

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM

ANABİLİM DALI

**PREEKLAMPSİ PATOGENEZİNDE**

**PLASENTAL**

**APOPTOZİSİN YERİ**

**MÜRÜDE ÇAKARTO**

**UZMANLIK TEZİ**

**İZMİR-2008**

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM

ANABİLİM DALI

**PREEKLAMPSİ PATOGENEZİNDE  
PLASENTAL  
APOPTOZİSİN YERİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**MÜRÜDE ÇAKARTO**

Önsöz	i
Tablolar Çizelgesi	ii
Şekiller Çizelgesi	ii
Resim ve Grafikler Çizelgesi	ii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	4
I. GEBELİK VE HİPERTANSİYON	4
1.Gestasyonel Hipertansiyon	4
2.Kronik Hipertansiyon	4
3.Kronik Hipertansiyon Zemininde Gelişen Preeklampsi	5
4.Preeklampsi	6
5.Eklampsi	7
II. PREEKLAMPSİ PATOFİZYOLOJİSİ	8
III. PREEKLAMPSİ RİSK FAKTÖRLERİ	13
IV. PREEKLAMPSİ SINIFLAMASI	13
V. PREEKLAMPSİ ÖNGÖRÜSÜ	14
VI. PREEKLAMPSİNİN ÖNLENMESİ	18
VII. PREEKLAMPSİNİN KOMPLİKASYONLARI	19
HELLP SENDROMU	20
UTEROPLASENTAL DOLAŞIM	20
Bazal Plak (basal plate) ve Plasental Yataktaki Bulgular	21
APOPTOZİS	23
Hücre Morfolojisi	23
CASPASES	28
Apoptozis Yollarının Moleküler Temeli	30
Apoptozis Saptama Yöntemleri	32
Plasenta Ve Apoptozis	36
GEREÇ VE YÖNTEMLER	37
BULGULAR	41
TARTIŞMA	48
ÖZET	54
KAYNAKLAR	56

# ÖNSÖZ

Kadın hastalıkları ve doğum uzmanlık eğitimim boyunca, bilgi ve deneyimleri ile bu alanda yetişmemde katkı sahibi olan Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilimdalı öğretim üyeleri, Sayın hocalarım; Prof. Dr. Ata Önvural, Prof. Dr. Berrin Acar, Prof. Dr. Namık Demir, Prof. Dr. Turhan Uslu, Prof. Dr. Bülent Güleki, Prof. Dr. Cemal Posacı, Prof. Dr. Yakup Erata, Prof. Dr. Murat Celiloğlu, Doç. Dr. Uğur Saygılı, Doç. Dr. Sebahattin Altunyurt, Doç. Dr. Serkan Güçlü, Doç. Dr. Erbil Doğan, Öğr. Gör. Uzm. Dr. Bahadır Saatli'ye ve asistanlığımın başından bugüne değin geçen sürede birlikte çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum tüm uzman ve asistan arkadaşlarıma, servis, poliklinik, doğumhane, ameliyathane hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı hocam Sayın Prof. Dr. Turhan Uslu'ya teşekkür eder, ayrıca Prof. Dr. Candan Özoğül, Yar.Doç. Dr Çetin Pekçetin, Yar.Doç. Dr. Bekir Uğur Ergür, Öğr. Gör. Uzm. Dr. Başak Boykara'ya eşim Serkan Dağdelen ve emeği geçen tüm asistan arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Mürüde Çakarto

## TABLULAR

Tablo 1: Şiddetli preeklampsi kriterleri	13
Tablo 2: Nekroz ve apoptozisin kardinal özellikler	25
Tablo 3: Bcl-2 grubu proteinleri	31
Tablo 4: Anneksin-V pozitif, Propidyum iyodür negatif hücreler	33
Tablo 5 : Hastaların Demografik Verileri	41
Tablo 6: Sinsityotrofoblast hücrelerde caspase tutulumu	42
Tablo 7: Sinsityal kümelerde caspase tutulumu	43
Tablo 8: Ekstravillöz sitotrofoblastlarda caspase tutulumu	43
Tablo 9: Desidual ve stromal hücrelerde caspase tutulumu	44
Tablo 10: Sinsityotrofoblast hücrelerde bax tutulum	45
Tablo 11: Sinsityotrofoblast hücrelerde ve sinsityal kümelerde TUNEL tutulumu	46
Tablo 12: Ekstravillöz sitotrofoblastlarda TUNEL tutulumu	46
Tablo 13: Preeklampitik ve kontrol grubunda immunohistokimya	47
Tablo 14: Hastaların genel özellikleri	63

## ŞEKİLLER

Şekil 1 : İntervillöz aralığın kanlanması	21
Şekil 2 : Trofoblast hücre invazyonu	22
Şekil 3 : Nekroz ve apoptozda sıralı yapısal değişiklikler	24
Şekil 4: C.elegans'da apoptozisin kontrolünde yeni genler ve son terminoloji	26
Şekil 5: Memelilerin sitotoksik T-hücrelerinde apoptozisin kontrolü	28
Şekl 6: TUNEL Metodu ile apoptozis saptanması	33
Şekil 7 : ELISA yöntemi ile kaspas-3 tayini	33
Şekil 8 : Apoptotik hücrelerde fosfatidil serin dağılımı	34
Şekil 9: FITC-Anneksin V ile flow-cytometric tayin	35

## RESİM VE GRAFİKLER

Resim 1:caspase ile yapılan immunohistokimyada sitoplazmik tutulum izlenir	44
Resim 2:Bax ile yapılan immunohistokimyada sitoplazmik tutulum izlenir	45
Resim 3: TUNEL ile yapılan immunohistokimyada çekirdek tutulumu izleniyor	47

## **GİRİŞ VE AMAC**

Gebeliğin neden olduğu hipertansiyon maternal ve perinatal morbidite ve mortalitenin en önemli nedenlerindedir. Progressif olarak ilerler ve ancak doğumda plasenta ve eklerinin vücuttan ayrılması ile son bulur. Farklı oranlar bildirilmekle beraber tüm gebeliklerin %7-%10'unda görülür<sup>1</sup>. Preeklampsi, proteinüri, ödem ve sıklıkla diğer organ sistemi bozukluklarının eşlik ettiği, gebelikle oluşan bir hipertansiyon sendromudur. Bu durum gebe insana özgüdür ve en çok primigravidalarda görülür<sup>2</sup>.

Tanım olarak; gebeliğin 20. haftasından sonra , trofoblastik hastalık ve çoğul gebelik varlığında 20. haftadan önce, ortaya çıkan hipertansiyona ödem ve proteinürinin eklenmesine preeklampsi, preeklampsi tablosuna konvulziyonların eklenmesine eklampsi denir.<sup>3</sup> Erken tanı ile tedavisi veya buna bağlı komplikasyonların önlenmesi mümkün olabildiğinden fizyopatolojik mekanizması çözümlendiğinde tedavi alanında önemli bir gelişme kaydedilecektir.

Gebeliğin hipertansiyona nasıl neden olduğu veya kötüleştirdiği yıllardır yapılan yoğun çalışmalara rağmen hala çözüm beklemektedir. Bu nedenle hipertansif hastalıklar obstetrideki en önemli çözülmemiş problem olarak karşımıza çıkmaktadır<sup>4</sup>.

"Apoptozis" ya da "programlanmış hücre ölümü" (Apo-, sonlanma; -ptosis, düşme; yaprak dökümü), bir hücrenin tek başına, çevre doku ve hücrelerin hasarlanmasından etkilenmeden yaşamına son vermesidir<sup>5</sup>. Hücre ölümü ya "apoptozis" ya da "nekroz" ile olur. Nekroz dışarıdan gelen bir uyarı ile plazma membranında oluşan değişiklikler sonucu oluşur. Nekrotik hücre; şişme ve plazma membranının yıkılması sonucunda sitoplazmik içeriğini dışarıdaki doku aralığına salar. Hücrenin nekrotik artıkları inflamatuvar hücreleri dokuya çekerek bu dokunun parçalanmasına yol açar ve bu inflamasyon olarak bildiğimiz histolojiye neden olur.<sup>6,7</sup>

Apoptozisde biyokimyasal ve morfolojik yapı nekrozda görüldenden farklıdır. Apoptozis yaşamın ayrılmaz bir parçası olup, hem fizyolojik hem de patolojik olaylarda görülmektedir. Apoptozisin ayrıca bir çok hastalıkta rol oynadığı gösterilmiştir. Apoptozis; hücreye etrafından gelen yaşam uyarıları ve internal reseptörler arasındaki denge sayesinde hücrenin ölüme uğrayıp uğramamasına karar veren en önemli mekanizmalardan biridir. Eğer hücre, etrafındaki hücrelerle ilişkisini kaybederse veya içerisinde onarım yapamayacağı bir hasara

uğrarsa apoptozisi başlatır<sup>6,7</sup>.

Preeklampside normalde olması gereken, uterin arterlerin myometrial segmentlerindeki trofoblast migrasyonu olmaz. Böylece bu arterial segmentler tüm gebelik boyunca, adapte fizyolojik vasküler değişikliklerden etkilenmezler<sup>8</sup>. Bu hastalarda spiral arterlerin %50'sinden daha azında parsiyel yada inkomplet fizyolojik değişiklikler görülür<sup>9</sup>. Bu bulgular migratuar trofoblastlarla maternal uterin doku arasındaki etkileşimde defekt olduğuna işaret eder.

Bu etkileşimin azalmasının nedeni maternal dokuda artmış rezistans, trofoblastların invazyon yeteneğinin azalması yada her ikisi olabilir<sup>10</sup>. Mekanizma ne olursa olsun sonuçta geç ikinci trimester ve üçüncü trimesterin tamamında intervillöz mesafedeki kan desteği tehlikeye girer ve 1/3-1/2 oranında azalır<sup>10</sup>.

Preeklampsinin klinik bulguları ortaya çıktığında saptanan patolojik lezyon plasental yataktan uzakta, desidua bulunan uteroplental arterlerde görülür<sup>10</sup>. Tipik lezyon "akut ateroskleroz"dir. Arteriopati küçük desidual damarlarda fibrinoid tip nekroz ve çevrede toplanan değişken tarzda hücrelerle karakterizedir<sup>10,11</sup>. Ultrastriktürel çalışmalarda endotelial hasar, damar duvarına plazma sızıntıları, myointimal hücrelerin proliferasyonu, medial nekroz ve makrofajlarda lipid birikimi saptanmıştır<sup>4</sup>. Bu akut aterosklerozdaki immünolojik patogenez allograft rejeksiyonunda olan lezyonlara benzerlik göstermektedir. Ancak akut ateroskleroz genellikle trofoblast invazyonu olmayan arterlerde görülmektedir<sup>12</sup>.

Apoptozis trofoblast kültürlerinde indüklenebilmiş ve plasental villilerdeki trofoblastlarda tesbit edilebilmiştir. Trofoblastlar, anne ile bebek arasındaki gaz, besin maddeleri ve artık maddelerin değiş-tokuşunu düzenlerler, bu "anahtar yüzeydeki" apoptozis ve kontrol mekanizmalarının iyi anlaşılması normal plasental gelişim ve bazı riskli gebeliklerde (preeklampsisi, IUGR ...) olan plasental disfonksiyonunun nedenini açıklayabilir<sup>13,14,15,16,17</sup>.

Normal (komplikeşyonsuz bir gebeliğın) plasentadaki apoptozis ilk kez 1996'da gösterildiğinde<sup>18</sup> trofoblastlardaki programlı hücre ölümünü düzenleyen çevresel ve genetik nedenler hakkında çok az şey biliniyordu. 1997'de yapılan bir çalışmada, üçüncü trimesterdeki apoptozis insidansının ikinci trimestre göre daha fazla olduğunun saptanması ile plasental apoptozisin normal gelişimsel sürecin bir parçası olduğu gösterilmiştir.<sup>19</sup> Aynı şekilde preeklampsisi, IUGR ve EMR gibi komplikeşyonlu gebeliklerde de artmış apoptozis

saptanması dikkatleri plasenta ve plasentadaki apoptotik mekanizmalar üzerine çekmiştir<sup>17</sup>.

Bu projede amacımız preeklampsi patogenezinde plasental apoptozisin yerini araştırmaktır.



# **GENEL BİLGİLER**

## **I. GEBELİK VE HİPERTANSİYON**

Gebelikte hipertansiyon konusunda terminolojik farklılıklar ve karışıklıklar olması üzerine National High Blood Pressure Education Program Working Group 2000 gebelerde görülen hipertansiyonu 5 gruba ayırmıştır<sup>20</sup>:

- a.Gestasyonel Hipertansiyon
- b.Kronik Hipertansiyon
- c.Kronik Hipertansiyon Zemininde Gelişen Preeklampsi
- d.Preeklampsi
- e.Eklampsi

### **A- Gestasyonel Hipertansiyon**

Önceden gebeliğin indüklediği hipertansiyon veya geçici hipertansiyon olarak adlandırılıyordu. Gestasyonel hipertansiyon tanısı için kan basıncı 140/90 mmHg ya da daha fazla değere ilk defa gebelik sırasında yükselmiş olmalı, proteinüri eşlik etmemeli, ve postpartum 12. haftaya kadar kan basıncı değeri normal değerine dönmelidir. Bu yüzden gestasyonel hipertansiyon tanısı ancak doğumdan sonra mümkün olur.

Preeklampsinin başağrısı, trombositopeni, epigastrik hassasiyet gibi bulguları eşlik edebilir. Bu bulgular eşlik ederse hastada preeklampsi gelişme riski daha yüksektir<sup>21</sup>.

### **B- Kronik Hipertansiyon**

Kronik hipertansiyon tanısı koyabilmek için;

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

- Postpartum 12. hafta sonrasında da kan basıncının 140/90 mmHg üzerinde devam etmesi gerekmektedir<sup>21</sup>.

Kronik hipertansiyon genellikle multigravid, obez, 30 yaş üstü, diğer organ patolojileri (diabet, renal hastalık, SLE, v.b.) olan hastalarda sıktır. Etyolojisi multifaktöriyel olmasına karşın büyük bir kısmında hipertansiyon sebebi bilinmemektedir (esansiyel hipertansiyon). Hipertansiyonda güçlü bir aile hikayesi mevcuttur. Hasta gebe olsun veya olmasın kronik hipertansiyon ventriküler hipertrofi ve buna bağlı kardiovasküler yetersizlik, serebrovasküler olay ve böbrek hasarına neden olur ve önemli bir morbidite nedenidir<sup>21</sup>. Gebelikte kronik hipertansiyonu olan kadınlarda süperempoze preeklampsi, dekolman plasenta, fetal gelişme geriliği ve prematürite riski artmıştır<sup>21</sup>.

Eğer hasta 20. gebelik haftasına kadar görülmemişse kronik hipertansiyon tanısı koymak zorlaşır. Kan basıncı gebelikte özellikle 2.trimester ve 3.trimester başlarında düşmekte ve daha sonra tekrar yükselmektedir. Bu yüzden preeklampsi ve kronik hipertansiyon ayırımı yapılamaz. Ancak postpartum hipertansiyonun devam etmesi ile ayırıcı tanı yapılabilir.

### **C- Kronik Hipertansiyon Zemininde Gelişen Preeklampsi**

Kronik hipertansiyon tanısı konmuş bir gebede 20. gebelik haftasından sonra kan basıncının yükselmesi ve buna proteinüri eklenmesidir. Kronik hipertansif bir gebede preeklampsi gelişmesi, gebe için önemli bir tehlikedir. Kronik hipertansif gebelerin %25 ve fazlasında süperempoze preeklampsi görülür<sup>22</sup>. Ayrıca bu hastalarda plasenta dekolmanı riski de belirgin olarak artmıştır<sup>22</sup>.

Kronik hipertansiyonu olan gebeler tipik olarak 24. gebelik haftasından sonra daha da kötüleşir ve kronik hipertansiyon olmadan preeklampsi gelişen gebelere göre daha ağır seyreder<sup>21</sup>, Ayrıca kronik hipertansiyon zemininde preeklampsi gelişen hastalarda fetal gelişme geriliği insidansı daha fazladır<sup>21</sup>.

## D- Preeklampsi

Preeklampsi gebeliğe özgü, endotel disfonksiyonu ve vazospazma sekonder azalmış organ perfüzyonu ile seyreden bir durumdur. Chesley (1985), proteinürinin preeklampsinin önemli bir bulgusu olduğunu tanımlamıştır<sup>21</sup>.

### Preeklampsi tanı kriterleri<sup>23</sup>:

- 20 gebelik haftasından sonra daha önce normal kan basıncı ölçüleri olan kadında sistolik kan basıncının 140 mmHg ve üzeri ve/veya diastolik kan basıncının 90 mmHg ve üzerinde ölçülmesi
- 24 saatlik idrarda 300 mg ve üzerinde protein atılımı

Daha önceleri sistolik kan basıncının 30 mmHg, diastolik kan basıncının 15 mmHg ve üzerinde artışı preeklampsi tanısında kullanılan bir kriterdi. Ancak Levine ve ark. (2000) bu değerlerin sonuçlar üzerinde etkili bir prognostik faktör olmadığını göstermişlerdir<sup>24</sup>, Bunun üzerine Working Grup bu değerleri preeklampsi tanı kriterlerinden çıkarmış, ancak bu kadınların daha yakın takibini önermiştir<sup>20</sup>.

Kan basıncındaki günlük değişimler ve ikinci trimesterde kan basıncının düşüp sonradan yükselmesi, kronik hipertansif gebelerin yanlışlıkla preeklampitik olarak değerlendirilmesine yol açabilir<sup>21</sup>.

Preeklampside hipertansiyon, olguların erken ve kesin bulgusudur. Working Grup'a göre diastolik kan basıncı sesin kaybolduğu değerdir (Korotkof faz 5). Yanlış ölçümleri önlemek için uygun kaf kullanılmalıdır (üst kol çevresinin 1.5 katı). Kan basıncı hastanın 10 dakika veya daha fazla dinlenmesini takiben oturur pozisyonda alınmalıdır. Kan basıncı ölçümünden 30 dakika öncesine kadar, sigara veya kahve içilmemiş olmalıdır<sup>20</sup>.

Proteinüri glomerüler hasarın göstergesidir. Proteinüri dipstik veya sülfosalisilik asit ile ölçülmektedir. 24 saatlik idrarda 300 mg ve üstü protein saptanması, 6 saatlik veya daha fazla ara ile alınan en az 2 idrar örneğinde 1+'den fazla proteinüri olması patolojik proteinüri tanısı için yeterlidir<sup>23</sup>. Yapılan çalışmalarda dipstik ile tespit edilen protein düzeyi ve 24 saatlik idrardaki protein miktarı arasında

zayıf bir korelasyon vardır. O yüzden 24 saatlik idrarda protein miktarı proteinüri için ana belirleyici test olmalıdır<sup>20</sup>. Preeklampsi zaman zaman renal damarlardaki spazm ile karakterize bir durum olduğu için farklı idrar örneklerinde değişen miktarlarda protein bulunur. İdrardaki protein miktarı kan, bakteri, vaginal sekresyon ve amnion sıvısı kontaminasyonu ile değişebilir. Dansitenin 1010 altında ya da 1030 üstünde olması, pH'nın 8 üzerinde olması, egzersiz ve postür de proteinüri miktarını değiştirebilir<sup>21</sup>.

Ödem, serum kolloid onkotik basıncının düşmesi ve kapiller permeabilitenin artmasıyla oluşur<sup>25</sup>. Ödem, birçok normal gebe kadında görüldüğü için günümüzde tanılabilir kriter olmaktan çıkmıştır<sup>21</sup>.

## **E- Eklampsi**

Preeklampsi kadında yeni başlamış grand mal konvulsiyonların varlığı eklampsi olarak tanımlanır<sup>23</sup>. Doğumdan 48-72 saat sonra hastada ilk defa görülen grandmal konvulsiyonda tanı büyük olasılıkla eklampsidir. Konvulsiyon ve komanın başka nedenleri dışlanmalıdır. Önceki iki dekatta görülme sıklığı 1/700 iken günümüzde insidansı 1/2000-3250 arasındadır<sup>21</sup>.

Eklampside konvulsiyonlar tonik- klonik tiptedir ve doğumdan önce, doğum sırasında ve doğumdan sonra görülebilir. Konvulsiyonlar en çok doğumdan 48 saat sonra ve nulliplarlarda görülmesine rağmen postpartum 10.güne kadar görülebilir<sup>21</sup>. Eklampside mortalite oranı %14 civarında iken günümüzde azalmıştır. Mattar ve Sibai (2000), 399 eklampsi hastayı değerlendirmiş ve major komplikasyonları; %10 dekolman plasenta, %7 nörolojik defekt, %7 aspirasyon pnömonisi, %5 pulmoner ödem, %4 kardiyovasküler arrest, %4 akut böbrek yetmezliği, %1 maternal ölüm olarak tespit etmişlerdir<sup>21</sup>.

## II. PREEKLAMPSİ PATOFİZYOLOJİSİ

Preeklampsi patofizyolojisi, net olarak aydınlatılamamıştır. Patofizyolojisiyle ilgili olarak J. Whitridge Williams (1903), hastalığın kanda dolaşan zehirli bir maddeye bağlı olduğunu ve bu maddenin çeşitli organların küçük damarlarında tromboza yol açarak, organlarda dejeneratif nekrozla sonuçlanan bir patolojiye yol açtığını ileri sürmüştür<sup>21</sup>.

Preeklampsi-eklampsi patofizyolojisinin temeli vazospazmdır. Bu görüş ilk kez Valhard (1918) tarafından öne sürülmüş ve Hinselmann (1924), Landesman ve ark. (1954) bunu doğrulayan gözlemler yapmışlardır<sup>21</sup>. Günümüzde, damar endotel hasarı ve vazospazmın preeklampsi patofizyolojisinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Vazospazm ile kan akımına karşı direnç ve arter basıncında artış olur. Damar endotel hasarı ve vazospazm oluşumunda artmış presör cevap, prostoglandinler, NO, endotelin, vasküler büyüme faktörü, genetik predispozisyon, immünolojik faktörler, inflamatuvar faktörler ve sonuçta endotelial hücre aktivasyonu ile yakın ilişki gösterilmiştir<sup>23</sup>.

Gebelikte birçok fizyolojik değişiklik meydana gelir. Özellikle kardiovasküler değişikliklerle gebe kadında kan volümü ve kalp debisi artar. Arteriollerde dilatasyon oluşarak periferik direnç gebelik başlangıcından itibaren azalmaya başlar. Bu yüzden gebelikte arteriyel basınçta hafif bir düşme olur<sup>26</sup>.

Gebeliğin yabancı semi allojenik fetal grefte uyum sağlayabilmek için hümmoral ve hümmresel aracılı bazı immünolojik fonksiyonların supresyonuyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Gebelerde görülen bu fizyolojik değişiklikler, allograftın maternal dokuyla karşılaşmasından hemen sonra başlar. İmmünolojik bir tolerans gelişerek hem sistemik dolaşımında, hem de uteroplental kan akımında değişiklikler oluşur<sup>21</sup>.

Uterus kan akımı, asıl olarak uterin arter ile sağlanır. Uterin arter dalları, uterus etrafını sararak uterus çevresinde dairesel olarak dolaşan arkuat arterlere dönüşür. Arkuat arterler de radial arterlere dönüşerek myometriyumun 1/3 dış kısmına dik açı ile girerler. Bu damarlar, bazal ve spiral arterlere dönüşerek myometriyum ile gebelik süresince plasentanın desidua tabakasını ve intervillöz mesafesini beslerler. Gebelikte, fetus ve plasentanın oksijen ve besin ihtiyacının karşılanması için uterin kan akımı 10 kat artar. Bunun oluşabilmesi için spiral arterlerin fizyolojik değişimi gereklidir. Spiral arterlerin

uteroplasental arterlere dönüşümü, fizyolojik değişiklik olarak adlandırılmaktadır. Bu değişim iki aşamada meydana gelir. Birinci trofoblastik dalga invazyonu; 1.trimesterde spiral arterlerin desidual segmentlerini, ikinci trofoblastik dalga invazyonu ise 2 .trimesterde spiral arterlerin myometrial segmentlerini değiştirmektedir. Bunun sonucunda spiral arterlerin çapı 15-20 mikrondan 300-500 mikrona çıkmakta, intervillöz mesafede akım direnci azaltılarak yüksek akımlı hale gelmekte ve fetomaternal alışveriş arttırılmaktadır. Brosens ve ark. mikroskopik olarak plasental yatak biyopsisi ile yaptıkları çalışmada, spiral arterlerin sitotrofoblastik hücrelerce istila edildiğini ve bu arterlerde lümenin dilate olarak müküler dokunun tamamen kaybolduğu endotelial tabakada mural trombüs ve fibrinoid depolanmanın olmadığını göstermişlerdir. Preeklampside meydana gelen bu fizyolojik olaylar sadece arterin desiduada seyreden kısmında oluşur. Myometrium içindeki damarların invazyonu ve dilatasyonu oluşamaz. Bu yüzden gebeliğin ilerleyen dönemlerinde fetoplasental kan akımında artış olmaz ve preeklampitik gebelerde görülen fetal gelişme geriliği oluşur<sup>27,28,29</sup>.

Normal gebeler infüze edilen vazopresörlerden kolay etkilenmez. Preeklampitik gebelerin presörlere, özellikle anjiotensine karşı artmış vasküler duyarlılık gösterdiği gösterilmiştir<sup>21</sup>. Yine Cunningham ve ark.(1975), Gant ve ark. (1974) körelmiş presör cevap gelişiminde prostoglandin ve benzeri maddelerin vasküler endotelial sentezi ile ilişkili olduğunu düşündüren çalışmalar yapmışlardır.<sup>21</sup>

Normal gebelikte artmış prostaglandin üretimi vasküler tonus, kan basıncı ve sodyum dengesinde merkezi bir rol oynayabilir. Renal medullada prostaglandin E2 sentezi gebeliğin son dönemlerinde belirgin olarak artmıştır<sup>21</sup>.

Prostaglandin ve benzeri maddelerin hangi mekanizma ile gebelikte vasküler reaktiviteyi yönlendirdikleri tam olarak bilinmemektedir. Birçok çalışmada normal gebelerde antiagregan ve vazodilatatör prostaglandin I2 (prostosiklin)' nin arttığı, vazokonstrüktör ve agregan tromboksan A2'nin azaldığı gösterilmiştir<sup>21</sup>.

Ayrıca tromboksan A2 düzeyi ile preeklampsi şiddetinin doğru orantılı olduğu, tromboksan A2 reseptör sentezinin preeklampitik hastalarda arttığı gösterilmiştir<sup>30,31</sup>.

Normal gebelikle kıyaslandığında, preeklampside prostosiklin düzeyinin anlamlı olarak düştüğü, tromboksan A2'nin anlamlı olarak yükseldiği ve sonuçta vazokonstrüksiyonun geliştiği gösterilmiştir<sup>31</sup>.

Damar endotel tabakası kapiller transportu düzenler, mekanik ve metabolik bariyer görevi görür, damar çevresinde bulunan düz kasların aktivitesi yönetir ve hemostazda görev alır. NO, endotel hücreleri tarafından NO sentaz tarafından L-argininden sentezlenen vazodilatör bir maddedir. Gebeliğe bağlı hipertansif hastalıklarda, NO'nun yokluğu veya azalmış konsantrasyonunun rol oynadığı düşünülmektedir. Conrad ve Vernier (1989) NO geri çekilmesinin, gebe hayvanlarda preeklampsiye benzer bir klinik tablo oluşturduğunu göstermişlerdir. NO yıkım ürünlerinin, preeklampsi kadınlarda arttığı ve bunun uteroplasental üniteye azalmış kan akımı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir<sup>24</sup>. Morris ve ark.(1996) NO konsantrasyonundaki değişikliklerin hipertansiyonu kısırtan bir olaydan çok hipertansiyonun sonucu olduğunu düşünmüşlerdir<sup>21</sup>.

Endotel tabaka, pıhtı oluşmasının önlenmesinde etkilidir. Endotel vazodilatör maddeler salgıladığı gibi endotelin deney çok güçlü bir vazokonstriktör madde de salgılar. Endotelin seviyesi gebelikte artar<sup>21,31</sup>. Bazı çalışmalarda endotelin miktarının normal ve preeklampsi gebelerde farklılığı gösterilememiştir<sup>21</sup>. Bir çalışmada ise gebelik hipertansiyonu olan hastalarda amniyotik sıvıda endotelin-1 düzeyinin arttığı gösterilmiştir<sup>32</sup>.

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), insan plasentasında bulunan glikozillenmiş bir glikoproteindir. Vaskülogenez ve vasküler permeabilite kontrolünde önemlidir. Baker ve ark.(1995), preeklampsi kadınlarda VEGF serum değerini yüksek bulmuşlardır. Simmons ve ark.(2000), plasental VEGF artışı ile uteroplasental damar direncinde artışı ilişkili bulmuşlardır<sup>21</sup>.

Genetik predizpozisyon preeklampsi patogenezinde önemli yer tutmaktadır. Preeklampsi ve eklampsinin kalıtsal olabileceği yönünde çalışmalar vardır. Anne ve kızkardeşte preeklampsi varlığında preeklampsi görülme riski artar. Killpatrick ve ark. (1989), multifaktöriyel kalıtımın rolünü göstermiş; ancak Hayward ve ark.(1992) bunu doğrulamamıştır<sup>21</sup>.

Preeklampside immünolojik faktörler de önemli rol oynamaktadır. Krause ve ark.(1987) normal gebelerde polimorf nüveli lökositlerin kemotaksisi ve yapışma fonksiyonlarının 2. trimesterden başlayarak giderek azaldığını göstermiştir<sup>21</sup>. Gebe kadınlardaki bu immünolojik baskılanma bazı kadınlarda otoimmün hastalıklardaki düzelmeyi ve enfeksiyonlara daha kolay yakalanmayı kısmen açıklayabilir.

Preeklampside ise blokan antikorlar azalmakta, sitokinler ve nötrofiller aktive olmaktadır. Bardequez ve ark.(1991) preeklamptik kadınlarda yardımcı T hücre sayısının daha düşük olduğunu göstermiştir<sup>21</sup>.

Preeklampside HLA (Human Leukocyte Antigen) genotipiyle ilgili çalışmalarda HLA'nın artık etyolojik bir faktör olmadığı düşünülmektedir. Ancak bu çalışmalarda, çalışma metodu, sonuçlar ve değerlendirmelerde farklılık vardı. O yüzden maternal fetal HLA'nın preeklampsi riskine etkisini hedefleyen yeterince güçlü çalışmalara ihtiyaç vardır<sup>33</sup>.

Nulliplarlarda daha sık izlenmesi, partner değiştirenlerde sıklığının azalması immünolojik görüşü destekler<sup>21</sup>.

Preeklampside görülen nötrofil aktivasyonu, immünolojik mekanizmalara sekonder başlayabilir. Desidua, farklı etkileri olan medyatör salgılayacak çok sayıda hücre içermektedir.

Preeklampsinin, gebeliğin generalize maternal intravasküler adaptasyonu sonucu oluştuğu hipotezi son yıllarda ağırlık kazanmıştır<sup>34</sup>. Hayashi (2003) sistemik sitokin dengesizliği ve sistemik immün maladaptasyonun preeklampsi patogenezinde önemini göstermiştir<sup>35</sup>. Faas ve ark.(2000), Gervasi ve ark.(2001) preeklampsinin dolaşımdaki lökositlere bağlı olduğunu düşünmüşlerdir<sup>21</sup>.

Ancak, CRP düzeylerine bakılarak preeklampsi gelişen kadınlarda maternal inflamatuvar cevaba bakılmış ve kontrol grubu ile anlamlı bir fark bulunamamıştır<sup>36</sup>.

Gebelik ,oksidatif stres durumudur. Oksidatif stres patlamasıyla ilk trimesterde intervillöz sahaya kan akımı sağlanmaktadır. Preeklampside geç gebelik döneminde etkin antioksidan defansın yetersizliği görülmüş ve bunun trofoblast apoptozisi ve plasental vasküler reaktivitede değişikliğe yol açtığı düşünülmüştür. Preeklampsi ve fetal gelişme geriliği gibi durumlarda reaktif oksijen radikallerinin daha fazla üretildiği de gösterilmiştir<sup>37</sup>.

Sonuçta inflamatuvar reaksiyonlar TNF- $\alpha$  ve interlökinler oksidatif stresse yol açabilirler. Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidlerin oluşumuna yol açar. Bu da endotel hasarına yol açan oldukça toksik radikallerin oluşumuyla sonuçlanır. Bu tip bir hasar NO'in endotelial hücrelerce üretimini azaltır ve prostoglandin dengesini bozar<sup>38</sup>.



Oksidatif stresin diğler sonuçları arasında; aterosisin karakteristik bulgusu olan lipid yüklü makrofajların (köpük hücreleri) üretimi, mikrovasküler koagülasyonun aktivasyonu (trombositopeni) ve artmış kapiller permeabilite (ödem ve proteinüri) sayılabilir<sup>21,39</sup>.

Oksidatif stresin etkilerini gösteren çalışmalar gebeliğe bağılı hipertansif hastalıkları önlemede antioksidan tedaviye olan ilgiyi arttırmış ve E vitamini, C vitamini ve  $\beta$ -karoten ile ilgili çalışmalar yapılmıştır<sup>21</sup>.

Sigara ve preeklampsi ilişkisi birçok kez araştırılmıştır . Sigara içmenin ağır ve hafif preeklampsi riskini azalttığı; ancak preeklampitik kadınlarda, günde 10 tane ve daha fazla sigara içmenin perinatal mortalite, dekolman plasenta ve fetal gelişme geriliğini artırdığı gösterilmiştir<sup>40</sup>.

Trombofilik faktörlerle preeklampsi ilişkisi birçok çalışmada gösterilmeye çalışılmıştır. İlk kez Dekker ve ark.(1995) tarafından incelenmiştir. Dekker ve ark., erken başlangıçlı ağır preeklampitik hastalarda tromboza yol açabilecek hemostatik veya metabolik anormallikleri araştırmış, hastalarda protein S eksikliği, aktive protein C rezistansı, hiperhomosisteinemi, antikardiolipin antikorları varlığı ile ilişkisini bulmuş ve hastaların bu yönden taranması gerektiğini belirtmiştir<sup>41</sup>. Yapılan bir çalışmada, faktör V Leiden mutasyonu ve protrombin gen mutasyonunun fetal gelişme geriliğine yol açtığı gösterilmiş, muhtemel nedenin de plasental iskemi olduğu varsayılmıştır<sup>35</sup>.

Düşük molekül ağırlıklı heparin (LMWH) kullanımının trombofilili gebelerde preeklampsiyi ve kötü sonuçlarını azalttığı gösterilmiştir<sup>42</sup>.

Preeklampsi patogenezinde, hiperhomosisteinemi de yer almaktadır. Tek başına hiperhomosisteinemi, preeklampsi patofizyolojisindeki olaylara yol açabilir.

Sonuç olarak bugünkü bilgiler ışığında endotel hücre aktivasyonu preeklampsi patogenezinde temel noktadır. Hayman ve ark.(2000), Ness ve Roberts (2000), Walker (2000), çalışmalarında endotel hücre fonksiyonlarındaki değişiklikler sonucu preeklampsi klinik bulgularının ortaya çıktığını göstermişlerdir<sup>21</sup>.

### III. PREEKLAMPSİ RİSK FAKTÖRLERİ<sup>23</sup>

- Daha önceki gebeliğinde preeklampsi veya eklampsi hikayesi
- Nulliparite
- İleri anne yaşı (40 yaş üstü)
- Çoğul gebelik
- Kronik hipertansiyon
- Kronik renal hastalık
- Genetik (anne ve/veya kızkardeşte preeklampsi öyküsü varsa, risk artar.)
- Diabetes mellitus
- Antifosfolipid sendromu
- Non-immun hidrops fetalis
- Gestasyonel trofoblastik hastalı

### IV. PREEKLAMPSİ SINIFLAMASI

Preeklampsi kendi içinde hafif ve şiddetli olarak iki formda değerlendirilebilir.

**Tablo 1** 'de farkları belirtilmiştir.<sup>21</sup>

**Tablo 1:** Şiddetli preeklampsi kriterleri.

ANORMALLİK	HAFİF	ŞİDDETLİ
Diyastolik kan basıncı	<100mmHg	≥110mmHg
Proteinüri	İsordan 1+’e kadar	≥2+
Baş ağrısı	Yok	Var
Görme bozukluğu	Yok	Var
Üst abdominal ağrı	Yok	Var
Oligüri	Yok	Var
Kanvuliziyon	Yok	Var (eklampsi)
Serum kreatinin	Normal	Yüksekliği
Trombositopeni	Yok	Var
Kanışıklı serum yüksekliği	Minimal	Belirgin
Total büyüme geriliği	Yok	Belirgin
Pulmoner ödeme	Yok	Var

Renal tutulum ağır olduğu zaman, renal damar vazospazmı ve glomerüler filtrasyondaki azalmaya bağlı olarak plasma kreatinin seviyesi artar. Plasma ürik asit konsantrasyonu, ağır preeklampitik hastalarda daha fazla olmak üzere yükselmiştir<sup>2</sup>.

Proteinüri, preeklampitik hastalarda glomerüler lezyonlara bağlıdır ve geç dönemde ortaya çıkar. Ferrazzani (1990), hipertansiyonun proteinüri ile birlikteliğinin perinatal mortalite ve morbidite riskini artırdığını göstermiştir<sup>21</sup>.

Karaciğer enzim artışı ve epigastrik ağrı ise hepatoselüler nekroz, iskemi ve ödemden kaynaklanır. İskemi sonucu infarkt hatta subkapsüler kanama oluşarak şiddetli ağrıya yol açabilir ve nadir de olsa karaciğer rüptürü izlenebilir<sup>1</sup>.

Trombositopeni ise endotel aktivasyonu sonrası oluşan vazospazm ve sonucunda trombosit aktivasyonu ve agregasyonu ile seyreden mikroanjiopatik hemoliz nedeniyledir<sup>21</sup>. Mikroanjiopatik hemoliz nedeniyle hemoglobinemi, hemoglobinüri ve hiperbilirubinemi oluşması hastalığın ağırlığını gösterir<sup>1</sup>.

Görme bozukluğu preeklampside izlenebilir. Ancak körlük sık izlenen bir bulgu değildir ve geçicidir. Retinal arter vazospazmı ve retina dekolmanı körlük etyolojisinde sorumlu tutulan iki faktördür<sup>21</sup>.

Preeklampitik hastalarda eklampsi gelişiminin nedeni tam olarak bilinmemektedir. Eklampside serebral kan akımında değişiklik olmaktadır. Patofizyolojik olayın serebral vazospazm olduğu düşünülmektedir<sup>2</sup>.

## V. PREEKLAMPSİ ÖNGÖRÜSÜ

Preeklampsinin önceden tahmini için bazı testler kullanılmaktadır:

**1- Kan basıncı ölçümü:** Kan basıncı; alet, obezite, anksiyete, dinlenme süresi, ölçen kişi, pozisyon ve sigara içimi ile etkilenir. 9.-20. gebelik haftaları arasında 983 gebeyi kapsayan bir çalışmada diastolik kan basıncı 85 mmHg ve üzeri olan gebelerde spesifite %95, pozitif prediktivite %39 olarak bulunmuştur<sup>43</sup>.

Bu yüzden tek başına kan basıncı ölçümü tarama testi olarak kullanılmamalıdır.

**2- Anjiotensin infüzyon testi:** Bu testte diyastolik kan basıncında 20 mmHg artış oluşana kadar anjiotensin 2 infüzyonu yapılır. 8 ng/kg/dk' dan az infüzyona gerek

duyan kadınlar preeklampsi için risk altındadır. %20-40 arasında pozitif prediktif değeri vardır. Test ilk kez Assali tarafından uygulanmıştır.

Zaman alıcı ve komplike olması uygulama açısından güçlük oluşturur. Yanlış negatiflik oranı yüksektir. Klinik pratikte kullanımının yeri günümüzde yoktur<sup>21</sup>.

**3- Roll-over testi:** İlk kez Gant ve ark. sol yan olarak yatırdıkları 28-32 haftalık gebeleri sırt üstü yatırıp diastolik kan basınçlarını ölçmüşler, bu manevra ile 20 mm hg ve daha fazla yükselmeyi pozitif kabul etmişlerdir. Pozitif test bulgusu olan kadınların çoğu sonradan gebeliğe bağlı hipertansiyon geliştirmişlerdir. Sensitivite %0-90, spesifite %24-91, negatif prediktif değer %85-90 bulunmuştur. Preeklampsi gelişen kadınlarda ise pozitif prediktif değer %33'tür (Dekker ve ark. 1990). Roll-over testi basit olmakla beraber prediktivitesi düşük bir testtir<sup>21</sup>.

**4- Serum ürik asit tayini:** Preeklampside renal damarlarda vazospazm ve glomeruler fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak maternal kanda ürik asit artar. Sibai ve ark.(1990) ürik asit yüksekliğinin hastalığın şiddeti ile korele olduğunu ve bu değerlerin perinatal sonuçlarla ilişkili olmadığını göstermiştir<sup>44</sup>. Williams(2002) serum ürik asit düzeyinin preeklampitik ve gebelik hipertansiyonu olan olgularda yükseldiğini, ancak maternal ve fetal komplikasyonların ağırlığını göstermede iyi bir prognostik faktör olmadığını göstermiştir<sup>45</sup>.

**5- Fibronektin düzeyi:** Fibronektin endotelin bazal tabakasında bulunan ve endotel hasarı ile miktarı artan bir maddedir. Preeklampsi patogeneğinde endotel hasarına bağlı olarak yükseldiği düşünülmektedir. Paalberg ve ark.(1998) 347 sağlıklı nullipar kadında 2. trimester fibronektin seviyelerini ölçmüş ve testin duyarlılığını %69 ve pozitif prediktif değerini %12 bulmuştur<sup>21</sup> Xiong ve ark. (2001) plazma fibronektin düzeyinin preeklampside özellikle fetal büyüme geriliği gelişmişse anlamlı olarak yükseldiğini göstermiştir<sup>46</sup>. Ayrıca fibronektinin gebelik kan basıncıyla ilgili olduğu, preeklampsi gelişen kadınlarda 16. gebelik haftasında bile daha yüksek olduğu ve organ tutulumu olan vakalarda daha da yüksek düzeyde olduğu gösterilmiştir<sup>47</sup>.

**6- Plasma antitrombin III düzeyi:** Antitrombin 3 serin proteaz inhibitör ailenin bir üyesi olup karaciğerde sentezlenir. Trombine bağlanarak trombinin fibrinojen üzerine etki etmesini engeller. Ayrıca faktör 10 ve 12'yi inhibe ederek antikoagülan etki oluşturur. Yapılan çalışmalarda preeklampitik gebelerde antitrombin 3 düzeyinin

belirgin olarak düşük olduğu gösterilmiştir. Ancak bu düşüş hastalığın ağırlığının belirlenmesinde önemlidir ve geç bir bulgudur. Bu yüzden erken tanı testi olarak kullanımı uygun değildir<sup>21</sup>.

**7- İdrar kalsiyum ölçümü:** Preeklampsi ile hipokalsiüri birlikteliği bir çok çalışmada gösterilmiştir. Ayrıca kalsiyumun diyetle alımındaki yetersizlik preeklampsi patogenezinde suçlanmıştır<sup>48</sup>. Preeklamptik gebelerde idrar kalsiyumu anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Ancak günümüzde daha geniş randomize kontrollü araştırmalara ihtiyaç vardır.

**8- Üriner kallikrein atılımı:** Kallikrein vazospazma yol açan ve kan basıncını düzenleyen bir peptiddir. Kallikrein azalmış atılımının preeklampsi oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir. Testin prediktif değerini yüksek bulan çalışmalar yanında bu bulguları desteklemeyen çalışmalar da vardır<sup>21</sup>.

**9- Atrial natriüretik peptid(ANP) düzeyi:** Atrial natriüretik peptid atriumların myokardial hücrelerinden salgılanır. Tuz ve su tutulumunu artırarak renin aldosteron sentezini azaltır. Sonuçta vazokonstrüksiyonu inhibe eder. Preeklamptik gebelerde atrial natriüretik peptid artışını gösteren çalışmalar vardır. ANP'nin preeklamptik gebelerde hipertansiyonu engellemek için artığı düşünülmektedir<sup>49</sup>.

**10- Oksidatif stress markerlarının aktivitesi ve düzeyi:** Gebelik, plasental mitokondrial aktivitenin arttığı, özellikle süperoksit anyonları olmak üzere reaktif oksijen türlerinin artışının izlendiği oksidatif stresin arttığı bir durumdur. Preeklampsi ise bu reaktif oksijen ürünlerinde aşırı artışın olduğu bir durumdur. Oksidatif stress markerları arasında malonilaldehid, demir , trigliseridler, serbest yağ asitleri, lipoproteinler vardır<sup>21</sup>.

**11- İmmünolojik faktörler:** İmmün hücrelerden çeşitli mediatörler salgılanarak allograftın reddi önlenmeye çalışılır. Preeklamptik kadınlarda bu mediatörlerin çoğu yükselmiştir (interferon, interlökinler, TNF). Preeklamptik hastalarda TNF $\alpha$ , İnterlökin-1 ve İnterlökin-10 değerlerinin yüksekliği ve bu yüksekliğin de, preeklampside global endotel disfonksiyonu ile ilişkili olduğu ve plasental hipoksiye yol açtığı düşünülmüştür<sup>50</sup>. Yine interlökin-4 düzeyinin ilk trimesterde normotansif kadınlarda yüksek olduğu, ancak gebeliğin 2. yarısından itibaren yüksekliğinin preeklampsi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir<sup>51</sup>.

**12- Plasental peptidler:** Placenta kaynaklı çok sayıda peptid bulunmaktadır. PAP-A , HPL, Pregnancy spesifik beta 1 glikoprotein(SP1) düzeylerinin 17. hafta gibi erken 2. trimesterde azalmış düzeyi preeklampsi ile ilişkili bulunmuştur<sup>52</sup>. İnhibin-A ve Aktivin-A, plasentadan salgılanan dimerik glikoproteinlerdir ve preeklampsi ve gebelik hipertansiyonu olan kadınlarda serum seviyeleri anlamlı olarak artmıştır<sup>53,54,55,56</sup> Bir çalışmada da serum İnhibin-A düzeyinin preeklampsi ve gebelik hipertansiyonu olan grupta kontrol grubuyla anlamlı bir fark göstermediği ancak fetal büyüme geriliği olan olgularda kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu izlenmiştir<sup>57</sup>.

Leptin adiposit kökenli bir hormondur. Plasental trofoblastlarca da salgılandığı gösterilmiştir. Ağır preeklampside leptin gen ekspresyonu artar. Maternal leptin seviyesinin ortalama kan basıncı ile iyi korele olduğu, ayrıca fetal gelişme geriliği olan preeklampsi gebelerde gelişme geriliği olmayan preeklampsi gebelere göre daha yüksek düzeyde olduğu gösterilmiştir<sup>58</sup>. Ancak Tomaselli ve ark.(2004) leptin düzeyi ile preeklampsi gelişmesi arasında hiçbir ilişki gösterememiştir<sup>59</sup>.

**13- Homosistein:** Yapılan birçok çalışmada plazma homosistein düzeyinin preeklampsi kadınlarda yüksek olduğu gösterilmiştir (68-71).<sup>60,61,62,63</sup> Artmış homosistein düzeyi ile spontan düşük, fetal büyüme geriliği ve nöral tüp defekti riski artar. Son çalışmalarda preeklampsi hiperhomosisteineminin bir komplikasyonu olarak görülmektedir.

Erken tarama testi olarak henüz protokolde yer almamaktadır ve geniş araştırmalara gereksinim vardır.

**14- Doppler Ultrasonografi Kullanımı:** Günümüzde prenatal olarak fetustaki patolojilerin saptanması perinatal morbidite ve mortaliteyi azaltmıştır. Renkli Doppler Ultrasonografi noninvaziv tekrarlanabilir bir inceleme yöntemidir. Gebelik sırasında uteroplacental ve fetal dolaşımdaki fizyolojik ve patolojik değişikliklerin gösterilmesinde yardımcıdır. Bewley (1991) ve Chapel (1998) uterin arter impedansının 2. trimesterde ölçümünü, preeklampsinin erken tanınması amacıyla kullanmışlardır. Doppler kullanma sebepleri ise preeklampsi hastalarda yetersiz trofoblastik invazyon ve uteroplacental kan akımında azalma olduğunun düşünülmesidir<sup>21</sup>.

Doppler Ultrasonografi preeklampsi gebelerde ve fetal gelişme geriliğinde yaygın olarak kullanılır Schwarze ve ark. (2005) 23-26. haftalar arası uterin arter Doppler bulgularının preeklampsi, fetal gelişme geriliği, placenta dekolmanı gibi gebeliğin kötü

sonuçlarını önceden belirlemede prediktif olduğunu göstermiştir<sup>64</sup>.

Ancak 2. trimester Doppler ultrasonografinin düşük risk grubunda olan gebelerde gebelik komplikasyonlarını ve dolayısıyla preeklampsiyi saptaması düşük pozitif prediktif değere sahiptir. O yüzden yüksek risk grubunda olan gebelerde kullanımı önerilmektedir<sup>65</sup>.

## VI. PREEKLAMPSİNİN ÖNLENMESİ

Preeklampsi gelişmesini önlemek ve insidansını azaltmak için birçok klinik çalışma yapılmıştır. Ancak hastalığın etyolojisinin multifaktöriyel olması ve tam olarak bilinmemesi nedeniyle yapılan tedavilerin hiçbiri hastalığı önlemede tam olarak etkili değildir<sup>66</sup>.

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

**Diyetin düzenlenmesi:** Preeklampsiyi önlemede bilinen en eski yöntem sodyum kısıtlamasıdır . Ancak yapılan randomize kontrollü klinik çalışmalarda sodyum kısıtlayıcı diyetin, gebelikte görülen hipertansiyonu önlemede etkisiz olduğu gösterilmiştir (1998 Knuist).

İlk kez Belizan (1989) diyetle kalsiyum alımında azlığın gebeliğe bağlı hipertansif hastalık gelişiminde etkili olduğunu göstermiştir. Preeklampside hiperparatiroidizm gelişmesi ile iyonize kalsiyumun artarak düz kaslarda kasılmaya ve bunun da kan basıncında artmaya yol açtığı gösterilmiştir. Diyetle verilen kalsiyum ile hiperparatiroidinin önlendiği düşünülmektedir<sup>21</sup>. Bucher (1996) preeklampsinin önlenmesinde kalsiyumun etkili olduğunu göstermiştir. Ancak Levin ve ark. (1997), 4589 sağlıklı nullipar hastayı kapsayan çalışmada diyetle günde 2 gr kalsiyum ve plasebo vermiş, verilen kalsiyumun gebelikte görülen hipertansif hastalıkların hiçbirinin engellemediğini göstermişlerdir<sup>21</sup>. Yine Sibai (1998) ve Crowther (1999) kalsiyumun etkisiz olduğunu göstermiştir (75,76).<sup>67,68</sup> Preeklampsinin önlenmesinde kalsiyum alınması önerilmemektedir<sup>23</sup>.

Diyetle balık yağı kapsülleri verilerek dışardan esansiyel yağ asidi verilmiş ve prostoglandinlerin dengesini prostosiklin yönüne çekmek amaçlanmış ancak etkili olduğu gösterilememiştir<sup>69</sup>.

**Düşük doz aspirin:** Aspirin düşük dozlarda trombositlerde tromboksan-A<sub>2</sub> sentezini selektif olarak baskılamakta ve bu etkisini siklooksijenazı irreversibl inhibe ederek yapmaktadır.

Günlük 60-100 mg aspirin desteğinin preeklampsiyi önlemede etkili<sup>21,70,71</sup> ve etkisiz olduğunu gösteren çalışmalar vardır<sup>21,72</sup>.

Vainio ve ark. (2002) aspirin kullanımının preeklampsi ve gebelik hipertansiyonu insidansını anlamlı olarak azalttığını göstermişlerdir. Özellikle 37. gebelik haftası öncesi preeklampsi görülme insidansı belirgin olarak azalmıştır<sup>71</sup>.

Yapılan çalışmalarda düşük risk grubunda olan hastalarda düşük doz aspirin kullanımı preeklampsiyi önlemede etkisiz bulunmuş, ancak yüksek riskli hastalarda etkili olduğu ve bu hasta grubunda kullanılabileceği belirtilmiştir<sup>23</sup>.

Düşük doz aspirin kullanımına 14.-16. gebelik haftaları arasında başlanması önerilmektedir ve düşük doz aspirinin hem anne hem de fetusta güvenli olduğu düşünülmektedir<sup>72</sup>.

**Antioksidan tedavi:** Preeklampside oksidatif strese maruz kalınmaktadır. Yapılan çalışmalarda E vitamini ve C vitamini verilmesinin endotel hücre aktivasyonunu azaltarak preeklampsi insidansında azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. Chappell (1999) günlük 1000 mg C vitamini ve 400 mg E vitamininin preeklampsiyi önlediğini göstermiştir<sup>67</sup>. Ancak bunun için daha geniş randomize kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

## VII. PREEKLAMPSİNİN KOMPLİKASYONLARI

**1-Fetal Komplikasyonlar:** Fetal gelişme geriliği, perinatal ölüm (dekolman plasentaya bağlı), prematüre doğum, oligohidroamnios, fetal asfiksi.

**2-Maternal Komplikasyonlar:** Konvülsiyonlar, akut böbrek yetmezliği, kalp yetmezliği, pulmoner ödem, intrakranyal kanama, körlük, karaciğer subkapsüler hematomu ve rüptürü, trombositopeni, dissemine intravasküler koagülasyon, HELLP sendromu.



## HELLP SENDROMU

İlk kez Weinstein 1985'te tanımlamıştır. Ciddi karaciğer tutulumu ile birlikte endotel hasarına bağlı trombosit agregasyonu ve mikroanjiopatik hemolitik anemi ile karakterizedir. Tüm preeklampdiklerin %2-12'sinde, ağır preeklampsi ve eklampsi olgularının %20'sinde tespit edilmiştir (Sibai 1993)<sup>21</sup>. Olguların %70'inde antepartum, %30'unda postpartum görülür. Hastaların çoğu 27.-36. gebelik haftaları arasındadır<sup>21</sup>.

HELLP sendromu; Hemoliz-H (hemolysis) , karaciğer enzim yüksekliği- EL (elevated liver enzym), düşük platelet sayısı-LP (low platelets) ile karakterize bir durumdur.

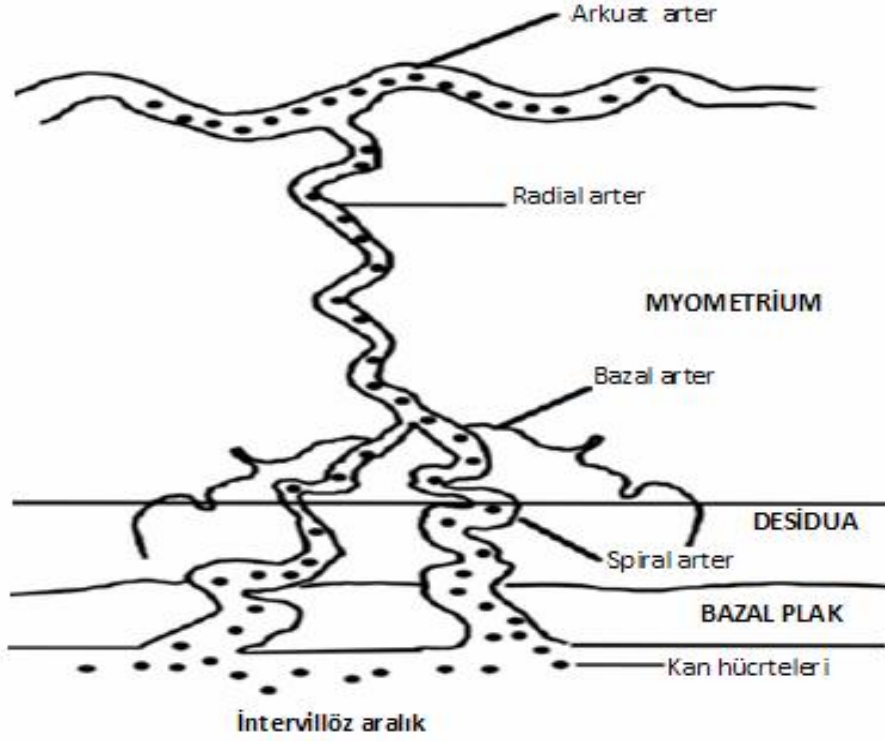
### HELLP sendromu komponentleri:

- SGOT ve SGPT >70U/L
- Düşük trombosit sayısı<100000
- Hemoliz: Anormal periferik yayma , 600 IU üzerinde LDH ve bilirubin düzeyinde artma(>1.2 mg/dl)
- Bulantı, kusma, şiddetli epigastrik ağrı. Sıklıkla sağ üst kadranda ağrısı tabloya eşlik eder.

## UTEROPLASENTAL DOLAŞIM

Plasental gelişimin erken dönemlerinde sitotrofoblastlar sinsityotrofoblastları penetre ederek sitotrofoblast kolonlarını oluştururlar. Sitotrofoblastlar desidual migrasyona devam ederek spiral arterlere invaze olurlar (Şekil 1)<sup>8</sup>. İnvaze trofoblastlar önce damar duvarında tıkanma daha sonra da retrograd yayılımla damar duvarı boyunca genişleyip endotel hücrelerinin yerini alırlar ve fibrinoid materyalle birleşirler. İlk başta oluşan endovasküler trofoblastik tıkaçlar erken dönemde düşük kan akımı sistemi olan embriyoyu aşırı kan akımı olan maternal sirkülasyondan korumak için bir valv görevi görür. İkinci trimester başından itibaren bu tıkaçlar ortadan kalkıp büyüyen fetus için gerekli intervillöz akım oluşur<sup>8,73</sup>. Arterlerin medial elastik, müküler ve nöral doku destriksiyonu ile maternal vazomotor kontrol ortadan kalkar, arterler gevşek kesecikler haline gelir ve artmış kan akımı sağlanır. Bu olayların tümüne "adapte fizyolojik vasküler değişiklikler" denir. Arterial transformasyondaki

yetersizlik kondüktans azalması ve plasentanın kötü perfüzyonuna yol açar. Villöz ağacın gelişmesi ve büyümesi etkilenir. Bu da klinikte abortus, ölü doğum, intrauterin büyüme geriliği ve preeklampsiye yol açabilir<sup>8,73,74</sup>.



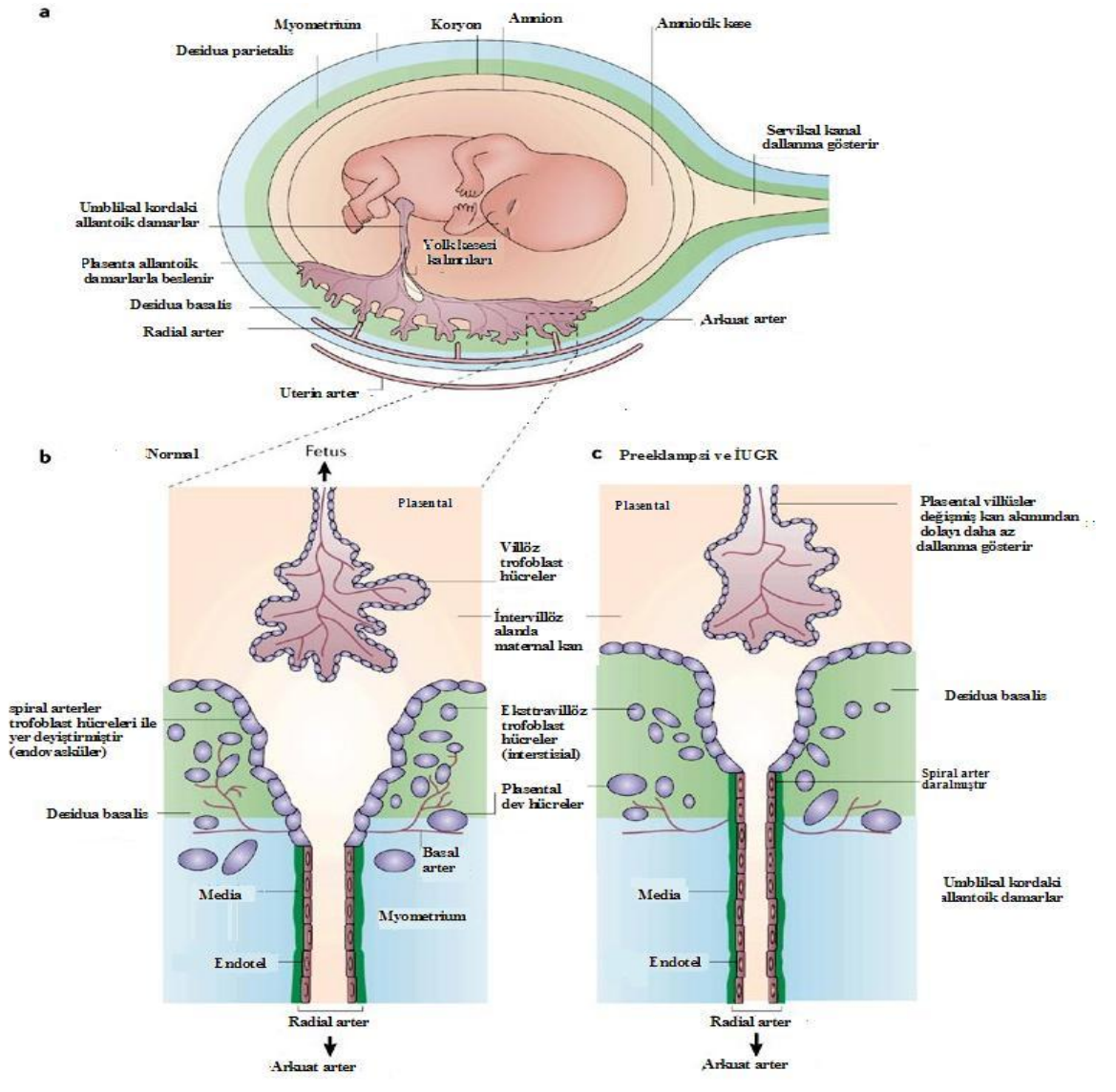
Şekil 1: Intervillöz aralığın kanlanması

### **Bazal Plak (basal plate) ve Plasental Yataktaki Bulgular:**

Preeklampside normalde olması gereken, uterin arterlerin myometrial segmentlerindeki trofoblast migrasyonu olmaz. Böylece bu arterial segmentler tüm gebelik boyunca, Şekil 2'de gösterildiği gibi, adapte fizyolojik vasküler değişikliklerden etkilenmezler<sup>73</sup>. Bu hastalarda spiral arterlerin %50'sinden daha azında parsiyel yada inkomplet fizyolojik değişiklikler görülür<sup>9</sup> Bu bulgular migratuar trofoblastlarla maternal uterin doku arasındaki etkileşimde defekt olduğuna işaret eder.

Bu etkileşimin azalmasının nedeni maternal dokuda artmış rezistans, trofoblastların invazyon yeteneğinin azalması yada her ikisi olabilir. Mekanizma ne olursa olsun sonuçta geç ikinci trimester ve üçüncü trimesterin tamamında intervillöz mesafedeki kan desteği tehlikeye girer ve 1/3-1/2 oranında azalır<sup>10</sup>.

Preeklampsinin klinik bulguları ortaya çıktığında saptanan patolojik lezyon plasental yataktan uzakta, desiduada bulunan uteroplental arterlerde görülür<sup>10</sup>. Tipik lezyon "akut aterosiz"tir. Arteriopati küçük desidual damarlarda fibrinoid tip nekroz ve çevrede toplanan değişken tarzda hücrelerle karakterizedir<sup>10,11</sup>. Ultrastriktürel çalışmalarda endotelial hasar, damar duvarına plasma sızıntıları, myointimal hücrelerin proliferasyonu, medial nekroz ve makrofajlarda lipit birikimi saptanmıştır<sup>4</sup>. Bu akut aterosizdeki immünolojik patogenez allograft rejeksiyonunda olan lezyonlara benzerlik göstermektedir. Ancak akut aterosiz genellikle trofoblast invazyonu olmayan arterlerde görülmektedir<sup>12</sup>.



**Şekil 2:** Trofoblast hücre invazyonu yetersiz olduğunda spiral arterlerin eksik transformasyonu oluşur. Kan akımının bozulması plasental villus dallanmasını bozar bu da fetusun gelişimini bozar.

## **APOPTOZİS**

Apoptozis, organizma tarafından düzenlenen enerji bağımlı hücre ölümüdür. Doku homeostazının korunmasında kritik bir role sahiptir. Fazladan olan ve disfonksiyonel hücrelerin yok edilmesi için varolan normal bir fonksiyonu temsil etmektedir.

Apoptozis ilk kez 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie tarafından tarif edilmiştir. Kerr ve arkadaşları hücre ölümlerini morfolojik olarak takip ederken, ölen hücrelerin parçalandığını ve bu parçaların tekrar membranla kaplanarak daha küçük küreciklere dönüştüğünü ve bunlarında makrofajlar tarafından fagosite edildiğini görmüşlerdir. Apoptozis Yunanca'da "düşmek" anlamına gelmektedir ve Homer tarafından ağaçların sonbaharda yaprak dökümünü andırdığı için, hücre kaybını belirtmek amacı ile kullanılmıştır.

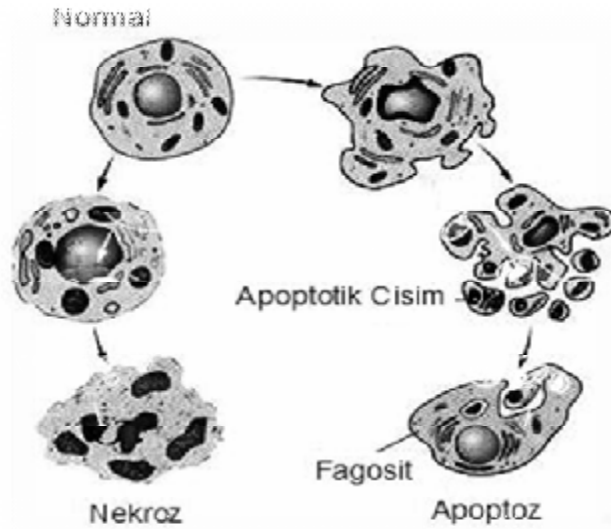
Apoptozis programlı hücre ölümüdür ve normal dokuların homeostazı açısından önemlidir. Normal embriyonik gelişimde hücrelerin fokal delesyonunda da işlev görmektedir. Apoptotik hücre ölümünün kanser dışında da pek çok durumda potansiyel patojenik rolü vardır; örnek olarak AIDS, nörodejeneratif hastalıklar verilebilir. Tümör büyümesi, yalnızca kontrol edilemeyen proliferasyon anlamına gelmez aynı zamanda azalmış apoptozisi de içerir. Total büyüme veya regresyonu değerlendirirken, apoptozis ve proliferasyon arasındaki denge önemlidir. Tüm bunlar göstermektedir ki apoptozis ve apoptozis regülasyonunun moleküler olaylarını anlamak ve apoptozisi yönlendirecek yolları saptamak gerekmektedir<sup>6,75,76</sup>.

### **Hücre Morfolojisi**

Apoptotik hücre ölümü, herhangi bir hasar sonucu nekrotik ölüm dediğimiz hücre ölümünden farklı bir süreç izlemektedir. Apoptotik ölümün ilk başlangıcında, ölmek üzere komut almış hücreyi normal hücreden morfolojik olarak ayırt etmek mümkün değildir. Yaklaşık iki saat sonra, komut almış hücrenin kromatini yoğunlaşmaya başlar ve belirli bölgelerde sıkıştıkları izlenir. Sitoplazma yoğunlaşmaya ve hücrenin boyutları küçülmeye başlamıştır. İkinci saatin sonunda apoptozise uğrayan hücrelerde yeni değişiklikler ortaya çıkar ve hücre apoptotik cisimcik denilen daha küçük parçalara bölünür. Bu parçacıkların en büyük özelliği, fragmente olmuş nükleusların ve parçalanan hücreye ait tüm yapıların plazma membranı ile kaplanarak immün sistemi enflamasyon yönünde uyarmamasıdır. Apoptotik cisimcikler, yüzeylerinde yeni sinyal yapıları ortaya çıkarır ve bu sinyalin uyarısı ile yandaki

hücre tarafından fagosite edilerek ortadan kaldırılır (Şekil 4)<sup>6</sup>. Tüm bu süreç yaklaşık 5 saatte tamamlanır<sup>6,77</sup>.

Nekrotik ölüm ise çoğunlukla bir hücre hasarı ile ortaya çıkar. Hasarlanan hücre önce şişer ve sonra parçalanır (Şekil 3)<sup>6</sup>. Hücrelerin parçalanması sonucu ortaya çıkan prostaglandinler, lökotrienler, serotonin, histamin gibi vazoaaktif aminler, hasara en yakın damar endotelini uyarır. Damar endotelisi ise selektin yapımını uyarır. Selektin plazma membranının dış yüzeyine yapışır ve lökositlerin burada yavaşlaması ve yapışmasını sağlar. Daha sonra integrin ligandları aynı hücre parçalanma ürünleri ile uyarılır ve lökositler hücre hasarının olduğu bölgeye doğru çekilmeye başlarlar. Bu prosesin ardından iltihaplanma dediğimiz kızarıklık, ödem ve ağrı ile tanımlanan enflamatuar reaksiyonlar başlar<sup>75</sup>.



Şekil 3: Nekroz ve apoptozda sıralı yapısal değişiklikler

Burada dikkat edilmesi gereken birinci nokta apoptotik hücre ölümlerinde enflamasyona ait klinik septomların olmaması, ikincisi immün sistemi uyarmadığı için bu tarz hücre ölümlerinde otoimmün cevapların ortaya çıkmaması, üçüncüsü de apoptotik hücre ölümlerinin enerji bağımlı olmasıdır. Tablo-2 de apoptozis ve nekrozun kardinal ayırıcı özellikleri gösterilmiştir.<sup>5</sup>

**Tablo 2:** Nekroz ve apoptozisin kardinal özellikler.

<b>ÖZELLİK</b>	<b>NEKROZ</b>	<b>APOPTOZİS</b>
<b>Stimulus</b>	Toksin, şiddetli hipoksi masif hasar ve ATP kaybı durumları	ATP kaybı olmayan fizyolojik ve patolojik durumlar
<b>Enerji ihtiyacı</b>	Yok	ATP-bağımlı
<b>Histoloji</b>	Hücrel şişme, organel parçalanması ve ölü doku parçaları	Kromatin kondensasyonu, apoptotik hücreler, tek izole hücrelerin ölümü
<b>DNA yıkılma paterni</b>	Rastgele büyüklükte fragmanlar	185 baz çifti ve katları şeklinde internükleozomal fragmanlar
<b>Plazma membran</b>	Lizise uğramış	Moleküler değişimler gösteren intakt ve bleb oluşumu yapmış
<b>Ölü hücrenin fagositozu</b>	Dışarıdan gelmiş fagositler	Komşu hücreler
<b>Doku reaksiyonu</b>	İnflamasyon	İnflamasyon yok

ATP; adenozin 5-trifosfat.

Fizyolojik, patolojik ve adaptif role sahip apoptozis örnekleri aşağıda verilmiştir:<sup>6</sup>

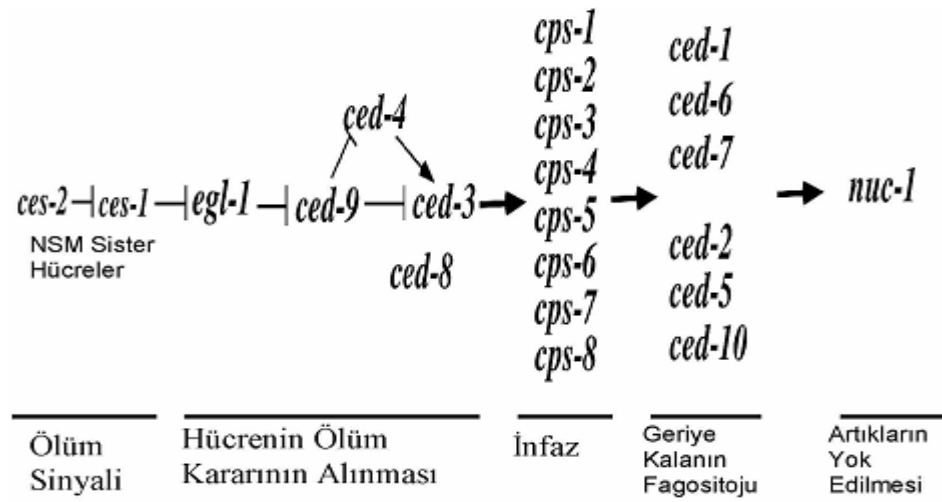
- Embryogenezis esnasında hücrelerin destrüksiyonu,
- Erişkinlerde hormon bağımlı involusyon, örnek menstruel siklusta endometrial hücrelerin yıkımı, menapozda ovaryan folliküllerin atrezisi,
- Prolifere olan hücre popülasyonlarında hücre delesyonu, örnek intestinal kript epiteli,
- Tümörlerde hücre ölümü, asıl regresyon fazında ancak aktif büyüme evresinde de,
- Akut inflamatuvar cevapta nötrofillerin ölümü,
- İmmün hücrelerin ölümü, sitokin depleksyonu sonrası B ve T lenfositler ile gelişmekte olan timusta otoreaktif T hücrelerin ölümü,
- Sitotoksik T hücrelerce indüklenen hücre ölümü, hücrel immünite ve graft versus

host reaksiyonu,

- Parenkimal organlarda duktus obstrüksiyonu sonrası patolojik atrofi
- Viral hastalıklarda hücre hasarı, viral hepatitte *Councilman* cisimcikleri,
- Toksik uyanlardaki hücre ölümü, ancak nekroz oluşturacak dozdan daha az verildiğinde, ısı, radyasyon, sitotoksik kanser ilaçları ve hipoksi.

Apoptoz, nekrozun tam tersine tamamen kontrollü ve programlı bir hücre ölümüdür. Hücrenin bulunduğu ortamın soğutulması ya da protein sentezinin inhibe edilmesi halinde apoptoz da durabilmektedir. Apoptozu kontrol eden genler konusunda ilk ayrıntılı bilgiler, *Caenorhabditis elegans* (*C.elegans*) adlı solucanın incelenmesi sonucu elde edilmiştir.

*C.elegans* ile yapılan çalışmalar sonucunda görülmüştür ki, her hücre hayatta kalabilmek için ölümü engelleyici mesaj (*Egl-1*) yollayabileceği gibi ölümü başlatıcı mesaj da yollayabilir (*Ces-1* ve *Ces-2*). Apoptotik sinyal yandaki hücreden gelebileceği gibi hücrenin kendinden de gelebilir (Şekil 4)<sup>78,79</sup>.



**Şekil 4:** *C.elegans*'da apoptosisin kontrolünde yeni genler ve son terminoloji.

Hücresinin kimyasal bir madde ile etkileşimi ve bu kimyasal maddenin DNA hasarına sebep olması, hücrenin kendinden gelen sinyallerle apoptozis yolunu başlatabilir. DNA hasarı hücrenin DNA tamir mekanizması ile giderilememiş ve apoptozis kararı alınmış olabilir.

Kimyasal madde mitokondri hasarına sebep olmuş, sitokrom mitokondri dışına çıkmış, Ced ile ifade edilen sistein- proteaz enzimlerini uyarılmış ve apoptozis kaskatını başlatmıştır. Hücre enerji metabolizması bozulmuş yada enerji gereksinimi karşılanamamış, hücre ölüm kararını almıştır. Hücrenin antioksidan sistemi hasarlanmış ya da oksidatif ajanlarla başa çıkamamıştır. Yaşlanmayla ilgili gen ekspresyonu uyarılmıştır<sup>80</sup>.

C.elegans ile yapılan yeni çalışmalar sonucu, apoptozisi kontrol eden gen sayısı 22 olarak bulunmuştur. Apoptozis kaskatını başlatan ve devam ettiren gen ürünleri caspas (caspas) olarak da adlandırılan sistein-proteaz enzimleridir. Kaspaslar hücre içerisinde inaktif (pro-caspase) olarak bulunurlar<sup>81,82</sup>.

Fas Ligand (FasL), TNF (Tumor Necrosis Factor) ailesine ait hücre yüzey molekülleridir. Yüzeylerinde Fas adlı proteini eksprese eden hücrelere bağlandıklarında apoptozis kaskatını başlatırlar. Çeşitli hücreler Fas eksprese edebilirler oysa FasL'ı sadece aktive olmuş T-lenfositleri yapar.

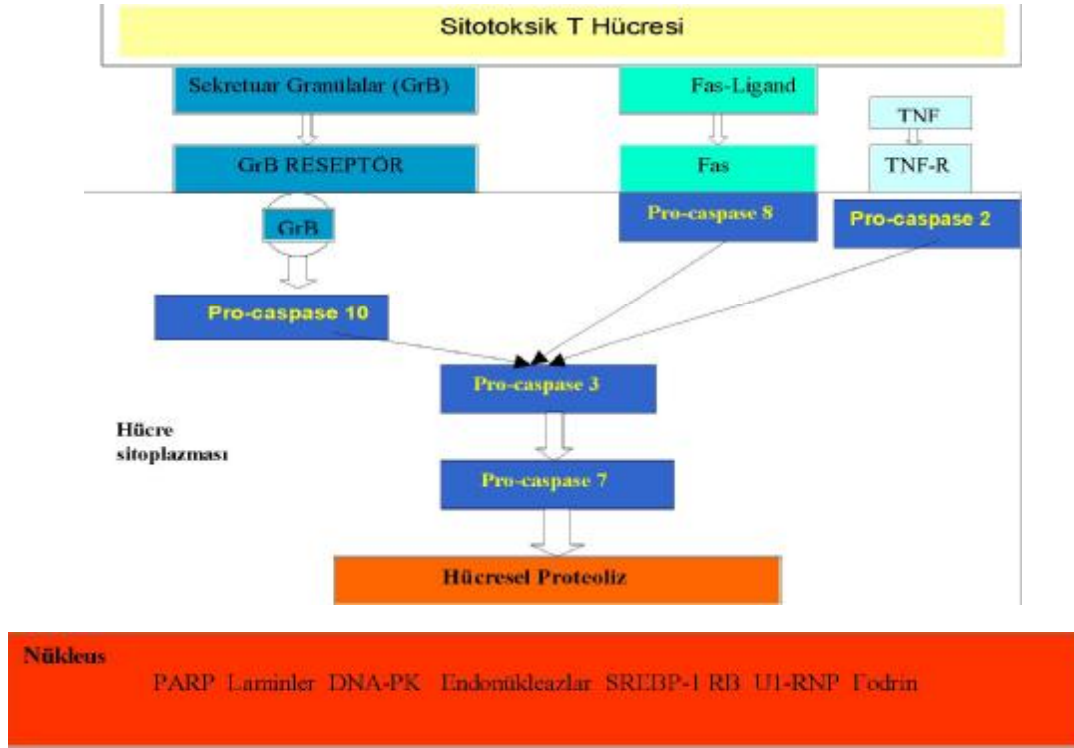
Ancak kimyasal, fiziksel yada viral enfeksiyonlarla hasar görmüş hücrelerde, IL-1 gibi pro-enflamatuar sitokinlerin etkisi ile hücre yüzey Fas ekspresyonu başlar. Bu süreç Fas antijeninin "up-regülasyonu" olarak adlandırılır. Bu süreç sırasında sitotoksik T hücreleri de FasL yapımı için uyarılırlar ve Fas- FasL bağlanması ile apoptozis başlar, hasarlı hücre devre dışı bırakılır (Şekil 6)<sup>83</sup>.

Fas-FasL ya da TNF-TNFR (TNF reseptörü) bağlanması, sırası ile pro- caspas-8 ve pro caspas-2'yi aktive eder. Bir yandan da, ilk kez granülositlerde keşfedildiği için Granülosit - enzyim kelimelerini birleştirerek ifade edilen Granzyme-B (GrB), sitotoksik T hücrelerinden salgılanarak GrB reseptörlerine bağlanır (Şekil 6). GrB bir serin proteaz enzimidir. Daha sonraları Cytotoxic Cell proteinase - 1, Fragmentin- 2 ve RNKP - 1 ile aynı enzim olduğu gösterilmiştir.

Sitoplazma içine alınan GrB, hem pro-kaspas-10'u hem de pro-kaspas-3 ve pro-kaspas-7'yi aktive eder. Aktive olan pro-kaspas 8, pro-kaspas 10 ve pro-kaspas 2, pro- kaspas 3'ü aktive eder. Aktive olmuş pro-kaspas 3 bir yandan doğrudan selüler proteolizi başlatırken bir yandan da pro-kaspas-7 üzerinden selüler proteolizi başlatır (Şekil 5). Doğrudan mitokondri



hasarına yol açan etkenler de pro-kaspas-3 üzerinden apoptozisi başlatır<sup>83,84</sup>.



Şekil 5: Memelilerin sitotoksik T-hücrelerinde apoptozisin kontrolü.

### CASPASES (Cysteine Aspartate Specific ProteASEs):

Kaspasların uyarılması ile hücrelerde proteoliz başlatılır. Kaspasların etkilediği hedef noktalar PARP, Laminler, DFF45, DNA-PK, Endonükleazlar, SREBP-1, RB, UIRNP ve Fodrin olarak özetlenebilir. PARP: Poly ADP Riboz Polimeraz olup, bu enzim apoptotik mekanizma uyarıldığında kaspasların etkisi ile parçalanır. Takiben DNA hasarını gideremez, bu da DNA'nın dezentegrasyonuna yol açar. Poly ADP-ribosylasyonu-(PADPr) DNA tamiri, replikasyon ve transkripsiyon gibi birçok prosteşe yer alır. Poly ADP-ribosylasyonu PARP-1 ile gerçekleştirilir. Apoptozis sırasında PARP-1 kaspaslar tarafından iki apoptotik fragmana parçalanır ve PARP-1 inaktive olur<sup>83,85,86</sup>.

Laminler, nükleus membranının integritesini sağlayan proteinlerdir. Hücre çekirdeği nükleer lamina ile çevrilidir. Nükleer laminler nükleer membranın sitoplazmaya bakan dış çerçevesini kaplayan protein iplikçikleridir (flaman). A tipte ve B tipte iki farklı yapı gösterir.

Laminlerin kaspaslarla parçalanmasının hemen ardından nükleusta, apoptoziste izlenen morfolojik değişiklikler başlar<sup>87</sup>. Kaspaslar proteolitik enzimler olduklarından doğrudan DNA'nın parçalanmasına yol açmazlar. Oysa, DNA'nın parçalanmasına yol açan nükleazları inhibe eden DFF 45 adlı inhibitör proteini kaspaslar parçaladığı için, hücrenin kendi nükleazları kendi DNA'sını parçalamaya başlar<sup>83,88</sup>.

Öte yandan kaspaslar, DNA'nın çifte iplikçiklerindeki kırıkların tamirinde (DNA-Repair) rol oynayan, DNA-PK (DNA-dependent protein kinase) enziminin çalışmasına engel olmaktadır. DNA-PK 460 kD bir protein olup, nükleer formu 350 k Daltonluk serin/tironin protein kinaz enzimidir. DNA-PK iki subüniteden oluşmuştur. DNA-PKCS ve Ku otoantijeni olarak adlandırılmıştır. Bu enzim, bir subünitesi ile DNA'ya bağlanırken, diğer katalitik subünitesi ile de DNA-tamirinden başka, P-53, SP1, myc, oct, RPA, RNA-polymerase 1, SV40 gibi kilit noktadaki proteinleri fosforilleyerek bu proteinlerin aktivasyonlarını regule etmektedir<sup>83,89</sup>.

Apoptozisin en karakteristik özelliklerinden biri de, kromatinin kondensasyonu ve DNA zincirlerinin dağılmasıdır. Bu tarz bir patolojiden önemli ölçüde, kaspasların endonükleazları aktive etmesi sorumludur. Endonükleazlar (memelilerde 600 farklı endonükleaz tespit edilmiştir) DNA'yı farklı yörelerinden keserler ve kaspasların aktivasyonu ile DNA'da dezintegrasyon ortaya çıkar. Endonükleazlar ve DNA-PK protein oldukları halde kaspaslar tarafından parçalanmamakta, aksine kaspaslar tarafından aktive edilerek DNA'nın parçalanmasına neden olmaktadır<sup>89</sup>.

SREBP-1 (Sterol Regulatory Element Binding Protein) de kaspasların hedef noktalarından biridir. SREBP-1, nükleer membran ve endoplazmik retikulumun membranında bulunan 1150 amino asitten oluşmuş, üç ana bölgesi olan bir integral proteindir. Hücre içi kolesterol homeostazisi, membrana bağlı bu transkripsiyon faktörlerinin (SREBP-1 ve SREBP-2) proteolizi ile kontrol edilir. Kaspas-3 bir serin proteazdır ve SREBP-1 ve SREBP-2'yi parçalar ve hücre içerisinde lipid depolanmasının artmasına sebep olur<sup>82,83,90</sup>.

Apoptozis mekanizmasında diğer bir hedef nokta Rb (retinoblastoma) genidir. Rb geni ilk bulunan tümör supressör genidir. Rb gen ürünü gene Rb olarak adlandırılan bir fosfoproteindir ve hücre siklusunu G1'den S fazına geçiş için gerekli genlerin transkripsiyon faktörlerini suprese ederek, G1 fazında durdurur. Normalde hücre, G1'den S fazına geçerken, siklindependent-kinazlarla Rb'yi fosforilleyerek inaktive eder. Yine normalde Rb, P53 ile

birlikte çalışarak hücre çoğalmasını kontrol eder. Rb'nin fonksiyonunun yitirildiği durumlarda P53 apoptotik yol aktive edilir<sup>91,92</sup>.

Nükleer matrix-associated 13kDa U1RNP partikülleri apoptotik kaskatın başlaması ile yine kaspaslar tarafından parçalanır. Nükleer membran integritesi bir yandan bozulurken bir yandan da genetik makinanın çalışması engellenir<sup>87</sup>.

Apoptoziste hedef noktalardan biri de Fodrin'dir. Alfa-Fodrin, membrana bağlı hücre iskelet proteinlerinden birisidir. Ankyrin ve aktin ile kompleks yaparlar. Oligomerik fodrin yapıları spektrin olarak adlandırılır. Apoptoziste proteolitik enzim kaskatının başlaması ile parçalanan fodrin, artık daha fazla, membran ile hücre iskeleti arasındaki bağlantıyı sürdürmez ve "blebbing" denilen, membranın yeni küçük veziküllere parçalanmasında rol alır<sup>84</sup>.

Yeni çalışmalar apoptozisin genetik kontrolü üzerinde yoğunlaşmıştır. Bir çok organla ilgili apoptotik gen ekspresyonları çeşitli yayınlarda sunulmuştur.

## **Apoptozis Yollarının Moleküler Temeli**

Apoptozis enflamatuar cevabı uyardan, hücrelerin efektif atılımı ile sonuçlanan, morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerle karakterize, programlı hücre ölümünün özgün bir formudur.

Apoptozis, embriogenez sırasında, hücrel homeostazisin korunmasında, patojenlere karşı savunma mekanizması oluşturulmasında kritik önem arz etmektedir.

Programlı hücre ölüm kaskadı 3 safhaya ayrılır; apoptozis indüksiyonu, regülasyon ve ölüm, hücrel değişiklikler<sup>6,93</sup>.

*Sinyal Aktivasyonu:* Apoptozis, büyüme faktörlerinin yokluğunda glikokortikoidler, DNA hasarı, iyonize radyasyona maruz kalma, kemoterapötik ilaçlar ve/veya stres gibi çok geniş yelpazeli bir stimulus ile indüklenebilir<sup>6</sup>.

*Regülasyon ve Ölüm:* Apoptotik moleküllerin fonksiyonu için 3 farklı model tariflenmiştir. Birinci modele göre; hücre ölüm sinyalleri hem kaspasların ve hem de BCL-2 ailesinin preapoptotik üyelerinin aktivasyonuna sebep olur. Protein-protein etkileşimleri vital hücrel proteinleri kopararak ve inaktive ederek apoptozise yol açabilir.

İkinci model; BCL-2 ailesinin preapoptotik üyesinin endoplazmik retikulum, nükleer zar ve mitokondrinin sitoplazmik zarlarında iyon kanalları oluşturabilmesine bağlıdır<sup>93</sup>. Mitokondri dış zarının geçirgenliğini bazı proteinler ayarlamaktadır. Bunların en önemlisi bcl-2 grubu proteinlerdir. Bu grubu oluşturan proteinlerin bir kısmı antiapoptotik, bir kısmı ise proapoptotiktir (Tablo 3) .

**Tablo 3:** Bcl-2 grubu proteinleri.

<b>Bcl-2 grubu proteinlerin bazıları</b>	
<b>Antiapoptotik</b>	<b>Proapoptotik</b>
Bcl-2	BAX
Bcl-xL	BAK
Bcl-w	BAD
Mcl-1	Bcl-xS

Mitokondrial membranlarda ayrışma, mitokondriden apoptozis indükleyen faktörlerin serbestleşmesine yol açar ve bu da kapasları aktifleyerek hücrelerin apoptozis yolu ile ölümüne neden olur. Üçüncü model; TNF reseptör ailesinin üyeleri ve onlara denk gelen ligandlarına dayanmaktadır. Reseptör ailesinin üyelerinden birkaçı “ölüm domain” adında bir sitoplazmik alan bulundurmaktadır. Reseptör aktivasyonu ile ölüm domaini, adaptör protein olan Fas L'deki ölüm domaini ile etkileşmekte ve bu da apoptozisin başlamasına neden olmaktadır<sup>94</sup>.

*Yapısal Değişiklikler:* Apoptotik hücreler çok sayıda morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerle karakterizedir. Morfolojik olarak apoptotik hücreler, kondanse kromatin, çoklu membranla çevrili organeller (apoptotik cisimcikler) ve büzülmüş bir görünümle karşımıza çıkar<sup>6</sup>.

## Apoptozis Saptama Yöntemleri

Apoptozisin neden olduğu morfolojik değişiklikler, elektron mikroskobu ile görülebilir. Hücre büzülmesi, plazma ve nükleer membranın pul pul dökülmesi (blebbing), organellerin yeniden lokalizasyonu ve sıkıca paketlenişi, kromatin yoğunlaşması çok açık olarak görülmektedir<sup>95</sup>.

Transmisyon elektron mikroskopisi, apoptozisin morfolojik olarak tanınması için iyi bir yöntemdir.

Dokuları boyamak suretiyle yapılan apoptotik hücre teşhisinde, DAPI (4', 6-Diamine -2' phenylindole dihydrochloride) ve azan boyası kullanılabilir. DAPI, spesifik olarak DNA'yı boyar ve mavi floresans verir. Tek tek hücreleri boyadığı için doku keşiflerinde çalışmayı sınırlar. Azan ise klasik bir doku boyasıdır. DNA'ya bağlanıp çekirdeği kırmızıya boyar. Apoptotik cisimciklerin içerisindeki nükleer materyali ve kromatin kondensasyonunu kısmen görmek mümkündür<sup>96</sup>.

Agaroz jel elektroforezi DNA fragmentasyonunu görüntüleme de kullanılabilir. Bu yöntem apoptozisin biyokimyasal yolla saptanmasında kullanılan ilk yöntemlerden birisidir.

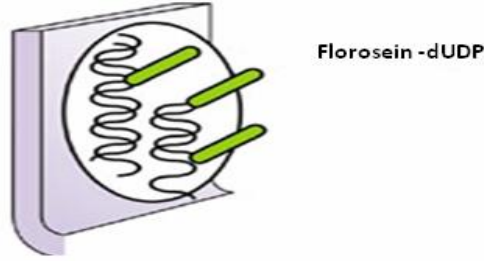
DNA fragmentasyonunun tespitinde diğer bir yolda, ELISA yöntemi ile, apoptotik süreç sonunda, parçalanmış ve sitoplazmaya sızmış mono ya da oligonükleozomların saptanmasıdır. Bu yöntemle hücre lizatlarında, hücre kültürlerinde, hücre kültür süpernatantlarında ve serum ya da plazmada çalışmak mümkündür<sup>96,5</sup>.

Diğer bir fragmentasyon esasına dayanan apoptozisi saptama yöntemi ise TUNEL yöntemidir. **TUNEL**; **T**erminal deoxynucleotidyl **T**ransferase **B**iotin - **d**UTP **N**ick **E**nd **L**abeling kelimelerinin kısaltmasıdır<sup>5</sup>.

Apoptotik hücrelere ait DNA'lar hızla parçalanmakta olduklarından, birdenbire hücre içerisindeki kromatin ağ, bütünlüğünü kaybeder ve 3'-OH içeren DNA parçacıklarının sayısı çok yükselir

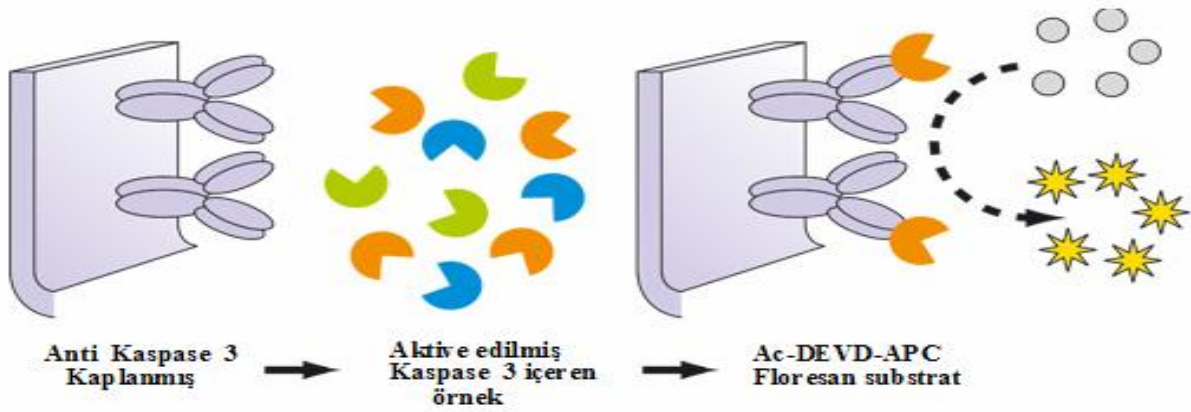
Hücrede terminal deoxynucleotidyl transferaz (TdT) enzimi, ortama eklenen biotin dUTP'yi, parçalanmış DNA parçacıklarının serbest 3'-OH uçlarına transfer eder. Biotin ile işaretlenmiş DNA parçacıkları, ortama FITC gibi floresans veren bir madde ile bağlanmış avidin eklendiğinde görünür hale gelirler (Şekil 6). Bu yöntem tek tek hücrelerde insitu apoptozisi gösterebildiği için hücre kültürlerinde ve doku kesitlerinde çok duyarlı bir testtir.

Kan hücreleri gibi sayıca çok olan hücrelerde kantitatif sonuçlar elde etmek için, aynı TUNEL tekniği flow- Cytometry'ye uygulanabilmektedir. Tek farkı, floresans okuma sisteminin flow- Cytometry'de olmasıdır<sup>97</sup>.



Şekil 6: TUNEL Metodu ile apoptozis saptanması.<sup>5</sup>

Kaspas-3 aktivite testi ile apoptozise uğramış hücreler tespit edilebilir. Normal bir hücrede inaktif olan pro-kaspas-3, hücrenin apoptozise gitmesi ile, aktif kaspas-3 molekülü haline dönüşmeye başlar. Bir hücre lizatında ne kadar kaspas-3 varsa, o kadar çok apoptozise uğramış hücre var demektir (Şekil 7). ELISA plaklarındaki kuyucuklarda kaspas-3 miktarı tayin edilebilmektedir. ELISA kuyucuklarında spesifik antikoru ile immobilize edilmiş kaspas-3 moleküllerinin, floresans veren spesifik substratları ile aktivitesinin ölçülmesi esasına dayanır<sup>97</sup>.



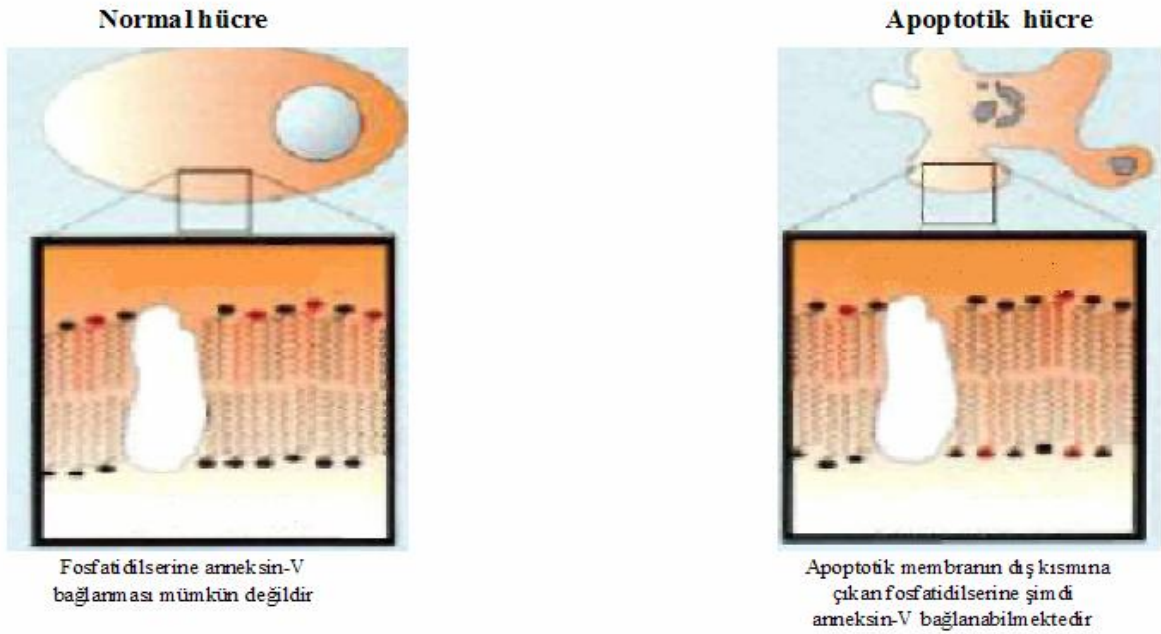
Şekil 7 : ELISA yöntemi ile kaspas-3 tayinini anlatmaktadır.<sup>5</sup>

Apoptozise uğramış hücrelerin Anneksin V yöntemi ile tespiti bir diğer methodur. Apoptozise uğramış hücreler, apoptotik cisimcikler denilen küçük küçük birçok küreciğe dönüşmektedir. Bunlar veziküler formda yapılarıdır ve “blebbing” diye adlandırılmaktadır. Bu

yapıların dış yüzeyleri yine hücre membranı ile kaplıdır. Yalnız bu membranın yapısı hücrenin sağlıklı şeklinde olduğu gibi değildir<sup>98</sup>.

Membran fosfolipidlerinden biri olan fosfatidilserin, hücrenin plazma membranının sitoplazma kısmına bakan iç yüzünde olduğu halde, apoptotik sürecin başlaması ile hücrenin plazma membranının dış yüzeyine çıkmaya başlar. Komşu hücreler, üzerinde fosfatidilserin olan hücreleri fagosite eder.<sup>5</sup>

Apoptozisin bu fizyopatolojik özelliklerinden istifade edilerek apoptotik hücreler tespit edilebilmektedir. Anneksin-V, hücrenin dış yüzeyinde ortaya çıkan fosfatidilserine bağlanabilen bir protein olduğu için, hücre yüzeylerine Anneksin-V bağlanma oranı, o hücre topluluğundaki apoptozise uğramış hücrelerin oranını vermektedir (Şekil 8)<sup>97,99</sup>.

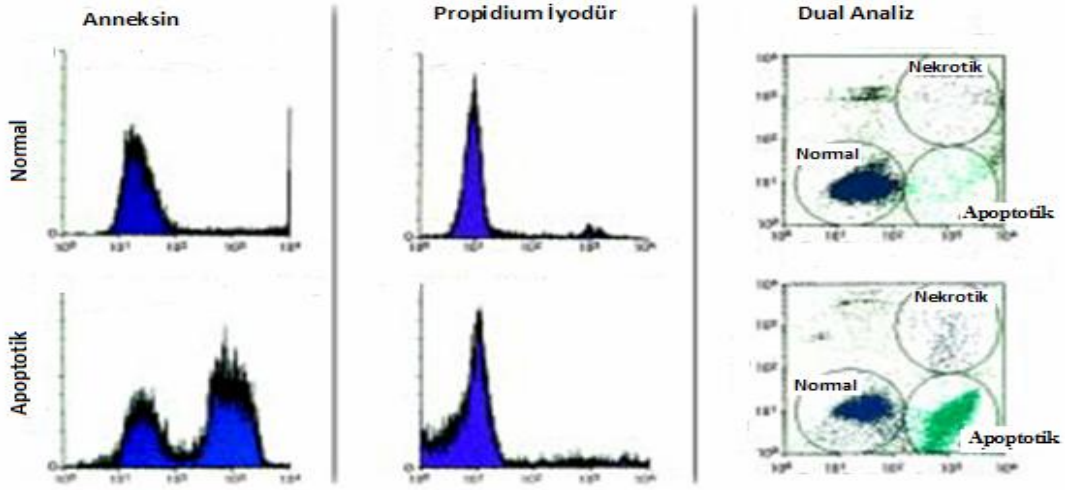


**Şekil 8 :** FITC ile işaretli Annexin-V hücre yüzeyine çıkan fosfatidilserine bağlanabilmektedir.<sup>5</sup>

FITC-Anneksin kompleksinin hücre yüzeyindeki fosfatidilserine bağlanma oranı flow-cytometry ile ölçülebilmektedir. Nekrotik hücrelerin yüzeylerinde de Anneksin-V bağlanması görülebildiği için flow-cytometry de ikinci boya olarak propidyum iyodür eklenmektedir<sup>5,97,98,99</sup>.

Bu yöntemde Anneksin-V pozitif, Propidyum iyodür negatif hücreler apoptozise uğramış hücreler olarak alınmaktadır. Hem Anneksin-V hemde Propidyum iyodür pozitif

hücreler de nekroza uğramış hücreler olarak değerlendirilmektedir (Şekil 9), (Tablo 4)<sup>5</sup>.



**Şekil 9:** FITC-Anneksin V'in apoptotik hücelere bağlanması ile elde edilen hücre dağılımları akış-sitometrisinde normal ve apoptotik hüceleri birbirlerinden çok net olarak ayırabildiği gibi apoptosise uğramış hücre sayılarına kantitatif olarak ulaşabilme imkanı da sağlayabilmektedir. Aynı anda Propidium iyodür de eklendiğinde yüzde kaç hücelerde aynı anda nekrotik ölümün de olduğunu anlama şansı ortaya çıkmaktadır .

	Normal Hüceler	Apoptotik Hüceler	Nekrotik Hüceler
<b>Anneksin-V Boyaması</b>	-	+	+
<b>Propidium İyodür Boyaması</b>	-	-	+

**Tablo 4:** Anneksin-V pozitif, Propidyum iyodür negatif hüceler apoptotik hüceler, hem anneksin-V hem de propidyum iyodür pozitif hüceler de nekrotik hücelerdir .<sup>5</sup>



## Plasenta ve Apoptozis

Normal gebeliğin farklı dönemlerinde plasenta da apoptozis insidansına dair ilk çalışma 1997 yılında sunulmuştur<sup>99</sup>. Takip eden yıllarda normal gebelik, preeklampsi, intrauterin büyüme gelişme geriliği (IUGR), ilk trimester abortuslan ve gestasyonel trofoblastik hastalıklarda plasentada apoptozis varlığı araştırılmıştır.

İlk ve son trimester normal gebeliklerden alınan plasenta örneklerinde tüm hücre tiplerinde apoptozis gösterilmiş ve apoptotik hücrelerin büyük kısmının (>%50) trofoblastlara ait olduğu ortaya konulmuştur. Yine ilk trimester plasenta örnekleri ile kıyaslandığında son trimester örneklerinde apoptozis insidansının anlamlı oranda arttığı farkedilmektedir. Gebelik ilerledikçe gözlenen artmış apoptozisin doku yaşlanmasının doğal bir sonucu olduğu ve yaşlanan dokuların apoptotik uyarılara daha hassas oldukları şeklinde bir görüş belirlemiştir<sup>100</sup>.

Yine normal son trimester gebeliklerinden alınan plasenta örneklerinde sinsitsiyotrofoblast tabakasında devamsızlıklar olduğu ve bu alanlarda fibrin tipi fibrinoidin trofoblastik bazal lamina boyunca biriktiği rapor edilmiştir. İlginç olarak fibrin birikimi gösteren alanlarda sinsitsiyotrofoblastların apoptozise uğramış oldukları fark edilmiştir. Bu alandaki sinsitsiyotrofoblastlar, kromatin kondensasyonu, nükleer membranda kıvrıntı, yüzeyde mikrovillus kaybı, yüzey protrüzyonları ve sitoplazmik bleb oluşumu, yani apoptoziste görülen hemen tüm ultrasüruktürel değişimleri sergilemişlerdir<sup>100</sup>.

Plasental yaşlanma ile artan apoptozisin plasentada yeniden şekillenme (remodeling) için bir mekanizma olduğu ve bu sayede sinsitsiyotrofoblast/sitotrofoblast oranının korunarak plasentadan transportun daha kolaylaştırıldığı bir fizyolojik hadise olduğu vurgulanmıştır<sup>100</sup>. Preeklampsi ve IUGR ile komplike olmuş gebeliklerde kontrollere kıyasla plasentada anlamlı oranda artmış apoptozis varlığı dikkati çekmektedir<sup>101,102,17</sup>. Her iki durumdada artmış plasental apoptozisin patolojik bir olay mı olduğu yoksa bu hastalıkların gelişiminde etiyolojik bir komponent mi olduğu hala netliğe kavuşmamıştır.

## **GEREÇ VE YÖNTEMLER**

Bu çalışma Eylül 2006 ve Eylül 2007 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Servisinde doğum yapmış 30 hastada yapılmıştır. Her bir hastaya aydınlatılmış onam belgesi imzalatıldı. Elektif şartlarda sezaryen doğum yapmış 15 sağlıklı gebe kontrol grubunu, sezaryen ile doğum yapmış 15 preeklampatik hasta çalışma grubunu oluşturdu.

Çalışma grubunda preeklampsi tanısı için gebelik öncesi hipertansiyon öyküsü olmaması ve bu gebeliğinde altışar saat ara ile enaz iki ölçümde arteriyel kan basıncının 140/90 mmHg ve üzerinde olması, 24 saatlik idrarda enaz 300 mg/dL düzeyinde veya spot idrar tetkikinde > 1+ proteinüri ve/veya ödem bulunması şartları arandı. Kontrol grubuna mevcut gebeliklerini komplike eden herhangi bir sistemik hastalık bulunmayan sezaryen operasyonu uygulanmış hastalar dahil edildi. Kronik hipertansiyon, otoimmün hastalıklar ya da diyabet gibi maternal vasküler hastalığa yol açabilecek patolojileri olanlar, sigara içen anneler çalışmaya dahil edilmedi.

Operasyon sırasında punch biyopsi aleti ile plasental yatak biopsisi alındı. Sezaryen sonrası elde edilen doku örnekleri %10 tamponlu formaldehid içine alındı. Dokular parafin ile immersiyonu sağlandıktan sonra parafin bloklar içerisine gömüldü ve bu şekilde muhafaza edildi. Yeterli materyal toplanmasının ardından mikrotom (Reichert-Jung) aracılığı ile 5µ'luk parafin kesitler alındı. Deparafinizasyon işlemi ardından Kesitler Hematoksilen-Eozin ile boyandı. Laboratuvar çalışmalarında doku örneklerinde apoptozis TUNEL (terminal deoksinukleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate (dUTP) nick end labeling) caspase-3 ve Bax (B-9) immünohistokimya tekniği ile değerlendirilerek apoptozis oranları saptandı.

Görüntüler (Olympus BX-51 Tokyo, Japan) Florosan mikroskopunda analiz edildi. Bu işlemlere tabi tutulan kesitler incelenerek apoptotik hücreler belirlendi. İncelenen her kesitte sinsityotrofoblast, sinsityal küme, ekstrasvillöz sitotrofoblast, decidual hücre, stromal hücreler izlendi. Kesitlerde, boyanan hücrelerin immünohistokimya tutulumu kriter olarak alındı. Semikantitatif bir yöntemle, uzman histoloğ tarafından skorlama yapıldı. Boyanma derecesi: 0 (boyanma yok), +1 (zayıf boyanma), +2 (orta boyanma), +3 (güçlü boyanma) olarak değerlendirildi.

### **Işık Mikroskopik Doku Takip Protokolü**

%10'luk formaldehit ile tespit edilen doku örnekleri, fiksatiflerin uzaklaştırılmaları amacıyla 1 gece akarsu altında yıkandıktan sonra, dehidratasyon amacıyla 15'er dakika %60'dan %95'e artan etil alkol serilerinden geçirildi. Ardından 15 dakika 1:1 oranında ksilen-alkol karışımına ve şeffaflaştırma amacıyla 15'er dakika iki değişim ksilende tutuldu. 60°C'lik etüv içersinde 15 dakika 1:1 oranında ksilen-parafin uygulanıp 1 saat parafin ile immersiyonu sağlandıktan sonra dokular parafin bloklar içerisine gömüldü.

### **Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü**

Mikrotom (Reichert-Jung) aracılığı ile alınan 5µ'luk parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde bırakıldıktan sonra, 30'ar dakika iki değişim ksilene tabi tutuldu. Ardından rehidratasyon işlemi için %95'den %60'a azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 5 dakika akarsu altında yıkandı. 2 dakika hematoksilen (33230, Riedel-de Haen, Almanya) ile boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 5 dakika akarsuda yıkanan kesitler, 30 saniye eozin (1345, Merck, Darmstadt, Almanya) boyası ile boyandı. Aynı şekilde 5 dakika akarsu altında yıkama yapıldıktan sonra sırasıyla %80 ve %95'lik alkol serilerinden geçirilip havada kurutulan kesitler şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Almanya) ile kapatıldı.

### **TUNEL Metodu**

Bu teknik için In situ cell death detection TUNEL system, POD kiti (Roche) kullanıldı. Poly-L-lysine (PLL; Sigma) ile kaplanmış lamlara alınan 5µ kalınlığındaki kesitler boyama için bir gece 60 C°'lik etüvde tutulduktan sonra, 3 değişim ksilen ile deparafinizasyon işlemi gerçekleştirildi. Ardından azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dakika bekletildi. Kesitler 15 dakika 20 µg/ml proteinase K ile enkübe edildikten sonra, distile su ile 5 dakika yıkandı. Doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dakika %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Merck, Germany) uygulandıktan sonra 3 defa 5'er dakika fosfat tampon solüsyonu (Phosphate Buffered Saline Solution, DBS, Pleasanton, CA) ile yıkanan kesitler TdT-enzimi 37°C de 1 saat enkübe edildi. Ardından tampon solüsyonu ile oda sıcaklığında 10

dakika yıkanan kesitler anti-streptavidin-peroksidaz ile 30 dakika enkübe edildi. Tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler TUNEL reaksiyonunun görünürlüğünü saptamak amacıyla diaminobenzidine (DAB, Roche Diagnostics, Germany) ile boyandı. Distile su ile yıkandıktan sonra Harris hematoksilen ile zemin boyaması yapılan kesitler %80 ve %95'lik alkollerde dehidratasyon ve 30'ar dk 3 değişim ksilen ile şeffaflaştırma işleminden sonra entellan ile kapatıldı.

TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated deoxyuridine triphosphate nick end labeling) metodu ile boyama toplam 30 plasenta kesitinde uygulandı. Bu teknik ilk defa 1992 yılında tanımlanmıştır, "nick end" nükleozomlar arasındaki DNA bölgelerinde endonükleaz aktivitesine bağlı olarak oluşan 3'-hidroksi grublarını göstermektedir. Bu DNA fragmantasyonu apoptozisin bir karakteristiğidir. Tespitte dUTP'e bağlanan markır digoxigenindir. Terminal deoksinükleotidil transferaz enzimi dUTP- digoxigenin taşıyan 3'hidroksi DNA ucunda (nick ends) polimerik bir kuyruk oluşturmaktadır. İşaretleme sonrası antidigoxigenin antikor-peroksidaz konjugatı markır ucunda digoxigenin molekülüne bağlanır ve diaminobenzidin eklenir. Digoxigenine bağlı peroksidaz yoğun kahverengi bir sinyal oluşturur. Apoptotik hücreler ve nükleusları kahverengi boyanır, diğer hücreler yeşil veya mavi izlenir.

### **Caspase-3**

Kesitler 24 saat 60°C etüvde bekletildikten sonra immunohistokimyasal yöntemle boyandı. Caspase-3 immunreaktivitesinin gösterilmesi amacıyla rat spesifik anti-caspase-3 (1:100; Neomarkers, Fremont, CA) antikor kullanıldı. Lizinli kesitler üç değişim ksilol ile deparafinizasyon işlemine tabi tutuldu. Ardından azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dakika bekletildi. Proteinaz K solüsyonu içinde 37°C etüvde 15 dakika tutulan kesitlere, doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dk %3'lük Hidrojen peroksit uygulandı. 3 defa 5'er dakika fosfat tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler caspase-3 antikor ile bir gece +4°C'de enkübe edildi. Ertesi gün fosfatlı tampon solüsyonu ile 3 defa yıkanan kesitler biyotinlenmiş sekonder antikor ile 30 dk enkübe edildi. Sekonder antikor Vector Elite ABC kit (Vector Labs, Burlingame, CA) ile bağlandıktan sonra antikor-biyotin-avidin-peroksidaz kompleksi 0.02% Diaminobenzidin (DAB) kullanılarak görünür hale getirildi. Zemin boyaması Harris hematoksilen ile yapıldı. Dereceli alkollerde dehidratasyon işlemi gerçekleştirilen kesitler ksilol ile şeffaflaştırma işleminden sonra

entellan ile kapatıldı.

### **Bax (B-9)**

Kesitler 24 saat 60°C etüvde bekletildikten sonra Bax immunreaktivitesinin gösterilmesi amacıyla 30'ar dakika iki saat değişim ksilen ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Ardından %95'ten %60'a azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dakika bekletildi. Dakopen (IM3580, Immunotech, France) ile sınırlandırılan % 0,5'lik tripsin solüsyonu içinde oda sıcaklığında 15 dakika tutulan kesitlere, doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dk %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulandı. 3 defa 5'er dakika fosfat tampon solüsyonu (PBS; Posphate buffer solution) ile yıkanan kesitler 1 saat bloklama solusyonu (TA-125-UB, Lab Vision, Fremont, CA) ile muamele edildi. Bloklama solusyonu dokudan uzaklaştırıldıktan sonra primer antikör Bax (sc-7480,Santa Cruz ,California,USA) ile bir gece +4°C'de inkübe edildi. Ertesi gün tampon solüsyonu ile 3 defa yıkanan kesitler, anti-mouse biotin-streptavidin hidrojen peroksidaz ikincil antikoru (85-9043 Zymed Histostain kit San Francisco,USA) ile 30'ar dakika boyandı. Yine üç defa 5'er dakika tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler, oluşturulan immunohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla Diaminobenzidin (DAB) kullanılarak görünür hale getirildi. Mayer's hematoksilen (72804E, Microm, Walldorf, Germany ) ile artalan boyaması sağlandıktan sonra distile su ile 10 dk yıkanan kesitler kapatma medyumu (AML060, Scytek, Logan, Utah, USA) ile kapatıldı.

### **İstatistik**

Gruplar arası farklılık Mann-Whitney U testi ile analiz edildi ve Fisher'in kesin testleri kullanıldı. Statistiksiz analiz için, Statistical Package for Social Sciences (SPSS) Version 11.0 for Windows (SPSS Inc, USA) adlı bilgisayar programı kullanıldı. (p<0.05, istatistiksel olarak anlamlı kabuledildi).

## **BULGULAR**

Bu çalışma Eylül 2006 ve Eylül 2007 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Servisinde doğum yapmış 30 hastada yapılmıştır. Çalışma elektif şartlarda sezaryen doğum yapmış 15 sağlıklı gebe ve sezaryen ile doğum yapmış 15 preeklampitik hastadan alınan plasenta örneklerinde yapıldı. (Hastaların genel özellikleri tablo 14’de verilmiştir.)

Hastaların demografik verileri tablo-5 de sunuldu. Preeklampsi ve normal kontrol gebe gruplarının yaş, parite, gravide, gebelik haftası yenidoğan doğum ağırlığı, 1.dak Apgar, 5.dak Apgar, plasenta ağırlıkları arasındaki ilişki gösterildi.

**Tablo 5 :** Hastaların demografik verileri.

	Preeklampsi n:15	Kontrol n:15	P
Yaş	27.87±5.15	29.07±4.06	.838
Gravide	1.87±.99	2.13±1.24	.653
Parite	0.87±.92	38.873±.91	.486
Gebelik haftası	35.06±3.37	38.873±.91	.001
Doğum kilosu (gram)	2166.00±842.05	3314.40±328.69	<0.001
Apgar 1. Dk	7.40±1.64	9.00±.000	<0.001
Apgar 5. Dk	9.27±1.03	10.00±.000	.011
Plasenta ağırlığı (gram)	2166.00±842.05	3314.40±328.68	.106

Ortalama±SD : standart sapma

İki grup arasında hastaların yaş ve pariteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Buna karşın ortalama gebelik haftası, doğum ağırlığı ile 1. ve 5. dakika Apgar skorları her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermekteydi. Ortalama gebelik haftası preeklampitik grupta 35.06±3.37 , kontrol grubunda ise 38.873±.91 olarak saptandı (p=0.001). 1.dakika Apgar skoru preeklampitik grupta 7.40±1.64 kontrol grubunda 9.00±.000 p<0.001; 5. dakika Apgar skoru preeklampitik grupta 9.27±1.03 kontrol grubunda ise

10.00±.000. p=0.001 olarak bulundu.

Preeklampsi ve normal kontrol gebe gruplarında yenidoğan doğum ağırlığı açısından anlamlı farklılık saptandı. Preeklamptik grupta ortalama doğum ağırlığı 2166.00±842.05 , kontrol grubunda ise 3314.40±328.69 idi (p<0.001)

İki grup arasında hastaların plasenta ağırlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p>0.05).

Sezaryen sonrası elde edilen doku örneklerinde apoptozis TUNEL, caspase-3 ve Bax(B-9) immünohistokimya tekniği ile değerlendirilerek apoptozis oranları saptandı. Semikantitatif bir yöntemle, skorlama yapıldı. Boyanma derecesi: 0 (boyanma yok), +1 (zayıf boyanma), +2 (orta boyanma), +3 (kuvvetli boyanma) olarak değerlendirildi. İncelenen her kesitte sinsityotrofoblast , sinsityal küme, ekstravillöz sitotrofoblast, decidual hücre, stromal hücreler izlendi. Kaç tanesinin apoptotik olduğu belirlendi.

Plasenta yatak biopsilerinde caspase ile yapılan boyamada sinsityotrofoblast, sinsityal küme, ekstravillöz sitotrofoblast, decidual hücre ve stromal hücrelerde apoptoz izlendi. Kontrol grubunda sinsityotrofoblastlarda orta derecede tutulum olurken preeklamptik grubda kuvvetli bir tutulum oldu (p<0.001) (Tablo 6).

**Tablo 6:** Sinsityotrofoblast hücrelerde caspase tutulumu.

	Sinsityotrofoblast Caspase		Toplam	p*
	Orta	Kuvvetli		
Preeklampsi yok N	15	0	15	
Preeklampsi var N	0	15	15	
Toplam N	15	15	30	<0.001

\*Fisher'in kesin testi

Sinsityal kümeler preeklamptik grupta kuvvetli bir tutulum gösterirken kontrol grubunda zayıf bir tutulum izlendi. Bu da preeklamptik grupta sağlıklı gebe grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek apoptoz olduğunu ifade eder (p=0.00) (Tablo 7).

**Tablo 7:** Sinsityal kümelerde caspase tutulumu.

	Sinsityal Küme Caspase		Toplam	p*
	Zayıf	Kuvvetli		
Preeklampsi yok N	15	0	15	
Preeklampsi var N	0	15	15	
Toplam N	15	15	30	<0.001

\*Fisher'in kesin testi.

Caspase preeklampitik grubda ekstravillöz sitotrofoblastlarda orta tutulum gösterirken (Tablo 8); desidual ve stromal hücrelerde zayıf caspase tutulumu vardır (Tablo 9). Kontrol grubunda ekstravillöz sitotrofoblastlarda orta tutulum varken (Tablo 8); desidual ve stromal hücrelerde tutulum izlenmemiştir (Tablo 9). Çalışma grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda daha fazla apoptoz izlenmiştir ( $p<0.001$ ).

**Tablo 8:** Ekstravillöz sitotrofoblastlarda caspase tutulumu.

	Ekstravillöz Sitotrofoblast Caspase		Toplam	p*
	Zayıf	Orta		
Preeklampsi yok N	15	0	15	
Preeklampsi var N	0	15	15	
Toplam N	15	15	30	<0.001

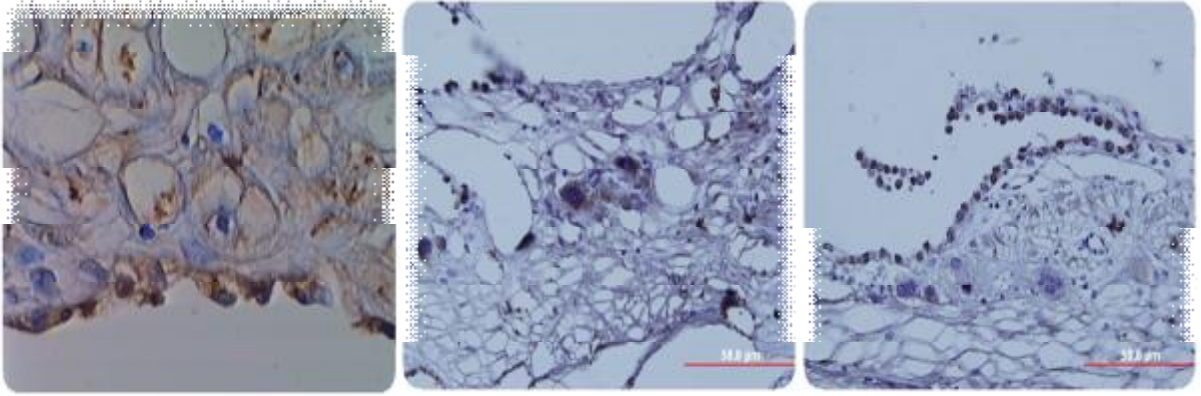
\*Fisher'in kesin testi.



**Tablo 9:** Desidual ve stromal hücrelerde caspase tutulumu.

	Desidual Ve Stromal Hücrelerde Caspase		Toplam	p*
	Negatif	Zayıf		
Preeklampsi yok N	15	0	15	
Preeklampsi var N	0	15	15	
Toplam N	15	15	30	<0.001

\*Fisher'in kesin testi



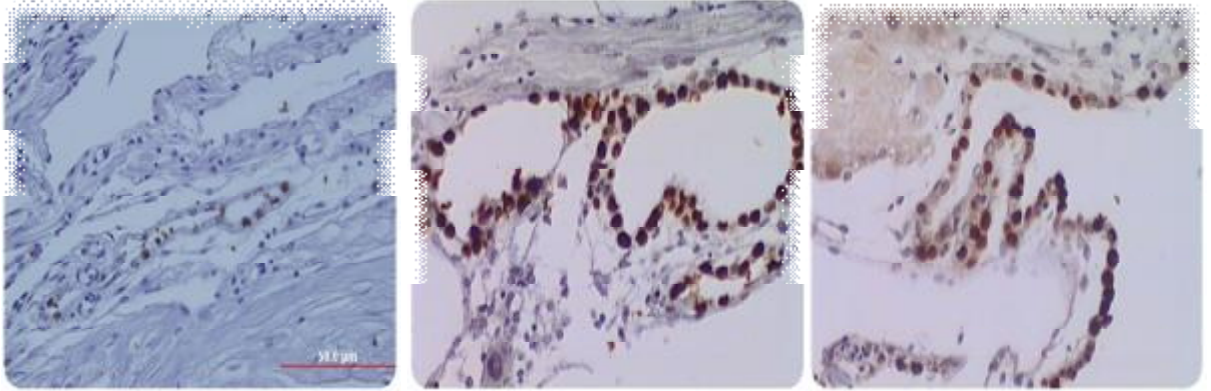
Resim 1:caspase ile yapılan immunohistokimyada sitoplazmik tutulum izlenir.

Plasenta doku örneklerinde bax ile yapılan boyamada sinsityotroblastlarda boya tutulumu izlenirken sinsityal küme, ektravillöz sitotroblast, decidual hücre ve stromal hücrelerde tutulum gözlenmedi. Preeklamptik grubda sinsityotroblastlarda kuvvetli tutulum, kontrol grubunda ise zayıf tutulum görüldü. Preeklamptik gruptaki apoptoz istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ( $p<0.001$ ) (Tablo 10).

**Tablo 10:** Sinsityotrofoblast hücrelerde bax tutulum.

			Sinsityotrofoblast bax		Toplam	p*
			Zayıf	Kuvvetli		
Preeklampsi	yok	N	15	0	15	
Preeklampsi	var	N	0	15	15	
Toplam		N	15	15	30	<0.001

\*Fisher'in kesin testi



**Resim 2:**Bax ile yapılan immunohistokimya sitoplazmik tutulum izlenir.

Plasental yatak biopsilerindeki apoptozisin tesbitinde asıl TUNEL metodu kullanıldı. Işık mikroskopisi ile, plasenta doku örneklerinde apoptotik hücrelerde immunohistokimya tutulumu izlenip skorlama yapıldı. Sinsitsiyotrofoblast, sinsityal kümelerde, ekstrasitotrofoblastlarda apoptotik hücreler gösterildi. Kahverengi boyanan apoptotik nükleuslar, mavi boyanan normal nükleuslardan kolayca ayırt edilmektedir. Apoptozise uğrayan hücrenin en karakteristik morfolojik özelliği olan kromatin kondensasyonu sonucu kromatin, nükleer membran altında periferal olarak dens kütleler halinde görülür.

TUNEL preeklamptik grupta sinsitsiyotrofoblast ve sinsityal kümelerde kuvvetli tutulum gösterirken (Tablo 11); ekstrasitotrofoblastlarda orta TUNEL tutulumu vardı

(Tablo 12). Kontrol grubunda sinsitsiyotrofblast ve sinsityal kümelerde orta tutulum varken (Tablo11); ektravillöz sitotrofblastlarda zayıf tutulum izlenmedi (Tablo 12). Çalışma grubunda kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda daha fazla apoptoz izlendi ( $p<0.001$ ).

**Tablo 11:** Sinsityotrofblast hücrelerde ve sinsityal kümelerde TUNEL tutulumu.

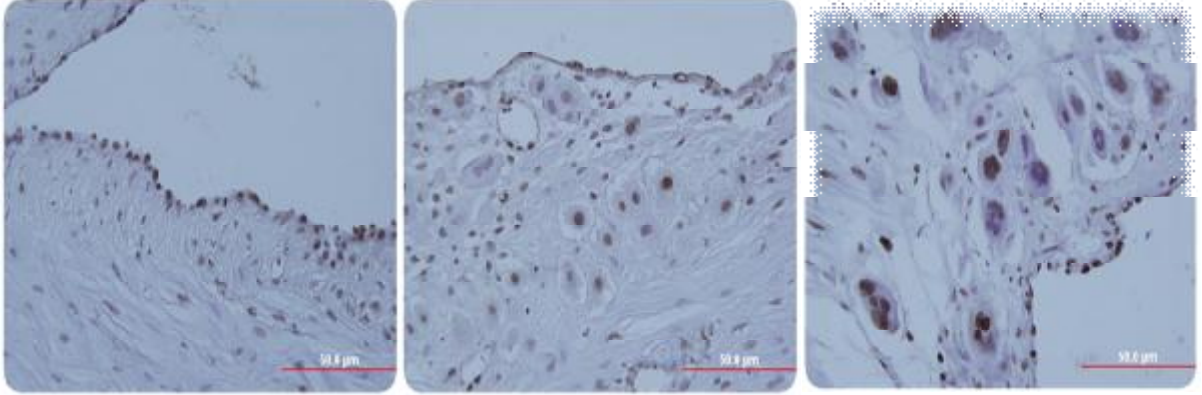
	Sinsityotrofblastik Hücrelerde Ve Sinsityal Kümelerde TUNEL		Toplam	p*
	Orta	Kuvvetli		
Preeklampsi yok N	15	0	15	
Preeklampsi var N	0	15	15	
Toplam N	15	15	30	<0.001

\*Fisher'in kesin testi.

**Tablo 12:** Ektravillöz sitotrofblastlarda TUNEL tutulumu.

	Ektravillöz Sitotrofblast TUNEL		Toplam	p
	Zayıf	Orta		
Preeklampsi yok N	15	0	15	
Preeklampsi var N	0	15	15	
Toplam N	15	15	30	<0.001

\*Fisher'in kesin testi.



**Resim 3:** TUNEL ile yapılan immunohistokimiyada çekirdek tutulumu izleniyor.

Aşağıda belirtilen tablo 13'de de görüldüğü gibi caspase, bax ve TUNEL ile yapılan immunohistokimiyada preeklampitik gebelerde kontrol grubuna göre plasenta doku örneklerinde apoptozda belirgin bir artış izlendi.

**Tablo 13:** Preeklampitik ve kontrol grubunda caspase, bax ve TUNEL ile yapılan immunohistokimya

	Sinsityotrofoblast	Sinsityal Küme	Ekstravillöz Sitotrofoblast	Decidual Hücre	Endotel	Stromal Hücre
<b>Caspase Normal</b>	++	+	+	-	-	+
<b>Caspase Preeklampsi</b>	+++	+++	++	+	-	-
<b>Bax Normal</b>	+	-	-	-	-	-
<b>Bax Preeklampsi</b>	+++	-	-	-	-	-
<b>Tunel Normal</b>	++	++	+	+	-	+
<b>Tunel Preeklampsi</b>	+++	+++	++	+	-	+

Boyanma derecesi: - (boyanma yok), +1 (zayıf boyanma), +2 (orta boyanma), +3 (kuvvetli boyanma) olarak değerlendirildi. İncelenen her kesitte sinsityotrofoblast , sinsityal küme, ekstravillöz sitotrofoblast, decidual hücre, stromal hücreler izlendi.

## **TARTIŞMA**

Preeklampsi, hidatiform mol veya molar dejenerasyon vakaları dışında gebeliğin 20. haftasından sonra ortaya çıkan, sadece plasental doku mevcudiyetinde gelişen ve hipertansiyon, proteinüri ve ödemle karakterize sistemik bir hastalıktır. İmmun sistem adaptasyon bozukluğu, genetik faktörler, plasental iskemi ve çok düşük dansiteli lipoproteinlere karşı toksisite engelleyici aktivite etiopatogenezinde rol aldığı ileri sürülen mekanizmalardır. Bu mekanizmalar sonucunda ortaya çıkan vazospazm, anormal hemostaz ve prostasiklin tromboksan oranının değişmesi ve pıhtılaşma sisteminin aktivasyonu gösterilmiş patofizyolojik değişimlerdir. Preeklamptik plasental yatak biopsilerinin histolojik incelemesinde intersitisyel sitotrofoblast invazyonunun sıklıkla yüzeyel ve endovasküler invazyonun yok denecek kadar az olduğu gösterilmiştir<sup>21</sup>.

Normal gebeliklerde ekstrasvillöz trofoblast hücreler maternal uterin dokusunu invaze ederler. İnterstitiyel trofoblastlar desidual dokuyu myometriyumun üçde birine kadar penetre ederler. İnterstitiyel trofoblastlar, intramural, endovasküler trofoblastlar, plasenta ve fetusa yeterli oksijen ve besin maddesi taşınabilmesi için uterin spiral arterleri büyük kanallara dönüştürürler. Makrofajlar ve endotelial hücreler gibi maternal hücrelerin invazyonda rol aldığı açıkça görülsede invazyonun kontrolü hala net değildir. Bununla birlikte, trofoblastların apoptoza uğraması için bir maruziyetin olması gerekir. Dolayısıyla dışardan aktive edilmeden önce trofoblastların kendi içindeki intrinsik programın aktive edilmesi gerekir. Yapılan çalışmalarda apoptoz miktarının ölçülmesi interstitiyel trofoblastlardaki apoptozun patolojik invazyonda son nokta olmadığını göstermiştir. Öteyandan, intramural, endovasküler trofoblastlardaki apoptoz spiral arterlerin doğru transformasyonu için gereklidir<sup>14</sup>.

Apoptozis ilk kez 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie tarafından tarif edilmiştir. Kerr ve arkadaşları hücre ölümlerini morfolojik olarak takip ederken, ölen hücrelerin parçalandığını ve bu parçaların tekrar membranla kaplanarak daha küçük küreciklere dönüştüğünü ve bunlarında makrofajlar tarafından fagosite edildiğini görmüşlerdir. İlk ve son trimester normal gebeliklerden alınan plasenta örneklerinde tüm hücre tiplerinde apoptozis gösterilmiş ve apoptotik hücrelerin büyük kısmının (>%50) trofoblastlara ait olduğu ortaya konulmuştur. Yine ilk trimester plasenta örnekleri ile kıyaslandığında son trimester örneklerinde apoptozis insidansının anlamlı oranda arttığı farkedilmektedir. Gebelik ilerledikçe gözlenen artmış apoptozisin doku yaşlanmasının doğal bir sonucu olduğu ve yaşlanan

dokuların apoptotik uyarılara daha hassas oldukları şeklinde bir görüş belirlemiştir<sup>100</sup>. 12-16 gebelik haftalarında plasenta da toplam nükleusların %39'unu trofoblastlar, %50'sini stroma ve %11'ini endotel hücreleri oluştururken, term bir plasentada bu oranlar sırasıyla, %40, %47 ve %13 tür. Yine tüm gebelik boyunca sinsitsiyotrofoblast nükleusları sitotrofoblast nükleuslarından daha yaygın olup 9:1 oranını korumaktadırlar. Gebelik haftası ilerledikçe plasental yaşlanma ile birlikte artan apoptozisin plasentanın yeniden yapılanması (remodeling) için bir mekanizma sağladığı, sitotrofoblastlarda gözlenen apoptozis alanlarının plasentada transportu daha kolay hale getirdiği ve aynı zamanda 9/1 olan sinsitsiyotrofoblast/sitotrofoblast oranını koruduğu iddia edilmektedir<sup>101</sup>.

F. Lyall'ın 2002 yılında yayınlamış olduğu "review" normal, preeklampitik ve spontan düşük ile sonlanan gebeliklerde plasental yatakta oluşan morfolojik değişiklikleri araştırmak için farklı örnekleme yöntemlerini özetlemektedir.<sup>8</sup> Bistüri ile yapılan çalışmalar biopsi forsepsi ile yapılan çalışmalarla karşılaştırılmıştır. Sonuçlar punch biopsinin daha avantajlı olduğunu göstermektedir. Bu metod ile yapılan örneklemelerde tüm plasental yatağa ulaşılabilinmektedir. En önemlisi ise punch biopsinin vaginal yolla yapılan doğumlarda örnek toplayabilmeyi sağlamasıdır. Böylelikle daha çok vaka çalışmaya alınabilmektedir. Ancak vaginal yoldan örnek almak sezeryan sırasında örnek almaya göre çok düşük oranda başarısızlıkla sonuçlanmaktadır.<sup>8</sup> Biz yapmış olduğumuz çalışmayı punch biopsi kullanarak gerçekleştirdik. Hazırlanan tüm preparatlar değerlendirilmeye uygun bulunmuştur.

Fizyolojik plasental yaşlanmadan farklı olarak preeklampsi ve IUGR ile komplike olmuş gebeliklerde de plasental apoptoziste bir artış olduğu bildirilmiştir<sup>102,103</sup>. Mamed Kadyrov ve arkadaşları 2005 yılında maternal kronik anemisi olan 8, preeklampsi veya IUGR gelişen 6 gebelikte spiral arterlerdeki trofoblast invazyonunu ve bu bulguların trofoblastlarda görülen apoptoz ile ilişkisini araştırmıştır. Sezeryan sırasında histerektomi yapılan hastalardan alınan tam kat uterin duvar örneklerinde trofoblastlarda normal ve kronik anemik grubda benzer apoptoz izlenirken preeklampitik veya IUGR grubunda artmış apoptoz izlenmiştir<sup>103</sup>.

Preeklampsi ve IUGR de gözlenen artmış plasental apoptozis insidansının, bu bozukluklara yol açan patolojik olayların bir sonucu mu, yoksa etiyolojik bir komponenti mi olduğu hala netliğe kavuşmamıştır. Preeklampsi de yetersiz intersitisyel sitotrofoblast invazyonu ve yüzeyel maternal endovasküler invazyon sonucu plasental hipoperfüzyon ve iskemi gelişmektedir. Hipoksinin ise apoptozisi tetiklediği gösterilmiştir<sup>103</sup>. Şu halde IUGR ve

preeklampsi gibi plasental kötü perfüzyon ve hipoksi gelişen durumlarda apoptozisin etiyolojik bir fenomenden çok hipoksiye sekonder gelişiyor olması daha muhtemel gibi görünmektedir.

Apoptozisin immün regülatörleri içinde Fas ve Fas ligand sistemi önemli bir yere sahiptir. Fas ligandı (Apo-1/CD95), tümör nekrozis faktör ailesinin bir üyesidir ve reseptörü (FasR/Apo-1/CD95) aracılığı ile etkiyerek bu reseptörü taşıyan hücrelerde apoptozise yol açmaktadır. Dolayısıyla FasL 'in ekspresyonu immün sistemden korunmada ve greft rejeksiyonunda önemli bir mekanizmadır<sup>103</sup>. İmmün ayrıcalığın bir başka önemli yeri invazyon gösteren plasental trofoblastlardır. Burada fetal semi-allograft maternal immün sistem tarafından reddedilmemektedir. Fas pekçok dokuda bulunurken FasL sadece dolaşımdaki lenfositler ve immün ayrıcalıklı yerlerde (trofoblast, göz anterior kamarada ve testiste sertoli hücrelerinde) bulunmaktadır. Fas ligandın tüm gebelik boyunca insan trofoblastlarında bulunduğu ve dolaşımdaki T hücrelerinde apoptozise yol açtıkları gösterilmiştir<sup>103</sup>. Bu mekanizma ile dolaşımdaki maternal lenfositlerin apoptozise uğratılarak, sitotrofoblastların maternal immün sistemden kaçıp miyometriyumu invaze etmelerine imkan verilmekte ve fetal allograftın yaşayabilmesi mümkün olmaktadır. Tam tersine Fas taşıyan sitotrofoblastlar FasL taşıyan T hücrelerince apoptozise uğratılarak, invazyon sınırlandırılmaktadır. T hücreleri ve trofoblastlar arasındaki bu karşılıklı apoptotik etkileşim dengesinin bozulması anormal yetersiz (preeklampsi ve IUGR) veya anormal aşırı plasentasyona (plasenta akreta, perkrata, koryokarsinom) sebep olmaktadır. Kontrol plasentalarında FasL, preeklampitik plasentalarda ise Fas ekspresyonunun daha fazla olduğu gösterilmiştir<sup>103</sup>.

Donna M. Neale ve arkadaşları Fas tarafından yönetilen plasental apoptozun önemini 2005 yılında yayınlamış oldukları "review" de göstermişlerdir. Fas/ FasL sistemi gebelikte iki ucu keskin bıçak gibidir preeklampsi gibi gebelik komplikasyonlarına neden olabilir. Fas genindeki polimorfizm T hücrelerinde Fas üretimini azaltır .bu polimorfizm preeklampitik bayanlarda daha fazla görülür.defektif Fas geninden dolayı trofoblastlar aktive lenfositleri dolaşımdan kaldıramazlar. Bunun sonucunda aktive t lenfositleri inflamatuvar cevabı başlatır ve trofoblast invazyonu bozulmuş olur<sup>104</sup>.

Preeklampside plasentada artmış apoptozis ile Bcl-2 proto-onkogeni arasında da bir ilişki olduğu yakın zamanlarda gösterilmiştir. Bcl-2 çeşitli hücrelerde apoptozisi inhibe ettiği gösterilen ilk proto-onkogendir. Bu protein pro ve anti-apoptotik proteinler ailesinin bir

prototipidir. Kontrollerle kıyaslandığında preeklampsi ile komplike olmuş gebeliklerden alınan plasental yatak biopsilerinde apoptozis artışı yanında Bcl-2 ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir<sup>105</sup>. Yine ilk sonuçlar ilk trimester abortusları ve ektopik gebelik gibi anormal gebelikler ile postterm gebeliklerde artmış bir apoptozis insidansı olduğunu göstermektedir<sup>106</sup>.

Çalışmamızda önceki araştırmalar ile uyumlu olarak preeklampsi ile komplike olmuş plasenta örneklerinde artmış bir apoptozis insidansı ile karşılaştık ( $p < 0.001$ ).

Yüzeysel sitotrofoblast invazyonuna bağlı yetersiz plasental kan akımına sekonder gelişen plasental iskemi ve hipoksinin preeklampsinin klinik yansımalarına ek olarak, aynı zamanda apoptoziside tetiklediği ileri sürülmektedir. Bu durumda preeklampside gözlenen artan apoptozis, yüzeysel trofoblastik invazyonun bir sebebi değil, ona sekonder gelişen patolojik bir hadise gibi görünmektedir. Apoptozisin fizyolojik rollerinden biride anormal farklılaşma göstermiş ve sonuçta fonksiyonel olarakta bozulmuş hücrelerin seçici olarak ortadan kaldırılmalarıdır.

Preeklampside, uterus ve maternal damarların sitotrofoblastlarca invazyonuna imkan veren farklılaşma yollarında da anormallikler bulunduğu hatırlanmalıdır. Bunun en tipik örneği, normal gebelikte endovasküler sitotrofoblastlar adhezyon molekül reseptörlerini değiştirip, endotel hücrelerinininkilere benzeterek vasküler invazyonu başarabilirken, preeklampside sitotrofoblastlar vasküler adhezyon fenotipini taklit edememektedir<sup>21</sup>. Sonuçta anormal farklılaşma ve maternal hücreler ile extrasellüler matrix molekülleri arasında olan bu anormal etkileşim, hücrenin yaşamından ziyade apoptozise yol açan sinyalleri başlatmaktadır. Normalde sitotrofoblastlar maternal kan akımına ulaşmadan önce uterus lümeninde nisbeten hipoksik bir ortamda proliferasyon olmaktadır. Ancak bu hipoksi, apoptozisi tetiklememektedir ve fizyolojik olarak kabul edilmektedir. Çünkü erken implantasyon döneminde sitotrofoblastlar, intervillöz aralıkta kan akımı başlarken embrioyu kuvvetli maternal kan akımından koruyucu etki göstermektedir. Yani ilk trimesterde trofoblastlar için normal ortam hipoksiktir ve artmış ilk trimester intervillöz kan akımının anormal gebelik sonuçları ile ilişkili olduğu bilinmektedir<sup>107</sup>. Sitotrofoblastlar yüksek oksijen gradienti ile karşılaşınca, proliferasyonu durdurarak bu oksijen gradienti boyunca farklılaşma göstermektedirler. Ancak extrasellüler matrix molekülleri ile hipoksik bir ortamda-preeklampside olduğu gibi karşılaşırlarsa, proliferasyona devam etmekte ancak anormal



farklılaşma göstermektedirler. Bu durumun sebat etmesi halinde hücreler G1 fazından S fazı ve mitoz geçmek yerine apoptozise uğramaktadır.

Vurgulanması gereken bir ikinci noktada plasental iskeminin iki ortak sonucu gibi görünen preeklampsi ve IUGR arasındaki farklılıktır. Preeklampsi şiddetli formlarında daha belirgin olmak üzere ani başlayan klinik etkilerden sorumlu fetal-maternal yüzey bozulumu, muhtemel IUGR da daha tedrici gelişmektedir. Burada uterine hücreler ile direk komşu olan fetal sitotrofoblastlar kompensatuar bir mitoz artışı olmadan apoptozise gitmekte ve maternal-fetal yüz hızla hasarlanmaktadır. Ancak IUGR' de plasental hücrelerde apoptozis artışı daha az yüzdelerde olmaktadır<sup>102</sup>.

Bu çalışmanın dizaynında birkaç sınırlama ile karşılaştık. Birincisi gestasyonel hafta uyumlu kontrol grubu oluşturmaktı. Henüz preterm eylem ve doğum ile komplike olmuş gebeliklerde plasental apoptozisin önemi ve insidansına dair çalışma ve güvenilir veri olmadığı için zorunlu olarak kontrol grubu gebeliği herhangi bir hastalıkla komplike olmamış term hastalardan oluşturuldu. Bu konu ile yapılmış çalışmaların hemen hepsinde de evrensel bir sorun olarak bu durumla karşılaşılmış ve preeklampitik hastaların ortalama gestasyonel haftalar ve yenidoğan doğum ağırlıkları kontrollerden daha düşük kalmıştır. Üstelik gebelik haftası ilerledikçe plasenta da apoptozis sıklığının arttığı gösterilmiştir<sup>100</sup>.

Sınırlayıcı ikinci nokta ise apoptozisin tesbitinde kullanılan TÜNEL boyama metodudur. Bu metod halihazırda en güvenilir metod gibi görünmekle beraber, nekrotik hücrelerinde boyanabilmesi yanlış pozitiflik oranını arttırmaktadır. Bununla beraber, tek başına ışık mikroskopisi ile kıyaslandığında TÜNEL metodunda daha fazla sayıda apoptotik hücrelerin yakalanmasından dolayı apoptozisin normal kantifikasyonunda hala en geçerli metod olarak kabul edilmektedir. Apoptozis tayininde altın metod olarak gösterilen geçirimli elektron mikroskopisi (TEM) ise son derece pahalı bir metod olması ve incelenen kesitlerde apoptotik hücreleri yakalamada zaman ve iş gücü açısından efektif olmayışı yaygın kullanımını engellemektedir. Bu metod apoptozisin tespitinde en spesifik ve en az sensitif metoddur<sup>101,102</sup>. Üstelik apoptozis sadece bir hücresel ölü formu değil aynı zamanda bir temizleme mekanizmasıdır. Apoptozise uğrayan sitotrofoblastlar ya profesyonel fagositler-makrofajlar veya fırsatçı fagositler denilen komşu hücrelerce fagosite edilerek, hızla maternal dolaşıma verilmekte ve retikuloendotelyal sistemce yok edilmektedir. Ancak çok sayıda hücreden oluşan sinsitsiyotrofoblastlar fagosite edilememektedir.

Uteroplazental yetmezlik ile komplike olmamış gebeliklerde, gebelik haftası ilerledikçe plasental apoptozisin arttığı göz önüne alınırsa; preeklampatik grupta düşük bulunan ortalama gebelik haftasındaki plasentaların kontrol grubundaki term plasentalardan istatistiksel olarak daha fazla oranda apoptozis barındırmaları önceki çalışmalar ile uyumludur. Preeklampsi ile artan patolojik apoptozisin plasental yaşlanma ile paralel artan fizyolojik apoptozisten farklı olduğu fikrini akla getirmektedir.

## ÖZET

### **Preeklampsi patogenezinde plasental apoptozisin yeri**

Gebeliğin hipertansif hastalıklarından olan preeklampsi/eklampsi, fetal ve maternel morbidite/mortalitesi yüksek olan proteinüri ve multiorgan yetmezliği ile giden bir patolojidir. Hastalık gelişiminde iki önemli patoloji yetersiz trofoblast invazyonu ve endotel disfonksiyonudur.

"Apoptozis" yada "programlanmış hücre ölümü", bir hücrenin tek basma, çevre doku ve hücrelerin hasarlanmasından etkilenmeden yaşamına son vermesidir. Hem fizyolojik hem de patolojik olaylarda görülmektedir. Preeklampsi, IUGR ve EMR gibi komplikasyonlu gebeliklerde de artmış apoptozis saptanması dikkatleri plasenta ve plasentadaki apoptotik mekanizmalar üzerine çekmiştir.

Bu çalışmada preeklampsi patogenezinde plasental apoptozisin yerini araştırmayı amaçladık. Eylül 2006 ve Eylül 2007 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Servisinde doğum yapmış 30 hastada yapılmıştır. Çalışma elektif şartlarda sezaryen doğum yapmış 15 sağlıklı gebe ve sezaryen ile doğum yapmış 15 preeklampşik hastadan alınan plasenta örneklerinde yapıldı.

Operasyon sırasında plasental yataktan punch biyopsi alındı. Laboratuvar çalışmalarında doku örneklerinde apoptozis TUNEL, caspase-3 ve Bax immünohistokimya tekniği ile değerlendirilerek apoptozis oranları saptandı.

İki grup arasında hastaların yaş ve pariteleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. 1. ve 5. dakika Apgar skorları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında düşük doğum ağırlığı ve erken gebelik haftası ile uyumlu bir şekilde daha düşük bulunmuştur. Sonuçlar istatistiksel olarak anlamlıdır.

İki grup arasında hastaların plasenta ağırlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

Caspase, bax ve TUNEL ile yapılan immünohistokimya preeklampşik gebelerde kontrol grubuna göre plasenta doku örneklerinde apoptozda belirgin bir artış izlenmektedir.

Sağlıklı gebeliklerde, gebelik haftası ilerledikçe plasental apoptozisin arttığı göz önüne alınırsa preeklampşik grupta düşük bulunan ortalama gebelik haftasındaki plasentaların kontrol

grubundaki term plasentalardan istatistiksel olarak daha fazla oranda apoptozis barındırmaları preeklampsi ile artan patolojik apoptozisin plasental yaşlanma ile paralel artan fizyolojik apoptozisten farklı olduğunu düşündürmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Apoptoz, preeklampsi, trofoblast

## **SUMMARY**

Preeclampsia is a hypertensive disorder that has high maternal and fetal morbidity and/or mortality with proteinuria and multiorgan failure. The two important pathologies that take place in the pathogenesis are insufficient trophoblast invasion and endothelial dysfunction.

Apoptosis is the programmed cell death which is independent from the neighbouring cell damage. It can be seen in both the physiological and pathological conditions. Increased apoptosis quantification in the complicated pregnancies such as preeclampsia, IUGR and EMR directed evidence on the placenta and placental apoptotic mechanisms.

The main goal of this study was to investigate the role of placental apoptosis in the pathogenesis of preeclampsia. We collected material from placental bed of 15 preeclamptic and 15 healthy pregnancies via punch biopsy between september 2006 and september 2007 at the University of Dokuz Eylül Faculty of Medicine Department of Obstetrics and Gynecology. TUNEL, caspase -3 and bax immunohistochemistry were used for the evaluation of placental samples.

There was not any statistically significant difference between the age and partus of each groups. As compatible with low birth weight and early gestational week Apgar 1 and Apgar 5 scores have significantly lower values when compared with control group.

There was no statistically significant difference in placental weights between two groups

When compared with control group, statistically significant increase in apoptosis was observed in TUNEL, caspase-3 and bax immunohistochemistry of placental samples of the preeclamptic group.

As we consider the increased placental apoptosis according to the gestational week of healthy pregnancies, the placental apoptosis in the mean early gestational weeks of preeclamptic group was significantly higher than that of term control group. We think that pathologic apoptosis of preeclampsia was different from the increased physiological apoptosis according to the placental aging.

**Key words:** Apoptosis, preeclampsia, trophoblast

# KAYNAKLAR

---

- <sup>1</sup> Hallak M.James DK, Steer PJ, Weiner CP, Gonik B (ed):High Risk Pregnancy Management Options Hypertension in pregnancy .W.B.Saunders, second edition. Philadelphia 2006, 772-797
- <sup>2</sup> Scott ] R: Danforth Obstetrics and Gynecology, 9<sup>th</sup> edition. Hypertensive Disorders of Pregnancy J.B.Lippincott company. Philadelphia 2003, .257-271
- <sup>3</sup> Durukan T. Kişnişçi HA, Göksin E, Durukan T, Ayhan A, Gürgan T, Önderoglu LS(ed): Temel Kadın Hastalıkları ve Dogum Bilgisi. Gebelikte hipertansiyon, preeklampsi-eklampsi. Güneş Kitabevi, Ankara 1996, 1647-51
- <sup>4</sup> Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Giilstrap LC, Hauth JC, Wenstrom KD: Williams Obstetrics, 21. Edition. Hypertansive disorders in pregnancy . McGraw-Hill Companies, 2001, 568
- <sup>5</sup> Hans-Jürgen Rode, Doris Eisel, Inge Frost: Roche Applied Science Apoptosis, Cell Death and Cell Proliferation 3rd edition. Mannheim, Germany, 2004, 1-75
- <sup>6</sup> Kutmar Cotran Robbins: Basic Pathology, sixth edition. Cell Injury Death And Adaptation, 1997, 3-25
- <sup>7</sup> Hetts. SW: To die or not to die. An overview of apoptosis and its role in disease. Jama 1998;279(4):300-7
- <sup>8</sup> F. Lyall: The Human Placental Bed Revisited. Placenta 2002; 23: 555–562
- <sup>9</sup> Morgan T, Crayen C, Lalouel JM, Ward K: Angiotensinogen Thr235 variant is associated with abnormal physiologic change of the uterine spiral arteries in first-trimester decidua. Am J Obstet Gynecol 1999; 180:95-102
- <sup>10</sup> F. Lyall: Priming and Remodelling of Human Placental Bed Spiral Arteries During Pregnancy – A Review Placenta 2005, Vol. 26, Supplement A, Trophoblast Research, Vol. 19
- <sup>11</sup> Hubel CA, Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rogers GM, McLaughlin MK. Lipid peroxidation in pregnancy: New perspectives on preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 1989, 161: 1025-34
- <sup>12</sup> Rogers BB, Bloom SL, Leveno KJ: Atherosclerosis revisited: current concepts on the pathophysiology of implantation site disorders. Obstet Gynecol Surv. 1999 Mar;54(3):189-95
- <sup>13</sup> Levy R, Nelson DM: Current Topic. To Be, or Not to Be, That is the Question. Apoptosis in HumanTrophoblast Placenta 2000;21:1-13
- <sup>14</sup> Huppertz B, Hemmings D, Renaud SJ, Bulmer JN, Dash P, Chamley LW:Extravillous trophoblast apoptosis - a workshop report. Placenta. 2005 Apr;26 Suppl A:S46-8
- <sup>15</sup> Huppertz B, Kingdom JC: Apoptosis in the Trophoblast—Role of Apoptosis in Placental Morphogenesis. J. Soc. Gynecol. Investig. 2004;11: 353–62
- <sup>16</sup> J. M. Roberts, K. Y. Lain Magee: Recent Insights into the Pathogenesis of pre-eclampsia. Placenta 2002;23: 359–372
- <sup>17</sup> Huppertz B, Kadyrow M Kingdom JC: Apoptosis and its role in the trophoblast. American Journal of Obstetrics and Gynecology 2006; 195, 29–39
- <sup>18</sup> Nelson DM: Apoptotic Changes Occur in Syncytiotrophoblast of Human Placental Villi where Fibrin Type Fibrinoid is Deposited at Discontinuities in the Villous Trophoblast. Placenta 1996; 17:387-91

- 
- <sup>19</sup> Smith SC, Baker PN, Symonds EM: Placental apoptosis in normal human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:57-65
- <sup>20</sup> Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High blood pressure in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000;183:1-22
- <sup>21</sup> Cunningham FG, Mac Donald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LJ, Hankins GDV, Clark SL: *Williams Obstetrics*. 21<sup>th</sup> edition Connecticut, the McGraw- Hill 2001; p:567-609
- <sup>22</sup> Sibai BM, Lindheimer M, Hauth J, Caritis S, et al: Risk factors for preeclampsia, abruptio placentae, and adverse neonatal outcomes among women with chronic hypertension. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *N Engl J Med*. 1998 Sep 3;339(10):667-71.
- <sup>23</sup> ACOG Committee on Obstetric Practice . ACOG practice bulletin. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. Number 33, January 2002. American College of Obstetricians and Gynecologists. *Int J Gynaecol Obstet*. 2002 Apr;77(1):67-75.
- <sup>24</sup> D'Anna R, Baviera G, Corrado F, Crisafulli A, Ientile R, Buemi M, Squadrito F: Neurokinin B and nitric oxide plasma levels in pre-eclampsia and isolated intrauterine growth restriction. *BJOG* 2004 Oct;111(10):1046-50
- <sup>25</sup> Cunningham FG, Mac Donald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LJ, Hankins GDV, Clark S: *Williams Obstetrics*. 21<sup>th</sup> edition Connecticut, the McGraw- Hill 2001; p:174-178
- <sup>26</sup> Cunningham FG, Mac Donald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LJ, Hankins GDV, Clark SL. *Williams Obstetrics*. 21<sup>th</sup> edition Connecticut, the McGraw-Hill 2001; p:181-189
- <sup>27</sup> Kaufmann P, Black S, Huppertz B: Endovascular trophoblast invasion: Implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. *Biol Reprod* 2003 Jul;69(1):1-7
- <sup>28</sup> Zygmunt M: Placental circulation: Clinical significance. *Early Pregnancy* 2001 Jan;5(1):72-3
- <sup>29</sup> Ong SS, Baker PN, Mayhev TM, Dunn WR: Remodeling of myometrial radial arteries in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2005 feb;192(2):572-9
- <sup>30</sup> Rocca B, Loeb AL, Strauss JF 3rd, Vezza R, Habib A, Li H, Fitz Gerald GA: Directed vascular expression of the thromboxane A2 receptor results in intrauterine growth retardation. *Nat Med* 2000 Feb;6(2):219-21
- <sup>31</sup> Fitzgerald DJ, Rock W: Thromboxane A2 synthesis in pregnancy induced hypertension. *Lancet* 1990;335:751
- <sup>32</sup> Di Iorio R, Marinoni E, Anceschi MM, Emiliani S, Letizia C, Cosmi EV: Amniotic fluid endothelin-1 levels are increased in pregnancy-induced hypertension and intrauterine growth retardation. *Am J Reprod Immunol* 1996 Nov;36(5):260-3
- <sup>33</sup> Saftlas AF, Beydoun H, Triche E: Immunogenetic determinants of preeclampsia and related pregnancy disorders: a systematic review. *Obstet Gynecol* 2005 Jul;106(1):162-72
- <sup>34</sup> Redman CWG, Sacks CP, Sergeant IL: Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999;180:499
- <sup>35</sup> Hayashi M: Aetiology of pre-eclampsia and thrombophilic genetic mutations. *Clin Sci (London)* 2003 Sep;105(3):269-71
- <sup>36</sup> Savvidou MD, Lees CC, Parra M, Hingorani AD, Nicolaides KH: Levels of C-reactive protein in pregnant women who subsequently develop pre-eclampsia. *BJOG* 2002 Mar;109(3):297-301
- <sup>37</sup> Myatt L, Cui X: Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol* 2004 Oct;122(4):369-82

- 
- <sup>38</sup> Takagi Y, Nikaido T, Toki T, Kita N, Kanai M, Ashida T, Ohira S, Konishi I: Levels of oxidative stress and redox-related molecules in the placenta in preeclampsia and fetal growth restriction. *Virchows Arch* 2004 Jan; 444(1):49-55
- <sup>39</sup> Von Dadelszen P, Magee LA: Could an infectious trigger explain the differential maternal response to the shared placental pathology of preeclampsia and normotensive intrauterine growth restriction? *Acta Obstet Gynecol Scand* 2002 Jul;81(7):642-8
- <sup>40</sup> Cnattingius S, Mills JL, Yuen J, Eriksson O, Salonen H: The paradoxical effect of smoking in preeclamptic pregnancies: smoking reduces the incidence but increases the rates of perinatal mortality, abruptio placentae, and intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 1997 Jul;177(1):156-61
- <sup>41</sup> Dekker GA, de Vries JI, Dozlitisch PM, et al: Underlying disorders associated with severe early-onset preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1995 oct;173(4):1042-8
- <sup>42</sup> Mello G, Parretti E, Fatini C, Riviello C, Gensini F, Marchionni M, Scarselli GF, Gensini GF, Abbate R: Low-molecular-weight heparin lowers the recurrence rate of preeclampsia and restores the physiological vascular changes in angiotensin-converting enzyme DD women. *Hypertension* 2005 Jan;45(1):86-91
- <sup>43</sup> Moutquin JW, Rainville C: A prospective study of blood pressure in pregnancy: Prediction of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*;1985;151:191
- <sup>44</sup> Sibai BM, Anderson GD: Eclampsia.II.clinical significance of laboratory findings. *Obstet Gynecol* 1990;59:153
- <sup>45</sup> Williams KP, Galerneau F: The role of serum uric acid as a prognostic indicator of the severity of maternal and fetal complications in hypertensive pregnancies. *J Obstet Gynaecol Can* 2002 Aug;24(8):628-32
- <sup>46</sup> Xiong G, Wang Z, Yu Q: The predictive value of plasma fibronectin concentration on fetal growth retardation and preeclampsia at earlier stage of the third trimester. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi(abstract)* 2001 Dec;36(12):734-7.
- <sup>47</sup> Ostlund E, Hansson LO, Bremme K: Fibronectin is a marker for organ involvement and may reflect the severity of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2001;20(1):79-87
- <sup>48</sup> Ray J, Vasishta K, Kaur S: Calcium metabolism in pre-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet* 1999 sep;66(3):245-50
- <sup>49</sup> Hirai N, Yanaihara T, Nakayama T: Plasma levels of atrial natriuretic peptide during normal pregnancy and in pregnancy complicated by hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 1988;159:27
- <sup>50</sup> Rinehart BK, Terrone DA, Lagoo-Deenadayalan S, Barber WH, Hale EA, Martin JN Jr, Bennett WA: Expression of the placental cytokines tumor necrosis factor alpha, interleukin 1beta, and interleukin 10 is increased in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1999 Oct;181(4):915-20
- <sup>51</sup> Omu AE, Al-Qattan F, Diejomaoh ME, Al-Yatama M: Differential levels of T helper cytokines in preeclampsia: Pregnancy, labor and puerperium. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1999 Sep;78(8):675-80
- <sup>52</sup> Bersinger NA, Odegard RA: Second and third trimester serum levels of placental proteins in preeclampsia and small for gestational age pregnancies. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2004 Jan;83(1):37-45
- <sup>53</sup> Florio P, Ciarmela P, Luisi S, Palumbo MA, Lambert-Messerlian G, Severi FM, Petraglia F: Pre-eclampsia with fetal growth restriction: placental and serum activin A and inhibin A levels. *Gynecol Endocrinol* 2002 Oct;16(5):365-72



- 
- <sup>54</sup> Keelan JA, Taylor R, Schellenberg JC, Groome NP, Mitchell MD, North RA: Serum activin A, inhibin A, and follistatin concentrations in preeclampsia or small for gestational age pregnancies. *Obstet Gynecol* 2002 Feb;99(2):267-74
- <sup>55</sup> Hamasaki T, Masuzaki H, Miyamura T, Yoshimura S, Hamaguchi N, Ishimaru T: High concentrations of serum inhibin in pre-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet* 2000 Oct;71(1):7-11
- <sup>56</sup> D'Antona D, Reis FM, Benedetto C, Evans LW, Groome NP, de Kretser DM, Wallace EM, Petraglia F: Increased maternal serum activin A but not follistatin levels in pregnant women with hypertensive disorders. *J Endocrinol* 2000 Apr;165(1):157-6
- <sup>57</sup> D'Anna R, Baviera G, Corrado F, Leonardi I, Buemi M, Jasonni VM: Is mid-trimester maternal serum inhibin-A a marker of preeclampsia or intrauterine growth restriction? *Acta Obstet Gynecol Scand* 2002 Jun;81(6):540-3
- <sup>58</sup> Sagawa N, Yura S, Itoh H, Mise H, Kakui K, Korita D, Takemura M, Nuamah MA, Ogawa Y, Masuzaki H, Nakao K, Fujii S: Role of leptin in pregnancy—a review. *Placenta* 2002 Apr;23 Suppl A:S80-6
- <sup>59</sup> Tommaselli GA, Pighetti M, Nasti A, D'Elia A, Guida M, Di Carlo C, Bifulco G, Nappi C: Serum leptin levels and uterine Doppler flow velocimetry at 20 weeks' gestation as markers for the development of pre-eclampsia. *Gynecol Endocrinol.* 2004 Sep;19(3):160-5
- <sup>60</sup> Raykovic A, Catalano PM, Makinov MR: Elevated homocysteine levels with preeclampsia. *Obstet gynecol* 1997;90:168-71
- <sup>61</sup> Rajkovic A, Makinov MR: Plasma homocysteine concentrations in eclamptic and preeclamptic African women postpartum. *Obstet Gynecol* 1999; 94:355-63
- <sup>62</sup> Cotter AM, Mooloy AM, Scott JM, Dary ST: Elevated plasma homocysteine in early pregnancy: A risk factor for development of severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001 Oct;185(4):781-5
- <sup>63</sup> Rajkovic A, Makinov MR: Plasma homocysteine concentrations in eclamptic and preeclamptic African women postpartum. *Obstet Gynecol* 1999; 94:355-63
- <sup>64</sup> Schwarze A, Nelles I, Krapp M, Friedrich M, Schmidt W, Diedrich K, Axt-Flidner R: Doppler ultrasound of the uterine artery in the prediction of severe complications during low-risk pregnancies. *Arch Gynecol Obstet* 2005 Jan;271(1):46- 52
- <sup>65</sup> Axt-Flidner R: Second trimester uterine artery Doppler ultrasound as a screening test for adverse pregnancy outcome. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2004;31(1):9- 11
- <sup>66</sup> Dekker G, Sibai B: Primary, secondary, and tertiary prevention of pre-eclampsia. *Lancet* 2001 Jan 20;357(9251):209-15
- <sup>67</sup> Chappell LC, Seed PT, Briley AL, Kelly JC, Lee R, Hunt BJ, et al: Effect of antioxidants on the occurrence of the preeclampsia in women at increased risk: a randomized trial. *Lancet* 1999;354:810-816
- <sup>68</sup> Levine RJ, Hauth JC, Curet LB, Sibai BM, Catalano PM, Morris CD, et al: Trial of calcium to prevent preeclampsia. *N Engl J Med* 1997;337:69-76
- <sup>69</sup> Olsen SF, Secher NJ, Tabor A, Weber T, Walker JJ, Gluud C: Randomized clinical trials of fish oil supplementation in high risk pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol* 2000;107:382
- <sup>70</sup> Klockenbusch W, Rath W: Prevention of pre-eclampsia by low-dose acetylsalicylic acid—a critical appraisal. *Z Geburtshilfe Neonatol.* 2002 Jul Aug; 206(4):125-3

- 
- <sup>71</sup> Vainio M, Kujansuu E, Iso-Mustajarvi M, Maenpaa J: Low dose acetylsalicylic acid in prevention of pregnancy-induced hypertension and intrauterine growth retardation in women with bilateral uterine artery notches. *BJOG* 2002 Feb;109(2):161-7
- <sup>72</sup> Ebrashy A, Ibrahim M, Marzook A, Yousef D: Usefulness of aspirin therapy in high-risk pregnant women with abnormal uterine artery doppler ultrasound at 14-16 weeks pregnancy: randomized controlled clinical trial. *Croat Med J* 2005 Oct;46(5):826
- <sup>73</sup> Ashley Moffett & Charlie Loke: Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nature Reviews Immunology* ,August 2006, 6, 584-594
- <sup>74</sup> Pijnenborg R: Trophoblast Invasion. *Reprod Med Rev* 1994;3 :53-73.
- <sup>75</sup> Raff MC: Social controls on cell survival and cell death. *Nature*. 1992 Apr 2;356(6368):397-400. Review
- <sup>76</sup> Offen D, Elkon H, Melamed E: Apoptosis as a general cell death pathway in neurodegenerative diseases *J Neural Transm Suppl*. 2000;(58):153-66.
- <sup>77</sup> Lipponen P, Aaltomaa S, Kosma VM, Syrjanen K: Apoptosis in breast cancer as related to histopathological characteristics and prognosis. *Eur J Cancer*. 1994;30A(14):2068-73
- <sup>78</sup> Yuan J, Shaham S, Ledoux S, Ellis HM, Horvitz HR: The *C. Elegans* cell death gene *ced-3* encodes a protein similar to mammalian interleukin-1  $\beta$ -converting enzyme. *Cell*. 1993; 75:641-52
- <sup>79</sup> Xiao-Ming Yin, Zheng Dong: Essentials of Apoptosis. *Programmed Cell Death in C. Elegans* first edition Totowa, New Jersey, 2003 , p135-145
- <sup>80</sup> Hengartner M, Horvitz HR. *C. elegans* cell survival gene *ced-9* encodes a functional homolog of the mammalian proto-oncogene *bcl-2*. *Cell*. 1994; 76:665-76
- <sup>81</sup> Zou H, Henzel WJ, Liu X, Lutsch A, Wang X: Apaf-1, a human protein homologous to *C. elegans* CED-4, participates in cytochrome c-dependent activation of caspase-3. *Cell*. 1997; 90:405-13.
- <sup>82</sup> Xiao-Ming Yin, Zheng Dong: Essentials of Apoptosis. *Caspases* , first edition Totowa, New Jersey,2003, p. 1-13
- <sup>83</sup> Nagata S, Golstein P: The Fas death factor. *Science* 1995 Mar 10;267(5203):1449-56.
- <sup>84</sup> Srinivasula SM, Ahmad M, Fernandes Alnemri T, Litwack G, Alnemri ES: Molecular ordering of the Fas-apoptotic pathway: the Fas/APO-1 protease Mch5 is a CrmA-inhibitable protease that activates multiple Ced-3/ICE-like cysteine proteases. *Proc Natl Acad Sci USA* . 1996 Dec 10;93(25):14486-91.
- <sup>85</sup> Hirata H, Takahashi A, Kobayashi S, et al: Caspases are activated in a branched protease cascade and control distinct downstream processes in Fas-induced apoptosis. *J Exp Med*. 1998 Feb 16;187(4):587-600
- <sup>86</sup> Nicholson DW, Thornberry NA: Caspases: Killer proteases. *Trends Biochem Sci*. 1997; 22:299-306.
- <sup>87</sup> Liu X, Kim CN, Yang J, Jemmerson R, Wang X: Induction of apoptotic program in cellfree extracts: Requirement for dATP and cytochrome c. *Cell*. 1996 Jul 12;86(1):147-57.
- <sup>88</sup> Gavrieli Y SY, Ben-Sasson SA: Identification of programmed cell death in situ via specific labelling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol*. 1992; 119:493-501.
- <sup>89</sup> Gorczyca W SY, Ben-Sasson SA: Identification of programmed cell death in situ via specific labelling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol*. 1992; 119:493-501

- 
- <sup>90</sup> Alnemri ES, Livingston DJ, Nicolson D W, et al: Human ICE/CED-3 protease nomenclature. *Cell*. 1996 Oct 18;87(2):171.
- <sup>91</sup> Polyak K, Xia Y, Zweier JL, Kinzler KW, Vogelstein B: A model for p53-induced apoptosis. *Nature*. 1997 Sep 18;389(6648):300-5.
- <sup>92</sup> Kutmar Cotran: Robbins Basic Pathology, 6ed, 1997. Neoplasia p132-175
- <sup>93</sup> Schendel SL, Xie ZH, Montal MO, Matsuyama S, Jchannel formation by antiapoptotic protein Bcl-2. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 1997 May 13;94(10):5113-8
- <sup>94</sup> Xiao-Ming Yin, Zheng Dong: Essentials of Apoptosis, 2003. The Death Receptor Family and the Extrinsic Pathway, first edition, Totowa, New Jersey, 2003, p. 67-85
- <sup>95</sup> Xiao-Ming Yin, Zheng Dong: Essentials of Apoptosis, Analysis of Apoptosis first edition, Totowa, New Jersey, 2003, p239-253
- <sup>96</sup> Overbeeke R, Steffens-Nakken H, Vermes I, Reutelingsperger C, Haanen C: Early features of apoptosis detected by four different flow cytometry assays. *Apoptosis*. 1998 Mar;3(2):115-21.
- <sup>97</sup> Kockx MM, Muhring J, Knaapen MWM, de Meyer GRY: RNA synthesis and splicing interferes with DNA in situ end labeling techniques used to detect apoptosis. *Am J Pathol*. 1998 Apr;152(4):885-8
- <sup>98</sup> G.P. Studzinski: Apoptosis. The Practical Approach Series. Apoptosis Detection Systems, first edition, United States, 1999. p129-138
- <sup>99</sup> Stephen CS, Philip N. Baker DM, E. Malcolm Symonds: Placental apoptosis in normal human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:57-65
- <sup>100</sup> Rogers BB, Bloom SL, Leveno KJ: Atherosclerosis Revisited: Current Concepts On The Pathophysiology Of Implantation Site Disorders. *J. Obstet Gynecol Survey* March 1999; 54(3) : 189-195
- <sup>101</sup> Stephen CS, Philip N. Baker DM, E. Malcolm Symonds: Increased placental apoptosis in intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol* 1997;177:1395-1401
- <sup>102</sup> Alexander D. Allaire, Kelly A. Ballenger et al: Placental apoptosis in preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2000;96:271-6
- <sup>103</sup> Kadyrov M, Kingdom JC, Huppertz B: Divergent trophoblast invasion and apoptosis in placental bed spiral arteries from pregnancies complicated by maternal anemia and early-onset preeclampsia/intrauterine growth restriction. *Am J Obstet Gynecol*. 2006 Feb;194(2):557-63.
- <sup>104</sup> Neale DM, Mor G: The role of Fas mediated apoptosis in preeclampsia. *J Perinat Med*. 2005;33(6):471-7. Review
- <sup>105</sup> R. Levy, D.M. Nelson: To be or not to be, that is the question. Apoptosis in humantrophoblast. *Placenta* 2000;21:1-13
- <sup>106</sup> K. Kokawa, T. Shikone, R. Nakano: Apoptosis in human chorionic villi and decidua during normal embryonic development and spontaneous abortion in the first trimester. *Placenta* 1998;19:21-26
- <sup>107</sup> Jaffe R, Dorgan A, Abramowicz JS: Color doppler imaging of the uteroplacental circulation in the first trimester: value in predicting pregnancy failure or complication. *Am J Roentgenol* 1995;164:1255-58

**Tablo 14:** Hastaların genel özellikleri

Hasta No	Hasta Adı	Protokol No	Yaş	Gravide	Parite	Gebelik Haftası	Hasta Grubu
1	A.Y.	1221527	28	4	2	38,1	Preeklampsi
2	F.D.	1172706	29	1	0	38,0	Preeklampsi
3	E.E.	1090516	30	3	1	40,2	Preeklampsi
4	V.A.	1186211	33	3	1	35,2	Preeklampsi
5	Z.P.	1203363	24	2	1	33,0	Preeklampsi
6	M.K.	739284	34	3	2	33,5	Preeklampsi
7	A.Ö.	966076	33	1	0	34,1	Preeklampsi
8	A.N.	31694	31	2	1	30,3	Preeklampsi
9	E.A.	208816	30	1	0	30,0	Preeklampsi
10	Z.B.	1164215	21	1	0	34,4	Preeklampsi
11	S.S	142808	26	1	0	40,2	Preeklampsi
12	S.K.	1174205	27	2	1	31,5	Preeklampsi
13	A.K.	1166016	19	1	0	32,5	Preeklampsi
14	D.F.	1199283	19	1	0	36,5	Preeklampsi
15	S.G.	1133841	34	2	0	38,4	Preeklampsi
16	Y.G.	1123147	28	1	0	41,5	Kontrol
17	F.A.	904750	30	1	0	38,1	Kontrol
18	Ş.A.	1097402	26	1	0	38,3	Kontrol
19	H.B.	1159046	21	1	0	40,4	Kontrol
20	E.Ç.	624176	39	5	3	38,5	Kontrol
21	A.A.	820054	28	3	2	38,5	Kontrol
22	G.E.	1161184	28	2	1	38,4	Kontrol
23	E.Y.	564790	32	3	2	37,2	Kontrol
24	Ş.A.	893437	30	2	1	38,5	Kontrol
25	Ş.K.	119351	30	1	0	39,3	Kontrol
26	A.D.	1006824	33	2	1	38,2	Kontrol
27	B.K.	932997	25	2	1	38,0	Kontrol
28	B.A.	1002266	30	3	1	38,2	Kontrol
29	E.K.	1152440	30	4	1	39,0	Kontrol
30	F.G.	1130923	26	1	0	41,0	Kontrol