



T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**İNSAN PLAZMASINDA OKSİTOSİNİN, ATRİYAL
NATRİÜRETİK PEPTİT, B-TİP NATRİÜRETİK PEPTİT VE
C-TİP NATRİÜRETİK PEPTİT DÜZEYLERİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Dr. ÖMER FARUK ÖZER

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. SERPİL BİLSEL

İSTANBUL 2009

ÖNSÖZ

Tıpta uzmanlık eğitimim boyunca her konuda destek ve bilgisini benden esirgemeyen, her türlü imkanı sağlayan değerli hocam Prof. Dr. Serpil Bilisel'e teşekkürlerimi sunarım.

Değerli hocalarım Prof. Dr. Kaya Emerk'e, Prof. Dr. Yavuz Taga'ya, Prof. Dr. Süha Yalçın'a, Prof. Dr. Nesrin Kartal Özer'e, Prof. Dr. Goncagül Haklar'a ve Prof. Dr. Önder Şirikçi'ye eğitimime katkılarından ve gösterdikleri yakınlık ve anlayıştan ötürü teşekkür ederim.

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Ayşe Özer'e, Eczacılık Fakültesi Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Jülide Akbuğa ve Yrd. Doç. Dr. Suna Özbaş Turan'a tez çalışmalarımda sağladıkları imkanlardan dolayı teşekkür ederim.

Eğitim süresince hep yanımda olan aileme, her türlü zor anımda benimle olan, bana her açıdan destek olan sevgili eşime teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÖZET.....	iii
SUMMARY.....	iv
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER VE TABLOLAR LİSTESİ.....	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Oksitosin.....	3
2.1.1. Oksitosin reseptörü.....	4
2.1.2. Oksitosinin kalp ve damar sistemi üzerine etkileri.....	6
2.2. Natriüretik Peptitler.....	9
2.2.1. Natriüretik peptitlerin sentezi ve depolanması.....	9
2.2.2. Natriüretik peptit reseptörleri.....	14
2.2.3. cGMP Sinyal yolağı.....	15
2.2.4. Natriüretik peptitlerin farklı biyolojik aktiviteleri.....	15
2.3. Gebelikte Hemodinamik Değişiklikler.....	19
2.3.1. Kan hacmi.....	19
2.3.2. Kalp boyutu ve hızı.....	20
2.3.3. Kardiyak output.....	20
2.3.4. Kan basıncı.....	21
2.3.5. Sistemik vasküler rezistans.....	21
2.3.6. Venöz damar yatağı.....	21
2.3.7. Böbrekler.....	21
2.3.8. Sodyum.....	22
2.4. Gebeliğin Son Dönemlerinde Hemodinamik Değişiklikler.....	23
2.5. Doğum Esnasında Hemodinamik Değişiklikler.....	23
2.6. Doğum Sonrası Hemodinamik Değişiklikler.....	23
2.7. Gebelikte Atriyal Natriüretik Peptit.....	24
2.8. Gebelikte B-Tip Natriüretik Peptit.....	25
2.9. Gebelikte C-Tip Natriüretik Peptit.....	25
3. ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	27
3.1. Kullanılan Gereçler.....	27
3.2. Kullanılan Kitler.....	27
3.3. Yöntemler.....	27
3.3.1. Örneklerin toplanması.....	27
3.3.2. Oksitosin ekstraksiyon protokolü.....	28
3.3.3. ANP ve CNP ölçümü.....	28
3.3.4. Oksitosin ölçümü.....	29
3.3.5. BNP ölçümü.....	30
3.3.6. İstatistiksel analiz.....	31
4. BULGULAR.....	32
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	37
6. KAYNAKLAR.....	42

ÖZET

Oksitosin kardiyovasküler sistemi endokrin veya nöroendokrin yollarla doğrudan veya nitrik oksit ve natriüretik peptitler gibi vazodilatör maddelerin salınımını uyarak etkileyen bir hormondur.

Bu çalışmada amacımız oksitosin düzeylerinin çok yükseldiği bilinen doğum sürecinde oksitosin ve natriüretik peptit düzeylerindeki değişiklikler ile oksitosin ve natriüretik peptit düzeyleri arasındaki ilişkiyi saptamak ve doğum sürecindeki hemodinamik değişikliklere olası katkılarını araştırmaktır. Bu amaçla normal doğum yapan, 29 sağlıklı normotensif hamile kadından doğum öncesi aktif fazda, doğumdan 15 dakika sonra ve doğumdan üç saat sonra olmak üzere 3 kez kan alınmıştır. Alınan kanlarda NT-proANP, NT-proCNP ve oksitosin düzeyleri enzim immünölçüm yöntemiyle, NT-proBNP düzeyi ise elektrokemilüminesans immünölçüm yöntemiyle belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlarda plazma oksitosin düzeylerinin doğumdan hemen sonra doğum öncesi değerlerine göre anlamlı derecede arttığı, doğumdan 3 saat sonra ise tekrar düştüğü bulunmuştur. Plazma ANP seviyelerinin en yüksek düzeyine doğumdan hemen sonra ulaştığı ve doğumdan 3 saat sonra, doğum öncesi ve doğum sonrası değerlerine göre anlamlı şekilde düştüğü bulunmuştur. BNP değerlerinin doğum öncesinden doğum sonrası 3. saate kadar giderek anlamlı bir şekilde artarken, CNP değerlerinin ise giderek anlamlı şekilde düştüğü gözlemlenmiştir.

Ayrıca oksitosin değerlerinin aynı kanlardan ölçülen ANP değerleriyle pozitif yönde istatistiksel olarak korelasyon gösterdiği ancak BNP ve CNP değerleriyle korelasyon göstermediği bulunmuştur.

Sonuçlarımız doğum sürecinde yükselen oksitosinin, ANP salgılanmasında rolü olabileceğini göstermektedir. Ayrıca bulgularımız BNP'nin doğumdan sonra görülen diürez ve natriürezde ANP'den daha etkin rol oynayabileceğini ima etmektedir. CNP'nin ise doğum sürecinde azalmasının fizyolojik öneminin açıklanması için ise daha fazla araştırmalara gerek bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Oksitosin, ANP, BNP, CNP, doğum, hemodinami.

SUMMARY

Oxytocin is a hormone that influence cardiovascular system by endocrine and neuroendocrine pathways directly and/or by stimulating the release of vasoactive mediators such as nitric oxide (NO) and natriuretic peptides.

The aim of our study was to explore i) the changes in oxytocin and natriuretic peptide levels, ii) relation between oxytocin and natriuretic peptide levels, iii) possible role of natriuretic peptides on hemodynamic changes during labor and postpartum, the time period in which the physiological level of oxytocin is very high. Three blood samples were collected from 29 healthy pregnant women undergoing vaginal delivery. The first sample was collected during active phase of labor, the second sample was collected 15 minutes after delivery and the last was collected 3 hours after delivery. Blood levels of NT-proANP, NT-proCNP and oxytocin were measured by an enzymatic immunoassay. NT-proBNP was measured by an electrochemiluminescent method.

The results demonstrate that oxytocin levels significantly increase 15 minutes after delivery compared to the active phase of labor and decline 3 hours postpartum. Plasma ANP levels reach maximum levels shortly after delivery and decline significantly 3 hours postpartum compared to the levels of active phase of labor and delivery. CNP levels decrease gradually while BNP levels increase from the active phase of labor to 3 h after delivery. Furthermore the concentration of oxytocin showed a positive correlation with ANP concentration but no correlation with BNP and CNP.

Our results indicate that oxytocin may be partly responsible from the elevations in ANP levels during delivery. Moreover, our results indicate that BNP could play more important role than ANP in postpartum diuresis and natriuresis. To clarify the physiological importance of CNP decrease during labor and postpartum more research is needed.

Key words: Oxytocin, ANP, BNP, CNP, labor, hemodynamics.

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACE:	Anjiotensin dönüştürücü enzim
ACTH:	Adreno kortikotropik hormon
ADH:	Anti diüretik hormon
ANP:	Atrial Natriüretik Peptit
AVP:	Arjinin vasopressin
BNP:	B-tip natriüretik peptit
cGMP:	Siklik guanozin monofosfat
CNP:	C-Tip Natriüretik Peptit
ECLIA:	Electrochemiluminescence immunoassay
EDHF:	Endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör
EDRF:	Endotel kaynaklı relaksan faktörlerin
EDTA:	Etilendiamintetraasetik asit
ELISA:	Enzyme-linked immunosorbent assay,
ER:	Östrojen reseptörü
GC:	Guanilat siklaz
GFR:	Glomerüler filtrasyon hızı
GPCR:	G proteinle bağlantılı reseptör
GTP:	Guanozin trifosfat
MAPK:	Mitojen aktive protein kinaz
MLC:	Miyosin hafif zincir
MLCK:	Miyosin hafif zincir kinaz
NEP:	Nötral endopeptidaz
NO:	Nitrik oksit
NOS:	Nitrik oksit sentaz
NP:	Natriüretik peptitler
NPR-A:	Natriüretik Peptit Reseptör A
NPR-B:	Natriüretik Peptit Reseptör B
NPR-C:	Natriüretik Peptit Reseptör C
NT-proANP:	N Terminal pro Atrial Natriüretik Peptitler
NT-proBNP:	N Terminal pro Beyin Natriüretik Peptitler
NT-proCNP:	N Terminal pro C-Tip Natriüretik Peptitler

OT:	Oksitosin
OTR:	Oksitosin reseptörü
PG E ₂ :	Prostaglandin E ₂
PKG:	Protein kinaz G
PVN:	Paravetriküler çekirdekler
RPF:	Renal plazma akımı
RT-PCR:	Eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
SA-HRP:	Streptavidin-horseradish peroxidase
SR:	Sarkoplazmik retikulum
SSS:	Santral sinir sistemi
SVR:	Sistemik vasküler rezistans
TFA:	Trifloroasetik asit
TGF- β :	Transforme eden büyüme faktörü- β
URO:	Ürodilatin

ŞEKİL VE TABLOLARIN LİSTESİ

1. Şekillerin listesi

Şekil 1. Oksitosinin yapısı

Şekil 2. Oksitosin reseptörü ve sinyal yolağı

Şekil 3. Sağ atriyumda oksitosinin indüklediğı ANP salınımının şematik diagramı.

Şekil 4. Nartiüretik peptit ailesinin 3 ana üyesinin aminoasit dizilimleri ve yapıları:

Şekil 5. ANP'nin sentezi ve sekresyonu

Şekil 6. BNP'nin sentezi ve sekresyonu

Şekil 7. CNP'nin sentezi

Şekil 8. Natriüretik peptitler ve reseptörleri arasındaki etkileşim.

Şekil 9. Natriüretik peptitlerin üretildikleri ve etkilerini gösterdikleri başlıca yerler.

Şekil 10. Venöz dönüş arttığında kalpten salınan natriüretik peptitlerin fizyolojik etkileri

Şekil 11. ELISA Sandviç yöntemi

Şekil 12. ELISA Yarışmalı yöntem

Şekil 13. ECLIA Sandviç yöntemi

Şekil 14. Elektrokemilüminesans reaksiyon

Şekil 15. Oksitosin sonuçları-Grafik

Şekil 16. ANP sonuçları-Grafik

Şekil 17. BNP sonuçları-Grafik

Şekil 18. CNP sonuçları-Grafik

Şekil 19. Doğum öncesi NT-proANP değerleri ile doğum öncesi oksitosin değerleri arasındaki korelasyon

Şekil 20. Doğumdan 15 dk sonraki NT-proANP değerleri ile doğumdan 15dk. sonraki oksitosin değerleri arasındaki korelasyon

2. Tabloların listesi

Tablo 1. Natriüretik peptitlerin etkileri

Tablo 2. Oksitosin, NT-proANP, NT-proBNP ve NT-proCNP çalışılan grupların ortalaması, standart sapması, örnek sayıları ve p değerleri.

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Gebelik boyunca kadınlarda hormon düzeylerinde ve kardiyovasküler hemodinamide belirgin değişiklikler gözlenir. Gebeliğin sürdürülmesinde en etkin hormonlar olan östrojen ve progesteron gebelik boyunca yükselirken, oksitosin (OT) ise gebeliğin sonunda yükselmeye başlar. Yapılan çalışmalarda oksitosinin doğumu başlatmaktan çok başlamış olan doğum esnasında uterus kontraksiyonlarını potansiyelize ettiği ve doğumdan hemen sonra maksimum seviyelerine ulaşip uterusu güçlü bir şekilde kasarak topladığı ve kanamayı önlediği bulunmuştur (Leake ve ark., 1981; Thornton ve ark., 1988).

Oksitosinin bilinen klasik etkileri yanında kardiyovasküler etkilerinin olduğu son yıllarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. OT hem akut, hem de kronik uygulamadan sonra natriürezisi uyarmış ve arteriyel basınçta düşüşe neden olmuştur (Petersson, 2002). OT'nin indüklediği natriürezide ANP'nin rolü gösterilmiş ve OT'nin kardiyovasküler etkilerinin bir kısmının kalpten ANP salgılatırabilmesi aracılığıyla olduğu hipotezi ortaya atılmıştır. Bu hipotezi desteklemek amacıyla OT reseptörünün kalbin bütün odacıklarında ve damarlarda var olduğu ve sentezlendiği gösterilmiştir (Gutkowska ve ark., 1997). Kalpteki OT reseptörlerinin işlevsel olduğu, OT'nin santral kontrol mekanizmalarından yoksun izole perfüze olan kalpten ANP'yi salgılatırabilmesi ile kanıtlanmıştır.

Gebelik diğer sistemlerde olduğu gibi kardiyovasküler sistemde de birçok değişikliklere yol açar. Bu değişikliklerin başlıcaları; kan hacminde, kalp debisinde ve kalp hızında artış, sistemik vasküler rezistansta azalmadır. Bu değişiklikler doğumdan sonra 1. saatten itibaren 6. haftaya kadar süren bir zaman diliminde tekrar gebelik öncesi düzeylerine döner (McLaughlin ve ark., 1999). Doğum eyleminde ise ilk evrede kardiyak output hafifçe artar, kuvvetli itici gücün sarfedildiği ikinci evrede, belirgin olarak yükselir. Doğumdan sonraki 10-15 dakika içerisinde kardiyak outputta belirgin artış gözlemlenir ve kardiyak output doğum eylemi öncesi gebelikteki değerlerine doğumdan 1 saat sonra geri döner. (Robson ve ark., 1987b)

Gebeliğin sebep olduğu hemodinamik değişikliklerin mekanizması henüz net olarak belirlenebilmiş değildir. Ancak hCG, östrojen, progesteron, arjinin vazopressin (AVP) ve renin-anjiotensin-aldosteron sisteminin gebeliğin sebep olduğu kardiyovasküler adaptasyonlarda düzenleyici rol aldıklarına dair güçlü kanıtlar vardır (Wilson ve ark., 1980; Barron ve Lindhimer 1984).

Natriüretik peptitler volüm homeostazında, damar tonüsü ayarlanmasında ve kardiyovasküler yeniden yapılanmada düzenleyici hormonlardır. Bu peptitler kan basıncını düşürmede, idrar volümünü ve idrarla sodyum atılımını artırmada ve renin-anjiotensin-aldosteron sistemini baskılamada görev alırlar. ANP ve BNP kalpten salgılanıp daha çok natriüretik ve diüretik etki gösterirken endotelden salgılanan CNP'nin bir hiperpolarizasyon faktörü olarak vazodilatatör etki gösterdiğine dair bulgular vardır (Ahluwalia ve ark., 2004). Ayrıca ANP ve BNP'nin *in vitro* olarak endotel hücrelerinde CNP sentezini uyardığı gösterilmiştir (Nazario ve ark., 1995).

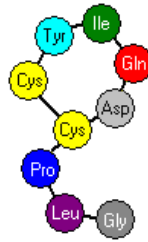
Sonuç olarak oksitosinin ANP salgılanmasını, ANP'nin ise CNP salgılanmasını uyardığını gösteren deney bulguları bulunmaktadır. Ancak gebelikte ve doğum sırasında oksitosin düzeyleri ile ilgili araştırmalar son derece kısıtlıdır. Ayrıca bu dönemde natriüretik peptit düzeylerindeki değişiklikleri de saptayan çalışmalar, özellikle de CNP düzeylerini araştıran çalışmalar çok azdır ve sonuçlar çelişkilidir. Bu çalışmada amacımız, oksitosinin fizyolojik ve farmakolojik olarak en yüksek düzeylere eriştiği doğum sürecinde natriüretik peptitlerin düzeylerindeki değişiklikleri ve aralarındaki ilişkiyi saptamaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Oksitosin

Dokuz aminoasitten oluşan oksitosin (OT) hormonu, esas olarak hipotalamusta paraventriküler ve supraoptik nükleuslarda sentezlenen bir nöropeptittir (Şekil-1). Oksitosin prohormonu hipotalamustan taşıyıcı protein olan nörofizin ile birlikte, membrana bağlı veziküllerde aksonlar boyunca taşınarak arka hipofize depolanmak ve daha sonra salınmak üzere getirilir. Oksitosin prohormonu transport boyunca enzimatik olarak oksitosine çevrilir (Granier ve ark. 1988; Leake, 1990).

Yapılan araştırmalarda OT'nin santral salınımının yanında böbrek, kalp, pankreas, adipositler, adrenal bezler, uterus, overler, testis ve birçok büyük çaplı damarlardan salgılandığı bulunmuştur. (Gimpl ve Fahrenholz, 2001).



Şekil 1. Oksitosinin yapısı

Oksitosinin bilinen klasik etkileri doğum esnasında uterin kontraksiyonları uyarma, laktasyon esnasında sütün ejeksiyonunu sağlamaktır. Ancak yapılan çalışmalarda OT'nin erkek hipofizinde ve plazmasında da dişilerdeki ile eşit miktarda bulunması, OT'nin daha başka fizyolojik fonksiyonlarının da olabileceğine işaret etmiştir (Heller, 1961).

OT seksüel davranışta, annelik dürtüsünde, yeme dürtüsünde, hafıza ve öğrenmede ve de kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesinde etkili rol oynar (Pedersen ve ark., 1982; Conrad, 1993; Gutkowska ve ark., 1997; Russell ve Leng, 1998; Argiolas ve ark., 2004).

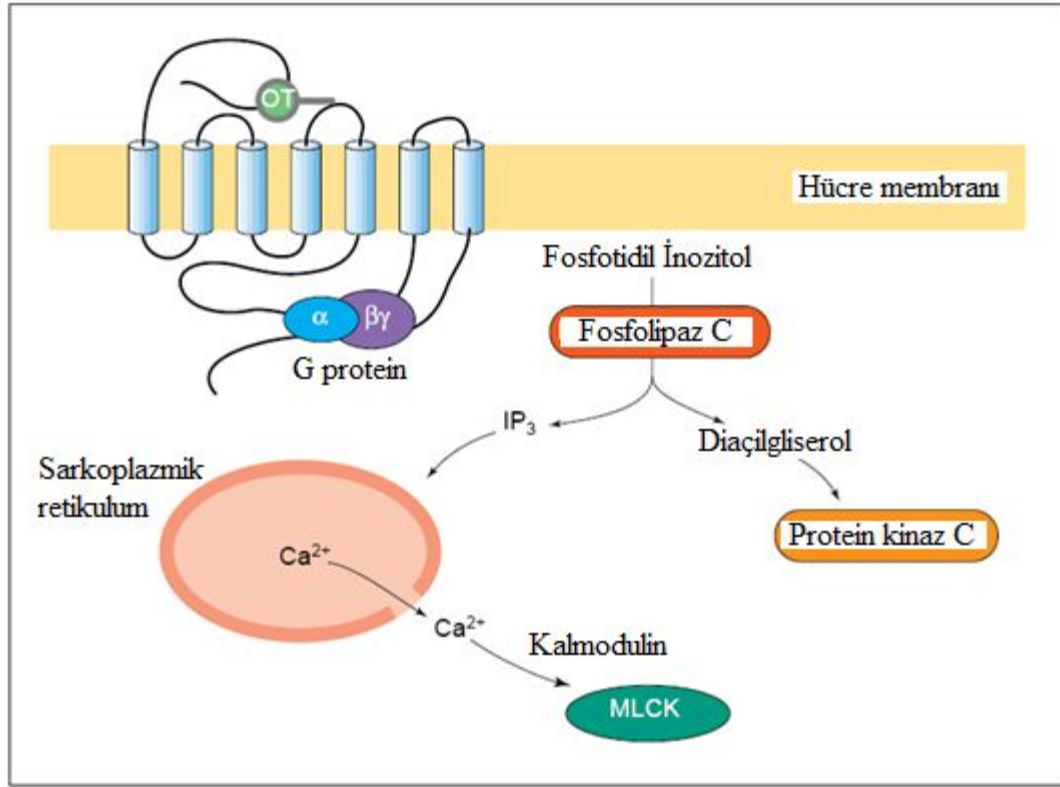
OT hem akut, hem de kronik uygulamadan sonra natriürezi uyarır ve arteriyel basınçta düşüşe neden olur (Petersson, 2002). Fakat bunu nasıl gerçekleştirdiği henüz tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Nitrik oksit (NO) ve natriüretik peptitlerin bu etkilere aracılık ettiklerine dair kanıtlar bulunmaktadır. (Pournajafi-Nazarloo ve ark., 2007).

2.1.1. Oksitosin reseptörü

Oksitosin reseptörü tipik sınıf 1 G proteinine bağı reseptör (GPCR) ailesinin bir üyesidir. OT reseptörü 389 aminoasite sahiptir ve hücre zarını 7 kez kateden parçalardan oluşur. Allosterik modulatör olarak fonksiyon gören Mg^{2+} ve kolesterol, reseptörü yüksek afiniteli hale getirmek için gereklidir (Gimpl ve Fahrenholz, 2001). Oksitosin reseptörleri çok değişik dokularda bulunmuştur (Andan ve ark., 1995). Bu reseptörler özellikle uterusu fakat aynı zamanda meme, hipofiz, beyin, böbrek, over, testis, kalp ve kan damarları gibi birçok dokuda tespit edilmiştir. Tribollet ve ark. (1988) beyinde olifaktör trabekülde, ventromedial hipotalamik nükleusta, santral amigdaloid nükleusta ve ventral hipokampusta oksitosin reseptörlerinin varlığını göstermişlerdir. Oksitosin reseptörlerinin beyinde yaygın olarak bulunması ve santral olarak uygulanan oksitosinin davranışlar üzerine spesifik etkiler göstermesi, oksitosinin üreme ve sosyal davranışlarda rolü olan santral bir nörotransmitter olabileceğini göstermektedir.

Oksitosin reseptör yoğunluğu uterusu hamilelik boyunca giderek artar (Soloff ve ark., 1979). Değişik çalışmalar östrojenin myometriyal ve kardiyak oksitosin reseptörlerinin artmasını sağlarken (Engstrom ve ark., 1999), progesteronun doza bağı olarak oksitosinin reseptörlerine bağlanmasını engellediğini (Grazzini ve ark., 1998) ve oksitosin reseptör sayısını azalttığını göstermiştir (Zhang ve ark., 1992). Hamileliğin sonunda belirgin bir şekilde östrojen konsantrasyonu artarken, progesteron konsantrasyonu düşer. Bu da gebeliğin son döneminde myometriyumda, damarlarda ve kalpteki oksitosin reseptör ekspresyonun artışı açıklar (Shojo ve ark., 2000).

Oksitosin reseptörünün aktivasyonu fosfolipaz C'nin aktivasyonuna neden olur (Şekil-2). Bu da inositol trifosfat (IP_3) ve 1,2 diaçilgliserol oluşumunu sağlar. İnositol trifosfat hücre içi depolardan kalsiyum salınımını uyarırken diaçilgliserol, proteinkinaz C'yi stimüle eder. Proteinkinaz C de hedef proteinleri fosforiller. Sonuçta hücre içi kalsiyum artışına bağı olarak kalsiyum kalmodulin kompleksi meydana gelir. Kalsiyum kalmodulin kompleksi de myozin hafif zincir kinazı aktive eder. Bu da uterus veya meme bezi gibi düz kaslarda kasılmaya neden olur (Moore ve ark., 1988).



Şekil 2. Oksitosin reseptörü ve sinyal yolağı (Mitchell ve ark., *Reviews of Reproduction* 1998; 3: 113–122’den değiştirilerek alınmıştır)

Oksitosin bu yolaklarla uterus veya meme düz kaslarında kasılmaya neden olurken kalpte ve damarlarda atriyal natriüretik peptit (ANP) ve nitrik oksit (NO) aracılığıyla, kalp hızının yavaşlamasını ve kasılma gücünün azalmasını sağladığı gösterilmiştir (Gutkowska ve ark., 1997; Soares ve ark., 1999; Jankowski ve ark., 2000). ANP ve NO, cGMP aracılığıyla vazodilatatör etki gösterirler. Nitrik oksit (NO) son derece potent bir vazodilatatördür ve vazodilatasyonda hücre içi sinyal ajanı olarak önemli rol oynar. Son zamanlarda Jankowski ve arkadaşları (2000) yaptıkları çalışmalarda endotelial oksitosin reseptörlerinin, NO yolağını kalsiyuma bağlı olarak uyararak kalpte ve damarlarda gevşeme sağladığını göstermişlerdir. Yaptıkları çalışmalarda oksitosinin NO sentezini uyardığını ve bunun da guanilat siklazı aktive ederek cGMP ürettiğini ve bu yolla da kalp ve damarlarda gevşeme sağlandığını bildirmişlerdir.

2.1.2. Oksitosinin kalp ve damar sistemi üzerine etkileri

Oksitosin kardiyovasküler sistemde ve hidromineral homeostazda önemli görevleri olan bir hormondur. (Huang ve ark.,1995; Jankowski ve ark., 2000). Oksitosin kardiyovasküler regülasyonu birkaç yolla yapabilir.

Periferik olarak böbrek, kalp ve damarlarda NO ve ANP ile etkileşim göstererek etkilerini gerçekleştirir. Santral sinir sisteminde ise oksitosinerjik lifler paravetriküler çekirdeklerden (PVN) kardiyovasküler regülasyonun yapıldığı önemli alanlara uzanırlar. Oksitosin kan basıncındaki düşüşü buradaki nöronları uyarak gerçekleştirir (Gilbey ve ark., 1982). Santral sinir sisteminde locus sereleus, vagal çekirdekler gibi kardiyovasküler kontrolde önemli alanlara uzanan oksitosinerjik liflerin alfa 2- adrenoreseptörler ile etkileşim göstererek sıçanlarda oksitosinin kan basıncı üzerine etkilerini gerçekleştirdikleri gösterilmiştir (Diaz-Cabiale ve ark., 2000).

Uzun zamandır değişik canlı türlerinde OT'nin böbrekten elektrolit atılmasını artırdığı bilinmektedir. OT'nin bu natriüretik ve kaliüretik etkileri AVP'den bağımsızdır. OT natriüretik açıdan AVP'den daha potenttir. Her iki peptitin de bu etkileri böbrek tübüler hücrelerindeki reseptörlerini direkt olarak etkilemesiyle gerçekleştirdikleri gösterilmiştir. (Stoeckel ve ark.,1987; Tribollet ve ark.,1988).

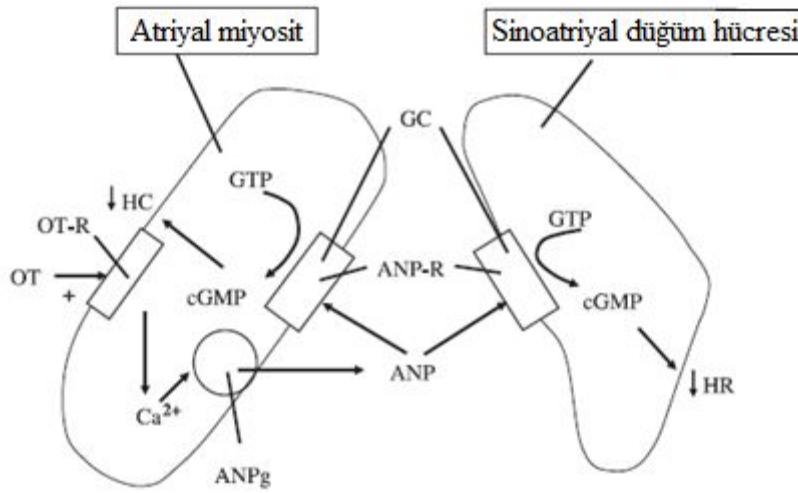
Oksitosin yaptığı etkilerle hemodinamik değişikliklere de yol açmaktadır. Weis ve arkadaşları (1975) bu amaçla genç, sağlıklı isteğe bağlı gebeliği sonlandırılan bir kadına bolus şeklinde OT enjeksiyonu yapmışlar ve sonuçta arteriyel kan basıncında % 30 ve total periferal dirençte % 50 düşüş gözlemlemişlerdir. Bunu kardiyak outputta % 50 artışa neden olan %30 kalp hızında ve %25 stroke volümde artış takip etmiştir. Elde edilen bu sonuçlar daha sonra invazif girişimlerle de doğrulanmıştır (Langesæter ve ark. 2006). Bu kalp hızı ve stroke volümdeki artışı refleks olarak kardiyak baroreseptörlerin uyardığı düşünülmektedir.

2.1.2.1. Kalpte oksitosin

Kalpdeki oksitosin reseptörü (OTR) diğer organlarda bulunan oksitosin reseptörleriyle tamamen aynı özelliklere sahiptir (Gutkowska ve ark., 1997). Kalbin bütün odacıklarında OTR sayısı aynıdır. Kalpteki OTR'lerinin işlevsel olduğu santral kontrol mekanizmalarından yoksun izole perfüze olan kalpten OT'nin ANP salgılatırabilmesi ile ispatlanmıştır. İn vivo yapılan çalışmaların aksine perfüzyon tamponuna OT (10^{-6} M) eklenmesiyle kalp hızında da anlamlı derecede düşüş gözlenmiştir. Perfüzyon tamponuna oksitosin antagonisti eklenmesi ise doza bağlı olarak ANP salınımını inhibe etmiştir.

Yine yapılan çalışmalarda sağ atriyumdaki OT konsantrasyonun yaklaşık olarak hipotalamusta bulunan konsantrasyonla aynı olduğu bulunmuştur (Jankowski ve ark., 1998). Sol atriyumda sağ atriyumdan biraz daha az ama ventriküllerde çok daha az OT konsantrasyonu olduğu gösterilmiştir. Bunlara ek olarak *in vitro* çalışmalarda atriyal miyositlerden oksitosin sekrete edildiği gösterilmiştir. Sıçan kalbiyle yapılan çalışmalarda spesifik OT transkriptinin kalbin dört odacığında da bulunduğu RT-PCR'la gösterilmiştir. Kalp odacıklarından üretilen oksitosin gen parçalarının uterusda üretilenlerle tamamen aynı özelliklere sahip olduğu görülmüştür. Bu gözlemler sonucu oksitosinin intrakardiyak sentezinin varlığı ispatlanmıştır. (Gutkowska ve ark., 2000)

Oksitosinin kalpte inotropik ve kronotropik etkilerini ANP aracılığıyla gösterdiği ileri sürülmektedir. Oksitosin atriyal miyositteki reseptörüne bağlandıktan sonra hücre içi kalsiyum artışına neden olarak atriyal granüllerde bulunan ANP'yi salgılatır (Şekil-3). Salınan ANP hem atriyal miyositteki reseptörüne bağlanarak cGMP aracılığıyla kalp kontraksiyonunu düşürür, hem de sinoatriyal düğümdeki reseptörüne bağlanarak kalp hızını düşürür (Gutkowska ve ark., 1997).



Şekil 3. Sağ atriyumda oksitosinin indüklediği ANP salınımının şematik diagramı.

OT: Oksitosin; OT-R: Oksitosin reseptörü; ANPg: ANP salgılayan granül; ANP-R: ANP reseptörü; GC: Guanilat siklaz; HC: Kalp kontraksiyonu; HR: Kalp hızı.

(Gutkowska ve ark. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 1997; 94: 11704-11709*'dan değiştirilerek alınmıştır)

2.1.2.2. Damarlarda oksitosin

Gutkowska ve arkadaşlarının (2000) *in vitro* olarak OT'nin kalpte üretilmesini ve salgılanmasını ve kardiyak reseptörlerinin uyarılmasının da kalp hızını ve kasılma gücünü düşürdüğünü göstermelerinden sonra OT'nin damarlarda da üretilebileceği ve damar gevşemesini sağlayabileceği hipotezi ortaya atılmıştır.

Yapılan çalışmalarda sıçan, koyun ve köpek damarlarında oksitosinin varlığı spesifik radioimmünassay (RIA) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography- HPLC) yöntemleriyle gösterilmiştir. Ayrıca eş zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real-time polymerase chain reaction-RT-PCR) analiziyle OT mRNA'sının aortada ve vena kavada varlığı tespit edilmiştir. Östrojen uygulaması vena kavada OT ve OTR gen ekspresyonunu artırırken aortada sadece OTR mRNA'sını artırmıştır (Mukaddam-Daher 2002). Böylece damarlarda östrojenik düzenlemeye duyarlı intrinsik bir OT sistemi olduğu bulunmuştur. (Petersson, 2002).

Oksitosinin damar tipine, damarın tonus derecesine göre hem vazodilatatör, hem de vazokonstriktör etkiler gösterebileceğine dair bulgular vardır. (Altura ve Altura 1984).

Plasenta ve göbek kordonu damarlarında oksitosin vazopressinden daha potent bir vazokonstriktördür. Köpeklerde ise oksitosin kalp hızında artmaya eşlik eden kan basıncı düşmesine neden olur ve bu etkilerin oksitosinin vasodilatatör etkisi aracılığıyla olduğu düşünülmektedir.

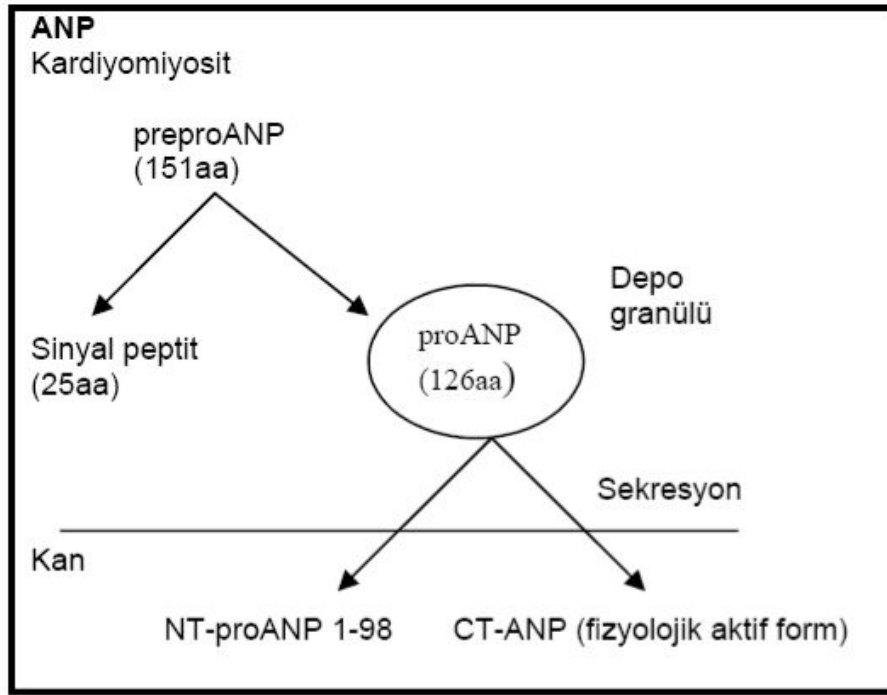
Bu farklı ve birbirine zıt etkilerin açıklaması; oksitosinin reseptörlerinin hem endotelial, hem de vasküler düz kas hücreleri üzerinde bulunmasıdır. Oksitosin reseptörlerinin endotelial hücrelerde NO üretimini stimüle ettiği ve vazodilatasyonu indüklediği; düz kas hücrelerinde ise vazokonstriksiyona aracılık ettikleri gösterilmiştir (Yazawa ve ark., 1996; Thibonnier ve ark., 1999). Yüksek konsantrasyonlarda oksitosinin vazokonstriktör etkisi ise damarlarda vazopressin V1a reseptörlerine bağlanmasıyla açıklanmaktadır.

2.2. Natriüretik Peptitler

Natriüretik peptit ailesi başlıca 3 üyeden oluşur. Atrial natriüretik peptit (ANP), B-tip natriüretik peptit (BNP) ve C-tip natriüretik peptit (CNP). Bu peptidler kan basıncının düzenlenmesinde, vücut sıvı dengesinin ayarlanmasında endokrin ve parakrin/otokrin yollarla etki göstererek anahtar rol oynarlar. Ayrıca natriüretik peptitler damar düz kas hücrelerinin proliferasyonunu ve hipertrofiye olmasını inhibe ederler. ANP ve BNP işlevleri ve dağılımları açısından çok benzerlik gösterirler. ANP daha çok kalp atriyumundan salgılanırken, BNP daha çok ventriküllerden hipervolemiye cevap olarak salgılanır. Bu peptitler dolaşıma geçerek endokrin yolla damar tonüsünü düşürürler, damar içi sıvı hacmini azaltmak için diürez ve natriürezi düzenlerler ve renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini inhibe ederler. Buna karşın CNP daha çok damar endotelinde sentezlenir ve lokal olarak etki gösterir. Parakrin yolla damar düz kas tonüsünü ve proliferasyonunu düzenler.

2.2.1. Natriüretik peptitlerin sentezi ve depolanması

ANP, BNP ve CNP gen ekspresyonunun ürünleri prepro-peptitlerdir. Bu peptitlerin sinyal peptit kısmı sinyal peptidaz tarafından kesilerek propeptit şekline dönüştürülürler. Propeptit ilgili hücreden plazmaya verilir. Propeptit plazmada furin veya corin adlı proteazlar tarafından N terminal ve C terminal parçalarına ayrılır. Her



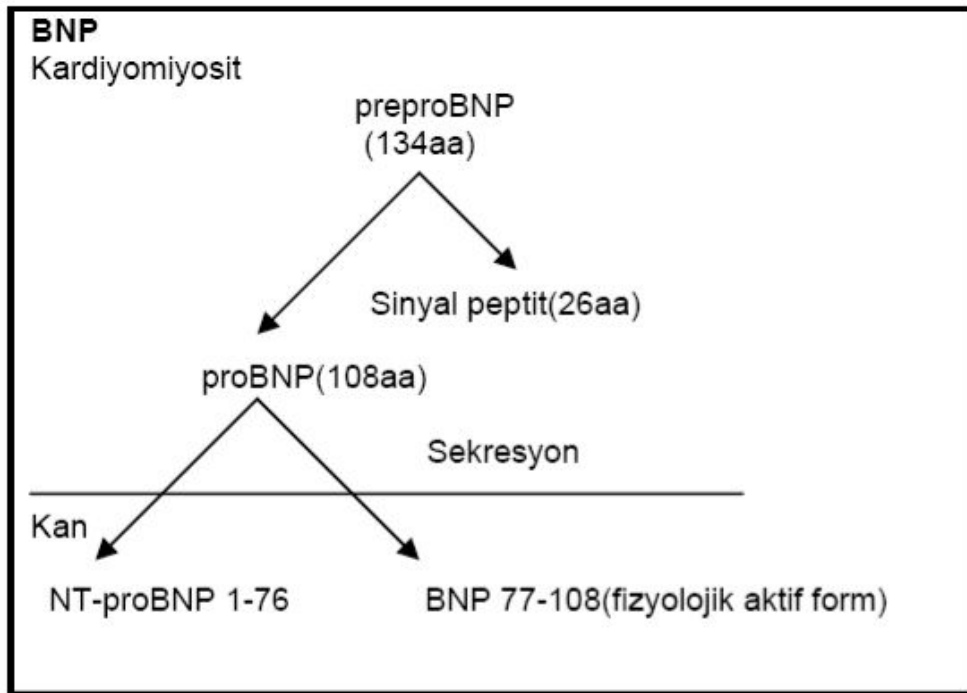
Şekil 5. ANP'nin sentezi ve sekresyonu

2.2.1.2. B-tip natriüretik peptit

BNP ilk başta domuz beyinde tanımlanmış olmasına rağmen kalp ventrikülleri dolaşımdaki BNP'nin ana kaynağıdır. İnsan BNP'si 134 aa'lık prepropeptit olarak sentezlenir ve bu peptit endoproteaz tarafından 108 aa'lık öncül proteine (proBNP 1-108) dönüştürülür (Şekil-6). Bu propeptit biyolojik olarak aktif olan 32 aa'lık karboksi-terminal parçasına ve 76 aa'lık N-terminal parçasına ayrılır (Sudoh ve ark., 1988). Olgun BNP her iki kalp atriyumu ve ventrikülünden de sentezlenir ancak ventriküllerdeki preproBNP mRNA'sı daha fazladır. Sağlıklı durumda atriyumdan salgılanan ANP'ye karşın BNP'nin asıl kaynağı kalp ventrikülüdür (Minamino ve ark., 1988). Pro BNP, Pro ANP'nin aksine, sekretuar granüller içinde paketlenmez. Pro BNP, kana salınmadan önce ileri derecede düzenlenmiş olmalıdır. Bundan dolayı, BNP konsantrasyonları ANP gibi hızlı ve düzensiz olarak değişmez. Sürekli bir ventriküler genişleme ve basınç artışı olduğunda Pro BNP kana salınır ve fizyolojik olarak aktif hormon olan BNP ile inaktif bir metabolit olan N terminal BNP'ye parçalanır. ANP 3 dakika, BNP 20 dakika, N-terminal-proANP 1saat, N-terminal-proBNP ise yaklaşık 1-2 saatlik yarı ömre sahiptir (Mair ve ark., 1999).

2.2.1.3. BNP ve NT-proBNP arasındaki farklar

- NT-proBNP kan konsantrasyonu BNP'ye göre 20-50 kat daha yüksektir.
- NT-proBNP değerleri pozisyonla değişmez.
- NT-proBNP kan yarı ömrü daha uzundur.
- NT-proBNP için alınan daha az kan örneği ve oda sıcaklığında 3 gün stabil kalabilir.
- Sol ventrikül fonksiyon bozukluğunda: NT-proBNP > BNP (2-10 kat)

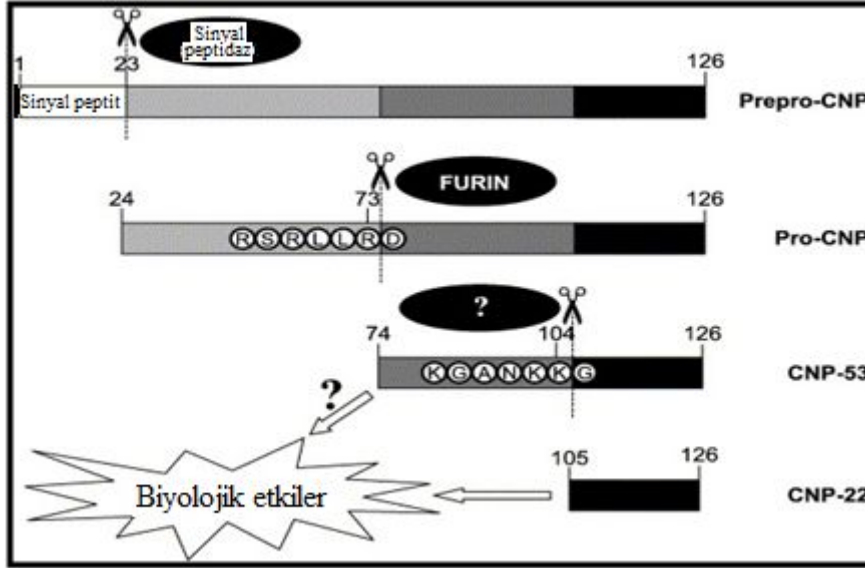


Şekil 6. BNP'nin sentezi ve sekresyonu

2.2.1.4. C-tip natriüretik peptit

126 aa'lık insan prepro-CNP'si sinyal peptidazın sinyal peptidi uzaklaştırmasından sonra depo formu olan pro-CNP'ye dönüşür (Şekil-7). Ardından Golgide pro-CNP, CNP-53'ü oluşturmak üzere furin tarafından kesilir. CNP-53'ten de bilinmeyen bir mekanizmayla CNP-22 oluşur. 22 aa'lık CNP'nin daha olgun ve biyolojik olarak daha aktif olduğu düşünülmektedir. CNP'nin en çok eksprese edildiği yer sinir sistemi ve endotel hücreleridir. Kalp dokusunda CNP azdır. Plazmada da CNP az miktarda bulunur (Chen ve ark., 1998; Suga ve ark.,1992; Yandle, 1994). Yetişkinlerde dolaşımda CNP düzeyleri klirens reseptörleri ve neutral endopeptidaz

enzimi tarafından hızla metabolize edildiğinden dolayı genelde tespit edilebilir sınırların altında seyreder. Buna karşın NT-proCNP dolaşımında daha uzun süre ve daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve CNP konsantrasyonunu yansıtır.



Şekil 7. CNP'nin sentezi (Scotland ve ark. *Pharmacology & Therapeutics* 2005;105: 85– 93'den değiştirilerek alınmıştır.)

Miyokardiyumdan ANP ve BNP'nin devamlı olarak bazal salınımı bu peptitlerin plazmada düşük konsantrasyonlarda bulunmasını sağlar. ANP ve BNP'nin miyokardiyumdan salınımı çeşitli fiziksel, fizyolojik, patolojik ve kimyasal uyaranların sayesinde gerçekleşir.

Dolaşımdaki natriüretik peptitlerin sol ventrikül disfonksiyonunun olduğu klinik durumlarda belirgin şekilde artması bunların büyük ilgi odağı olmasına sebep olmuştur.

BNP salınımının sol ventrikül disfonksiyonunun derecesi ile yakından ilişkili olduğu konusunda kesin kanıtlar vardır. Sentez ve salınımdaki değişik uyaranların mekanizmaları henüz kesin değildir. Klasik ve en çok tanımlanmış uyarım şekli kalp odacıklarının gerilmesidir. NP ler, kalp yetmezliğinin kompensasyonunu sağlayarak konjestif kalp yetmezliğini geciktirirler. Semptomsuz sol ventrikül disfonksiyonunda, Natriüretik peptiler ve NT-prohormonlar sıklıkla kanda yüksek düzeylerde bulunurlar. Bu nedenle NP'ler, kalp yetmezliğinde yararlı erken belirteçler olarak

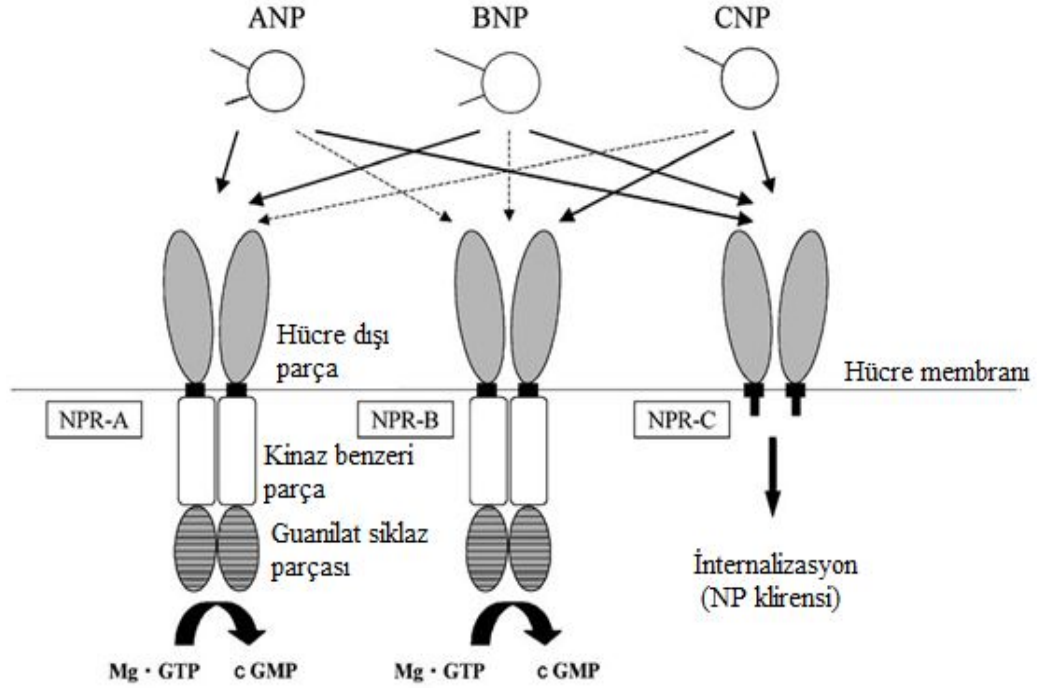
kullanılırlar. Erken kalp yetmezliğinde, kalp atım hacminin düşmesi ile sempatik sistem ve RAAS, baroreseptörler aracılığıyla aktive olurlar. Atriyumların gerilmesi ve sol ventrikül basıncının artması sonucu ANP ve BNP salınır. Natriüretik peptitlerin salınımını uyaran diğer önemli uyarılar, iskemi veya hipoksi (Baxter, 2004); egzersiz; plazma osmolalitesinin yükselmesi; katekolaminler ve NO, endotelin-1, prostasiklin gibi endotelyum kaynaklı faktörler ve sitokinlerdir (Ruskoaho, 1992).

2.2.2. Natriüretik peptit reseptörleri

Natriüretik peptitler biyolojik etkilerini hedef hücre membranındaki reseptörlerine bağlanarak gerçekleştirirler. Memeli dokularında 3 çeşit natriüretik peptit reseptörü (NPR-A, NPR-B, NPR-C) tanımlanmıştır (Fuller ve ark., 1988; Chang ve ark., 1989) (Şekil-8). ANP ve BNP seçici olarak natriüretik peptit reseptör-A'ya (NPR-A) bağlanırken, CNP natriüretik peptit reseptör-B'ye (NPR-B) bağlanır. NPR-A ve NPR-B yapı bakımından ve moleküler ağırlık bakımından birbirine benzerler ve hücre dışı peptit bağlayan parça, protein kinaz benzeri parça ve guanilat siklaz olmak üzere üç parçadan oluşurlar (Chang ve ark., 1989), (Şekil-8). NPR-A ve NPR-B guanilat siklaza bağlanırlar. Guanilat siklaz da guanozin trifosfatı (GTP) siklik guanozin monofosfata (cGMP) çevirir. Böylece natriüretik peptitler fizyolojik fonksiyonlarını cGMP aracılığıyla gösterirler.

Üçüncü bir reseptör olan NPR-C guanilat siklaz aktivitesinden yoksundur. Bütün natriüretik peptitlere yaklaşık olarak eşit afiniteyle bağlanır ve primer olarak natriüretik peptitlerin kandan temizlenmesini sağlar (Levin, 1993).

NPR-A'lar daha çok kalpte bulunurken NPR-B'ler daha çok damarlarda bulunur. Klirens reseptörü olan NPR-C'ler ise kalp, böbrek, akciğer, damar duvarı gibi pek çok dokuda yaygın olarak bulunur. Natriüretik peptitler aynı zamanda endotelial hücrelerin lümenal yüzeyinde yüksek miktarda bulunan nötral endopeptidaz (NEP) enzimi tarafından da parçalanırlar (Roques, 1998).



Şekil 8. Natriüretik peptitler ve reseptörleri arasındaki etkileşim. ANP: Atriyal natriüretik peptit, BNP: B-tip natriüretik peptit, CNP: C-tip natriüretik peptit, NPR-A: Natriüretik peptit reseptör-A, NPR-B: Natriüretik peptit reseptör-B, NPR-C: Natriüretik peptit reseptör-C. (Nishikimi ve ark. *Cardiovascular Research* 2006; 69: 318-328'den değiştirilerek alınmıştır)

2.2.3. cGMP Sinyal yolağı

Natriüretik peptitler esas olarak hücre içi cGMP konsantrasyonunun artışı ile hücresel aktivitelerini gerçekleştirirler. NPR-A ve NPR-B eksprese eden hücre tiplerinde hücre içi cGMP konsantrasyonda artma natriüretik peptitlere maruz kaldıktan sonra görülür. cGMP bağımlı protein kinaz (PKG), cGMP sinyallerinin başlıca hücre içi aracısıdır.

2.2.4. Natriüretik peptitlerin farklı biyolojik aktiviteleri

Natriüretik peptitlerin (NP) çok geniş biyolojik aktiviteleri vardır (Tablo1). İnsanlarda ve diğer memelilerde kalp kaynaklı natriüretik peptitlerin glomerüler arteriyollerdeki endokrin aktiviteleri sayesinde birincil olarak volüm ayarlaması yaptıkları ve böylece glomerüler filtrasyonu artırdıkları iyi bir şekilde kanıtlanmıştır. Bununla birlikte birçok kanıt otokrin/parakrin yolla ANP ve BNP'nin kalpte etkili

olduklarını destekler (D'Souza ve ark., 2004), (Şekil-9). Kardiyak kaynaklı peptitlerin bu lokal etkileri özellikle hastalık durumlarında göze çarpmaktadır. Bunlar inotropik durumu etkileme, miyokardiyal iskemideki sitoprotektif işlevler, koroner damarlarda vazodilatasyon, kardiyak miyositlerde hipertrofinin inhibe edilmesi ve fibroblast proliferasyonunun baskılanmasıdır.

Tablo 1. Natriüretik peptitlerin etkileri

1- Böbrek üzerine etkileri:

- Glomerüller üzerine etkileri
Afferent arteriolde gevşeme, efferent arteriolde kasılma
Mezangial hücrelerde gevşeme
- Böbrek tübülleri üzerine etkileri:
Diürez
Natriürez

2- Kardiyovasküler sistemde etkileri:

- Vazodilatasyon

3- Hormonlar üzerine etkileri:

- Renin sekresyonunun inhibisyonu
- Aldosteron sentezinin inhibisyonu

4- Hücre büyümesi ve çoğalması üzerine etkileri:

- Damar düz kas hücrelerinin, mezangiyal hücrelerin ve kalp fibroblastlarının çoğalmasının inhibisyonu
- Kalp miyositlerinde hipertrofinin inhibisyonu

5-Kemik üzerine etkileri:

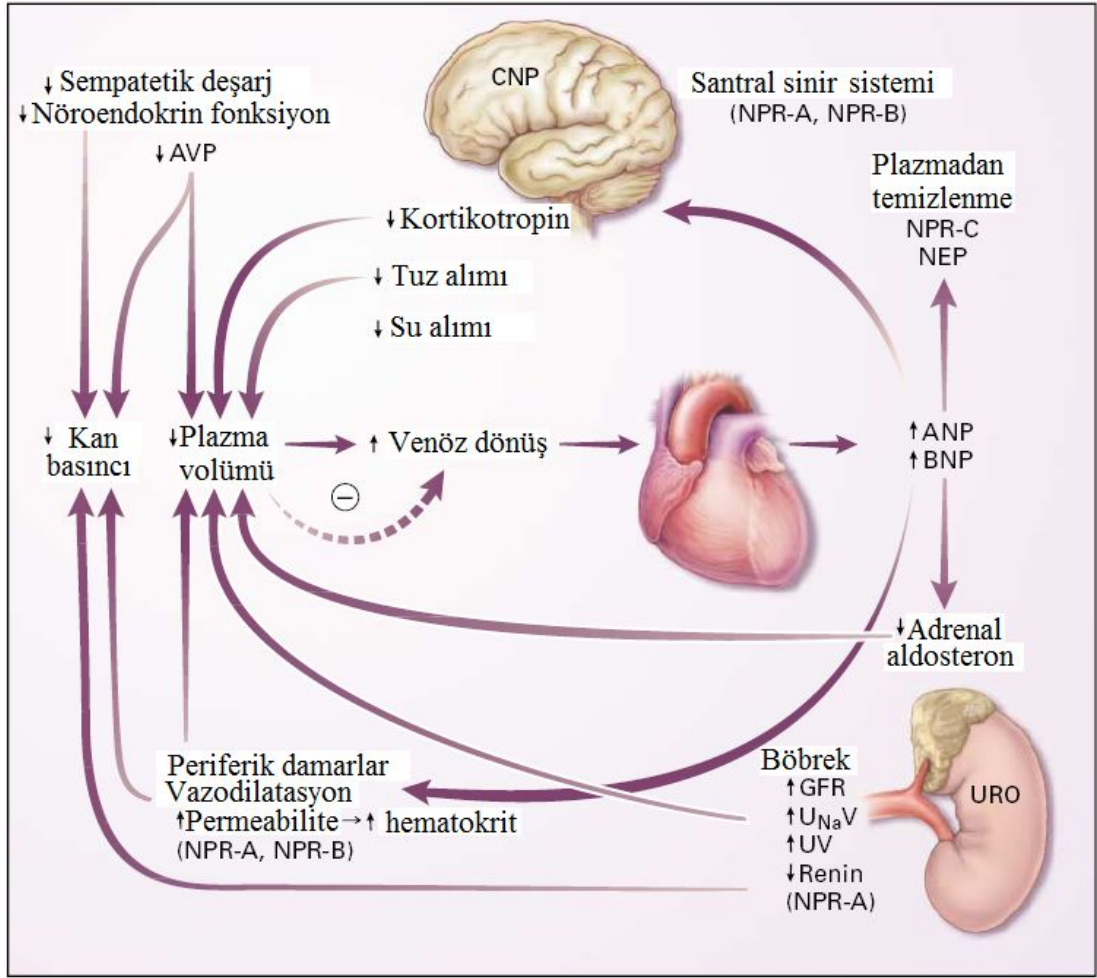
- Endokonal kemikleşmeye neden olur

6-Merkezi Sinir Sistemi üzerine etkileri:

- Su alınınının azalması
- Tuz alınınının azalması
- Hipotansif etki
- Vazopressin (ADH) sekresyonunun inhibisyonu
- ACTH sekresyonunun inhibisyonu

Endotel kaynaklı peptit olan CNP'nin vasküler yapılarda otokrin ve parakrin olarak etki gösterdiği ortaya çıkmıştır. (Chen ve ark., 1998). Yapılan çalışmalarda CNP'nin insan endotel hücrelerinde cGMP'yi yükseltme açısından diğer natriüretik peptitlere göre daha potent olduğunu gösterilmiştir (Rautureau ve ark., 2004). Ahluwalia ve arkadaşları (2004) ise CNP'nin mezenterik arterlerde hiperpolarizasyon yaparak vasodilatasyonu gerçekleştirdiğini ve dolayısıyla CNP'nin endotel kaynaklı hiperpolarizan faktör olduğunu göstermiştir. CNP'nin ateroskleroz ve restenoz gibi fibroproliferatif vasküler hastalıkların patofizyolojisi ile ilgili antiproliferatif özellikleriyle alakalı hızla genişleyen bir literatür vardır (Furuya ve ark.1993; Gaspari ve ark., 2000; Yasuda ve ark., 2002).

Şekil 9. Natriüretik peptitlerin üretildikleri ve etkilerini gösterdikleri başlıca yerler. Siyah oklar peptitlerin üretimi ve salgılanmasını göstermekte, noktalı oklar otokrin/parakrin etkilerin yerlerini göstermekte. Kesik çizgili oklar ise endokrin etkileri göstermektedir. (Baxter GF. *Basic Res Cardiol* 2004; 99: 90-93’den değiştirilerek alınmıştır)



Şekil 10. Venöz dönüş arttığında kalpten salınan natriüretik peptitlerin fizyolojik etkileri: Natriüretik peptitlerin artmış salınımı kan basıncını ve plazma volümünü beyinde, adrenal bezde, böbrekte ve damarlardaki birbiriyle koordineli işlevler aracılığıyla düşürür. Şekilde görülen eksi işareti plazma volümünde düşmenin venöz dönüşte düşmeye yol açarak natriüretik peptitlerin sekresyonunda tekrar düşüş sağlandığını gösterir.

ANP ve BNP: Atriyal ve B-tip natriüretik peptitler, CNP: C-tip natriüretik peptit, URO: Ürodilatin, NEP: Nötral endopeptidaz, NPR-A, NPR-B ve NPR-C: Natriüretik Peptit Reseptör A, B ve C, AVP: Arginin vasopressin, GFR: Glomerular filtrasyon hızı, U_{NaV} : İdrar sodyum atılımı, UV: İdrar volümü ve BP: Kan basıncı. Natriürtik peptitlerin fonksiyonlarına aracılık eden reseptörler parantez içinde gösterilmiştir.

(Ellis ve ark. *The New England Journal of Medicine* 1998; 339(5): 321- 328'den değiştirilerek alınmıştır)

Sonuç olarak natriüretik peptitler su ve sodyum birikimindeki fazlalığa; vazokonstriktör peptitlerin üretimlerini ve etkilerini inhibe ederek, vasküler relaksasyonu sağlayarak ve sempatetik deşarjı baskılayarak karşı koyarlar (Ellis ve ark., 1998), (Şekil-10).

2.3. Gebelikte Hemodinamik Değişiklikler

Gebelik ve puerperium sırasında kalbi ve dolaşımı içine alan belirgin değişiklikler gözlenir. Kardiyak işlevlerde meydana gelen en önemli değişiklikler gebeliğin ilk sekiz haftası içerisinde ortaya çıkar ve gebelik boyunca devam eder (McLaughlin ve ark., 1999). Kardiyovasküler sistemde kalp yapısında, kan hacminde, kardiyak outputta ve sistemik vasküler rezistansta değişiklikler gerçekleşir ve bunlar da kardiyak hipertofi ve periferik ödeme sebep olur. Değişikliklerin geri dönmesi doğumdan hemen sonra başlar ve postpartum 6. haftaya kadar devam eder.

2.3.1. Kan hacmi

Gebelik boyunca maternal kan hacmi belirgin olarak artar. Normal gebelerde yapılan çalışmalarda term veya terme yakın dönemlerde kan hacimleri, gebe olunmayan dönemlerin yaklaşık % 40-45'i kadar olduğu bulunmuştur (Whittaker ve ark., 1996).

Gebeliğe bağlı hipervoleminin çok sayıda önemli fonksiyonu bulunmaktadır:

1. Büyümüş uterus ve onun çokça hipertrofiye olmuş vasküler sisteminin ihtiyaçlarını karşılamak.
2. Anneyi ve ardından fetüsü, ayakta ve yatar pozisyonlardaki bozuk venöz dönüşün zararlı etkilerinden korumak.
3. Anneyi doğumla ilişkili kan kayıplarının yan etkilerine karşı korumak.

Anne kan hacmi ilk trimestrede artmaya başlar, en hızlı artış ikinci trimesterde gerçekleşir ve sonra gebeliğin son birkaç haftasındaki plato seviyesine dek yavaşça artış gösterir.

Kan hacmindeki artış, hem plazma, hem de eritrositlerde meydana gelen artıştan kaynaklanmaktadır. Maternal dolaşımdaki artışa eritrositlerden çok plazmadaki artış sebep olsa da eritrosit hacmindeki artış da belirgindir (Steiner, 2007). Plazma hacim artışının mekanizması henüz tam olarak aydınlatılabilmemiş değildir. Fakat östrojenin, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini uyarması sonucu su ve sodyum tutulumunun artmasıyla ilişkili olabileceği üzerinde durulmaktadır. (Monga M., 1989)

2.3.2. Kalp boyutu ve hızı

Kalp boyutu hipertorfiye bağlı olarak %10-12 kadar artar. Kardiyak kapasite 70-80 ml artar; bunun artmış volüme veya kalp kasının hipertrofisine bağlı olduğu düşünülmektedir (Pamela, 1987). Gebelik sırasında istirahat kalp hızında da 10-15 vuruş/dk civarında bir artış olur (Steain ve ark., 1999).

2.3.3. Kardiyak output

Kardiyak output, kalp hızı ve stroke volümdeki artma ve azalmalara bağlıdır ve kalbin fonksiyonel kapasitesinin bir göstergesidir.

Stroke volüm gebelik boyunca %25-30 artar ve maksimum düzeyine gebeliğin 12-24 haftaları arasında ulaşır. Erken gebelik döneminde kardiyak outputtaki artışın hemen hemen tamamından stroke volüm sorumludur. Kalp hızı da gebelik boyunca artar ve termde, gebe olmayan kadınlardan 15 vuruş/dk daha yüksektir. Üçüncü trimesterin geç dönemlerinde kardiyak output artışından stroke volüm ile birlikte annede gözlenen bu taşikardi sorumludur.

Kardiyak output gebelik boyunca %30 ila %50 arası artış gösterir (Gilson ve ark., 1997). Gebeliğin üçüncü trimesterine kadar yavaş fakat devamlı bir artış olur. Kardiyak output anne postüründen belirgin derecede etkilenir. Termde sola yatar pozisyondan sırt üstü yatar pozisyona geçmek kardiyak outputta yaklaşık %25-30 civarında bir düşme meydana getirir (Ueland ve ark., 1969). Bu gebe uterusun vena cava inferiora baskı yaparak alt ekstremitelerden venöz dönüşü azaltmasından kaynaklanır.

2.3.4. Kan basıncı

Gebelik boyunca sistemik kan basıncı hafif bir düşüş gösterir. Genellikle arteriyel kan basıncı gebeliğin ortalarında en düşük seviyeye ulaşır ve bundan sonra tekrar yavaş yavaş gebe olmayan kadındaki değerlerine geri döner (Wilson ve ark., 1980).

2.3.5. Sistemik vasküler rezistans

Sistemik vasküler rezistans (SVR) kan basıncının kardiyak outputa bölünmesiyle hesaplanır. Gebelik boyunca kan basıncının düşmesi veya sabit kalması ve kardiyak outputun oldukça artması sistemik vasküler rezistansın belirgin bir şekilde düşmesinin kanıtıdır. Sistemik vasküler rezistans progesteronun ve prostaglandinlerin vazodilatatör etkilerine bağlı olarak gebeliğin 5. haftasından itibaren düşmeye başlar. Ayrıca NO gibi endotel kaynaklı gevşetici faktörlerin üretiminin artmasının da vasodilatasyonu artırdığı ve SVR'yi düşürdüğü ileri sürülmektedir (Dukevot ve Peeters 1994).

2.3.6. Venöz damar yatağı

Venöz komplians gebelik boyunca dereceli bir artış gösterir ve bu da akım hızında düşme ve ardından da stazla sonuçlanır (Fawer ve ark., 1978). Venöz kapasitanstaki bu artış damarlarda bulunan progesteron veya endotel kaynaklı relaksan faktörlerin (EDRF) gevşetici etkilerinden veya damar duvarının elastiki özelliğini değiştirmelerinden kaynaklanmaktadır.

2.3.7. Böbrekler

Normal gebelikteki belirgin hormonal ve hemodinamik değişimler böbreklerde yapı ve fonksiyon açısından değişiklikler oluşturur. Gebelik boyunca böbrek boyutları 1-1.5 cm artar. Glomerüler filtrasyon hızı (GFR) ve renal plazma akımı (RPF) gebeliğin erken dönemlerinden itibaren artmaya başlar ve ikinci trimesterin başlarında %50'lik bir artış gösterir. (Dunlop, 1981)

Böbrekte üretilen bir enzim olan renin 1. trimesterin başlarında artmaya başlar ve artışı terme kadar devam eder. Bu enzim, substratı olan angiotensinojeni ilk formu olan angiotensin I'e ve ardından da bir vazokonstrüktör olan angiotensin II'ye çevirir. Ancak gebelerde angiotensin I ve angiotensin II'deki artış beklenen

vazokonstriksiyonu gerçekleştirmez ve kan basıncında da bir artış gözlenmez. Normal gebe kadınlar miktarı artmış olan angiotensin II'nin kasıcı etkilerine karşı dirençlidirler. Fakat preeklampitik kadınlarda bu direnç gözlenmez. Angiotensin II aynı zamanda gebelikte ADH ile birlikte su ve sodyum tutulumunu sağlayan aldosteronun adrenokortikal sekreyonunun ana uyaranıdır (Pamela, 1987).

Renin ve angiotensinojen seviyeleri özellikle gebeliğin son yarısında artmaktadır. Bu durum maternal adrenal bezlerde zona glomerulaza üzerinde etki gösteren ve belirgin olarak artmış aldosteron sekresyonundan sorumlu olan angiotensin II'nin artmasına neden olur. Normal gebelikte artmış olan aldosteron sekresyonunun, progesteron ve ANP'nin natriüretik etkisine karşı koruyucu özellikte olduğu ileri sürülmüştür.

2.3.8. Sodyum

Gebelikte değişik faktörler sodyum atılımını artırır. Sodyumun günlük filtrasyon yükünün günde 20000 mEq'dan 30000 mEq'a çıkmasındaki başlıca etmen GFR'deki % 50 artıştır.

Sodyum atılımına yardım eden hormonlar aşağıdadır:

1. Progesteron
2. Vazodilatatör prostaglandinler
3. ANP.

Yukarıda sayılan etkenlere rağmen gebelik boyunca yaklaşık olarak toplam 950 mg sodyum retansiyonu olur. Sodyum reabsorbsiyonundaki artış aldosteron, deoksikortikosteron ve östrojenin üretimindeki ve salgılanmasındaki artışa bağlıdır (Barron ve Lindhimer 1984). Bu hormonlar kısmen plazma progesteronundaki ve vazodilatatör prostaglandinlerdeki artışla fakat aynı zamanda renin angiotensin sisteminin uyarılması aracılığıyla düzenlenir. Renin angiotensin aldosteron sisteminin tüm bileşenleri gebeliğin 1. trimesterinde artar (Wilson ve ark., 1980). Karaciğer tarafından üretilen angiotensinogenin sentezi östrojen tarafından uyarılır ve reninin böbrekten üretimini artırır. Renin de, angitensinogenin angiotensin I ve ardından II'ye dönüşümünü stimüle eder.

Sodyumun gebelikteki net tutulumu: 950 mg

Tutulumu sağlayan faktörler:

-Aldosteron

-Östrojen

-Deoksikortikosteron

-Sırt üstü yatar veya ayakta pozisyon

Atılımı sağlayan faktörler:

-GFR

-Progesteron

-Prostaglandinler

-ANP

2.4. Gebeliğin Son Dönemlerinde Hemodinamik Değişiklikler

Clark ve arkadaşları (1989) gebeliğin son dönemlerindeki normal değerleri tanımlamak amacıyla maternal kardiyovasküler hemodinami üzerine çalışmalar yapmışlardır. 10 sağlıklı nullipar kadına gebeliğin 35 ile 38. haftalarında ve postpartum 11 ile 13. haftalarda sağ kalp kateterizasyonu uygulanmıştır. Gebeliğin son dönemlerinde kalp hızı, stroke volüm ve kardiyak outputta beklenen artış gözlenmiştir. Sistemik vasküler direnç ve pulmoner vasküler direnç, kolloid osmotik basınç gibi anlamlı derecede düşmüştür.

2.5. Doğum Esnasında Hemodinamik Değişiklikler

Doğum eylemi sırasında kardiyovasküler değerlerde önemli değişiklikler olur. Doğumun I. Evresinde %12-31 arası kardiyak output artışı olur. Bu artış stroke volümdeki %22'lik artışa bağlıdır (Robson ve ark. 1987a) Doğumun II. Evresinde kardiyak outputta daha belirgin bir artış gözlemlenir (%49). Doğum esnasında sistolik ve diastolik basınçta geçici bir düşüş gözlemlenir. (Robson ve ark 1987a) Doğum eyleminin ilk evresinde kardiyak output hafifçe artar, kuvvetli itici gücün sarfedildiği ikinci evrede, belirgin olarak yüksektir. (Cunningham, 2001).

2.6. Doğum Sonrası Hemodinamik Değişiklikler

Doğumdan sonraki 10-15 dakika içerisinde kardiyak outputta belirgin artış gözlemlenir. Bu artışın nedeni gebe uterusun vena kava üzerindeki baskısının ortadan kalkması, uterus ve plasentadaki kanın ototransfüzyonu ve ekstrasvasküler sıvının hızlı mobilizasyonudur. Bu sayılanların hepsi kalbe venöz dönüşü artırır ve stroke

volüm artar. Kardiyak output doğum eylemi öncesi gebelikteki değerlerine doğumdan 1 saat sonra geri döner. (Robson ve ark., 1987b)

Vajinal doğumda yaklaşık 500 mL kan kaybı olurken sezaryen doğumda bu değer 1000 mL'e kadar ulaşır (Ueland, 1976) . Gebe kadınları postpartum kan kaybından korumada kısmen gebelik esnasındaki kan volüm artışının faydası vardır. Ekokardiyografik çalışmalar sol atriyum boyutlarının postpartum 1-3 günlerde fazla vücut sıvısının mobilizasyonu ve artmış venöz dönüş sebebiyle arttığını göstermiştir (Robson ve ark. 1987b). ANP düzeyleri erken puerperium döneminde diürez ve natriüzeri stimüle etmek amacıyla yükselir (Pouta ve ark. 1996) Sol atriyum boyutları ve kalp hızı postpartum 10 gün içerisinde normale dönerken sol ventrikül boyutlarının düşmesi 4-6 ayı bulur. Stroke volüm, kardiyak output ve sistemik vasküler rezistans gibi kardiyovasküler ölçümler postpartum 6. haftadan önce hamilelik öncesi değerlerine tamamen geri dönmez (Capeless ve Clapp, 1991).

2.7. Gebelikte Atriyal Natriüretik Peptit

Bu biyolojik aktif peptit atriyal miyositler tarafından sentezlenip salgılanırlar. Atriyal natriüretik peptit belirgin natriürez ve diüzeze neden olur. Renal kan akımını ve glomerüler filtrasyon hızını artır ve renin sekresyonunu azaltır. Natriürezden sorumlu olan gerçek mekanizmalar, hemodinamik nedenli natriürezis ve tübüler sodyum geri emilimi üzerindeki inhibitör etki üzerine var olan tutarlı bulgularla birlikte, belirsizliğini sürdürmektedir (Wakinati ve arkadaşları, 1985). Atriyal natriüretik peptitlerin zona glomeruloza hücrelerinden bazal aldosteron salınımını azalttığı ve aynı zamanda aldosteronun kortikotropin ve angiotensin II tarafından uyarılan salınımını bozduğu gösterilmiştir (Atarashi ve ark., 1984). Renin sekresyonu da bu hormon tarafından baskılanmaktadır. Atriyal natriüretik peptitin vasküler düz kas hücresi üzerinde angiotensin II veya norepinefrine cevap olarak harekete geçen direkt vazorelaksan etkisi vardır.

Castro ve ark. (1994) normal ve hipertansif gebe kadınlarda atriyal natriüretik peptitinin plazma düzeylerini değerlendiren pek çok çalışma arasında meta analiz yapmışlardır. Ortalama düzey üçüncü trimesterin sonlarında gebelik dışı değerlerin %40 üzerine, postpartum birinci haftada ise gebelik dışı değerlerin %150 üzerine çıkmıştır. Bu araştırmacıların hipotezi atriyal gerim reseptörlerinin gebelikteki artmış

kan hacmini normal veya hafif artmış olarak algıladığı yönündedir. Postpartum ilk hafta boyunca peptit seviyelerinde gözlenen belirgin artış bilinen hemodinamik değişikliklerle uyumludur ve hormonun postpartum diürezden sorumlu olduğunu düşündürmektedir.

2.8. Gebelikte B-Tip Natriüretik Peptit

Natriüretik peptit ailesinin ikinci üyesi olan B-tip natriüretik peptit kan basıncının ve sıvı hacminin ayarlanmasında görev alır (Hosoda ve ark., 1991; Ogawa ve ark., 1991). Sentezi, sekresyonu ve yıkılımı açısından ANP'den farklılıklar gösteren BNP natriüretik peptit sisteminde de fizyolojik ve patolojik açıdan farklı roller oynar (Mukoyama ve ark., 1991).

Gebelikteki volüm artışı doğumdan 1 hafta sonra yaklaşık olarak gebe olunmayan dönemdeki değerlere geriler ve 1 hafta boyunca diürece bağlı olarak 2-3 kg. ağırlık kaybı gözlemlenir (Cunningham ve ark., 2001). NTproBNP'de doğum sonrası artış BNP'nin postpartum diürezde yer aldığını gösterir. Son zamanlarda Jankowski ve ark. (2005) sol ventrikül BNP mRNA'sının sıçanlarda postpartum arttığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın yazarları natriüretik peptitlerin gebelikte ilgili volüm değişikliklerine adaptasyonda yer aldıkları kanaatine varmışlardır.

2.9. Gebelikte C-Tip Natriüretik Peptit

CNP natriüretik peptit ailesinin üçüncü üyesidir ve insanlarda kardiyovasküler kontrolde ve renal fonksiyonların düzenlenmesinde etkin rol almaktadır (Cheung ve ark., 1994). İnsan beyninden ve böbreğinden yüksek düzeyde salgılanan CNP hipotansif, diüretik ve natriüretik etkilere sahiptir. Bunlardan başka düz kaslarda antihipertrofik ve antimitojenik etkileri de vardır (Furuya ve ark., 1993). Başlıca kalpten endokrin tabiatta salgılanan ANP ve BNP'nin aksine, CNP otokrin-parakrin tabiatta endotel hücrelerinden endotel kaynaklı vazodilatatör olarak salgılanır (Suga ve ark., 1993). Bu peptit bir guanilat siklaz bağlı reseptör olan natriüretik peptit reseptör B'ye (NPR-B) bağlanır (Drewett ve ark., 1995). Ligand ve reseptör arasındaki etkileşim siklik guanozin monofosfat aracılığıyla vasodilatasyon meydana getirir. Böylece C-tip natriüretik peptit damar tonüsünün kontrolünde ve vasküler remodelingde önemli bir etkiye sahip olur.

Normotensif veya hipertansif sıçanlarda C-tip nartüretik peptit infüzyonunun kan basıncına etkisi görülmemesine karşın köpeklerde C-tip nartüretik peptit infüzyonunun kan basıncını düşürdüğü gözlemlenmiştir (Stingo ve ark., 1992; Wegner ve ark.,1996). Stepan ve arkadaşları (1998) yaptıkları çalışmalarda ANP ve BNP'den farklı olarak, maternal C-tip nartüretik peptitin plazma konsantrasyonunun gebelik sürecinde artış göstermediğini bulmuşlardır. CNP daha çok damardan salgılanılan bir mediyatör olduğu için damarsal patolojiye dayalı bir problem olan preeklampsiyle ilişkisi çokça irdelenmiştir. Ancak CNP'nin gebelikteki hipertansif hastalıklardaki muhtemel etkileri henüz net olarak açıklanabilmiş değildir.

3. ARAÇ, GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Kullanılan Gereçler

Elecsys 2010, Hitachi (Japon)
Mikroplak okuyucu, Labsystems (Finlandiya)
Plak çalkalayıcı, IKA Labortechnik (Almanya)
Otomatik yıkayıcı, Labsystems (ABD)
Soğuk santrifüj, Nüve NF800R (Türkiye)
Vakumlu santrifüj, Speedvac Savant (ABD)
Liyofilizatör, Lyovac-Leybold GT 2E (Almanya)
C18 Sep-Pak Kolon (200mg), Phenomenex (ABD)
-80 °C dondurucu, Thermo Electron Corporation (ABD)

3.2. Kullanılan Kitler

Oksitosin EIA Kit, Phoenix (USA)
NT-proANP EIA Kit, Biomedica (Avusturya)
NT-proCNP EIA Kit, Biomedica (Avusturya)
NT-proBNP ECLIA Kit, Roche Diagnostics (Almanya)

3.3. Yöntemler

3.3.1 Örneklerin toplanması

Çalışmamız için Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Etik Kurulundan onay alınmış (Protokol No: MAR-YÇ-2008-0078) ve çalışmamız Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu SAG-C-TUP-010508-0089 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

Kan örnekleri vajinal yolla doğum yapan sağlıklı ve tansiyon problemi olmayan hamile kadınlardan alındı. Vajinal yolla doğum yapan kadınlardan ilk örnek travayın aktif fazında, ikinci örnek hasta doğum yaptıktan sonra plasenta çıkmadan hemen önce, üçüncü örnek ise doğumdan üç saat sonra alındı. Hamilelerden hiçbirisi doğum esnasında analjezik almadı.

Kanlar, hastalar sırt üstü yatar pozisyondayken EDTA'lı tüpe (1mg/mL kan) toplandı. Ardından tüplere bir proteinaz inhibitörü olan Aprotinin (500KIU/mL kan) eklendi. Tüpler santrifüj edilene kadar soğuk zincire uyuldu.

Kanlar soğuk santrifüjde +4 °C'de 2000×g'de 15 dakika santrifüj edildi. Plazmalar 24 saat -20 °C'de saklandıktan sonra -80 °C'ye aktarıldı. Çalışma yapılana kadar -80 °C'de saklandı. Plazmalarda Oksitosin, NT-proANP ve NT-proCNP miktarları ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) yöntemiyle, NT-proBNP miktarı ise ECLIA (*electrochemiluminescence immunoassay*) yöntemiyle belirlendi. Oksitosin çalışılmadan önce C18 Sep-Pak kolon ile ekstraksiyon yapıldı.

3.3.2. Oksitosin ekstraksiyon protokolü

Oksitosinin kanda düşük konsantrasyonda bulunması ve kısa yarılanma ömrüne sahip olması, ekstraksiyon yapılarak çalışılmasını gerektirmektedir (Thornton ve ark., 1990; Yavuz ve Aksoy 2006).

1. Tampon A: % 1 trifloroasetik asit (TFA), suda
2. Tampon B: % 60 asetonitril , % 1 TFA'da

Oksitosin ölçülecek plazma eşit miktarda tampon A ile asidifiye edildi. 1 mL plazma ile 1 mL tampon A karıştırıldı. +4 °C'de 17,000×g'de 20 dakika santrifüj edildi.

C18 SEP-KOLON 1 mL tampon B ile ve ardından 3 kez 3 mL tampon A ile yıkanarak hazırlandı. Bu basamakta protokole uygun olarak bir pompa aracılığıyla kolona basınç uygulandı.

Asidifiye edilmiş plazma C18 SEP kolona yüklendi. Plazma kolondan süzül-dükten sonra kolon 2 kez 3 mL tampon A ile yıkandı ve altındaki birikinti atıldı.

Kolon bir kez 3 mL tampon B ile yıkandı ve elüent polistren tüpe alındı. Elüentin organik tabakasını uzaklaştırmak için 2 saat vakumlu santrifüjde (Speedvac) çevrildi. Ardından kalan örnek -80 °C'de donduruldu ve liyofilizatörde toz haline getirildi.

3.3.3. ANP ve CNP ölçümü

Plazmalarda NT-proANP ve NT- proCNP sandviç ELISA yöntemi kullanılarak ölçülmüştür (Şekil-11). Bu yöntemde, yakalama (capture) antikoru denilen bir

antikor plak kuyucuğunun alt kısmındaki katı faza bağlanır. Antijen eklenir ve bağlanmış antikor ile bir kompleks oluşturması sağlanır. İşaretli ikinci antikor (saptama antikor) eklenir, bu antikor antijene bağlanır ve sandviç oluşturulur. Bağlanmayan ürünler yıkama ile uzaklaştırılır ve kolorimetrik substrat ilavesinden sonra işaretli ikinci antikorum miktarı ölçülür (Rudolf, 2005).

NT-proANP ölçüm özellikleri

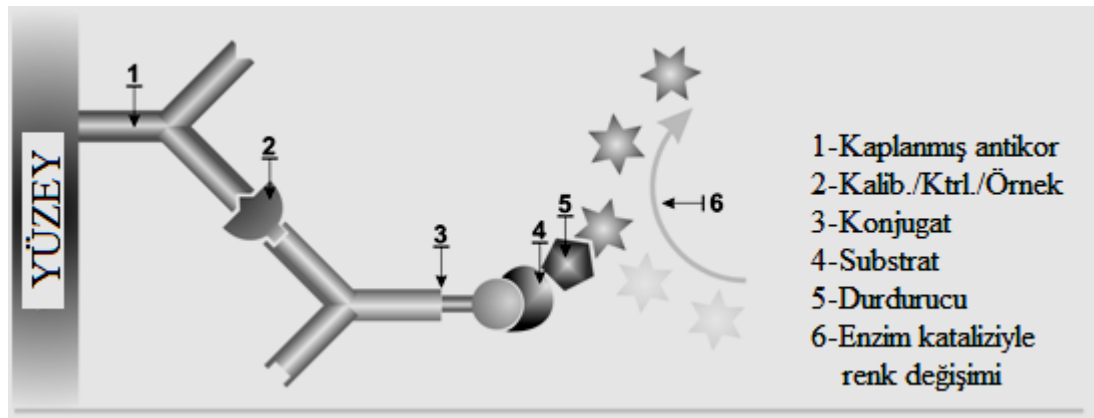
-Analitik sınır: 0-10 nmol/L

-Tayin limiti: 0.05 nmol/L

NT-proCNP ölçüm özellikleri

-Analitik sınır: 0-40 pmol/L

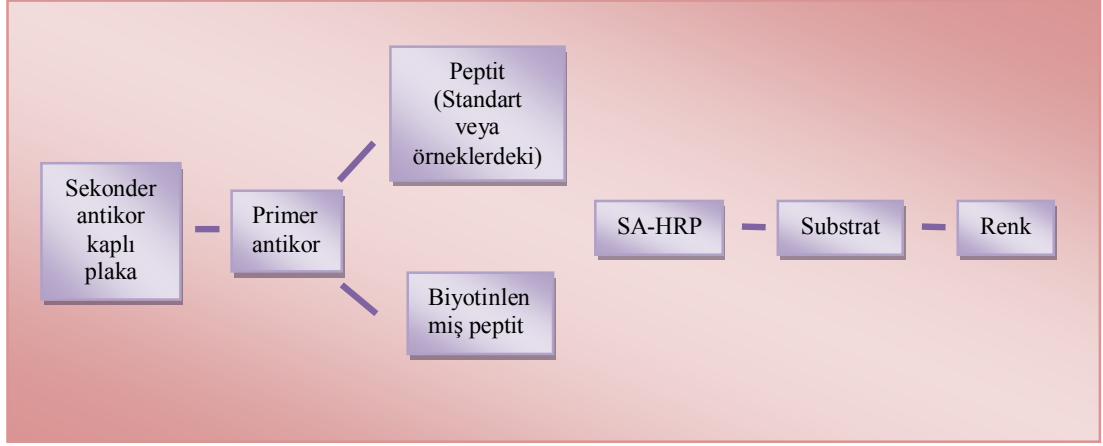
-Tayin limiti: 0.55 pmol/L



Şekil 11. ELISA Sandviç yöntemi (*Enzyme immunoassay for the quantitative determination of NT-proCNP in plasma, serum and cell culture supernatants. Cat. No. BI-20872 Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG, A-1210 Wien'den değiştirilerek alınmıştır*)

3.3.4. Oksitosin ölçümü

Oksitosin yarışmalı ELISA yöntemi kullanılarak ölçülmüştür (Şekil-12). Bu yöntemde reaksiyon kuyucukları sekonder antikorla kaplanmıştır ve nonspesifik bağlanma bölgeleri bloke edilmiştir. Sekonder antikor primer antikorum Fc parçasına bağlanır. Primer antikorum Fab parçalarına ise yarışmalı olarak biyotinlenmiş peptit ve örneklerdeki aranan peptitler bağlanır. Biyotinlenmiş peptit, substratı katalizleyip renk oluşturan *streptavidin-horseradish peroxidase'a* (SA-HRP) bağlanır. En sonunda kuyucuklarda oluşan rengin yoğunluğu biyotinlenmiş peptit– SA-HRP kompleksinin miktarıyla direkt orantılı, örneklerdeki peptit ve standart miktarıyla ters orantılıdır. Bunun sebebi biyotinlenmiş peptit ile standart peptitin veya örneklerin, primer antikora yarışmalı olarak bağlanmasıdır. Standart eğrisi bilinen konsantrasyonlar kullanılarak oluşturulur. Örneklerin bilinmeyen konsantrasyonları bu standart eğrisine göre belirlenir.



Şekil 12. ELISA Yarışmalı yöntem (*Genaral protocol for Enzyme immunoassay kit Phoenix Pharmaceutical. Inc.USA'dan değiştirilerek alınmıştır*)

3.3.5. BNP ölçümü

NT-proBNP ölçümünde kullanılan reaktifler

Biyotinlenmiş monoklonal NT-proBNP antikor (fare)

Rutenyum kompleksi ile işaretli monoklonal NT-proBNP antikor (koyun)

Streptavidin kaplı mikropartiküller

Ölçüm yönteminin prensibi

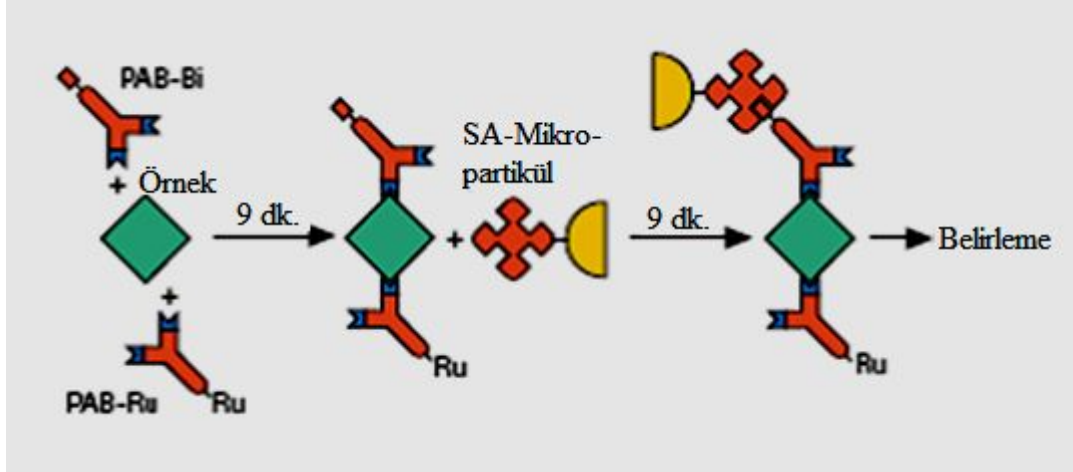
Sandviç elektrokemilüminesans immün ölçüm yöntemi kullanılmıştır (Şekil-13).

Dokuzar dakikadan oluşan iki inkübasyon sonrası ölçüm yapılır.

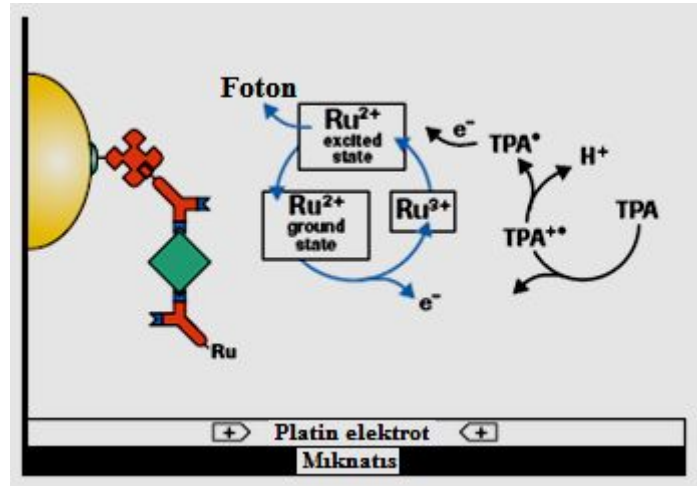
1. Inkübasyon: Biyotinlenmiş monoklonal anti-NT-proBNP antikor ve rutenyum kompleksi ile işaretli monoklonal anti-NT-proBNP antikor, örnekteki aranan antijeni aralarına alarak sandviç kompleksi oluştururlar.

2. Inkübasyon: Streptavidin kaplı manyetik mikropartiküller eklenir. Biyotinlenmiş antikorlar streptavidin kaplı manyetik mikropartiküllere tutunur.

2. inkübasyondan sonra immün kompleksler içeren reaksiyon karışımı ölçüm hücrelerine aktarılır. İmmün kompleksler manyetik güç aracılığıyla elektroda tutunur. Daha sonra bağlanmamış reaktifler ve örnekler ProCell aracılığıyla yıkanır. Son basamakta tripropilamin içeren tampon varlığında elektroda voltaj uygulanır ve TPA ile rutenyum kompleksi etkileşimi sonucu ortaya çıkan elektrokemilüminesans sinyal foton sayacı (photomultiplier) tarafından ölçülür (Şekil-14).



Şekil 13. ECLIA Sandviç yöntemi (Hallermayer, K., Gallusser, A., Seidel, Ch., Schenk, J., Karl, J., Rippegather, G. Roche Diagnostics GmbH, Germany'den değiştirilerek alınmıştır)



Şekil 14. Elektrokemilüminesans reaksiyon (Hallermayer, K., Gallusser, A., Seidel, Ch., Schenk, J., Karl, J., Rippegather, G. Roche Diagnostics GmbH, Germany'den değiştirilerek alınmıştır)

3.3.6. İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler için Windows uyumlu GraphPad InStat Version 3.05 programı kullanılmıştır. Sonuçlar *repeated measures ANOVA* istatistiksel yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Nonparametrik değişkenler *Friedman testi* kullanılarak karşılaştırılmıştır. Oksitosin ve NT-proANP düzeyleri arasındaki ilişkiyi tespit etmek için lineer regresyon analizi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama±standart sapma şeklinde ifade edilmiş ve gruplar arası istatistiksel anlamlılık sınırı $p < 0.05$ olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

Hamilelerin ortalama yaşları 26.3 ± 3.3 yıl, ortalama gebelik süreleri 38.5 ± 1.9 hafta idi. Doğan bebeklerin ortalama ağırlıkları ise 3215.86 ± 424.49 g. idi.

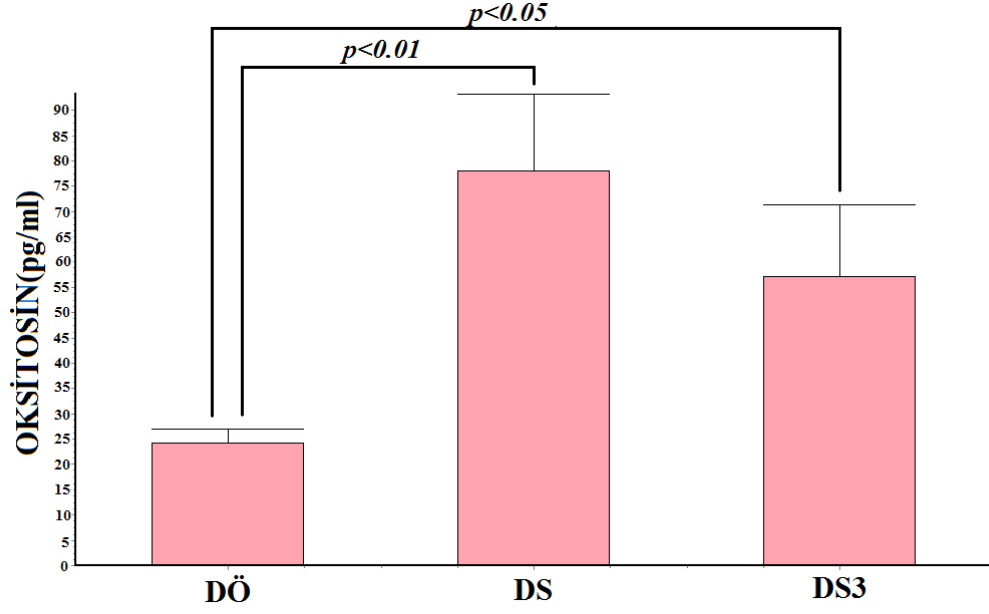
Toplanan kanlarda NT-proANP, NT-proBNP, NT-proCNP ve oksitosin düzeyleri ölçülmüş ve sonuçlar Tablo-2’de gösterilmiştir.

Tablo 2. Vajinal yolla doğum yapan gebelerin oksitosin, NT-proANP, NT-proBNP ve NT-proCNP değerleri. Sonuçlar oksitosin için medyan, minimum ve maksimum değerleri verilerek, diğerleri için ise ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde verilmiştir.

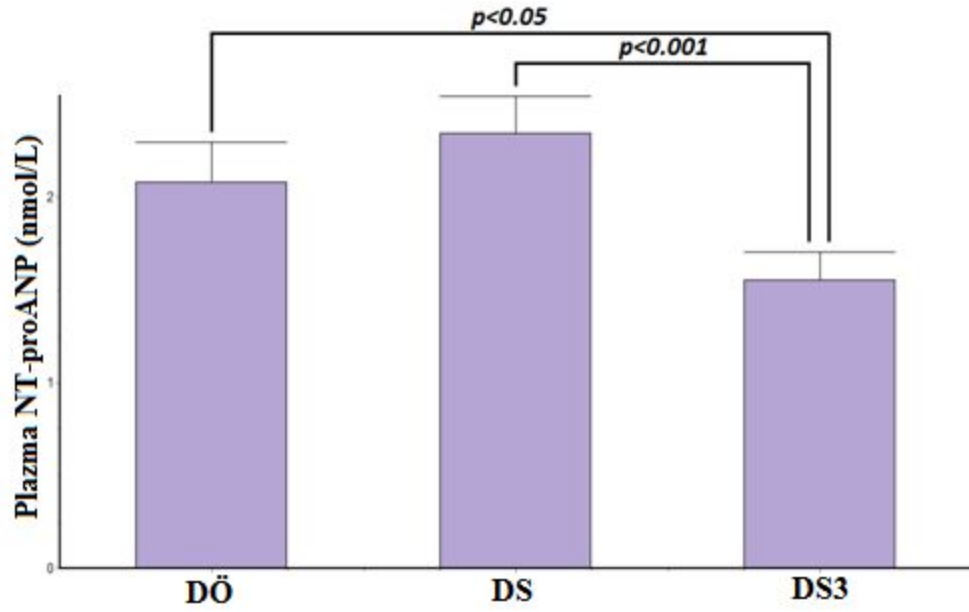
	Doğum öncesi	Doğumdan 15 dk. sonra	Doğumdan 3 saat sonra	p değerleri
Oksitosin (pg/mL)	Medyan:22.40 Minimum:7.21 Maksimum:70.50 n=29	Medyan:28.70 Minimum:7.14 Maksimum:318.07 n=29	Medyan:35.99 Minimum:3.40 Maksimum:399.24 n=29	*p<0.05 **p<0.01
NT-proANP (nmol/L)	2.08 ± 1.16 n=29	2.34 ± 1.08 n=29	1.55 ± 0.80 n=29	**p<0.05 ***p<0.001
NT-proBNP (pmol/L)	5.19 ± 3.01 n=18	6.14 ± 3.48 n=18	6.64 ± 4.26 n=18	*p<0.05 **p<0.01
NT-proCNP (pmol/L)	3.79 ± 1.82 n=29	3.63 ± 1.86 n=29	3.19 ± 1.70 n=29	**p<0.01 ***p<0.05
*Doğum öncesi-Doğumdan 15 dk. sonra , ** Doğum öncesi- Doğumdan 3 saat sonra, *** Doğumdan 15 dk. sonra- Doğumdan 3 saat sonra				

Yapılan istatistiksel analizde plazma oksitosin seviyelerinin en yüksek düzeylerine doğumdan hemen sonra ulaştığı, doğum öncesi aktif fazdaki düzeylerinin doğumun hemen sonrasındaki ($p<0.01$) ve 3 saat sonrasındaki düzeylerinden ($p<0.05$) anlamlı olarak düşük olduğu bulundu (Şekil-15)

Yine elde edilen plazma NT-proANP seviyelerinin en yüksek düzeyine doğumdan hemen sonra ulaştığı ve doğumdan 3 saat sonra, doğum öncesi ($p<0.05$) ve doğum sonrası($p<0.001$) değerlerine göre anlamlı şekilde düştüğü bulundu. (Şekil-16)

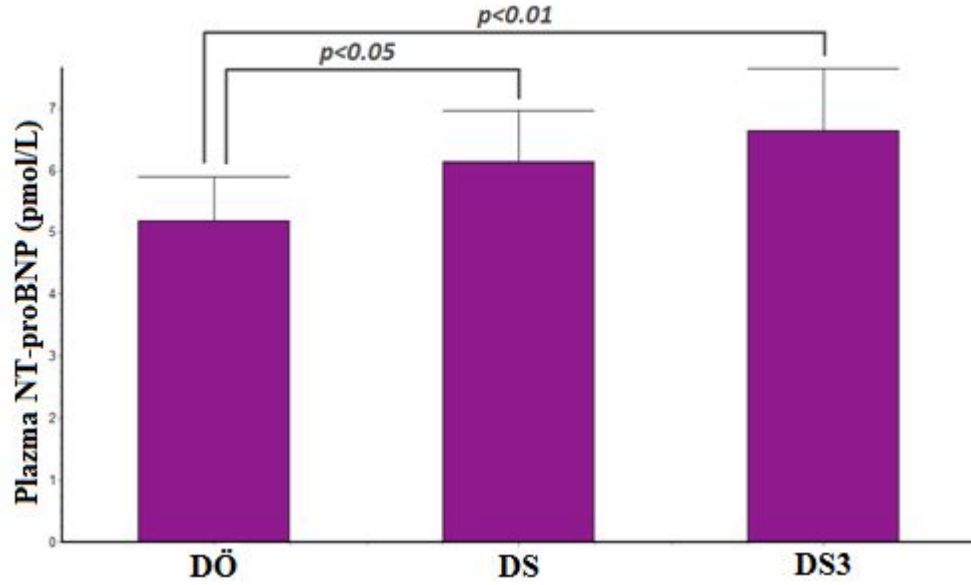


Şekil 15. Hamilelerde doğum öncesi (DÖ), doğumdan 15 dk. sonra (DS) ve doğumdan 3 saat sonraki (DS3) plazma oksitosin düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir, n=29.

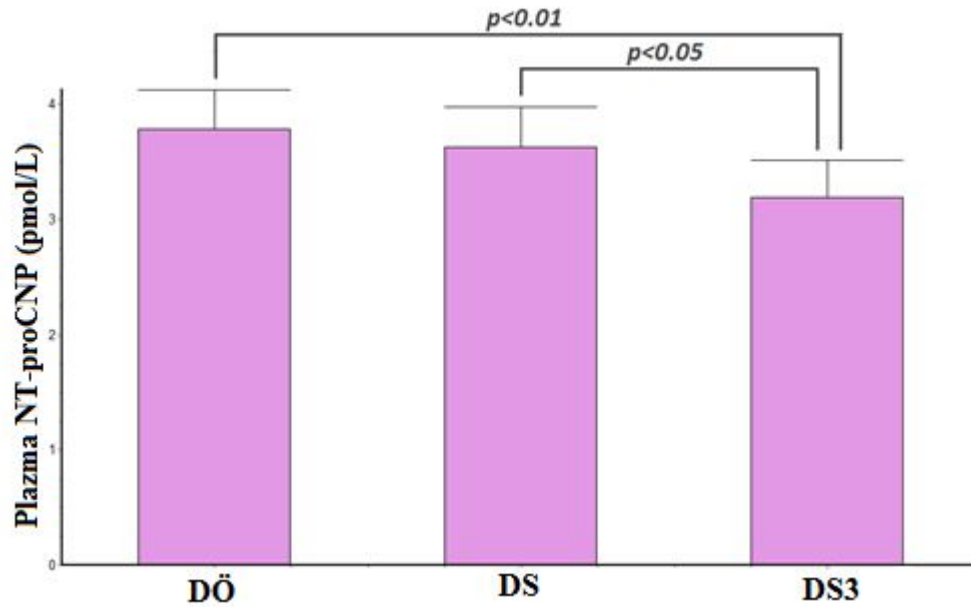


Şekil 16. Hamilelerde doğum öncesi (DÖ), doğumdan 15 dk. sonra (DS) ve doğumdan 3 saat sonraki (DS3) plazma NT-proANP düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir, n=29.

NT-proBNP seviyeleri doğum öncesinden doğum sonrası 3. saate doğru gittikçe artış gösterdi. Ancak istatistiksel olarak artış doğum öncesi ile doğum sonrası ($p<0.05$) ve doğumdan 3 saat sonrası ($p<0.01$) arasında gözlemlendi (Şekil-17).



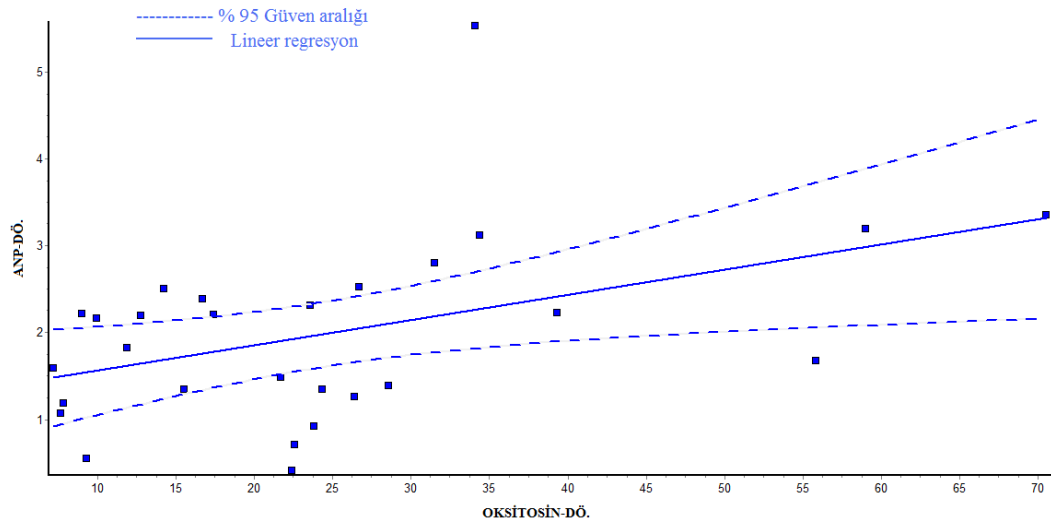
Şekil 17. Hamilelerde doğum öncesi (DÖ), doğumdan 15 dk. sonra (DS) ve doğumdan 3 saat sonraki (DS3) plazma NT-proBNP düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir, $n=18$.



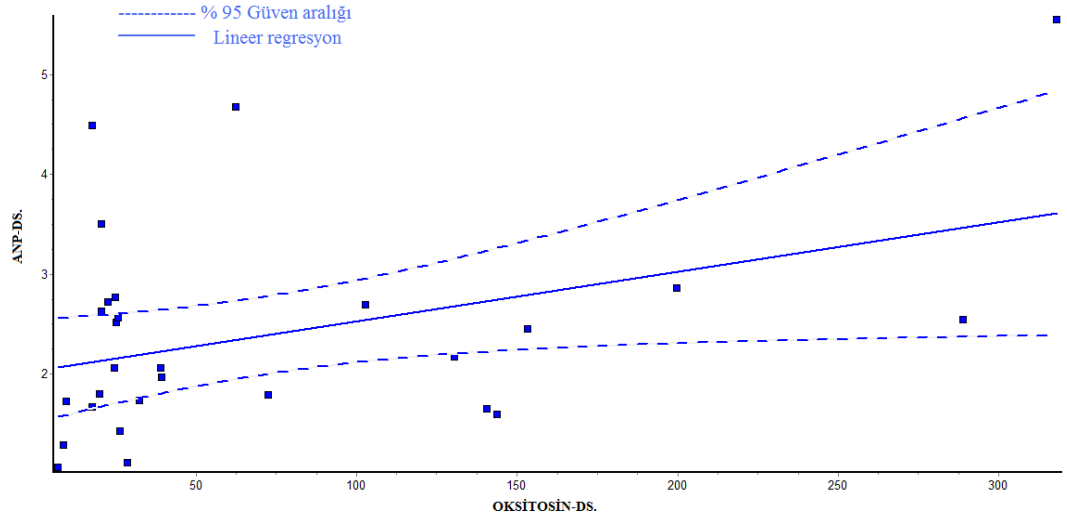
Şekil 18. Hamilelerde doğum öncesi (DÖ), doğumdan 15 dk. sonra (DS) ve doğumdan 3 saat sonraki (DS3) plazma NT-proCNP düzeyleri. Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir, $n=29$.

Doğumdan 3 saat sonraki NT-proCNP seviyeleri ise doğum öncesi ($p<0.01$) ve doğumdan hemen sonraki ($p<0.05$) her iki değerine göre anlamlı derecede düşük bulundu (Şekil-18).

Elde edilen NT-proANP, NT-proBNP ve NT-proCNP sonuçlarının oksitosinle korelasyonu lineer regresyon analizi kullanılarak karşılaştırıldı. Doğum öncesi oksitosin düzeyleri ile doğum öncesi NT-proANP düzeyleri arasında orta derecede ve anlamlı ($r=0.44$, $p<0.01$) korelasyon bulundu (Şekil-18). Yine doğum sonrası (DS) oksitosin değerleri ile doğum sonrası NT-proANP değerleri arasında orta derecede ($r=0.40$, $p<0.05$) korelasyon tespit edildi (Şekil-19). Ancak oksitosin ile NT-proBNP ve NT-proCNP değerleri arasında bir korelasyon gözlenmedi.



Şekil 19. Doğum öncesi NT-proANP değerleri ile doğum öncesi oksitosin değerleri arasındaki korelasyon.



Şekil 20. Doğumdan 15 dk sonraki NT-proANP değerleri ile doğumdan15dk. sonraki oksitosin değerleri arasındaki korelasyon.

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Nörohipofizyal bir peptit olan oksitosinin bilinen klasik etkileri doğum esnasında uterin kontraksiyonları uyarma ve laktasyon esnasında sütün ejeksiyonunu sağlamaktır. Bununla birlikte son zamanlardaki çalışmalar bu hormonun her iki cinste de kardiyovasküler fonksiyonların düzenlenmesinde rol aldığını göstermiştir. Artmış kan volümü ve osmolaritesi gibi fizyolojik uyarılara cevap olarak OT salgılandığı ve OT'nin su/elektrolit dengesinin, kan basıncısının, kan volümünün ve kalp hızının düzenlenmesinde etkili olduğu anlaşılmıştır (Favaretto ve ark., 1997; Petersson ve ark., 1999).

İnsan damar endotel hücrelerinde fonksiyonel OTR'lerinin eksprese edildiği, sıçan kalbinde ve damarlarında OTR'lerin varlığı ve OT sentezi gösterilmiştir. Gutkowska ve arkadaşları (1997) izole perfüze olan sıçan kalbinde oksitosinin, oksitosin reseptörlerine bağlanarak ANP salınımını uyardığını göstermişlerdir. Bundan önce de Haanwinckel ve ark. (1995) sıçanlara oksitosin uygulamanın plazma ANP salınımını artırdığını tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmalarda total nörohipofizektominin, damar içi hacim artışına cevap olarak artan ANP salgılanmasını ortadan kaldırdığı bulunmuş, bu da nörohipofizyal bir peptitin ANP salınımından sorumlu olduğunu göstermiştir. Dolayısı ile oksitosinin kardiyovasküler sistemdeki bazı etkilerinin ANP salınımı aracılığıyla olduğu bu çalışmalarda gösterilmiştir. Bu bulgular, doğum esnasında salgılanan oksitosinin de kardiyovasküler sistemde ve böbreklerde gerek ANP aracılı gerek endokrin/nöroendokrin/parakrin etkileri aracılığıyla önemli düzenleyici rollerinin olabileceğini göstermektedir.

Araştırmamızın sonuçları oksitosin düzeylerinin doğumdan hemen sonra en yüksek düzeylere eriştiğini, doğumdan 3 saat sonra ise doğum öncesine göre anlamlı olarak daha yüksek olduğunu göstermektedir. Gebelik ve doğum süresinde oksitosin düzeylerini belirleyen çalışmalar şaşırtıcı derecede az olmakla beraber, bizim bulgularımız ile uyumludur (Leake ve ark., 1981; Thornton ve ark., 1988). Doğumdan 15 dakika sonraki oksitosin değerlerinde yükseklik fizyolojik olarak oksitosinin yükselmesine bağlı olmakla birlikte uterus involüsyonunu sağlamak amacıyla dışarıdan verilen oksitosine de bağlı olabilir. Doğumdan 3 saat sonra oksitosin düzeylerinin doğum öncesine göre yüksek bulunması ise annenin bebeğini emzirmesi

ile açıklanabilir. Çünkü McNeilly ve ark. (1983) yaptıkları çalışmada plazma oksitosin düzeylerinin bebeğin anne meme ucunu uyarmasıyla arttığı gibi annenin bebeğin ağlama sesini duymasıyla bile emzirmeye başlamadan artabileceğini tespit etmişlerdir.

Araştırmamızın plazma ANP düzeyleri ile ilgili sonuçları, ANP'nin doğumdan hemen sonra arttığını ve doğumdan 3 saat sonra doğum öncesine göre anlamlı şekilde düştüğünü göstermektedir.

Sonuçlarımıza göre de doğum öncesinde ve sonrasında plazma oksitosin ve ANP düzeyleri arasında pozitif yönde bir korelasyon vardır. Bu da artmış oksitosin düzeylerinin ANP salgılanmasından kısmen sorumlu olabileceğini göstermektedir. Ancak doğumdan 3 saat sonraki OT ve ANP düzeyleri arasında korelasyon bulunamamıştır. Bunun nedenini eldeki verilerle açıklamak mümkün olmasa da atrial natriüretik peptit gibi natriüretik hormonların salgılanmasını sadece oksitosine bağlamak doğru değildir.

Natriüretik peptitler vücut sıvı dengesinin ve kan basıncının düzenlenmesinde ve kardiyak yeniden yapılanmada rol oynayan hormonlardır. Natriüretik peptitlerin gebelikte görülen geçici hemodinamik değişikliklerdeki rolleri henüz net olarak anlaşılamamıştır.

Literatürde gebelikte ANP düzeyleri ile ilgili birçok araştırma bulunmakta ancak BNP ve CNP ile çok kısıtlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Doğum sürecinde natriüretik peptit düzeylerini ölçen çalışmalar ise daha kısıtlı sayıdadır.

Literatürdeki gebelik plazma ANP düzeyleri ile ilgili araştırmalar daha çok preeklampsi etyolojisindeki muhtemel etkilerini ortaya çıkarmak amacıyla yapılan çalışmalardır. Gebelik süresinde ANP düzeylerindeki değişiklikleri belirlemek amacıyla yapılan çalışmalardan sadece biri ANP düzeylerinin düştüğünü bildirirken (Grace ve ark., 1987) birkaç çalışma gebelik boyunca değişmediğini göstermektedir (Mikkelsen ve ark., 1991; Clark ve ark., 1992). Ancak çalışmaların çoğu ANP düzeylerinde ilerleyen gebelikle birlikte, özellikle 3. trimesterde artış tespit etmişlerdir (Thomsen ve ark., 1988; McCance ve ark., 1990; Fournier ve ark., 1991). Önceki çalışmalarda elde edilen gebelikte ANP düzeylerine ait bu çelişkili sonuçlar, örneklerin farklı hastalardan bağımsız örnekler şeklinde alınmış olmasından, kullanılan metotların farklılığından ve/veya antikor spesifitesinden kaynaklanmış

olabilir. Bizim çalışmamız doğum sürecinde aynı grup kadından alınan örneklerde her üç natriüretik peptit (ANP, BNP, CNP) düzeyini de araştıran ilk çalışmadır.

Gebelikte ANP artışı gestasyon boyunca vücutta artan toplam su ve sodyum miktarı ile açıklanmıştır. Gebelikte 1. trimesterde başlayan sıvı artışı fetüs, plasenta, anne kanı ve interstisyel sıvı arasında dağılır (Barclay, 1987). Gebelik kardiyak outputta %50 artışa neden olur ve kalp hastalığı olan gebelerde gebeliğin son haftalarında kalp yetmezliğine benzer tablo gelişir (Ueland ve Ferguson 1988).

Volüm artışına bağlı, atriyal duvarın gerilmesine cevap olarak salgılanan ANP'nin gebelikte volüm artışı nedeni ile daha ilk trimesterde artması beklenirken, neden 3. trimestere kadar artmadığı bilinmemektedir. Ancak 3. trimesterde maksimum düzeylere varan hacim artışının ANP salgılanmasını artırdığı kabul edilmektedir.

Bizim bulgularımıza göre doğum öncesi ANP değerlerinin normal kadın referans aralığının üstünde olması term gebelikte ANP'nin yükselmiş olduğunu literatürdeki diğer çalışmalara uygun olarak göstermektedir. Ayrıca bulgularımız ANP düzeylerinin doğumdan hemen sonra anlamlı olarak yükseldiğini ve doğumdan 3 saat sonra düştüğünü göstermektedir. Doğum sürecinde ANP düzeylerini inceleyen Yoshimura ve ark. (1994) yaptıkları çalışmada geç postpartum dönemin 5-72 saatleri arasında ANP'nin plazma düzeylerinin, doğumdan hemen sonraki döneme ve termdeki değerlerine göre anlamlı derecede düştüğünü bulmuşlardır. Ayrıca doğum sonrası geç postpartum dönemde ANP düşüşü Milsom ve ark., (1988) ve Shrivastav ve ark., (1988) tarafından da gösterilmiştir.

Doğum esnasında her bir uterus kasılmasıyla kalbe venöz dönüş %20 artmaktadır (Ueland ve Ferguson 1988). Plasentanın ayrılmasından hemen sonra venöz dönüş, inferior vena kava üzerindeki baskının ve pelvisteki venlerin kontraksiyonunun ortadan kalkmasına bağlı olarak önemli miktarda artar. Doğumdan hemen sonra uterusun kasılmasına bağlı 500-700 mL kan 'ototransfüzyonu' meydana gelmektedir (Ueland ve Ferguson 1988). Kısacası doğumdan hemen sonra gözlenen akut hipervolemi (volüm yükselmesi) atriyal duvarda gerilmeye sebep olarak, atriyumdan ANP'nin salınmasını uyartabilir (Burnett ve ark.,1986). Bizim de doğumdan hemen sonra gözlemlediğimiz ANP artışından bu mekanizmalar sorumlu olabilir.

Elde ettiğimiz veriler plazma BNP seviyelerinin ise doğum öncesinden doğum sonrası 3. saate kadar arttığını göstermektedir. Benzer bir çalışmada Yoshimura ve

ark. (1994) plazma BNP düzeylerini term gebelikte, plasentanın ayrılmasından 30 dakika sonra ve geç postpartum dönemde ölçmüşler ve bu süreçte BNP seviyelerinin gittikçe anlamlı bir şekilde arttığını bulmuşlardır. Lev-Sagie ve arkadaşları (2005) ise BNP'nin doğum sürecindeki referans aralığını belirlemek için yaptıkları çalışmada BNP'nin doğum öncesine göre doğum sonrası değerlerinde yaklaşık olarak iki kat artış tespit etmişlerdir. Jankowski ve ark. (2005) sıçanlarda sol ventrikül BNP mRNA'sının postpartum arttığını bulmuşlardır. Bu çalışmanın yazarları natriüretik peptitlerin gebelikte ilgili volüm değişikliklerine adaptasyonda yer aldıkları kanaatine varmışlardır.

BNP başlıca ventriküllerden salınan ve ANP gibi natriürez ve vazodilatasyona sebep olan ve renin-angiotensin-aldosteron sistemini inhibe eden bir hormondur (Yoshimura ve ark., 1991). Gebelikte kardiyak kapasitenin artmasına bağlı sol ventrikülde daha belirgin olmak üzere kalp boyutunda da artış olur. Doğumda ve sonrasında görülen BNP artışının bu hipertrofiyi önlemeye yönelik olduğu da düşünülebilir.

BNP'deki doğum sürecinde ve sonrasında gözlenen bu artış (daha 1 hafta sürecek olan) vücuttaki fazla sıvının atılmasını sağlamak içindir diye izah edilebilir. Çünkü, doğumdan sonra ilk birkaç gün süresince damar içi volüm intertisyal sıvının dolaşıma aktarılması nedeniyle artar ve bu biriken sodyum ve suyun atılması gerekir. Bu dönemde doğum öncesiyle karşılaştırıldığı zaman 24 saatlik kreatinin klirensi artar, postpartum 3. günde en yüksek seviyeye ulaşır ve postpartum 3. ve 4. günlerde belirgin diürezis gözlenir (Davidson ve Dunlop 1984).

Araştırmamız doğum başlangıcından doğumdan 3 saat sonraya kadar CNP düzeylerinde düşüş olduğunu göstermektedir.

C-tip natriüretik peptit yakın zamanda bulunmuş ve ANP ve BNP'nin yer aldığı natriüretik peptit ailesine eklenmiştir (Sudoh ve ark., 1990; Ogawa ve ark., 1995). Ancak CNP'nin diüretik ve natriüretik etkileri çok zayıftır. (Komatsu ve ark., 1991; Clavell ve ark., 1993). CNP insan beyin, böbrek ve endoteliumundan sentezlenmektedir ve endotel kaynaklı vazodilatatör bir peptit olduğu düşünülmektedir (Imura ve ark., 1992; Totsune ve ark., 1994). Endokrin etkili olarak kalpten salgılanan ANP ve BNP'nin aksine CNP endotelial hücrelerden salgılanır ve otokrin/parakrin olarak etkilerini gösterir. Bundan dolayı CNP kardiyovasküler

kontrolde farklı bir mekanizmaya sahiptir. Plazma CNP düzeylerin düşük olmasına ve hızlı katabolizmasına bağlı ölçüm problemleri nedeni ile bu peptid ile ilişkili sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır. Ancak plazma düzeyleri CNP'den 1000 kat fazla olan NTproCNP düzeylerinin ölçülmesinin mümkün olması ile bu konuda araştırmalar artmaktadır (Prickett ve ark., 2001).

Literatürde gebelik, doğum ve sonrasında CNP düzeylerini araştıran tek bir araştırma bulunmaktadır. Stepan ve ark. (1998) yaptıkları çalışmalarda normal gebelikte anne plazmasında CNP düzeylerinin sabit kaldığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda da CNP plazma düzeyleri gebelik boyunca sabit kalırken (sonuçlar gösterilmemiştir), postpartum düzeyleri düşüş göstermiştir. Stepan ve ark. kısıtlı sayıda kadından (n=6) doğum sırasında ve doğumdan 24 saat sonra aldıkları kanlarda CNP düzeylerini ölçerek, doğum sırasında artıp sonra azaldığını göstermişlerdir.

BNP'deki artışa zıt olarak postpartum CNP düzeylerinin düşmesi CNP'nin doğum sonrası dönemde sodyum ve suyun atılmasında etkili bir hormon olmadığını göstermektedir. CNP daha çok periferdeki damarlarda otokrin-parakrin olarak vazodilatasyonda rol oynadığı için gebelik boyunca venöz göllenmeyi sağlamak amacıyla sabit kalmış, gebelikten sonra ise vazodilatasyonun ortadan kalkmasına bağlı olarak düşmüş olabilir.

Yaptığımız çalışmada oksitosin ile BNP ve CNP düzeyleri arasında veya natriüretik peptitlerin kendi aralarında bir ilişki tespit edilememiştir. Bu ilişki için in vitro çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Sonuç olarak; bulgularımıza dayanarak ANP, BNP ve CNP'nin normal gebelik ve gebelik sonrası dönem boyunca farklı rollerinin bulunduğu söylenebilir. Bu salgılanma paternleri termde ve postpartum dönemde su ve sodyum ayarlanmasındaki rollerini yansıtabilir. ANP plasentanın ayrılmasından hemen sonraki dönemde önemli role sahipken, BNP daha sonraki dönemlerde annenin su ve sodyum yükünü atmasına yardım ettiği düşünülebilir. CNP'nin ise gebelik boyunca plazmada düzeyi sabit seyrederken gebelik sonrası vazodilatasyon ihtiyacının azalmasına bağlı olarak düzeyinin düştüğü ileri sürülebilir. Ancak natriüretik peptidlerin gebelik ve doğum sürecindeki fizyolojik rollerinin anlaşılması için daha çok araştırmalara gerek bulunmaktadır.

6. KAYNAKLAR

- Abassi Z, Karram T, Ellaham S, Winaver J, Hoffman A. Implications of the natriuretic peptide system in the pathogenesis of heart failure: diagnostic and therapeutic importance *Pharmacology & Therapeutics* 2004; 102:223– 241
- Ahluwalia A, MacAllister RJ, Hobbs AJ. Vascular actions of natriuretic peptides: cyclic GMP-dependent and-independent mechanisms. *Basic Res Cardiol* 2004; 99 (2):83-9
- Andan RAH, Lfeuwen FWV, Sonnemans MAF, Brouns M, Hoffman G, Verbalis JG, Rurbach JPH. Rat oxytocin receptor in brain, pituitary, mammary gland, and uterus: Partial sequence and immunocytochemical localization. *Endocrinology* 1995;136:4022–4027.
- Antunes-Rodrigues J, De Castro M, Elias L, Valença MM, McCann MS. Neuroendocrine Control of Body Fluid Metabolism *Physiol Rev.* 2004; 84: 169–208.
- Argiolas A, Melis MR. The role of oxytocin and the paraventricular nucleus in the sexual behaviour of male mammals *Physiology and Behavior* 2004; 83: 309–317.
- Armour JA, Huang MH, and Smith FM. Peptidergic modulation of in situ canine intrinsic cardiac neurons. *Peptides* 1993;14: 191–202.
- Balment RJ, Brimble MJ, Forsling ML, Kelly LP, and Musabayane CT. A synergistic effect of oxytocin and vasopressin on sodium excretion in the neurohypophysectomized rat. *J Physiol.* 1986;381: 453–464.
- Barclay MI. Physiology of pregnancy. *Gynecology and Obstetrics*, vol 2, Ch. 13, pp.1-14. Ed: JJ Sciarra. Philadelphia: JB Lippincott Co. 1987
- Barron WM, Lindhimer MD. Renal sodium and water handling in pregnancy. *Obstet Gynecol Annu* 1984;13:35.
- Baxter GF. Natriuretic peptides and myocardial ischaemia. *Basic Res Cardiol* 2004; 99: 90-93.
- Bloch KD, Seidman JG, Naftilan JD, Fallon JT, Seidman CE. Neonatal atria and ventricles secrete atrial natriuretic factor via tissue-specific secretory pathways. *Cell* 1986;47: 695-702.

- Burnett JC Jr, Kao PC, Hu DC, heser DW, Heublein D, Granger JP, Opgenorth TJ and Reeder GS. Atrial natriuretic peptide elevation in congestive heart failure in the human. *Science* 1986; 231: 1145-1147.
- Castro LC, Hobel CJ, Gornbein J. Plasma levels of atrial natriuretic peptide in normal and hypertensive pregnancies: A meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 1994; 171: 1642.
- Chang MS, Lowe DG, Lewis M, Hellmiss R, Chen E, Goeddel DV. Differential activation by atrial and brain natriuretic peptides of two different receptor guanylate cyclases. *Nature* 1989;341:68–72.
- Chen HH, Burnett JC Jr. C-type natriuretic peptide: the endothelial component of the natriuretic peptide system. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; 32 (3): S22–S28
- Cheung BM, Brown MJ. Plasma brain natriuretic peptide and C-type natriuretic peptide in essential hypertension. *J Hypertens* 1994;12:449 –54.
- Cicutti NJ, Smyth CE, Rosaeg OP, and Wilkinson M. Oxytocin receptor binding in rat and human heart. *Can J Cardiol* 1999;15: 1267–1273.
- Clark BA, Halvorson L, Sacks B. Plasma endothelin levels in preeclampsia: elevation and correlation with uric acid levels and renal impairment. *Am J Obstet Gynecol.* 1992; 166: 962-968
- Clark SL, Cotton DB, Lee W, Bishop C, Hill T. Central hemodynamic assesment of normal term pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1989; 161: 1439.
- Clavell AL, Stingo AJ, Wei CM, Heublein DM, Burnett JC. C-type natriuretic peptide: a selevtive cardiovascular peptide. *Am J Phsiol* 1993; 264:290.
- Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LC, The puerperium. Ed. Hauth JC, Wenstrom KD. Williams obstetrics, 21st ed. New York: McGraw-Hill, 2001:403–22.
- Cunningham FG, Gant NF. Williams Doğum Bilgisi (Çev: Dr. Ayşegül Cengiz Akman) 21.baskı s.173-200 Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, 2001
- D’Souza SP, Davis M, Baxter GF. Autocrine and paracrine actions of natriuretic peptides in the heart. *Pharmacol Ther* 2004; 101: 113–129
- Davidson JM and Dunlop W. Changes in renal hemodynamics and tubular function induced by normal human pregnancy. *Seminary in nephrology* 1984;4:198-207.

- Diaz-Cabiale Z, Narvaez J, Garrido R, Petersson M, Uvnas-Moberg K and Fuxe K. Antagonistic oxytocin/alpha 2-receptor interactions in the nucleus tractus solitarii. Relevance for central cardiovascular control. *J. Neuroendocrinol.*, 2000; 12:1167-1173
- Drewett JG, Fendly BM, Garbers DL, Lowe DG. Natriuretic peptide receptor-B (glycylglycyl cyclase-B) mediates C-type natriuretic peptide relaxation of precontracted rat aorta. *J Biol Chem* 1995;270: 4668–74.
- Dukevot JJ, Peeters LLH: Maternal cardiovascular hemodynamic adaptation to pregnancy. *Obstet Gynecol Surv.* 1994; 49:1
- Dunlop W. Serial changes in renal hemodynamics during normal human pregnancy. *Br J Obstet Gynecol.* 1981; 88:1.
- Ellis R, Levin, David G, Gardner, Willis K, Samson. Natriuretic Peptides. *The New England Journal of Medicine* 1998; 339(5): 321- 328
- Engstrom T, Bratholm P, Christensen NJ, Vilhardt H. Upregulation of oxytocin receptors in non-pregnant rat myometrium by isoproterenol: Effects of steroids. *J Endocrinol* 1999;161:403–411.
- Favaretto AL, Ballejo GO, Albuquerque-Araujo WI, Gutkowska J, Antunes-Rodrigues J, and McCann SM. Oxytocin releases atrial natriuretic peptide from rat atria in vitro that exerts negative inotropic and chronotropic action. *Peptides* 1997;18: 1377–1381.
- Fawer R, Dettling A, Weihs D. Effect of menstrual cycle, oral contraception and pregnancy on forearm blood flow, venous distensibility and clotting factors. *Eur J Clin Pharmacol.* 1978; 13:251.
- Fournier A, Gregoire I, El Esper N. Atrial natriuretic factor in pregnancy and pregnancy-induced hypertension. *Can J Physiol Pharmacol* 1991; 69:1601-1608.
- Fuller F, Porter JG, Arfsten AE, Miller J, Schilling JW, Scarborough RM, et al. Atrial natriuretic peptide clearance receptor. Complete sequence and functional expression of cDNA clones. *J Biol Chem* 1988;263:9395– 401.
- Furuya M, Aisaka K, Miyazaki T, Honbou N, Kawashima K, Ohno T, Tanaka S, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. C-type natriuretic peptide inhibits intimal thickening after vascular injury. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 193: 248–253

- Gaspari TA, Barber MN, Woods RL, Dusting GJ. Type-C natriuretic peptide prevents development of experimental atherosclerosis in rabbits. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2000; 27: 653–655
- Gilson GJ, Samaan S, Crawford MH. Changes in hemodynamics, ventricular remodeling and ventricular contractility during normal pregnancy: A longitudinal study. *Obstet gynecol* 1997; 89: 957.
- Gimpl G, Fahrenholz F. The Oxytocin Receptor System: Structure, Function, and Regulation. *Physiol Rev* 2001; 81: 629–683
- Grace A, D'Souza V, Menon RK, O'Brien NS, Dandona P. Atrial natriuretic peptide concentration during pregnancy. *Lancet* 1987; 1:1267.
- Grazzini E, Guillon G, Mouillac B, Zingg HH. Inhibition of oxytocin receptor function by direct binding of progesterone. *Nature* 1998;392:509–512.
- Gutkowska J, Jankowski M, Lambert C, Mukaddam-Daher S, Zingg HH & McCann SM. Oxytocin releases atrial natriuretic peptide by combining with oxytocin receptors in the heart. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 1997; 94: 11704-11709.
- Gutkowska J., Jankowski M., Mukaddam-Daher S. and McCann S.M. Oxytocin is a cardiovascular hormone. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2000; 33: 625-633
- Haanwinckel MA, Elias LK, Favaretto ALV, Gutkowska J, McCann SM, and Antunes-Rodrigues J. Oxytocin mediates atrial natriuretic peptide release and natriuresis after volume expansion in the rat. *Proc Natl Acad USA* 1995; 92: 7902–7906.
- Hama M, Itoh H, Shirakami G, Suga S, Komatsu Y, Yoshimasa T, et al. Detection of C-type natriuretic peptide in human circulation and marked increase of plasma CNP level in septic shock patients. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;198:1177– 82.
- Heller, H. In *Occurrence, Storage and Metabolism of Oxytocin*, eds Caldeyro-Barcia R. & Heller H. (Pergamon, New York), 1961: pp. 3–23.
- Hendricks CH & Brenner WE. Cardiovasucular effects of oxitocic drugs used post partum. *Am J Obstet Gynecol* 1970; 108: 751–760.

- Huang W, Lee SL ve Sjoquist M. Natriuretic role of endogenous oxytocin in male rats infused with hypertonic NaCl. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 1995;268: 634–640.
- Imura H, Nakao H, Itoh H. The natriuretic peptide system in the brain: implication in the central control of cardiovascular and neuroendocrine functions. *Front Neuroendocrinol* 1992; 13:217.
- Itoh H, Sagawa N, Hasegawa M, Nanno H, Kobayashi F, Ihara Y, et al. Expression of biologically active receptors for natriuretic peptides in the human uterus during pregnancy. *Biochem Biophys Res Commun* 1994;203:602–7
- Jankowski M, Hajjar F, Al Kawas S, Mukaddam-Daher S, Hoffman G, McCann SM & Gutkowska J. Rat heart: a site of oxytocin production and action. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 1998,95: 14558-14563.
- Jankowski M, Rachelska G, Donghao W, McCann SM, and Gutkowska J. Estrogen receptors activate atrial natriuretic peptide in the rat heart. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98: 11765–11770.
- Jankowski M, Wang D, Hajjar F, Mukaddam-Daher S, McCann SM, Gutkowska J. Oxytocin and its receptors are synthesized in the rat vasculature. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000;97: 6207–6211.
- Jankowski M, Wang D, Mukaddam-Daher S, Gutkowska J. Pregnancy alters nitric oxide synthase and natriuretic peptide systems in the rat left ventricle. *J Endocrinol* 2005;184:209–17.
- Jirikowski GF, Back H, Forssmann WG & Stumpf WE. Coexistence of atrial natriuretic factor (ANF) and oxytocin in neurons of the rat hypothalamus. *Neuropeptides*, 1986;8: 243-249.
- Komatsu Y, Nakao K, Suga S, Ogawa Y, Mukoyama M, Arai H, Shirakami G, Hosoda K, Nhkagawa o, hma N Kishimoto I, Imura H. C-type natriuretic peptide (CNP) in rats and humans. *Endocrinology* 1991; 129: 1104.
- Ku C-Y, Qian A, Wen Y, Anwer K, Sanborn BM. Oxytocin stimulates myometrial guanosine triphosphatase and phospholipase- C activities via coupling to Gq/11. *Endocrinology* 1995;136: 1509–1515.

- Lang RE, Tholken H, Ganten D, Luft FC, Ruskoaho H, Unger T. Atrial natriuretic factor – a circulating hormone stimulated by volume loading. *Nature* 1985; 314: 264–266.
- Langesæter E, Rosseland L.A, Stubhaug A. Hemodynamic effects of oxytocin during cesarean delivery *International Journal of Gynecology and Obstetrics* 2006; 95: 46-47.
- Leake RD, Weitzman RE, Glatz TH, Fisher DA. Plasma oxytocin concentrations in men, nonpregnant women and pregnant women before and during spontaneous labor. *Journal of Clin Endocrinol Metab.* 1981;53:730.
- Lev-Sagie A, Bar-Oz B, Salpeter L, Hochner-Celnikier D, Arad I, Nir A, Plasma Concentrations of N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide in Pregnant Women near Labor and during Early Puerperium. *Clinical Chemistry*, 2005;51:1909-1910.
- Levin ER. Natriuretic peptide C receptor: more than a clearance receptor. *Am J Physiol* 1993; 264: 483–489
- Mair J, Friedl W, Thomas S, Puschendorf B. Natriuretic peptides in assessment of left-ventricular dysfunction. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1999;230: 132-142.
- McCance DR, McKnight JA, Traub Al. Plasma atrial natriuretic factor levels during normal pregnancy and pregnancy complicated by diabetes mellitus and hypertension. *J Hum Hypertens.* 1990;4: 31-35.
- McLaughlin MK, Roberts JM: Hemodynamic changes. Ed: Lindhemier ML, Robert JM, Cunningham FG, Chesley's Hypertensive Diseases in Pregnancy, 2nd edition, p.69 Appleton & Lange 1999
- McNeilly AS, Robinson IC, Houston MJ, Howie PW. Release of oxytocin and prolactin in response to suckling *British Medical Journal* 1983;286: 257-259
- Mikkelsen AL, Schutten G, Asping U. Plasma concentration of natriuretic peptide in normal pregnant women and pregnant women with preeclampsia. *Gynecol Obstet Invest.* 1991; 31:192-195.
- Milsom I, Hender J, Hender T. Plasma atrial natriuretic peptide (ANP) and maternal hemodynamic changes during normal pregnancy. *Acta Obstetrica et Gynecologica Scandinavica* 1988;76: 717-722.

- Minamino N, Aburaya M, Ueda S, Kangawa K, Matsuo H. The presence of brain natriuretic peptide of 12,000 daltons in porcine heart. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 155: 740–746
- Mitchell BF., Fang X and Wong S. Oxytocin: a paracrine hormone in the regulation of parturition? *Reviews of Reproduction* 1998; 3: 113–122
- Monga M. Maternal cardiovascular and renal adaptation to pregnancy. Ed: Creasy RK, Resnik R. *Maternal Fetal Medicine* 4th Edition, pp.783-792, Saunders Co. Philadelphia, USA, 1989.
- Moore JJ, Dubyak GR, Moore RM, and Vander Kooy D. Oxytocin activates the inositol-phospholipid-protein kinase-C system and stimulates prostaglandin production in human amnion cells. *Endocrinology* 1988;123: 1771–1777.
- Mukaddam-Daher S, Jankowski M, Wang D, Menaouar A, and Gutkowska J. Regulation of cardiac oxytocin system and natriuretic peptide during rat gestation and postpartum. *J Endocrinol* 2002;175: 211–216.
- Nazario B, Ren-Ming Hu, All Pedram, Bruce Prins, and Ellis R. Levin. Atrial and Brain Natriuretic Peptides Stimulate the Production and Secretion of C-Type Natriuretic Peptide From Bovine Aortic Endothelial Cells. *The Journal of Clinical Investigation*. 1995; 95: 1151-1157.
- Nishikimi T, Maeda N, Matsuoka H The role of natriuretic peptides in cardioprotection. *Cardiovascular Research* 2006; 69: 318 – 328
- Ogawa Y, Itoh H, Nakao K. Molecular biology and biochemistry of natriuretic peptide family. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1995 ;22:49.
- Oikawa S, Imai M, Ueno A, Tanaka S, Noguchi T, Nakazato H, Kangawa K, Fukuda A, Matsuo H Cloning and sequence analysis of cDNA encoding a precursor for human atrial natriuretic polypeptide. *Nature* 1984; 309: 724–726
- Pamela J. Moore. Maternal physiology during pregnancy. Ed: Martin L. Pernoll, Palph C. Benson, *Current Obstetric and Gynecologic Diagnosis and Treatment*. 6th Edition, pp. 127-134, Appleton and Lange, California, USA, 1987.
- Pedersen CA, Ascher JA, Monroe YL, Prange AJ. Oxytocin induces maternal behavior in virgin female rats. *Science* 1982; 216: 648–650.
- Petersson M, Lundeberg T, Uvnas-Moberg K. Short-term increase and long-term decrease of blood pressure in response to oxytocin – potentiating effect of female steroid

- hormones. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1999;33:102–108.
- Petersson M. Cardiovascular effects of oxytocin *Progress in Brain Research*, 2002; Vol.139
Chapter 22
- Petty MA, Lang RE, Unger T & Ganten D. The cardiovascular effects of oxytocin in conscious male rats. *European J Pharmacol* 1985; 112, 203–210.
- Pournajafi-Nazarloo H, Perry A, Partoo L, Papademetriou E, Azizi F, Carter C. S, Cushing B S. Neonatal oxytocin treatment modulates oxytocin receptor, atrial natriuretic peptide, nitric oxide synthase and estrogen receptor mRNAs expression in rat heart. *Peptides* 2007; 28: 1170 – 1177
- Rautureau Y, Gowers I, Wheeler-Jones CPD, Baxter GF (2004) Guanylate cyclase receptors in human endothelial cells. *Br J Pharmacol*; in press
- Richards AM. The natriuretic peptides in heart failure. *Basic Res Cardiol* 2004;99:94-100
- Robson SC, Dunlop W, Boys RJ. Cardiac output during labor. *Br Med J.* 1987a;295:1169.
- Robson SC, Hunter S, Moore M. Hemodynamic changes during the puerperium. A doppler M-mode echocardiographic study. *Br J Obstet Gynecol* 1987b; 94: 1028.
- Roques BP Cell surface metallopeptidases involved in blood pressure regulation: structure, inhibition and clinical perspectives. *Pathol Biol (Paris)* 1998; 46: 191-200
- Rudolf M. Lequin. Enzyme Immunoassay (EIA)/Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) *Clinical Chemistry* 2005;51: 2415-2418.
- Ruskoaho H. Atrial natriuretic peptide: synthesis, release, and metabolism. *Pharmacol Rev*(1992) 44: 479–602
- Russell J A and G Leng. Sex, parturition and motherhood without oxytocin? *Journal of Endocrinology* 1998; 157: 343–359
- Scotland RS, Ahluwalia A., Hobbs AJ. C-type natriuretic peptide in vascular physiology and disease *Pharmacology & Therapeutics* 105 (2005) 85– 93
- Sercher, N. J., Amso, P. & Wallin, L. Haemodynamic effects of oxytocin *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* 1978; 57, 97–107.
- Shojo H, Kaneko Y. Characterization and Expression of Oxytocin and the Oxytocin Receptor. *Molecular Genetics and Metabolism* 2000;71, 552–558
- Shrivastav P, Gill DS, D’Souza V, O’Brien PMS, Dandona P. Secretion of atrial natriuretic peptide and digoxin-like immunoreactivity substance during pregnancy. *Clinical Chemistry.* 1988; 34:977-980.

- Soares TJ, Coimbra TM, Martins AR, Pereira AGF, Carnio EC, Branco LGS, Albuquerque-Araujo WIC, De Nucci G, Favaretto ALV, Gutkowska J, McCann SM, Antunes-Rodrigues J. Atrial natriuretic peptide and oxytocin induce natriuresis by release of cGMP. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96: 278–283.
- Soloff MS, Alexandrova M, Fernstrom MJ. Oxytocin receptors: Triggers for parturition and lactation? *Science* 1979;204: 1313–1315.
- Stein PK, Hagley MT, Cole PL, Domitrovich PP, Kleiger RE, Rottman JN. Changes in 24 hour heart rate variability during normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180:978.
- Steiner LA, Gallagher PG. Erythrocyte disorders in the perinatal period, *Semin. Perinatol.* 2007;31(4):254-61.
- Stepan H, Walther T, Walther D, Faber R. Detection of C-type natriuretic peptide in normal pregnancy. *J Perinat Med* 1998;26: 56–58.
- Stingo AJ, Clavell A, Aarhus L, Burnett JC. Cardiovascular and renal actions of C-type natriuretic peptide. *Am J Physiol* 1992;262: 308–2.
- Stoeckel ME, Freund-Mercier MS, Falacios JM, Richard P, and Porte A. Auto-radiographic localization of binding sites for oxytocin and vasopressin in the rat kidney. *J Endocrinol* 1987;113: 179–182.
- Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature* 1988; 332: 78–81
- Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res commun* 1990, 168: 863.
- Suga S, Itoh H, Komatsu Y, Ogawa Y, Hama N, Yoshimasa T, et al. Cytokine induced C-type natriuretic peptide (CNP) secretion from vascular endothelial cells- Evidence for CNP as a novel autocrine/paracrine regulator from endothelial cells. *Endocrinology* 1993;133:3038–41.
- Suga S, Nakao K, Itoh H, Komatsu Y, Ogawa Y, Hama N, Imura H. Endothelial production of C-type natriuretic peptide and its marked augmentation by transforming growth factor-beta. Possible existence of “vascular natriuretic peptide system”. *J Clin Invest* 1992; 90: 1145–1149

- Thibonnier M, Conarty DM, Preston JA et al. Human vascular endothelial cells express oxytocin receptors. *Endocrinology* 1999;140:1301–1309.
- Thomsen JK, Storm TL, Thamsborg G. Increased concentration of atrial natriuretic peptide during normal pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol Reported Biol.* 1988; 27: 197-201.
- Thornton S, Davison J and Baylis PH. Effect of human pregnancy on metabolic clearance rate of oxytocin *American Journal of Physiology* 1990; 259: 21–24
- Thornton S, Davidson JM, Baylis PH. Plasma oxytocin during third stage of labour: comparison of natural and active management. *British Medical Journal* 1988;297;167-169
- Totsune K, Takahashi K, Murakami O, Sataoh F, Sone M, Saito T, Sasano H, Mouri T, Abe K. Natriuretic peptides in the human kidney. *Hypertension* 1994; 24:758
- Tribollet E, Barberis C, Jard S, Dubois-Dauphin M, and Dreifuss JJ. Localization and pharmacological characterization of high affinity binding sites for vasopressin and oxytocin in the rat brain by light microscopic autoradiography. *Brain Res* 1988; 442: 105–118.
- Ueland K and Ferguson JE. Cardiovascular physiology of pregnancy. In *Gynecology and Obstetrics*, vol 3, Ch 8, pp 1-7 Ed: JJ Sciarra. Philadelphia: JB Lippincott Co 1988.
- Ueland K. Maternal cardiovascular dynamics, 7. Intraparum blood volume changes. *Am J Obstet Gynecol* 1976; 126:671.
- Vuolteenaho O, Arjamaa O, Ling N. Atrial natriuretic polypeptides (ANP): rat atria store high molecular weight precursor but secrete processed peptides of 25- 35 amino acids. *Biochem Biophys Res Commun* 1985; 129: 82–88
- Wegner M, Ganten D, Stasch JP. Neutral endopeptidase inhibition potentiates the effects of natriuretic peptides in renin transgenic rats. *Hypertens Res* 1996;19:229 –38.
- Weis FR Jr, Markello R, Mo B, and Bochiechio P. Cardiovascular effects of oxytocin. *Obstet Gynecol* 1975; 46: 211–214.
- Whittaker PG, MacPhail S, Lind T: Serial Hematologic changes and pregnancy outcome. *Obstet Gynecol* 1996; 88: 33.
- Wilson M, Morganti AA, Zervodakis I. Blood pressure, the renin-aldosterone system and sex steroids throughout normal pregnancy. *Am J Med* 1980; 68:97.

- Yandle TG (1994) Biochemistry of natriuretic peptides. *J Intern Med* 235: 561–576
- Yasuda S, Kanna M, Sakuragi S, Kojima S, Nakayama Y, Miyazaki S, Matsuda T, Kangawa K, Nonogi H. Local delivery of single low-dose of C-type natriuretic peptide, an endogenous vascular modulator, inhibits neointimal hyperplasia in a balloon-injured rabbit iliac artery model. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002; 39: 784–788
- Yavuz O, Aksoy A. Örnek Hazırlamada Katı Faz Ekstraksiyonu Metodu F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi 2006; 20(3): 259-269
- Yoshimura M, Yasue H, Morita E, Sakaino N, Jougasaki M, Kurose M, Mukoyoma M, Saito Y, Nakao K, Imuro H. Hemodynamic renal and hormonal responses to brain natriurtic peptide infusion in patient with congestive heart failure. *Circulation* 1991; 84: 1581-1588.
- Zhang J, Weston PG, Hixon JE. Role of progesterone and oestradiol in the regulation of uterine oxytocin receptor in ewes. *J Reprod Fertil* 1992; 94: 395–404.