

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

**GEBELİĞİN HİPERTANSİF HASTALIKLARINDA SERUM sVEGFR-1  
DÜZEYİNİN KLİNİK ÖNEMİ**

**Dr. Sultan ŞALK  
UZMANLIK TEZİ**

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

**SİVAS  
2006**

## TEŞEKKÜR

Kadın Doğum eğitimim süresince yetişmemde emeği olan, aynı zamanda tez çalışmam sırasında bilgi ve desteğini esirgemeyen saygıdeğer hocam Prof. Dr. Ali Çetin'e ve eğitimime katkıları bulunan tüm hocalarıma çok teşekkür ederim. Mikrobiyoloji laboratuvarında tez çalışmam için izin veren ve destek olan Prof. Dr. M. Zahir Bakıcı'ya, kanların toplanması ve saklanmasında titizce emek veren tüm laboratuvar teknikerlerine ve bunlarla birlikte ELİSA yöntemiyle serumları inceleyen laboratuvar teknikeri Ayşegül Çelik'e teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, asistanlığım süresince beraber çalıştığım tüm doktor, hemşire, sekreter ve personel arkadaşlarıma da paylaştığımız bu güzel çalışma ortamı için teşekkür ederim.

Son olarak, hayatım boyunca bana destek olan sevgili anneciğim Zeynep Hanım'a ve her zaman olduğu gibi tezimde büyük katkısı olan sevgili eşim Dr. İsmail Şalk'a sonsuz teşekkür ederim. Biricik kızım Ayça'ya da en kötü günlerimde bile hep yüzümü güldürdüğü için teşekkür ederim.

Bu tıpta uzmanlık tezi Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri kapsamında "Gebeliğin Hipertansif Hastalıklarında Serum sVEGFR-1 Düzeyinin Klinik Önemi"adlı T-268 nolu tez projesi ile gerçekleştirilmiştir.

## İÇİNDEKİLER

<b>TEŞEKKÜR</b>		<b>ii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>		<b>iii</b>
<b>ÖZET</b>		<b>v</b>
<b>İNGİLİZCE ÖZET</b>		<b>vi</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b>		<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER</b>		<b>ix</b>
<b>TABLolar</b>		<b>x</b>
<b>1 GİRİŞ</b>		<b>1</b>
<b>2 GENEL BİLGİLER</b>		<b>3</b>
<b>2.1 Preeklampsinin tanımı</b>		<b>3</b>
<b>2.2 Epidemiyoloji ve risk faktörleri</b>		<b>5</b>
<b>2.3 Patofizyoloji</b>		<b>6</b>
<b>2.3.1 Preeklampside plasental bozukluklar</b>		<b>6</b>
2.3.1a Trofoblastik invazyonun yetmezliği		7
2.3.1b Preeklamptik plasentada vasküler zedelenme		9
2.3.1c Preeklamptik plasentada artmış oksidatif stres ve vazokonstriksiyon		9
<b>2.3.2. Preeklampside vasküler endotel hücre disfonksiyonu</b>		<b>10</b>
2.3.2a Preeklampside endotel hücre aktivasyon/disfonksiyonu		11
2.3.2b Preeklampside endotel hücre fonksiyonunun dolaşımdaki düzenleyicileri		12
2.3.2c Preeklampside endotel hücre fonksiyonunu değiştirebilecek plasental faktörler		13
<b>2.3.3 Genetik faktörler</b>		<b>13</b>
<b>2.4 VEGF-VEGF-Reseptör sistemi</b>		<b>15</b>
<b>2.4.1 VEGF</b>		<b>16</b>
<b>2.4.2 VEGF ile ilişkili faktörler</b>		<b>17</b>
<b>2.4.3 VEGF reseptörlerinin yapısı</b>		<b>18</b>
<b>3 GEREÇ VE YÖNTEM</b>		<b>21</b>
<b>3.1 Çalışma Gruplarının Oluşturulması</b>		<b>21</b>
<b>3.2 Kanların toplanması</b>		<b>22</b>
<b>3.3 Serumların incelenmesi</b>		<b>22</b>

<b>3.4 İstatistiksel inceleme</b>	<b>23</b>
<b>SONUÇLAR</b>	<b>25</b>
<b>TARTIŞMA</b>	<b>32</b>
<b>SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>43</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>44</b>

## **GEBELİĞİN HİPERTANSİF HASTALIKLARINDA SERUM sVEGFR-1 DÜZEYİNİN KLİNİK ÖNEMİ**

### **ÖZET**

Preeklampsi, gebeliğin 20. haftasından sonra yeni başlangıçlı hipertansiyon ve proteinürüriyi kapsayan gebeliğe özgü bir bozukluktur. Preeklampsi günümüzde de neonatal ve maternal morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerindedir. Preeklampsinin patofizyolojisinde endotel disfonksiyonunun merkezi bir rolü olduğu düşünülmektedir. Ancak, endotel disfonksiyonunun nedeni net olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, daha önce gebeliğin hipertansif hastalıklarında plasental üretimi ve serum düzeyinin arttığı gösterilen sVEGFR-1'in klinik önemini araştırmak amaçlandı. Bu prospektif vaka kontrollü çalışmanın grupları preeklampitik (n=44) ve normal sağlıklı gebelerden (n=44) oluşturuldu. Her iki grubun prepartum ve postpartum serum sVEGFR-1 düzeyleri özel bir ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) kiti (Biosource, Biosource International Inc., California, USA ) kullanarak ölçüldü. Her iki grubun kendi içinde prepartum serum sVEGFR-1 değerlerinin ortancasının postpartum serum sVEGFR-1 değerlerinin ortancasından daha yüksek olduğu saptandı ( $p < .05$ ). Preeklampitik gebelerin prepartum ve postpartum serum sVEGFR-1 düzeylerinin kontrol grubundakinden anlamlı şekilde daha yüksek olduğu saptandı ( $p < .05$ ). Preeklampitik hastalar arasında, serum sVEGFR-1 düzeyleri ile proteinürünün derecesi ( $p < .05$ ,  $r = 0.25$ ), sistolik ( $p < .05$ ,  $r = 0.25$ ) ve diastolik kan basıncı ( $p < .05$ ,  $r = 0.31$ ) arasında pozitif ilişki olduğu gösterildi. Bu bulgular, artmış serum sVEGFR-1 düzeyinin preeklampsi patofizyolojisinde rolü olabileceğini ve sVEGFR-1'in kapsamlı in vitro ve in vivo çalışmalardan sonra preeklampsinin taramasında ve önlenmesinde kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: Gebelik, hipertansiyon, sVEGFR-1

## CLINICAL IMPORTANCE OF SERUM sVEGFR-1 LEVEL IN HYPERTENSIVE DISEASES OF PREGNANCY

### ABSTRACT

Preeclampsia, a pregnancy-specific syndrome consisting of hypertension and proteinuria occurring de novo after the 20th week of gestation, remains the leading cause of maternal and fetal morbidity and mortality worldwide. Endothelial dysfunction is proposed to be a central feature of the pathophysiology of preeclampsia. However, the mechanism by which this endothelial dysfunction occurs remains uncertain. We aimed to investigate clinical importance of sVEGFR-1 which was shown as increased placental synthesis and serum levels in hypertensive disorders of pregnancy. Groups of this prospective case-controlled study were composed of preeclamptic (n=44) and normal healthy pregnant (n=44) women. From both groups, additional samples were collected within 48 hours postpartum. Concentrations of sVEGFR-1 in serums were measured using a specific enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA, Biosource, Biosource International Inc., California, USA). Within both groups, prepartum serum levels of sVEGFR-1 was higher than postpartum levels ( $p < .05$ ). Prepartum and postpartum serum levels of sVEGFR-1 in preeclamptic women was higher than levels in the control group ( $p < .05$ ). Serum sVEGFR-1 levels of preeclamptic women were positively correlated with degree of proteinuria ( $p < .05$ ,  $r = 0.25$ ), systolic ( $p < .05$ ,  $r = 0.25$ ) and diastolic blood pressures ( $p < .05$ ,  $r = 0.31$ ). These findings may point to an involvement of sVEGFR-1 in the pathophysiology of preeclampsia and after large in vitro and in vivo studies, sVEGFR-1 may be used in the screening and prevention of preeclampsia.

Keywords: Pregnancy, hypertension, sVEGFR-1

**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  
AT III: antitrombin III  
NO: nitrik oksit  
PDGF: platelet derived growth factor  
AT II: anjiotensin II  
TNF- $\alpha$ : tumor necrosis factor- $\alpha$   
PAF: platelet activating factor  
HUVECs: human umbilical vein endothelial cells  
LT: lökotrienlerin  
PLA<sub>2</sub>: fosfolipaz A<sub>2</sub>  
HLA: human leukocyte antigen  
MTHF: metilentetrahidrofolat  
GSTM1: glutathione S-transferase M1  
GSTT1: glutathione S-transferase T1  
VKİ: vücut kitle indeksi  
BUN: kan üre nitrojen

ASİ: amniyon sıvı indeksi

Sa: saat

Hf: hafta

KDR: kinase domain region

Kda: kilo dalton

mmHg: milimetre cıva

LDL: low density lipoprotein

sICAM-1: soluble interstitial cell adhesion molecule

sVCAM-1: soluble vascular cell adhesion molecule

Cr: krom

dv/dk: devir/dakika



## ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Spiral arter kan akımı ve villöz yapıyı gösteren maternal-fetal yüzeyin şekli.

Şekil 2.2. Normal (a) ve preeklampitik (b) gebelikte endometriyumun trofoblastik invazyonu.

Şekil 2.3. VEGF ve reseptör sistemi. Bu sistem için yapı olarak benzer üç adet 7-Ig tirozin kinaz reseptörü ve en az 5 ligand anahtar düzenleyicilerdir. Bu sistem in vivo anjiyogenez ve lenfanjiyogenez için gereklidir.

Şekil 2.4. VEGF ailesinin yapılarının karşılaştırılması. Orf virüs NZ-7 zincirinde kodlanan VEGF-E (NZ-7), KDR'ye yüksek afiniteyle bağlanır, fakat, Flt-1'e bağlanmaz.

Şekil 2.5. Flt-1 ve sFlt-1'in protein yapısı. Flt-1, VEGF ve PLGF'ye bağlanmasını düzenleyen 7 immunoglobuline (Ig) sahiptir. sFlt-1 proteininin, transmembran ve sitoplazmik Ig'leri olmayan özel 31 AA-C kısmı vardır.

Şekil 4.1. Preeklampitik hasta grubunun dağılımı.

Şekil 4.2. Kontrol ve preeklampsi grubunun prepartum ve postpartum serum sVEGFR-1 düzeyleri.

Şekil 4.3. Kontrol ve preeklampsi grubunda normal vajinal doğum ve sezaryen ile doğum sayıları.

**TABLULAR**

Tablo 2.1. Preeklampsi tanı kriterleri

Tablo 2.2. Şiddetli preeklampsi tanı kriterleri

Tablo 4.1. Preeklampsi ve kontrol grubundaki olguların demografik ve seçilmiş klinik verileri.

Tablo 4.2. Serum sVEGFR-1 düzeyi (ng/ml) ile seçilmiş demografik ve klinik değişkenler arasındaki ilişki.

## GİRİŞ

Preeklampsi, gebeliğin 20. haftasından sonra başlayan hipertansiyon ve proteinüri ile karakterize, hayatı tehdit eden komplikasyonları olan bir multisistem bozukluktur. Hipertansiyonun gebelikte görülmesi halinde gelişen uteroplental yetmezlik nedeniyle intrauterin gelişme geriliği (İUGG), 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. Bu nedenle gebeliğin hipertansif hastalıkları (preeklampsi, eklampsi) artmış maternal-fetal morbidite ve mortalite riskinden dolayı özel bir öneme sahiptir (1).

Hastalık gebeliğin sonlandırılmasıyla iyileştiği için, preeklampsinin patogenezinde plasenta ile ilgili sorunlar olduğu şüphesizdir. Preeklampsi patogenezinin üç komponenti olduğu düşünülür: bozuk plasantasyon, plasental iskemi ve plasental vasküler seviyede komplikasyonlara neden olan endotel hücre disfonksiyonudur. Hastalık, plasental faktörlerin maternal dolaşıma girerek hipertansiyon ve proteinüriye neden olan endotel hücre disfonksiyonuna neden olmasıyla başlayabilir (2).

Memeli plasentasının fetusa oksijen ve besin sağlayabilen uygun damar ağını kurmak için kapsamlı bir anjiyojeneze ihtiyacı vardır. VEGF (vascular endothelial growth factor), PlGF (placental growth factor) ve sVEGFR-1 (soluble vascular endothelial growth factor) gibi VEGF ailesinden birçok anjiyojenik büyüme faktörleri plasentada yapılmaktadır. VPF (Vascular permeability factor) olarak da bilinen VEGF, homodimerik 34-42 Kda ağırlığında, endotel hücrelerine özel güçlü anjiyojenik, mitojenik ve damar geçirgenliğini artırıcı özellikleri olan heparin bağlayıcı bir glikoproteindir. VEGF geninin farklılaşmış eklenmesi sonucu çok sayıda VEGF izoformu bulunmaktadır. VEGF<sub>165</sub> ve VEGF<sub>121</sub> daha fazla mitojeniktir ve yeni damar oluşumu ve dolayısıyla plasenta gelişimi dahil birçok fizyolojik olayla ilişkilidirler. VEGF ailesi üyelerinin biyolojik etkileri, reseptör tirozin kinazların

(RTKs) Tip III alt grubunun üyelerince düzenlenir. Çeşitli VEGF ailesi üyelerine bağlanan, VEGFR-1 (Flt-1), VEGFR-2 (KDR/Flk-1) ve VEGFR-3 (Flt-4) olmak üzere en az üç adet RTKs klonlanmıştır (2). VEGF'nin biyolojik aktivitesi, Flt-1 (fms-like tyrosine kinase) pre-mRNA'nın alternatif eklenmesi ile oluşan Flt-1 reseptörünün suda çözünebilir formuyla düzenlenir. sVEGFR-1, VEGF'ye yüksek afinite ile bağlanan güçlü bir antagonistidir. Akciğer, böbrek, karaciğer ve uterusu da sFlt-1 mRNA yapımı olduğu halde, plasenta sFlt-1'in ana kaynağıdır. Artmış sFlt-1 yapımının in vitro olarak azalmış sitotrofoblast invazyonuyla ilgili olduğu gösterilmiştir. Preeklampsi gelişen gebeliklerde erken gebelik haftalarında sFlt-1 artışı, hastalığın patogeneziindeki rolünü güçlendirmektedir (3-7).

Bu çalışmada, preeklampsi patogeneziinde sVEGFR-1'in önemini vurgulamak için preeklamptik ve normal gebelerde prepartum ve postpartum serum sVEGFR-1 düzeylerini kendi içinde ve birbirleri arasında karşılaştırmak ve preeklampside artmış sVEGFR-1 düzeyinin seçilmiş demografik ve klinik verilerle ilişkisini incelemek amaçlandı.

## GENEL BİLGİLER

**2.1 PREEKLAMPSİNİN TANIMI:** Preeklampsisi, genellikle gebeliğin 20. haftasından sonra oluşan gebeliğe özgü bir sendromdur. Amerikan Ulusal Hipertansiyon Eğitim Programı Çalışma Grubu 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. 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. Preeklampsisi, 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. Laboratuvar bozukluklarda 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>) (HELLP sendromu) bulunmaktadır. (9). Preeklampsisi tanısı için kriterler tablo 1’de gösterilmiştir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Preeklampsi tanı kriterleri

Preeklampsi tanı kriterleri:

Daha önce kan basıncı normal olan kadında gebeliğin 20. haftasından sonra sistolik kan basıncının 140 mmHg veya daha yüksek veya diyastolik kan basıncının 90 mmHg veya daha yüksek olması,  
24 sa'lik idrarda 0.3 g veya daha fazla proteinüri bulunması.

Şiddetli preeklampsi kriterleri Tablo 2.2'de tanımlanmıştır.

Tablo 2.2. Şiddetli preeklampsi tanı kriterleri

Aşağıdaki kriterlerden bir veya daha fazlası mevcutsa preeklampsi şiddetli olarak kabul edilir;

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,

Akciğer ödemi veya siyanoz,

Epigastrik veya sağ üst kadranda ağrısı,

Karaciğer fonksiyon bozukluğu,

Trombositopeni,

İUGG.

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 başlangıçlı nöbetlerin doğumdan 48-72 sa sonra geliştiği vakalarda daha olasıdır.

Superimpoze preeklampsi tanı kriterleri gebeliğin 20. hf'sından 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 superimpoze preeklampsi gelişebilir (9).

**2.2 EPİDEMİYOLOJİ VE RİSK FAKTÖRLERİ:** Preeklampsinin gerçek insidansı bilinmemektedir. Fakat yaklaşık %5-8 olduğunu bildiren yayınlar bulunmaktadır (9). HELLP sendromu çoğunlukla prematüriteye bağlı olarak perinatal mortalitenin %10-20'sinden sorumludur. Şiddetli preeklampsilerin %4'ünde plasenta dekolmanı gelişebilir (10). Bozulmuş uteroplasental kan akımı veya plasental infarkt nedeniyle preeklampsinin bulguları fetoplasental ünite de görülebilir. Bu bulgular arasında İUGG, 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 (11-13).

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 (9, 14, 15). Ayrıca, preeklampsi gebelikler arası sürenin uzun olması ve gebelik öncesi çiftlerin kısa süre birlikte olması ile de ilgilidir (11). Genetik ve çevresel faktörlerin preeklampsi riski ve insidansı üzerine rolü net olarak belli değildir (14).

Bir çalışmada preeklampsinin kardiyovasküler hastalığa neden olmadığı gösterilmişse de (16), 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 (11). Fisher ve arkadaşları preeklampsi gelişmeden gebelik geçiren bir kadının sonraki yaşamında daha az kardiyovasküler risk taşıdığını göstermişlerdir (17). Ancak, ilginç bir şekilde preeklampitik kadınlarda malignensi riskinin azaldığı gösterilmiş ve bunun da gebelik dışında devam eden anti anjiyojenik ortamdan dolayı olabileceği düşünülmüştür (11).

**2.3 PATOFİZYOLOJİ:** 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 (14, 18, 19). Vazopressör ajanlara karşı damarların artmış sensitivitesi nedeniyle oluşan yoğun vazospazma sekonder olarak tüm organlara giden kan akımı azalmıştır. Perfüzyon daha ileri aşamada koagülasyon kaskadının aktivasyonu ile daha da bozulur. Ayrıca plazma volümü intravasküler alandan sıvı kaybıyla daha da azalır (9, 18, 20).

**2.3.1 PREEKLAMPSİDE PLASENTAL BOZUKLUKLAR:** Preeklampsi, sadece plasenta varlığında oluşur ve plasentanın çıkarılması ile iyileşme gösterir. Preeklampitik ekstrauterin gebeliklerde yalnız fetusun çıkarılması yetersiz kalmış; semptomlar plasenta doğurtuluncaya kadar devam etmiştir (11).

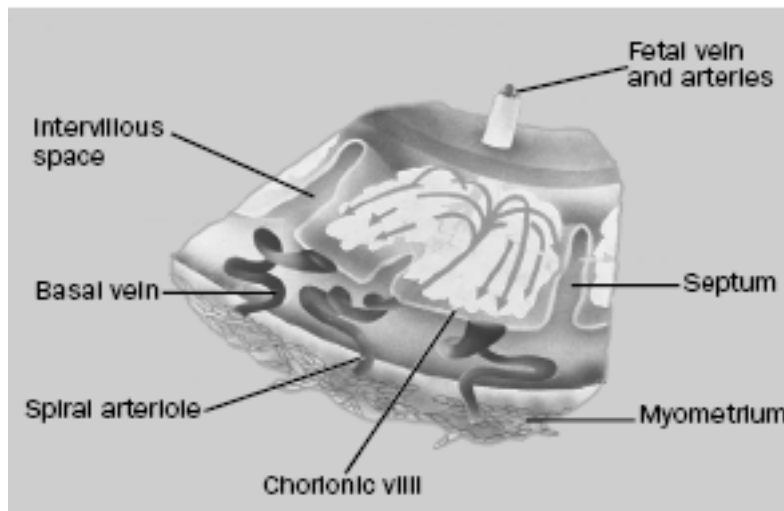
İnsan plasentasında, maternal kan direk sinsityotrofoblastlar arasında yüzer. Normal oksijen ve besin transportu, atıkların temizlenmesi, hormon sekresyonu ve netice itibarıyla fetal gelişim için normal trofoblast fonksiyonu çok önemlidir. Ancak, plasentadaki bazı biyokimyasal bozuklukların preeklampsi 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



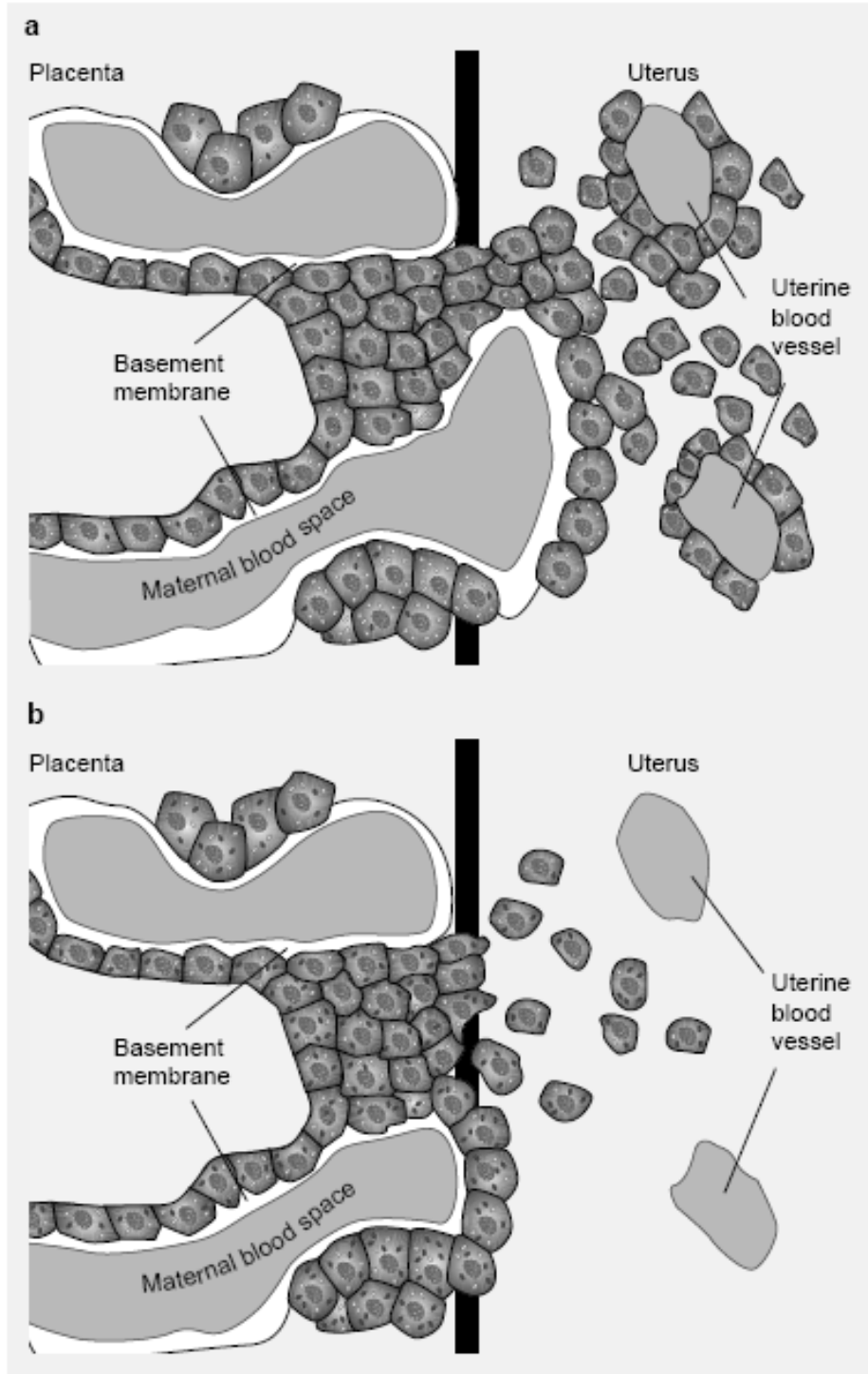
gösteren kanıt vardır ve (3) plasental sitokin üretiminin şeklinin değiştiğini gösteren kanıtlar vardır (16).

Uzun süren ve şiddetli preeklampside plasental hipoperfüzyon ve iskeminin patolojik bulguları gösterilmiştir. Bu bulgular ortak olmamakla beraber, hastalığın klinik şiddeti ile korele olduğu görülmüştür (10, 15-17). Gebe primatlarda uterin kan akımının kesilmesiyle proteinüri oluşturulmuştur (21). 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 (11).

**2.3.1a 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 (14). (Şekil 2.1) Trofoblast invazyonu normal gebelikte 20-22. hf'ya kadar tamamlanır. Ancak, preeklampsi olgularında bu zamana kadar uterin spiral arteriollerin sitotrofoblast invazyonu tamamlanmamış ve spiral arterler muskuloelastik yapısını kaybetmede yetersiz kalmıştır (18, 20). (Şekil 2.2)



Şekil 2.1. Spiral arter kan akımı ve villöz yapıyı gösteren maternal-fetal yüzeyin şekli. (Lancet 2000; 356: 1260–65'den alınmıştır.)



Şekil 2.2. Normal (a) ve preeklamptik (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 (22) trofoblastlar üzerine hipoksinin etkisini inceledikleri çalışmada düşük  $O_2$  ile inkübe edilen villusların

değişken sinsityal dejenerasyon ve sitotrofoblast hücrelerinin sayısında belirgin artış olduğunu göstermişlerdir. Bu gözlem in vivo olarak preeklampitik plasentada artmış sitotrofoblast proliferasyonu ile uyumludur. Fisher ve ark. (24) in vitro organ kültür modelinde hipoksinin sitotrofoblastların “invazif” fenotipli hücelere dönüşmesini bloke ettiğini göstermişlerdir. 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 (24). 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 (25). 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 (26). 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 (27). İnvazif sitotrofoblastlar, VEGF-A, sVEGFR-1 ve PlGF dahil olmak üzere birçok anjiyojenik faktör ve reseptörün yapımını sağlar ve preeklampside bu proteinlerin yapımı değişmiştir (5, 28). Böylece sitotrofoblastların yapışkan ve yıkıcı özelliklerinin zarar görmesine bağlı olarak uterin arteriyoller küçük ve yüksek dirençli damarlar olarak kalır.

**2.3.1b 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 (14, 18).

**2.3.1c Preeklampitik plasentada artmış oksidatif stres ve vazokonstriksiyon:** Aterosklerozda endotelial değişikliklerin oksidatif stresi uyarmasının patolojik olarak önemli olduğunu gösteren yeni hipotezler vardır (14). Aterojenik dislipideminin bir parçası olan LDL (low density lipoprotein)’ler proteoglikanlara bağlandıkları subendotelial alana daha kolay girebilirler ve diğer LDL’lerden daha uzun kalırlar. Düşük yoğunluklu LDL (Small dense LDL) kalıtsal

olarak daha kolay okside olur özelliğindedir. 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.

Ateroskleroz ve diyabetik vaskülopatide olduğu gibi oksidatif stres preeklampsinin de bir komponentidir (14). 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 (20, 29).

Trofoblastlar lipid peroksitlerin ana kaynağıdır.  $TXA_2$  ve  $PGI_2$  gibi bazı prostanooidlerin yapımını artıran siklooksijenazın uyarılması lipid peroksitlerin etkileri arasındadır. Lipid peroksitler,  $PGI_2$  sentazı inhibe edip  $PGI_2$  yapımını da azaltırlar. Bu,  $TXA_2/PGI_2$  oranının artmasına neden olur. Bu dengesizliğin maternal hipertansiyona, trombosit agregasyonunda artışa ve uteroplental kan akım azalmasına katkısı olduğuna inanılır (18, 20, 30).

Artmış lipid peroksidasyonu proteinlere endotelyal 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.

### **2.3.2 PREEKLAMPSİDE VASKÜLER ENDOTEL HÜCRE**

**DİSFONKSİYONU:** Endotel hücreleri vasküler sistemde nontrombojenik bir yüzey sağlama, lökosit ve trombosit adezyonunun düzenlenmesi, damar geçirgenliğinin kontrolü, büyüme faktörleri ve sitokinlerin sekresyonu ve nitrik oksit (NO),

prostasiklin ( $PGI_2$ ) ve endotelin salınımla vasküler tonusun regülasyonu gibi önemli fizyolojik fonksiyonları vardır (18).

### **2.3.2a. Preeklampside endotel hücre aktivasyon/disfonksiyonu:**

Preeklampsi bir multisistem hastalık olup, klinik bulguları vazokonstriksiyon ve son organ iskemisi ile sonuçlanan yaygın endotel disfonksiyonunu yansıtır. Preeklamptik kadınlarda endotel aktivasyonu sonucu von Willebrand antijen, selüler fibronektin, suda çözünebilir doku faktörü, suda çözünebilir E-Selektin, PDGF (platelet derived growth factor) ve endotelin gibi bazı serum belirteçleri yükselir (11).

Normal gebelerde anjiotensin II (AT II) infüzyonuna vasküler resistans artışıyla yanıt verilirken preeklampside bu özellik kaybolmuştur (18). Weir ve ark. preeklamptik gebelerde renin ve AT II'nin normal gebelerden oldukça düşük olduğu bulmuşlardır (31).  $PGI_2$ , renin-anjiotensin sistemini uyardığı için ve  $PGI_2$  düzeyleri AT II düzeyleri ile orantılı olduğu için, renin- anjiotensin sisteminin reseptör azalışı preeklampside  $PGI_2$  yapımının azalması sonucudur (32).

AbdAlla ve ark. (33), anjiotensin AT-I reseptörü ve bradikinin B-2 reseptörü arasında heterodimerizasyonun arttığını bulmuşlardır. Bu ise AT-II'ye duyarlılığı artırmaktadır. Anjiotensinojen geninde T235 polimorfizmi de riski artırmaktadır (34). Bununla birlikte, hiçbir toplumda tek gen mutasyonu/polimorfizmi preeklampsi ile ilişkili değildir. Preeklamptik hastalarda dolaşımda AT1 otoantikörleri gösterilmiştir (35). Bu antikörler AT1 reseptörünü antagonize eder ve preeklamptik hastalarda anjiotensinin indüklediği vasküler lezyonların oluşumunda payı vardır (11, 18).

Preeklampsinin endotelial bir defekt olduğunu düşündüren birkaç diğer fenomen vardır; hem in vitro olarak myometriyal damarlarda (36) hem de in vivo önkol kan akımında (37) asetilkoline cevap olarak endotel bağımlı gevşeme azalır. Ek olarak, preeklampside artmış plazma fibronektin düzeyleri, hasarlanmış endotel hücrelerden fibronektin döküldüğünü ifade eder (20). Preeklampside leptin seviyeleri 20. hf gibi erken haftalarda yükselir (29). Ayrıca, sICAM-1 (soluble interstitial cell adhesion molecule), sVCAM-1 (soluble vascular cell adhesion molecule) ve sE-selectin gibi suda çözünebilir dolaşan endotel hücre adezyon moleküllerinin düzeyleri preeklampside daha yüksektir. İn vitro olarak nötrofillerin preeklamptik gebeliklerin umbilikal kordlarından izole edilen endotel hücrelerine daha fazla tutunduğu gösterilmiştir (20).

**2.3.2b Preeklampside endotel hücre fonksiyonunun dolaşımdaki düzenleyicileri:** Endotel hücre aktivasyonu ve hasarlanmasında kandan salınan faktörlerin sorumlu olduğunu ilk Rodgers ve ark. (38) ortaya atmıştır. Bu faktörler arasında okside lipoproteinler (veya lipid peroksidler), TNF- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ ), PAF (platelet activating factor) ve aktive endotel hücrelerden salınan diğer metabolitler, nötrofiller, trombositler ve plasental faktörler yer almaktadır.

Endotel fonksiyonu üzerine düzenleyicilerin etkisini çalışmak için en uygun model HUVECs (human umbilical vein endothelial cells)'dir. Örneğin, preeklampitik kadınlardan alınan serumla tedavi edildiğinde HUVECs'de PDGF, mRNA ve protein yapımında artış olur (39). Benzer şekilde, preeklampside doğum öncesi alınan serumlarda önceden işaretlenmiş HUVECs'de krom ( $^{51}\text{Cr}$ ) düzeyi normal gebelerden daha yüksek ölçülmüştür (40). Preeklampsi serumuyla inkübe edilen endotel hücrelerinde PG yapımının değiştiği ve ayrıca daha fazla fibronektin, trombomodulin, nitritler ve 8-isoprostan salındığı gösterilmiştir (18, 20, 29). Nötrofil, bu değişen endotel fonksiyonundan etkilenen başka bir önemli hücredir. Preeklampitik kadınlarda normal gebelerden daha yüksek düzeyde nötrofil aktivasyonu gösterilmiştir. Aktive nötrofiller, SO, hidrojen peroksit ve hidroksil iyonları gibi reaktif oksijen metabolitleri salarlar. Aktive endotel hücrelerine yapışarak, nötrofiller hücre yaşayabilirliğinin değişmesiyle sonuçlanan endotel lipid peroksidasyonuna yol açarlar. Buna rağmen, nötrofil CD11b, preeklampside normal gebelikdekinden daha fazla hareketlidir. CD11b, lökosit endotel adezyonunda görev alan nötrofil üzerinde yapılan bir integrindir. Bu nötrofil integrininin artışı, nötrofil aktivasyonunun başka bir bulgusudur. Dolayısıyla, maternal sirkülasyonda nötrofil aktivasyonu, preeklampside nötrofil bağımlı endotel disfonksiyonuna neden olan nötrofil-endotel adezyonuna yol açar (20).

Preeklampside nötrofil-endotel adezyonunu artıran serum TNF- $\alpha$  ve TNF- $\alpha$  reseptörleri artmıştır. Aktive nötrofiller daha fazla SO yaparlar ve TNF- $\alpha$  salarlar. Hem SO hem de TNF- $\alpha$ , preeklampside TXA<sub>2</sub> ve lökotrienlerin (LT) artmış seviyelerine katkıda bulunan fosfolipaz A2 (PLA2)'yi aktive ederler (18). Lökosit adezyonunu artıran endotel hücrelerinin, adezyon moleküllerinin yapımını artıran IL-1 $\beta$  ve IL-6 düzeyleri preeklampitik gebelerin kanında artmıştır (20).

Preeklampside trombositler ve kompleman sistemi de belirgin olarak daha fazla aktive olmuştur (20, 30). Aktive trombositler endotel hücrelerine yapışır ve

direk veya indirek olarak endotel fonksiyonunu etkileyen vazokonstrüktör maddeler ve proteolitik enzimler salarlar. Aktive kompleman, trombosit ve endotel hücrelerinden vazoaktivatör prostanooidlerin (TXA2 gibi) salınımına neden olan araşidonik asit yolağını uyarabilir. Kompleman sisteminin aktivasyonu nötrofil ve trombositleri aktive edebilir ve sonra preeklampsideki multisistem dekompensasyonunu artırabilir (18).

**2.3.2c Preeklampside endotel hücre fonksiyonunu değiştirebilecek plasental faktörler:** Literatürde perfüzyonu azalmış fetoplasental ünitenin, maternal dolaşımdaki toksik faktörlerin kaynağı olduğu bildirilmiştir. Normal plasental kültürlerle karşılaştırıldığında preeklamptik plasental kültürlerle inkübasyon sonrası belirgin olarak daha fazla nötrofilin endotel hücrelerine yapıştığı bulunmuştur. Bu artış endotel hücrelerden PAF yapımının artışıyla paraleldir. Preeklamptik plasenta kültüründen elde edilen ortama konan endotel hücrelerinde P-selektin yapımının arttığı bulunmuştur. Artmış PAF salınımı ve P-selektin yapımının artması, trombosit aktivitesinin, prokoagülan aktivitenin ve trombin yapımının artmasına da neden olur. Bu etkiler endotel retraksiyonu ve permeabilitesinin artmasına neden olur (41). Preeklamptik kadınlarda dolaşımda sinsityotrofoblast villuslarının artmış olduğu bulunmuştur. Bu, dolaşımda bulunan plasental trofoblastların, endotel fonksiyonlarını düzenleyen potansiyel bir toksin olduğunu düşündürmektedir (20).

Preeklampside, böbrekte endotel hasarı proteinüriye neden olur ve glomerular endotelyozis denen karakteristik lezyon oluşur. Glomerular endotelyozis kapiller boşluğun kaybı ve endotel boşluklarının daralmasıyla birlikte endotel hücrelerinin generalize şişmesi ve vakuolizasyonu ile karakterizedir. Mezenşiyal hücreler muhtemelen proteinüriye bağlı olarak nadiren nonspesifik değişiklikler gösterirler. Endotel hücrelerinin içinde ve altında fibrinojen ve fibrin depoları mevcuttur. Hasar endotel hücrelerine spesifik olup, erken hastalık döneminde podositlerin ayaksı çıkıntıları hemen hemen tamamen normaldir. Preeklampsisi için patognomonik olarak düşünülmesine rağmen hafif glomerular endotelyozis termde normal gebelerde görülebilir, fakat preeklamptiklerdeki daha şiddetlidir. Bu gözlemler preeklampsideki endotel disfonksiyonunun tüm gebeliklerde terme yakın gözlenen olayların aşırı artmış şekli olduğu düşünülebilir (11).

**2.3.3 GENETİK FAKTÖRLER:** Anne ve bebeğin genetik yapısı birkaç düzeyde maternal fetal teması etkileyebilir. Böylece anne ve bebek arasında genetik

olarak belirlenmiş immunolojik ilişki başarılı implantasyonun önemli bir belirteci olabilir. Bununla birlikte azalmış perfüzyonun fetoplental sinyallere duyarlılığı artıran maternal faktörler de önemli olabilir. Renin-angiotensin sistemi, hemostaz mekanizması ve özellikle lipid metabolizmasını düzenleyen artmış kardiovasküler riskle ilgili gen çalışması, anormal plasenta ve maternal sendrom arasındaki bağlantıyı anlamada önemli olabilir (14).

Preeklampsi sadece üreme çağındaki kadınlarda görüldüğü için genetik incelemeyi zorlaştırmaktadır. Maternal genotip mi, fetal genotip mi ya da ikisinin kombinasyonunun mu sorumlu olduğu bilinmemektedir. İkinci ve sonraki gebeliklerde insidansın belirgin azalması fetal faktörün incelenmesini zorlaştırmaktadır. Eklampsi anlam karmaşası olmayan bir fenotip olmasına rağmen, preeklampsi gebeliğin diğer hipertansif hastalıkları ile kolayca karıştırılabilir (42). Genetik verilerin toplanması Chesley (43) tarafından başlatılmış ve diğer çalışma grupları tarafından devam etmiştir (44). Aile verilerinin çoğu genetik eğilimden daha çok maternal genotipin, daha az da fetal genotipin sorumlu olduğunu iddia etmektedir. Monozigotik ikizler arasında uygunluk olmadığı bildirilmiştir. Multipar kadınlarda eşinin değişmesinin preeklampsi ve eklampsi için belirgin risk faktörü olduğu bildirilmiştir (14).

Genetik olarak modifiye farelerde renal VEGF üretiminde %50 azalma olması, bozulmuş VEGF sinyalinin preeklampsi benzeri fenotipe neden olduğunun genetik kanıtı olarak glomerular endotelyozis ve proteinüriye neden olmuştur (11). Trizomi 13'ün preeklampsi ile ilişkisi gösterilmiştir (45). Flt1/sFlt1 geni kromozom 13q12 üzerindedir. Preeklampsi ile ilgili yayınlanmış diğer genetik ilişkilerde, sFlt1'le aşık bir bağlantı gösterilememiştir. Örneğin, sFlt-1 ile bağlantısı gösterilemeyen, 2. kromozom üzerinde bir maternal yatkınlık bölgesi gösterilmiştir (46).

Cooper ve Liston (43) tarafından bu hastalığın tek bir resesif genin sorumlu olduğu iddia edilerek genetik model konusunda modern adımlar atılmıştır. Arngrimmson ve ark. (44) annedeki inkomplet penetranslı tek bir baskın genin rolü olduğunu savunmuştur. Broughton-Pipkin (47) şu andaki çoğunluğun görüşü olan preeklampsi ve eklampsinin multifaktöryel hastalıklar olduğunu öne sürmüşlerdir.

Preeklampsi ve eklampsi semptomları, çoğul gebelik, hidatiform mol, fetal kromozom anomalileri ve plasental hidrops gibi bazı diğer durumlarda da görülür.

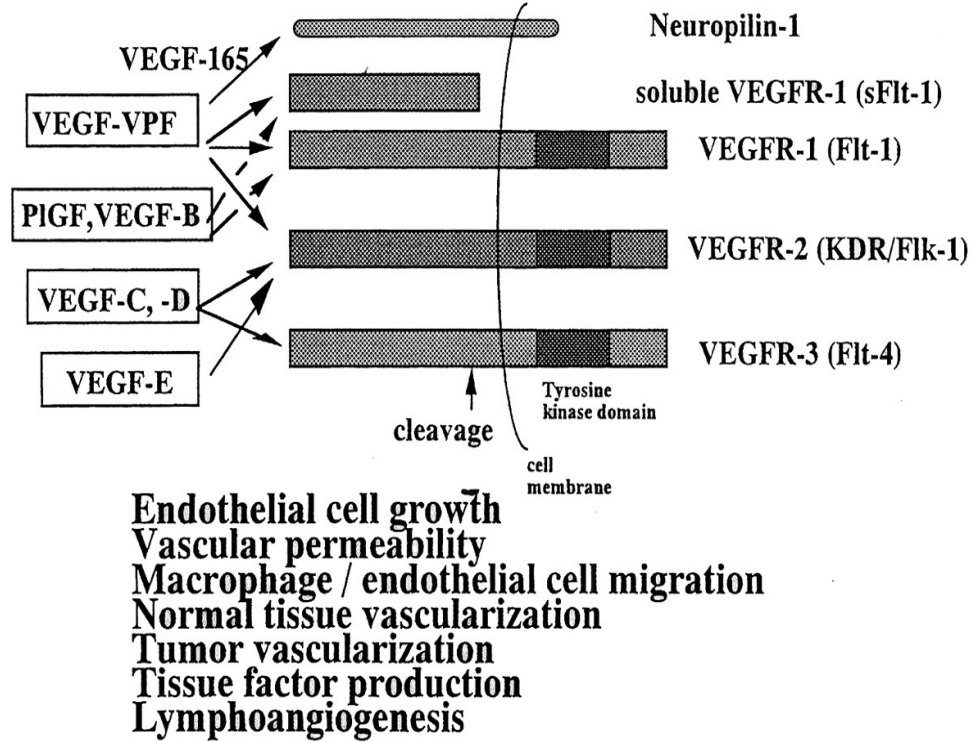


Genetik terimlerde bunlar fenokopi olarak adlandırılır. Başka tür bir çalışma popülasyonda şüpheli genlerin araştırılmasından oluşmuştur. İnsidansın eşe bağlı faktörlerle olma ihtimali immunolojik kökeni olduğunu düşündürmüş ve HLA (human leukocyte antigen) sistemi üzerine çalışmalara yöneltmiştir. Preeklampsinin yeni eşinden oluşan ilk gebelikte daha sık ve HLA-B'de daha fazla görülmesi immunolojik görüşleri desteklemektedir (11, 48). Kan basıncını etkileyen genler üzerine yapılmış ve AT'le ilgili çalışmalardan pozitif ve negatif sonuçlar alınmıştır (34, 49-51). Lipoprotein lipaz, metilentetrahidrofolat (MTHF) redüktaz, faktör V Leiden ve apolipoprotein E ile ilgili genetik belirteçlerle ilgili çalışmalardan da net bir sonuç alınamamıştır (52). Aldosteron sentaz geni (CYP11B2), GSTM1 (glutathione S-transferase M1) and GSTT1 (glutathione S-transferase T1) polimorfizmi ile preeklampsi, eklampsi ve HELLP sendromu arasında direk ilişki yoktur (53, 54).

Gerçek anlamda güçlü bir genetik komponent olup olmadığını araştırmada hastalığa sebep olabilecek genleri belirlemenin en güçlü yolu bir tam-gen bağlantı çalışmasıdır. Gen bağlantı çalışmaları iki gruba ayrılır: muhtemel genleri elimine eden eksklüzyon haritaları ve hastalığa eğilime neden olabilecek gen kısmını pozitif olarak belirleyen tam-gen araştırmalarıdır. Pozitif kanıt bulunursa, haritalama pozisyonel klonlama ile devam edilerek gerçekleştirilebilir. Bugüne kadar yapılan tam-gen çalışmaları sonuçsuz kalmıştır. Yapılan bir araştırmada 4q geninin üzerinde şüpheli bölge olduğu bulunmuş (55), fakat başka bir çalışmada bu gösterilememiştir (46). Benzer şekilde, iki çalışmada kan basıncı regülasyonunda önemli olan 7q36 geninin eNOS (endothelial nitrik oksit sentetaz) içeren bir bölgesi olduğu gösterilmiştir (56, 57). Fakat aynı araştırmacıların yaptıkları başka bir çalışmada ve diğer bir bağımsız çalışmada bu gen bölgesi gösterilememiştir (46, 58). Sadece eNOS bölgesi muhtemelen tek başına preeklampsi ve eklampsiye eğilim oluşturmamaktadır (59).

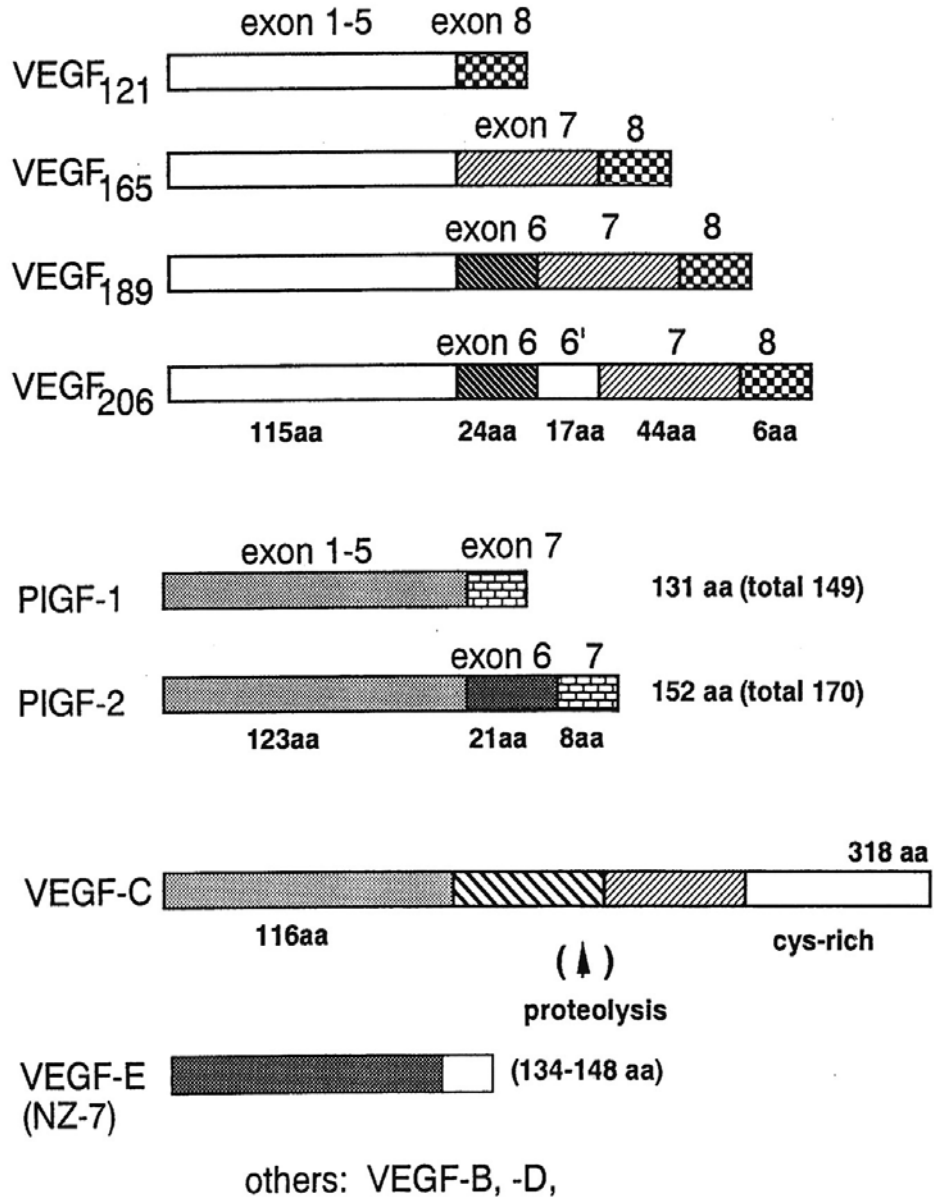
**2.4 VEGF-VEGF RESEPTÖR SİSTEMİ:** Embriyogenezde kan damarları, vaskülogenezis (prekürsör hücrelerden kan damarı oluşumu), anjiogenezis (mevcut damarlar ve vasküler endotel hücrelerden kan damarı oluşumu) ve vasküler yeniden şekillenme gibi birkaç basamakla gelişir (60). Vasküler endotel hücreleri anjiogeneziste anahtar rolü oynarlar. Bununla birlikte endotel hücreleri için ne tür bir molekülün veya moleküllerin kritik düzenleyici (büyüme faktörü, farklılaşma faktörü

vs) olduğu hala belli değildir. Son yıllarda yapılan VEGF ve onun reseptörleri ile ilgili geniş çalışmalar bu sistemin vasküler endotel hücreleri ve kan damarı oluşumu için esas düzenleyici olduğunu göstermişlerdir (61, 62). (Şekil 2.3)



Şekil 2.3. VEGF ve reseptör sistemi. Bu sistem için yapı olarak benzer üç adet 7-Ig tirozin kinaz reseptörü ve en az 5 ligand anahtar düzenleyicilerdir. Bu sistemin in vivo anjiyogenez ve lenfanjiyogenez için gereklidir. (Cell Struct Funct 2001; 26: 25-35'den alınmıştır.)

**2.4.1 VEGF:** VEGF yapısal olarak VEGF-PDGF süper-gen ailesine aittir. İnsanlarda VEGF'nin 121, 165 ve 189 aminoasit proteinleri içeren en az üç ana alt tipi vardır (Şekil 2.4). Bunlar arasında VEGF<sub>121</sub> ve VEGF<sub>165</sub> en iyi temsil eden iki formudur (61). VEGF<sub>165</sub> en güçlü sinyal ileticisidir. (63).

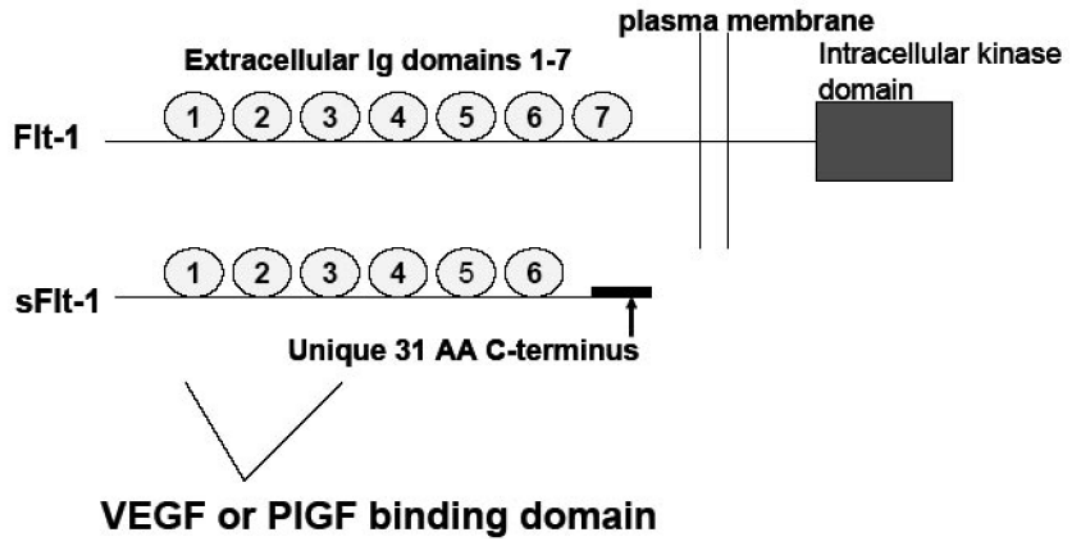


Şekil 2.4. Vegf ailesinin yapılarının karşılaştırılması. Orf virüs NZ-7 zincirinde kodlanan VEGF-E (NZ-7), KDR'ye yüksek afiniteyle bağlanır, fakat, Flt-1'e bağlanmaz. (Cell Structure and Function 2001; 26: 25-35'den alınmıştır.)

**2.4.2 VEGF ile ilişkili faktörler:** VEGF'ye ek olarak VEGF ailesi yapısal olarak oldukça bağlantılı olan bazı diğer proteinleri içerir: PIGF, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve VEGF-E. Daha sonra tarif edildiği gibi VEGF, VEGFR-1 (Flt-1, fms-like tyrosine kinase,) ve VEGFR-2 (KDR, kinase domain region/Flk-1, fetal liver kinase 1) adı verilen iki tirozin kinaz reseptörüne bağlanır (63). İlginç olarak PIGF ve VEGF-B sadece Flt-1'e bağlanır ve aktive eder. VEGF-B'si eksik ratlarda kardiyak fonksiyonlarda zayıflama olmaktadır (64). Oysa VEGF-C ve VEGF-D üçüncü

reseptör Flt-4 (VEGFR-3) ve bir miktar da KDR (VEGFR-2)' ye bağlandığı gösterilmiştir. VEGF-C ve VEGF-D'nin lenfanjiogenezisin önemli düzenleyicileridir. Vücutta Flt-1 spesifik ligantlar bulunduğu halde sadece VEGFR-2'ye bağlanan ve aktive eden ligant izole edilmemiştir.

**2.4.3 VEGF reseptörlerinin yapısı:** sFlt-1, VEGF için belirlenen ilk yüksek afiniteli reseptördür. sFlt-1, Flt-1 reseptörünün dallanmış halidir. Hücre dışı içerir, transmembran ve hücre içi bağlanma bölgesi yoktur. VEGF reseptörlerinin hücre dışı bölgelerinde ikinci ve üçüncü Ig bölgeleri, VEGF bağlanma bölgeleridir. Sadece Flt-1 geni iki polipeptid kodlamaktadır. Biri tam uzunlukta tirozin kinaz reseptörü ve diğeri tirozin kinaz kısmı olmaksızın sadece 1-6. immunoglobülin bölgesini kodlayan Flt-1'in suda çözünebilir formudur. Bu suda çözünebilir form Flt-1 mRNA'nın prematür sonlandırılması ile oluşmaktadır (63) (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Flt-1 ve sFlt-1'in protein yapısı. Flt-1, VEGF ve PLGF'ye bağlanmasını düzenleyen 7 immunoglobuline (Ig) sahiptir. sFlt-1 proteininin, transmembran ve sitoplazmik Ig'leri olmayan özel 31 AA-C kısmı vardır. (Ped Res 2005; 57(5): 2'den alınmıştır).

Dolaşımda VEGF ve PlGF'ye bağlanarak ve onların diğer endotel reseptörleriyle etkileşimini önleyerek antagonize eder. Tam Flt-1 reseptörü yerine dallanmış sFlt-1 oluşturan olayın regülasyonu tam anlaşılammıştır. Hipoksik trofoblastların in vitro ortamda aşırı sFlt-1 salgıladığı gösterilmiştir (4). sFlt-1 az miktarda diğer dokular tarafından (monositler ve endotel hücreleri) yapıldığı halde,

gebelik boyunca sFlt-1'in esas kaynağı plasentadır. Plasentanın doğumundan sonra sFlt-1 düzeyinin hızla düşmesi bunu ispatlamaktadır (65).

İkinci yüksek afiniteli reseptör olan KDR (faredeki Flk-1) de moleküler olarak klonlanmıştır (63). İnvazif trofoblastların VEGFR-1 mRNA ve proteininin yapımını gerçekleştirdiği, fakat VEGFR-2 yapımını gerçekleştirememektedir (28). Flt-4 (VEGFR-3) geni Alitalo grubu ve Birnbaum grubu tarafından izole edilmiş ve Flt-4 ve onun ligantları olan VEGF-C ve VEGF-D' nin esas olarak anjiogeneizde olduğu kadar lenfanjiogeneizde rol oynadığını göstermişlerdir (60).

VEGF reseptörlerinden VEGFR-2 kodlayan genin silinmesi en ciddi sonuca yol açar; fare embriyoları endotel ve hematopoetik hücrelerin farklılaşması bloke edildiği için 8,5'inci günde ölürlür. VEGFR-1, VEGFR-2 ile paralel etki yapar. Yine 8,5'inci günde ölen bu embriyolarda fonksiyonel damarlara dönüşemeyen fazla miktarda endotel hücreleri mevcuttu. İlginç olarak, reseptörlerin kinaz bölümlerinin silinmesi, VEGFR-2 ile kooperatif etkileşimlerin muhtemel bir kanıtı olarak anjiyogenezi etkilememektedir. Lenfatik damarların büyümesini uyaran VEGFR-3 geninin silinmesi 9,5'inci embriyonik günde ölüme neden olmuştur. Bu durumda, vaskülojenez ve anjiyojenez normal şekilde ilerlemiş, fakat büyük damarlar anormal şekilde yapılanmıştır. Suda çözünebilir VEGFR-3'ün aşırı üretimi ise lenfödeme neden olmuştur (28).

VEGF'nin reseptörlerine (VEGFR-1 ve VEGFR-2) bağlandığı eşik düzeyleri önemlidir, çünkü VEGF geninin sadece bir kopyasının silinmesi, anjiyojenez ve kan adaları oluşumunda bozukluklar nedeniyle 11 ve 12'inci embriyonik günlerde ölüme neden olmuştur (28).

Flt-1 ve KDR'nin ilginç biyokimyasal özellikleri vardır. VEGF reseptörleri arasında Flt-1'in VEGF'ye afinitesi en yüksektir. Fakat Flt-1'in tirozin kinaz afinitesi çok zayıftır. Diğer yandan KDR'nin VEGF'ye afinitesi daha zayıftır. Ancak bunun kinaz aktivitesi endotel büyüme faktörü reseptörü gibi diğer tirozin kinaz reseptörleri kadar güçlüdür (63).

VEGF reseptörlerinin diğer önemli bir özelliği tirozin kinaz bölgesinin içinde kinaz insert bölümünün olmasıdır. Hem Flt-1 hem de KDR, 5-immunoglobülin reseptörlerine benzer şekilde yaklaşık 70 aminoasitlik uzun kinaz insert bölgelerine sahiptir.

Literatürde diabetik retinopati, romatoid artrit ve solid tümörler gibi

hastalıkların ilerlemesi ile VEGF düzeyinin artışı ile paraleldir (61, 66). Yalnızca patolojik anjiogenezde değil anormal hiperpermeabilitede de VEGF'nin önemli rolü olduğu bulunmuştur. Hastaların jeneralize ödemli olduğu POEMS sendromu, VEGF ile yakından ilişkilidir (67). Luo ve arkadaşları (68) tümörlü farelerdeki asit sıvısında VEGF düzeyini yüksek bulmuşlardır. Bu farelerin anti-VEGF nötralize edici antikora tedavisi sonucu asit miktarının ve asit tümör hücresi sayısının belirgin olarak azaldığını görmüşlerdir. VEGF ve onun reseptör sistemi kan damarı oluşumunda esas düzenleyici olduğu düşünüldüğü için, bu sistemi normal anjiogenezin uyarılmasında ve patolojik anjiogenezin baskılanmasında uygulamak önemli gibi görünmektedir.

Gebe ratlara Adenoviral gen transferi, hipertansiyon, proteinüri ve glomerüler endotelyozis gibi preeklampsiyi andıran bir sendroma neden olmuştur. Öte yandan dışardan verildiğinde PlGF'yi antagonize etmeyen sVEGFR-2 (sFlk-1) antagonisti, gebe ratlarda preeklampitik fenotipe neden olmamıştır. Yani, maternal sendromun oluşması için hem VEGF, hem de PlGF antagonize edilmelidir (65). Kardiyak iskemi ve kan akımı yetmezliği olan hastalarda anjiogenezin uyarılması için VEGF proteini veya VEGF üretim vektörleri kullanan çalışmalar yapılmıştır (69). Bugüne kadar ödem gibi yan etkileri bildirilmesine rağmen VEGF üretim vektör sistemi faydalı gibi görünmektedir (70). Son çalışmalarda periferik kan ve kemik iliğinden elde edilen hücrelerde vasküler endotel hücrelere farklılaşabilen öncül hücreler bulunmuştur (71). Bu öncül hücreler in vivo yeni kan damarı oluşumu için kullanılabilir. Tümör anjiogenezisi gibi patolojik anjiogenezin baskılanması için yeni yaklaşımlar denenmektedir. Bugüne kadar geliştirilen anti-VEGF ve onun reseptör sistemi belirteçleri, anti-VEGF nötralize edici monoklonal antikor, sFlt-1, anti-KDR kinaz ve anti-KDR veya anti-Flt-1 nötralize edici antikor içerir (63). Bu belirteçlerle VEGF reseptör sisteminin bloklanması için moleküler mekanizmalar birbirinden farklıdır. Bundan dolayı hangi belirtecin farklı hastalıklardaki patolojik anjiogenezin kontrolünde en iyi tedavi şekli olduğunu açığa kavuşturmak önemlidir.

## GEREÇ VE YÖNTEM

**3.1 ÇALIŞMA GRUPLARININ OLUŞTURULMASI:** Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği'ne Ocak 2004 ve Ekim 2005 tarihleri arasında başvuran preeklampitik ve normal gebeler bu çalışmaya ardışık olarak alındı. Bu çalışma için Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu Başkanlığı'nın onayı (05/04/2005 tarih ve 2005-4/5 karar no'lu) alındı. Çalışmaya katılmak için tüm katılımcılardan yazılı onay alındı.

Preeklampsi tanısı en son yayınlanan ACOG 2002 kriterlerine göre konuldu (9). Preeklampsi, en az 140/90 mmHg olan kan basıncının 6 sa veya daha fazla sebat etmesi olarak tanımlandı. Proteinüri, en az 4 sa arayla alınan en az iki rastgele idrar örneğinde idrar protein miktarının 0.3 g/dl veya daha fazla (veya idrar testi çubuğuyla 1+) olması şeklinde tanımlanmıştır. Bu iki bulguya ek olarak konvülsiyon bulgusu olan hastalara eklampsi tanısı konuldu. Şiddetli preeklampsi tanısı şu kriterlerden bir veya daha fazlası varsa konuldu: (1) hasta yatak istirahatinde iken en az 6 sa arayla iki defa sistolik kan basıncının 160 mmHg veya üzeri yada diyastolik kan basıncının 110 mmHg veya üzeri olması, (2) proteinürinin 24 sa'lik idrarda 5 g veya üzeri ya da en az 4 sa arayla alınan rastgele iki idrar örneğinde 3+ veya daha fazla olması, (3) 24 sa'te 50 ml'den az oligüri, (4) serebral veya görsel bozukluklar, (5) akciğer ödemi veya siyanoz, (6) epigastrik veya sağ üst kadran ağrısı, (7) karaciğer fonksiyon testlerinin bozulması, (8) trombositopeni, (8) intrauterin gelişme geriliği (İUGG) (9).

Diyastolik kan basıncı steteskopla duyulan sesin kaybolduğu (Korotkoff faz 5) basınç olarak kabul edildi. Yanlış ölçümleri azaltmak için üst kol çevresinin 1,5 katı uzunlukta boyuta sahip olan kaf kullanıldı. Kan basıncı düzeyi hasta en az 10 dk istirahat sonrası oturur pozisyonda veya sol lateral rekümbent pozisyonunda ve hastanın kolu kalp seviyesinde iken ölçüldü (9). Hastanın ölçümden önceki 30 dk içinde sigara veya kafein kullanmamasına dikkat edildi. En hassas ölçüm yaptığı için civalı sfigmomanometre tercih edildi (72).

Çalışma grubuna kronik hipertansiyon, diabetes mellitus, renal hastalık ve endokrin bir hastalık öyküsü olan preeklampitik gebeler alınmadı.

Çoğul gebelik, diyabet, kronik hipertansiyon, karaciğer, renal veya endokrin bir hastalık ve ultrasonografik incelemede 10 persentilden küçük İUGG olan gebeler kontrol grubuna alınmadı.

Tüm katılımcıların yaş, gravida, vücut kitle indeksi (VKİ), gebelikte alınan kilo, sigara kullanımı, kan alındığında gebelik haftası, başvuru sırasında sistolik ve diastolik kan basınçları, idrarda protein miktarı, hemoglobin, trombosit sayısı, kan üre nitrojen (BUN), kreatinin, ALT, AST, LDH, obstetrik ultrasonografi ile elde edilen tahmini fetal ağırlık ve amniyon sıvı indeksi (ASİ), doğum şekli, 1. ve 5. dk APGAR skorları, yenidoğan ağırlığı, postpartum maternal komplikasyonlar, prepartum ve postpartum serum sVEGFR-1 düzeyleri, ve plasenta dekolmanı ve İUGG olup olmadığı ayrı ayrı kaydedildi.

**3.2 KANLARIN TOPLANMASI:** Maternal kan örnekleri 26 ile 40. gebelik haftaları arasında kliniğimize başvuran tüm preeklampitik ve eklampitik hastalardan tanı konulduğu anda ve normal gebelerden doğum için başvurduklarında herhangi bir tedavi başlamadan önce alındı. Her iki gruptan da doğumdan sonra da ortalama 24-48 sa içinde kan örneği alındı.

Her hastanın oturur pozisyonda ön kol antekubital bölgesinin povidon iyodürlü pamuk ile silinerek yapılan sterilizasyonu sonrası 5 ml'lik steril enjektör ile 5 ml venöz kan örnekleme yapıldı. Alınan kan örnekleri Vacutainer SST-II tüplerinde oda ısısında 5-10 dk pıhtılaşması için bekletildikten sonra laboratuvar koşullarında Nuve NF-1215 marka santrifüj cihazı ile 4000 dv/dk'de 5 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrası ayrıştırılan serum cam tüpe aktarılıp hasta adına kayıt yapıldı. Toplanan serumlar analiz yapılana kadar -20°C'de saklandı. Hemolizli ya da lipemik görünümlü serumlar incelemeye alınmadı.

**3.3 SERUMLARIN İNCELENMESİ:** Toplanan serum örnekleri sVEGFR-1 (human) ELISA kiti (Biosource, Biosource International Inc., California, USA ) ile tam otomatik ELISA (Triturus, Grifols Inc., California, USA) cihazında çalıştırılarak alınan sonuçlar her grup ve hasta için ayrı ayrı kayıt edildi. Laboratuvar incelemesini yapan kişi hastalar hakkında klinik bilgiye sahip değildi.

İnsan sVEGFR-1'e karşı antikorla kaplanmış kuyucuklar kullanmadan hemen önce aliminyum paketinden çıkarıldı. Kuyucuklar tampon yıkama (Biotin-Konjugat anti-sVEGFR-1 antikor) ile iki defa yıkandı. Standart kuyucuklarına 100 µL örnek seyreltici (distile su) eklendi. İlk kuyucuklara pipetle 100 µL liyofilize sVEGFR-1



standart solüsyonu koyuldu ve kuyucuktan kuyucuğa 100 µL aktararak yedi adet standart seyrelti oluşturuldu. Son kuyucuklardan 100 µL atıldı. Boş kuyucuklara 100 µL örnek seyrelti eklendi. Örnek kuyucuklarına 50 µL örnek seyrelti eklendi. Hazırlanan kuyucuklara 50 µL örnek eklendi. Tüm kuyucuklara 50 µL dilüe edilmiş Biotin konjugat eklendi ve oda ısısında (18-25°C) 2 sa inkübe edildi. Kuyucuklar boşaltıldı ve tampon yıkama ile dört kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100 µL dilüe Streptavidin-HRP eklendi ve oda ısısında 2 sa inkübe edildi (18-25°C). Tetrametilbenzidin (TMB) substrat solüsyonu kullanımdan birkaç dakika önce hazırlandı. Kuyucuklar tekrar boşaltıldı ve tampon yıkama ile dört kez yıkandı. Boş kuyucuklar da dahil tüm kuyucuklara 100 µL TMB substrat solüsyonu eklendi. Kuyucuklar çalkalayıcı üzerinde oda ısısında (18-25°C) yaklaşık 20 dk inkübe edildi. Boş kuyucuklar da dahil tüm kuyucuklara 100 µL durdurucu solüsyon (fosforik asit) eklendi. Her kuyucuğun absorbansı 450 nm'de (620 nm referans dalga boyu alınarak) spektrofotometre ile ölçüldü ve kuyucuk okuyucu kapatıldı. Hem örneklerin hem de sVEGFR-1 standartlarının absorbansı belirlendi. Kitin minimum ortalama saptayabileceği düzey 0.1 ng/ml'den düşük idi. Her bir incelemenin kendi içinde ve birbirleri arasındaki değişkenliklerin katsayıları sırasıyla %8 ve %10.7 idi.

**3.4 İSTATİSTİKSEL İNCELEME:** Karşılaştırma yapılacak sayısal olan tüm verilerin parametrik testlere uygunluğunu incelemek için Kolmogrov-Smirnow testi uygulandı. Preeklampsi ve kontrol grubunda sVEGFR-1 düzeyleri, proteinüri, sistolik ve diyastolik kan basıncı ve doğumda gebelik haftaları için Kolmogrov-Smirnow testi uygulandığında normal dağılımlı olmadıkları saptandı. Bundan dolayı her iki grupta bu değişkenleri karşılaştırmak için nonparametrik olan Mann-Whitney U testi kullanıldı. Her grubun kendi içinde prepartum ve postpartum serum sVEGFR-1 değerlerinin ortancaları nonparametrik olan Wilcoxon testi ile karşılaştırıldı. Normal dağılım gösteren yaş ve VKİ'leri t testi ile karşılaştırıldı. Her iki gruptaki İUGG, plasenta dekolmanı, normal vajinal doğum ve sezaryen ile doğum oranları  $\chi^2$  testi ile karşılaştırıldı. Klinik değişkenler arasındaki ilişki verinin uygunluğuna göre Spearman ve Pearson testi ile değerlendirildi. P < .05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Power analizinde power %95'in üzerinde ve alfa 0.05 kabul edildiğinde, çalışma gruplarının serum sVEGR-1 ortalamaları arasında 7406 pg/ml farkı bulmak için 40 kontrol ve 40 preeklampitik hastanın yeterli olduğu saptandı. Olgu sayısı (sample size) tahmininde daha önce yapılan

araştırmaların sonuçlarından faydalanıldı (73). Çalışma dışı kalabilecek olgular dışunulerek %10 daha fazla olgu sayısı ile çalışma gruplarında 44'er gebe olacak şekilde çalışmanın yapılması planlandı.

## SONUÇLAR

Preeklampsi ve kontrol grubunun demografik ve seçilmiş klinik verileri Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

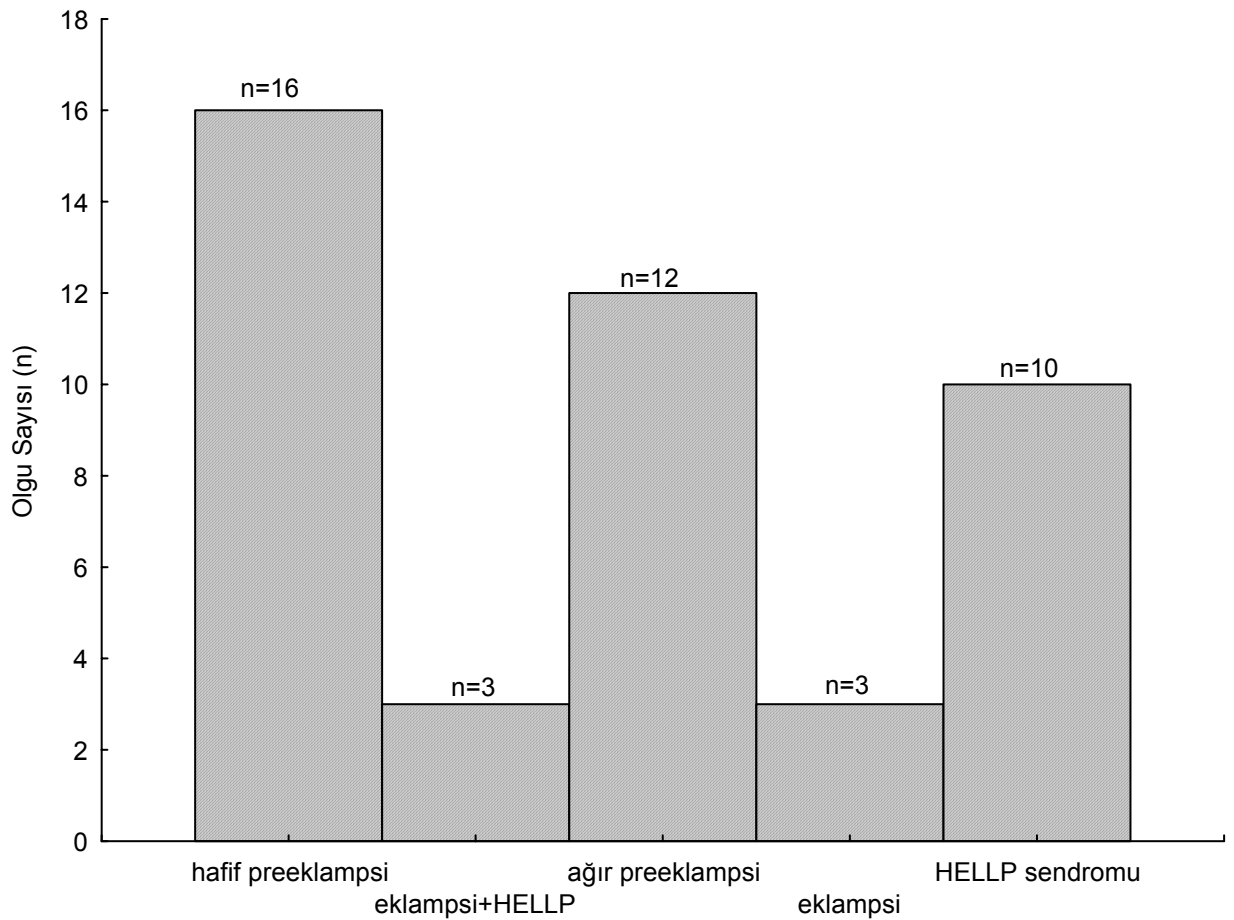
Tablo 4.1. Preeklampsi ve kontrol grubundaki olguların demografik ve seçilmiş klinik verileri.

	Preeklampsi (n=44)	Kontrol (n=44)	İstatistiksel anlamlılık
Maternal yaş (yıl)	29.1±6	27.1±5.8	AD
Vücut kitle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )	31±4.3	28.1±3.2	p < .05
Doğumda gebelik yaşı (hafta)	36 (26-40)	38 (29-42)	p < .05
Kan basıncı (mmHg)			
Sistolik	160 (140-200)	120 (90-135)	p < .05
Diastolik	110 (90-140)	72.5 (60-85)	
Proteinüri (mg/dl)	500 (30-500)	0	p < .05
İntrauterin gelişme geriliği	7 (%16)	0	p < .05
Yenidoğan ağırlığı (g)	2318±855.1	3025.9±669.8	p < .05
Plasenta dekolmanı	4 (%9.1)	0	p < .05
Normal vajinal doğum	11 (%25)	18 (%40.9)	AD
Sezaryen ile doğum	33 (%75)	26 (59.1)	AD

Veriler ortalama (± SD), ortanca (en küçük - enbüyük) veya olgu sayısı (%) olarak gösterilmiştir.

AD, Anlamlı değil.

Preeklamptik hasta grubunda 16’sı (%36.4) hafif preeklampsi, 12’si (%27.2) ağır preeklampsi, 3’ü (%6.8) eklampsi, 10’u (%22.8) HELLP sendromu, 3’ü (%6.8) eklampsi ve HELLP sendromlu idi (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Preeklampitik hasta grubunun dağılımı.

Preeklampsi grubunda doğumda gebelik haftası daha küçük, ASI'leri ve yenidoğan ağırlıkları da daha düşüktü ( $p < .05$ ).

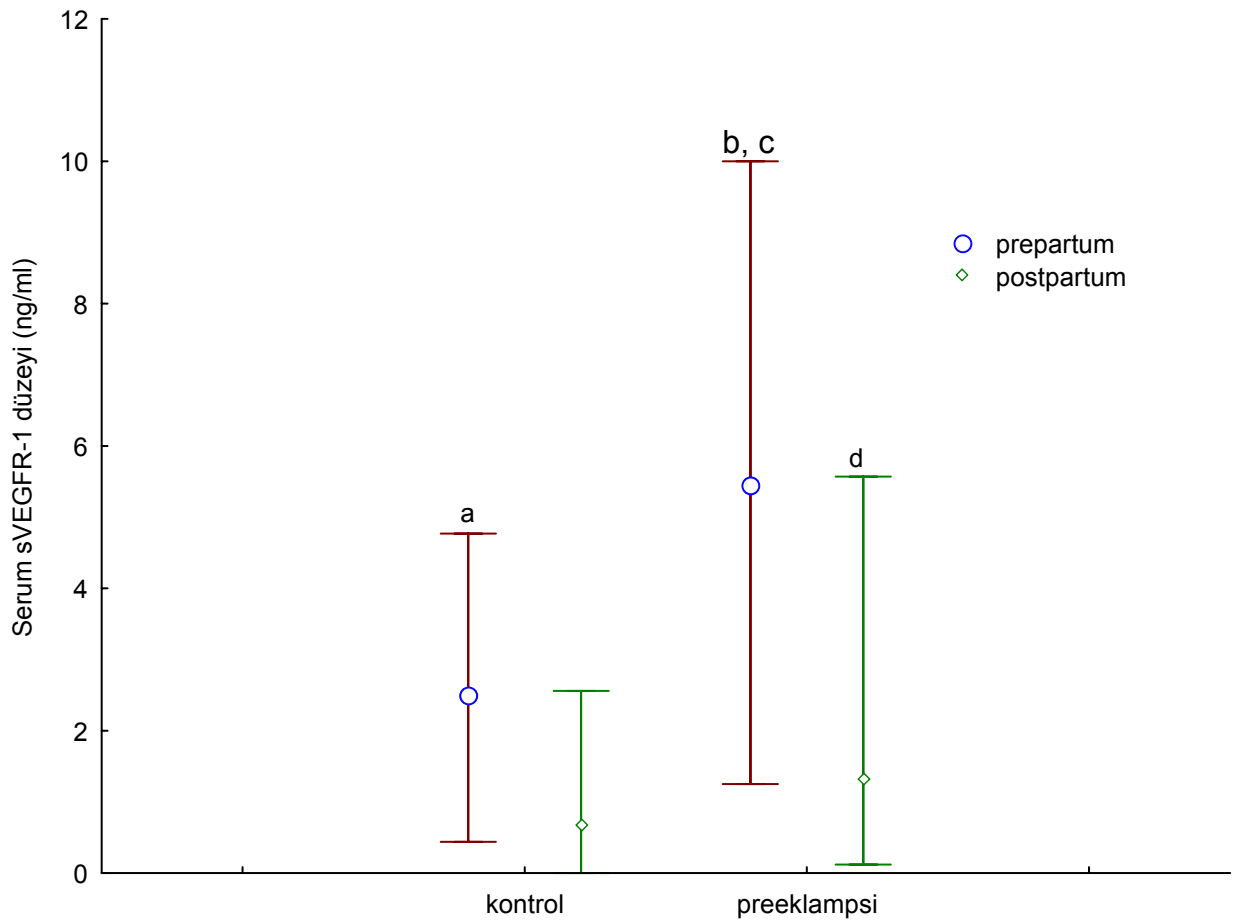
Sistolik ve diastolik kan basıncı ve proteinüri miktarının ortancaları ( $p < .05$ ) ve VKİ'lerinin ( $p < .05$ ) ortalaması preeklampsi grubundaki hastalarda belirgin olarak daha yüksekti.

Gruplar arasında İUGG ve plasenta dekolmanı bulunma oranları preeklampitik grupta anlamlı şekilde daha yüksekti ( $p < .05$  ve  $p < .05$ ).

Her iki grupta da gebelikte ölçülen prepartum serum sVEGFR-1 değerlerinin ortancaları postpartum serum sVEGFR-1 değerlerinin ortancalarından daha yüksekti ( $p < .05$ ).

Preeklampitik hastaların prepartum serum sVEGFR-1 değerlerinin ortancası kontrol grubunun prepartum serum sVEGFR-1 değerlerinin ortancasından anlamlı şekilde daha yüksekti ( $p < .05$ ).

Preeklampitik hastaların postpartum serum sVEGFR-1 değerlerinin ortancası kontrol grubunun postpartum serum sVEGFR-1 değerleri ortancasından anlamlı şekilde daha yüksekti ( $p < .05$ ) (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Kontrol ve preeklampsi grubunun prepartum ve postpartum serum sVEGFR-1 düzeyleri.

Veriler ortanca (en küçük – en büyük) olarak gösterilmiştir.

a,  $p < .05$ , kontrol grubunun postpartum serum sVEGFR-1 düzeyi ölçümüne karşın.

b,  $p < .05$ , preeklampsi grubunun postpartum serum sVEGFR-1 düzeyi ölçümüne karşın.

c,  $p < .05$ , kontrol grubunun prepartum serum sVEGFR-1 düzeyi ölçümüne karşın.

d,  $p < .05$ , kontrol grubunun postpartum serum sVEGFR-1 düzeyi ölçümüne karşın.

Preeklampsi grubunda trombosit sayısı daha düşük ve ALT, AST ve LDH düzeyleri anlamlı şekilde daha yüksekti ( $p < .05$ ). Gruplar arasında hemoglobin, BUN ve kreatinin düzeyleri açısından belirgin fark yoktu ( $p > .05$ ).

Preeklampsi hastası grubunda yenidoğanların 7 tanesinin doğum kilosu yüzde 10 percentilin altında idi ve 4 hastada plasenta dekolmanı mevcuttu. Kontrol grubunda İUGG ve plasenta dekolmanı olan gebe yoktu. İUGG ve plasenta dekolmanı ile

serum sVEGFR-1 düzeyi arasında ilişki saptanmadı ( $p > .05$ ,  $r = 0.08$  ve  $p > .05$ ,  $r = -0.08$ ).

Preeklampitik hastalar arasında, serum sVEGFR-1 düzeyleri ile proteinürinin derecesi ( $p < .05$ ,  $r = 0.25$ ), sistolik ( $p < .05$ ,  $r = 0.25$ ) ve diastolik kan basıncı ( $p < .05$ ,  $r = 0.31$ ) arasında pozitif ilişki mevcuttu (Tablo 4.2).

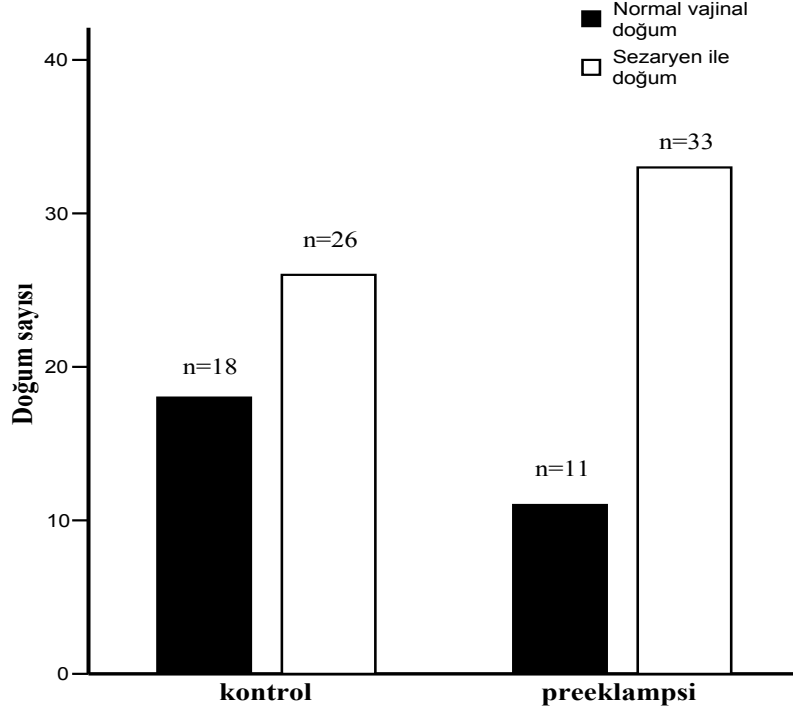
Tablo 4.2. Serum sVEGFR-1 düzeyi (ng/ml) ile seçilmiş demografik ve klinik değişkenler arasındaki ilişki.

	Kontrol		Preeklampsi	
Yaş (yıl)	r = 0.19	AD	r = 0.01	AD
Vücut kitle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )	r = -0.04	AD	r = 0.01	AD
Gravida	r = -0.06	AD	r = -0.01	AD
Kan basıncı (mmHg)				
Sistolik	r = -0.13	AD	r = 0.25	P < .05
Diastolik	r = -0.12		r = 0.31	
Proteinüri (mg/dl)	r = -0.15	AD	r = 0.25	P < .05
Trombosit sayısı (10 <sup>3</sup> /μL)	r = -0.01	AD	r = -0.03	AD
Yenidoğan ağırlığı (g)	r = 0.20	AD	r = -0.10	AD
Sigara kullanımı	r = 0.18	AD	r = -0.22	AD
Gebelikte alınan kilo	r = 0.19	AD	r = 0.15	AD
Amniyotik sıvı indeksi	r = 0.17	AD	r = 0.08	AD
APGAR 1. dk	r = 0.18	AD	r = 0.09	AD
APGAR 5. dk	r = 0.21	AD	r = 0.10	AD
Gebelik yaşı (hafta)	r = 0.12	AD	r = 0.01	AD
Plasenta dekolmanı	r = -0.17	AD	r = -0.08	AD
İntrauterin gelişme geriliği	r = -0.19	AD	r = 0.08	AD

AD, Anlamlı değil.

Preeklampsi grubunda sezaryenle doğum sayısı kontrol grubuna oranla daha fazla olmakla birlikte gruplar arasında doğum şekillerinin sayıları açısından anlamlı bir fark saptanmadı ( $p > 0.05$ ) (Şekil 4.3).





Şekil 4.3. Kontrol ve preeklampsi grubunda normal vajinal doğum ve sezaryen ile doğum sayıları.

## TARTIŞMA

Biz bu çalışmamızda, preeklampsi gibi morbidite ve mortalitesi yüksek ve etyolojisi tam olarak aydınlatılamamış bir sendromun patogenezinde önemli bir yeri olan serum sVEGFR-1 düzeyinin artışı ve bunun seçilmiş bazı demografik ve klinik verilerle korelasyonunu inceledik.

Preeklampsi, gebeliğin 20. haftasından sonra gelişen hipertansiyon ve proteinüri ile karakterize olan insan gebeliğine özgü bir sendromdur ve maternal ve fetal morbidite ve mortalitenin ana nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir (1). Preeklampsinin etyolojisi henüz tam olarak anlaşılmasına rağmen, günümüzde maternal vasküler endotel disfonksiyonun, hipertansiyon, proteinüri gibi preeklampsinin klinik bulgularının gelişiminde merkezi bir rolü olduğu görüşü üzerinde durulmaktadır (18). Bu endotel hasarının gelişiminde, sVEGFR-1 gibi dolaşımda aşırı miktarda bulunan plasental kaynaklı antianjiyojenik faktörler sorumlu tutulmaktadır (11).

Günümüzde preeklampsi için kullanışlı ve pratik bir tarama yöntemi bulunmamaktadır. Plasentada sVEGFR-1 trofoblast tabakasında bol miktarda bulunur. Bu da sVEGFR-1'in maternal-fetal sınırdaki aşırı anjiyojenez ve vasküler geçirgenliği engellediğini gösterir şekildedir. Preeklampside plasental trofoblastlarca maternal dolaşıma VEGF, PlGF ve sVEGFR-1 salınımının preeklampsideki endotel disfonksiyonunun patofizyolojisinde önemli yeri vardır. Yapılan son çalışmalarda preeklampside plasenta, serum ve amniyotik sıvıda sVEGFR-1'in arttığı gösterilmiştir. (3, 5, 6, 65, 73-77). Preeklampsi gelişen hastalarda gebeliğin erken haftalarından itibaren VEGF ve sVEGFR-1'in arttığını ve doğumdan 24 sa sonra her ikisinin de serum seviyeleri düşmektedir. Ancak, preeklampside sVEGFR-1'in yükselmeye başladığı 12. hf gibi erken gebelik haftalarında VEGF düzeyi normal olarak değerlendirildi. Bu da preeklampsi patogenezinde sVEGFR-1'in daha merkezi bir yeri olduğunu göstermektedir. Preeklampside VEGF aşırı yapımının spiral arterlerin trofoblastlarca yetersiz invazyonu sonucu gelişen plasental hipoksi nedeniyle olduğu düşünülmektedir (3, 4). Preeklampside sVEGFR-1 artışı da benzer bir hipoksi kaynaklı nedenle veya VEGF artışına cevap olması muhtemeldir. VEGF'nin kültüre edilmiş endotel hücrelerinde sVEGFR-1 yapımını uyardığı

gösterilmiştir (28). Prospektif klinik çalışmalarda preeklampsisi taramasında serum sVEGFR-1 ve PlGF ölçümünün sensitif ve spesifik olduğu düşünülmektedir (6).

sVEGFR-1'in, preeklampsinin patogenezinin oluşmasında çok önemli bir katkısı vardır. Şöyleki, Maynard ve ark. (65) in vivo hayvan modelinde yaptıkları çalışmada sVEGFR-1 aşırı salınımının preeklampsie benzer şekilde hipertansiyon, proteinüri ve glomerüler endotelyozise neden olduğunu gösterdiler. Bu sonuca paralel olarak in vitro ortamda preeklamptik plasentada sVEGFR-1 üretiminin fazla olduğunu gösteren çalışmalar vardır (28, 78). Shakil ve ark. (5) preeklamptik plasental villöz doku kültürlerinde sVEGFR-1 düzeylerinde normal gebeliklerden dört kat fazla artış olduğunu göstermişlerdir. Normal villöz dokular hipoksiye maruz kaldığında sVEGFR-1 salınımı normal doku oksijeni ile karşılaştırıldığında artmıştır. Preeklamptik doku kültürü ile karıştırılan endotel hücrelerinde anjiogenezin azaldığını göstermişlerdir. Preeklamptik doku kültüründen immün çökelti (immune precipitation) ile sVEGFR-1'in kaldırılmasıyla göç ve tüp formasyonunun normal doku kültürü ile karşılaştırılabilir düzeye gelmesi, preeklampside artmış sVEGFR-1 düzeylerinin anjiogenez inhibisyonundan sorumlu olduğunu göstermektedir.

Preeklampside, lokal plasental yatak hipoksisinin genellikle maternal damarların trofoblastlarca yetersiz invazyonundan kaynaklanmaktadır. Hipoksi trofoblast kültürlerinde belirgin morfolojik değişiklik yapar ve sitotrofoblastların in vitro farklılaşmasını azaltmaktadır (4). Bu morfolojik değişiklikler preeklamptik plasentada in vivo gözlenen değişikliklerle benzerdir (74).

Oksijen basıncının VEGF ailesini nasıl kontrol ettiğini ve bunun plasental dolaşım üzerine etkisini araştırmak için sitotrofoblast hücre kültüründe farklı oksijen basınçlarında ELİSA ve PCR yöntemleriyle sitotrofoblast, HUVECs (insan umbilikal ven endotel hücreleri) ve VFs (villöz fibroblastlar) da hücre kültürlerinde VEGF, PlGF ve sVEGFR-1 düzeyleri ölçülmüş ve hipokside sVEGFR-1 mRNA miktarında ve sitotrofoblast hücre kültüründe sVEGFR-1 salınımı artmış, fakat HUVECs ve VFs'de değişiklik saptanmamıştır. Serbest VEGF ve PlGF düzeyleri hipoksi sonucunda azalmıştır. Bu sonuçlar sitotrofoblastların hipoksi karşısında VEGF ve PlGF'nin anjiyojenik etkisini antagonize eden sVEGFR-1 yapımını artıran bir özelliğe sahip olduğunu göstermektedir (4).

Li ve ark. (60) sekiz adet normal gebe kadının plasentasını doğumdan hemen sonra almışlar ve izole trofoblastları üç gün in vitro olarak normoksi ve hipoksi

koşullarında kültüre etmişlerdir. Plasentada trofoblastlar intervillöz alanda maternal kanda direk yüzdükleri için, oksijen basıncı değişikliklerine karşı hassastırlar. Trofoblastların sVEGFR-1, PIGF ve VEGF üretimi ELİSA yöntemiyle ölçülmüştür. Lipid peroksid üretimi ve süperoksit dismutaz (CuZn-SOD) düzeyleri tespit edilmiştir. Hipoksik ortamda kültüre edilmiş trofoblastlarda lipid peroksid üretimine paralel olarak sVEGFR-1 üretimi belirgin şekilde artmıştır. Ayrıca hipoksi durumunda: (1) PIGF/VEGF oranı tersine dönmüştür, (2) lipid peroksidlerin süperoksit dismutaza oranı artmıştır. Bu değişiklikler hipoksi sonucunda oksidatif stres artışıyla ilgilidir (74).

Muy-Rivera ve ark. (2) 131 preeklampitik ve 175 normal gebeden oluşan toplam 206 Zimbabwe'li kadının maternal plazma sVEGFR-1, VEGF ve PIGF düzeyleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Preeklampside plazma VEGF düzeyinin azaldığını, sVEGFR-1 düzeyinin ise arttığını saptamışlardır. Preeklampsi ile plazma PIGF düzeyi arasında herhangi bir ilişki bulunamamıştır. Bu çalışmadaki preeklampside yüksek sVEGFR-1 düzeyleri bizim çalışmamızdaki sonuçlarla paralel idi. Oysa, Maynard ve ark. (65) düşük PIGF ve VEGF'ye eşlik eden yüksek sVEGFR-1 düzeyinin preeklampside endotel fonksiyonlarını bozduğunu göstermişlerdir. Ayrıca, erken gebelik haftalarında sVEGFR-1/PIGF oranının artmasının preeklampsi gelişme riskini gösteren önemli bir bulgu olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (6).

Chaiworapongsa ve ark. (73) tarafından yapılan kesitsel çalışmada 61'er preeklampitik ve normal gebe kadında plazma sVEGFR-1 düzeyini ELİSA yöntemi kullanarak ölçmüşler ve preeklampside ortanca plazma sVEGFR-1 düzeyini daha yüksek bulmuşlardır. Ayrıca, bu çalışmada sVEGFR-1 ortanca plazma konsantrasyonu, erken başlangıçlı (< 34 hafta) preeklampside geç başlangıçlı (> 34 hafta) preeklampsiye göre ve şiddetli preeklampside hafif preeklampsiye göre daha yüksektir.

Longitudinal vaka kontrollü bir çalışmada 44'er preeklampitik ve sağlıklı gebede (1) 7-16, (2) 16-24, (3) 24-28, (4) 28-32, (5) 32-36 ve (6) 37. gebelik haftasından sonra plazma sVEGFR-1 düzeyleri ölçülmüştür. Preeklampsi grubunda plazma sVEGFR-1 düzeyi ile kan alımından preeklampsi kliniği başlamasına kadar geçen süre arasındaki ilişkiyi saptamak için farklı gebelik haftalarındaki preeklampitik hastaların plazma örnekleri kan alımından klinik bulgular gelişene

kadar geçen süreye göre beş gruba ayrıldı: (1) klinik bulgular çıktığında ve klinik ortaya çıkmadan (2) 2-5, (3) 6-10, (4) 11-16 ve (5) 17-25 hafta önce. Preeklampitik hastalarda 24-28, 28-32 ve 32-37. gebelik haftalarında ortalama sVEGFR-1 düzeyleri kontrol grubundan yüksekti. Benzer şekilde preeklampsi grubunda klinik ortaya çıktığında, 2-5 ve 6-10 hafta önce sVEGFR-1 düzeyleri daha yüksekti. Ayrıca, erken başlangıçlı preeklampside sVEGFR-1 düzeyi daha erken yükselmişti (79). Bizim çalışmamızda da preeklampside ortanca serum sVEGFR-1 düzeyi daha yüksektir ve hastalığın şiddeti ile sVEGFR-1 düzeyi arasında pozitif korelasyon vardır. Fakat, sVEGFR-1 düzeyi ile gebelik haftası arasında ilişki bulunamadı.

Levine ve ark. (7) “Calcium for Preeclampsia Prevention” çalışmasından rastgele seçtikleri 120’şer preeklampitik ve normal gebede serum sVEGFR-1, serbest PIGF ve serbest VEGF düzeylerini gebelik boyunca ölçtüler ve toplam 655 serum örneği topladılar. Normotansif gebeliklerde, sVEGFR-1 düzeyleri gebeliğin birinci ve ikinci trimesterinde sabit ve 33. ile 36. haftalarda başlayan doğrusal bir artış mevcuttu. Bu artışa normal gebeliklerde serbest PIGF düzeylerinde düşüş eşlik ediyordu. Preeklampitik kadınlarda sVEGFR-1 daha erken gebelik haftasında yükselmeye başlamakta ve daha yüksek düzeye ulaşmaktaydı. sVEGFR-1 düzeyinde artışa eşlik eden serum serbest PIGF ve VEGF preeklampsi başlangıcından beş hafta önce düşmüştü. Maynard ve ark. (65) da preeklampside sFlt-1’in yükseldiğini, VEGF ve PIGF’nin baskılandığını göstermişlerdir. Bazı araştırmacılar ise aksine VEGF’nin arttığını saptamışlardır. Ancak, bunun ölçüm yönteminden olabileceği de belirtilmiştir (serbest yerine total VEGF) (80, 81). İn vitro olarak oluşturulan endotel disfonksiyonu ise dışardan eklenen VEGF ve PIGF’le düzelmiştir. Ayrıca, VEGF ve PIGF, in vitro olarak sVEGFR-1’le bloke edilen sıçan renal arteriollerinin mikrovasküler relaksasyonuna neden olmuştur. Son olarak, gebe ratlara sVEGFR-1 verilmesiyle hipertansiyon, proteinüri ve glomerular endotelyozis oluşturulmuştur. Ancak, bu sıçanlarda trombositopeni oluşmaması ve bizim çalışmamızda olduğu gibi Maynard ve ark.’nın çalışmasında da HELLP sendromlu hastalarda da sVEGFR-1’in yüksek olması, trombositopeni oluşumunda başka faktörlerin de önemli olduğunu göstermektedir (65). Ayrıca, bu çalışmada VEGF antagonisti olan Flk-1 verildiğinde gebe ratlarda preeklampsi fenotipi oluşmaması nedeniyle sVEGFR-1’in etkilerini, VEGF ve PIGF’ün ikisini birden antagonize ederek gerçekleştirdiği anlaşılmıştır.

İlk trimesterde pro- ve antianjiojenik faktörler arasındaki dengesizliğin preeklampsiye neden olduğu savunulan prospektif vaka kontrollü bir çalışmada, preeklampsi gelişen kadınlarda, ilk trimester serum PIGF ve sVEGFR-1 düzeylerinin gestasyonel hipertansiyon, SGA (small for gestational age)'li bebek doğuranlar veya miyad normal gebelerden farklı olup olmadığı araştırılmıştır. Preeklampsi, gestasyonel hipertansiyon ve SGA'lı grupta kontrol grubuna göre PIGF düzeyi daha düşüktü. Gruplar arasında sVEGFR-1 düzeyi açısından belirgin fark olmamasına rağmen preeklampitik ve SGA'lı grupta gebeliğin erken döneminde sVEGFR-1 düzeyleri daha yüksekti. Preeklampsi gelişen kadınların %33'ü SGA'lı bebek doğurmuş ve bu kadınlarda sVEGFR-1 düzeyi, gebelik haftası ile uyumlu bebek doğuran preeklampitik kadınlardan daha yüksekti (6). Bizim çalışmamızda ise SGA ile sVEGFR-1 düzeyleri arasında korelasyon saptanmamıştır.

Wathen ve ark. (82), 49'unda preeklampsi, 16'sı preeklampitik olmayan İUGG'li bebeği olan gebe ve 59'u normotensif ve normal ağırlıkta bebek doğuran 124 olguluk vaka kontrollü çalışmada serum örnekleri 12-15. ve 16-20. gebelik haftalarında alındı. Serum sVEGFR-1 düzeyleri ELİSA yöntemiyle ölçüldü. Daha sonra preeklampsi gelişen kadınlarda gebeliğin 16-20. haftalarında ölçülen sVEGFR-1 düzeyleri kontrol grubundan yüksekti. Fakat, hafif veya şiddetli preeklampsi gelişen kadınlarda sonuçlar farklı değildi. Sadece İUGG gelişen grupta 16-20. gebelik haftasında ölçülen sVEGFR-1 düzeyi yüksek değildi. Preeklampitik grupta İUGG olan hastalarda sVEGFR-1 ile İUGG arasında ilişki saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda da İUGG ile sVEGFR-1 düzeyi arasında ilişki saptanmadı. Kontrol grubunda ikinci ölçümde ilk ölçüme göre sonuçlarda %15 düşüş saptandı. Preeklampsi gelişen gebelerde gebeliğin erken dönemlerinde PIGF düzeyinin normal gebelerden daha düşük olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (6, 7, 83-85). PIGF'deki bu düşüşle sVEGFR-1 yüksek düzeylerinin ilişkisi olduğu düşünülmüştü, fakat PIGF düzeyi ölçülen haftalarda her iki grupta sVEGFR-1 düzeylerinde farklılık olmadığı saptandı (6).

Powers ve ark. (8) tarafından gerçekleştirilen vaka kontrollü bir çalışmada 113 normal ve 55 preeklampitik gebede gebelik boyunca beş defa belirli haftalarda ve doğumdan 48 saat sonra serum sVEGFR-1 düzeyi ölçüldü. Her iki grupta da erken gebelikte artışlar benzerdi. Yüksek sVEGFR-1, şiddetli preeklampside daha belirgindi, fakat tüm preeklampitiklerde gözlenmedi. Doğumdan sonra sVEGFR-1

düzeyi hızla düşmesine rağmen şiddetli preeklampside daha geç olduğu gözlemlendi. Bunun nedeninin ise daha yavaş atılım veya devam eden aşırı salınım olduğu düşünülmüştür. Park ve ark. (86), 32 preeklamptik ve 128 normal gebe içeren kesitsel çalışmada ikinci trimesterde serum ve amniyon sıvısında sVEGFR-1 düzeyini ölçmüşlerdir. Preeklamptik grupta serum sVEGFR-1 düzeyinin ortancasının normal grubunkinden yüksek, amniyon sıvısında ise farklılık saptanmadı. Vuorela ve ark. (77) ise preeklampside üçüncü trimesterde amniyotik sıvıda sVEGFR-1 düzeyini normal gebelerdekinden daha yüksek ölçmüşlerdir. Ayrıca, serum sVEGFR-1 düzeyi şiddetli preeklampside hafif preeklampsidekinden daha yüksekti (86). Başka çalışmalarda ve bizim çalışmamızda preeklampside tanı konulduğunda serum sVEGFR-1 düzeyi normal gebelerden yüksek olduğu bulundu (5, 65, 75). Fakat, preeklampside gebeliğin daha erken haftalarında sVEGFR-1 düzeyinin normal gebelerden daha yüksek saptandığı çalışmalar vardır (7).

Preeklampside amniotik sıvı sVEGFR-1 düzeyinin incelendiği, sağlıklı gebeliklerin ikinci ve üçüncü trimesterlerinde, preeklamptik ve preeklampsiye eşlik eden veya etmeyen diyabetik kadınlar ve İUGG'lı kadınlardan üçüncü trimesterde ölçüldüğü çalışmada erken normal gebeliklerde amniotik sıvı sVEGFR-1 düzeyleri üçüncü trimesterden daha yüksekti. Preeklamptik kadınların üçüncü trimesterinde düzeyler sağlıklı kontrollerden daha yüksekti. Üçüncü trimester düzeyleri diyabetik kadınlarda en düşüktü. Preeklampsiye diyabetin eşlik ettiği olgularda amniyotik sıvı sVEGFR-1 düzeyi yalnız preeklampsi bulunan kadınlardan daha düşüktü. İUGG'li kadınlar kontrol grubundan istatistiksel farklılık göstermedi (77).

Bujold ve ark. (87) yaptıkları kesitsel çalışmada 9'ar preeklamptik ve normal gebede uterin ve antekubital venlerde sVEGFR-1 ve PIGF düzeyini ölçmüşlerdir. Preeklamptik gebelerde uterin venin ortalama sVEGFR-1 düzeyi antekubital vendekinden anlamlı şekilde yüksek bulundu. Normal gebeler arasında bu farklılık gösterilemedi. Preeklampsi grubunda hem uterin hem de antekubital venden ölçülen sVEGFR-1 düzeyleri kontrol grubundan yüksekti. Her iki grupta da hem uterin hem de antekubital ven ortalama PIGF değerleri arasında farklılık saptanmadı. Fakat preeklampsi grubunda her iki venden de ölçülen PIGF düzeyleri kontrol grubundan daha düşüktü. Bu bulgular, preeklampside uterusun dolaşımdaki fazla sVEGFR-1'in potansiyel bir kaynağı olduğunu göstermektedir. Preeklamptik kadınlarda VEGF,

PIGF ve sVEGFR-1'in kaynağının esas olarak plasenta olduğu gösterilmiştir (74, 88).

VEGF, preeklampsi ve İUGG'de yetersiz olan plasental damarlanmayı sağlar, kan basıncını düşürür ve glomerüler filtrasyon bariyer oluşumunda ve korunmasında önemlidir (76, 89). VEGF'nin suda çözünebilir reseptörü olan sVEGFR-1 plasentada üretilir ve endotel hücrelerinde VEGF'nin etkisini antagonize eder. sVEGFR-1'in konsepsiyondan 30 gün sonra maternal kana sızdığı bilinmektedir. Dolayısıyla yüksek sVEGFR-1 preeklampsi ve İUGG gelişimine neden olabilir (82). sVEGFR-1 düzeylerinin ölçümü preeklampsi gelişebilecek gebeliklerin erken teşhisini sağlayabilir. Preeklampside böyle belirteçlerin klinikte kullanımı, preeklampsi gelişebilecek gebeliklerin önceden saptanmasını sağlayabilir. Dolayısıyla risk grubundaki hastalar yakın takip, steroid uygulaması ve antihipertansif tedaviden fayda görebilirler.

Preeklampsinin tahmini için atrial natriüretik peptit (ANP), hCG, alfafetoprotein (AFP), insülin benzeri büyüme hormonu bağlayıcı protein (insulin like growth factor binding protein-1), homosistein ve kortikotropin serbestleştirici faktör (kortikotropin releasing factor; CRF) gibi birçok biyokimyasal belirteç araştırılmış, fakat hiçbiri klinikte kullanışlı bulunmamıştır (90-93). sVEGFR-1'in ise preeklampside erken gebelikte maternal kanda ve çeşitli vücut sıvılarında arttığı gösterilmiştir (5-7, 28, 73, 77). Preeklampsi kliniği gelişmeden yaklaşık 5 hafta önce sVEGFR-1'in maternal kanda arttığını gösteren çalışmalar vardır (79). Ratlarda yapılan çalışmalarda sVEGFR-1 uygulanmasıyla preeklampsi semptomlarının gelişmesi preeklampside sVEGFR-1'in rolünü güçlendirmektedir (65).

Preeklampsinin mevcut spesifik bir tedavisi henüz yoktur. Ancak, sVEGFR-1'in etkileri antagonize edilerek semptomlar düzeltilebilir. Örneğin, dışardan verilen VEGF ve/veya PIGF endotel disfonksiyonunu düzeltebilir. Heparin de VEGF'ye güçlü bir şekilde bağlanır, fakat, heparinin belirgin fetal ve maternal yan etkileri mevcuttur (80). Ayrıca, nikotin endojen VEGF'yi uyararak proanjyogenik özelliklere sahiptir. Bununla birlikte, sigara içenlerde preeklampsi insidansının daha az olduğu saptandı (65). Belgore ve ark. (6) daha önce sigara içen gebe olmayan kadınlarda sVEGFR-1 düzeyinin içmeyenlere göre daha düşük olduğunu saptadılar. Dolayısıyla, şiddetli preeklampside kısa süreli nikotin kullanımı etkin bir tedavi olabilir. Powers ve ark.'nın çalışmasında da benzer şekilde kontrol grubunda sigara içen gebelerde



sVEGFR-1 düzeyi daha düşüktü. Fakat sigara içen ve preeklampsi gelişen gebelerde düşük değildi (9). Sigara içen kadınlar arasında preeklampsi insidansının daha düşük olduğunu gösteren başka bir çalışmayı da göz önüne aldığımızda bu sonucun ilginç olduğunu gördük (95). Bizim çalışmamızda her iki grupta da sigara kullanımı ile sVEGFR-1 düzeyi arasında ilişki saptanmadı. Ancak, çalışmamızın esas amacı sigara kullanımı ile sVEGFR-1 arasındaki ilişkiyi araştırmak olmadığı için sigara kullanan olgu sayımız azdı. Bu sonucun direk olarak incelenmesine ihtiyaç vardır.

Preeklampsiyle ilişkili nörolojik komplikasyonlar, bu hastalığa bağlı maternal ölümlerin önemli bir nedenidir. Nörolojik komplikasyonlara neden olan olaylar arasında, beyin kapiller endotel hücrelerinin geçirgenliğinin artması ve hipertansiyona bağlı serebral oteoregülasyonun kaybı sayılabilir. Eklampsi ve preeklampside kan basıncı seviyeleri oldukça değişken ve antihipertansiflere çok hassastır (96). Bizim çalışma grubumuzda iki hasta komatöz haldeydi. Her ikisi de eklampitik nöbet sonrasında oluştu. İkisinin de tansiyonları 160/110 mm/Hg'nın üzerindeydi. Beyin tomografisinde ikisinde de yaygın serebral ödem bulgusu mevcuttu. Her ikisi de nörolojik defisit oluşmadan iyileşti.

VEGF, sVEGFR-1 ve PlGF arasındaki ilişkinin biyolojik mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. Chung ve ark. (88) normal plasentalara kıyasla preeklampitik plasentalarda iki esas VEGF izoformunun protein miktarının değişmemesine rağmen üç farklı VEGF izoformunun mRNA üretiminin arttığını buldular. Bununla birlikte, preeklampitik hastaların plazmalarında VEGF proteinleri artmaktadır. Normal plasentalarda olduğu gibi plasental VEGF protein yapımı aynı düzeyde kalırken hem plazma VEGF proteininin yüksek hem de plasentada mRNA yapımının fazla olması VEGF'nin sVEGFR-1'e hızla bağlandığını ve dolaşıma geçtiğini göstermektedir. Aynı çalışmada, normal plasentalara göre preeklampitik plasentalarda sVEGFR-1 proteini yüksek bulunmuştur. Dolayısıyla, daha yüksek sVEGFR-1 düzeyleri maternal dolaşımda daha yüksek VEGF düzeylerine katkıda bulunur ve preeklampitik plasentada lokal sVEGFR-1 protein miktarının normal plasentanınki gibi korunmasını sağlar. Bu bulgular Kendall ve ark. (99) gözlemlerinde doğal ve rekombinant sVEGFR-1'in VEGF ve PlGF'ye yüksek afinite ile bağlandığını , dolayısıyla, sVEGFR-1'in VEGF ve PlGF'nin in vivo antagonisti gibi davrandığını göstermektedir.

sVEGFR-1, diğ er bazı klinik alanlarda etkin olarak kullanılmış tır. Örneğ in, sVEGFR-1'in deneysel ve klinik uygulanmasıyla neovaskülojenez ve tümör büyümesinin önlenmesinde başarılı olmuştur (2).

Thadhani ve ark. (6) primipar gebelerde bazal sVEGFR-1 düzeyinin multipar gebelerdekinden yüksek buldular ve bunun artmış preeklampsi riski ile ilişkili olabileceğini savunmuşlardır. Oysa, biz çalışmamızda parite ile serum sVEGFR-1 düzeyi arasında ilişki olmadığını gördük.

Chung ve ark. (88) preeklamptik ve normal gebelerden alınan plasentalarda VEGF, endokrin gland kaynaklı VEGF (VEGF-ED), VEGF reseptörleri 1 ve 2 (VEGFR-1 ve VEGFR-2) ve neuropilin-1 ve -2 (NP-1 ve NP-2) yapımı PCR yöntemiyle incelenmiştir. Total VEGF, VEGF121, 165 ve 189 mRNA yapımı artmaktadır. VEGF ve onun dört reseptörü (VEGFR-1, VEGFR-2, NP-1 ve NP-2) Western blot yöntemiyle incelendiğinde reseptörlerden sadece VEGFR-1 düzeyi preeklamptik plasentada yüksek bulundu. VEGF ve reseptörlerinin yapımı immunohistokimyasal olarak doğrulandı. Bunlar esas olarak sinsityotrofoblastlarda ve villöz kılcallar ve büyük damarların endotel hücrelerinde bulunmaktadır. Bu veriler VEGFR-1'in trofoblast fonksiyonunu düzenlediğini VEGF ile uyarılan anjiyojenez ve endotel bağımlı vazodilatasyonu inhibe ettiğini göstermiştir. VEGF165 ve 189'un plasentada mRNA yapımı gösterildiği halde protein düzeyleri yüksek değildir.

Chu ve ark. (98) normal ve preeklamptik plasentalarda PlGF'ler ve reseptörlerinin yapımını PCR, in situ hibridizasyon ve Northern blotting yöntemleriyle incelediklerinde, VEGFR-1 mRNA düzeyini yüksek, VEGFR-2 mRNA düzeyini düşük bulmuşlardır.

Tsatsaris ve ark. (99) erken başlangıçlı şiddetli preeklampsi, İUGG ve normal gebeliklerde maternal plazma, plasenta ve plasental yatak biyopsisinde VEGF-A, PlGF ve sVEGFR-1 düzeylerini ölçmüşlerdir. Komplike gebeliklerde VEGF-A ve sVEGFR-1 mRNA miktarı yüksekti. Ancak preeklamptik hastaların plasenta yatağında membran bağı VEGFR-1 düşüktü. PlGF düzeyi düşüktü. Maternal kanda serbest VEGF-A ölçülemez düzeyde olup, immunohistokimyasal çalışmalar VEGF ve PlGF'yi trofoblastlarda göstermiştir. Tüm bu bulgular preeklampsiyle ilgili iki patofizyolojik mekanizmayı açıklamaktadır. Birincisi, VEGF-A ve PlGF'nin etkilerini baskılayabilecek sVEGFR-1'in aşırı yapımına bağı olabilir. İkincisi,

uteroplazental gelişim bozukluğuna neden olan plasental yatakta sVEGFR-1'in membran bağlı formunun azalmasıdır.

VEGF-A, PlGF ve sVEGFR-1 yapımı plasentada gerçekleşmektedir. Literatürde bu anjiyojenik faktörlerin yapımını değerlendirmek için maternal plazma yerine serum kullanılması önerilmiştir. VEGF'nin serum düzeyi plazmadakinden yüksek ölçülmüştür. Plazma ve serum düzeyleri arasındaki farklılık VEGF'nin pıhtılaşma sırasında trombositler ve diğer kan hücrelerinden salınımına bağlanmaktadır (94). Biz de çalışmamızda serum sVEGFR-1 düzeylerini değerlendirdik.

Tsatsaris ve ark. (99) dolaşımdaki serbest VEGF'yi, sVEGFR-1 ve  $\alpha$ -makroglobulin gibi dolaşımdaki proteinlere bağlı VEGF'den ayırmak için farklı yöntemler kullandılar. Çoğu örneklerde serbest VEGF tesbit edilemedi. Ancak, dolaşımdaki total VEGF hemen tüm örneklerde gösterildi. Preeklampitik ve İUGG'li gebeliklerde total VEGF normal gebeliklerdekinden yüksek ölçüldü (81, 99, 100). Total VEGF artışına paralel olarak sVEGFR-1 de preeklampside artmıştı.

Gebelikte dolaşımdaki VEGF'nin çoğu plasentada çok miktarda yapılan sVEGFR-1'e bağlı olarak bulunmaktadır. Preeklampside VEGFR-1 ve sVEGFR-1'in plasental üretimi hipoksi nedeniyle artmıştır. Koga ve ark. (75) tarafından preeklampside serum sVEGFR-1 düzeyi altı kat arttığını gösterildi. Tsatsaris ve ark. (99) tarafından yapılan preeklampside plasental yatak biyopsilerinde VEGF, PlGF, VEGFR-2 ve NRP yapımında fark bulunamadı, fakat, VEGFR-1 yapımı azalmıştı. Bu değişikliğin preeklampsinin sebebi mi sonucu mu olduğunu belirlemek mümkün olmadığı halde, plasental yatakta düşük VEGFR-1 düzeyleri, sıklıkla erken başlangıçlı preeklampsiiyle ilgili olan bozulmuş uterin damarlanmayı açıklayabilir. Bizim çalışmamızda her iki grupta da serum sVEGFR-1 düzeyleri postpartum dönemde düştüğü görüldü. Bununla birlikte esansiyel hipertansiyonda sVEGFR-1 düzeyinin yüksek olması (101), preeklampitik kadınlarda plasenta dışında diğer bazı dokuların serum sVEGFR-1 düzeyine katkıda bulunduğunu gösterir.

Flt-1/sFlt-1'in gen kopyalarının yazılımı ve eklenmesi (transcription and splicing)'nin düzenlenmesiyle ilgili fazla bilgi mevcut değildir. sFlt-1 üretiminde alternatif eklenmesinin önemli bir anahtar düzenleyici basamak olduğu saptanmıştır (102). Preeklampitik plasentada Northern blotting yöntemiyle Flt-1 ve sFlt-1'de paralel artış olduğu gösterildi. Bu ise sFlt-1'in reseptör sayısının artışının alternatif

eklenme düzeyinde değil de, genin yazılımı veya mRNA stabilleşme seviyesinde olduğunu göstermektedir.

Glomerular vasküler sızıntı ve proteinürinin düzenlenmesinde VEGF'nin dolaşımdaki fizyolojik düzeyi, anti-VEGF antikor tedavisi ve bazı klinik kanser araştırmalarında kullanılan VEGF reseptör antagonistlerinin değerlendirilmesinde önemlidir. Anti-VEGF antikorlarını kullanan Faz I ve II insan klinik kanser araştırmalarından edinilen son verilere göre proteinüri bu tedavi protokolüyle ilgiliydi. Bu çalışmalarda sVEGFR-1'in dolaşımdaki VEGF'yi antagonize ettiği ve anti-kanser ajan olarak kullanılabileceğini savunmuşlardır (35, 103). Sugimoto ve ark. (76) tarafından anti-fare VEGF nötralize edici antikorlar ve sVEGFR-1'in proteinüriye neden oluşunu göstermek amacıyla normal sağlıklı farelere tek doz intravenöz verilen anti-VEGF antikorlarının masif glomerular endotel hücre ayrılması/hasarı ve nefrinin baskılanması sonucu idrarda aşırı albumin atılımı olmuştur. Bu bulgular dolaşımda fizyolojik dozlarda VEGF'nin glomerüler endotel hücre fonksiyonları ve uzun dönem proteinürinin kronik anti-VEGF tedavisinin önemli bir yan etkisi olduğunu göstermektedir.

Ancak, yatak istirahati ve antihipertansif ve antiplatelet tedavi gibi çeşitli nonspesifik tedaviler araştırılmalıdır. Son zamanlarda preeklampsinin tedavisinde sVEGFR-1'in etkilerini önleyebilecek çeşitli farmakolojik ajanlar araştırılmaktadır. Şayet, doğumu en az birkaç hafta ertelemek için son organ bulgularını hafifletecek güvenli ajanlar bulunursa neonatal morbidite ve mortalitesini azaltma yönünde belirgin bir etki yapabilir.

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Gebeliğin hipertansif hastalıklarında serum sVEGFR-1 düzeyinin klinik önemini belirlemek amacıyla normal ve preeklampitik gebelerde seçilmiş demografik ve klinik veriler incelenerek ve prepartum ve postpartum serum sVEGFR-1 düzeyi ölçülerek aşağıdaki sonuçlara ulaşıldı:

1. Preeklampsi grubunda doğumda gebelik haftası daha küçük, ASI'leri ve yenidoğan ağırlıkları da daha düşük ve sistolik ve diyastolik kan basıncı ve proteinüri miktarının ortancaları ve VKİ'lerinin ortalaması preeklampsi grubundaki hastalarda belirgin olarak daha yüksek olarak saptandı.
2. Preeklampsi grubunda İUGG ve plasenta dekolmanı bulunma oranlarının anlamlı şekilde daha yüksek olduğu görüldü.
3. Her iki grubun kendi içinde prepartum serum sVEGFR-1 değerlerinin ortancaları postpartum serum sVEGFR-1 değerlerinin ortancalarından daha yüksek olduğu saptandı.
4. Preeklampitik gebelerin prepartum ve postpartum serum sVEGFR-1 değerlerinin ortancası kontrol grubunun prepartum ve postpartum serum sVEGFR-1 değerlerinin ortancasından anlamlı şekilde daha yüksek olduğu saptandı.
5. Preeklampitik hastalar arasında, serum sVEGFR-1 düzeyleri ile proteinürinin derecesi, sistolik ve diastolik kan basıncı arasında pozitif ilişki olduğu gösterildi.
6. Serum sVEGFR-1 ölçümünün preeklampsi gelişme riskinin belirlenmesinde klinik bir belirteç olarak kullanılabileceği ve anti-sVEGFR-1 olarak geliştirilen farmakolojik ajanın, kapsamlı in vitro ve in vivo araştırmalardan sonra klinik uygulamada preeklampsi tedavisinde kullanılma potansiyelinin yüksek olabileceği düşünüldü.

**KAYNAKLAR**

1. Miller DA. Hypertension in Pregnancy. In: Mishell DR, Goodwin M, Brenner PF (editörler). Management of common problems in obstetrics and gynecology. 4. baskı. Blackwell Publishing, Los Angeles. 2002:112-119.
2. Muy-Rivera M, Vadachkoria S, Woelk GB, Qiu C, Mahomed K, Michelle A. Maternal Plasma VEGF, sVEGF-R1, and PlGF Concentrations in Preeclamptic and Normotensive Pregnant Zimbabwean Women. *Physiol Res.* 2005; 54(6): 611-22.
3. McKeeman GC, Ardill JES, Caldwell CM, Hunter AJ, McClure N. Soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (sFlt-1) is increased throughout gestation in patients who have preeclampsia develop. *Am J Obstet Gynecol.* 2004; 191: 1240-6.
4. Nagamatsu T, Fujii T, Kusumi M, Zou L, Yamashita T, Osuga Y, Momoeda M, Kozuma S, Taketani Y Cytotrophoblasts up-regulate soluble fms-like tyrosine kinase-1 expression under reduced oxygen: an implication for the placental vascular development and the pathophysiology of preeclampsia. *Endocrinology.* 2004; 145: 4838–4845.
5. Ahmad S, Ahmed A. Elevated placental soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 inhibits angiogenesis in preeclampsia. *Circ Res.* 2004; 95: 884-91.
6. Thadhani R, Mutter WP, Wolf M, Levine RJ, Taylor RN, Sukhatme VP, Ecker J, Karumanchi A. First trimester placental growth factor and soluble fms-like tyrosine kinase 1 and risk for preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(2): 770-775.
7. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *N Engl J Med* 2004; 350: 672-83.
8. Powers RW, Roberts JM, Cooper KM, Gallaher MJ, Frank MP, Harger GF. Maternal serum soluble fms-like tyrosine kinase 1 concentrations are not increased in early pregnancy and decrease more slowly postpartum in women who develop preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 193: 185–91.

9. ACOG committee on Practice Bulletins-Obstetrics. ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstet Gynecol.* 2002; 99(1): 159-67.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. Roberts JM, Cooper DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet.* 2001; 357: 53-56.
15. 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.
16. Chesley LC, Annitro JE, Cosgrove RA. The remote prognosis of eclamptic women: sixth periodic report. *Am J Obstet Gynecol.* 1976; 124: 446-59.
17. Fisher KA, Luger A, Spargo BH, Lindheimer MD. Hypertension in pregnancy: clinical-pathological correlations and remote prognosis. *Medicine.* 1981; 60: 267–276.
18. VanWijk MJ, Kublickienec K, Boera K, VanBavel E. Vascular function in preeclampsia. *Cardiovasc Res.* 2000; 47: 38–48.
19. Dekker GA, Sibai BM. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. *Am J Obstet Gynecol.* 1998; 179: 1359-751.
20. Wang Y, Alexander JS. Placental pathophysiology in preeclampsia. *Pathophysiology* 2000; 6: 261–270.

21. 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.
22. 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.
23. Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *J. Clin Invest.* 1997; 99: 2152–2164.
24. Genbacev O, Zhou Y, Ludlow JW, Fisher SJ. Regulation of human placental development by oxygen tension. *Science.* 1997; 277: 1669–1672.
25. Soundararajan R, Rao AJ. Trophoblast ‘pseudo-tumorigenesis’: significance and contributory factors. *Reprod Biol Endocrinol.* 2004; 25: 2-15.
26. 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.
27. 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.
28. 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.
29. Atamer Y, Koçyigit 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.
30. Karalis I, Nadar SK, Yemeni EA, Blann AD, Lip GYH. Platelet activation in pregnancy-induced hypertension. *Thromb Res.* 2005; 116(5): 377-83.
31. Weir RJ, Brown JJ, Fraser R. Plasma renin, renin substrate, angiotensin II, and aldosterone in hypertensive disease of pregnancy. *Lancet.* 1973; 1: 291–294.



32. Miyamori I, FitzGerald GA, Brown MJ, Lewis PJ. Prostacyclin stimulates the renin-angiotensin-aldosterone system in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1979; 49: 943–944.
33. AbdAlla S, Lother H, el Massiery A, Quitterer U. Increased AT(1) receptor heterodimers in preeclampsia mediate enhanced angiotensin II responsiveness. *Nat Med.* 2001; 7: 1003–1009.
34. Ward K, Hata A, Jeunemaitre X, Helin C, Nelson L, Namikawa C, Farrington PF, Ogasawara M, Suzumori K, Tomoda S. A molecular variant of angiotensinogen associated with preeclampsia. *Nat Genet.* 1993; 4: 59–61.
35. Wallukat G, Homuth V, Fischer T, Lindschau C, Horstkamp B, Jupner A et al. Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin AT1 receptor. *J Clin Invest.* 1999; 103: 945–952.
36. Ashworth JR, Warren AY, Baker PN, Johnson IR. Loss of endothelium-dependent relaxation in myometrial resistance arteries in pre-eclampsia. *Br J Obstet Gynaecol.* 1997; 104: 1152–1158.
37. Chambers JC, Fusi L, Malik IS, Haskard DO, De Swiet M, Kooner JS. Association of maternal endothelial dysfunction with preeclampsia. *JAMA.* 2001; 285: 1607–1612.
38. Rodgers GM, Taylor RN, Roberts JM. Preeclampsia is associated with a serum factor cytotoxic to human endothelial cells. *Am J Obstet Gynecol.* 1988; 159: 908–914.
39. Taylor RN, Musci TJ, Rodgers GM, Roberts JM. Preeclamptic sera stimulate increased platelet-derived growth factor mRNA and protein expression by cultured human endothelial cells. *Am J Reprod Immunol.* 1991; 25: 105–108.
40. Roberts JM, Redman CWG. Pre-eclampsia: more than pregnancy-induced hypertension. *Lancet.* 1993; 341: 1447–1451.
41. Bevilacqua MP. Endothelial-leukocyte adhesion molecules. *Ann Rev Immunol.* 1993; 11: 767–804.
42. Roberts JM. Endothelial dysfunction in preeclampsia. *Semin Reprod Endocrinol.* 1998; 16: 5–15.
43. Chesley LC, Annito JE, Cosgrove RA. The familial factor in toxemia of pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1968; 32: 303–11.

44. Arngrimsson R, Bjornsson H, Gelrason RT. Analysis of different inheritance patterns in preeclampsia/eclampsia syndrome. *Hypertens Preg.* 1995; 14: 27-38.
45. Tuohy JF, James DK. Pre-eclampsia and trisomy 13. *Br J Obstet Gynaecol.* 1992; 99: 891–894.
46. Arngrimsson R, Sigurard S, Frigge ML, Bjarnad RI et al. A genome-wide scan reveals a maternal susceptibility locus for pre-eclampsia on chromosome 2p13. *Hum Mol Genet.* 1999; 8: 1799–1805.
47. Broughton-Pipkin F. What is the place of genetics in the pathogenesis of pre-eclampsia? *Biol Neonate.* 1999; 76: 325-30.
48. Kaya E. Gebelik hipertansiyonu preeklampsi-eklampsi. *Maternal Fetal Tıp ve Perinataloji Çalışma Grubu.* (Ed.) / Beksaç MS, Demir N, Koç A (Koordinatörler). *OBSTETRİK; Maternal Fetal Tıp ve Perinataloji.* Ankara: Medical Network. 2001: 661-675.
49. Suzuki Y, Tanemura M, Suzuki Y, Murakami I, Suzumori K. Is angiotensinogen gene polymorphism associated with hypertension in pregnancy? *Hypertens Preg.* 1999; 18: 261-71.
50. Curnow KM, Pham T, August P. The L10F mutation of angiotensinogen is rare in preeclampsia. *J Hypertens.* 2000; 18: 173-78.
51. Morgan L, Foster F, Hayman R. Angiotensin-converting enzyme insertion-deletion polymorphism in normotensive and pre-eclamptic pregnancies. *J Hypertens.* 1999; 17: 765-68.
52. Chikosi AB, Moodley J, Pegoraro RJ. Apolipoprotein E polymorphism in pre-eclampsia. *S Afr Med.* 2000; 90: 128-9.
53. Percin FE, Cetin M, Pınarbasi E, Akgun E, Gurlek F, Cetin A. Lack of association between the CYP11B2 gene polymorphism and preeclampsia, eclampsia, and the HELLP syndrome in Turkish women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2005 (basımda).
54. Cetin M, Pınarbasi E, Percin FE, Akgun E, Percin S, Pınarbasi H, Gurlek F, Cetin A. No association of polymorphisms in the glutathione S-transferase genes with pre-eclampsia, eclampsia and HELLP syndrome in a Turkish population. *J Obstet Gynaecol Res.* 2005; 31 236.

55. Harrison GA, Humphrey KE, Jones A. A genome-wide linkage study of preeclampsia/eclampsia reveals evidence for candidate region on 4q. *Am J Hum Genet* 1997; 60: 1158-67.
56. Guo G, Lade JA, Wilton AN. Genetic susceptibility to preeclampsia and chromosome 7q36. *Hum Genet* 1999; 105: 641-647.
57. Arngrimsson R, Hayward C, Nadaud S. Evidence for a familial pregnancy-induced hypertension locus in the eNOS-gene region. *Am J Hum Genet*. 1997; 61: 354-62.
58. Lewis I, Lachmeijer G, Downing S. Failure to detect linkage of preeclampsia to the region of the NOS3 locus on chromosome 7q. *Am J Hum Genet*. 1999; 64: 310-313.
59. Lade JA, Moses EK, Guo G. The eNOS gene: a candidate for the preeclampsia susceptibility locus? *Hypertens Pregnancy*. 1999; 18: 81-93.
60. Pajusola K, Aprelikova O, Korhonen J, Kaipainen A, Pertovaara L, Alitalo R, and Alitalo K. FLT4 receptor tyrosine kinase contains seven immunoglobulin-like loops and is expressed in multiple human tissues and cell lines. *Cancer Res*. 1992; 52: 5738-5743.
61. Ferrara N and Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocrine Rev*. 1997; 18: 4-25.
62. Shibuya M, Ito N and Claesson-Welsh L. Structure and function of VEGF Receptor-1 and -2. *Curr. Topics Microbiol Immunol*. 1999; 237: 59-83.
63. Shibuya M. Structure and function of VEGF/VEGF-receptor system involved in angiogenesis. *Cell Struct Funct*. 2001; 26: 25-35.
64. Bellomo D, Headrick JP, Silins GU, Paterson CA et al. Mice lacking the vascular endothelial growth factor-B gene (VEGFB) have smaller hearts, dysfunctional coronary vasculature, and impaired recovery from cardiac ischemia. *Circ Res*. 2000; 86: 29-35.
65. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*. 2003; 111: 649-658.
66. Shibuya M. Role of VEGF-Flt receptor system in normal and tumor angiogenesis. *Adv Cancer Res*. 1995; 67: 281-316.

67. Watanabe O, Arimura K, Kitajima I, Osame M, and Maruyama I. Greatly raised vascular endothelial growth factor (VEGF) in POEMS syndrome. *Lancet*. 1996; 347: 702.
68. Luo JC, Toyoda M, Shibuya M. Differential inhibition of fluid accumulation and tumor growth in two mouse ascites tumors by an anti-vascular endothelial growth factor/permeability factor neutralizing antibody. *Cancer Res*. 1998; 58: 2594-2600.
69. Isner JM and Asahara T. Angiogenesis and vasculogenesis as therapeutic strategies for postnatal neovascularization. *J Clin Invest*. 1999; 103: 1231-1236.
70. Suri C, McClain J, Thurston G, McDonald DM, Zhou H, Oldmixon EH, Sato TN and Yancopoulos GD. Increased vascularization in mice overexpressing angiopoietin-1. *Science*. 1998; 282: 468-471.
71. Asahara T, Masuda H, Takahashi T, Kalka C, Pastore C, Silver M, Kearne M, Magner M and Isner JM. Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization. *Circ Res*. 1999; 85: 221-228.
72. O'Brien E, Waeber B, Parati G, Staessen J, Myers MG. Blood pressure measuring devices: recommendations of the European Society of Hypertension. *BMJ*. 2001; 322: 531-36.
73. Chaiworapongsa T, Romero R, Espinoza J, Bujold E, Kim YM, Goncalves LF, Gomez R, Edwin S. Evidence supporting a role for blockade of the vascular endothelial growth factor system in the pathophysiology of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2004; 190: 1541-50.
74. Lia H, Gua B, Zhanga Y, Lewisa DF and Wang Y. Hypoxia-induced increase in soluble Flt-1 production correlates with enhanced oxidative stress in trophoblast cells from the human placenta. *Placenta*. 2005; 26: 210-217.
75. Koga K, Osuga Y, Yoshino O, Hirota Y et al. Elevated serum soluble vascular endothelial growth factor receptor 1 (sVEGFR-1) levels in women with preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88: 2348-51.
76. Sugimoto H, Hamano Y, Charytan D, Cosgrove D, Kieran M, Sudhakar A, Kalluri R. Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor

- (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble VEGF Receptor 1 (sFlt-1) induces proteinuria. *J Biol Chem.* 2003; 278: 12605-12608.
77. Vuorela P, Helske S, Hornig C, Alitalo K, Weich H, Halmesmaki E. Amniotic fluid-soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 in preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2000; 95: 353-357.
78. Helske S, Vuorela P, Carpen O, Hornig C, Weich H, Halmesmaki E. Expression of vascular endothelial growth factor receptors 1, 2 and 3 in placentas from normal and complicated pregnancies. *Mol Hum Reprod.* 2001; 7: 205-10.
79. Chaiworapongsa T, Romero R, Kim YM, Kim GJ et al. Plasma soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 concentration is elevated prior to the clinical diagnosis of pre-eclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2005; 17(1): 3–18.
80. Baker PN, Krasnow J, Roberts JM, and Yeo KT. Elevated serum levels of vascular endothelial growth factor in patients with preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 1995; 86: 815–821.
81. Sharkey AM. Maternal plasma levels of vascular endothelial growth factor in normotensive pregnancies and in pregnancies complicated by pre-eclampsia. *Eur J Clin Invest.* 1996; 26: 1182–1185.
82. Wathén KA, Tuutti E, Stenman UH, Alftan H, Halmesmaki E, Finne P et al. Maternal serum soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 in early pregnancy ending in pre-eclampsia or intrauterine growth retardation. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(1): 180-4.
83. Tidwell SC, Ho HN, Chiu WH, Torry RJ, Torry DS. Low maternal serum levels of placenta growth factor as an antecedent of clinical preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2001; 184: 1267-1272.
84. Livingston JC, Chin R, Haddad B, McKinney ET, Ahokas R, Sibai BM. Reductions of vascular endothelial growth factor and placental growth factor concentrations in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2000; 183: 1554-57.
85. Torry DS, Wang HS, Wang TH, Caudle MR, Torry RJ. Preeclampsia is associated with reduced serum levels of placenta growth factor. *Am J Obstet Gynecol.* 1998; 179: 1539-44.

86. Park CW, Park JS, Shim SS, Jun JK, Yoon BH, Romero R. An elevated maternal plasma, but not amniotic fluid, soluble fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1) at the time of mid-trimester genetic amniocentesis is a risk factor for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2005; 193: 984–9.
87. Bujold E, Romero R, Chairworapongsa T, Kim YM et al. Evidence supporting that the excess of the sVEGFR-1 concentration in maternal plasma in preeclampsia has a uterine origin. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2005; 18(1): 9–16.
88. Chung JY, Song Y, Wang Y, Magness RR, Zheng J: Differential expression of vascular endothelial growth factor (VEGF), endocrine gland-derived VEGF, and VEGF receptors in human placentas from normal and preeclamptic pregnancies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 2484-2490.
89. Eremina V, Sood M, Haigh J, Nagy A, Lajoie G, Ferrara N, Gerber HP, Kikkawa Y, Miner JH, Quaggin SE. Glomerular-specific alterations of VEGF-A expression lead to distinct congenital and acquired renal diseases. *J Clin Invest.* 2003; 111: 707-716.
90. Pouta AM, Hartikainen AL, Vuolteenaho OJ, Ruokonen AO, Laatikainen TJ. Midtrimester N-terminal proatrial natriuretic peptide, free beta hCG, and alpha-fetoprotein in predicting preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 1998; 91: 940-944.
91. Hietala R, Pohja-Nylander P, Rutanen EM, Laatikainen T. Serum insulin-like growth factor binding protein-1 at 16 weeks and subsequent preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2000; 95:185-189.
92. Hietala R, Turpeinen U, Laatikainen T Serum homocysteine at 16 weeks and subsequent preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2001; 97: 527-529.
93. Florio P, Imperatore A, Sanseverino F, Torricelli M, Reis FM, Lowry PJ, Petraglia F. The measurement of maternal plasma corticotropin-releasing factor (CRF) and CRF-binding protein improves the early prediction of preeclampsia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: 4673-4677.
94. Jelkmann W Pitfalls in the measurement of circulating vascular endothelial growth factor. *Clin Chem.* 2001; 47: 617–623.

95. Lain KY, Powers RW, Krohn MA, Ness RB, Crombleholme WR, Roberts JM. Urinary cotinine concentration confirms the reduced risk of preeclampsia with tobacco exposure. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;181:1192-6.
96. Okanloma KA, Moodley J. Neurological complications associated with the pre-eclampsia-eclampsia syndrome. *Int J Gynecol Obstet.* 2000: 223-225.
97. Kendall RL, Thomas KA. Inhibition of vascular endothelial cell growth factor activity by an endogenously encoded soluble receptor. *Proc Natl Acad Sci. USA.* 1993; 90: 10705–10709.
98. Cho GJ, Roh GS, Kim HJ, Kim YS et al. Differential expression of placental growth factors and their receptors in the normal and pregnancy-induced hypertensive human placentas. *J Korean Med Sci.* 2003; 18: 402-8.
99. Tsatsaris V, Goffin F, Munaut C, Brichant JF et al. Overexpression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor in preeclamptic patients: Pathophysiological consequences. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88: 5555-5563.
100. Kupferminc MJ, Daniel Y, Englender T, Baram A, Many A, Jaffa AJ, Gull I, Lessing JB. Vascular endothelial growth factor is increased in patients with preeclampsia. *Am J Reprod Immunol.* 1997; 38: 302–306.
101. Belgore FM, Blann AD, Li-Saw-Hee FL, Beevers DG, Lip GY. Plasma levels of vascular endothelial growth factor and its soluble receptor (sFlt-1) in essential hypertension. *Am J Cardiol.* 2001; 87: 805-7.
102. He Y, Smith SK, Day KA, Clark DE, Licence DR, Charnock-Jones S. Alternative splicing of vascular endothelial growth factor VEGF-R1 (Flt-1) pre-mRNA is important for the regulation of VEGF activity. *Mol Endocrinol.* 1999; 13: 537-45.
103. Goldman CK, Kendall RL, Cabrera G, Soroceanu L, Heike Y, Gillespie GY et al. Paracrine expression of a native soluble vascular endothelial growth factor receptor inhibits tumor growth, metastasis, and mortality rate. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998; 95: 8795-800.