz formu (Tip D) NAD'ye ihtiyaç duyar ve ürik asit ile NADH üretir. Enzim oksidaz formundayken (Tip O) ürik asit oluşumu, reaktif oksijen türevlerinin yapımıyla eş zamanlıdır. Bazı faktörler haloenzim aktivitesini ve ksantin dehidrogenaz/oksidazın oksidaz formuna dönüşümünü arttırabilir. Bunlar hipoksi-reperfüzyon, sitokinler ve artmış substrat (ksantin ve hipoksantin) miktarı gibi faktörlerdir. Preeklampsi hiperürisemi ve reaktif oksijen türevlerinin artmasıyla karakterizedir (59). Many ve ark. preeklampitik gebelerin plasenta ve plasental yatak küretaj materyallerini, ksantin oksidazın oksidatif stres mediyatörü olduğu hipotezini göstermek üzere test etmişlerdir (60). Ksantin dehidrogenazelksantin oksidaz haloenzimi ekspresyonu ve ROT'ların oluşumundaki izoformu olan ksantin oksidaz aktivitesi preeklampitik kadınların sitotrofoblastlarında artmış olarak bulunmuştur.

#### **2.1.8.2. Preeklampside azalmış antioksidan aktivite**

##### **1.1.1.1.6. Antioksidan Savunma Sistemleri**

Organizmalar, serbest radikallerin yol açtığı oksidatif hasara karşı kendilerini koruyabilmek için, birçok savunma mekanizmasına sahiptirler (61).

Antioksidan savunma sistemleri, enzimatik ve nonenzimatik olmak üzere, başlıca iki büyük grupta toplanabilirler (61).

Enzimatik Savunma Sistemi: SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSSG-Rd), glukoz-6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) ve

seruloplazmin (Cp) gibi antioksidan enzimleri içermektedir.

Nonenzimatik Savunma Sistemi: Alfa-tokoferol ve karotenoidler gibi lipofilik antioksidanlar ile askorbik asit, redükte glutatyon (GSH), glukoz, bilirübin, transferrin ve albümin gibi hidrofilik antioksidanlardan oluşmaktadır.

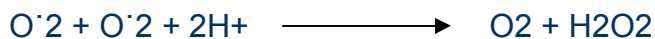
Bu enzimatik ve nonenzimatik savunma sistemleri arasında güçlü ilişkiler mevcuttur. Örneğin GSH,GSH-Px,GSSG-Rd ve G6PD,birlikte glutatyon redoks siklusunu oluşturur . Antioksidan savunma sistemleri, pek çok farklı mekanizma ile, serbest oksijen radikallerini etkisiz hale getirebilmektedirler (61).

- Oksijen konsantrasyonunun lokal olarak azaltılması
- Serbest radikallerin tutulması
- Süperoksit radikalının daha toksik radikallere dönüşümünün önlenmesi
- Metal iyonlarının bağlanması
- Peroksitlerin zararsız ürünlere çevrilmesi
- Radikallerin redüksiyonu
- Lipid peroksidasyonunu oluşturan zincirin kırılması

#### **1.1.1.1.7. Süperoksit dismutaz (SOD)**

Süperoksit dismutaz (SOD) süperoksit serbest radikallerin dismutasyonunu katalize eden, aerobik hücrelerde yaygın olarak bulunan ve oksijen toksisitesine karşı, ilk doğal savunmayı gerçekleştiren bir metalloprotein enzimdir (62). Reaksiyon denkleminde görüldüğü gibi;

SOD



Süperoksit anyonunun H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e dismutasyonunu katalizleyen SOD; spontan

reaksiyon hızını yaklaşık bin kat artırmakta ve böylece O<sup>2</sup> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in bir arada bulunmasını ve birlikte OH<sup>·</sup> radikali oluşturmalarını önlemektedir (63). Memelilerde, dismutasyon reaksiyonunu katalizleyen 3 tip SOD mevcuttur (64). Sitoplazmik SOD (Cu-Zn SOD): Hücrelerin sitozolünde bulunan enzim dimerik yapıdadır. Her alt ünite birer atom bakır ve çinko içerir. Enzimin aktivasyonu ve O<sup>2</sup>'nin dismutasyonu için bakır (Cu) iyonunun varlığı gereklidir. Çinko (Zn) iyonları ise Cu-Zn SOD'nin stabilizasyonunu sağlamaktadır.

Mitokondriyal SOD (Mn-SOD): Mitokondriyal matrikste lokalize olan enzim, tetramerik yapıdadır. Her alt ünite bir Mangan (Mn) atomu içerir. Mn atomu aktif merkezden uzaklaştırılınca, enzimin katalitik aktivitesi kaybolur.

Ekstraselüler SOD (EC-SOD): Sitoplazmik SOD'dan farklı, Cu ve Zn içeren, tetramerik yapıda bir glikoproteindir. Plazma gibi ekstraselüler ortamlarda ve akciğerlerde bulunmaktadır.

Süperoksit anyonunun dismutasyonu ile oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, normal metabolik şartlarda, glutatyon redoks siklusu ve katalaz tarafından ortamdaki uzaklaştırılmaktadır (64). Okado-Matsurnoto ve Fridovich Cu/Zn SOD hücrenin sitozol ve lizozomal kısmındayken, Mn-SOD'ın ise mitokondride bulunduğunu göstermişlerdir (65). Cu/Zn SOD ve Mn-SOD her ikisi de heat stabil ve siyanid inhibisyonuna duyarlıdır. Sırasıyla 31,800 ve 31,400 dalton ağırlığa sahiptir. Süperoksit dismutaz (SOD) seviyesi ve SOD aktivitesi preeklampatik kadınların nötrofil ve plasentalarında azalmıştır (1). Preeklampatiklerde SOD seviyesinde ve aktivitesindeki azalma, SOD'deki bozulma hem maternal hem plasental komponentlerde olduğu için önemlidir.

#### **1.1.1.1.8. Glutatyon Redoks Siklusu**

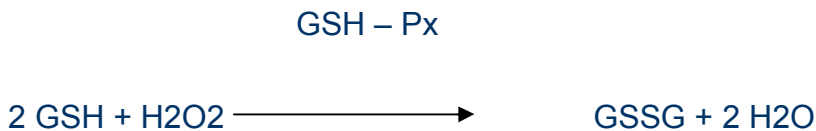
Serbest radikallere ve ilaç biyoredüksiyonuyla oluşan reaktif ürünlere karşı, hücrenin en önemli savunma aracı glutatyon redoks siklusudur. En toksik serbest oksijen radikali olan hidroksil radikalinin üreticisi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, bu siklus ile suya yıkılırken; diğer organik hidroperoksitler alkollere redüklenirler. Peroksidaz reaksiyonu sırasında oksitlenen glutatyonun, tekrar redüklenmesi için gerekli reaksiyonlar dizisi, glutatyon redoks siklusu olarak adlandırılır

(66).

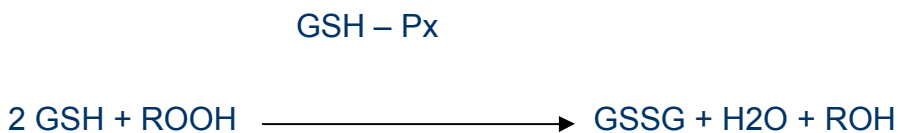
#### 1.1.1.1.9. *Glutasyon Peroksidaz*

Glutasyon peroksidaz, peroksitlerin redüksiyonunu katalizleyen, tetramer yapıda bir metalloproteindir. Her alt ünite, aktif bölgesinde, selenosistein şeklinde bir atom selenyum (Se) içermektedir (66).

GSH-Px, başta karaciğer olmak üzere, eritrositler, kalp, akciğer, böbrek, göz ve beyin gibi dokularda bulunmaktadır. Enzimin subselüler olarak, en çok sitozolde ve mitokondriyal matrikste lokalize olduğu bilinmektedir (66). GSH-Px, katalizlediği oksidoredüksiyon reaksiyonu sırasında, H-donörü olarak, GSH'a spesifiktir. Fakat H-akseptörü olarak, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in yanı sıra, steroid hidroperoksitler, yağ asidi hidroperoksitleri ve lipid peroksi radikalleri gibi diğer birçok organik hidroperoksit (ROOH)'leri de kullanabilir (66). Mitokondrilerde oluşan veya endoplazmik retikulumdan sitoplazmaya salgılanan ya da SOD gibi sitozolik enzimlerle açığa çıkan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, GSH varlığında, GSH-Px ile suya redüklenmektedir (66):



Doymamış yağ asitlerinin enzimatik ya da nonenzimatik oksidasyonu ile açığa çıkan organik hidroperoksitler, yine GSH varlığında, GSH-Px tarafından hidroksi yağ asitlerine ya da alkollere redüklenmektedir (66):



Her iki reaksiyon sisteminde de, GSH, enzimin aktif bölgesinde bulunan Se'u redüklemekte ve peroksitler, enzimin bu redükte formu ile redüklenmektedir. Daha sonra reaksiyona katılan 2. GSH ile, enzim aktif formuna dönerken; GSH, disülfid formu (GSSG)'na oksitlenmektedir (66).

Eritrositler dışında, karaciğer ve diğer bazı dokularda, GSH-Px'in Se

içermeyen formu da mevcuttur. Fakat bu enzim, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üzerinde etkili olmayıp sadece organik hidroperoksitleri redükleyebilmektedir (66).

Preeklampside oksidatif strese ilişkin başka bir kanıt da hipertansiyonun selenyum eksikliği olan gebeliklerde görülmesidir (67). Glutasyon Peroksidaz, hidrojen peroksidin intraselüler konsantrasyonunu kontrol ettiği ve toksik lipid peroksidlerin redüksiyonunu katalize ettiği düşünülen selenyum içeren enzimdir.

### **3. Gereç ve Yöntem**

#### **3.1. Çalışma Gruplarının Oluşturulması**

Bu çalışma, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 06.07.2006 tarih ve B.30.2.CUM.0.01.00.00-50/139 karar no onayı ile Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları ve Araştırma laboratuvarında (DEKAM) gerçekleştirilmiştir. Deneysel çalışmalar T.C. Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı'nca (Proje No:T300) desteklenmiştir. Çalışmanın dokularda oksidatif stres belirteçlerinin incelenmesi Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı (AD), kanların hematolojik incelenmesi Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, idrar ve kan biyokimyasal analizleri ise Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında yapılmıştır.

Bu çalışmada 30 adet, ortalama 200-250 gr ağırlığında gebe Sprague-Dawley türü dişi sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar normal hayvan laboratuvar ortamında tutulmuş ve beslenme ve su alımı sınırlaması yapılmamıştır. Sıçanlar her grupta eşit sayıda olmak üzere iki gruba randomize edilmiştir. Sıçanlar uterin perfüzyon basıncının azaltılması tekniği (UPBAT) ile uterin plasental yetmezlik oluşturulmuş grup ve opere kontrol grubu olmak üzere iki gruba ayrılmıştır.

#### **3.2. Deney Protokolü**

##### **3.2.1. Gebelik Dönemi İşlemleri**

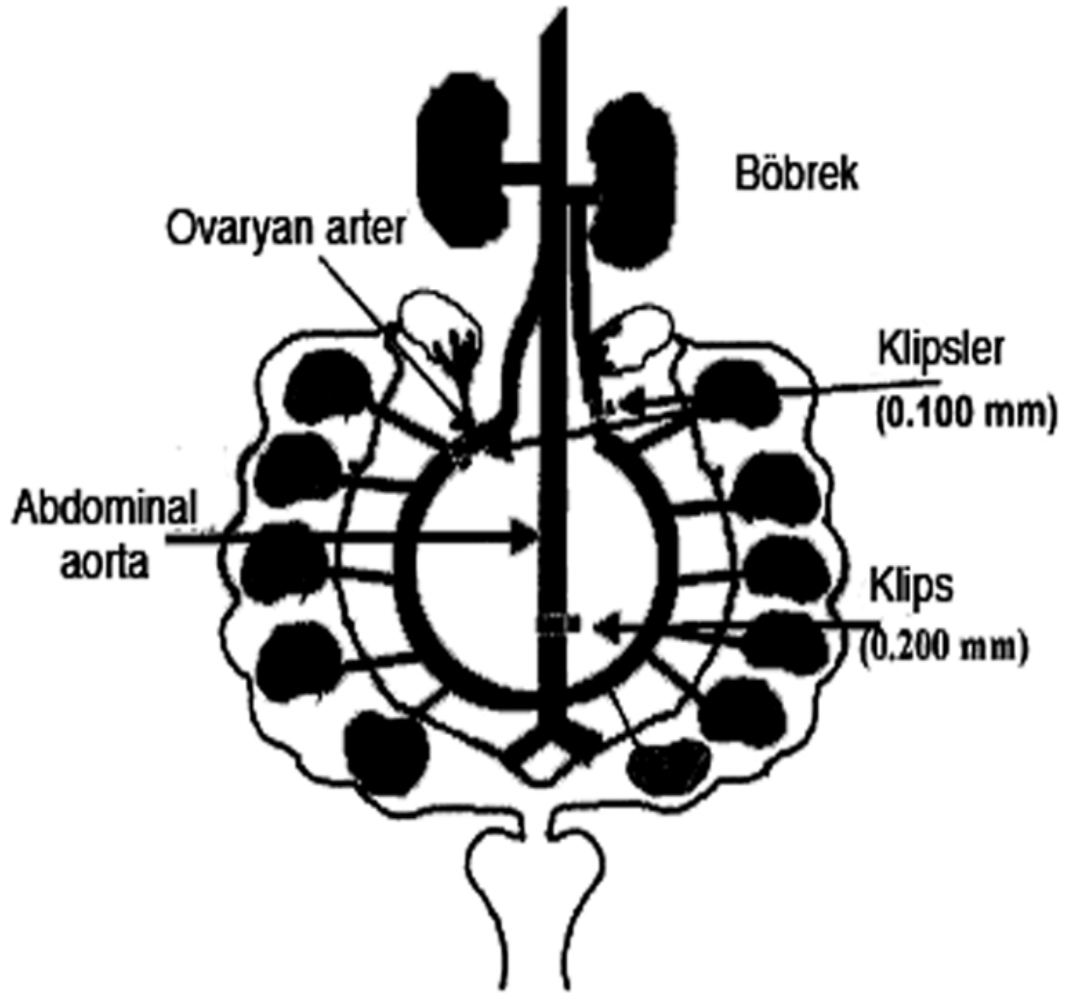
###### **3.2.1.1. UPBAT grubu**

İsler ve ark.'nın araştırmasında önerilen teknik ile yapılmıştır (3). Bu tekniğe göre sıçanlara gebeliğin 14. günü 40 mg/kg intraperitoneal (İP) Ketamin HCl (Ketalar, 50mg/ml, Eczacıbaşı ilaç Pazarlama A.Ş., Lüleburgaz, İstanbul, Türkiye) ve 1 mg/kg ksilazin hidroklorid (Rompun 20 mg/ml, Abdi İbrahim İlaç Pazarlama A.Ş., İstanbul, Türkiye) kombine genel anestezi (ketamin 75 mg/kg ve ksilazin 15 mg/kg) uygulanmıştır. Operasyon öncesi sıçanların abdominal bölgeleri alt kostalara kadar tıraş edilip, alkol ve povidon iyodür karışımıyla üç

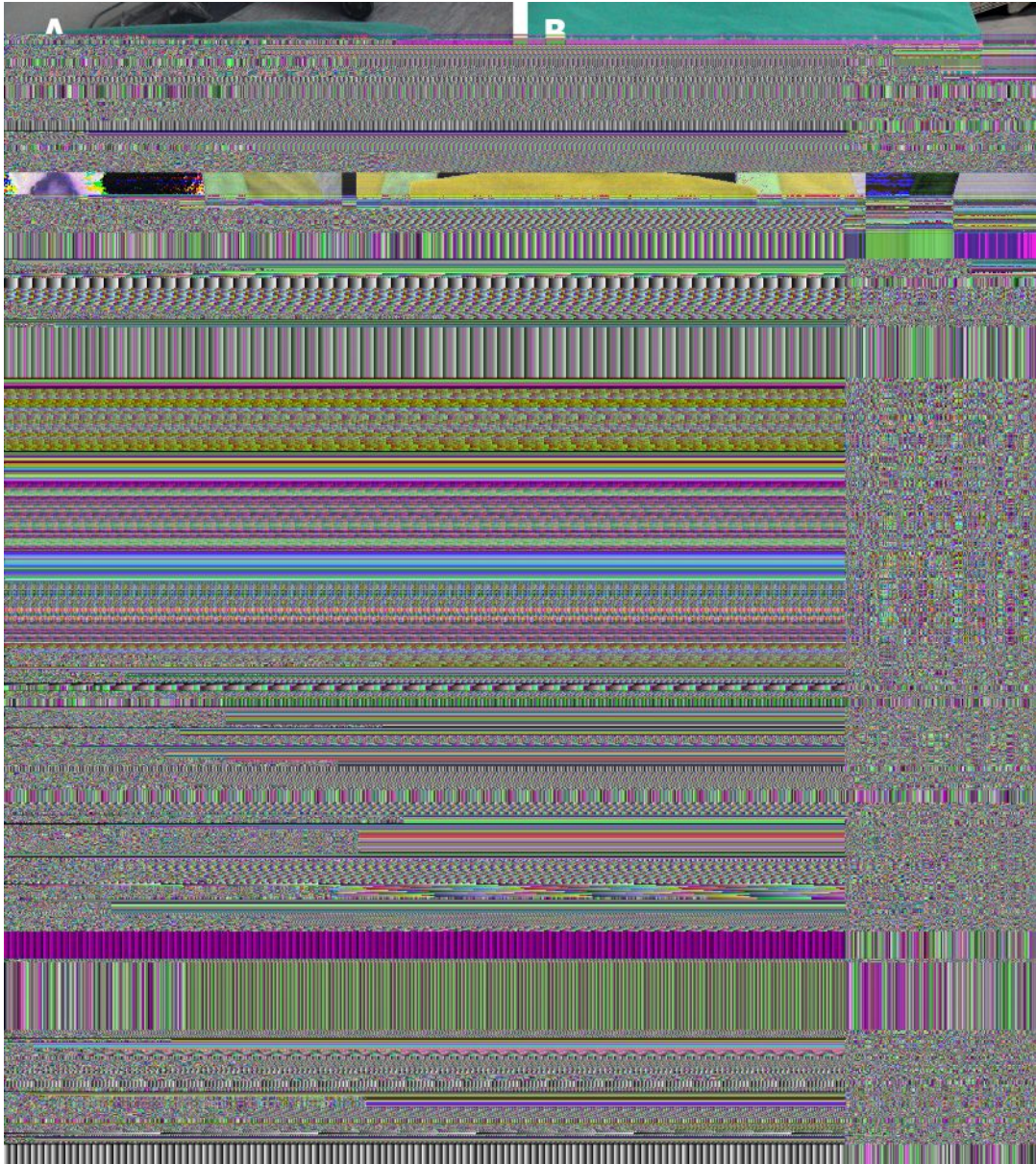


kez boyanarak sterilizasyon sağlanmıştır (Şekil 4A, 4B). Bistüri ile cilde yaklaşık 3- 4 cm alt abdominal midline insizyon yapılarak abdominal duvar kas dokusu cerrahi makas ile açılmıştır (Şekil 4C, 4D). Bu işlem sırasında organ yaralanması yapılmamasına dikkat edilmiştir. Salinle ıslatılmış gazlı bezler cilt kesisinin her iki yanına yerleştirilerek fazla basınç uygulamadan uterus dışarı çıkarılmıştır (Şekil 4E). Uterusun üzeri, kurumaması için ıslak spançlarla kapatılmıştır. Abdominal aorta diseke edilerek iliak bifurkasyonun hemen üzerinden iç çapı 0.203 mm olan bir klips yerleştirilmiştir (Şekil 3, 4F). Bu işlem esnasında 0.8 mm genişliğinde ucu olan bir forseps sağ elde tutularak aorta ile V. Cava Inferior arasına girilmiş ve sol elde tutulan klips anterior yerleşimli olarak yerleştirilmiştir (Şekil 5A, 5B). Gebe sıçanlarda damarlar daha frajil olduğundan ve aortanın arkasında küçük besleyen damarlar olabileceğinden kanama açısından dikkatli olunmuştur. Aorta uterin arterlerin üzerinden kliplendiğinden plasental perfüzyonun kompanzasyonunu sağlamak için ovaryan kan akımının artarak adaptasyonunu engellemek üzere ovaryan arter ile uterusu giden ilk dalı arasına iç çapı 0.06 mm olan gümüş klipsler bilateral yerleştirilmiştir (Şekil 5C). Bu esnada abdominal kavite salinle yıkanmıştır. Abdominal kas katmanı 3-0 polyglactin sütürle kontinü, cilt ise 4-0 ipek sütür ile tek tek kapatılmıştır (Şekil 5D, 5E). Kesi çevresindeki kan ve sıvılar hidrojen peroksit ile silinerek betadinle son pansuman yapılmıştır. Operasyon sonrası sıçanlar 15 dakika sadece oksijen verilerek izlenerek daha sonra ise daha önceden ısıtılmış ortamdaki kafeslerine konulmuştur. Sıçanlara postoperatif 12. saatten sonra yem ve su verilmiştir. Postoperatif dönemde yakından izlenmiş, sıçanlarda bu dönemde postoperatif komplikasyon gelişmemiştir.

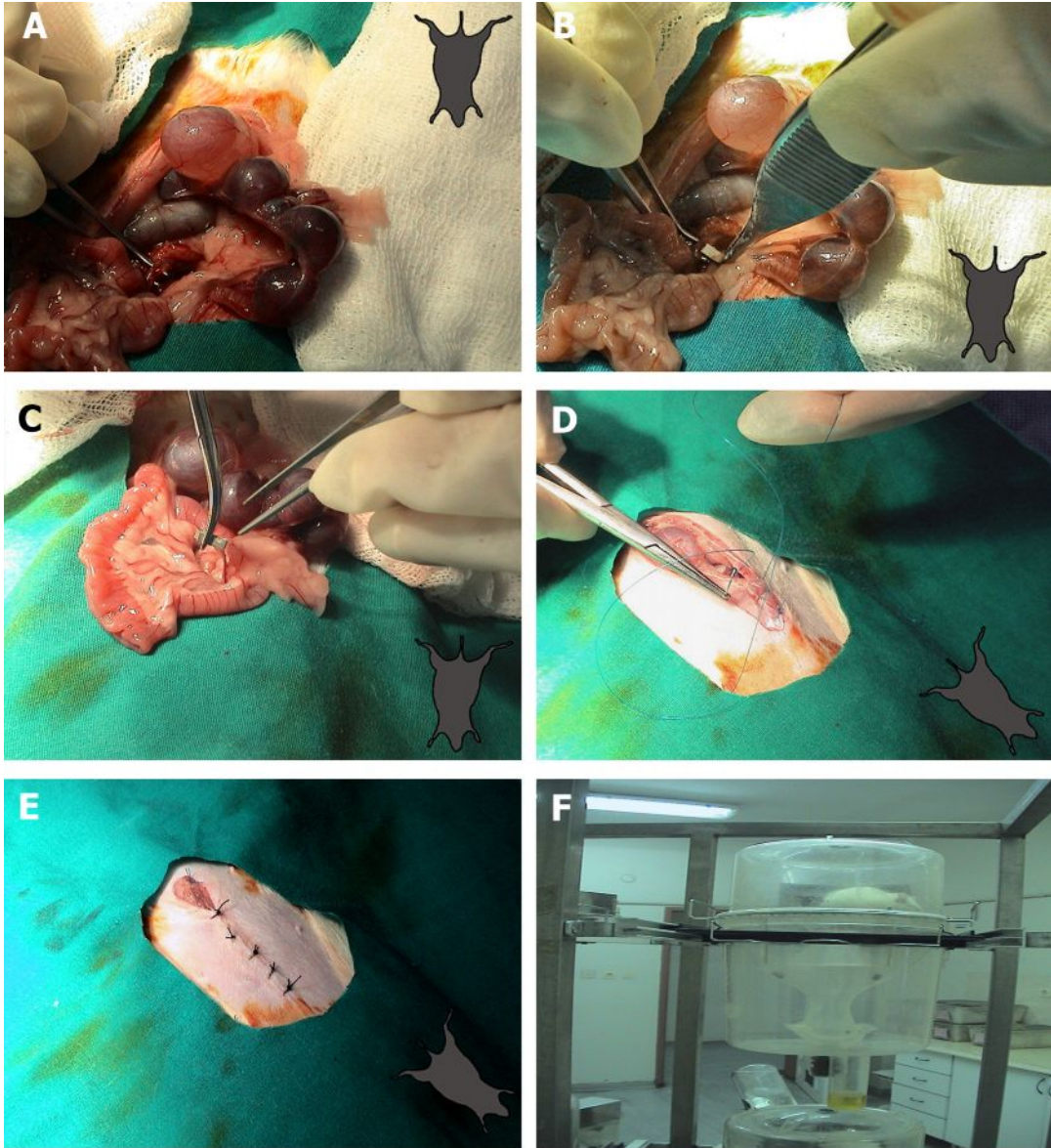
Klipsleme işlemi fetusların total reabsorpsiyonuyla sonuçlanırsa bu sıçanlar çalışma dışı olmuştur.



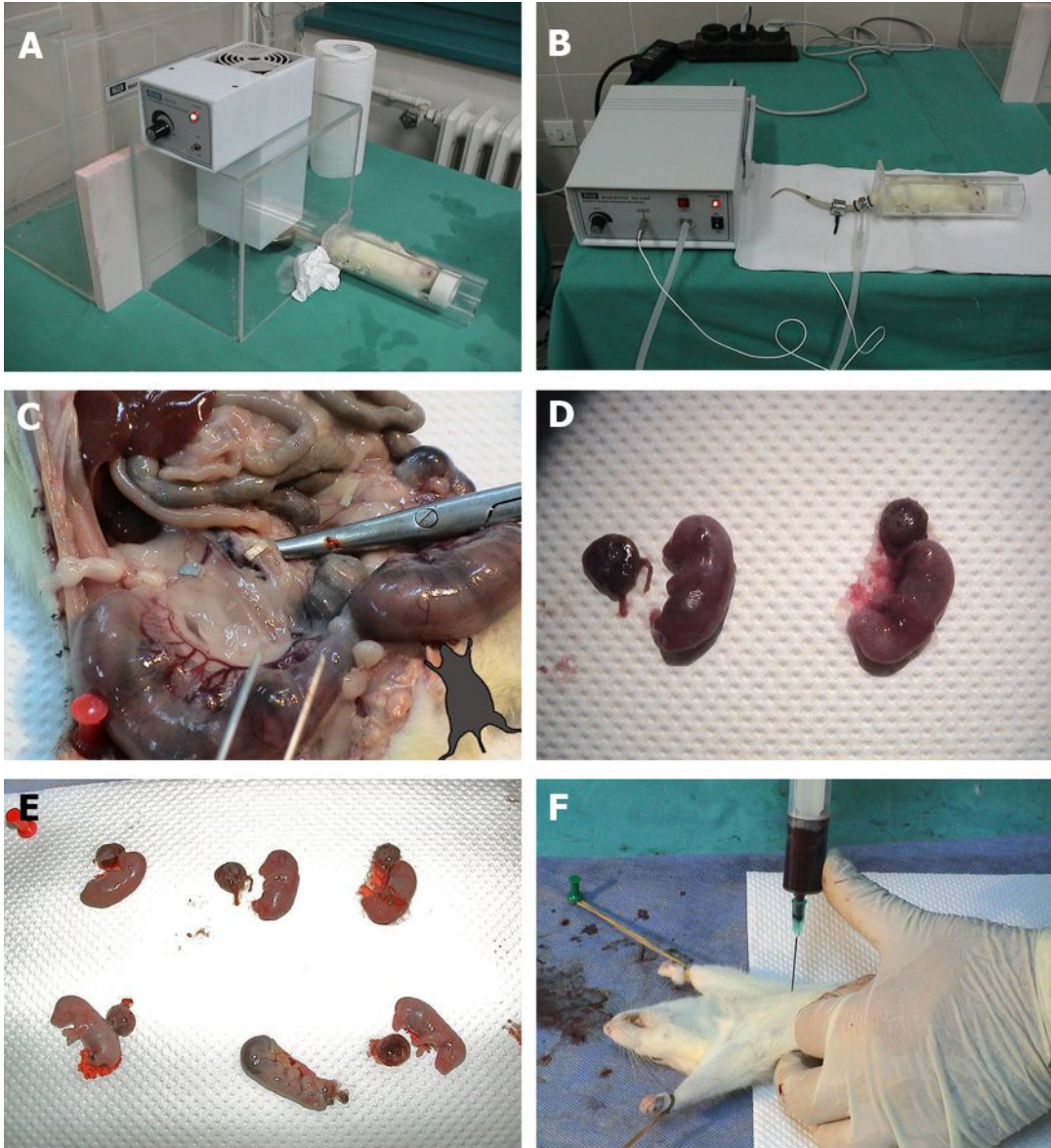
Şekil 3. Uterin basınç azaltılması tekniğinde klipslerin yerleştirildiği noktalar.



**Şekil 4. Ameliyat prosedürü. A. Anestezi altında iyodürle boyanmış sıçan. B. Örtüm sonrası. C. Abdominal cilt kesisi. D. Abdominal kasların açılması. E. Sağ uterin horn ve mesane. F. Gümüş klipsler.**



**Şekil 5. A. Aort diseksiyonu. B. Aorta klips yerleştirilmesi. C. Ovaryan artere klips yerleştirilmesi. D. Abdominal kasların kapatılması. E. Abdominal cilt kapatılması. F. Metabolik kafesde 24 sa idrar toplanması.**



**Şekil 6. A. Tansiyon ölçümü için kuyrukların ısıtılması. B. Kuyruk kaf metodu ile tansiyon ölçümü. C. Sezaryen sırasında önceden takılmış klipslerin görünümü. D. Fetus ve plasentalar. E. Fetus, plasenta ve rezorbe olmuş gebelik materyali. F. İntrakardiyak kan alınması.**

### 3.2.1.2. Kontrol Grubu

Gebeliğin 14. günü kombine genel anestezi (ketamin 75 mg/kg ve ksilazin 15 mg/kg) uygulanarak ve uygun steril koşullarda abdominal aorta ve ovaryan arterler diseke edilmiş ancak klips konulmamıştır.

### 3.2.1.3. Ağırlık ve Kan Basıncı Ölçümü

Sıçanların gebelik öncesi ve preeklampatik model (PM) öncesi (12. gün) ile PM sonrası (gebeliğin 20. günü) ağırlıkları tartılmıştır. Gebelik öncesi ve PM öncesi (12. gün) ve PM sırasında (gebeliğin 19. günü) kan basınçları (sistolik, diastolik ve ortalama) kuyruk kaf tekniği ile indirekt olarak ölçülmüştür. İndirekt kan basıncı ölçümleri May BPHR 9610 blood pressure recorder system (Commat, Ankara) cihazı ile yapılmıştır (68). İşlem öncesinde sıçanların kuyrukları 39-40 °C sabit ısı olan kapalı ortamda ısıtılarak bu ölçümler birkaç kez tekrarlanarak en iyi ölçümün kaydedilmesi yöntemiyle yapılmıştır (Şekil 6A, 6B).

### 3.2.1.4. Kan Örneklerinin Hematolojik Ve Biyokimyasal Analizi

Gebelik öncesi ve PM öncesi (12. gün) ile PM sonrası (gebeliğin 20. günü) aorta'dan alınan tüm kan örnekleri hematolojik çalışmalar (kan sayımı, hematokrit, hemoglobin) için ethylenediaminetetraacetic asit (EDTA) eklenerek antikoagülan hale getirilmiş steril vakumlu tüpe 0,5-1 ml alınmıştır (Şekil 6F). Kanlar derhal laboratuvar ortamına ulaştırılıp tam kan sayımı yapılmıştır (69). Ayrıca 2 ml kan numunesi de heparinize enjektörle alınarak biyokimyasal analizleri (karaciğer fonksiyonları testleri, böbrek fonksiyon testleri, kreatinin, protein, albumin, kolesterol, glikoz, sodyum, potasyum, total protein ve trigliserid) için oda sıcaklığında 2500 rpm devirde 30 dakika santrifüj edilerek serumları ayrılarak -80 °C saklanmıştır (70, 71).

### 3.2.1.5. İdrar Örneklerinin Biyokimyasal Analizi

Gebelik öncesi, PM öncesi (12. gün) ve PM sonrası (gebeliğin 20. günü) sıçanlardan biyokimyasal inceleme için idrar örnekleri toplanmıştır. İdrar örnekleri gebelik öncesi, PM öncesi (gebeliğin 12-13. günler arası) ve PM

sonrası (gebeliğin 18-19. günler arası) metabolik kafeslerde yem verilmeden toplanmıştır (Şekil 5F). Toplanan idrarların toplam hacimleri kaydedilerek 24 sa idrarda Esbach, ürik asit, sodyum, BUN ve kreatinin bakılmak üzere 2000 rpm devirde 20 dakika santrifüj edilerek -80 °C saklanmıştır.

### **3.2.2. Dokularda Oksidatif Stres Belirteçlerinin İncelenmesi**

#### **3.2.2.1. Deney Hayvanlarının Çalışma İçin Hazırlanması**

İlk operasyondan 6 gün sonra gebeliğin 20. gününde 40 mg/kg intraperitoneal (İP) Ketamin HCl (Ketalar, 50mg/ml, Eczacıbaşı ilaç Pazarlama A.Ş, Lüleburgaz, İstanbul, TÜRKİYE) ve 1 mg/kg Xylasine Hydrochlorid (Rompun 20 mg/ml, Abdi İbrahim İlaç Pazarlama A.Ş, İstanbul, TÜRKİYE) kombine genel anestezi (ketamin 75 mg/kg ve ksilazin 15 mg/kg) yapılan sezaryen operasyonu sonrası öldürülmüştür (Şekil 6C). Önceki insizyon hattından batına girilerek yapılan sezaryen operasyonu ile yavru sıçanlar ve plasentalar çıkarılmıştır (Şekil 6D, 6E). Canlı ve ölü yavru sayıları ve ağırlıkları kaydedilmiştir. Çıkarılan plasentalar kaydedilmiştir. Bunlardan rastgele seçilen 2 tanesi salinle yıkanıp istenmeyen aktivite kaybından korunmak için buz üzerine yerleştirilerek ependorff tüpler içinde enzim tayininde kullanılmak üzere -80 °C de saklanmıştır.

#### **3.2.2.2. Süperoksit Dismutaz Enzim Aktivitesinin Ölçümü**

Dokularda SOD enzim aktivitesini ölçmek amacıyla, Podczasy ve Wei'nin tanımladığı Sun ve ark. modifiye ettiği "Süperoksit Radikalleri Tarafından INT Redüksiyonu Yöntemi", süperoksit kaynağı olarak (ksantin + ksantin oksidaz) kullanılacaktır. Burada INT (p-iyodonitrotetrazolium) süperoksit indikatörü olarak rol almaktadır (72,73). Bu yöntem, süperoksit kaynağı olan bir enzimatik reaksiyon ile (ksantin + ksantin oksidaz) üretilen süperoksit radikallerinin reaksiyon ortamındaki INT'yi redüklemesinin, karaciğerdeki SOD tarafından engellenmesi esasına dayanmaktadır.

Metodun prensibi: Ksantin oksidaz (XO) ile ksantin oksidasyonu sırasında açığa çıkan O<sub>2</sub><sup>·-</sup>, nitroblue tetrazolium (NBT) gibi boyar maddeleri redükleyerek formazonları oluşturmaktadır. Süperoksit anyonunun, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e

dismutasyonunu sağlayan SOD varlığında, XO reaksiyonuyla üretilen O<sub>2</sub><sup>•</sup>, sürekli tüketileceğinden; NBT ile reaksiyona giren O<sub>2</sub><sup>•</sup> miktarı azalmış ve bu yolla formazon oluşumu önlenmiştir. Oluşan renkli formazon 560 nm de absorbansını ölçülerek enzim aktivitesi tayin edilmiştir.

SOD aktivitesi, XO'ın katalizlediği tepkimede, NBT redüksiyonunun inhibisyon derecesine bağlı olarak ölçülebilir. SOD aktivitesi yükseldikçe, NBT redüksiyonuyla formazon oluşumu azalmıştır.

#### Çözeltiler

1. 0.01 M Fosfat tamponu, pH 7.0
2. 0.3 mM Ksantin
3. 150 µM NBT
4. 0.4 M Sodyum karbonat
5. 0.6 mM EDTA
6. 1 gr/L BSA
7. 0.8 mM CuCl<sub>2</sub>
8. 2 M Amonyum sülfat
9. 167 Ü/L XO (Sigma X-1875) (2 M soğuk amonyum sülfat içinde hazırlanır)
10. 0.6 mg/ml SOD (Sigma S-2515) (stok standart)

#### Plasenta Doku Örneklerinin Hazırlanması:

Plasenta doku homojenatı (1/10 w/v)' nin 13.200 rpm'de 30 dakika santrifüjlenmesiyle elde edilen süpernatanın 0.05 ml' si, 0.01 M fosfat tamponu (pH 7.0) ile 1/10 oranında dilüe edilerek, SOD ölçümünde kullanıldı.

Plasenta doku homojenatlarında, SOD aktivitesi, spesifik aktivite cinsinden,



U/mg protein olarak verildi.

### 3.2.2.3. Glutasyon Peroksidaz Aktivitesi Tayini

Plasental dokularda glutasyon peroksidaz (GSH-Px) aktivitesi, Paglia ve Valentine'nin birleşik enzimatik yöntemi kullanılarak tayin edildi (74). Metodun prensibi, GSH' ın H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile oksitlenmesini katalizleyen GSH-Px reaksiyon hızının, GSSG-Rd reaksiyonu sırasında tüketilen NADPH konsantrasyonu üzerinden ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Birleşik enzimatik reaksiyonlarla, GSH konsantrasyonu sabit tutulduğundan; GSH-Px aktivitesi, UV-spektrofotometrede 340 nm dalga boyunda, NADPH'ın NADP'a dönüşümü sırasında gözlenen OD düşüşü üzerinden, doğrudan tayin edilebilir.

#### Çözeltiler

1. 0.05 M Fosfat tamponu, pH 7.0 (5 mM EDTA içerir)
2. 8.4 mM NADPH
3. 0.15 M GSH
4. 112.5 mM NaN<sub>3</sub>
5. 100 Ü/mg protein/ml GSSG-Rd (Sigma, G-1762)
6. 2.2 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (taze hazırlanır)
7. Konsantre Drabkins çözeltisi (Aynı hacimde iki kat konsantrasyonda hazırlanır)

Plasenta Doku Örneklerinin Hazırlanması: Plasenta doku homojenatı (1/10 w/v)'nın 13200 rpm'de 30 dk santrifüjlenmesiyle elde edilen süpernatanın 0.05 ml'si GSH-Px aktivitesi tayininde kullanıldı.

Plasenta dokusu GSH-Px aktivitesi, gram protein başına (U/g protein) hesaplanarak, spesifik aktivite cinsinden verildi.

#### 3.2.2.4. Malondialdehit (MDA) Tayini

Plasenta dokusu MDA tayininde, Ohkawa ve ark. tarafından geliştirilen metod kullanıldı (75).

##### Çözeltiler

1. % 8.1 Sodyum dodesil sülfat (SDS)
2. % 20 Asetik asit, pH 3.5
3. % 0.8 TBA
4. n-Butanol/Piridin karışımı (15:1; v/v)
5. 5.848 M MDA (stok standart)

Plasenta Doku Örneklerinin Hazırlanması: Plasenta doku homojenatı (1/10 w/v)'nın santrifüjlenmesiyle elde edilen süpernatant, MDA ölçümünde kullanıldı. Tiyobarbitürik asit ile 90-95°C'de reaksiyona giren malondialdehit (MDA) ve diğer TBARS, pembe renkli kromojen oluşturulmuştur. Onbeş dakika sonra hızla soğutulan numunelerin absorbanları 532 nm'de spektrofotometrik olarak okunarak MDA düzeyleri ölçülmüştür. Standart eğriden bulunan doku MDA seviyeleri (nmol/ml), aynı süpernatantlarda tayin edilen, miligram protein başına verildi (nmol MDA/ mg protein).

#### 3.2.2.5. Protein Karbonil (PC) Tayini

HCl içerisinde hazırlanan 2,4-dinitrofenilhidrazin solüsyonunun karbonil içeriği ile reaksiyona girmesi sağlanarak, etanol/etil asetat karışımı ile 3 defa yıkanan çökelti bir sonraki aşamada 100 mM NaOH çözeltisi içerisinde çözülmesinden sonra 360 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (76).

#### 3.2.3. İstatiksel İnceleme

Karşılaştırma yapılacak sayısal olan tüm verilerin parametrik testlere uygunluğunu incelemek için Kolmogrov-Smirnow testi uygulandı. Normal dağılımlı oldukları saptanan preeklampsi ve kontrol grubunda maternal

ağırlık, kan basıncı ölçümleri, tam kan sayımı ile kan ve 24 sa idrar biyokimyası sonuçları faktöriyel ANOVA testi ile değerlendirildi.  $P < 0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veriler ortalama  $\pm$  standart deviyasyon olarak sunuldu. Normal dağılım gösteren plasental oksidatif stres belirteçleri ve fetal sonuçlar t testi ile karşılaştırıldı. Kolmogrov-Smirnow testi uygulandığında normal dağılımlı olmadığı saptanan süperoksid dismutaz sonuçları için nonparametrik olan Mann-Whitney U testi kullanıldı. Sonucu ortanca  $\pm$  (en büyük-en küçük) olarak sunuldu.  $P < 0.05$  olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. Sonuçlar

Çalışma gruplarındaki tüm sıçanlarda çalışma prosedürleri tamamlanmıştır. Tablo 2 de maternal ağırlık, sistolik ve diastolik kan basınçları, hemoglobin (Hb) ve hematokrit (Hct) sonuçları gebelik öncesi, gebeliğin 12. ve 19. gününde kaydedilen değerleri ile gösterilmektedir. Kontrol ve preeklampsi gruplarının maternal ağırlıkları benzerdi ( $p > 0.05$ ). Hem kontrol hem de preeklampsi gruplarının, gebeliğin 19. günündeki maternal ağırlıkları gebelik öncesi ve gebeliğin 12. gününe göre anlamlı olarak yksekdi ( $p < 0.05$ ), ve gebeliğin 12. günündeki maternal ağırlıklar gebelik öncesine göre yksekdi ( $p < 0.05$ ).

Maternal sistolik kan basınçları (mmHg) preeklampsi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Kontrol grubunun gebelik öncesi, gebeliğin 12. ve 19. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ). Preeklampsi grubunda 19. gün maternal sistolik kan basınçları (mmHg) gebelik öncesi ve gebeliğin 12. gün değerlerine göre anlamlı olarak yüksek llmşdr ( $p < 0.05$ ). Maternal diastolik kan basınçları (mmHg) preeklampsi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Kontrol grubunun gebelik öncesi, gebeliğin 12. ve 19. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ). Preeklampsi grubunda ise 19. gün maternal diastolik kan basınçları (mmHg) gebelik öncesi ve gebeliğin 12. gün değerlerine göre anlamlı olarak yüksek llmşdr ( $p < 0.05$ ) (Tablo 2).

Kontrol ve preeklampsi gruplarının maternal Hb (g/dl) değerleri arasında fark bulunmadı ( $p > 0.05$ ). Her iki grubun 19. gün maternal Hb (g/dl) değerleri gebelik öncesi ve gebeliğin 12. gün değerlerine göre anlamlı olarak yüksek llmşdr ( $p < 0.05$ ) (Tablo 2).

Tablo 2'de gösterildiği gibi kontrol ve preeklampsi gruplarının maternal Hct (%) değerleri benzerdi ( $p > 0.05$ ). Her iki grubun 19. gün maternal Hb (g/dl) değerleri gebelik öncesi ve gebeliğin 12. gün değerlerine göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüş ( $p < 0.05$ ) ve 12. gün değerleri ise gebelik öncesine göre yksekdi ( $p < 0.05$ ).

Tablo 3'de kan elektrolitleri ve karaciğer fonksiyon testleri sonuçları sunuldu. Tablo 3'de gösterildiği gibi maternal sodyum (Na) (mmol/L) değerleri kontrol grubunda preeklampsi grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Kontrol grubunun gebelik öncesi, Na (mmol/L) değerleri gebeliğin 12. ve 19. gün ölçümlerine göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür ( $p < 0.05$ ) ancak 12. ve 19. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ). Preeklampsi grubunda ise 19. gün maternal Na (mmol/L) değerleri gebelik öncesi ve gebeliğin 12. gün değerlerine göre ve 12. gün değerleri ise gebelik öncesine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

İki grup arasında maternal Klor (Cl) (mmol/L) değerleri açısından anlamlı fark görülmüştür ( $p < 0.05$ ). Kontrol grubunun 19. gün Cl (mmol/L) değerleri ölçümü gebelik öncesi ve gebeliğin 12. günlerine göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür ( $p < 0.05$ ) ancak gebelik öncesi ve 12. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ). Preeklampsi grubunda ise 19. gün maternal Cl (mmol/L) değerleri gebelik öncesi ve gebeliğin 12. gün değerlerine göre ve 12. gün değerleri ise gebelik öncesine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ) (Tablo 3).

Kontrol ve preeklampsi gruplarının maternal potasyum (K) (mmol/L) değerleri benzerdi ( $p > 0.05$ ). Her iki grubun 19. gün maternal K (mmol/L) değerleri gebelik öncesi ve gebeliğin 12. gün değerlerine göre ve 12. gün değerleri ise gebelik öncesine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ) (Tablo 3).

Tablo 3'de gösterildiği gibi kontrol ve preeklampsi gruplarının maternal AST (U/L) değerleri arasında fark bulunmadı ( $p > 0.05$ ). Kontrol grubunun 19. gün maternal AST (U/L) değerleri ölçümü gebelik öncesi ve gebeliğin 12. günlerine göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür ( $p < 0.05$ ) ancak gebelik öncesi ve 12. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ).

Kontrol ve preeklampsi gruplarının maternal ALT (U/L) değerleri benzerdi ( $p > 0.05$ ). Her iki grubun 12. gün maternal ALT (U/L) değerleri gebelik öncesi ve gebeliğin 19. gün değerlerine göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür ( $p < 0.05$ ) ancak gebelik öncesi ve 19. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir

( $p > 0.05$ ) (Tablo 3).

Maternal LDH (U/L) değerleri kontrol grubunda preeklampsi grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Ancak her iki grubun gebelik öncesi, 12. ve 19. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ) (Tablo 3).

Tablo 4'de her iki grubun kan biyokimyası ve böbrek fonksiyon testleri sonuçları verilmiştir. Bu tabloda gösterildiği gibi maternal glukoz (mg/dl) değerleri kontrol grubunda preeklampsi grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Preeklampsi grubunda gebelik öncesi, 12. ve 19. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ). Kontrol grubunun 19. gün maternal glukoz (mg/dl) değerleri ölçümü gebelik öncesi ve gebeliğin 12. günlerine göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür ( $p < 0.05$ ) ancak gebelik öncesi ve 12. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ).

İki grup arasında maternal kolesterol (mg/dl) değerleri açısından anlamlı fark görülmüştür ( $p < 0.05$ ). Kontrol grubunun 19. gün maternal kolesterol (mg/dl) değerleri gebelik öncesi ve gebeliğin 12. günlerine göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür ( $p < 0.05$ ) ancak gebelik öncesi ve 12. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ). Preeklampsi grubunda ise gebelik öncesi, 12. ve 19. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ) (Tablo 4).

Kontrol ve preeklampsi gruplarının maternal trigliserid (mg/dl) değerleri benzerdi ( $p > 0.05$ ). Hem kontrol hem de preeklampsi grubunda 19. gün maternal trigliserid (mg/dl) değerleri ölçümü gebelik öncesi ve gebeliğin 12. günlerine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ) ancak gebelik öncesi ve 12. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ) (Tablo 4).

Her iki grubun maternal BUN (mg/dl) değerleri arasında fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Ayrıca her iki grubun gebelik öncesi, 12. ve 19. gün maternal BUN (mg/dl) lmleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ) (Tablo 4).

Kontrol ve preeklampsi gruplarının maternal kreatinin (mg/dl) değerleri benzerdi ( $p > 0.05$ ). Kontrol grubunun 12. gün maternal kreatinin (mg/dl)

değerleri gebelik öncesi ve gebeliğin 19. günlerine göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür ( $p < 0.05$ ) ancak gebelik öncesi ve 19. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ). Preeklampsi grubunun gebelik öncesi maternal kreatinin (mg/dl) değerleri gebeliğin 12. ve 19. günlerine göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür ( $p < 0.05$ ) ancak 12. ve 19. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ) (Tablo 4).

Tablo 4'de gösterildiği gibi kontrol ve preeklampsi gruplarının maternal protein (mg/dl) değerleri arasında farklılık yoktu ( $p > 0.05$ ). Kontrol grubunun 19. gün maternal kreatinin (mg/dl) değerleri gebelik öncesine göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür ( $p < 0.05$ ) ancak 12. ve 19. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ). Preeklampsi grubunun maternal protein (mg/dl) değerleri arasında farklılık izlenmemiştir ( $p > 0.05$ ).

Kontrol ve preeklampsi gruplarının maternal albümin (mg/dl) değerleri benzerdi ( $p > 0.05$ ). Her iki grubunun gebelik öncesi maternal albümin (mg/dl) değerleri ölçümü, gebeliğin 12. ve 19. günlerine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş ( $p < 0.05$ ) ancak 12. ve 19. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ) (Tablo 4).

Tablo 5 de normal ve preeklampsi grubunun maternal 24 sa idrar sonuçları gösterilmiştir. Gruplar arasında 24 sa idrarda maternal idrar BUN (g/gün) değerleri açısından farklılık yoktu ( $p > 0.05$ ). Kontrol grubunun 19. gün maternal idrar BUN (g/gün) değerleri gebelik öncesi ve gebeliğin 12. günlerine göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür ( $p < 0.05$ ) ancak gebelik öncesi ve 12. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ). Preeklampsi grubunun maternal idrar BUN (g/gün) değerleri arasında farklılık izlenmemiştir ( $p > 0.05$ ).

Kontrol ve preeklampsi gruplarının maternal idrar kreatin (mg/dl) değerleri benzerdi ( $p > 0.05$ ). Her iki grubunun 19. gün gebelik öncesi maternal idrar kreatin (mg/dl) değerleri ölçümü, gebelik öncesi ve 12. günlerine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş ( $p < 0.05$ ) ancak gebelik öncesi ve 12. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ) (Tablo 5).

Gruplar arasında maternal idrar ürik asit (mg/dl) değerleri açısından farklılık saptanmamıştır ( $p > 0.05$ ). Kontrol grubunun 19. gün maternal idrar ürik asit (mg/dl) değerleri ölçümü, gebelik öncesi ve 12. günlerine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş ( $p < 0.05$ ) ancak gebelik öncesi ve 12. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ). Preeklampsi grubunun 19. gün maternal idrar ürik asit (mg/dl) değerleri gebelik öncesine göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür ( $p < 0.05$ ) ancak 12. ve 19. gün ölçümleri arasında fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ) (Tablo 5).

Her iki grubun maternal idrar sodyum (mmol/L) değerleri arasında fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Ayrıca her iki grubun gebelik öncesi, 12. ve 19. gün maternal idrar sodyum (mmol/L) ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ) (Tablo 5).

Tablo 5'de gösterildiği gibi preeklampsi grubunda kontrol grubuna göre 24 sa idrarda Esbach (g/L) değerleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Kontrol grubunda gebelik öncesi Esbach (g/L) değerleri ölçümü, gebeliğin 12. ve 19. günlerine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş ( $p < 0.05$ ) ancak 12. ve 19. gün ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ). Preeklampsi grubunun 19. gün Esbach (g/L) değerleri gebelik öncesi ve 12. güne göre ve 12. gün ise gebelik öncesinden anlamlı olarak farklı bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Her iki grubun kreatin klirensi (ml/min) değerleri arasında fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ). Ayrıca her iki grubun gebelik öncesi, 12. ve 19. gün kreatin klirensi (ml/min) ölçümleri arasında fark görülmemiştir ( $p > 0.05$ ) (Tablo 5).

Tablo 6 da plasental oksidatif stres belirteçleri her iki grup için değerlendirilmiştir. Plasental protein karbonil (nmol/mg protein) ve MDA (nmol/g) değerleri preeklampsi gebelerde kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek ölçülmüştür ( $p < 0.05$ ). GSH-Px (U/g protein) ortalama ve SOD (U/mg protein) ortanca değerleri ise kontrol grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

Tablo 7'de preeklampsi ve normal gebelerin fetal sonuçları karşılaştırılmıştır. Sıçanlarda çoğul gebelik görüldüğü için toplam fetüs ağırlığı ve fetusların



toplam sayısı fetal gelişimin değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Preeklampitik grupta hem total fetüs sayısı ve toplam fetüs ağırlığı kontrol grubuna kıyasla azalmış bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Ancak her iki grubun ortalama fetus ağırlıkları arasında fark bulunmamıştır ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 2. Maternal ağırlık, kan basıncı ve tam kan sayımı sonuçları.**

	Kontrol (n = 15)	Preeklampsi (n = 15)
<b>Maternal ağırlık (g)</b>		
gebelik öncesi	201.53 ± 13.83	207.20 ± 22,32
12. gün	214.07 ± 14,99b	221.47 ± 25.53d
19. gün	233.47 ± 15.51a	238.73 ± 20.30c
<b>Sistolik kan basıncı (mmHg)</b>		
gebelik öncesi	110.27 ± 5.97	109.47 ± 4.30
12. gün	109.87 ± 5.07	116.40 ± 3.44
19. gün	113.87 ± 11.44	151.73 ± 17.65e
<b>Diastolik kan basıncı (mmHg)</b>		
gebelik öncesi	78.00 ± 6.57	76.07 ± 3.03
12. gün	79.07 ± 5.57	80.47 ± 2.92
19. gün	81.87 ± 11.30	112.60 ± 14.98f
<b>Hemoglobin (g/dl)</b>		
gebelik öncesi	15.47 ± 0.62	15.11 ± 0.44
12. gün	13.09 ± 0.37h	13.19 ± 0.40k
19. gün	10.87 ± 1.03g	11.53 ± 0.76j
<b>Hematokrit (%)</b>		
gebelik öncesi	50.03 ± 1.82	49.95 ± 0.59
12. gün	40.24 ± 2.71n	42.01 ± 2.62r
19. gün	34.24 ± 2.67m	34.53 ± 2.19p
Veriler ortalama ± SD olarak sunuldu.		
aP < 0.05 kontrol grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.		
bP < 0.05 kontrol grubunun gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.		
cP < 0.05 preeklampsi grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.		
dP < 0.05 preeklampsi grubunun gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.		

eP < 0.05 preeklampsi grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

fP < 0.05 preeklampsi grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

gP < 0.05 kontrol grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

hP < 0.05 kontrol grubunun gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

jP < 0.05 preeklampsi grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

kP < 0.05 preeklampsi grubunun gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

mP < 0.05 kontrol grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

nP < 0.05 kontrol grubunun gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

pP < 0.05 preeklampsi grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

rP < 0.05 preeklampsi grubunun gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

**Tablo 3. Kan elektrolitleri ve karaciğer fonksiyon testleri sonuçları.**

	Kontrol (n = 15)	Preeklampsi (n = 15)
Na (mmol/L)		
gebelik öncesi	152.07 ± 5.99a	149.60 ± 5.11
12. gün	140.33 ± 1.63	135.47 ± 3.38c
19. gün	135.67 ± 8.64	124.73 ± 12.35b
Cl (mmol/L)		
gebelik öncesi	110.60 ± 3.60	111.13 ± 2.36
12. gün	106.07 ± 2.60	105.40 ± 2.35f
19. gün	98.60 ± 5.95d	92.73 ± 8.70e
K (mmol/L)		
gebelik öncesi	4.88 ± 0.62	4.63 ± 0.35
12. gün	4.00 ± 0.19h	3.97 ± 0.13k
19. gün	3.16 ± 0.45g	3.05 ± 0.81j
AST (U/L)		
gebelik öncesi	123.20 ± 17.32	129.67 ± 7.38
12. gün	162.40 ± 15.83	141.47 ± 35.41
19. gün	84.40 ± 20.25m	104.00 ± 114.33
ALT (U/L)		
gebelik öncesi	495.87 ± 214.31	39.93 ± 3.52
12. gün	69.27 ± 8.35n	67.40 ± 7.54p
19. gün	40.13 ± 8.56	39.46 ± 9.83
LDH (U/L)		
gebelik öncesi	127.67 ± 34.52	442.60 ± 69.36
12. gün	566.73 ± 259.90	446.60 ± 64.37
19. gün	717.73 ± 319.72	388.40 ± 366.98
Veriler ortalama ± SD olarak sunuldu.		
aP < 0.05 kontrol grubunun 12. ve 19. gün ile karşılaştırıldığında.		

bP < 0.05 preeklampsi grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

cP < 0.05 preeklampsi grubunun gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

dP < 0.05 kontrol grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

eP < 0.05 preeklampsi grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

fP < 0.05 preeklampsi grubunun gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

gP < 0.05 kontrol grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

hP < 0.05 preeklampsi grubunun gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

jP < 0.05 preeklampsi grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

kP < 0.05 preeklampsi grubunun gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

mP < 0.05 kontrol grubunun 12. gün ile karşılaştırıldığında.

nP < 0.05 kontrol grubunun 19. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

pP < 0.05 preeklampsi grubunun 19. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

**Tablo 4. Kan biyokimyası ve böbrek fonksiyon testleri sonuçları.**

	Kontrol (n = 15)	Preeklampsi (n = 15)
<b>Glukoz (mg/dl)</b>		
gebelik öncesi	127.67 ± 34.52	109.80 ± 4.60
12. gün	121.27 ± 19.63	108.87 ± 3.36
19. gün	90.60 ± 35.81a	81.73 ± 25.27
<b>Kolesterol (mg/dl)</b>		
gebelik öncesi	25.53 ± 7.69	27.13 ± 4.49
12. gün	18.93 ± 4.03	25.47 ± 3.83
19. gün	42.46 ± 10.21b	30.73 ± 6.01
<b>Trigliserid (mg/dl)</b>		
gebelik öncesi	25.73 ± 4.59	27.13 ± 2.97
12. gün	27.13 ± 18.31	24.33 ± 2.99
19. gün	186.27 ± 88.77c	88.13 ± 36.29d
<b>BUN (mg/dl)</b>		
gebelik öncesi	17.00 ± 3.07	16.93 ± 2.15
12. gün	16.27 ± 1.39	16.67 ± 1.40
19. gün	15.80 ± 2.21	17.47 ± 5.53
<b>Kreatinin (mg/dl)</b>		
gebelik öncesi	0.30 ± 0.03	0.30 ± 0.19f
12. gün	0.40 ± 0.04e	0.38 ± 0.04
19. gün	0.32 ± 0.09	0.36 ± 0.08
<b>Total Protein (mg/dl)</b>		
gebelik öncesi	6.40 ± 0.28	6.27 ± 0.16
12. gün	5.97 ± 0.89	6.14 ± 0.56
19. gün	5.54 ± 0.71g	5.91 ± 0.69
<b>Albümin (mg/dl)</b>		
gebelik öncesi	6.40 ± 0.28h	6.27 ± 0.16j

12. gün	5.97 ± 0.89	6.14 ± 0.56
19. gün	1.30 ± 0.24	1.22 ± 0.2
<p>Veriler ortalama ± SD olarak sunuldu.</p> <p>aP &lt; 0.05 kontrol grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.</p> <p>bP &lt; 0.05 kontrol grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.</p> <p>cP &lt; 0.05 kontrol grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.</p> <p>dP &lt; 0.05 preeklampsi grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.</p> <p>eP &lt; 0.05 kontrol grubunun 19. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.</p> <p>fP &lt; 0.05 preeklampsi grubunun 12. ve 19. gün ile karşılaştırıldığında.</p> <p>gP &lt; 0.05 kontrol grubunun gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.</p> <p>hP &lt; 0.05 kontrol grubunun 12. ve 19. gün ile karşılaştırıldığında.</p> <p>jP &lt; 0.05 preeklampsi grubunun 12. ve 19. gün ile karşılaştırıldığında.</p>		

**Tablo 5. 24 saatlik idrar biyokimyası sonuçları.**

	Kontrol (n = 15)	Preeklampsi (n = 15)
<b>BUN (g/day)</b>		
gebelik öncesi	2668.07 ± 732.50	1912.20 ± 473.13
12. gün	2375.40 ± 565.19	2517.67 ± 696.69b
19. gün	1571.87 ± 562.16a	1556.60 ± 720.86
<b>Kreatinin (mg/dl)</b>		
gebelik öncesi	74.21 ± 22.21	69.89 ± 29.87
12. gün	65.49 ± 12.55	60.63 ± 19.94
19. gün	47.41 ± 11.64c	43.06 ± 19.17d
<b>Ürik asit (mg/dl)</b>		
gebelik öncesi	12.94 ± 3.39	11.96 ± 4.14
12. gün	12.51 ± 3.15	11.48 ± 3.39
19. gün	9.42 ± 3.44e	8.77 ± 3.11f
<b>Sodyum (mg/dl)</b>		
gebelik öncesi	52.80 ± 18.94	46.60 ± 19.88
12. gün	54.86 ± 16.10	44.47 ± 17.02
19. gün	51.86 ± 22.13	47.47 ± 18.50
<b>Esbach (g/dl)</b>		
gebelik öncesi	0.033 ± 0.049g	0.01 ± 0.03
12. gün	0.25 ± 0.06	0.24 ± 0.06j
19. gün	0.28 ± 0.04	0.47 ± 0.07h
<b>Kreatinin klerensi (g/dl)</b>		
gebelik öncesi	1.94 ± 0.86	1.98 ± 1.14
12. gün	1.83 ± 0.78	1.57 ± 0.59
19. gün	1.24 ± 0.69	1.51 ± 0.72
Veriler ortalama ± SD olarak sunuldu.		
aP < 0.05 kontrol grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.		



bP < 0.05 preeklampsi grubunun 19. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

cP < 0.05 kontrol grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

dP < 0.05 preeklampsi grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

eP < 0.05 kontrol grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

fP < 0.05 preeklampsi grubunun gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

gP < 0.05 kontrol grubunun 12. ve 19. gün ile karşılaştırıldığında.

hP < 0.05 preeklampsi grubunun 12. gün ve gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

jP < 0.05 preeklampsi grubunun gebelik öncesi ile karşılaştırıldığında.

**Tablo 6. Plasental oksidatif stres belirteçleri.**

	Kontrol (n = 15)	Preeklampsi (n = 15)
Protein Karbonil (nmol/mg protein)	0.90 ± 0.26	1.42 ± 0.29a
MDA (nmol/g doku)	1.60 ± 0.21	2.42 ± 0.25b
GSH-Px (U/g protein)	1.04 ± 0.31c	0.76 ± 0.02
SOD (U/mg protein)	0.42 (0.03-0.20)d	0.03 (0.01-0.4)
Veriler ortalama ± SD olarak sunuldu. SOD ortanca (en büyük-en küçük) olarak sunuldu.		
aP < 0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.		
bP < 0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.		
cP < 0.05 preeklampsi grubu ile karşılaştırıldığında.		
dP < 0.05 preeklampsi grubu ile karşılaştırıldığında.		

**Tablo 7. Fetal sonuçlar.**

	Kontrol (n = 15)	Preeklampsi (n = 15)
Canlı fetüs sayısı(n)	9.93 ± 2.02	6.6 ± 3.13a
Total fetal ağırlık(g)	22.86 ± 6.70	17.37 ± 7.73b
Ortalama fetal ağırlık(g)	2.36 ± 0.40	2.35 ± 0.69
Veriler ortalama ± SD olarak sunuldu.		
aP < 0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.		
bP < 0.05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.		

## 5. Tartışma

Preeklampsi insanlara özgü bir gebelik hastalığıdır. Patofizyolojisi konusunda önemli gelişmeler sağlanmış olmakla birlikte günümüze kadar preeklampsinin kesin nedeni bulunamamıştır. Preeklampsi konusundaki çalışmaların önemli bir kısmı gebe kadınlar üzerinde yapılmıştır. Gebe kadınlar üzerinde yapılan çalışmaların anne ve bebek üzerine herhangi bir zarar vermeden gerçekleştirilme zorunluluğu, preeklampsinin incelenmesi gereken bazı yönlerinin ele alınmasını engellemektedir. Bu nedenle diğer bir çok hastalıkta uygulandığı gibi hayvan modellerinin geliştirilmesi ve modelin ne kadar gerçek hastalığı taklit ettiğinin saptanması preeklampsi için de büyük önem taşımaktadır. Günümüzde üzerinde fikir birliği sağlanmış preeklampitik hayvan modeli yoktur. Modellerin önemli bir kısmı preeklampsi fizyopatolojisinin sadece bir kısmını taklit edebilmektedir.

Preeklampsi konusunda son yıllarda sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalar önem kazanmıştır. Araştırmamızda UPBAT yöntemiyle preeklampitik sıçan gebeliği elde edildi. UPBAT yöntemi preeklampitik sıçan gebeliği elde edilmesinde en başarılı teknik olarak kabul edilmektedir (3). Bu araştırma kronik uteroplental akım azaltılarak oluşturulan rat modelinde preeklampsinin maternal ve fetal bulguları ve plasental dokudaki oksidatif stres belirteçlerinin incelenmesi amacıyla yapıldı. Araştırmamızda toplanan verilerin sonuçları özetlendikten sonra literatür eşliğinde aşağıda tartışıldı.

Araştırmamızda hem normal hem de preeklampitik gebe ratların maternal ağırlıklarının gebelik öncesine göre 12. ve 19. günlerde arttığı saptandı. Preeklampitik gebe ratların 19. gündeki maternal ağırlığı ile normal gebe ratların 19. günlerdeki maternal ağırlığı benzerdi. Bu bulgunun değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin maternal ağırlığı etkilemediği sonucuna ulaşıldı. Ayrıca normal ve preeklampitik sıçanların gebelikleri süresince düzenli ağırlık artışı olması araştırmanın yapıldığı hayvan laboratuvarının bakım koşullarının yeterli olduğunun iyi bir göstergesi olarak da değerlendirilebilir.

Araştırmamızda normal gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün sistolik ve diastolik kan basınçları benzer bulundu. Preeklampitik gebe ratların ise 19. gündeki sistolik ve diastolik kan basınçları gebelik öncesi ve 12. gündekine göre yüksek olarak ölçüldü. Bu bulguların değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin maternal sistolik ve diastolik kan basınçlarını yükselttiği saptandı. Bu durum kullandığımız preeklampsi modelinin başarılı olduğunu düşündürmektedir. Isler ve ark. da UPBAT modeli kullanarak yaptıkları çalışmada HELLP sendromuna ait bulguların olup olmadığını araştırmışlardır (3). Araştırmamızda uygulandığı gibi gebeliğin 14. gününde renal arterlerin altına aortaya ve sağ ve sol ovaryan arterlere gümüş bir klips yerleştirmişlerdir. Tüm hayvanların kan basınçları 19. günde kaydedilmiştir. Normal gebelere göre preeklampitik gebelerde ortalama kan basıncı  $104.0 \pm 14.0$  mmHg'ya karşın  $131.9 \pm 17.1$  mmHg olarak bulmuşlardır. Ianosi-Irimie ve ark. içme suyu yerine salin verdikleri gebe sıçanlara dezoksikortikosteron asetat (DOCA) uygulamışlardır (77). Gebe olmayan DOCA ve salin uygulanan hayvanlarda hipertansiyon görülmemiştir, ancak gebe olan ve DOCA ve salin uygulanan hayvanlarda hipertansiyon, proteinüri, ve intrauterin gelişme geriliği gözlemlenmiştir. Kan basıncı değerlerini normal grupta  $106 \pm 9$  mmHg, DOCA uygulanan grupta ise PDS:  $130.8 \pm 9.7$  mmHg olarak ölçmüşlerdir. Nash ve ark'ın yaptığı bir başka hayvan modelinde ise genetik olarak farklı sıçanlara gebeliğin erken döneminde intraperitoneal suramin ve kontrol grununa ise salin enjekte edilerek preeklampsi oluşturulmuştur (78). Her gruptaki farklı genetiği olan hayvanlara düşük ve yüksek doz suramin uygulanmıştır. Gebeliğin 20. gününde ise kuyruk kaf tekniği ile tansiyon ölçümleri yapılan sıçanların kan basınçlarında gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Yazarlar bunu hayvanların ölçümler sırasında artan stres faktörlerinin standardize edilememesine bağlamışlardır. Yukarıda özetlenen araştırma sonuçları sistolik kan basıncı açısından çalışmamızın sonuçları ile uyumludur. Bu araştırmalardan farklı olarak çalışmamızda preeklampitik gebelerin diastolik kan basıncı değerleri de yükselmiştir.

Çalışmamızda normal ve preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün Hb (g/dl) ve Hct (%) değerleri benzer bulundu. Hem normal hem

de preeklampitik gebe ratların 19. gündeki Hb (g/dl) ve Hct (%) değerleri gebelik öncesi ve 12. gündekine göre yüksek olarak ölçüldü. Yukarıda bahsedilen Isler ve ark. UPBAT modeli ile yaptıkları çalışmada preeklampitik ve normal gebe sıçanların hematokrit (%) değerleri sırasıyla  $31.3 \pm 2.4$  ve  $29.5 \pm 6.5$  olarak bildirmişlerdir ( $p > 0.05$ ) (3). Yukarıda özetlenen araştırma sonucu Hb (g/dl) ve Hct (%) değerleri açısından çalışmamızın sonuçları ile uyumludur. Bu bulgunun değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampisi modelinin Hb (g/dl) ve Hct (%) değerlerini etkilemediği sonucuna ulaşıldı.

Araştırmamızda normal gebe ratların maternal sodyum (mmol/L) değerlerinin gebelik öncesine göre 12. ve 19. günlerde azaldığı saptandı. Preeklampitik gebe ratların ise 19. gündeki maternal sodyum (mmol/L) değerleri gebelik öncesi ve 12. gündekine göre yüksek olarak ölçüldü. Nash ve ark'ın yaptığı suramin enjeksiyonu modelinde preeklampitik ve normal gebe ratlar arasında sodyum (mmol/L) değerleri açısından fark bulunmamıştır (78). Bahsedilen araştırma sonucu çalışmamızın sonuçları ile uyumlu değildir ancak uygulanan modelin farklı olduğu dikkate alınmalıdır. Bu bulgunun değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampisi modelinin maternal sodyum değerlerini arttırdığı sonucuna ulaşıldı.

Çalışmamızda hem normal hem de preeklampitik gebe ratların maternal klor (mmol/L) değerlerinin gebelik öncesine göre 19. günde arttığı saptandı. Normal gebe ratlarda gebelik öncesi ile 12. gün değerleri benzerken preeklampitik gebe ratlarda ise 12. gün değerlerinin daha yüksek olduğu saptandı. Maternal klor (mmol/L) değerlerini inceleyen literatürde benzer çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bulgunun değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampisi modelinin maternal klor (mmol/L) düzeyini arttırdığı sonucuna ulaşıldı.

Araştırmamızda normal ve preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün potasyum (mmol/L) değerleri benzer bulundu. Hem normal hem de preeklampitik gebe ratların 19. gündeki potasyum (mmol/L) değerleri gebelik öncesi ve 12. gündekine göre yüksek olarak ölçüldü. Nash ve ark'ın

yaptığı Suramin enjeksiyonu modelinde preeklampitik ve normal gebe ratlar arasında potasyum (mmol/L) değerleri açısından fark bulunmamıştır (78). Bahsedilen araştırmanın sonucu çalışmamızın sonuçları ile uyumludur. Bu bulguların değerlendirilmesiyle araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin potasyum (mmol/L) değerlerini etkilemediği sonucuna ulaşılmıştır.

Çalışmamızda normal ve preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün AST (U/L) değerleri benzer bulundu. Normal gebe ratların 19. gündeki AST değerleri 12. gündekine göre yüksek olarak ölçüldü. Ancak preeklampitik gebe ratların AST (U/L) değerlerinde değişiklik izlenmedi. Yukarıda bahsedilen Isler ve ark. UPBAT modeli ile yaptıkları ve deney hayvanlarında HELLP sendromunu araştırmak üzere yaptıkları çalışmada preeklampitik ve normal gebe sıçanların AST (U/L) değerleri sırasıyla  $106.5 \pm 47.8$  ve  $164.6 \pm 97.1$  olarak bildirmişlerdir ( $p > 0.05$ ) (3). Bahsedilen araştırmanın sonucu çalışmamızın sonuçları ile uyumludur. Bu bulgunun değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin AST (U/L) değerlerini etkilemediği sonucuna ulaşıldı.

Araştırmamızda normal ve preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün ALT (U/L) değerleri benzer bulundu. Hem normal hem de preeklampitik gebe ratların 12. gündeki ALT (U/L) değerleri 19. gündekine göre yüksek olarak ölçüldü. Yukarıda bahsedildiği gibi Isler ve ark. UPBAT modeli ile yaptıkları çalışmada preeklampitik ve normal gebe sıçanların ALT (U/L) değerleri sırasıyla  $47.5 \pm 10.0$  ve  $53.3 \pm 10.4$  olarak bildirmişlerdir ( $p > 0.05$ ) (3). Bahsedilen araştırmanın sonucu çalışmamızın sonuçları ile uyumlu olduğu görüldü. Bu bulgunun değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin ALT (U/L) değerlerini etkilemediği sonucuna varıldı.

Araştırmamızda normal gebe ratların LDH (U/L) değerleri preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün LDH (U/L) değerlerine göre yüksek bulundu. Ancak hem normal hem de preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün LDH (U/L) değerleri gruplar içinde benzer olarak bulundu. Literatürde maternal LDH değerlerini inceleyen çalışmaya

rastlanmamıştır. Bu bulgunun değerlendirilmesiyle çalışmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin LDH (U/L) değerlerini etkilemediği sonucuna ulaşıldı.

Bu çalışmada normal gebe ratların glukoz (mg/dl) değerleri preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün glukoz (mg/dl) değerlerine göre yüksek bulundu. Preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün glukoz değerleri benzer olarak bulundu. Ancak normal gebelerde 19. gün glukoz değerleri yüksek olarak izlendi. Maternal glukoz değerleri konusunda literatürde benzer çalışma bulunmamıştır. Bu bulgunun değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin glukoz (mg/dl) değerlerini etkilemediği sonucuna ulaşılmıştır.

Araştırmamızda preeklampitik gebe ratların kolesterol (mg/dl) değerleri normal gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün kolesterol (mg/dl) değerlerine göre yüksek bulundu. Preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün kolesterol (mg/dl) değerleri benzer olarak bulundu. Ancak normal gebelerde 19. gün kolesterol (mg/dl) değerlerinin başlangıç ve 12. gün değerlerine göre yüksek olduğu izlendi. Maternal kolesterol değerleri konusunda da literatürde benzer çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bulgunun değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin kolesterol (mg/dl) değerlerini etkilemediği sonucuna ulaşıldı.

Bu çalışmada normal ve preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün trigliserid (mg/dl) değerleri benzer bulundu. Hem normal hem de preeklampitik gebe ratların 19. gündeki trigliserid (mg/dl) değerleri 12. gün ve başlangıç değerlerine göre yüksek olarak ölçüldü. Preeklampitik modelde trigliserid değerleriyle ilgili literatürde benzer çalışmaya rastlanmamıştır. Bu bulgunun değerlendirilmesiyle araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin trigliserid (mg/dl) değerlerini etkilemediği sonucuna varıldı.

Bu araştırmada normal ve preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün



ve 19. gün maternal kan BUN (mg/dl) değerleri benzer bulundu. Hem normal hem de preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün BUN (mg/dl) değerleri benzer ölçüldü. Ancak bu konuda da literatürde benzer çalışma bulunamamıştır. Bu bulgunun değerlendirilmesiyle araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin BUN (mg/dl) değerlerini etkilemediği sonucuna ulaşıldı.

Araştırmamızda normal ve preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün kreatinin (mg/dl) değerleri benzer bulundu. Normal gebe ratların 12. gün kreatinin (mg/dl) değerleri başlangıç ve 19. güne göre yüksek iken, preeklampsi grubunun başlangıç değeri 12. ve 19. günlerden yüksekti. Yukarıda bahsedilen Isler ve ark. UPBAT modeli ile yaptıkları çalışmada preeklampitik ve normal gebe sıçanların kreatinin (mg/dl) değerleri sırasıyla  $0.49 \pm 0.11$  ve  $0.49 \pm 0.13$  olarak bildirmişlerdir ( $p > 0.05$ ) (3). Ianosi-Irimie ve ark. salin ve DOCA verdikleri gebe sıçanlarda yaptıkları çalışmada DOCA ve salin uygulan gebelerle uygulanmayan gebeler karşılaştırıldığında sırasıyla kan kreatinin (mg/dl)  $0.58 \pm 0.07$  ve  $0.58 \pm 0.07$  olarak bulunmuştur (77). Bahsedilen araştırmaların sonuçları çalışmamızın sonuçları ile uyumludur. Bu bulgunun değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin kreatinin (mg/dl) değerlerini etkilemediği sonucuna ulaşıldı.

Yaptığımız araştırmada normal ve preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün kan protein (mg/dl) değerleri benzer bulundu. Normal gebe ratların 19. gün değerleri başlangıca göre yüksekken preeklampitik grupta ölçümler arasında fark görülmedi. Nash ve ark'ın yaptığı suramin enjeksiyonu modelinde de preeklampitik ve normal gebe ratlar arasında protein (mg/dl) değerleri açısından fark bulunmamıştır (78). Bahsedilen araştırmanın sonucu çalışmamızdaki ile uyumludur. Bu bulgunun değerlendirilmesiyle araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin protein (mg/dl) değerlerini etkilemediği sonucuna varıldı.

Araştırmamızda normal ve preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün albümin (mg/dl) değerleri benzer bulundu. Hem normal hem de preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi değerleri 12. gün ve 19. güne göre

yüksek ölçüldü. Isler ve ark. UPBAT modeli ile yaptıkları çalışmada preeklampitik ve normal gebe sıçanların albümin (mg/dl) değerleri sırasıyla  $2.74 \pm 0.60$  ve  $2.34 \pm 0.31$  olarak bildirmişlerdir ( $p > 0.05$ ) (3). Bahsedilen araştırmanın sonucu bizim çalışmamızınki ile uyumludur. Bu bulgunun değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin albümin (mg/dl) değerlerini etkilemediği sonucuna ulaşıldı.

Çalışmamızda normal ve preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün idrar BUN (g/gün) değerleri benzer bulundu. Normal gebe ratlarda 19. gün idrar BUN (g/gün) değeri başlangıç ve 12. gün değerlerine göre yüksekken preeklampitik ratlarda benzer değerler izlendi. İdrarda BUN (g/gün) değerlerine ilişkin yayın literatürde bulunamamıştır. Bu bulgunun değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin idrar BUN (g/gün) değerlerini etkilemediği sonucuna ulaşıldı.

Araştırmamızda normal ve preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün idrar kreatinin (mg/dl) değerleri benzer bulundu. Hem normal hem de preeklampitik gebe ratların 19. gün değerleri 12. gün ve gebelik öncesine göre yüksek ölçüldü. Bu bulgunun değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin idrar kreatinin (mg/dl) değerlerini etkilemediği sonucuna ulaşıldı. Araştırmamızda normal ve preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün kreatinin klirens (ml/min) değerleri benzer bulundu. Hem normal hem de preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün kreatinin klirens (ml/min) değerleri benzer ölçüldü. Ianosi-Irimie ve ark. salin ve DOCA verdikleri gebe sıçanlarda yaptıkları çalışmada DOCA ve salin uygulanan gebelerle uygulanmayan gebeler kreatinin klirens'i (ml/min) açısından karşılaştırıldığında sırasıyla  $1.65 \pm 0.64$  ve  $1.60 \pm 0.64$  olarak bildirilmiştir (77). DOCA ve salin uygulanan gebe olmayan sıçanlarla uygulanmayan gebe olmayan sıçanlarda ise kreatinin klirens'i (ml/min) sırayla  $1.11 \pm 0.18$ 'e karşın  $0.99 \pm 0.20$  olarak bulunmuştur. Gebelerde görülen yüksek değer gebeliğin etkisi olarak değerlendirilmiştir. Bu sonuç ile çalışmamızın sonucu uyumludur. Bu bulgunun değerlendirilmesi

sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin kreatinin klirens değerlerini etkilemediği sonucuna ulaşıldı.

Araştırmamızda normal ve preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün idrar ürik asit (mg/dl) değerleri benzer bulundu. Hem normal hem de preeklampitik gebe ratların 19. gün değerlerinin yüksek olduğu görüldü. Hayvan modelinde idrar ürik asit sonucuna ilişkin literatürde yayın bulunamamıştır. Bu bulgunun değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin idrar ürik asit (mg/dl) değerlerini etkilemediği sonucuna ulaşıldı.

Araştırmamızda normal ve preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün idrar sodyum (mmol/L) değerleri benzer bulundu. Hem normal hem de preeklampitik gebe ratların gebelik öncesi, 12. gün ve 19. gün idrar sodyum (mmol/L) değerleri arasında fark bulunamadı. Ianosi-Irimie ve ark. salin ve DOCA verdikleri gebe sıçanlarda yaptıkları çalışmada DOCA ve salin uygulan gebelerle, uygulanmayan gebeler idrar sodyum (mmol/L) değerleri açasından karşılaştırıldığında sırasıyla  $3.5 \pm 2.9$  ve  $0.3 \pm 0.2$  (mmol/L) olarak bildirilmiştir. DOCA ve salin uygulan gebe olmayan sıçanlarla, uygulanmayan gebe olmayan sıçanlarda ise idrar sodyumu (mmol/L) sırayla  $3.4 \pm 2.9$ 'a karşın  $0.3 \pm 0.005$  olarak bulunmuştur. DOCA ve salin uygulan gebe ve gebe olmayan sıçanlarda görülen yüksek değer, sıçanlara verilen salinin etkisi olarak değerlendirilmiştir (77). Bu veri ile çalışmamızın sonucu uyumludur. Bu bulgunun değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin idrar sodyum (mmol/L) değerlerini etkilemediği sonucuna varıldı.

Araştırmamızda preeklampitik gebe ratların normal gebe ratlara göre 24 sa idrarda Esbach (g/L) değerlerinin 19. gün ölçümü yüksek bulundu. Normal gebelerde başlangıç değerleri 12. ve 19. gün Esbach değerlerine göre yüksek olarak izlendi. Preeklampitik gebe ratların ise 19. gün Esbach (g/L) değerleri gebelik öncesi ve 12. güne göre yüksek olarak bulundu. Ianosi - Irimie ve ark. yaptıkları çalışmada 24 sa idrarda protein atılımını DOCA ve salin uygulan gebelerde  $9 \pm 4.5$  mg/24 sa ve uygulanmayan gebelere  $5.0 \pm 2.0$  mg/24 sa olarak bildirmişlerdir. DOCA ve salin uygulanan gebe olmayan

sıçanlarla, uygulanmayan gebe olmayan sıçanlarda ise idrar sodyum (mmol/L) sırayla  $3.1 \pm 1$  mg/24 sa' e karşın  $3.1 \pm 1.3$  m/24 sa olarak benzer bulunmuştur (77). Ancak Nash ve ark.'ın yaptığı suramin enjeksiyonu modelinde preeklampitik ve normal gebe ratlar arasında 24 sa idrarda protein atılımı açısından fark bulunamamıştır (78). Bizim araştırmamızdaki sonuçlar lanosi-Irimie ve ark.'nın sonuçlarıyla uyumludur. Bu bulgunun değerlendirilmesi sonucunda araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin 24 sa idrarda protein atılımını yükselttiği sonucuna ulaşıldı.

Plasental dokularda çalışılan protein karbonil (nmol/mg protein) değerleri preeklampitik gebelerde normal gebelere göre yüksek olarak bulundu. Bu konuda yapılmış bir insan çalışmasında Zusterzeel ve ark. 22 sağlıklı gebe ve 25 tanesi HELLP sendromu olmak üzere 50 ağır preeklampitik gebenin plasental ve desidual protein karbonil düzeylerini incelemişlerdir. HELLP sendromu olan gebelerin plasental ve desidual protein karbonil düzeyleri sağlıklı gebelere göre yüksek olarak bulunmuş ancak ağır preeklampitik gebelerle sağlıklı gebeler arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (79). Aynı konuda yapılan bir başka insan çalışmasında preeklampitik plasentalardaki protein karbonil düzeyi normal gebelerle karşılaştırıldığında  $248.1 \pm 97.71$  U/mg protein'e karşın  $209.7 \pm 82.6$  U/mg protein olarak bildirilmiştir (80). Bizim çalışmamız ise sıçanlarda yapılmış olmasına rağmen yukarıdaki araştırmalarla uyumludur. Bu bulgunun değerlendirilmesi ile araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin plasental protein oksidasyonunu arttırdığı sonucuna ulaşıldı.

Plasental dokularda çalışılan MDA (nmol/doku) değerleri preeklampitik gebelerde normal gebelere göre yüksek olarak bulundu. Seedek ve ark.'nın UPBAT modeli ile yaptıkları çalışmada preeklampitik gebe sıçanlar ile normal gebelerin plasental MDA düzeyleri karşılaştırıldığında  $6.96 \pm 0.6$ 'e karşın  $3.91 \pm 0.4$  (umol/gm doku) olarak bulunmuştur (81). Bu araştırmanın sonucu ile bizim çalışmamızınki uyumludur. Bu bulgunun değerlendirilmesi ile araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin plasental lipid peroksidasyonunu arttırdığı sonucuna ulaşıldı.

Plasental dokularda çalışılan glutatyon peroksidaz (GSH-Px) (U/g protein) değerleri preeklampitik gebelerde normal gebelere göre düşük olarak bulundu. Walsh ve ark. tarafından 11 preeklampitik ve 11 normal gebede yapılan çalışmada GSH-Px aktivitesi sırasıyla  $9.41 \pm 0.05$ ' e karşın  $13.41 \pm 0.63$  U/g protein anlamlı olarak düşük bulunmuştur (82). Aynı konuda yapılan bir başka insan çalışmasında normal gebelerle preeklampitik plasentalardaki GSH-Px aktivitesi düzeyi karşılaştırıldığında  $17.33 \pm 6.63$  mmol/min/mg protein'e karşın  $11.50 \pm 3.11$  mmol/min/mg protein olarak bildirilmiştir (80). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde preeklampitik plasentalarda antioksidan proteinlerden GSH-Px aktivitesinin azaldığı görülmüştür. Bu bulgunun değerlendirilmesi ile araştırmamızda kullandığımız UPBAT preeklampsi modelinin plasental antioksidan aktiviteyi azalttığı sonucuna ulaşıldı.

Plasental dokularda çalışılan superoksid dismutaz (SOD) (U/mg protein) değerleri preeklampitik gebelerde normal gebelere göre düşük olarak bulundu. Vanderlelie ve ark.'ın yukarıda bahsedilen çalışmasında normal gebelerin SOD düzeyi  $2.48 \pm 0.6$  U/mg protein iken preeklampitik gebelerde  $2.02 \pm 0.51$  U/mg protein olarak ölçülmüştür (80). Bir başka insan çalışmasında 44 preeklampitik ve 30 sağlıklı gebe kadın örneklenecek GSH-Px ve SOD gibi antioksidan enzimlerin azaldığı ve MDA gibi lipid peroksidasyon belirteçlerinin arttığı gösterilmiştir (83). Sikkema ve ark.'ın çalışmalarında ise 10 preeklampitik ve 13 normal gebeliği olan kadının plasentaları değerlendirilmiş ve SOD aktivitesinin preeklampitiklerde azaldığı gösterilmiştir (84).

Sıçanlarda çoğul gebelik görüldüğünden fetal gelişimin değerlendirilmesinde canlı fetüs sayısı, canlı fetüslerin toplam ağırlıkları (g) ile ortalama fetal ağırlık (g) kullanılmıştır. Preeklampitik sıçanlarda hem canlı fetüs sayısı hem de toplam fetüs ağırlığı azalmıştır. Ianosi-Irimie ve ark. salin ve DOCA verdikleri gebe sıçanlarda yaptıkları çalışmada canlı fetüs sayısı normal gebelerde  $12.4 \pm 4.4$  ve preeklampitik gebelerde  $7.5 \pm 6.1$  g ve total fetal ağırlıklar sırasıyla  $50.7 \pm 7.2$  g'a karşın  $37.8 \pm 14.9$  g olarak bulunmuştur (77). Nash ve ark'ın yaptığı suramin enjeksiyonu modelinde, preeklampitik gebelerde

normal gebe ratlara göre fetal ağırlıkların azaldığı gösterilmiştir (78). Isler ve ark. UPBAT modeli ile yaptıkları çalışmada ise preeklampitik ve normal gebe sıçanlar karşılaştırıldığında fetüs sayısında azalma olduğu, ortalama fetal ağırlığın benzer bulunduğu bildirilmiş ancak toplam fetal ağırlık verilmemiştir (3).

Yukarıda irdelenen bulgularımız ve literatür bilgileri ışığında UPBAT yöntemiyle oluşturulan preeklampitik sıçan modelinin başarısı klinik ve labaratuvar bulgularına göre aşağıdaki gibi özetlenebilir.

Bu model maternal ağırlığı etkilemedi. Maternal kan basıncını yükseltti. Hematolojik değerleri (Hb ve Hct) etkilemedi. Kan proteinleri (protein, albumin), karaciğer fonksiyon testleri (AST, ALT, LDH), böbrek fonksiyon testlerinde (BUN, kreatinin), kan glukoz, trigliserid ve kolesterol değerlerinde bozukluğa neden olmadı. Kan elektrolitlerinden sadece sodyum ve klor düzeyinde değişikliğe neden oldu. Ayrıca 24 sa idrarda yapılan testlerden yalnızca idrar proteininde artışa yol açtı. Fetal bulgular IUGG'in gerçekleştiğini gösterdi. Plasental oksidatif stresin arttığı görüldü.

İnsanlarda görülen preeklampsinin gestasyonel hipertansiyon, hafif preeklampsi, ağır preeklampsi, HELLP sendromu ve eklampsi gibi klinik tipleri vardır. Bu açıdan bakıldığında modelimizin preeklampsinin gestasyonel hipertansiyon ve hafif preeklampsi tiplerini taklit edebildiği sonucuna ulaşıldı. Ağır preeklampsiyi ise kısmen taklit edebildi. HELLP sendromu ve eklampsi tiplerini ise gerçekleştiremediği saptandı. Sonuç olarak UPBAT yöntemiyle elde edilen bu preeklampitik sıçan modeli henüz yeterli bir model değildir. Yeterli bir model olabilmesi için ağır preeklampsiyi iyi taklit etmesi gerekmektedir. Bunun nedeni maternal ve fetal morbidite ve mortalitenin gestasyonel hipertansiyon ve hafif preeklampside çok az etkilenirken ağır preeklampside önemli ölçüde artmasıdır.

Bu modelde deneylerimizi yaparken elde ettiğimiz tecrübeler ışığında, preeklampitik hayvan modeli oluşturmak için UPBAT yöntemiyle birlikte bazı farmakolojik ajanların uygulanmasının faydalı olacağı sonucuna ulaşıldı.

## 6. Kaynaklar

1. Walsh SW. Maternal-placental interactions of oxidative stress and antioxidants in preeclampsia. *Semin Reprod Endocrinol.* 1998;16(1):93-104.
2. Hubel CA. Oxidative Stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1999 Dec;222 (3):222–35.
3. Isler CM, Bennett WA, Rinewalt AN, Cockrell KL, Martin JN, Morrison JC et al. Evaluation of a rat model of preeclampsia for HELLP syndrome characteristics, *J Soc Gynecol Invest* 10 (2003), pp. 151–153.
4. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183:1-22.
5. ACOG committee on Practice Bulletins-Obstetrics. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol.* 2002;99(1):159-67.
6. Sibai BM, Mercer BM, Schiff E, Friedman SA. Aggressive versus expectant management of severe preeclampsia at 28 to 32 weeks' gestation: a randomized controlled trial. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;171:818–822.
7. Maynard SE, Venkatesha S, Thadhani R, Karumanchi SA. Soluble Fms-like Tyrosine Kinase 1 and Endothelial Dysfunction in the Pathogenesis of Preeclampsia. *Pediatr Res.* 2005;57:2.
8. Abramovici D, Friedman SA, Mercer BM, Audibert F, Kao L, Sibai BM. Neonatal outcome in severe preeclampsia at 24 to 36 weeks' gestation: does the HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count) syndrome matter? *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180:221–225.
9. Sibai BM, Taslimi M, Abdella TN, Brooks TF, Spinnato JA, Anderson GD. Maternal and perinatal outcome of conservative management of severe preeclampsia in midtrimester. *Am J Obstet Gynecol.* 1985;152:32–37.
10. Roberts JM, Cooper DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia.

Lancet. 2001;357:53-56

11. Lo´pez-Quesadaa E, Vilasecab MA, Go´meza E, Laillaa JM. Are plasma total homocysteine and other amino acids associated with glucose intolerance in uncomplicated pregnancies and preeclampsia? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005;119:36–41.
12. Chesley LC, Annitro JE, Cosgrove RA. The remote prognosis of eclamptic women: sixth periodic report. *Am J Obstet Gynecol.* 1976;124:446-59.
13. Fisher KA, Luger A, Spargo BH, Lindheimer MD. Hypertension in pregnancy: clinical-pathological correlations and remote prognosis. *Medicine.* 1981;60:267–276.
14. VanWijk MJ, Kublickienec K, Boera K, VanBavel E. Vascular function in preeclampsia. *Cardiovasc Res.* 2000;47:38–48.
15. Dekker GA, Sibai BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. *Am J Obstet Gynecol.* 1998;179:1359-751.
16. Wang Y, Alexander JS. Placental pathophysiology in preeclampsia. *Pathophysiology* 2000;6:261–270.
17. Cavanagh D, Rao PS, Knuppel RA, Desai U, Balis JU. Pregnancy-induced hypertension: development of a model in the pregnant primate (*Papio anubis*). *Am J Obstet Gynecol.* 1985;151:987–999.
18. Fox H, Path MC. Effect of hypoxia on trophoblast in organ culture. A morphologic and autoradiographic study. *Am J Obstet Gynecol.* 1970;107:1058–1064.
19. Genbacev O, Zhou Y, Ludlow JW, Fisher SJ. Regulation of human placental development by oxygen tension. *Science.* 1997;277:1669–1672.
20. Soundararajan R, Rao AJ. Trophoblast ‘pseudo-tumorigenesis’: significance and contributory factors. *Reprod Biol Endocrinol.* 2004;25:2-15.
21. Fisher SJ, Roberts JM. Defects in placentation and placental perfusion, in: Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG (Eds.), *Hypertensive Disorders in Pregnancy*, Appleton and Lange, Stamford, CT. 1999;377–394.
22. Rajakumara A, Brandona HM, Daftarya A, Nessb R, Conrad KP.



- Evidence for the Functional Activity of Hypoxia-inducible Transcription Factors Overexpressed in Preeclamptic Placentae. *Placenta*. 2004;25:763–769.
23. Zhou Y, McMaster M, Woo K, Janatpour M, Perry J, Karpanen T et al. Vascular endothelial growth factor ligands and receptors that regulate human cytotrophoblast survival are dysregulated in severe preeclampsia and hemolysis, elevated liver enzymes and low platelets syndrome. *Am J Pathol*. 2002;160:1405-23.
  24. Atamer Y, Kocyigit Y, Yokus B, Atamer A, Erden AC. Lipid peroxidation, antioxidant defense, status of trace metals and leptin levels in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005;11:960–66.
  25. Karalis I, Nadar SK, Yemeni EA, Blann AD, Lip GYH. Platelet activation in pregnancy-induced hypertension. *Thromb Res*. 2005;116(5): 377-83.
  26. Taniyama Y, Griendling KK. Reactive oxygen species in the vasculature: molecular and cellular mechanisms *Hypertension*. 2003 Dec;42(6):1075-81
  27. Wilcox CS. Reactive oxygen species: roles in blood pressure and kidney function. *Curr Hypertens Rep*. 2002 Apr;4(2):160-6.
  28. Romero JC, Reckelhoff JF. State-of-the-Art lecture. Role of angiotensin and oxidative stress in essential hypertension. *Hypertension*. 1999 Oct;34(4 Pt 2):943-9.
  29. Garvin JL, Ortiz PA. The role of reactive oxygen species in the regulation of tubular function. *Acta Physiol Scand*. 2003 Nov;179(3):225-32.
  30. Ogden E, Hildebrand GJ, Page EW. Rise in blood pressure during ischemia of the gravid uterus. *Proc Soc Exper Biol&Med*. 43:49-51. 1940
  31. Hodari AA. Chronic uterine ischemia and reversible experimental "toxemia of pregnancy". *Am J Obstet Gynecol*. 1967 Mar 1;97(5):597-607.
  32. Abitbol MM, Gallo GR, Pirani CL, Ober WB. Production of experimental toxemia in the pregnant rabbit. *Am J Obstet Gynecol*. 1976 Mar 1;124(5):460-70.
  33. Abitbol MM, Pirani CL, Ober WB, Driscoll SG, Cohen MW. Production of

- experimental toxemia in the pregnant dog. *Obstet Gynecol.* 1976 Nov;48(5):537-48.
34. Losonczy G, Brown G, Venuto RC. Increased peripheral resistance during reduced uterine perfusion pressure hypertension in pregnant rabbits. *Am J Med Sci.* 1992 Apr;303(4):233-40.
  35. Cavanagh D, Rao PS, Tung KS, Gaston L. Eclampsogenic toxemia: the development of an experimental model in the subhuman primate. *Am J Obstet Gynecol.* 1974 Sep 15;120(2):183-96.
  36. Cavanagh D, Rao PS, Tsai CC, O'Connor TC. Experimental toxemia in the pregnant primate. *Am J Obstet Gynecol.* 1977 May 1;128(1):75-85.
  37. Combs CA, Katz MA, Kitzmiller JL, Brescia RJ. Experimental preeclampsia produced by chronic constriction of the lower aorta: validation with longitudinal blood pressure measurements in conscious rhesus monkeys. *Am J Obstet Gynecol.* 1993 Jul;169(1):215-23.
  38. Alexander BT, Rinewalt AN, Cockrell KL, Massey MB, Bennett WA, Granger JP. Endothelin type a receptor blockade attenuates the hypertension in response to chronic reductions in uterine perfusion pressure. *Hypertension.* 2001 Feb;37(2 Part 2):485-9.
  39. 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.
  40. Roberts JM, Pearson GD, Cutler JA, Lindheimer MD. National Heart Lung and Blood Institute. Summary of the NHLBI Working Group on Research on Hypertension During Pregnancy. *Hypertens Pregnancy.* 2003;22(2):109-27.
  41. Beger HG, Schoenberg MH. The importance of oxygen radicals in medicine--recent advances and perspectives. *Klin Wochenschr.* 1991 Dec 15;69(21-23):947-8.
  42. Cracowski JL, Durand T, Bessard G. Isoprostanes as a biomarker of lipid peroxidation in humans: physiology, pharmacology and clinical implications. *Trends Pharmacol Sci.* 2002 Aug;23(8):360-6.
  43. Morrow JD, Roberts LJ 2nd. Mass spectrometric quantification of F2-isoprostanes as indicators of oxidant stress. *Methods Mol Biol.* 2002;186:57-66.

44. Barden A, Beilin LJ, Ritchie J, Croft KD, Walters BN, Michael CA. Plasma and urinary 8-iso-prostane as an indicator of lipid peroxidation in pre-eclampsia and normal pregnancy. *Clin Sci (Lond)*. 1996 Dec;91(6):711-8.
45. Walsh SW, Vaughan JE, Wang Y, Roberts LJ 2nd. Placental isoprostane is significantly increased in preeclampsia. *FASEB J*. 2000 Jul;14(10):1289-96.
46. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*. 1991;11(1):81-128.
47. Browne SE, Ferrante RJ, Beal MF. Oxidative stress in Huntington's disease. *Brain Pathol*. 1999 Jan;9(1):147-63.
48. Vento R, D'Alessandro N, Giuliano M, Lauricella M, Carabillo M, Tesoriere G. Induction of apoptosis by arachidonic acid in human retinoblastoma Y79 cells: involvement of oxidative stress. *Exp Eye Res*. 2000 Apr;70(4):503-17.
49. Valerio LG Jr, Petersen DR. Formation of liver microsomal MDA-protein adducts in mice with chronic dietary iron overload. *Toxicol Lett*. 1998 Sep 1;98(1-2):31-9.
50. Beppu M, Fukata Y, Kikugawa K. Interaction of malondialdehyde-modified bovine serum albumin and mouse peritoneal macrophages. 1: *Chem Pharm Bull (Tokyo)*. 1988 Nov;36(11):4519-26.
51. Marnett LJ. Chemistry and biology of DNA damage by malondialdehyde. *IARC Sci Publ*. 1999;(150):17-27.
52. Marnett LJ. Lipid peroxidation-DNA damage by malondialdehyde. *Mutat Res*. 1999 Mar 8;424(1-2):83-95.
53. Clark P, Boswell F, Greer IA. The neutrophil and preeclampsia. *Semin Reprod Endocrinol*. 1998;16(1):57-64
54. Lee VM, Quinn PA, Jennings SC, Ng LL. Neutrophil activation and production of reactive oxygen species in pre-eclampsia. *J Hypertens*. 2003 Feb;21(2):395-402.
55. Mellembakken JR, Aukrust P, Olafsen MK, Ueland T, Hestdal K, Videm V. Activation of leukocytes during the uteroplacental passage in preeclampsia. *Hypertension*. 2002 Jan;39(1):155-60

56. Aly AS, Khandelwal M, Zhao J, Mehmet AH, Sammel MD, Parry S. Neutrophils are stimulated by syncytiotrophoblast microvillous membranes to generate superoxide radicals in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Jan;190(1):252-8.
57. Winterbourn CC, Kettle AJ. Reactions of superoxide with myeloperoxidase and its products. *Jpn J Infect Dis.* 2004 Oct;57(5):31-3.
58. Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P) H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res.* 2000 Mar 17;86(5):494-501.
59. Many A, Hubel CA, Roberts JM. Hyperuricemia and xanthine oxidase in preeclampsia, revisited. *Am J Obstet Gynecol.* 1996 Jan;174 (1 Pt 1):288-91.
60. Many A, Hubel CA, Fisher SJ, Roberts JM, Zhou Y. Invasive cytotrophoblasts manifest evidence of oxidative stress in preeclampsia. *Am J Pathol.* 2000 Jan;156(1):321-31.
61. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med.* 1991;(3C):31S-38S.
62. McCord JM, Fridovich I. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. I. Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen. *J Biol Chem.* 1969 Nov 25;244(22):6056-63.
63. Halliwell B. Reactive oxygen species in living system. Source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med* 1991; (3C):14S-22S.
64. Rumley AG, Paterson JR. Analytical aspects of antioxidants and free radical activity in clinical biochemistry. *Ann Clin Biochem* 1998; 35:181-200.
65. Okado-Matsumoto A, Fridovich I. Subcellular distribution of superoxide dismutases (SOD) in rat liver: Cu, Zn-SOD in mitochondria. *J Biol Chem.* 2001 Oct 19;276(42):38388-93.
66. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine* (2nd ed). Clarendon Press, Oxford 1989;pp 10, 73-128, 247-249.
67. Stark JM. Pre-eclampsia and cytokine induced oxidative stress. *Br J*

- Obstet Gynaecol. 1993 Feb;100(2):105-9.
68. Bunag RD, Butterfield J. Tail-cuff blood pressure measurement without external preheating in awake rats. *Hypertension* 1982;4:898-903.
  69. Raijmakers MTM, Tits BJH, Hak-Lemmers HLM, Roes EM, Steegers EAP and Peters WHM. Low plasma levels of oxidized low density lipoprotein in preeclampsia. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica*. 2004;83:1173.
  70. Sakawi Y, Tarpey M, Chen Y.F, Calhoun D. A, Connor M.G, Chestnut D.H, Parks D.A. Evaluation of Low-dose Endotoxin Administration during Pregnancy as a Model of Preeclampsia. *Anesthesiology*. 2000;93(6):1446-1455.
  71. Sattar N, Gaw A, Packard CJ, Greer IA. Potential pathogenic roles of aberrant lipoprotein and fatty acid metabolism in pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol* 1996;103:61420.
  72. Sun Y, Oberley LW, Ying L. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988;34:497-500.(SOD2)
  73. Durak I, Yurtarslani Z, Canbolat O, Akyol O. A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clin Chim Acta* 1993;214:103-104.
  74. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab & Clin Med* 1967;70:158-169.
  75. Ohkhawa H, Ohishi N, Yogi K. Assay for lipid peroxidation in animals tissue by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem*, 95,351-358. 1979
  76. Packer L, Glazer NA. Determination of Carbonyl Content in Oxidatively Modified Proteins, *Methods in Enzymology*. California. 1990;186:464-479.
  77. Ianosi-Irimie M, Vu HV, Whitbred JM, Pridjian CA, Nadig JD, Williams MY, Wrenn DC, Pridjian G, Puschett JB. A rat model of preeclampsia. *Clin Exp Hypertens*. 2005 Nov;27(8):605-17.
  78. 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.

79. Zusterzeel PL, Rutten H, Roelofs HM, Peters WH, Steegers EA. Protein carbonyls in decidua and placenta of pre-eclamptic women as markers for oxidative stress. 1: Placenta. 2001 Feb-Mar;22(2-3):213-9.
80. Vanderlelie J, Venardos K, Clifton VL, Gude NM, Clarke FM, Perkins AV. Increased biological oxidation and reduced anti-oxidant enzyme activity in pre-eclamptic placentae. Placenta. 2005 Jan;26(1):53-8.
81. Mona H. Sedeeq, Yuping Wang, Joey P. Granger and UMMC; LSU Increased oxidative stress in a rat model of preeclampsia. American Journal of Hypertension Volume 17, Issue 5, supplement 1 , May 2004; Page S142.
82. Walsh SW, Wang Y. Deficient glutathione peroxidase activity in preeclampsia is associated with increased placental production of thromboxane and lipid peroxides. Am J Obstet Gynecol. 1993 Dec;169(6):1456-61.
83. Chamy VM, Lepe J, Catalan A, Retamal D, Escobar JA, Madrid EM. Oxidative stress is closely related to clinical severity of pre-eclampsia. Biol Res. 2006;39(2):229-36. Epub 2006 Jul 25.)
84. Sikkema JM, van Rijn BB, Franx A, Bruinse HW, de Roos R, Stroes ES, van Faassen EE. Placental superoxide is increased in pre-eclampsia. Placenta. 2001 Apr;22(4):304-8.)

