



**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



DOKTORA TEZİ

**PREEKLAMPSİ PATOGENEZİ ÜZERİNE miR-29 EKSPRESYONU ile SERUM
HCII, DPP3 ve mPGES-1 DÜZEYLERİNİN OLASI ETKİLERİ**

Nesibe YILDIZ

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Hakan EKMEKÇİ**

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Biyokimya, Doktora Programı

Aralık, 2024

TEZ KABUL VE ONAYI

Nesibe YILDIZ tarafından, **Prof. Dr. Hakan EKMEKÇİ** danışmanlığında hazırlanan "PREEKLAMPSİ PATOGENEZİ ÜZERİNE miR-29 EKSPRESYONU ile SERUM HCII, DPP3 ve mPGES-1 DÜZEYLERİNİN OLASI ETKİLERİ" başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **16/12/2024** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

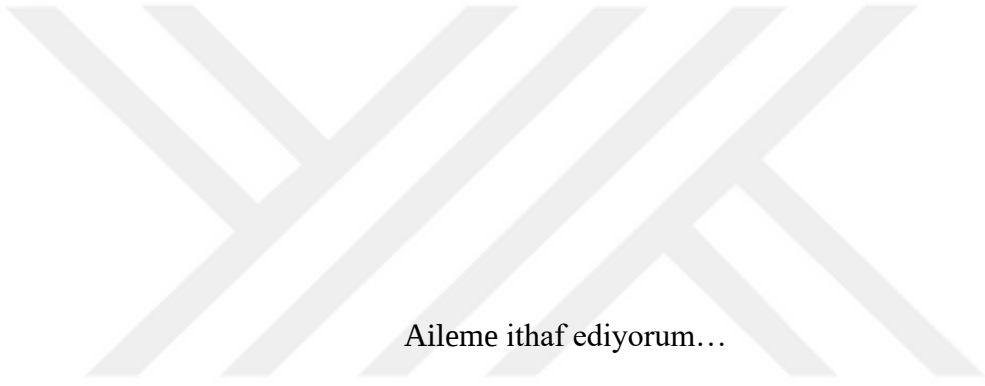
	İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Prof. Dr. Hakan EKMEKÇİ İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ- CERRAHPAŞA Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Mustafa Koray GÜMÜŞTAŞ İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ- CERRAHPAŞA Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Zeynep Banu GÜNGÖR İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ- CERRAHPAŞA Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Bedia ÇAKMAKOĞLU İstanbul Üniversitesi Moleküler Tıp Anabilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Hüseyin Avni SÖNMEZ İstanbul AYDIN Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	☒ Kabul ☐ Ret

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve bilimsel etik kuralları içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve her türlü hukuki sorumluluğu aldığımı kabul ederim.

Nesibe YILDIZ

(İmza)



BÜTÇE DESTEKLERİ

PREEKLAMPSİ PATOGENEZİ ÜZERİNE miR-29 EKSPRESYONU ile SERUM HCII, DPP3 ve mPGES-1 DÜZEYLERİNİN OLASI ETKİLERİ

Bu çalışma İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje numarası: 37242

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca en büyük şansım, akademik kimliğini, çalışkanlığını ve hoşgörüsünü kendime örnek aldığım, sağlamış olduğu profesyonel çalışma ortamı sayesinde verimli ve keyifli bir süreç haline gelen bu yolda, öğrencisi olmaktan onur duyduğum çok kıymetli hocam Prof. Dr. Hakan EKMEKÇİ'ye;

Disiplini ve pratik çözümleriyle doktora ders ve tez dönemlerimde yardımını esirgemeyen Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. İbrahim Murat BOLAYIRLI'ya;

Doktora tezimin yürütülmesinde büyük katkıları olan Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Abdullah TÜTEN ve Doç. Dr. Koray GÖK hocalarıma ve ayrıca Uz. Dr. Işın ERDOĞAN ve Uz. Dr. Hilal Atılğan YILDIRIM'a;

Dersleri benim için bilgi şöleni şeklinde geçen önceki Anabilim Dalı başkanlarımız Prof. Dr. Hafize UZUN ve Prof. Dr. Hüseyin Avni SÖNMEZ'e, disiplinine hayranlık duyduğum, derslerinde en ince ayrıntıya kadar öğrenmenin faydalarını hala üzerimde hissettiğim değerli hocalarım Prof. Dr. Zeynep Gülnur ANDİCAN ve Prof. Dr. Pınar ATUKEREN'e, akademik duruş ve bilgi birikimine ek olarak nezaketiyle de beni büyüleyen hocam Prof. Dr. Yıldız DİNÇER'e, doktora eğitimim boyunca beni her daim destekleyen, çalışkanlığı, üretkenliği, içtenliği ve iyi niyetiyle tüm doktora öğrencilerinin hayranlık duyduğuna inandığım değerli hocam Prof. Dr. Özlem BALCI EKMEKÇİ'ye, tezimi tamamlamamda büyük katkıları olan hocam Prof. Dr. Zeynep Banu GÜNGÖR'e, tez sürecimdeki yönlendirmeleri ve desteklerinden dolayı tez izleme komitesi üyesi değerli hocam Prof. Dr. Bedia ÇAKMAKOĞLU'na, derslerinde kendisinden akademik anlamda çok şey öğrendiğim ve tez dönemimde verdiği destekten dolayı hocam Prof. Dr. Mustafa Koray GÜMÜŞTAŞ'a ve doktora eğitimimiz süresince üzerimizde emeği olan, bizlere Tıbbi Biyokimya eğitimi yanında akademik kültürü de öğreten, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi çok değerleri hocalarıma her birine ayrı ayrı teşekkürü borç bilirim.

Aldığımız eğitim tüm doktora öğrencileri için öğretici, bir o kadar da unutulmaz bir serüvendi. Bu süreçte emek veren, gecesini gündüzüne katan, hayatını erteleyen ve sonunda iyi iş çıkaran tüm doktora arkadaşlarıma en içten duygularıyla teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan büyük keyif aldığım, akademik sohbetlerimize doyamadığım Doç. Dr. Hatice İSKENDER'e, istatistik bilimini öğrenmeme katkıda bulunan abim Doç. Dr. Yalçın KANBAY'a, zor günlerimde yanımda olan kıymetli arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Saffet KILIÇER ve Arş. Gör. Sebahat TEMUÇİN KILIÇER'e, sevgili dostum Prof. Dr. Çiğdem ÇEBİ'ye kalbinin güzelliğiyle çevresine her daim faydaları olan ve bu yoldaki en büyük destekçilerim Nuray ESER ve Gülay ÖZTURNA teyzelerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI.....	ii
BEYAN	iii
BÜTÇE DESTEKLERİ	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
TABLO LİSTESİ.....	x
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	xi
ÖZET	xv
ABSTRACT	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE	4
2.1. PREEKLAMPSİ	4
2.1.1. Preeklampsinin Sınıflandırılması	5
2.1.2. Preeklampsisi Risk Faktörleri	6
2.1.3. Preeklampsinin Teşhisi	7
2.1.4. Preeklampsisi Semptomları	8
2.1.5. Preeklampsisi Patofizyolojisi.....	10
2.2. MikroRNA	13
2.2.1. miR-29'un Yapısı ve Genomik Organizasyonu	14
2.2.2. miR-29'un Fizyolojik İşlevleri.....	15
2.3. HEPARİN KOFAKTÖR II (HCII).....	17
2.4. DİPEPTİDİL PEPTİDAZ 3 (DPP3)	21
2.5. MİKROZOMAL PROSTAGLANDİN E SENTAZ-1 (mPGES-1)	24
3. YÖNTEM	29
3.1. HASTA VE KONTROL GRUPLARININ OLUŞTURULMASI.....	29
3.1.1. Çalışmadan Dışlanma Kriterleri.....	30
3.2. ÖRNEKLERİN ALINMASI VE ÇALIŞILAN PARAMETRELER	31

3.3. miR-29b-3p EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN ANALİZİ	31
3.3.1. Total miRNA İzolasyonu	32
3.3.2. RNA Miktar ve Saflık Tayini.....	34
3.3.3. cDNA Sentezi.....	35
3.3.4. qPCR (Real Time/Eş zamanlı PCR) ile Amplifikasyon.....	36
3.3.5. $2^{-\Delta\Delta CT}$ Yöntemi.....	38
3.4. SERUM HCII DÜZEYLERİNİN TAYİNİ	40
3.5. SERUM DPP3 DÜZEYLERİNİN TAYİNİ	42
3.6. SERUM mPGES-1 DÜZEYLERİNİN TAYİNİ	44
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER	47
4. BULGULAR	48
5. TARTIŞMA.....	66
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	77
KAYNAKLAR.....	79
EKLER	98
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI	99
ETİK KURUL İZİN YAZISI	100
KURUM İZNİ YAZILARI.....	101
ÖZGEÇMİŞ	102

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2. 1: Preeklampsiden etkilenen organlar	9
Şekil 2. 2: Normal gebelikte spiral arter yeniden şekillenmesi ve preeklampside bu sürecin zayıflaması.....	11
Şekil 2. 3: Preeklampside endotel disfonksiyonunda sFlt1'in rolü	12
Şekil 2. 4: miRNA'ların Biyogenezi	14
Şekil 2. 5: mRNA'nın loop-stem yapısı ve miR-29 ailesinin dizisi	15
Şekil 2. 6: miR-29 ile ilişkili kardiyovasküler hastalıklar	16
Şekil 2. 7: HCII ve Antitrombinin vasküler glikozaminoglikanlar tarafından aktivasyonu.....	19
Şekil 2. 8: RAS sistemi ve lokal ve uzun vadeli biyolojik fonksiyonlarının şematik gösterimi	22
Şekil 2. 9: PGE2'nin biyosentetik yolu	25
Şekil 2. 10: Kan basıncının regülasyonunda EP reseptörlerinin işlevi.....	27
Şekil 3. 1: Güç analizine ilişkin protokol	30
Şekil 3. 2: HCII düzeyi tayini için standart çözelti hazırlanması.	41
Şekil 3. 3: HCII standart eğrisi.	42
Şekil 3. 4: DPP3 düzeyi tayini için standart çözelti hazırlanması.	43
Şekil 3. 5: DPP3 standart eğrisi.	44
Şekil 3. 6: mPGES-1 düzeyi tayini için standart çözelti hazırlanması.	46
Şekil 3. 7: mPGES-1 standart eğrisi.	47
Şekil 4. 1: miR-29b-3p, HCII, DPP3 ve mPGES-1 düzeylerinin preeklampsi ve kontrol grubunda farkları	54
Şekil 4. 2: miR-29b-3p ekspresyon düzeylerinin gestasyonun farklı dönemlerinde sağlıklı ve preeklampitik gebelerde farkları.....	56
Şekil 4. 3: HCII konsantrasyonlarının gestasyonun farklı dönemlerinde sağlıklı ve preeklampitik gebelerde farkları.....	56
Şekil 4. 4: DPP3 konsantrasyonlarının gestasyonun farklı dönemlerinde sağlıklı ve preeklampitik gebelerde farkları.....	57
Şekil 4. 5: mPGES-1 konsantrasyonlarının gestasyonun farklı dönemlerinde sağlıklı ve preeklampitik gebelerde farkları.....	58

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2. 1: ACOG’a göre Preeklampsi yüksek ve orta düzey risk faktörleri.....	7
Tablo 2. 2: ACOG kılavuzlarına göre preeklampsi tanı kriterleri.....	8
Tablo 3. 1: Total miRNA izolasyonu için kullanılan araç gereç ve kimyasallar.....	33
Tablo 3. 2: cDNA master karışım içeriği	35
Tablo 3. 3: cDNA sentezi için RT reaksiyon inkübasyon koşulları	36
Tablo 3. 4: qPCR için miRNA Assay Tanımlama Numaraları	37
Tablo 3. 5: Real-Time PCR reaksiyon karışımı içeriği	38
Tablo 3. 6: RT-qPCR miRNA amplifikasyonu termal döngü protokolü	38
Tablo 3. 7: HCII ELISA kit içeriği.....	40
Tablo 3. 8: DPP3 ELISA kit içeriği.....	43
Tablo 3. 9: mPGES-1 ELISA kit içeriği.....	45
Tablo 4. 1: Katılımcıların tanımlayıcı özellikleri.	48
Tablo 4. 2: Erken-geç preeklampsi ve kontrol gruplarında tanımlayıcı özellikler.	49
Tablo 4. 3: Preeklampsi ve kontrol grubunun biyokimyasal ve koagülasyon parametreleri. ..	51
Tablo 4. 4: Analiz edilen parametrelere ait ortalama, standart sapma, medyan, IQR ve normallik analizi sonuçları.	53
Tablo 4. 5: Proteinüri görülen ve görülmeyen preeklampsi gruplarında miR-29b-3p, HCII, DPP3 ve mPGES-1 farkları.	55
Tablo 4. 6: Preeklampsi ve kontrol grubunda miR-29b-3p, HCII, DPP3 ve mPGES-1’in birbiri ile ilişkisi.	59
Tablo 4. 7: miR-29b-3p, HCII, DPP3 ve mPGES-1 düzeylerinin gebelerin tanımlayıcı özellikleri ile ilişkisi.	60
Tablo 4. 8: miR-29b-3p, HCII, DPP3 ve mPGES-1 düzeylerinin preeklampsi (50) ve kontrol (30) gruplarında biyokimyasal parametreler ile ilişkisi.....	62
Tablo 4. 9: miR-29b-3p, HCII, DPP3 ve mPGES-1 düzeylerinin biyokimyasal parametreler ile ilişkisi (n:80).....	64

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Kısaltmalar	Açıklama
AAA	: Abdominal Aortik Anevrizma
AAM	: ACE2/Ang-(1-7)/Mas Reseptörü
ACE2	: Anjiyotensin Çevirici Enzim 2
ACOG	: Amerikan Obstetrisyenler ve Jinekologlar Derneği
AGO	: Argonaute
ALT	: Alanin Amino Transferaz
Ang-(1-5)	: Anjiyotensin (1-5)
Ang-(1-7)	: Anjiyotensin (1-7)
Ang-(1-9)	: Anjiyotensin (1-9)
Ang-(3-7)	: Anjiyotensin (3-7)
Ang-I	: Anjiyotensin-I
Ang-II	: Anjiyotensin-II
Ang-III	: Anjiyotensin-III
Ang-IV	: Anjiyotensin-IV
APA	: Aminopeptidaz A
APS	: Antifosfolipid Sendromu
aPTT	: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı
ArcA	: Arkuat Arter
Arg	: Arjinin
ASP	: Aspartil-Aminopeptidaz
AST	: Aspartat Amino Transferaz
AT	: Antitrombin
Ca ²⁺	: Kalsiyum
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
cDNA	: Komplementer DNA
cDPP3	: Dolaşımdaki DPP3
ch	: Kromozom
COX-1	: Siklooksijenaz-1
COX-2	: Siklooksijenaz-2
cPGES	: Sitosolik Prostaglandin E Sentaz
CV	: Varyasyon Katsayısı
Ct	: Threshold Cycle/Eşik Döngüsü
DGCR8	: Digeorge Sendromu Kritik Bölge 8
DHA	: Dokosaheksaenoik Asit

dNK	: Desidual Doğal Öldürücü
DP	: PGD2 Reseptör
DPP3	: Dipeptidil Peptidaz 3
DS	: Dermatan Sülfat
EC	: Endotel Hücreleri
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EndoT	: Endovasküler Trofoblast
EP	: PGE2 Reseptörü
EPA	: Eikosapentaenoik Asit
ES	: Endometriyal Stroma
EVT	: Ekstravilöz Trofoblast
FC	: Fetal Kılcal Damar
FGF-23	: Fibroblast Büyüme Faktörü-23
FLT1	: Fms Benzeri Tirozin Kinaz 1 Reseptörü
FP	: PGF2 α Reseptörü
GTPase	: Guanozin Trifosfataz
HCII	: Heparin Kofaktör II
HELLP	: Hemoliz, yükselmiş karaciğer enzimleri ve düşük Trombosit ile birliktelik gösteren gestasyonel hipertansif sendrom
HRP	: Horseradish Peroksidaz
HS	: Heparan Sülfat
hsa	: Homo Sapiens
HUVEC	: İnsan Umbilikal Ven Endotel Hücreleri
IFN- γ	: İnterferon- γ
INR	: Uluslararası Normalizasyon Oranı
IQR	: Çeyrekler Arası Aralık
IU	: Ünite
kb	: Kilobayt
kg/m ²	: Kilogram/Metre Kare
KW	: Kruskal Wallis-H Testi
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
<i>Leu</i>	: Lösün
LPS	: Lipopolisakkarit
MCP-1	: Monosit Kemoatraktan Protein-1
mEq/L	: Miliekivalen/Litre
mg	: Miligram
mg/dL	: Miligram/Desilitre
MI	: Miyokard Enfarktüsü
miR-29	: miRNA-29
miRNA	: MikroRNA
mL	: Mililitre
MMP-2	: Matriks Metalloproteinaz-2
mPGES	: Mikrozomal Prostaglandin E Sentaz

mPGES-1	: Mikrozomal Prostaglandin E Sentaz-1
mPGES-1	: Mikrozomal Prostaglandin E Sentaz-1
mPGES-2	: Mikrozomal Prostaglandin E Sentaz-2
mRNA	: Haberci RNA
ng/mL	: Nanogram / Mililitre
NO	: Nitrik Oksit
OD	: Optik Dansite
PDGFB	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PG	: Prostaglandin
PGE2	: Prostaglandin E2
PGG2	: Prostaglandin G2
PGH2	: Prostaglandin H2
PGI2	: Prostasiklinin, Prostaglandin I2
PIGF	: Plasental Büyüme Faktörü
PIP2	: Fosfatidil İnozitol 4,5,-Difosfat
PIP3	: İnozitol 1,4,5 Trifosfat
PLC	: Fosfolipaz C
Pre-miRNA	: Öncül miRNA
Pri-miRNA	: Birincil miRNA
PT	: Protrombin Zamanı
qPCR	: Real Time/Eş Zamanlı PCR
r	: Korelasyon katsayısı
RAAS	: Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi
RadA	: Radyal Arter
RAS	: Renin Anjiyotensin Sistemi
RISC	: Rna-İndüklenmiş Susturma Kompleksine
RMEC	: Retinal Mikrovasküler Endotel Hücreleri
RNase III	: Ribonükleaz III
RT	: Reverse Transkripsiyon
sFlt1	: Çözünür Fms Benzeri Tirozin Kinaz 1
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
SpA	: Spiral Arter
ss	: Standart Sapma
sVEGFR1	: Çözünür Vasküler Endotelyal Büyüme Faktör Reseptörü 1
SVO	: Serebrovasküler Olay
SynT	: Sinsityal Trofoblast
t	: Bağımsız Örneklem T Test
TAT	: Trombin-Antitrombin III Kompleksi
TF	: Doku Faktörü
TFPI	: Doku Faktör Yolu İnhibitörü
TGFβ1	: Transforme Edici Büyüme Faktörü B1
T-HCII	: Trombin-Heparin Kofaktör II Kompleksi
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör A

TP	: Tromboksan A2 Reseptörü
TRBP	TAR RNA Bağlayıcı Protein
TXA2	: Tromboksan A2
UE	: Uterus Epiteli
UTR	: Translate Edilmeyen Bölge
VEGFA	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü A
VKİ	: Vücut Kütle İndeksi
VSMC	: Vasküler Düz Kas Hücresi
$\bar{x}$	: Ortalama
Z	: Mann Whitney U Testi
μL	: Mikrolitre



ÖZET

[DOKTORA TEZİ]

[Preeklampsi Patogenezi Üzerine miR-29 Ekspresyonu ile Serum HCII, DPP3 ve mPGES-1 Düzeylerinin Olası Etkileri]

[Nesibe YILDIZ]

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Biyokimya, Doktora Programı

[Danışman : Prof. Dr. Hakan EKMEKÇİ]

Amaç: Bu çalışmanın amacı; miR-29b-3p ekspresyonu ile, serum HCII, DPP3 ve mPGES-1 düzeylerinin preeklampsi ile ilişkisini araştırmaktır.

Yöntem: Çalışmanın örneklemini ACOG kriterlerine göre preeklampsi tanısı almış 50 katılımcıdan oluşan hasta grubu ve normotansif sağlıklı 30 gebeden oluşan kontrol grubu oluşturmaktadır. Hasta ve kontrol grupları 34. gebelik haftası öncesi ve sonrasına göre erken ve geç olmak üzere alt gruplara ayrılmaktadır. Çalışmada miR-29b-3p ekspresyonu düzeyi qRT-PCR yöntemiyle, serum HCII, DPP3 ve mPGES-1 düzeyleri ise ELISA yöntemiyle analiz edilerek belirlendi. Tüm istatistiksel analizler “IBM SPSS Statistics 26” paket programı ile yapılmış olup, $p < .05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: miR-29b-3p ekspresyonları ile serum mPGES-1 konsantrasyonu sağlıklı gebeler ve preeklampitik gebeler arasında farklılık göstermediği bulundu ($p > .05$). Ayrıca istatistiksel anlamlılık olmasa da miR-29b-3p ekspresyon düzeyleri proteinüri semptomu gösteren preeklampsi grubunda, proteinüri görülmeyen preeklampsi grubunun yaklaşık iki katı kadar yüksek bulundu ($p > .05$). Preeklampitik gebelerdeki HCII ve DPP3 serum konsantrasyonları, normal sağlıklı gebelerden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p < .05$). Geç başlangıçlı preeklampsi grubundaki mPGES-1 düzeyleri, erken dönem sağlıklı kontrol grubu ve erken preeklampsi grubundan anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < .05$). Preeklampsi grubunda HCII, DPP3 ve mPGES-1 düzeylerinin her biri birbiriyle pozitif yönde anlamlı derecede ilişkili bulundu ($p < .05$).

Sonuç: miR-29b-3p düzeylerinin artması, şiddetli preeklampside proteinüri semptomu ile ilişkili olabilir. Ayrıca gebelikte HCII ve DPP3 düzeylerinin düşük olması preeklampsi

gelişmesine katkıda bulunabilir. Bununla birlikte gestasyonun geç dönemlerinde ve geç preeklampside mPGES-1 düzeylerinin artması hastalığın şiddetiyle ilişkili olabilir. | Aralık 2024 , 119 sayfa.

Anahtar kelimeler: Preeklampsi, Endotel disfonksiyonu, miR-29, HCII, DPP3, mPGES-1



ABSTRACT

Ph.D. THESIS

**POSSIBLE EFFECTS of miR-29 EXPRESSION and SERUM HCII, DPP3 and mPGES-1
LEVELS on THE PATHOGENESIS of PREECLAMPSIA**

Nesibe YILDIZ

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Biochemistry

Biochemistry, PhD Programme

Supervisor : Prof. Dr. Hakan EKMEKÇİ

Objective: The aim of this study was to investigate the relationship between miR-29b-3p expression, serum HCII, DPP3 and mPGES-1 levels with preeclampsia.

Method: The study sample consists of a patient group consisting of 50 participants diagnosed with preeclampsia according to ACOG criteria and a control group consisting of 30 normotensive healthy pregnant women. The patient and control groups are divided into early and late subgroups according to before and after the 34th week of pregnancy. In the study, miR-29b-3p expression level was determined by qRT-PCR method, and serum HCII, DPP3 and mPGES-1 levels were determined by ELISA method. All statistical analyses were performed with the “IBM SPSS Statistics 26” package program, and $p < .05$ was considered statistically significant.

Results: It was found that miR-29b-3p expressions and serum mPGES-1 concentrations did not differ between healthy and preeclamptic pregnant women ($p > .05$). Also, although there was no statistical significance, miR-29b-3p expression levels were found to be approximately twice as high in the preeclampsia group with proteinuria symptoms as in the preeclampsia group without proteinuria ($p > .05$). HCII and DPP3 serum concentrations in preeclamptic pregnant women were found to be statistically significantly lower than in normal healthy pregnant women ($p < .05$). mPGES-1 levels in the late-onset preeclampsia group were found to be significantly higher than in the early healthy control group and early preeclampsia group ($p < .05$). In the preeclampsia group, HCII, DPP3 and mPGES-1 levels were found to be positively and significantly correlated with each other ($p < .05$).

Conclusion: Increased levels of miR-29b-3p may be associated with proteinuria symptoms in severe preeclampsia. In addition, low levels of HCII and DPP3 during pregnancy may contribute to the development of preeclampsia. However, increased levels of mPGES-1 in late gestation and late preeclampsia may be associated with the severity of the disease. |
December 2024, [119] pages.

Keywords: [Preeclampsia, Endothelial dysfunction, miR-29, HCII, DPP3, mPGES-1]



1. GİRİŞ

Preeklampsia gebeliğin 20. haftasından sonra başlayan hipertansiyona ($>140/90$ mmHg) ek olarak maternal organ fonksiyon bozukluklarının eşlik ettiği ve uteroplasental disfonksiyon ile de karakterize edilen bir gebelik komplikasyonudur [1]. Tüm gebelikler içerisinde görülme sıklığı yaklaşık olarak %3-8 oranında olan preeklampsia [2], hem anne hem de fetus üzerinde ciddi etkiler oluşturabilen ciddi bir sağlık sorunudur [1]. Preeklampsinin maternal etkileri sadece gebelik döneminde olmayıp, uzun vadede de gebelerin kardiyovasküler sistem, renal sistem ve Tip 2 diyabet gibi metabolik hastalıklar açısından da risk altında olduğu bildirilmiştir [3, 4, 5]. Amerikan Obstetrisyenler ve Jinekologlar Derneği'ne (ACOG) göre preeklampsia için yüksek risk faktörleri; önceki preeklampsia öyküsü, kronik böbrek hastalığı, kronik hipertansiyon, *Diyabetes Mellitus*, çoğul gebelik, Sistemik Lupus Eritematosus (SLE) veya Antifosfolipid sendromu (APS) olarak tanımlanmıştır [6].

Erken ve geç başlangıçlı olmak üzere iki tip gösteren preeklampsinin daha fazla görülen tipi olan geç başlangıçlı preeklampside; maternal etkiler daha baskın olup, fetüste anormal durumlar (intrauterin büyüme geriliği) daha nadir görülmektedir [7]. Geç başlangıçlı preeklampsie nispeten daha az prevalansa sahip olan erken başlangıçlı preeklampsia ise, morbidite ve anne çocuk mortalitesinin en sık görüldüğü preeklampsia türüdür [8]. Her iki preeklampsia türünde de maternal klinik semptomlar benzer olsa da erken başlangıçlı preeklampsia; annenin uterin arterlerinde ve umbilikal arterlerindeki kan akışındaki değişikliklerle ilişkili olup [9], fetusta intrauterin büyüme geriliği ile sonuçlanmaktadır [9, 10].

Preeklampside görülen maternal ve fetal semptomların, plasentanin hipoperfüzyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü doğum olayı gerçekleşikten sonra, plasentanın ayrılması ile tüm semptomlar ortadan kalkmaktadır [1, 11]. Plasental hipoksinin eşlik ettiği anormal plasentasyona, spiral arterlerin yeniden şekillenmesindeki bozulmalar ve endotel disfonksiyonu neden olabilir [12]. Ayrıca preeklampsinin her iki formunda da maternal serumda, antianjiyogenik faktör olan Çözünür Vasküler Endotelial Büyüme Faktör Reseptörü 1 (sVEGFR1, sFlt1 olarak da adlandırılır) düzeyleri artış göstermektedir [13]. Bununla birlikte preeklampside İnflamatuar yanıtın yüksek düzeyde olduğu da belirtilmiştir [14]. Yapılan çalışmalarda İnterlökinler, Transforme Edici Büyüme Faktörü $\beta 1$ (TGF $\beta 1$), Tümör Nekroz Faktör- α (TNF- α), İnterferon- γ (IFN- γ) ve Monosit

Kemoatraktan Protein-1 (MCP-1) düzeylerinin, preeklampsia olgularında artmış olduğu gösterilmiştir [15, 16].

miRNA-29 (miR-29) ailesi üyelerinin birçok çalışmada kardiyovasküler hastalıklarla yakından ilişkili olabileceği gösterilmiştir [17, 18, 19, 20]. miR-29b-3p'nin Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü A (VEGFA) ve Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGFB) gen transkriptleri üzerinden anjiyogenezi düzenleyebileceği [21, 22, 23], endometriyal karsinomda ise MAPK/ERK ve PI3K/Akt sinyal yollarını negatif olarak modüle ettiği ve anjiyogenezi baskıladığı [24], ayrıca PDGFB sinyal yolunu hedefleyerek atriyal yeniden şekillenmeyi düzenleyebileceği gösterilmiştir [25].

Serin proteaz inhibitörü olan Heparin Kofaktör II'nin (HCII) [26], en önemli rolü Antitrombin etkisi göstermesidir [27]. Antitrombin ile %30 oranında amino asit dizi benzerliği olan HCII'nin, pıhtılaşma veya fibrinoliz basamaklarında rol alan diğer proteazlara karşı herhangi bir aktivite göstermeyip, sadece Trombin aktivasyonunu baskıladığı belirtilmiştir. Antitrombin ise Trombin, Faktör Xa ve Faktör IXa dahil olmak üzere koagülasyon kaskadındaki proteazları inaktive edebilmektedir [26]

Dipeptidil Peptidaz 3 (DPP3) birçok hücre tipi ve dokuda eksprese edilen bir aminopeptidazdır [28, 29]. DPP3'ün fizyolojik olarak önemli substratlarının; Renin Anjiyotensin Aldosteron Sistemi (RAAS) sisteminin bileşenlerinden olan Anjiyotensin-II (Ang-II) [30], Anjiyotensin-III (Ang-III) [31], Anjiyotensin-IV (Ang-IV) [32], Anjiyotensin (1-7) (Ang-(1-7)) ve Anjiyotensin (1-5) (Ang-(1-5)) [30] olduğu bilinmektedir. Bilindiđi üzere RAAS, hipertansiyonun patogenezinde ve gelişiminde rol oynamaktadır [33]. RAAS ve Ang-II'nin, sıvı elektrolit dengesini ve kan basıncını düzenleyerek, büyüyen fetüsün metabolik ihtiyaçlarına entegre bir yanıt oluşturarak, sağlıklı gebelik sırasında kan hacminin artmasına katkıda bulunabileceği düşünülmektedir [34]. RAAS'ın hemen hemen tüm bileşenlerinin normal sağlıklı gebeliklerde arttığı bildirilmiştir [35, 36]. Preeklampside ise RAAS'ın çeşitli bileşenlerinden olan Anjiyotensin-I (Ang-I), Ang-II ve Ang (1-7) plazma seviyelerinin sağlıklı gebelerle kıyaslandığında belirgin derecede düşüş gösterdiği bildirilmiştir [34, 36, 37, 38].

Etkisini çeşitli reseptörler vasıtasıyla gerçekleştiren Prostaglandin E2'nin (PGE2) sentezinde [39] rol alan Mikrozomal Prostaglandin E Sentaz-1 (mPGES-1), Siklooksijenaz-2'ye (COX-2) benzer şekilde makrofajlar ve fibroblastlardaki proinflamatuvar sitokinler tarafından hızla indüklenir ve inflamasyon durumlarında yüksek düzeyde PGE2 oluşur [40]. mPGES-1, birçok hastalıkta özellikle inflamasyon, ağrı ve ateşin oluşumuna aracılık eder [41]. mPGES-1 kataliziyle oluşan PGE2, immün yanıtları ve inflamasyon gelişimini uyararak, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıkların patogenezeine katkıda bulunabilir [42].

Bu çalışmanın amacı; anjiyogenez, koagülasyon, hipertansiyon ve inflamasyon süreçlerinde rol oynayan parametrelerin preeklampsi ile ilişkisini araştırmaktır.



2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1. PREEKLAMPSİ

Preeklamps; gebeliğin 20. haftasından sonra başlayan hipertansiyon ($>140/90$ mmHg) ve proteinüriye (≥ 300 mg/24 saat) ek olarak maternal organ fonksiyon bozuklukları ve uteroplasental disfonksiyon ile karakterize olan, ciddi bir gebelik komplikasyonudur [1]. Preeklampsinin erken başlangıçlı (<34 . hafta) ve geç başlangıçlı (>34 . hafta) olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. Geç başlangıçlı preeklamps daha çok maternal kaynaklı olup, tüm preeklamps vakalarının yaklaşık %80'ini oluşturmaktadır. Daha az görülen erken başlangıçlı preeklamps ise anormal trofoblast invazyonu ve spiral arterlerin yeniden şekillenmesindeki anomalileri kapsayan plasantasyon bozuklukları ile ilişkilidir [43].

Karmaşık bir multisistem hastalığı olan preeklamps; maternal, fetal morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biridir [44]. Tüm gebelikler içerisinde görülme sıklığı yaklaşık %3-8 olan preeklamps [2], hem anne hem de fetüs üzerinde ciddi etkiler oluşturabilen bir patolojidir [1]. Dünya çapında, her yıl yaklaşık olarak 4 milyon kadın preeklamps tanısı almakta ve bu da 70.000'den fazla kadın ve 500.000 bebeğin ölümüne neden olabilmektedir [44]. Uzun vadede ise gebeliklerinde preeklamps yaşayan kadınların, yaşamın sonraki dönemlerinde kronik hipertansiyon, Glomerüler disfonksiyon, Ateroskleroz, Kardiyomiyopati, Tip 2 Diyabet, Metabolik Sendrom ve Retinopati açısından risk altında olduğu bildirilmiştir [3, 4, 5]. Preeklampsinin yenidoğan üzerindeki etkileri arasında nörogelişimsel gecikme, yaşamın ilerleyen dönemlerinde ise kardiyovasküler ve metabolik hastalık risklerinin arttığı rapor edilmiştir [4, 45].

Plasenta dokusunda iskemi oluşması, preeklamps patogenezinde kabul edilen temel nedendir [46, 47]. Preeklampsili kadınlarda antianjiyogenik özellikteki moleküllerin düzeylerinin artması [48, 49], anjiyogenezi destekleyen moleküllerin düzeylerindeki azalışlar [50, 51, 52, 53] dikkat çekicidir. Spiral arterin miyometriyal segmentinin fizyolojik değişime uğrayamaması sonucunda gelişen uteroplasental iskemiden [54] sonra, plasental faktörlerin maternal dolaşıma geçmesi ile hastalığın klinik belirtileri ortaya çıkar [46, 55]. Sonuç olarak preeklampsinin maternal sendromu, disfonksiyonel bir plasenta tarafından anne dolaşımında sistemik inflamasyona ve yaygın endotel disfonksiyonuna neden olacak faktörlerin

salınmasıyla ortaya çıkar [56]. Hastaya 37. gebelik haftası ve sonrasında preeklampsi tanısı konulduysa doğum çoğunlukla kaçınılmazdır. Daha erken gebelik haftalarında ise maternal ve fetal stabilite sağlandığı takdirde, ciddi organ fonksiyon bozukluğu semptomlarının olmaması halinde, fetal gelişimin devam edebilmesi için yakın izlem ile takip edilmektedir [57]. Günümüzde preeklampsinin kesin tedavisi doğumdur. Doğum olayı gerçekleştikten sonra plasentanın ayrılmasıyla hasta genellikle bir hafta içinde normale döner [58].

2.1.1. Preeklampsinin Sınıflandırılması

Preeklampsi erken başlangıçlı (34. gebelik haftasından önce) ve geç başlangıçlı (34. gebelik haftasından sonra) olmak üzere iki şekilde sınıflandırılmaktadır. Erken başlangıçlı preeklampsi, tüm preeklampsi vakalarının yalnızca %5 ila %20'sinde görülür ve çoğunlukla ekstrasvillöz trofoblastların anormal invazyonu, uterus spiral arterlerinin transformasyonunun azalması, anne kanıyla ve plasental perfüzyon arasındaki değişiklikler (yetersiz transforme olmuş spiral arterlerden intervillöz boşluğa giren anne kanının daha yüksek akış hızı), plasenta ve diğer önemli maternal organların fetal perfüzyonundaki değişiklikler sonucunda gelişen fetal büyüme geriliği ile ilişkilidir. Hipertansiyon ve proteinüri gibi preeklampsi ile doğrudan ilişkili olan semptomlar ise preeklampsinin her iki türünde de (erken başlangıçlı ve geç başlangıçlı) görülmektedir [7].

Geç Başlangıçlı Preeklampsi

Tüm preeklampsi vakalarının yaklaşık %80'ini oluşturan geç başlangıçlı preeklampside; fetüs normal büyüme eğrisine uyum sağlamakta ve intrauterin büyüme geriliği görülmemektedir. Bunun nedeni ise uterus ve fetal umbilikal arterlerin akış düzeylerinde değişiklik olmamasıdır. Geç başlangıçlı preeklampsi maternal kaynaklı olup fetüse daha az etki ederken, anne üzerinde ciddi etkiler oluşturmaktadır. Geç başlangıçlı preeklampside villöz trofoblastların büyük kısımları etkilenmiş olsa bile, plasentanın diğer kısımları fetüsün uygun şekilde büyüüp gelişmesini sağlayacak kadar gelişmiş olabilir. Diğer taraftan etkilenen kısım annenin vasküler sisteminde, sistemik değişikliklere yol açarak preeklampsinin maternal semptomlarına neden olabilir. Sonuç olarak plasentadaki bir kusur fetusu etkilemeden annede semptomlara yol açabilir [7]. Ayrıca üçüncü trimesterde günde yaklaşık 2-3 gram apoptotik

trofoblast materyalin anne dolaşımına salınabileceği gösterilmiştir. Eğer annenin savunma sistemi bu miktardaki kendisine yabancı olan materyalle baş edemezse, apoptotik trofoblast materyali sekonder nekrotik hale gelebilir ve böylece annenin vasküler sisteminde sistemik aktivasyona neden olabilir [59].

Erken Başlangıçlı Preeklampsi

Geç başlangıçlı preeklampsiye göre nispeten daha az prevalansa sahip olan erken başlangıçlı preeklampsi, morbidite ve anne çocuk mortalitesinin en sık görüldüğü preeklampsi türüdür [8]. Her iki preeklampsi türünde de maternal klinik semptomlar benzer olsa da erken başlangıçlı preeklampsi; annenin uterin arterleri ve umbilikal arterlerindeki kan akışındaki değişikliklerle ilgilidir [9]. Bu da fetusta intrauterin büyüme geriliği ile sonuçlanmaktadır [9, 10]. Yenidoğan mortalite ve morbiditesi, erken başlangıçlı preeklampside geç başlangıçlı olana göre daha sık görülmektedir [60]. Erken başlangıçlı preeklampside HELLP Sendromu (hemoliz, artmış karaciğer enzimleri ve düşük trombosit düzeyi) görülme sıklığı %40 iken, geç başlangıçlı preeklampside bu oran %11.1 olarak belirtilmiştir. Ek olarak fetal büyüme geriliğinin görülme oranı erken başlangıçlı preeklampside %60 iken, geç başlangıçlı preeklampside %25'tir [61]. Erken ve geç başlangıçlı preeklampsi türlerinde Plasental Büyüme Faktörü (PIGF)/sFlt1 oranı da değişiklik göstermektedir. Maternal plazma anormal PIGF/sFlt1 oranı erken başlangıçlı preeklampside daha sık rastlanan bir durumdur [62].

2.1.2. Preeklampsi Risk Faktörleri

Preeklampsi risk faktörleri içerisinde; daha önce preeklampsi geçirmiş olmak, maternal obezite, gebelik öncesi hipertansiyon varlığı, böbrek hastalıkları ve ileri yaş [44, 63] önemli risk faktörleri arasındadır. Özellikle 35 yaşından büyük annelerde preeklampsi riski daha yüksektir [44]. Ayrıca *Diyabetes Mellitus* [64] ve çoğul gebelikler de [65] risk faktörleri arasındadır.

Yapılan çalışmalarda preeklampsi ve risk faktörleri arasındaki ilişki büyük oranda tanımlanmış olmasına rağmen, bu faktörlerin preeklampsiyi şiddetlendirmedeki mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Ayrıca, anjiyogenik faktörlerin dengesizliği ve

pıhtılaşma süreçlerindeki bozulmalar ile karakterize hastalıklar preeklampsi gelişme riskini artırmaktadır. Buna rağmen çoğu durumda preeklampsi tahmin edilemez bir klinik patolojidir [2]. Tablo 2.1’de ACOG’a göre preeklampsi için yüksek ve orta düzeydeki risk faktörleri gösterilmiştir [6].

Tablo 2. 1: ACOG’a göre Preeklampsi yüksek ve orta düzey risk faktörleri.

Yüksek risk faktörleri	Orta risk faktörleri
Önceki preeklampsi öyküsü	İlk gebelik
Kronik böbrek hastalığı	40 yaş ve üzeri
Kronik hipertansiyon	35 ve üzerinde VKİ
<i>Diabetes Mellitus</i>	10 yıldan fazla gebelikler arası aralık
SLE veya APS	Ailede preeklampsi öyküsü
Çoğul gebelik	

APS: Antifosfolipid sendromu; SLE: Sistemik lupus eritematozus; VKİ: Vücut kütle indeksi

2.1.3. Preeklampsinin Teşhisi

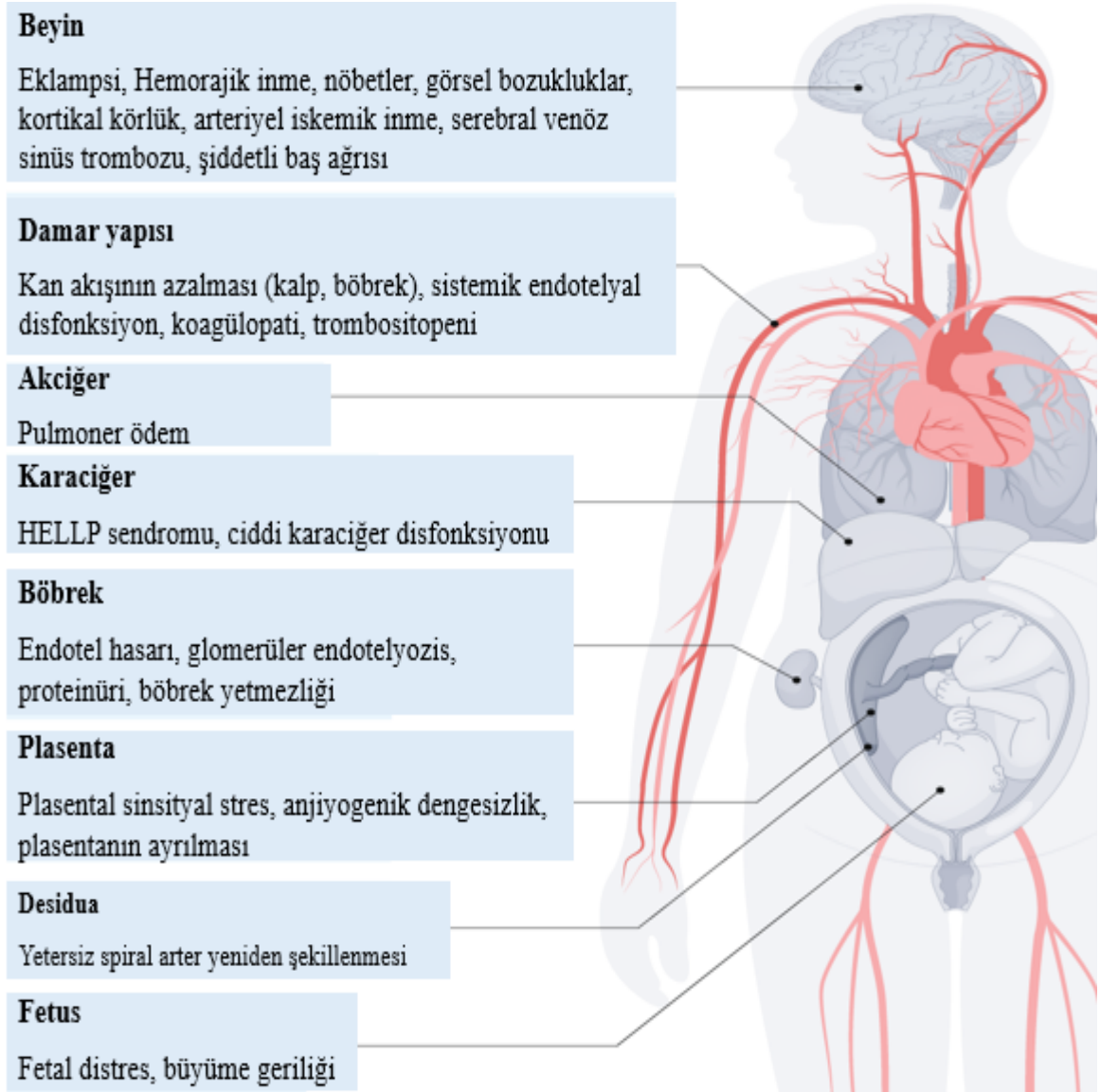
ACOG’a göre en az 4 saat arayla iki kez 140/90 mmHg üzerinde ölçüm veya dakikalar içinde iki kez $\geq 160/110$ mmHg’nin üzerinde ölçüme ek olarak, Proteinüri (≥ 300 mg/24 saat veya Protein/Kreatinin (mL/dL) oranı ≥ 0.3), Trombositopeni (Trombosit sayısı $< 100.000/\mu\text{L}$), Böbrek Yetmezliği (Serum kreatinin ≥ 1.1 mg/dL veya başka böbrek hastalığının yokluğunda serum kreatinin seviyesinin iki katına çıkması), Karaciğer fonksiyon bozukluğu, Pulmoner ödem, serebral veya görsel semptomlardan birinin varlığı, preeklampsi teşhisi için yeterlidir. Tablo 2.2’de ACOG’un 2013’te yayımlanan kılavuzuna göre preeklampsi tanı kriterleri özetlenmiştir [66]. ACOG tarafından hazırlanan yeni kılavuza göre ise, preeklampsi tanılması için proteinüri semptomunun olması zorunluluğu kaldırılmıştır [1].

Tablo 2. 2: ACOG kılavuzlarına göre preeklampsia tanı kriterleri.

<u>Hipertansiyon</u>		≥ en az 4 saat arayla iki kez 140/90 mmHg veya dakikalar içinde iki kez ≥160/110 mmHg
Yeni başlangıçlı Hipertansiyona ek olarak yan sütundakilerden birinin varlığı, tanı için yeterlidir.	Proteinüri	≥300 mg / 24 saat veya Protein / kreatinin (her mL/dL) oranı ≥ 0.3 1+ kalitatif ölçüm
	Trombositopeni	Trombosit sayısı < 100.000/μL
	Böbrek yetmezliği	Serum kreatinin ≥1.1 mg/dL veya başka böbrek hastalığını yokluğunda serum kreatinin seviyesinin iki katına çıkması
	Karaciğer fonksiyon bozukluğu	Karaciğer transaminazlarının normal kan konsantrasyonunun iki katı olması
	Pulmoner ödem Serebral veya görsel semptomlar	

2.1.4. Preeklampsia Semptomları

Fetüsün yeterli gelişimi için uygun bir intrauterin ortam gerekli olduğundan, plasentadaki herhangi bir değişiklik, fetüsün normal büyüme ve gelişmesini etkileyerek fetal büyüme kısıtlaması/intrauterin büyüme geriliğine neden olabilir. Ayrıca ölü doğum, iyatrojenik prematüre de görülebilir riskler arasındadır. Anne tarafında ise Akut Böbrek Yetmezliği, karaciğer, nörolojik veya hematolojik komplikasyonlar, HELLP sendromu ve nöbetlerle birlikte seyreden serebral ödem gibi organ disfonksiyonları görülebilmektedir [1].



Şekil 2. 1: Preeklampsiden etkilenen organlar.

Şekil 2.1’de görüldüğü gibi, preeklampsia fetüsü etkilemenin yanında, annenin de birçok organında hasara neden olabilir. Maternal organ disfonksiyonları çoğunlukla böbrek, akciğer, beyin, karaciğer ve plasenta disfonksiyonu olabilmektedir. Preeklampside, HELLP sendromu, böbrek yetmezliği, pulmoner ödem ve eklampsi de hastalığın komplikasyonları arasındadır [56].

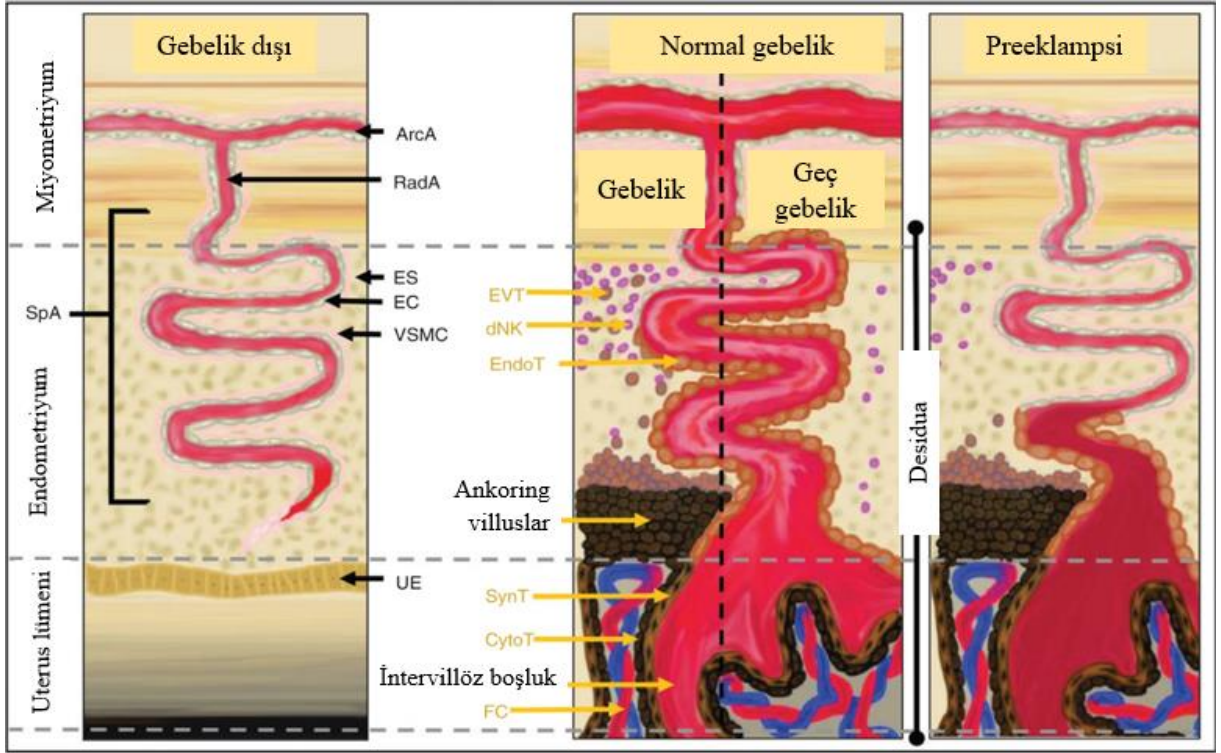
Preeklampsinin nörolojik bir komplikasyonu olarak kabul edilen Eklampside; daha önce nörolojik bir durum olmaksızın preeklampsia sırasında gelişen konvülsiyonların oluşumu söz konusudur. Nöbet geçiren preeklampşik gebeler Eklampsi tanısı alır. Eklampsi, şiddetli baş

ağrısı ve hipertansiyona eşlik eden veya hipertansiyon olmadan bulanık görme, ödem ve proteinüri ile karakterize bir tablodur [67].

2.1.5. Preeklampsi Patofizyolojisi

Preeklampsinin maternal ve fetal semptomlarının ortaya çıkması, plasental defektlere atfedilmiştir. Doğum olayı gerçekleştikten sonra, plasentanın çıkarılması ile tüm semptomlar ortadan kalkmaktadır. Preeklampsinin, plasentanın hipoperfüzyonunun neden olduğu, plasental hipoksi nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir [1, 11]. Plasental hipoksi ile birlikte seyreden anormal plasentasyon, spiral arter yeniden şekillenmesindeki bozulmalar ve endotel disfonksiyonunun neden olduğu bir sonuç olabilir [12]. Yetersiz spiral arter yeniden şekillenmesinin, preeklampsi sonrası plasental yatak biyopsilerinde normal gebeliklere göre daha sık olduğu görülmüştür. Bu da arteriyel lümenin sık dilatasyonu, miyometriyal segmentlerin daha az invazyonu ve ateroskleroz belirtileri olarak ortaya çıkar. Sonuç olarak bu durum plasental dokuya oksijen tedarikinin azalmasına neden olur. Hipoksik koşullar ise lokal oksidatif stresin, gebelik ilerledikçe kardiyovasküler sistemde kademeli olarak yayılmasına neden olur. Uterus kavitesinin doğum sonrası küretajından sonra preeklampsi semptomlarının hızlı bir şekilde normale dönmesi, plasentanın preeklampsi gelişimindeki kardiyovasküler işlev bozukluklarının birincil nedeni olduğuna işaret etmektedir [68].

Fetüsün gelişebilmesi için plasental dokuda ciddi fizyolojik değişiklikler ve vaskülarizasyon gereklidir. Normal gebelik sürecinde sitotrofoblast hücreleri bir araya gelerek embriyoyu rahim duvarına bağlar. Bu ekstrasillöz sitotrofoblastlar sonraki aşamada desidua ve maternal uterin spiral arterlerin interstisyumunu istila eder ve böylece fetüsün büyüüp gelişebilmesi için besin maddeleri ve oksijeni sağlar. Ayrıca bu süreçte atık ürünlerin dışarı atılmasında da rol oynarlar [69]. Tüm bu sürecin optimum düzeyde verimli gerçekleşebilmesi için plasentada yeni kan damarları oluşmalı ve mevcut kan damarlarının sayısı artmalıdır. Bu süreç ise VEGF'nin A ve C izoformları gibi anjiyogenik faktörler [70], Desidual Doğal Öldürücü (dNK) hücreler ve makrofajlar tarafından desteklenir [71].



Şekil 2. 2: Normal gebelikte spiral arter yeniden şekillenmesi ve preeklampside bu sürecin zayıflaması.

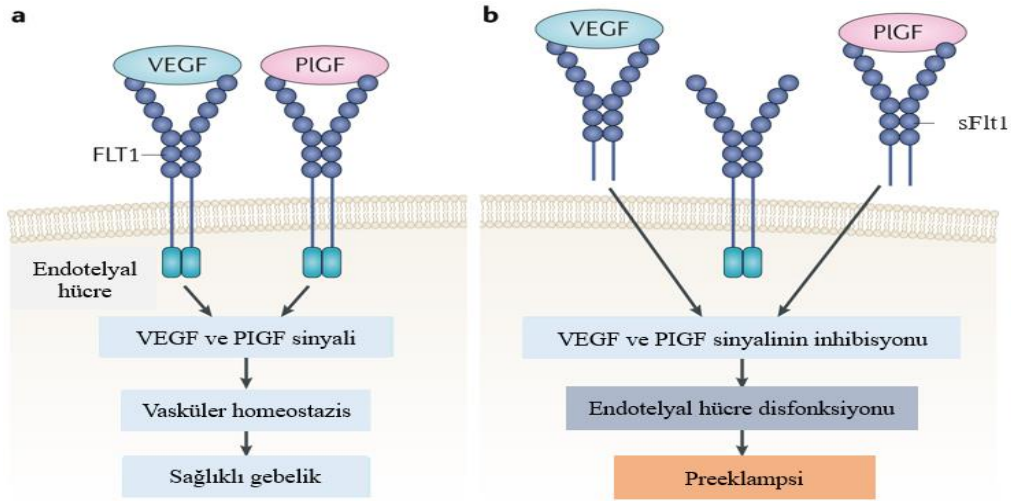
SpA: Spiral arter; ArcA: Arkuat arter; RadA: Radyal arter; ES: Endometriyal stroma; EC: Endotel hücreleri; VSMC: Vasküler Düz Kas Hücreleri; UE: Uterus Epiteli; EVT: Ekstravillöz Trofoblast; dNK: Desidual Doğal Öldürtücü Hücre; EndoT: Endovasküler Trofoblast; SynT: Sinsityal Trofoblast; FC: Fetal kılcal damar.

Normal gebelikte ve preeklampside spiral arter yeniden şekillenmesi şekil 2.2’de şematize edilmiştir [47]. Gebelik dışı dönemde (sol panel), normal gebelik sırasında gebeliğin erken ve geç dönemlerinde (orta panel) ve preeklampsia sırasında (sağ panel) spiral arterlerin durumu gösterilmektedir. Spiral arterler myometriyumdan köken alır ve endometriyum boyunca ilerler. Normal gebelik sırasında plasantasyon için, uterusun stromal hücrelerinde desidualizasyon ve önemli değişiklikler ile fetal kaynaklı sitotrofoblast hücrelerinin istilasını içeren spiral arter yeniden şekillenmesi gereklidir. Sinsityotrofoblast tabakası ise uterusu aşamalı olarak istila eden ve maternal kan ile fetal kılcal damarlar arasındaki bariyeri oluşturan üst katmandaki çok çekirdekli bir tabakadır. Erken trofoblast soyları, sinsityotrofoblast tabakasını oluşturmak için bir araya gelir. Bu kılcal damarlar vaskülojenез yoluyla gelişir ve plasental villus içinde yer alır. Villuslar uterus duvarına tutunmuş veya yüzer durumdadır. Bağlayıcı villöz kolonun içindeki sitotrofoblastlar, sinsityumu kırarak ekstravillöz trofoblast hücrelerine depolarize olurlar. Bu (ikinci) hücreler, endovasküler trofoblast hücreleri haline gelirken, endometriyumun spiral arterlerinin vasküler düz kasını ve endotelini ile myometriyumun ilk üçte birini istila eder ve değiştirir. Spiral arterler, plasental villusları çevrelemek ve plasentaya oksijen ve besin sağlamak için intervillöz boşluğa doğru kan akışını sağlayan kanallar oluşturacak şekilde yeniden şekillendirilir. Bu süreçteki zayıflamalar plasental iskemi ve preeklampsia gelişmesine neden olur. Son araştırmalar dNK’ların, trofoblast fonksiyonunu destekleyen faktörleri salgıladığını ve preeklampside azalan spiral arterleri yeniden şekillendirdiğini göstermektedir [47].

Antianjiyogenik özellik gösteren sFlt1 ekspresyonu büyük oranda sinsityotrofoblast tabakasında ve sinsityal düğümler olarak bilinen anormal dejeneratif sinsityotrofoblast kümelerinde gerçekleşir [50]. Hastalığın en bilinen belirtici olan sFlt1’in maternal serum düzeyleri hem erken hem de geç preeklampsia türünde artış göstermektedir [13]. Ayrıca yüksek

sFlt1 düzeylerinin, erken başlangıçlı preeklampside ve intrauterin büyüme geriliği ile komplike olan preeklampside daha belirgin olduğu rapor edilmiştir [48, 49]. Diğer taraftan anjiyogenik özellik gösteren PIGF seviyelerinin preeklampside azalmasına karşılık sFlt1 ekspresyonunun artması da yapılan çalışmalarda gösterilmiştir [53, 72]. Buna ek olarak birçok çalışmada VEGF düzeylerinin preeklampsi olgularında azaldığı rapor edilmiştir [52, 73, 74, 75]. Sendromun en spesifik belirteci olan sFlt1 seviyelerindeki artışın, VEGF'yi antagonize edebileceği savunulmaktadır. Düzeyleri artan sFlt1 nedeniyle dolaşımdaki anjiyogenik faktör olan VEGF, tespit edilemez düzeylere düşebilmektedir [51, 76]. Bu nedenle sFlt1, VEGF ve PIGF'yi bağlayan güçlü bir antagonist olarak kabul edilmektedir [50].

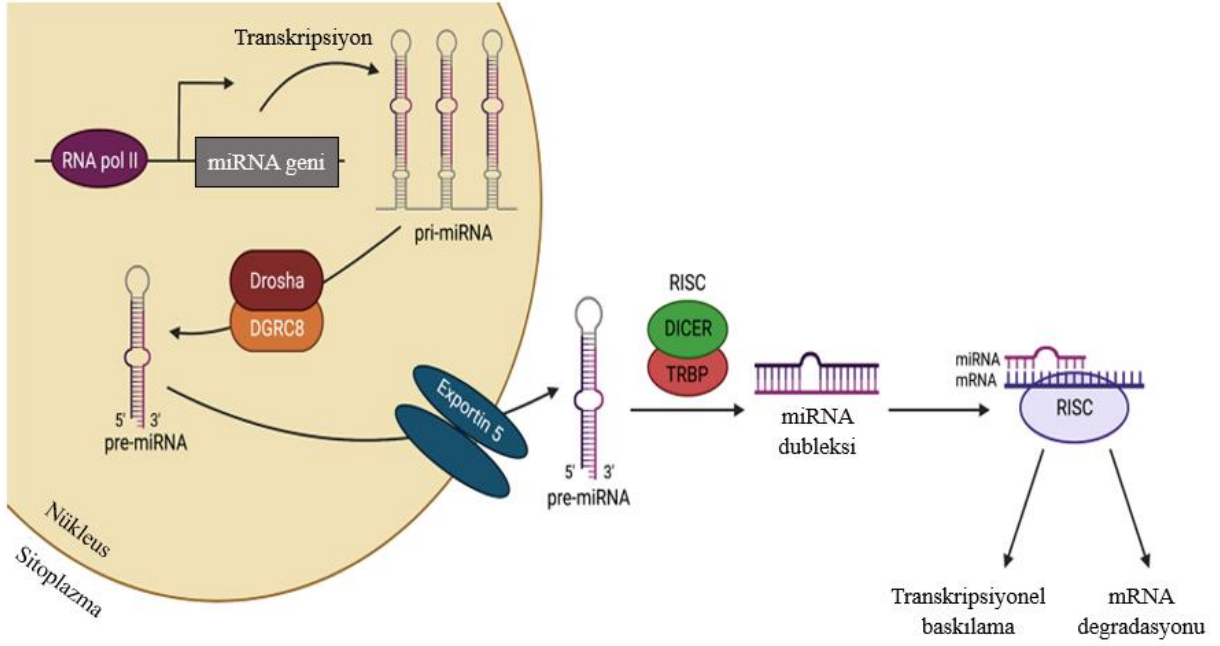
VEGF ve PIGF, böbrek, plasenta ve çeşitli dokularda endotel fonksiyonunu korumak için gereklidir. Normal gebelik sırasında, vasküler homeostaz, VEGF ve PIGF sinyallerinin fizyolojik seviyeleri ile korunur. Preeklampside ise sFlt1'in aşırı yükselmiş plasental düzeyleri, VEGF ve PIGF sinyalini baskılaması nedeniyle azalmış Prostaglandin I₂ (PGI₂) düzeyleri, Nitrik Oksit (NO) üretiminin azalması ve prokoagülan proteinlerin salınmasına yol açarak, endotel hücre disfonksiyonu ile sonuçlanır ve preeklampsinin klinik belirtilerine yol açar [12].



a-Normal gebelik sırasında vasküler homeostaz, fizyolojik düzeydeki VEGF ve PIGF sinyallerinin Fms Benzeri Tirozin Kinaz 1 Reseptörü (FLT1) ve diğer reseptörlere bağlanmasıyla sürdürülür. b-Preeklampside ise, sFlt1 plasenta tarafından yüksek düzeyde salgılanır ve hem lokal hem de sistemik dolaşımdaki VEGF ve PIGF'yi bağlayarak vasküler yatakta VEGF ve PIGF sinyalinin baskılanmasına neden olur. Böylece, PGI₂ ve NO üretiminin azalması ve ayrıca prokoagülan proteinlerin salınımının artmasına neden olarak endotel hücre disfonksiyonu ile sonuçlanır [77].

2.2. MikroRNA

MikroRNA'lar (miRNA); haberci RNA'ların (mRNA) 3' ucunda translate edilmemiş bölgeleri (3' UTR) hedefleyerek, çeşitli biyolojik işlemlerle translasyonun bozulmasına aracılık eden ve yaklaşık 22 nükleotidden oluşan, küçük kodlamayan RNA türüdür [78]. miRNA'ların biyogenezi, çekirdek ve sitoplazmada birbirini izleyen ardışık işleme olaylarını katalize eden iki ayrı Ribonükleaz III (RNase III) enzimi olan Drosha ve Dicer tarafından gerçekleştirilir [79]. miRNA genlerinin yaklaşık %40'ı intronlarda olmak üzere, bazı genlerin ekzonlarında bulunur. miRNA kodlayan transkripsiyonel ünite üzerinden RNA Polimeraz II ile bir Primer miRNA (pri-miRNA) oluşur. Çekirdekte, RNA bağlayıcı protein olan DiGeorge Sendromu Kritik Bölge 8 (DGCR8) ve Drosha tarafından ilk işleme gerçekleşir. Pri-miRNA'lar, çekirdekteki mikro işlemci kompleksi Drosha/DGCR8 tarafından 70-100 nükleotid dizisi uzunluğunda miRNA öncülerine ve 5' başlık ile 3' poli (A) kuyruğundan oluşan spesifik saç tokası şeklinde işlenirler [80, 81]. Çekirdekteki Drosha/DGCR8 kompleksi tarafından ilk kırılmadan sonra oluşan pre-miRNA'lar, Guanozin Trifosfat (GTP) olan RanGTP'ye bağımlı bir taşıyıcı protein olan Exportin-5 aracılığıyla nükleer gözenekler boyunca sitoplazmaya transfer olur [82]. Sitoplazmaya geçen pre-miRNA, Dicer ribonükleazı tarafından tekrar işlenerek yaklaşık 22 nükleotitten oluşan olgun miRNA dubleksine dönüştürülür [83]. Matur bir miRNA'nın hedef mRNA üzerinde transkripsiyon sonrası regülasyonu için, miRNA'nın RNA-İndüklenmiş Susturma Kompleksine (RISC) alınması ve miRNA ile mRNA arasındaki baz eşleşmelerinin olması gerekir [84]. Sitoplazmadaki RISC kompleksi, Argonaute (AGO) ailesinin bir üyesi olan AGO2 ve çekirdek düzenleyici eleman olmak üzere, farklı proteinler tarafından oluşturulan çok dinamik bir birleşimdir [85]. AGO proteinleri, Dicer (RNase III) tarafından işlenerek oluşan dubleks, çift sarmallı olgun miRNA ipliğinin seçimine bağlı bir süreçle RISC kompleksine yüklenmesinden sorumludur [86]. İnsan genomu dört farklı AGO proteinini kodlar. AGO1, AGO3 ve AGO4'ü kodlayan genler, kromozom (ch) 1'in küçük kolunda bulunan 300 kb'lık bir bölgede birlikte kümelenirken, AGO2 geni ch 8'de bulunur. AGO proteinleri, insanlarda farklı dokularda her yerde eksprese edilir [87]. AGO proteinleri, ökaryotik hücrelerde miRNA'ların ve diğer küçük ncRNA'ların biyogenezi, onların fizyolojik fonksiyonlarıyla birleştiren korunmuş bir RNA bağlayıcı proteinlerdir. Sonuç olarak RISC kompleksi içerisinde miRNA ile hedef mRNA'nın 3'-UTR'si arasında bir baz eşleşmesi ve miRNA-mRNA etkileşimi sonucunda mRNA transkriptlerinin, translasyonel baskılanma veya mRNA degradasyonu yoluyla regülasyonu gerçekleşir [84].



Şekil 2. 4: miRNA'ların Biyogenezi.

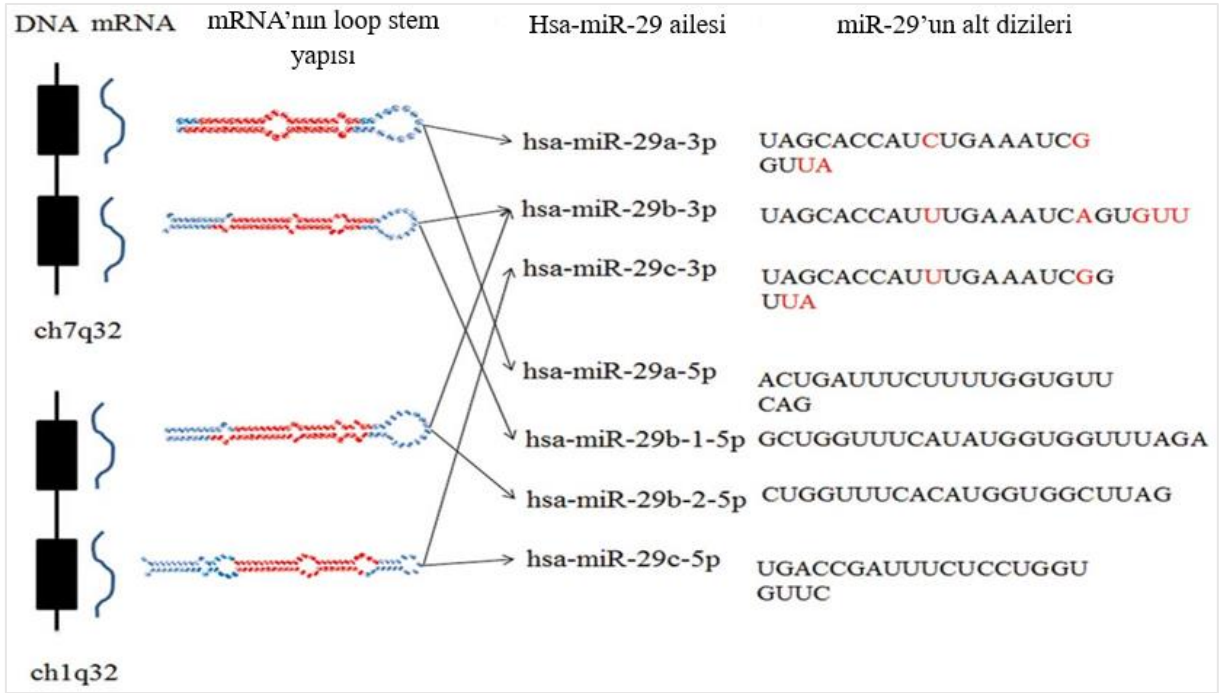
TRBP: TAR RNA bağlayıcı protein.

miRNA'ların biyogenezi şekil 2.4'te şematize edilmiştir [88]. miRNA kodlayan genlerin RNA polimeraz II tarafından transkripsiyonu sonucunda pri-miRNA oluşur. Daha sonra, DGRC8 ve Drosha tarafından oluşturulan bir kompleks, pri-miRNA'yı parçalayarak, pre-miRNA üretir. Pre-miRNA ise Exportin 5 aracılığıyla sitoplazmaya aktarılır. Sitoplazmaya geçtikten sonra, Dicer/TRBP kompleksi pre-miRNA'yı işler ve olgun miRNA dubleks yapısı oluşur. Son olarak olgun miRNA, RISC kompleksi içerisinde Watson-Crick baz eşleştirmesi yoluyla hedef mRNA'yı tanır. Böylece transkripsiyonel baskılama veya mRNA degradasyonu yoluyla gen ekspresyonu baskılanır [88].

2.2.1. miR-29'un Yapısı ve Genomik Organizasyonu

İnsan miR-29 ailesinin miR-29a, miR-29b ve miR-29c olmak üzere üç ana üyesi bulunmaktadır [89]. miR-29b-1 ve miR-29b-2 aynı olgun dizilere sahiptir ve bu nedenle her ikisi de miR-29b olarak bilinir. miR-29a ve miR-29b-1, ch7q32.3'de kodlanırken, miR-29b-2 ve miR-29c ise ch1q32.2'de bulunur. miR-29a ve miR-29c, 22 nükleotidden oluşurken, miR-29b ise 23 nükleotid içermektedir. Ayrıca miR-29b-1 ve miR-29b-2 aynı diziye sahip olup, genleri farklı ch'ler üzerinde bulunmaktadır. Sonuç olarak her iki pre-miR-29b gövdesinin dizileri farklı olsa da, bu iki gövde yapısından kaynaklanan matur miR-29b'ler aynıdır [90]. Matur miR-29'un her üç türünde de ortak olan, çekirdek sekans bölgesi (2-7 nükleotid pozisyonlarında) aynı AGCACC dizilerini paylaşır. Bu ortak diziler bir miRNA'nın hangi protein kodlayan genleri hedefleyeceğini belirlemede anahtar rol oynar. Bu nedenle, miR-29 ailesi üyeleri için tahmin edilen hedef genler büyük ölçüde benzerdir [91]. miRNA'lar, kendisine karşılık gelen pre-miRNA'nın genel bir şekli olan stem loop (saç tokası) yapısının kesilmesiyle üretilir. Olgun bir miRNA, pre-miRNA'nın yalnızca bir kolundan oluşsa da, 3'

(3p) veya 5' (5p) kolundan biri baskın olarak işlenir. miR-29 öncüsünün 3p kolu (miR-29-3p), tercihli bir ezici ürün olarak kesilir, ancak 5p kolu da (miR-29-5p) nesnel olarak mevcuttur [89]. miR-29b, her iki genomik lokusta da bulunduğundan miR-29 ailesinin en yüksek eksprese edilen üyesidir [92].



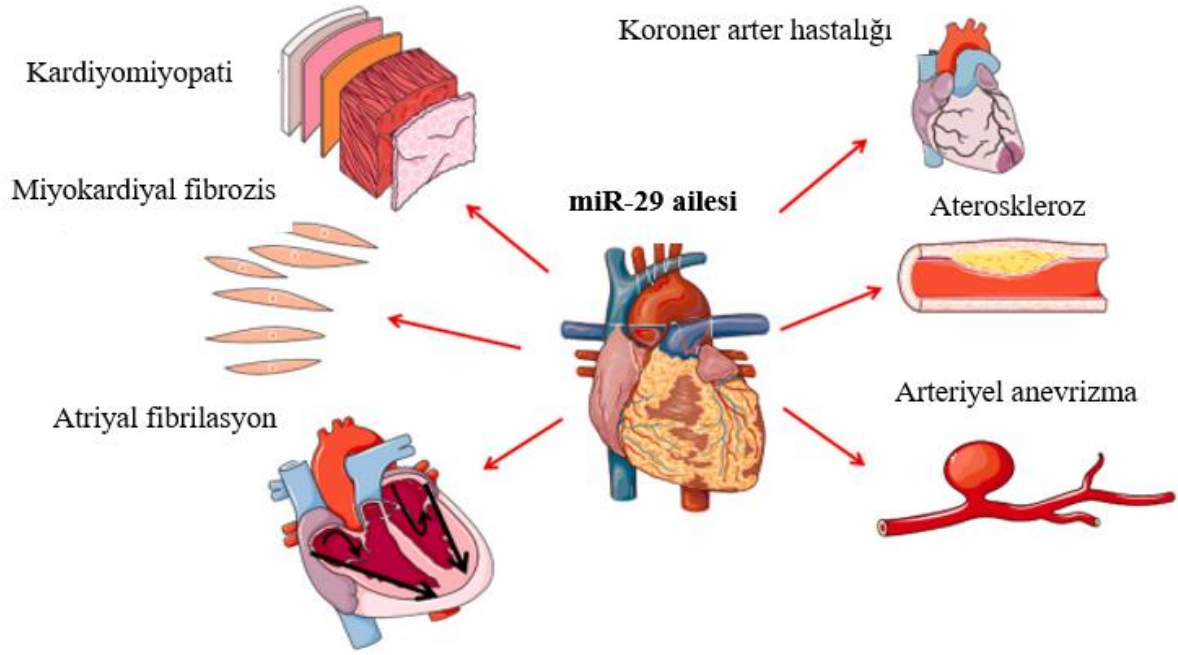
Şekil 2. 5: mRNA'nın loop-stem yapısı ve miR-29 ailesinin dizisi.

hsa: Homo Sapiens; miR: miRNA; ch: Kromozom.

miR-29 ailesinin dizisi şekil 2.5'te gösterilmiştir [89]. mRNA'ların loop-stem yapısı, miR-29-3p veya miR-29-5p, kırmızıyla gösterilmiştir. Ezici bir şekilde baskın olan miR-29-3p'de, miR-29 ailesi üyeleri arasında farklılık gösteren nükleotidler kırmızıyla gösterilmiştir [89].

2.2.2. miR-29'un Fizyolojik İşlevleri

Birçok çalışma miR-29'un kardiyovasküler hastalıklarla yakından ilişkili bir RNA ailesi olduğuna işaret etmektedir. Yapılan çalışmalar miR-29 ailesinin kardiyovasküler doku ve aort dokusu [17], miyokardiyal doku ve kardiyomiyositler [18] ve ayrıca kardiyak metabolizma [19] gibi çeşitli açılardan düzenleyici aktiviteye sahip olabileceğini göstermiştir. Diğer taraftan miR-29'un, miyokardiyal fibrozisin düzenlenmesi ve ayrıca çeşitli kollajen ve metalloproteinlerin 3' UTR'sine doğrudan bağlanarak ekspresyonu baskıladığı belirtilmiştir [93, 94, 95]. miR-29 ayrıca kardiyak gelişim, kardiyak hipertrofi ve kalp yetmezliği gibi konularda da çalışılmıştır [20].



Şekil 2. 6: miR-29 ile ilişkili kardiyovasküler hastalıklar.

Hipertansiyon, kardiyovasküler sistem tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir ve çeşitli nörohormonlar, kalp, böbrek ve vasküler mekanizmalar arasındaki etkileşime tabidir. Hipertansiyonun patogenezi; RAAS aşırı reaksiyonu, endotel disfonksiyonu, vasküler düz kas, kardiyak hipertrofi, hasarlı trombosit fonksiyonu ve neovaskülarizasyondaki değişiklikleri içerir [96]. Yapılan deneysel bir rat çalışmasında miR-29b'nin inhibisyonunun, Ang-II indükleyicisi olan ERK/PPAR γ yolunu aktive ederek spontan hipertansif ratlarda Ang-II sekresyonunu azaltarak, hipertansiyon ve endotel disfonksiyonunu hafiflettiği gösterilmiştir. miR-29b'nin aşırı ekspresyonunun ise aort örneklerinde hipertansiyon ve endotel disfonksiyonunu şiddetlendirdiği gösterilmiştir [97]. Ayrıca miR-29b'nin hem in vitro hem de in vivo olarak Ang-II kaynaklı kas atrofisinde upregüle edildiği gösterilmiştir. miR-29b inhibisyonunun ise Ang-II'nin neden olduğu kas atrofisini iyileştirdiği düşünülmektedir. miR-29 ailesi ile ilişkili olabilecek kardiyovasküler hastalıklar şekil 2.6'da özetlenmiştir [98].

miR-29'un anjiyogenez ile ilişkisinin araştırıldığı çalışmalar dikkat çekicidir. Abdominal Aortik Anevrizma (AAA) hastalarında serum miR-29c-3p, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli ölçüde artmıştır. Bununla birlikte endotel hücrelerinde VEGFA'yı engelleyen anevrizma çapı ile ilişkili olduğu ve ayrıca endotel hücrelerinde anjiyogenezi engelleyebileceği düşünülmektedir [99]. Retinal mikrovasküler endotel hücreleri (RMEC) kullanılarak yapılan bir çalışmada, miR-29b-3p'nin PDGFB ekspresyonunu güçlü bir şekilde

baskıladığı, miR-29b-3p'nin inhibisyonunun ise PDGFB ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir. miR-29b-3p'nin VEGFA ve PDGFB gen transkriptlerine bağlanarak hedef mRNA'ları degrade ederek, RMEC proliferasyonunu, göçünü ve anjiyogenezi düzenlediği düşünülmektedir [21]. Ang-II ile indüklenen rat modelinde PDGFB sinyal yolunun ekspresyonunun önemli ölçüde arttığı, miR-29b-3p'nin aşırı ekspresyonunun ise PDGFB'nin ekspresyon seviyesini azaltabileceği gösterilmiştir. Bu nedenle miR-29b-3p'nin PDGFB sinyal yolunu hedefleyerek atriyal yeniden şekillenmeyi düzenleyebileceği düşünülmektedir [25]. Diğer çalışmalarda da miR-29b-3p'nin VEGFA'yı hedefleyerek anjiyogenezi düzenlediği gösterilmiştir [22, 23]. miR-29b-3p'nin anjiyogenez üzerindeki etkisi kanser çalışmalarında da gösterilmiştir. Chen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, miR-29b'nin VEGFA'yı hedefleyerek endometriyal karsinomda anjiyogenezi baskılamak üzere MAPK/ERK ve PI3K/Akt sinyal yollarını negatif olarak modüle ettiği gösterilmiştir [24]. Ayrıca miR-29b aşırı ekspresyonunun Matriks Metalloproteinaz-2'yi (MMP-2) doğrudan hedefleyerek hepatosellüler karsinoma hücrelerinde anjiyogenezi ve metastazı baskıladığı gösterilmiştir [100]. Fabbri ve arkadaşları miR-29 ailesinin, DNA metiltransferazı baskılayarak ve akciğer kanseri hücre dizilerindeki anormal metilasyonu normalleştirerek tümör büyümesini azaltabileceğini göstermiştir [101]. miR-29'un anjiyogenezi modüle etmek için potansiyel bir hedef olarak hareket edebilmesi, anjiyogenez ile ilişkili hastalıkların teşhisi, prognozu ve bu hastalıklarla mücadele için yeni alternatif tedavi stratejilerinin belirlenmesi açısından umut vericidir.

2.3. HEPARİN KOFAKTÖR II (HCII)

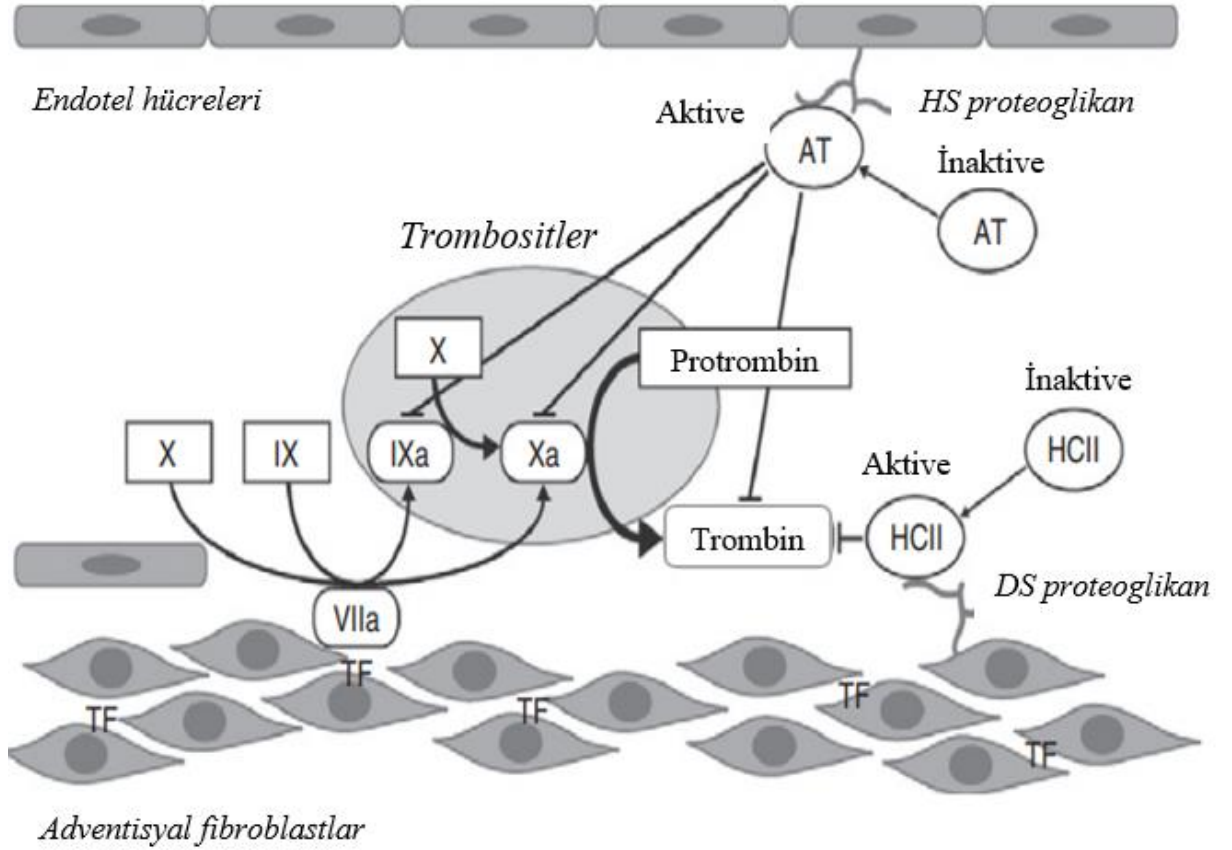
Serin proteaz inhibitörü (serpin) olan HCII [26], 480 amino asitten oluşan tek polipeptit zincirine sahip bir glikoproteindir [102, 103]. HCII'nin diğer dokulardaki sentezi az olup, karaciğerde yüksek oranda eksprese edilir [104]. HCII insan plazmasında yaklaşık 1 µmol/L konsantrasyonda olup, 2-3 günlük bir yarı-ömre sahiptir [105, 106]. HCII'nin en önemli rolü Antitrombin etkisi göstermesidir [27]. Trombin-HCII kompleksi, hepatositlerde bulunan Düşük Yoğunluklu Lipoprotein (LDL) reseptörü ile ilişkili protein tarafından dakikalar içinde temizlenir [107].

Antitrombin ile %30 oranında amino asit dizi benzerliğine sahip olan HCII, pıhtılaşma veya fibrinoliz basamaklarında rol alan diğer proteazlara karşı herhangi bir aktivite göstermeyip sadece Trombin aktivasyonunu inhibe eder. Antitrombin ise Trombin, Faktör Xa ve Faktör IXa

dahil olmak üzere koagülasyon kaskadındaki proteazları inaktive eder [26]. Bunun nedeni, aktif bölgedeki farklı aminoasit kalıntılarının (HCII için *Leu*, Antitrombin için *Arg*) olmasıdır [108].

HCII'nin Trombini inaktive etme gücü, Antitrombinin yaklaşık 1/10'u kadardır [109]. Diğer taraftan HCII'nin bu aktivitesi; onun asidik yapıdaki N-terminalini destekleyen glikozaminoglikanların (Heparin, Heparan Sülfat (HS), Dermatan Sülfat (DS)) varlığında önemli ölçüde artar. Heparin hem Antitrombin hem de HCII yoluyla Trombin inhibisyonunu etkilerken, DS endotel hasarından sonra damar duvarlarında sadece HCII yoluyla etki eder [110]. Damar duvarı hasar gördüğünde, HCII antikoagülan etkisini göstermek üzere DS ile etkileşir. HCII'nin Trombini inaktive etmedeki en güçlü etkiyi göstermesinde rol oynayan DS; Vasküler Düz Kas Hücresi (VSMC) ve fibroblastlar tarafından sentezlenir ve genellikle damar yatağında daha derinlerde yer alır. Antitrombin ise vasküler endotel hücreleri ile ilişkili HS'ye bağlanarak bu etkiyi gösterir. Bu da HCII'nin esas olarak bağ dokularında rol oynadığını, Antitrombinin ise çoğunlukla plazmada rol oynadığını gösterir [111].

Endotel hasarı ile dolaşımdaki Faktör VIIa, Tunika Adventisya tabakasındaki fibroblastlar tarafından ifade edilen Doku Faktörüne (TF) bağlanır ve kan pıhtılaşması süreci başlar. VIIa-TF kompleksi daha sonra Faktör IX ve Faktör X'u aktif formları olan IXa ve Xa'ya dönüştürür. Faktör IXa ve Xa, trombositlerin yüzeyinde enzimatik olmayan kofaktörlerle birleşerek zimojen Protrombinden Trombin (Faktör IIa) oluşumunu katalize eder. Trombin, fibrinojeni fibrine parçaladığı için anahtar enzimdir. Sonuç olarak Fibrinojen parçalanarak Fibrin pıhtısı oluşur [112]. Endotel hücreleri tarafından sentezlenen HS'ye bağlanarak aktive olan Antitrombin, Faktör IXa, Xa ve dolayısıyla Trombinin oluşumunu baskılar. Böylece normal kan damarlarında trombüs oluşumunu önler. HCII ise damar duvarında daha derinde bulunan DS tarafından aktif hale gelerek vasküler yaralanmayı takiben Trombin aktivitesini düzenler [113].



Şekil 2. 7: HCII ve Antitrombinin vasküler glikozaminoglikanlar tarafından aktivasyonu.

TF: Doku Faktörü; AT: Antitrombin

Şekil 2.7’de gösterildiği gibi Antitrombin, vasküler endotel hücreleri ile ilişkili HS proteoglikanlarına bağlandığında pıhtılaşma faktörleri IXa, Xa ve Trombini inhibe eder. Endotelin bozulmasından sonra, HCII damar duvarındaki DS proteoglikanları tarafından aktive edilir ve Trombini inhibe eder [111].

Normal gebelik prokoagülan bir durum olarak tanımlanır. Preeklampside ise hemostatik denge bozularak, trombosit hiper aktivasyonu ve patolojik düzeyde artmış koagülasyon gelişir [114]. Preeklampside sırasında görülen yüksek derecedeki pıhtılaşma aktivasyonu ve fibrinolizin azalması, normal gebelere kıyasla daha ciddi düzeydedir [115]. Preeklampside hemostatik sistem; bozulmuş fibrinolitik aktivite, inhibitör proteinlerin düzeylerinin artması ve artmış Trombin üretimi ile karakterizedir. Ayrıca preeklamptik bir gebeden doğan fetüste de trombositopeni geliştirebilmektedir [114]. Preeklampside görülen endotel disfonksiyonuna, plasental hemostatik dengesizlik neden olabilir. Preeklamptik bireylerde mikro trombüslerin artması sonucunda plasental perfüzyon azalır ve fibrin birikintileri, plasental enfarktüs bölgelerinin oluşmasına neden olabilir. Bu süreç sistemik dolaşımı etkiler ve diğer organlara yayılarak preeklampside görülen hiper koagülasyon tablosunun oluşmasına neden olur [116]. Gestasyonun erken dönemlerinde anormal trofoblast invazyonu, anormal implantasyona yol

açarak, inflamatuvar faktörlerin aracılık ettiği endotel disfonksiyonuna neden olur. Bu süreç sonunda ise koagülasyonun artması, hipertansiyon, proteinüri ve diğer klinik semptomlarla sonuçlanan hemostatik bir dengesizlik gelişir [115, 117, 118]. Ayrıca fibroid nekrozlu fibrin birikintileri, böbrek dokusunun subendotelyal boşluğunda bulunur ve bu da böbrek fonksiyonunun bozulmasına yol açar [116]. Plasenta kaynaklı hemostatik dengesizlik, plasental yataktaki proteoglikanlar ile ilişkili olabilir. İmmünohistokimyasal çalışmalar, DS proteoglikanın, fetal kan damarları ve plasental villusun stromal bölgeleri ile ilişkili olduğunu, ancak maternal dolaşım ile temas halindeki sinsityotrofoblast hücrelerinde belirgin bir şekilde bulunmadığını göstermiştir [119]. Antikoagülan olan DS (Decorin) çekirdek proteini, plasental villusun matrisi içinde konumlanmaktadır [120]. İnsan plasentası villöz dokusundan plasental DS proteoglikanın izolasyonu ve karakterizasyonunun yapıldığı bir çalışmada; plasental DS anormalliklerinin plasental tromboza yol açarak, intrauterin gelişme geriliği ve preeklampsi gibi bozukluklarda rol oynayabileceği belirtilmiştir [121]. Yapılan başka bir çalışmada ise normal sağlıklı gebelerin aksine, diyabetik ve preeklampşik gebeliklerden elde edilen plasentalarda intervillöz fibrin ve trombüs birikintileri gözlenmiştir. Bu lezyonların olduğu grupta plasental DS düzeylerinde de azalma dikkat çekicidir [122]. Antikoagülan etkinliğe sahip HCII, fetal kan damarlarının duvarlarında DS ile birlikte bulunur ve ayrıca sinsityotrofoblastlarla da ilişkilidir. Bu veriler, DS'nin sinsityotrofoblast tabakasının yaralanmasından sonra fetal kan damarlarında veya plasental villusun stromasında HCII'yi aktive edecek bir konumda olduğunu göstermektedir [119]. Antitrombinin koagülasyon kaskadındaki proteazları inaktive ettiği iyi bilinmektedir [26]. Heparin, hem Antitrombin hem de HCII aracılığıyla Trombin inhibisyonunu sağlarken, DS ise sadece HCII yoluyla etki eder [110]. Ayrıca Antitrombinin vasküler endotel hücreleri ile ilişkili HS'ye bağlanarak Trombin inhibisyonunu gerçekleştirmesi [111], HCII'nin ise DS varlığında aktivitesinin önemli derecede artması [110], HCII'nin esas olarak bağ dokularında, Antitrombinin ise plazmada rol oynadığını gösterir [111]. Plasental HS'nin, HCII veya Antitrombin ile test edildiğinde çok az antikoagülan aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir. Diğer taraftan plasenta DS açısından zengindir ve DS'nin bu organdaki ana antikoagülan glikozaminoglikan olduğu düşünülmektedir [119]. Term dönemdeki sağlıklı normal gebe kadınlardan alınan plazmada, yüksek konsantrasyonlardaki Trombin-HCII kompleksleri (T-HCII), plasentada Trombin oluşumunun düzenlenmesinde DS'nin rol oynadığının göstergesidir [123]. Gebelik sırasında hem maternal hem de fetal plazmada eser miktarda DS bulunup, HCII tarafından Trombinin inhibisyonunu gerçekleştirmektedir [104]. Retroplasental hematoma, fetal damar trombozu, umbilikal kord veya

koryonik plakta vaskülit içeren olguların olduğu bir çalışmada, birinci trimesterde plazma Trombin-Antitrombin III kompleksi (TAT) ve T-HCII konsantrasyonları, kontrollere göre düşük bulunmuştur. Bu sonuç plasental vasküler patolojilerin gelişmesinde Trombin inhibitörü komplekslerinin önemli rolü olduğunu göstermektedir [124]. Yapılan başka bir çalışmada, gebe olan veya oral kontraseptif kullanan kadınlarda daha yüksek HCII plazma konsantrasyonları bildirilmiştir [125]. Başka bir çalışmada ise; T-HCII kompleks düzeyinin termde, gebeliğin ilk trimesteri ile karşılaştırıldığında yaklaşık dört kat artmış olduğu bulunmuştur [123]. Gebelik sırasında HCII ve Doku Faktör Yolu İnhibitörü (TFPI) seviyeleri artar [116]. Gebe olan ve olmayan kadınlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada; Protrombin Zamanı, Trombin Zamanı, Fibrinojen, Faktör VII, Faktör X ve alfa2-antiplazmin aktivitesi, D-dimer plazma konsantrasyonu ve HCII aktivitesi gebe olan kadınlarda, gebe olmayanlara göre anlamlı derece yüksek bulunmuştur. Normal gebelik sırasında fibrinolizin gerçekleşmesinde rolü olan antikoagülanların düzeylerindeki bu artış, esasında artan pıhtılaşma aktivasyonuna karşı gelişen bir kompensasyon mekanizması olarak düşünülebilir. Sonuç olarak antikoagülan biyomoleküllerin düzeylerinin artması hemostatik dengeyi korumada önemli rol alır [126]. Bu açıdan ele alındığında preeklampside görülen koagülasyon bozuklarının HCII ile ilişkisinin araştırılması, hastalığın patogeneze katkıda bulunacaktır.

2.4. DİPEPTİDİL PEPTİDAZ 3 (DPP3)

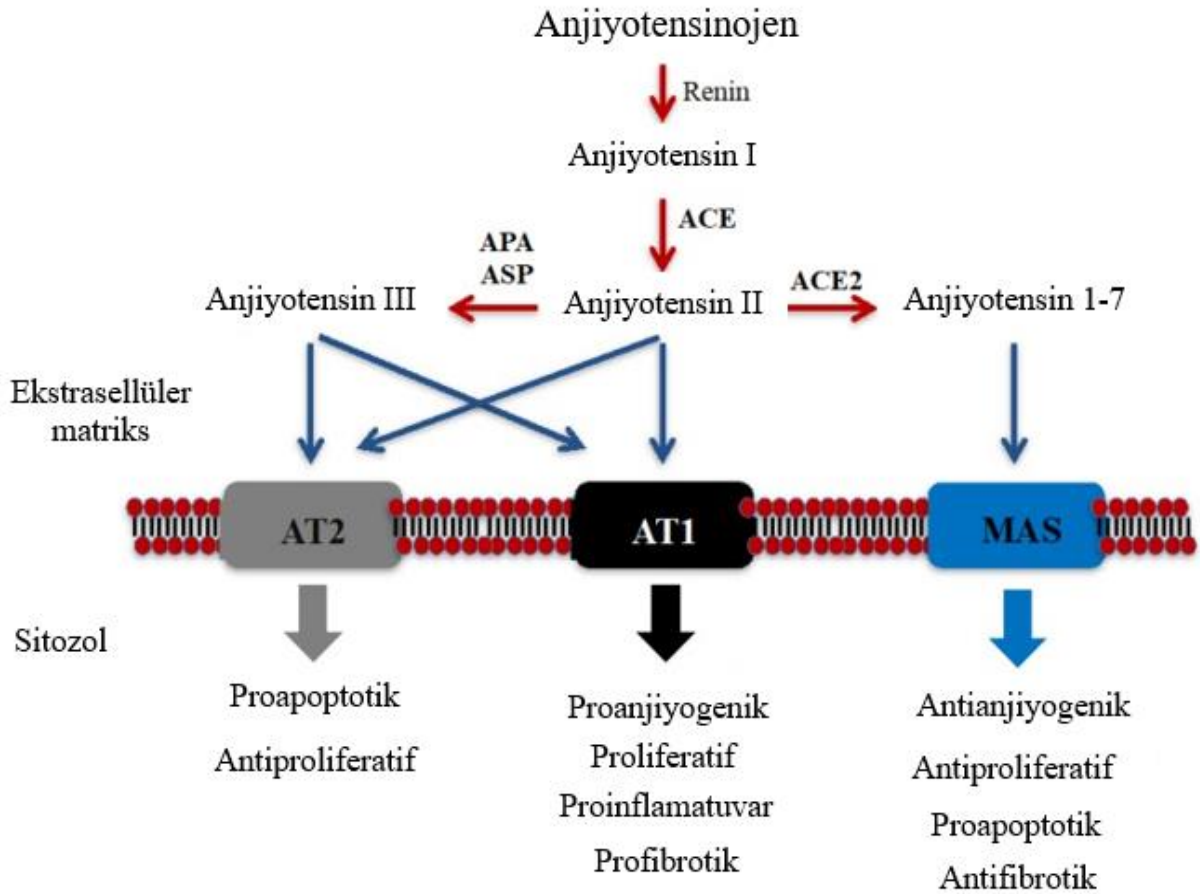
Dipeptidil Peptidaz ailesi, memelilerde sekiz üyeden oluşmaktadır. DPP1 (cathepsin-C), DPP2 (DPP7), DPP3, DPP4 (CD26), DPP6, DPP8, DPP9 ve DPP10 [127]. Bakterilerde ise sadece DPP5 ve DPP11 bulunur [127, 128, 129]. DPP'ler, protein maturasyonu ve yıkımı, hücre döngüsünün düzenlemesi, biyoaktif peptitlerin işlenmesi ve bozulmasına ek olarak oksidatif strese karşı savunmayı kapsayan çeşitli fonksiyonlara sahiptir [127, 129, 130, 131, 132, 133].

Sitozolik bir protein olan DPP3 [134], ilk olarak 1967'de sığır ön hipofiz bezinden izole edilmiş bir aminopeptidazdır [135]. Oligopeptitlerin N-terminalinde bulunan dipeptitleri spesifik olarak parçalayan DPP3, çinko bağımlıdır [136]. DPP3 nötrofiller, akciğerler, karaciğer, böbrek ve kalp dahil olmak üzere birçok hücre tipi ve dokuda eksprese edilir [28, 29]. DPP3'ün fizyolojik olarak önemli substratları Ang-II [30], Ang-III [31], Ang-IV [32], Ang-(1-7), Ang-(1-5) [30], Enkefalinler [137, 138], Endorfinler [137], Proktolindir [139].

DPP3 ayrıca Enkefalinler (*Leu-* ve *Met-* enkefalin), Endomorfınler (Endomorfın 1 ve 2) ile birlikte, ağrı düzenleme ve modülasyonunda yer alan endojen bir opioid sistemin düzenleyicisi olarak da kabul edilmektedir [29, 138, 140].

DPP3'ün tüm substratları arasında özellikle Ang-(1-7) dikkat çekicidir. Çünkü Ang-(1-7), RAAS'ın antagonistik yolu olarak kabul edilen, ACE2/Ang-(1-7)/Mas reseptörü (AAM) ekseninin bir parçasıdır [141]. Ang-(1-7) ACE2 ile Ang-II'den oluşabildiği gibi, Ang-I'in Ang-(1-9)'a hidrolizi ve ardından ACE reaksiyonu ile de az miktarda oluşabilir [142]. DPP3 ise heptapeptid olan Ang-(1-7)'nin Ang-(3-7) ve ardından Ang-(5-7)'ye enzimatik bölünmesini sağlar [32, 143].

Ang-(1-7), G protein bağımlı MAS reseptörü için bir ligand olmasından dolayı fizyolojik süreçlerde önemli rol oynar [142]. Ang-II'den ACE2 etkisiyle oluşan Ang-(1-7)'nin Mas reseptörüne bağlanmasıyla, AAM yolu aktiflenir, böylece antianjiyogenik, antiproliferatif, proapoptotik, antifibrotik, antitrombotik ve antiaritmik etkilere ek olarak vazodilatasyon, renal kan akımında artış ve natriürezde artış ile sonuçlanır [144, 145].



Şekil 2. 8: RAS sistemi ve lokal ve uzun vadeli biyolojik fonksiyonlarının şematik gösterimi.

Renin Anjiyotensin Sisteminin (RAS) bileşenleri ve reseptörleri üzerinden oluşabilecek etkiler şekil 2.8’de özetlenmiştir [144]. RAS’ın en iyi bilinen vazokonstrüktör etkili biyoaktif peptidi olan Ang-II, ACE’nin katalitik etkisiyle Ang-I üzerinden üretilir. Daha sonra Ang-II Tip 1 (AT1) ve Tip 2 (AT2) reseptörlerine bağlanarak çeşitli etkiler oluşturur. Ayrıca Ang-II, anjiyotensinazlar (Aminopeptidaz A (APA) ve Aspartil-Aminopeptidaz (ASP)) tarafından Ang-III’e metabolize edilir. Oluşan Ang-III’de AT1 ve AT2 reseptörlerine bağlanabilir [142, 144]. AT1’e bağlanan Ang-II, birkaç dokuda uzun vadeli lokal etkiler (proanjiyogenik, proliferatif, proinflamatuvar, profibrotik) oluşturur. ACE2 tarafından Ang-II’den üretilen Ang-(1-7) ise Mas reseptörüne bağlanır. Ang-II’nin AT1’e bağlanması sonucunda ortaya çıkan etkiler, Ang-II/Ang-III/AT2 ekseninin ve Ang-(1-7)/MAS ekseninin etkisiyle dengelenebilir [144, 146, 147]. Sonuç olarak AAM ekseni, ACE aracılığıyla Ang-I’den oluşan Ang-II’nin AT1 ve AT2 reseptörleri aracılığıyla RAAS’ın endojen etkilerine karşı olan düzenleyici bir yoldur [142]. AAM ekseni özellikle patolojik koşullarda ACE/Ang-II/AT1 ekseninin zararlı etkilerine karşı olan bir süreci regüle edebilmektedir [148]. Ayrıca Ang-II, AT1 ve AT2 reseptörleri aracılığıyla Fibroblast Büyüme Faktörü-23’ün (FGF-23) konsantrasyonlarının artmasına neden olabilir. FGF-23 ise DPP3’ü uyararak Ang-II’nin Ang-III’e yıkımına yol açar. Sonuçta Ang-II’nin negatif etkilerini önler. FGF-23, ACE2’ye etki ederek Ang-II’nin Ang-(1-7)’ye dönüşümünü de baskılar [145].

Endojen ACE2 aktivasyonun, normal ve hipertansif sıçanların arteriyel kan basıncında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir [149]. ACE inhibitörleri ve anjiyotensin reseptör blokörlerinin Mas reseptörünü uyararak faydalı etkiler gösterdiği düşünülmektedir [150, 151]. Endotel hücreleri Ang-(1-7) heptapeptidinin sadece üretiminde değil aynı zamanda metabolizmasında da görev almaktadır [152]. AAM ekseni; Prostanoidler, NO ve endotelden türetilen Hiperpolarize Edici Faktör gibi vazodilatörlerin salınımını indükler [153, 154, 155, 156, 157, 158]. Böylece vasküler yatakta gevşemeye neden olur [142]. Buna karşılık, Ang-(1-7)’nin DPP3 tarafından parçalanması, AAM yolunun potansiyel olarak faydalı etkilerini engeller ve bu nedenle zararlı kardiyovasküler etkileri oluşturabilir [150]. Yapılan bir çalışmada kardiyojenik şoklu hastalarda, yüksek DPP3 konsantrasyonları, artmış kısa vadeli mortalite ve ciddi organ disfonksiyonu ile ilişkilendirilmiştir [159].

Pang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise, DPP3'ün Ang-II'yi hızlı bir şekilde parçaladığı belirtilmiştir. Ang-II uygulanmış hipertansif farelerde DPP3'ün kalp atımında değişiklik olmaksızın kan basıncını önemli düzeyde azalttığı belirtilmiş olup, diğer taraftan Nöradrenalin ile indüklenmiş hipertansif farelerde ise kan basıncında değişiklik olmadığı belirtilmiştir. Bu bulgular sonucunda DPP3'ün Ang-II'yi de degrade edebildiği sonucuna varılmıştır [32].

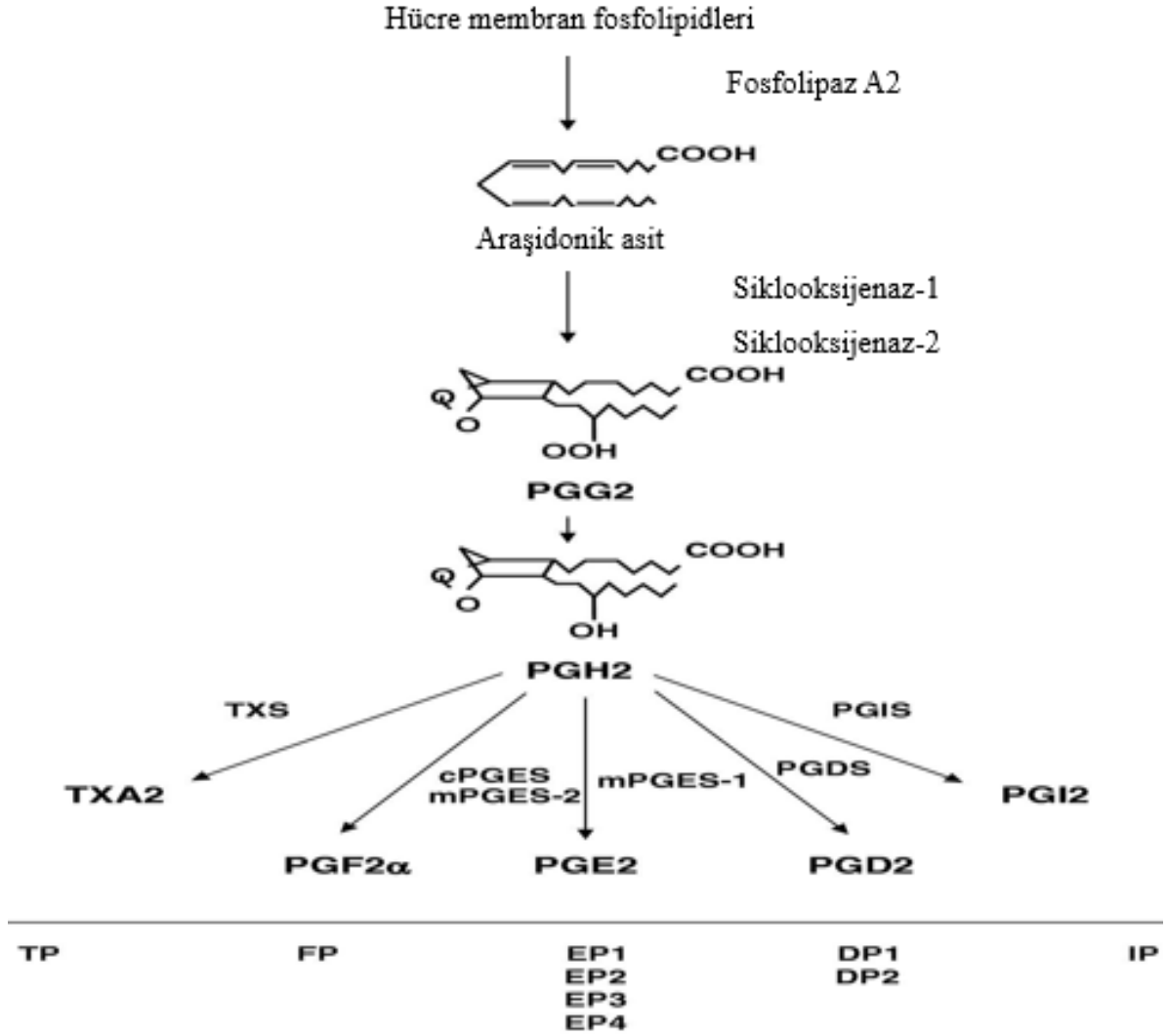
Düşük kardiyak debi, organ hipoperfüzyonu ve hipoksi ile ilişkili, çoklu organ yetmezliğine ve ölüme yol açan heterojen bir sendrom olan kardiyojenik şokun [160, 161] en yaygın nedenlerinden biri Akut Miyokard Enfarktüsüdür [162]. Yapılan çalışmalarda kardiyojenik şoklu hastalarda dolaşımdaki DPP3'ün (cDPP3) yüksek seviyeleri [159] ile organ disfonksiyonu ve yüksek mortalite arasında bir ilişki gösterilmiştir [163].

2.5. MİKROZOMAL PROSTAGLANDİN E SENTAZ-1 (mPGES-1)

Araşidonik asit, hücre zarında bulunan diyet kaynaklarından türetilen, 20 karbonlu dört çift bağ içeren çoklu doymamış bir yağ asididir. Eikosanoidler, Araşidonik asitten, Eikosapentaenoik veya dihomo- γ -linolenik asitlerden sentezlenen lipid sinyal molekülleridir. Eikosanoidlerin sentez yolunda öncelikle Araşidonik asit, Fosfolipaz A2 tarafından hücre zarı fosfolipitlerinden serbestleşir [164]. Eikosanoidler, düz kas tonusunun düzenlenmesi, vasküler geçirgenlik ve trombosit agregasyonu gibi kritik fizyolojik işlevlere katılırlar. Ayrıca inflamasyon, otoimmünite, alerjik hastalıklar ve kanserde de rol oynarlar [165].

Birçok dokuda farklı fizyolojik etkilere sahip bir eikosanoid olan PGE2'nin [166] sentezi de Araşidonik asit üzerinden gerçekleşmektedir. Araşidonik asidin Siklooksijenaz1 (COX-1) veya COX-2 ile katalizi sonucuna Prostaglandin G2 (PGG2) ve Prostaglandin H2 (PGH2) oluşur. Bu süreç Araşidonik asidin oksijenlendirilerek PGG2 oluşması ve daha sonra aynı enzimlerle indirgenerek kararsız ara madde olan PGH2 oluşması şeklinde gerçekleşir [167]. PGH2'den PGE2 sentezini gerçekleştirebilen enzimler mPGES-1, Mikrozomal Prostaglandin E Sentaz-2 (mPGES-2) ve Sitozolik Prostaglandin E Sentaz'dır (cPGES) [41]. mPGES-1'in bu üç enzim arasında hem in vitro hem de in vivo koşullarda en iyi PGE2 sentez özelliğine sahip olduğu belirtilmiştir [168, 169]. Yapılan bir çalışmada; miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarı sırasında PGE2 sentezinin mPGES-1 üzerinden baskılanması sonucunda PGE2 ve PGI2'nin idrar metabolitlerinin ölçümü ile PGI2 biyosentezine doğru bir geçiş olduğu ve böylece mPGES-1'in PGE2 sentezinde kilit rol oynadığı gösterilmiştir [170]. cPGES ve

mPGES-2 çeşitli dokularda yapısal olarak eksprese edilir ve homeostazda rol oynar. mPGES-1 ise inflamatuvar koşullar altında PGH2'nin glutatyon bağımlı oksidoredüksiyonunu katalizler ve PGE2 oluşur [41].



Şekil 2. 9: PGE2'nin biyosentetik yolu.

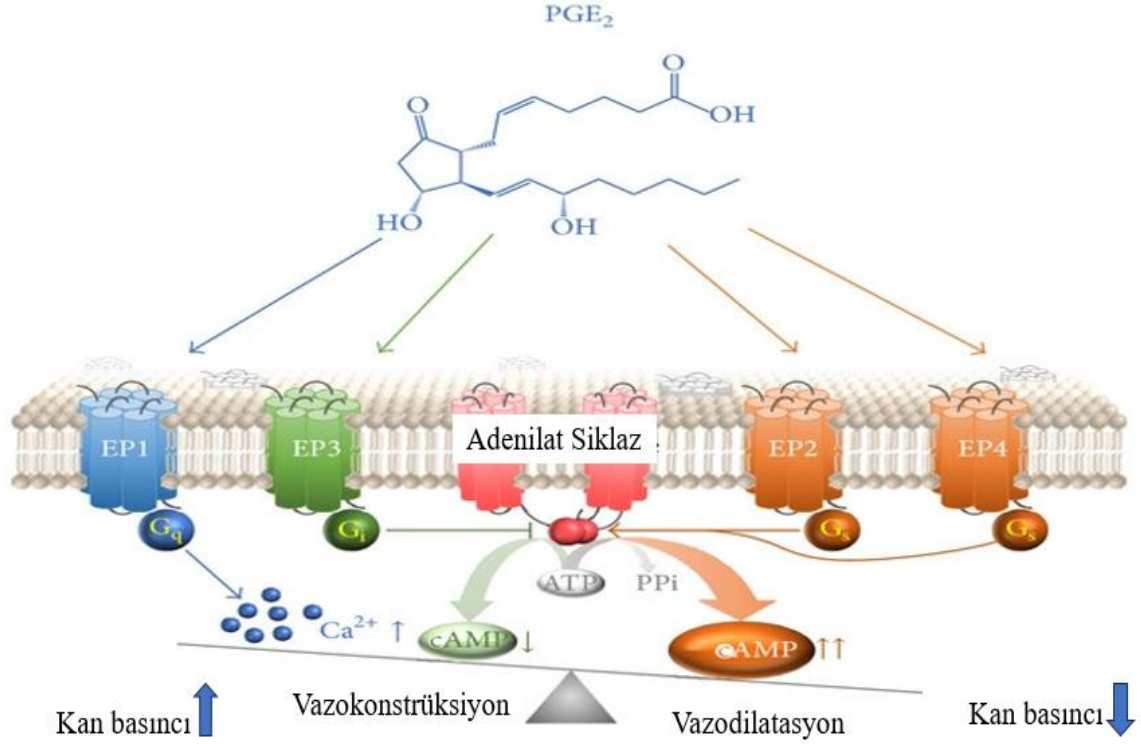
DP: PGD2 Reseptör; EP: PGE2 Reseptörü; FP: PGF2α Reseptörü; mPGES: Mikrozomal Prostaglandin E Sentaz; cPGES: Sitosolik Prostaglandin E Sentaz; PG: prostaglandin; TP: Tromboksan A2 Reseptörü; TXA2: Tromboksan A2.

PGE2'nin biyosentez yolu şekil 2.9'da gösterilmektedir [171]. PGE2 birçok farklı dokuda çeşitli etkiler oluşturma yeteneğine sahiptir, böylece farklı fizyolojik ve patofizyolojik koşullarda farklı roller oynar [166]. PGE2'nin biyolojik etkileri, her biri G proteininin farklı alt birimine bağlanan (EP 1-4) reseptörleri aracılığıyla gerçekleşir [172]. Her EP reseptörü insan vücudunda spesifik olarak dağılmıştır; EP1 reseptörleri myometrium, pulmoner damarlar,

kolon, deri ve mast hücrelerinde, EP2 reseptörleri; lökositler, düz kas, santral sinir sistemi, üreme sistemi ve kemiklerde, EP3 reseptörleri; santral sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, üreme sistemi, böbrek ve mesanede, EP4 reseptörleri; lökositler, düz kas, kardiyovasküler sistem ve kemiklerde bulunur [166, 173]. PGE2 reseptörleri arasında EP3 ve EP4 en yaygın ifade edilenlerdir. Buna karşılık EP1 reseptörünün dağılımı ise insanlarda birkaç organla sınırlıdır [166]. Trombositlerden de EP2, EP3 ve EP4 reseptörleri eksprese olmaktadır. PGE2'nin trombositler üzerindeki etkileri konsantrasyon bağımlıdır. Düşük konsantrasyonlarda PGE2, EP3 reseptörüne bağlanıp, 3' 5' Siklik Adenozin Monofosfat (cAMP) seviyelerinin azalmasına ve trombosit agregasyonuna neden olurken, yüksek konsantrasyonlarda ise EP2 ve EP4 reseptörleri ile etkileşerek trombosit agregasyonunu baskılar [174]. Ayrıca PGE2'nin EP3 ve EP4 reseptörlerine EP1 ve EP2 reseptörlerinden daha yüksek afiniteyle bağlandığı belirtilmiştir. PGE2 ve EP reseptörleri arasındaki etkileşimler doku veya hücre tipine, spesifik reseptör ekspresyonuna ve bağlanma afinitelerindeki farklılıklara bağlıdır [175].

Etkisini çeşitli reseptörler vasıtasıyla gerçekleştiren PGE2'nin sentezinde [39] rol alan mPGES-1'in ekspresyonu çeşitli hücre tiplerinde ve organlarda nispeten düşüktür, ancak fizyolojik veya patolojik uyarılara yanıt olarak yüksek oranda indüklenebilir [176]. mPGES-1 de COX-2'ye benzer şekilde proinflatuar uyarılar tarafından yüksek oranda düzenlenir ve inflamasyon durumlarında yüksek düzeyde PGE2 oluşur [42]. mPGES-1, birçok hastalıkta özellikle inflamasyon, ağrı ve ateşin oluşumuna aracılık eder [41]. COX-2 ve mPGES-1, makrofajlar ve fibroblastlardaki proinflatuar sitokinler tarafından saatler içinde hızla indüklenir [40]. Oluşan PGE2, immün yanıtları ve inflamasyon gelişimini uyararak, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıkların patogeneze katkıda bulunmaktadır [42].

Ayrıca mPGES-1'in Torasik Aort ve Mezenterik Arter dahil olmak üzere çeşitli damarlarda VSMC'lerde yapısal olarak eksprese edildiğini gösteren bir çalışmada; enzimin VSMC'lerde PGE2 biyosentezinden sorumlu ana izoform olabileceği belirtilmiştir [177]. Ek olarak, mPGES-1 aracılığıyla oluşan PGE2, muhtemelen böbrek ve vasküler sistemlerde RAAS'a karşı koyarak antihipertansif etkiler gösterebilmektedir [169, 177, 178].



Şekil 2. 10: Kan basıncının regülasyonunda EP reseptörlerinin işlevi.

Şekil 2.10'da EP reseptörlerinin kan basıncı regülasyonundaki işlevi gösterilmektedir [179]. PGE₂, EP1 aracılığıyla Ca²⁺ düzeylerinin artması ve EP3 aracılığıyla cAMP sentezinin inhibisyonuna neden olarak vasküler tonusu ve dolayısıyla kan basıncını artırır. EP2 ve EP4 reseptörleri aracılığıyla Adenilat Siklaz aktivitesi sonucunda cAMP sentezinin artmasına neden olarak kan basıncını düşürür [178].

Tüm EP reseptörleri plazma membranında bulunur; EP3 ve EP4 ayrıca hücre nükleus membranında da eksprese edilir [180]. EP1 reseptörleri G_q proteini aracılığıyla Fosfolipaz C (PLC) etkisiyle membrandaki Fosfatidil İnozitol 4,5,-difosfatdan (PIP₂), İnozitol 1,4,5 Trifosfat (PIP₃) oluşumunu sağlar. PIP₃'ün Ca²⁺ kanallarını uyarması ile hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artar ve böylece kasılma yanıtı oluşur [42]. EP2 ve EP4 reseptörleri G_s proteini aracılığıyla Adenilat Siklazı uyararak, ATP'den cAMP oluşumuna neden olur ve gevşetici etki gösterir [172]. EP3 reseptörleri ise G_i ile bağlanarak Adenilat Siklazı inhibe eder ve cAMP oluşumunu engeller [181]. EP2 ve EP4'ün aktivasyonu genellikle kan basıncını düşürürken, EP1 ve EP3 reseptörlerinin aktivasyonu çoğunlukla kan basıncını yükseltir [39].

Yapılan bir çalışmada, vasküler mPGES-1 sentezi ile oluşan PGE₂'nin, akut kan basıncı regülasyonunda rol oynadığı ve mPGES-1 aktivitesinin inhibisyonunun, PGE₂'nin Ang-II'ye bağlı hipertansiyon üzerindeki tamponlama etkisini azaltabileceği gösterilmiştir. Sonuç olarak vasküler mPGES-1'den türetilen PGE₂'nin patolojik ortamlarda kan basıncı homeostazını korumak için önemli bir tonik vazodilatör olarak hareket ettiği ve antihipertansif etkisinin

olabileceği düşünölmektedir [177]. Yapılan başka bir deneysel çalışmada ise, mPGES-1'in miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarını sınırladığı ve bu yararlı etkiye kısmen endotelial EP4 reseptörünün aracılık ettiği belirtilmiştir [170].



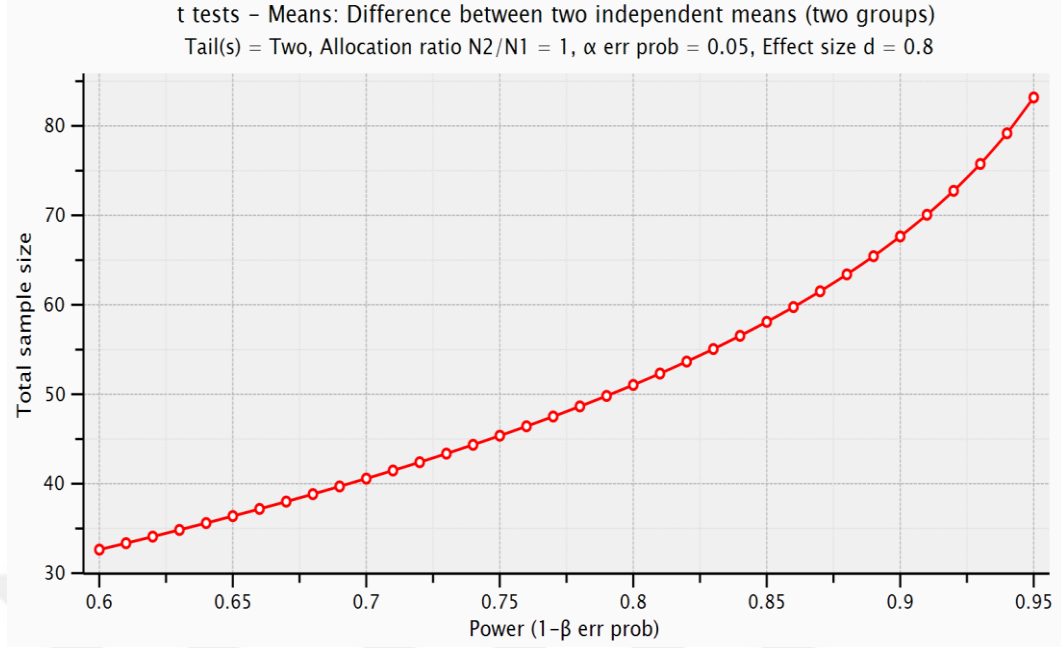
3. YÖNTEM

3.1. HASTA VE KONTROL GRUPLARININ OLUŞTURULMASI

Bu tez çalışması İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 20.12.2022 tarihli E-83045809-604.01.01-572301 sayılı onayı alınarak gerçekleştirildi. Çalışmaya dahil edilen tüm bireylere, kan alım işlemi öncesinde ilgili açıklamalar yapılarak bilgilendirilmiş gönüllü olur formu verildi ve bireylerden imzalı onam belgesi alındı.

Çalışma gruplarımızdaki katılımcılar Mart 2023-Ağustos 2024 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Kadın Doğum Kliniği'ne başvuran gebeler arasından seçilmiştir.

Çalışma için yeterli örneklem sayısının belirlenmesi amacıyla güç analizi yapılmıştır. Güç analizi '*G*Power 3.1.9.2*' paket programı ile gerçekleştirilmiştir [182]. Bu çalışmada ilgili literatür [183] ve uzman görüşü doğrultusunda etki büyüklüğü .80 olarak kabul edilmiştir. Çift kuyruklu hipotez için, 0.8 etki büyüklüğü (Effect Size/d), 0.05 hata payı (α) ve 0.80 güç ile çalışmaya dahil edilmesi gereken minimum örneklem sayısının her bir grup için 26 kişi (preeklampsi grubu:26; kontrol grubu:26) olmak üzere toplamda 52 kişi olması gerektiği hesaplanmıştır. Veri toplama aşaması sonucunda ise preeklampsi grubu:50 ve kontrol grubu: 30 gebeden oluşmuştur.



Şekil 3. 1: Güç analizine ilişkin protokol

d: Etki büyüklüğü; α : 0.05 hata payı

Preeklampsi grubunu oluşturan katılımcılar; muayene ve laboratuvar sonuçlarına göre ACOG kriterleri [66] göz önünde bulundurularak oluşturulmuştur.

- Kontrol Grubu: Gebeliğin 20. haftasından sonra başvuran, preeklampsi kriterleri ve dışlama kriterlerine uymayan 30 katılımcıdan oluşmaktadır.
- Erken preeklampsi grubu: 34. gebelik haftasından daha önce tanı almış 24 preeklampsi hastasından oluşmaktadır.
- Geç preeklampsi grubu: 34. gebelik haftasından sonra tanı almış 26 preeklampsi hastasından oluşmaktadır.

3.1.1. Çalışmadan Dışlanma Kriterleri

Çalışmaya katılmayı kabul eden her katılımcının anamnezi alınarak dışlama kriterleri açısından değerlendirilmiştir. Akut veya kronik enfeksiyöz hastalıklar ve sepsis, akut veya kronik inflamatuvar hastalıkları olan, Miyokard Enfarktüsü, Serebrovasküler Olay (SVO) gibi şiddetli iskemik hastalık öyküsü olan, koroner/periferal arter revaskülarizasyon operasyonu geçirmiş olan, çoğul gebelik, HELLP sendromu, Eklampsi geliştiren gebeler, Koagülopatisi olan veya Antikoagülan tedavi alan gebeler, tedavi gören preeklampitik gebeler, Hipertansiyon,

Diyabet, Koroner Arter Hastalığı olan gebeler ve ayrıca onam vermeyen ya da sonradan onamlarını çekmek isteyen gebeler çalışmaya dahil edilmemiştir.

3.2. ÖRNEKLERİN ALINMASI VE ÇALIŞILAN PARAMETRELER

Venöz kan örnekleri; 12 saat gece açlığı sonrasında sabah 08.00-10.00 saatleri arasında ön koldan (antekübital fossa) alındı. Jelli serum tüplerine ikişer tane olmak üzere 5'er mL alınan venöz kanlar, pıhtılaşma gerçekleşikten sonra 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek elde edilen serum örnekleri ependorflara pipetlendi ve etiketlenip çalışma gününe kadar -80 °C' de saklandı.

Çalışmaya dahil edilen gebelerin İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi Fikret Biyal Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı'nda çalışılan rutin test parametreleri (Hemogram, Biyokimya, Koagülasyon ve idrar tetkiki) sonuçları laboratuvar bilgi sisteminden alındı. Çalışmaya dahil edilen katılımcıların tanımlayıcı klinik verileri (yaş, gestasyonel yaş, boy, kilo, sistolik/diyastolik kan basıncı, fetal kilo) katılımcı dosyalarından elde edildi. Ayrıca bireyin vücut ağırlığının, boy uzunluğunun karesine oranı (kg/m^2) olan Vücut Kütle İndeksi (VKİ) [184] tüm katılımcılar için hesaplandı.

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda, preeklampsi tanısı almış grup ve kontrol grubu gebelerinden elde edilen serum örnekleri ile çalışma kapsamında aşağıdaki parametrelerin analizleri gerçekleştirildi.

- miR-29b-3p ekspresyonu
- HCII düzeyleri
- DPP3 düzeyleri
- mPGES-1 düzeyleri

3.3. miR-29b-3p EKSPRESYON DÜZEYLERİNİN ANALİZİ

miR-29b-3p ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi için öncelikle serum örneklerinden total miRNA izolasyonu yapıldı. Ardından izole edilen miRNA örneklerinin Optik Dansite (OD) ölçümü, Nanodrop Spektrofotometre ile 260 ve 280 nm dalga boyunda yapılarak her bir örnekteki RNA konsantrasyonu belirlendi. Daha sonra ileri analizde kullanılmak üzere Komplementer DNA (cDNA) sentezi yapıldı. cDNA sentezinden sonra ise RT-qPCR ile

amplifikasyon gerçekleştirildi. Son olarak hedef genin ekspresyonunu hesaplamak için qPCR'dan elde edilen C_T (threshold cycle/eşik döngüsü) verileri kullanılarak, hedef genin kontrol grubuna kıyasla ekspresyon düzeyi değişimi (kat değişimi) C_T değerleri üzerinden $2^{-\Delta\Delta C_T}$ formülü kullanılarak belirlendi.

3.3.1. Total miRNA İzolasyonu

Total RNA izolasyonu için -80°C 'de saklanan serum örneklerinin, 1 gün -20°C 'de bekletildikten sonra analiz günü $+4^\circ\text{C}$ 'de bekletilerek kademeli olarak çözünmeleri sağlandı. RNA izolasyonu, Extract Me miRNA kiti (Blirt, Gdansk, Polonya; Katolog no: EM12-050, Lot: E12846676) ile kit protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi.

Prensip:

Çalışmada kullanılan ticari kit, yüksek konsantrasyondaki kaotropik tuz varlığında nükleik asitleri seçici şekilde bağlayan membrana sahip mini kolonlardan oluşmaktadır. Güçlü bir kaotropik ajan olan Guanidin tiyosiyanat, aminoasit grupları arasındaki hidrofobik etkileşimleri zayıflatarak proteinlerin stabilitesini bozar ve lizise neden olur [185]. Ribonükleazların, RNA izolasyonundaki olumsuz etkisini önlemek için enzimin disülfid bağlı tersiyer yapısını bozmada etkili indirgeyici ajan olan β -merkaptoetanol lizis tamponuna eklenir [186]. Çalışmada kullanılan miRNA izolasyon kit içerisinde üç çeşit saflaştırma kolonu bulunmaktadır (DNA kolonu, Large RNA kolonu ve miRNA kolonu). Öncelikle DNA'lar daha sonra büyük RNA molekülleri izole edilir. Sonraki aşamada ise miRNA saflaştırma kolonlarındaki membranlara, örnekteki miRNA'lar bağlanır. miRNA bağlı kolonlar üç kez yıkanarak, safsızlık oluşturacak moleküller ve enzim inhibitörlerinin uzaklaştırılması sağlanır. Son aşamada ise diğer moleküllerden arındırılarak saflaştırılmış olan miRNA, düşük iyonik güçteki bir tampon ile elüe edilerek ileri analizler için hazır hale getirilir.

Tablo 3. 1: Total miRNA izolasyonu için kullanılan araç gereç ve kimyasallar.

1	miRNA Lizis Tamponu (MirLys Tamponu) *
2	Yıkama Tamponu (miRW Tamponu) *
3	Elüsyon Tamponu (miREB) *
4	DNA Saflaştırma Kolonları *
5	Large RNA Saflaştırma Kolonları *
6	miRNA Saflaştırma Kolonları*
7	2-Mercaptoethanol (sigma, Lot: S8063840345)
8	Etanol
9	NanoDrop Spektrofotometre (ThermoFisher Scientific, Wilmington, DE 19810, USA)
10	Ependorf santrifüj (Hangzhou Allsheng Instruments, Super Mini-14K)
11	Soğutmalı santrifüj (Nuve, NF400R)
12	Vorteks
13	Derin dondurucu (Elcold Lab, Haier ULT Freezer)
14	Mikropipet
15	Steril mikropipet uçları
16	Steril ependorf tüpleri

* Extract Me miRNA kiti (Katolog no: EM12-050, Lot: E12846676) içeriği

Uygulama basamakları:

1. miRLys (miRNA Lysis) tamponuna en son konsantrasyon %1 olacak şekilde %100 200 µL β-merkaptöetanol, miRW (miRNA wash) tamponuna ise %99,9 (absolute) 87 µL etanol eklenerek tamponların kapakları, buharlaşmayı önlemek için kapatıldı.
2. Her bir ependorfa 200 µL serum örneği pipetlendi. Ardından üzerlerine 400 µL miRLysis tamponu eklenerek 10 saniye vortekslenerek karışması sağlandı. Ardından 2 dakika 17000 g'de santrifüj işlemi yapıldı.
3. Santrifüj işleminden sonra elde edilen 550 µL süpernatant toplama tüpünde bulunan DNA pürifikasyon kolonuna transfer edildi. Ardından tekrar 2 dakika 17000 g'de santrifüj edildi. Sonrasında ise filtreden akarak elde edilen materyalden 500 µL alınarak, 1,5 mL'lik steril eppendorf tüpüne pipetlendi.
4. Ependorf tüpünde yer alan filtrat (500 µL) üzerine, hacminin yarısı kadar hacimde (250 µL) %99,9 etanol ilave edilerek 10 saniye boyunca vortekslendi.

5. Elde edilen karışım, toplama tüpündeki Large RNA pürifikasyon kolonuna transfer edildikten sonra 2 dakika 17000 g'de santrifüj edildi. İşlem sonrasında elde edilen filtrat steril 1,5 mL hacimli eppendorf tüplerine transfer edildi.
6. Eppendorf tüplerine aktarılan 625 µL filtratın üzerine, filtrat hacmine eşit hacimde (625 µL) %99,9 etanol eklendikten sonra 5 saniye vorteksle karıştırıldı. Elde edilen bu karışımdan 700 µL alınarak, toplama tüpünde yer alan miRNA pürifikasyon kolonuna pipetlendi. Ardından 2 dakika 15000 g'de santrifüj edildi. Elde edilen filtrat atıldı. Eppendorf tüpünde kalan karışım da aynı miRNA pürifikasyon kolonuna tekrar aktararak 2 dakika 15000 g'de santrifüj edilip elde edilen son filtrat atıldı.
7. Aynı toplama tüpleri ve aynı miRNA pürifikasyon kolonları üzerinde yıkama işlemi yapıldı. Yıkama için her bir miRNA pürifikasyon kolonuna 500 µL miRNA-wash tamponundan eklenerek 1 dakika 15000 g'de santrifüj edildi. Filtrat atıldıktan sonra aynı şekilde yıkama işlemi 2 kez daha yapıldı. Üçüncü kez yıkama yapıldıktan sonra altta kalan filtrat atılıp, 3 dakika 17500 g'de santrifüj yapıldı. Santrifüj işlemi sonrasında toplama tüpü ve filtrat atılarak, miRNA pürifikasyon kolonları dikkatli bir şekilde 1,5 mL hacimli steril eppendorf tüplerine yerleştirildi ve 2 dakika kuruması beklendi.
8. miRNA pürifikasyon kolonlarındaki membranların tam merkezine gelecek şekilde miREB elüsyon tamponundan 60 µL ilave edildi ve kolonlar 2 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Ardından 2 dakika 10000 g'de santrifüj yapıldı. Santrifüj işlemi sonrasında kolonlar atılarak, saflaştırılmış miRNA'ların bulunduğu eppendorflardaki filtrat sonraki analize kadar -80 °C'de saklandı.

3.3.2. RNA Miktar ve Saflık Tayini

miRNA miktar ve saflık tayini için, RNA izolasyonu yapıldıktan sonra her bir örnek için elde edilen total miRNA'ların konsantrasyonları NanoDrop Spektrofotometre ile analiz edilerek tespit edildi. Her bir örnek için 260 ve 280 nm dalga boylarındaki absorban değerlerinin oranına bakılarak RNA saflığı belirlendi. A260/A280 oranı 1,9-2,1 arasında olanlar saf olarak kabul edildi. miRNA miktar ve saflık tayini yapılan total miRNA örnekleri, cDNA sentezi yapıncaya kadar -80 °C'de muhafaza edildi. Bu aşamada elde edilen konsantrasyon değerleri ise kaydedilerek bir sonraki adım olan RT-qPCR aşamasında, tüm örneklerin son konsantrasyonları eşitlendi.

3.3.3. cDNA Sentezi

İzolasyonu yapılan total miRNA örneklerinden cDNA sentezi için; ABScript II cDNA First Strand Synthesis Kit (Katalog no: RK20400) kullanılarak, miR-29b-3p'ye spesifik primer ve iç kontrol (housekeeping) olarak Suarge Biyoteknoloji Firması'nın miRNA qPCR SL Assay Kit içeriğindeki RT primeri U6 tercih edilerek (Katalog no: SUA-MIREXs) Ters Transkripsiyon (*Reverse Transcription*, RT) reaksiyonu gerçekleştirildi. Sentez aşaması belirtilen protokole uygun olarak PCR cihazı ile gerçekleştirildi.

Prensip:

Hedef genin ekspresyon düzeylerinin tayini için öncelikle RNA'ya göre daha kararlı yapıda olan cDNA sentezlenmesi gerekir. Reverse (ters) transkripsiyon reaksiyonu ile cDNA sentezi için; yüksek sıcaklıklarda bile aktivite gösteren DNA polimeraz enzimi, ribonükleaz inhibitörü, dNTP'ler, RNA'nın 3' ucuna tamamlayıcı bir primer ve Magnezyum iyonları içeren tampon hazırlanır. Ters transkripsiyon reaksiyonu ile cDNA sentezi; kullanılan primer ve RT enzimine göre değişen, farklı sıcaklık ve sürelerde yürütülen üç aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşamada primer bağlanması, ikinci aşamada cDNA sentezi, üçüncü aşamada RT enzim degradasyonu gerçekleştirilir [187, 188].

cDNA sentezi için ilk olarak Reverse Transkripsiyon (RT) master karışım hazırlandı. Daha sonra bu karışım, RT için izole edilmiş RNA örneklerine eklendi. Ardından PCR cihazında (DNA amplifikatörü) RT reaksiyonu gerçekleştirildi.

Tablo 3. 2: cDNA master karışım içeriği.

Reaktif	Hacim
ABScript II reaksiyon karışımı (2x)	10 µL
miR-29b-3p RT primer	1 µL
U6 iç kontrol RT primer	1 µL
10 mM dNTP karışımı	1 µL
ABScript II enzim karışımı (10x)	2 µL
Toplam	15 µL

RT master karışımı hazırlanması:

RT master karışımı, kit içeriği çözündükten sonra son hacim 15 µL olacak şekilde tablo 3.2'deki reaktifler belirtilen hacimlerde eklenerek buz üzerinde hazırlandı ve hazırlanan çözelti kısa süreli santrifüj edildi.

Real-Time (RT) reaksiyonu

- Sentez öncesi, numunelerde yer alan RNA konsantrasyonları eşit olacak şekilde gerekli hesaplamalar yapılarak nükleaz içermeyen su ile dilüe edildi.
- Daha önce tablo 3.2'de gösterildiği hacimlerde hazırlanmış olan 15µL cDNA master karışımı, 96 kuyucuklu plate'e aktarıldıktan sonra üzerine dilüe edilmiş miRNA örneklerinden 5 µl pipetlendi. Ardından iyice karıştırmak için iki kez pipetlenip tekrar kuyucuğa bırakıldı.
- Sıvının altta toplanması ve hava kabarcıklarının giderilmesi için plate üzeri kapatılarak kısa süreli santrifüj işlemi gerçekleştirildi. Ardından RT-PCR aşamasına kadar plate buz üzerinde bekletildi.

RT aşaması

- Reaksiyon karışımını içeren mikropate, StepOnePlus Real-Time PCR (Applied Biosystems, Carlsbad, CA, USA) cihazına yerleştirildi. Ardından tablo 3.3'te belirtilen koşullarda PCR'da inkübe edilerek tek iplikli cDNA sentezlendi. Sentez sonrasında cDNA'lar -30°C'de saklandı.

Tablo 3. 3: cDNA sentezi için RT reaksiyon inkübasyon koşulları.

Koşullar	Birinci aşama	İkinci aşama	Üçüncü aşama	Dördüncü aşama
Sıcaklık	25 °C	42 °C	80 °C	4 °C
Süre	5 dk.	60 dk.	5 dk.	∞

3.3.4. qPCR (Real Time/Eş zamanlı PCR) ile Amplifikasyon

cDNA sentezinin ardından, tüm örnekler qPCR işlemi gerçekleştirilene kadar -30°C'de muhafaza edildi. cDNA amplifikasyonu ve miR-29b-3p ekspresyon seviyelerinin analizinde kit olarak RT-PCR reaksiyonu için, çift zincir DNA'ya bağlanan boya (SYBR green) içeren enzim

karışımı olan Genious 2X SYBR Green Fast qPCR Mix (katalog no: RK21204) ve Suarge Biyoteknoloji firmasının miRNA qPCR SL Assay Kit içeriğindeki (Katalog no: SUA-MIREXs) miRNA'ya özgü qPCR primerleri kullanıldı.

Prensip:

qPCR ile amplifikasyon aşamasında; çoğaltılacak olan DNA örneği, çoğaltılacak bölgeyi hedefleyen primerler, ısıya dayanıklı polimeraz enzimi, reaksiyon için gerekli olan tampon ve kofaktörler, DNA ipliğinin uzaması için gerekli nükleotidler ve SYBR green boyasından oluşan karışım hazırlanır. İlk aşama olan denatürasyon aşamasında; sıcaklık 95 °C'ye çıkartılır ve çift sarmallı DNA denatüre olarak zincirleri birbirinden ayrılır ve çift sarmal yapısı bozulur. İkinci aşamada (bağlanma ve uzama) sıcaklık 60 °C'ye düşürülerek primerlerin tek sarmallı DNA'daki hedeflenen bölgeye bağlanması sağlanır. Sonra yüksek sıcaklıklara dayanıklı olan DNA polimeraz enzimi, bağlanmış olan primerlerin ucuna karşısındaki kalıp DNA zincirindeki koda uygun olacak şekilde nükleotidler ekler. Denatürasyon aşaması ile bağlanma ve uzama aşaması tekrarlı döngüler halinde devam ettikçe, hedeflenen DNA bölgesi sürekli olarak çoğaltılır. SYBR green boyası, primerler bağlanıp uzama gerçekleştikçe çift zincir DNA'ya bağlanarak floresan ışımaya gerçekleşmesini sağlar. Başlangıçtaki döngülerde ışımaya düzeyi az iken, sonraki döngülerde üretim arttıkça floresan ışımaya da artar. Bu sayede DNA miktarı tayin edilir [189].

Amplifikasyon aşamasında; kullanılan kit prosedürüne göre, çalışmamızda kullandığımız StepOnePlus Real-time PCR cihazı için uygun olan ROX referans boya (50x ROX reference Dye I) solüsyonu kullanılmıştır.

Tablo 3. 4: qPCR için miRNA Assay Tanımlama Numaraları.

Gen Kodu	Erişim No.	Assay Adı ve Ürün No.	Amplikon uzunluğu (bp)
hsa-miR-29b-3p	MIMAT0000100	miRNA qPCR SL Assay for hsa-miR-29-3p, MIREXs-H29B-3	63-64
RNU6-6P	Entrez Gene ID: 26826	miRNA qPCR U6 Control Assay for Human RNU6-6P, MIREXs-U6	89

- qPCR için tüm reaktifler buz üzerinde tamamen çözülerek, vorteks yardımıyla nazikçe karıştırıldı. Ardından reaktifler, buz üzerinde Tablo 3.5'deki hacimlerde belirtildiği gibi steril ve nükleaz içermeyen ependorf tüpüne pipetlendi ve hem pipetlenerek hem de vorteks yardımıyla hafifçe karıştırılarak qPCR master mix hazırlandı.

Tablo 3. 5: Real-Time PCR reaksiyon karışımı içeriği.

Reaktif	Hacim
Genious 2X SYBR Green Fast qPCR Mix	10 µl
50x ROX reference Dye I	0,4 µl
İleri primer (10 µM)	0,4 µl
Geri primer (10 µM)	0,4 µl
PCR-grade su	5,8 µl
Toplam	17 µl

- Tüm örnekler için miR-29b-3p ve U6 için ayrı ayrı olmak üzere, çift kuyucuk olacak şekilde reaksiyon sayısı hesaplandı.
- Hazırlanan bu karışım ve 3 µL cDNA her bir kuyucuğa pipetlenerek son hacim 20 µL'ye eşitlendi. Her bir örnek ve kontrol çift çalışıldı. Hava kabarcıklarını yok etmek ve sıvının altta toplanması için plaklar özel filmleri ile kapatılarak 1-2 dakika düşük devirde santrifüj edildi.
- Hazırlanan plaka StepOnePlus RT- PCR cihazına yüklendi. Isı döngüsü programı Tablo 3.6'daki prosedüre göre ayarlanarak amplifikasyon gerçekleştirildi.

Tablo 3. 6: RT-qPCR miRNA amplifikasyonu termal döngü protokolü.

Aşama	Reaksiyon	Döngü sayısı	Sıcaklık	Süre
1	Aktivasyon ve denatürasyon	1	95 °C	3 dakika
2	Denatürasyon	40-45	95 °C	5 saniye
	Primer bağlanması, uzama ve floresan ışımaya tespiti		60 °C	30 saniye
3	Erime eğrisi	1		

3.3.5. $2^{-\Delta\Delta CT}$ Yöntemi

RT-qPCR çalışmalarında relatif/karşılaştırmalı ekspresyon düzeylerini belirlemek için Livak ve Schmittgen tarafından 2001 yılında geliştirilen karşılaştırmalı C_T ($2^{-\Delta\Delta CT}$) yöntemi kullanılmaktadır. Relatif değerlendirmede; referans örneğe göre hedef genin ifadesindeki değişim belirlenir. Hedef genin ekspresyonunu hesaplamak için qPCR'dan elde edilen C_T verileri kullanılarak, hedef genin kontrol grubuna kıyasla ekspresyon düzeyi değişimi kat

değişimi (Fold change) olarak ifade edilir. Elde edilen C_T değerleri üzerinden $2^{-\Delta\Delta C_T}$ hesaplaması aşağıdaki şekilde yapılmıştır [190].

- Her bir örnek ve ekspresyon seviyesi stabil bir referans gen (iç kontrol gen/house keeping gen) için 2 kopya çalışıldı. Birinci aşamada hedef gen ve referans gen için yapılan iki ölçümün ortalaması alınarak her birinin C_T ortalama değeri hesaplandı.
- Sonraki aşamada deney ve kontrol grubundaki her örneğin hedef gen (miR-29b-3p) C_T değerinden referans olarak kullanılan housekeeping gen (U6 snRNA) C_T değeri çıkarılarak ΔC_T değeri hesaplandı.

$$\Delta C_T = \text{Hedef gen } C_T - \text{housekeeping gen } C_T$$

$$\text{Kontrol Grubu } \Delta C_T = \text{miR-29b-3p } C_T - \text{U6 } C_T$$

$$\text{Preeklampsi Grubu } \Delta C_T = \text{miR-29b-3p } C_T - \text{U6 } C_T$$

- Bir sonraki aşamada $\Delta\Delta C_T$ değerini hesaplamak için; deney grubundaki her bir örneğin ΔC_T değerinden, kontrol grubunun ΔC_T ortalaması çıkarıldı.

$$\Delta\Delta C_T = \text{Deney grubu } \Delta C_T - \text{Kontrol grubu } \Delta C_T \text{ ortalaması}$$

$$\Delta\Delta C_T = \text{Preeklampsi Grubu } \Delta C_T - \text{Kontrol Grubu } \Delta C_T \text{ ortalaması}$$

- Son olarak deney grubundaki miRNA ekspresyonunun kontrol grubuna kıyasla kaç kat değiştiğini belirlemek için $2^{-\Delta\Delta C_T}$ değerleri hesaplandı.

$\Delta\Delta C_T = 0$ ve $2^0 = 1$ olduğu için göreceli gen ekspresyonunun belirlenmesinde kontrol grubu 1'e ayarlanır. Bu çalışmada miR-29b-3p ekspresyon düzeyini değerlendirmek için, iç kontrole göre normalize edilen C_T (ΔC_T) değerleri kullanılmıştır. miR-29b-3p kat değişimini değerlendirmek için ise $2^{-\Delta\Delta C_T}$ değerleri hesaplanmıştır.

3.4. SERUM HCII DÜZEYLERİNİN TAYİNİ

Serum HCII düzeyi tayini ticari “*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*” (ELISA) kiti (SunRed BioTechnology, Katalog numarası: DZE SRB-T-88425, Lot:202311) kullanılarak gerçekleştirildi. Kitin duyarlılığı 0.133 ng/mL, ölçüm aralığı 0.15 ng/mL→40 ng/mL’dir. Varyasyon katsayısı (CV) değerleri çalışma içi <%10; çalışmalar arası <%12’dir.

Prensip:

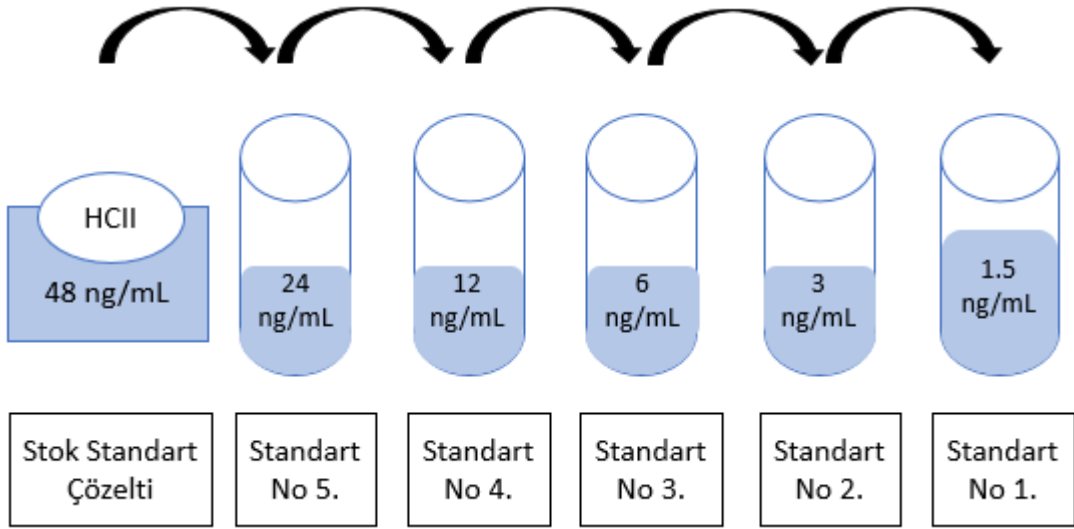
Bu kit, sandviç ELISA yöntemi ile HCII düzeylerini kantitatif olarak tayin etmektedir. Kitte bulunan plakanın insan HCII antikoru ile kaplı kuyucuklarına HCII antijeni içeren örnekler, kit prosedüründe belirtilen hacimde eşit bir şekilde eklenir ve kuyucuklarda antijen-antikor bağlanması gerçekleşir. Daha sonra biyotin ile işaretli HCII antikoru eklenir. Bu işaretlenmiş antikor kuyucuklarda yer alan HCII antijenine bağlanarak sandviç kompleks (antikor-antijen-antikor) oluşturur. Ardından ortama Horseradish Peroksidaz (HRP) işaretli Streptavidin eklenir ve biotinli HCII antikoru bağlanması sağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmayan Streptavidin-HRP yıkanarak uzaklaştırılır. Bir sonraki aşamada kuyucuklara enzime özgü substrat çözeltisi eklenir ve HCII miktarı ile orantılı olarak renkli ürün oluşumu gerçekleşir. Reaksiyon, durdurma solüsyonu eklenmesi ile sonlandırılır ve absorban değerleri 450 nm’de ölçülür.

Tablo 3. 7: HCII ELISA kit içeriği.

Malzeme	Miktar	Malzeme	Miktar
Standart solüsyonu (48 ng/mL)	0.5 mL	Biyotin işaretli insan HCII antikor çözeltisi	1 mL
Standart seyreltme solüsyonu	3 mL	Substrat solüsyonu A	6 mL
Antikor kaplı ELISA plakası (12x8)	1	Substrat solüsyonu B	6 mL
Streptavidin-HRP	6 mL	Durdurma solüsyonu	6 mL
30xYıkama solüsyonu	20 mL	Plaka kapatma membranı	2

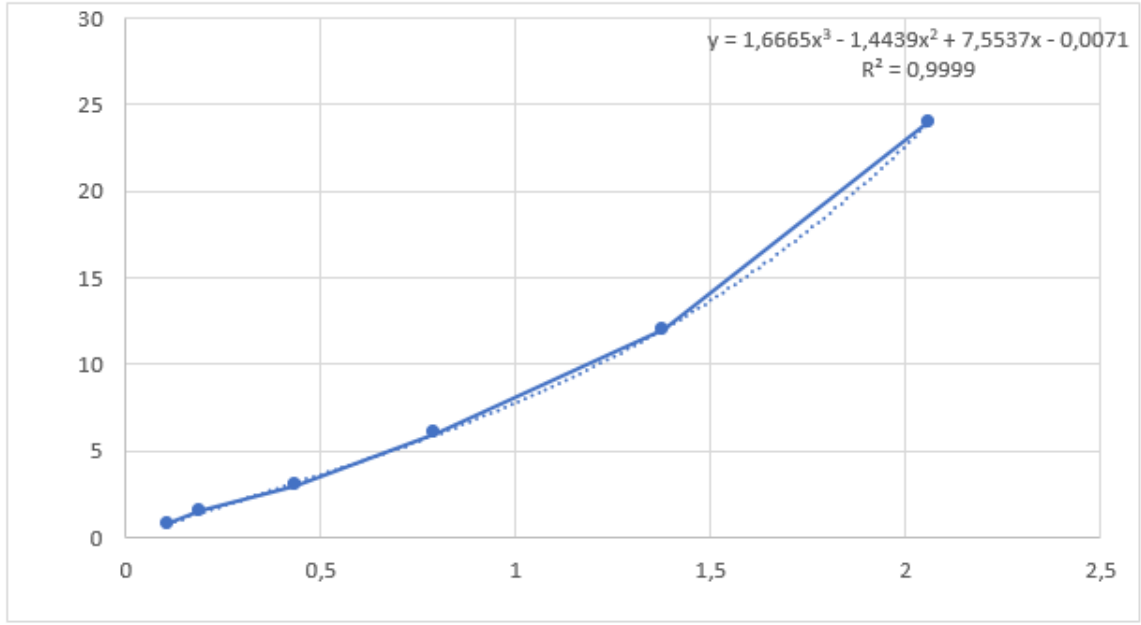
Testin yapılışı

- Tüm ayraçlar, standart çözeltiler ve analiz edilecek örnekler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi.
- Standart eğrisi oluşturmak için, stok standart çözelti hazırlandıktan sonra kit prosedüründe belirtilen oranlarda seri dilüsyonlar yapılarak farklı konsantrasyonlara sahip standart çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan standart çözeltilerin konsantrasyonları şekil 3.2’de gösterilmektedir.



Şekil 3. 2: HCII düzeyi tayini için standart çözelti hazırlanması.

- Plakadaki standart kuyucuklarının ilk 16 tanesine daha önce hazırlanmış olan standart çözeltilerden 50 μ L ilave edildi. Standart çözeltisi biyotinli antikor içerdiği için standart kuyucuklarına antikor eklenmedi.
- Standartlar eklendikten sonra geri kalan diğer kuyucuklara sırasıyla 40 μ L örnek pipetlendi. Ardından örneklerin bulunduğu tüm kuyucuklara 10 μ L anti-HCII antikor eklenildi. Daha sonra kör kuyucuğu hariç olmak üzere örnek ve standartların yer aldığı tüm kuyucuklara 50 μ L Streptavidin-HRP pipetlendi ve plakanın üzeri kapatılarak 37°C’de bir saat inkübe edildi.
- Plak üzeri açılarak kit prosedüründe belirtilen oranda seyreltilmiş yıkama tamponu ile tüm kuyucuklar otomatik ELISA yıkayıcı ile 5 kez yıkandı.
- Tüm kuyucuklara önce 50 μ L kromojen substrat A solüsyonu, ardından 50 μ L kromojen substrat B solüsyonu eklendi ve plaka üzeri kapatılarak karanlıkta 37°C’de 10 dk inkübe edildi. Ardından reaksiyonu durdurmak için her bir kuyucuğa 50 μ L durdurma solüsyonu eklendi ve oluşan mavi renk hızla sarı renge döndü.
- Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içerisinde otomatik mikro ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda OD ölçümü yapıldı. Standart eğrisi oluşturularak (şekil 3.3) örneklerdeki HCII konsantrasyonu ng/mL cinsinden hesaplandı.



Şekil 3. 3: HCII standart eğrisi.

3.5. SERUM DPP3 DÜZEYLERİNİN TAYİNİ

Serum DPP3 düzeyi tayini ticari ELISA kiti (SunRed BioTechnology, Katalog numarası: DZE201123642, Lot:202311) kullanılarak gerçekleştirildi. Kitin duyarlılığı 0.142 ng/mL, ölçüm aralığı 0.15 ng/mL→30 ng/mL'dir. CV değerleri çalışma içi <%10; çalışmalar arası <%12'dir.

Prensip:

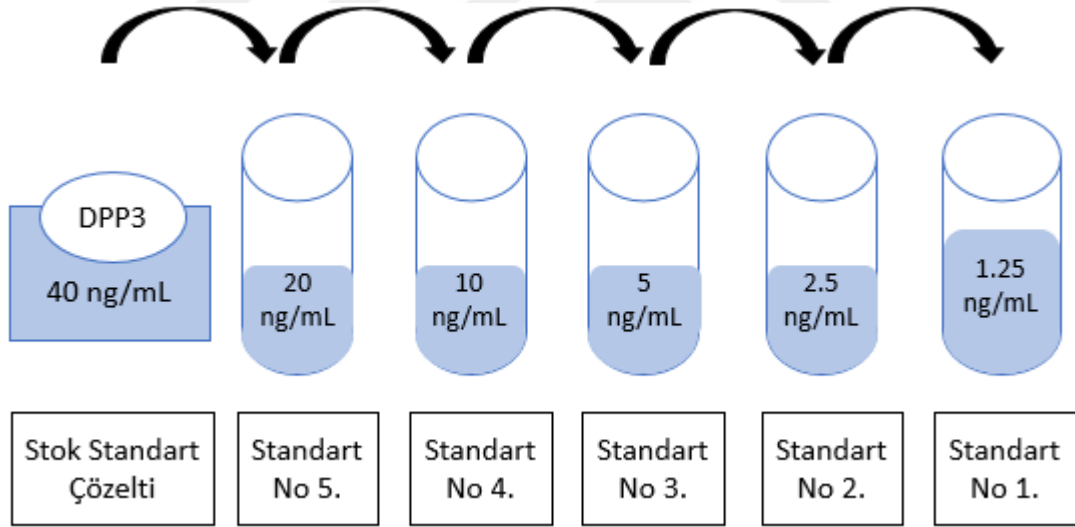
Bu kit, sandviç ELISA yöntemi ile DPP3 düzeylerini kantitatif olarak tayin etmektedir. Kite bulunan plakanın insan DPP3 antikoru ile kaplı kuyucuklarına DPP3 antijeni içeren örnekler, kit prosedüründe belirtilen hacimde eşit bir şekilde eklenir ve kuyucuklarda antijen-antikor bağlanması gerçekleşir. Daha sonra biyotin ile işaretli DPP3 antikoru eklenir. Bu işaretlenmiş antikor kuyucuklarda yer alan DPP3 antijenine bağlanarak sandviç kompleks (antikor-antijen-antikor) oluşur. Ardından ortama HRP işaretli Streptavidin eklenir ve biotinli DPP3 antikoru bağlanması sağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmayan Streptavidin-HRP yıkanarak uzaklaştırılır. Bir sonraki aşamada kuyucuklara enzime özgü substrat çözeltisi eklenir ve DPP3 miktarı ile orantılı olarak renkli ürün oluşumu gerçekleşir. Reaksiyon, durdurma solüsyonu eklenmesi ile sonlandırılır ve absorbans değerleri 450 nm'de ölçülür.

Tablo 3. 8: DPP3 ELISA kit içeriği.

Malzeme	Miktar	Malzeme	Miktar
Standart solüsyonu (40 ng/mL)	0.5 mL	Biyotin işaretli insan DPP3 antikor çözeltisi	1 mL
Standart seyreltme solüsyonu	3 mL	Substrat solüsyonu A	6 mL
Antikor kaplı ELISA plakası (12x8)	1	Substrat solüsyonu B	6 mL
Streptavidin-HRP	6 mL	Durdurma solüsyonu	6 mL
30xYıkama solüsyonu	20 mL	Plaka kapatma membranı	2

Testin yapılışı

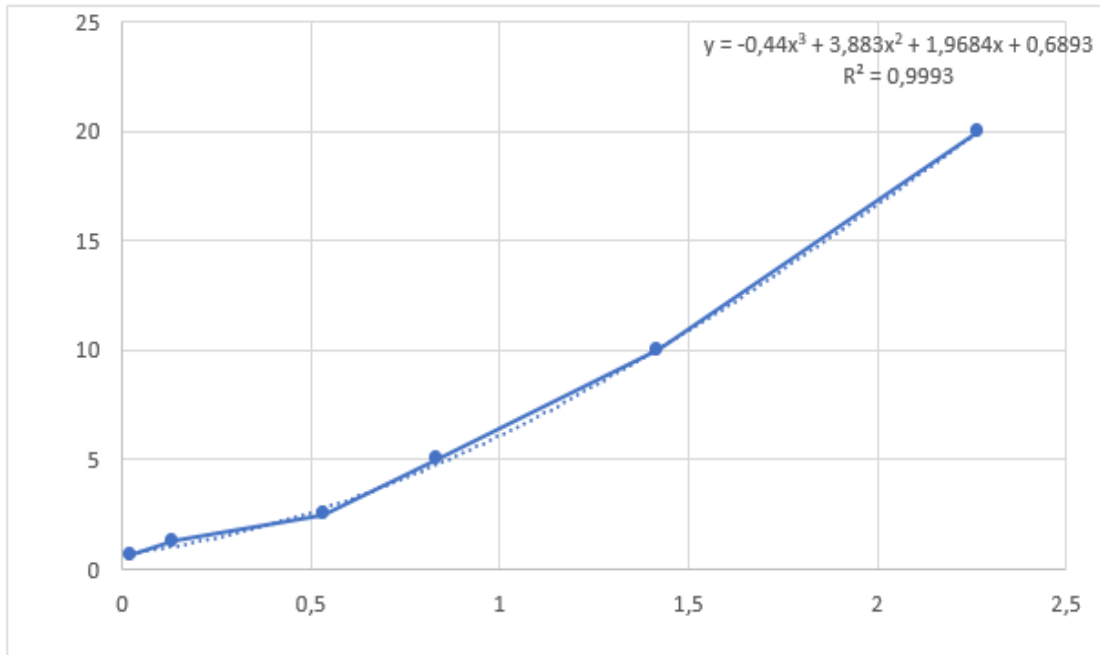
- Tüm ayraçlar, standart çözeltiler ve analiz edilecek örnekler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi.
- Standart eğrisi oluşturmak için, stok standart çözelti hazırlandıktan sonra kit prosedüründe belirtilen oranlarda seri dilüsyonlar yapılarak farklı konsantrasyonlara sahip standart çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan standart çözeltilerin konsantrasyonları şekil 3.4’de gösterilmektedir.

**Şekil 3. 4:** DPP3 düzeyi tayini için standart çözelti hazırlanması.

- Plakadaki standart kuyucuklarının ilk 16 tanesine daha önce hazırlanmış olan standart çözeltilerden 50 μ L ilave edildi. Standart çözeltisi biyotinli antikor içerdiği için standart kuyucuklarına antikor eklenmedi.
- Standartlar eklendikten sonra geri kalan diğer kuyucuklara sırasıyla 40 μ L örnek pipetlendi. Ardından örneklerin bulunduğu tüm kuyucuklara 10 μ L anti- DPP3 antikor

eklendi. Daha sonra kör kuyucuğu hariç olmak üzere örnek ve standartların yer aldığı tüm kuyucuklara 50 µL Streptavidin-HRP pipetlendi ve plakanın üzeri kapatılarak 37°C’de bir saat inkübe edildi.

- Plak üzeri açılarak kit prosedüründe belirtilen oranda seyreltilmiş yıkama tamponu ile tüm kuyucuklar otomatik ELISA yıkayıcı ile 5 kez yıkandı.
- Tüm kuyucuklara önce 50 µL kromojen substrat A solüsyonu, ardından 50 µL kromojen substrat B solüsyonu eklendi ve plaka üzeri kapatılarak karanlıkta 37°C’de 10 dk inkübe edildi. Ardından reaksiyonu durdurmak için her bir kuyucuğa 50 µL durdurma solüsyonu eklendi ve oluşan mavi renk hızla sarı renge döndü.
- Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içerisinde otomatik mikro ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda OD ölçümü yapıldı. Standart eğrisi oluşturularak (şekil 3.5) örneklerdeki DPP3 konsantrasyonu ng/mL cinsinden hesaplandı.



Şekil 3. 5: DPP3 standart eğrisi.

3.6. SERUM mPGES-1 DÜZEYLERİNİN TAYİNİ

Serum mPGES-1 düzeyi tayini ticari ELISA kiti (SunRed BioTechnology, Katalog numarası: DZE201124639, Lot:202311) kullanılarak gerçekleştirildi. Kitin duyarlılığı 0.437

ng/mL, ölçüm aralığı 0.5 ng/mL→100 ng/mL'dir. CV değerleri çalışma içi <%10; çalışmalar arası <%12'dir.

Prensip:

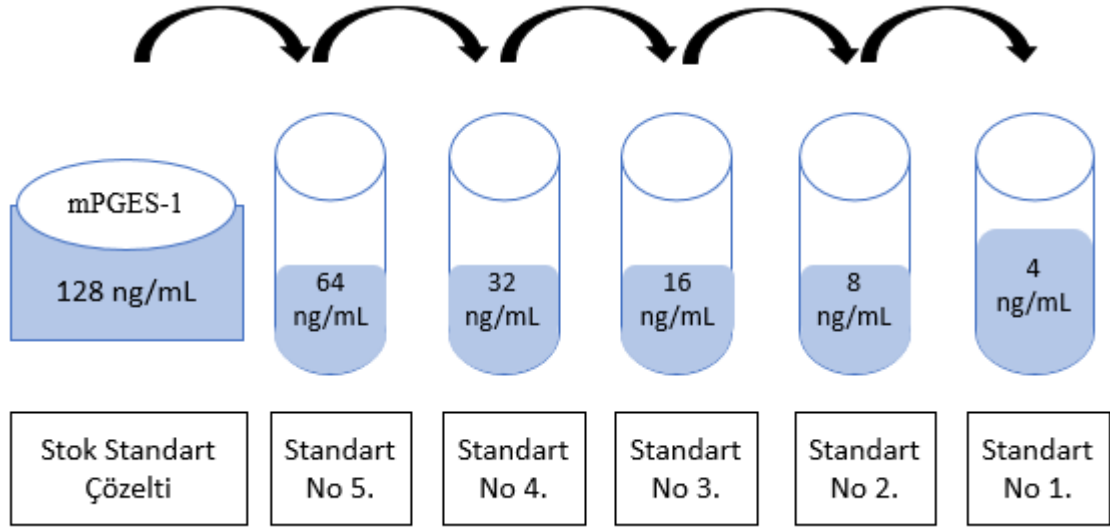
Bu kit, sandviç ELISA yöntemi ile mPGES-1 düzeylerini kantitatif olarak tayin etmektedir. Kitte bulunan plakanın insan mPGES-1 antikoru ile kaplı kuyucuklarına mPGES-1 antijeni içeren örnekler, kit prosedüründe belirtilen hacimde eşit bir şekilde eklenir ve kuyucuklarda antijen-antikor bağlanması gerçekleşir. Daha sonra biyotin ile işaretli mPGES-1 antikoru eklenir. Bu işaretlenmiş antikor kuyucuklarda yer alan mPGES-1 antijenine bağlanarak sandviç kompleks (antikor-antijen-antikor) oluşur. Ardından ortama HRP işaretli Streptavidin eklenir ve biotinli mPGES-1 antikoruyla bağlanması sağlanır. İnkübasyondan sonra bağlanmayan Streptavidin-HRP yıkanarak uzaklaştırılır. Bir sonraki aşamada kuyucuklara enzime özgü substrat çözeltisi eklenir ve mPGES-1 miktarı ile orantılı olarak renkli ürün oluşumu gerçekleşir. Reaksiyon, durdurma solüsyonu eklenmesi ile sonlandırılır ve absorbans değerleri 450 nm'de ölçülür.

Tablo 3. 9: mPGES-1 ELISA kit içeriği.

Malzeme	Miktar	Malzeme	Miktar
Standart solüsyonu (128 ng/mL)	0.5 mL	Biyotin işaretli insan mPGES-1 antikor çözeltisi	1 mL
Standart seyreltme solüsyonu	3 mL	Substrat solüsyonu A	6 mL
Antikor kaplı ELISA plakası (12x8)	1	Substrat solüsyonu B	6 mL
Streptavidin-HRP	6 mL	Durdurma solüsyonu	6 mL
30xYıkama solüsyonu	20 mL	Plaka kapatma membranı	2

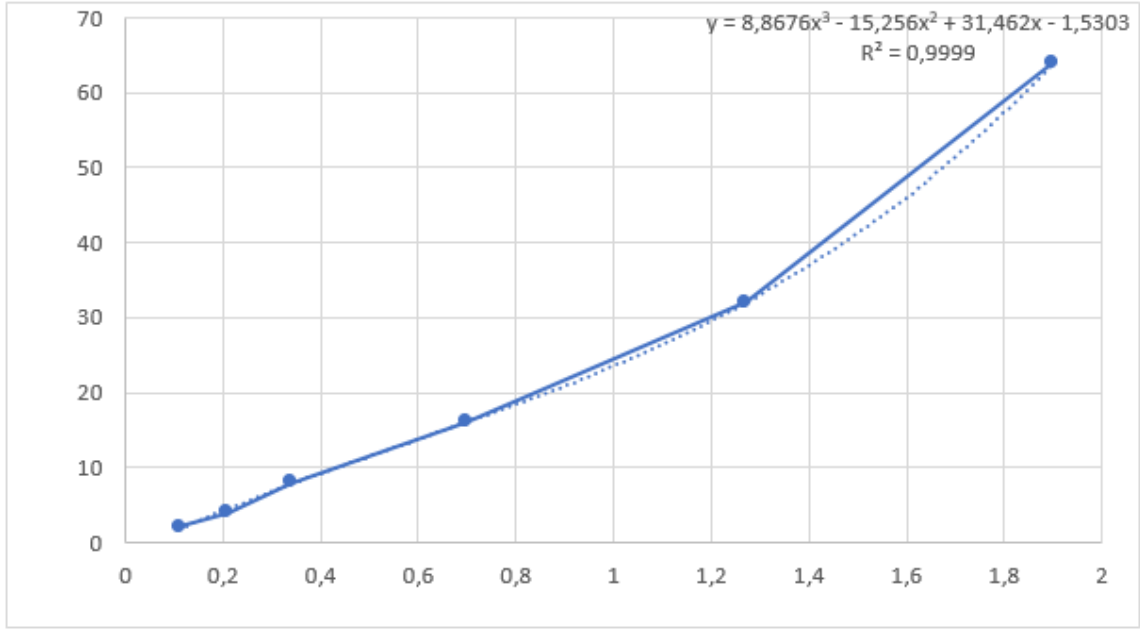
Testin yapılışı

- Tüm ayıraçlar, standart çözeltiler ve analiz edilecek örnekler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi.
- Standart eğrisi oluşturmak için, stok standart çözelti hazırlandıktan sonra kit prosedüründe belirtilen oranlarda seri dilüsyonlar yapılarak farklı konsantrasyonlara sahip standart çözeltiler hazırlandı. Hazırlanan standart çözeltilerin konsantrasyonları şekil 3.6'da gösterilmektedir.



Şekil 3. 6: mPGES-1 düzeyi tayini için standart çözelti hazırlanması.

- Plakadaki standart kuyucuklarının ilk 16 tanesine daha önce hazırlanmış olan standart çözeltilerden 50 μ L ilave edildi. Standart çözeltisi biyotinli antikor içerdiği için standart kuyucuklarına antikor eklenmedi.
- Standartlar eklendikten sonra geri kalan diğer kuyucuklara sırasıyla 40 μ L örnek pipetlendi. Ardından örneklerin bulunduğu tüm kuyucuklara 10 μ L anti-mPGES-1 antikor eklenildi. Daha sonra kör kuyucu hariç olmak üzere örnek ve standartların yer aldığı tüm kuyucuklara 50 μ L Streptavidin-HRP pipetlendi ve plakanın üzeri kapatılarak 37° C’de bir saat inkübe edildi.
- Plak üzeri açılarak kit prosedüründe belirtilen oranda seyreltilmiş yıkama tamponu ile tüm kuyucuklar otomatik ELISA yıkayıcı ile 5 kez yıkandı.
- Tüm kuyucuklara önce 50 μ L kromojen substrat A solüsyonu, ardından 50 μ L kromojen substrat B solüsyonu eklendi ve plaka üzeri kapatılarak karanlıkta 37°C’de 10 dk inkübe edildi. Ardından reaksiyonu durdurmak için her bir kuyucuğa 50 μ L durdurma solüsyonu eklendi ve oluşan mavi renk hızla sarı renge döndü.
- Durdurma solüsyonu eklendikten sonra 15 dakika içerisinde otomatik mikro ELISA okuyucuda 450 nm dalga boyunda OD ölçümü yapıldı. Standart eğrisi oluşturularak (şekil 3.7) örneklerdeki mPGES-1 konsantrasyonu ng/mL cinsinden hesaplandı.



Şekil 3. 7: mPGES-1 standart eğrisi.

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZLER

Çalışmanın verileri “IBM SPSS Statistics 26” paket programı aracılığı ile analiz edilmiştir. Normal dağılım için değişkenlere ait çarpıklık ve basıklık değerleri incelenmiş ve değerlerin ± 1.5 aralığında olması normal dağılım olarak kabul edilmiştir [191]. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistikler için ortalama, standart sapma medyan ve Çeyrekler arası aralık (IQR) verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırmalarda tüm değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir. Gruplardaki verilerin normal dağılım göstermesi halinde iki grup ortalamasının karşılaştırılmasında parametrik testlerden olan ‘Bağımsız örneklem t testi’ kullanılmıştır. Verilerin normal dağılım göstermediği durumlarda ise iki grup karşılaştırılmasında Non-parametrik testlerden olan ‘Mann- Whitney U testi’ ikiden fazla grubun karşılaştırılmasında ‘Kruskal-Wallis H testi’ tercih edilmiştir. İkiden fazla grup karşılaştırmalarında anlamlı çıkan sonuçlarda, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için, ‘Kruskal-Wallis H testi’ için ‘Mann- Whitney U testi’ yapılarak Bonferoni düzeltmesi yapılmıştır. Değişkenlerin birbiri ile ilişkisi ise ‘Pearson Correlation’ analizi ile değerlendirilmiştir. Analizler sonucunda $p < .05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Tablo 4. 1: Katılımcıların tanımlayıcı özellikleri.

Değişken	Preeklamps (50)	Kontrol (30)	Anlamlılık	
	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$		
Yaş	30.28±4.5	29.27±5.1	t: -.922	p= .359
VKİ	27.85±3	28.82±5.1	t: 1.080	p= .283
Sistolik kan basıncı	157.44±13.7	116.90±14.5	t: -12.554	p= .000
Diastolik kan basıncı	99.34±10.1	72.27±9.6	t: -11.832	p= .000
Gebelik haftası	33.38±4.9	35.10±5	t: 1.514	p= .134
Fetal kilo	2127.24±813.4	3045.03±644.1	t: 5.265	p= .000

$\bar{x}$: Ortalama; ss: Standart sapma; t: Bağımsız örneklem t testi; VKİ: Vücut kütle indeksi

Katılımcılara ait tanımlayıcı özellikler tablo 4.1’de verilmiştir. Preeklamps grubundaki katılımcıların yaş ortalaması 30.28±4.5, kontrol grubundaki katılımcıların yaş ortalaması 29.27±5.1 olup, yapılan bağımsız örneklem t testi sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır (t: -.922; p>.05).

Preeklamps grubundaki katılımcıların VKİ ortalaması 27.85±3, kontrol grubundaki katılımcıların VKİ ortalaması 28.82±5.1 olup, yapılan bağımsız örneklem t testi sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır (t: 1.080; p>.05).

Preeklamps grubundaki katılımcıların sistolik kan basıncı ortalaması 157.44±13.7, kontrol grubundaki katılımcıların sistolik kan basıncı ortalaması 116.90±14.5 olup, yapılan bağımsız örneklem t testi sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur (t: -12.554; p<.05).

Preeklamps grubundaki katılımcıların diastolik kan basıncı ortalaması 99.34±10.1, kontrol grubundaki katılımcıların diastolik kan basıncı ortalaması 72.27±9.6 olup, yapılan bağımsız örneklem t testi sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur (t: -11.832; p<.05).

Preeklampsia grubundaki katılımcıların çalışmaya katıldığı zamandaki gebelik haftası ortalaması 33.38 ± 4.9 , kontrol grubundaki katılımcıların ortalaması 35.10 ± 5 olup, yapılan bağımsız örneklem t testi sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmamıştır (t: 1.514; $p > .05$).

Preeklampsia grubunda fetal kilo ortalaması 2127.24 ± 813.4 , kontrol grubunda fetal kilo ortalaması 3045.03 ± 644.1 olup, yapılan bağımsız örneklem t testi sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur (t: 5.265; $p < .05$).

Bu bulgulara göre, hasta ve kontrol grubunun yaş, VKİ ve gebelik hastası benzerlik göstermekteyken, preeklampsia grubunda sistolik kan basıncı ve diyastolik kan basıncı kontrol grubundan daha yüksek, fetal kilo ise kontrol grubundan daha düşüktür.

Tablo 4. 2: Erken-geç preeklampsia ve kontrol gruplarında tanımlayıcı özellikler.

Değişken	Erken PE (24)	Geç PE (26)	EP Kontrol (15)	GP Kontrol (15)	Anlamlılık	
	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$		
Yaş	29.71 ± 4.85	30.81 ± 4.23	28.80 ± 6.09	29.73 ± 4.11	KW: 3.617	$p = .306$
VKİ	26.95 ± 2.99	28.67 ± 2.77	29.33 ± 5.08	28.31 ± 5.21	KW: 5.048	$p = .168$
SKB*	^a 156.88 ± 14.42	^a 157.96 ± 13.19	^b 117.53 ± 16.21	^b 116.27 ± 13.13	KW: 52.516	$p = .000$
DKB*	^a 98.25 ± 10.46	^a 100.35 ± 9.78	^b 70.87 ± 10.06	^b 73.67 ± 9.33	KW: 52.047	$p = .000$
GH*	^b 29.08 ± 3.31	^a 37.35 ± 1.52	^b 31.80 ± 5.24	^a 38.40 ± 0.99	KW: 51.887	$p = .000$
Fetal kilo*	^c 1511.33 ± 619.47	^b 2695.77 ± 493.26	^{ab} 2802.47 ± 799.87	^a 3287.60 ± 305.64	KW: 46.062	$p = .000$

$\bar{x}$: Ortalama; ss: Standart sapma; KW: Kruskal Wallis-H testi; * Bonferoni düzeltmesi yapılmıştır ($p < .0125$ anlamlı kabul edilmiştir); $a > b > c$; Erken PE: 34. gebelik haftasından önce preeklampsia grubu; Geç PE: 34. gebelik haftasından sonra preeklampsia grubu; EP Kontrol: 34. gebelik haftasından önce sağlıklı gebe grubu; GP Kontrol: 34. gebelik haftasından sonra sağlıklı gebe grubu; VKİ: Vücut kütle indeksi; SKB: Sistolik kan basıncı; DKB: Diyastolik kan basıncı; GH: Gebelik haftası

Erken preeklampsia grubundaki katılımcıların yaş ortalaması 29.71 ± 4.85 , geç preeklampsia grubundaki katılımcıların yaş ortalaması 30.81 ± 4.23 , erken kontrol grubundaki katılımcıların yaş ortalaması 28.80 ± 6.09 , geç kontrol grubundaki katılımcıların yaş ortalaması 29.73 ± 4.11 olup, yapılan Kruskal Wallis H testi sonucunda gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (KW: 3.617; $p > .05$).

Erken preeklampsia grubundaki katılımcıların VKİ ortalaması 26.95 ± 2.99 , geç preeklampsia grubundaki katılımcıların VKİ ortalaması 28.67 ± 2.77 , erken kontrol grubundaki katılımcıların VKİ ortalaması 29.33 ± 5.08 , geç kontrol grubundaki katılımcıların VKİ

ortalaması 28.31 ± 5.21 olup, yapılan analiz sonucunda gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (KW: 5.048; $p > .05$).

Erken preeklampsi grubundaki katılımcıların SKB ortalaması 156.88 ± 14.42 , geç preeklampsi grubundaki katılımcıların SKB ortalaması 157.96 ± 13.19 , erken kontrol grubundaki katılımcıların SKB ortalaması 117.53 ± 16.21 , geç kontrol grubundaki katılımcıların SKB ortalaması 116.27 ± 13.13 olup, yapılan analiz sonucunda gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (KW: 52.516; $p < .05$). Yapılan ileri analiz sonucunda erken ve geç preeklampsi grubundaki katılımcıların sistolik kan basıncının, erken ve geç kontrol grubundaki katılımcılardan yüksek olduğu bulunmuştur.

Erken preeklampsi grubundaki katılımcıların DKB ortalaması 98.25 ± 10.46 , geç preeklampsi grubundaki katılımcıların ortalaması 100.35 ± 9.78 , erken kontrol grubundaki katılımcıların DKB ortalaması 70.87 ± 10.06 , geç kontrol grubundaki katılımcıların ortalaması 73.67 ± 9.33 olup, yapılan analiz sonucunda gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (KW: 52.047; $p < .05$). Yapılan ileri analiz sonucunda erken ve geç preeklampsi grubundaki katılımcıların diyastolik kan basıncının, erken ve geç kontrol grubundaki katılımcılardan yüksek olduğu bulunmuştur.

Erken preeklampsi grubundaki katılımcıların gebelik haftası ortalaması 29.08 ± 3.31 , geç preeklampsi grubundaki katılımcıların ortalaması 37.35 ± 1.52 , erken kontrol grubundaki katılımcıların gebelik haftası ortalaması 31.80 ± 5.24 , geç kontrol grubundaki katılımcıların ortalaması 38.40 ± 0.99 olup, yapılan analiz sonucunda gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (KW: 51.887; $p < .05$). Yapılan ileri analiz sonucunda geç kontrol ve geç preeklampsi grubundaki katılımcıların gebelik haftası benzerlik göstermekte olup, erken preeklampsi ve erken kontrol grubundan yüksektir.

Erken preeklampsi grubunda fetal kilo ortalaması 1511.33 ± 619.47 , geç preeklampsi grubunda 2695.77 ± 493.26 , erken kontrol grubunda fetal kilo ortalaması 2802.47 ± 799.87 , geç kontrol grubunda ise 3287.60 ± 305.64 olup, yapılan analiz sonucunda gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (KW: 46.062; $p < .05$). Yapılan ileri analiz sonucunda erken preeklampsi grubunda fetal kilo en düşük, ardından geç preeklampsi grubu gelmekte ve geç kontrol grubunda ise en yüksek bulunmuştur.

Tablo 4. 3: Preeklampsi ve kontrol grubunun biyokimyasal ve koagülasyon parametreleri.

Değişken	Preeklampsi (50)	Kontrol (30)	Anlamlılık	
	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$		
Total protein (g/dL)	5.80±0.60	6.42±0.41	t: 4.977	p= .000
Albümin (g/dL)	3.08±0.35	3.55±6.00	t: 6.777	p= .000
AST (IU/L)	19.78±8.52	18.23±8.89	t: -.773	p= .442
ALT (IU/L)	14.92±7.84	12.43±11.46	t: .792	p= .253
Total Bilirubin (mg/dL)	0.31±0.20	0.31±0.17	t: -.020	p= .984
Üre (mg/dL)	24.32±10.70	14.33±4.62	t: -4.837	p= .000
Kreatinin (mg/dL)	0.61±0.22	0.47±0.08	t: -3.284	p= .002
PT (sn)	11.19±0.67	11.94±0.73	t: 4.638	p= .000
Protrombin aktivitesi (%)	108.60±9.27	109.73±11.60	t: .479	p= .633
INR	0.95±0.07	1.05±0.07	t: 6.050	p= .000
aPTT (sn)	25.88±3.67	25.26±2.00	t: -.841	p= .403
Sodyum (mEq/L)	137.02±2.78	136.77±2.30	t: -.420	p= .676
Potasyum (mEq/L)	4.40±0.43	4.09±0.28	t: -3.535	p= .001
Klor (mEq/L)	106.30±3.06	104.27±2.70	t: -3.003	p= .004
Kalsiyum (mEq/L)	8.90±0.48	8.93±0.37	t: .287	p= .775
Ürik asit (mg/dL)	5.55±1.64	3.90±0.92	t: -5.054	p= .000

$\bar{x}$: Ortalama; ss: Standart sapma; t: Bağımsız örneklem t testi; AST: Aspartat amino transferaz; ALT: Alanin amino transferaz; PT: Protrombin zamanı; INR: Uluslararası Normalizasyon Oranı; aPTT: Aktive Parsiyel Tromboplastin Zamanı

Total protein ortalaması Preeklampsi grubunda 5.80±0.60, kontrol grubunda 6.42±0.41 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (t: 4.977; p<.05). Albümin ortalaması Preeklampsi grubunda 3.08±0.35, kontrol grubunda 3.55±6.00 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (t: 6.777; p<.05). AST ortalaması Preeklampsi grubunda 19.78±8.52, kontrol grubunda 18.23±8.89 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (t: -.773; p>.05). ALT ortalaması Preeklampsi grubunda 14.92±7.84, kontrol grubunda 12.43±11.46 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (t: .792; p>.05). Total bilirubin ortalaması Preeklampsi grubunda 0.31±0.20, kontrol grubunda 0.31±0.17 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (t: -.020; p>.05). Üre ortalaması Preeklampsi grubunda 24.32±10.70, kontrol grubunda 14.33±4.62 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (t: -4.837; p<.05). Kreatinin ortalaması Preeklampsi grubunda 0.61±0.22, kontrol grubunda 0.47±0.08 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (t: -3.284; p<.05). PT

ortalaması Preeklampsisi grubunda 11.19 ± 0.67 , kontrol grubunda 11.94 ± 0.73 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (t: 4.638; $p < .05$). Protrombin aktivitesi ortalaması Preeklampsisi grubunda 108.60 ± 9.27 , kontrol grubunda 109.73 ± 11.60 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (t: .479; $p > .05$). INR ortalaması Preeklampsisi grubunda 0.95 ± 0.07 , kontrol grubunda 1.05 ± 0.07 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (t: 6.050; $p < .05$). aPTT ortalaması Preeklampsisi grubunda 25.88 ± 3.67 , kontrol grubunda 25.26 ± 2.00 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (t: -.841; $p > .05$). Sodyum ortalaması Preeklampsisi grubunda 137.02 ± 2.78 , kontrol grubunda 136.77 ± 2.30 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (t: -.420; $p > .05$). Potasyum ortalaması Preeklampsisi grubunda 4.40 ± 0.43 , kontrol grubunda 4.09 ± 0.28 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (t: -3.535; $p < .05$). Klor ortalaması Preeklampsisi grubunda 106.30 ± 3.06 , kontrol grubunda 104.27 ± 2.70 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (t: -3.003; $p < .05$). Kalsiyum ortalaması Preeklampsisi grubunda 8.90 ± 0.48 , kontrol grubunda 8.93 ± 0.37 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (t: .287; $p > .05$). Ürik asit ortalaması Preeklampsisi grubunda 5.55 ± 1.64 , kontrol grubunda 3.90 ± 0.92 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (t: -5.054; $p < .05$).

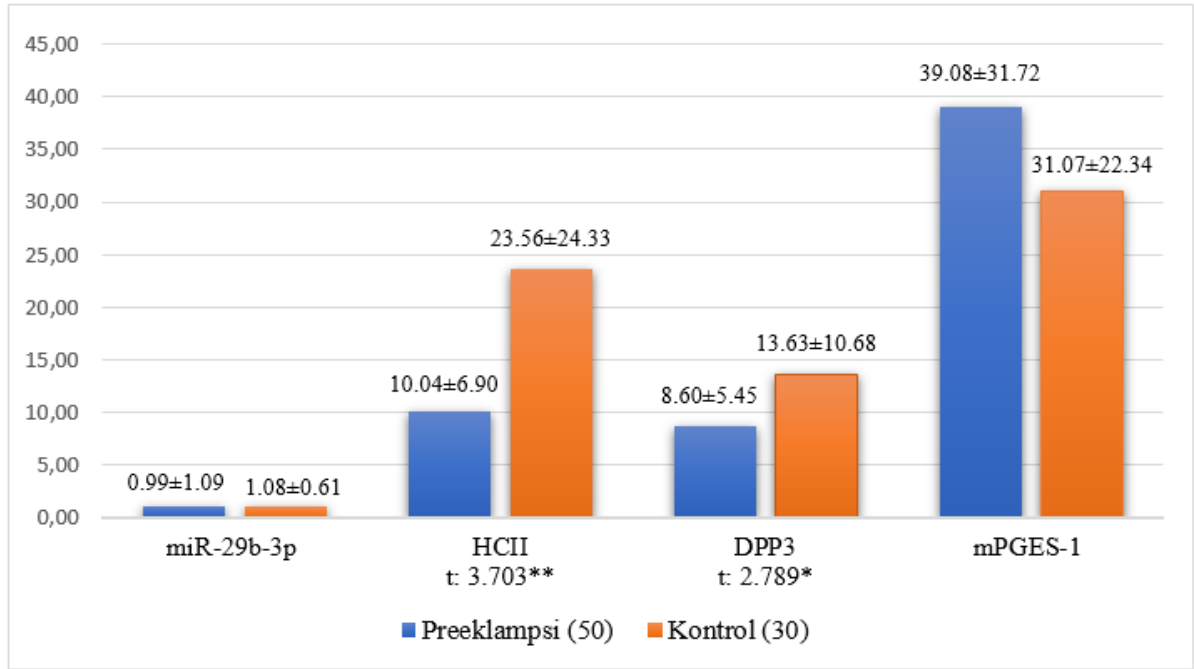
Bu bulgulara göre; Total protein, Albümin, PT ve INR düzeyleri, preeklampsisi grubunda daha düşüktür. Üre, kreatinin, ürik asit, potasyum ve klor düzeyleri ise preeklampsisi grubunda, kontrol grubuna göre daha yüksektir.

Tablo 4. 4: Analiz edilen parametrelere ait ortalama, standart sapma, medyan, IQR ve normallik analizi sonuçları.

Grup	Değişken	$\bar{x} \pm ss$	Medyan (IQR)	Skewness	Kurtosis
Preeklampsi (50)	miR-29b-3p ($2^{-\Delta\Delta CT}$)	.99 $\pm$ 1.09	.50(1.23)	1.405	1.372
	HCII (ng/mL)	10.04 $\pm$ 6.90	7.41(6.70)	1.287	.494
	DPP3 (ng/mL)	8.60 $\pm$ 5.45	6.90(5.67)	1.058	-.085
	Mpges-1 (ng/mL)	39.08 $\pm$ 31.72	25.61(28.47)	1.493	1.131
Kontrol (30)	miR-29b-3p ($2^{-\Delta\Delta CT}$)	1.08 $\pm$.61	.97(.95)	.663	-.665
	HCII (ng/mL)	23.56 $\pm$ 24.33	9.59(35.62)	1.367	.995
	DPP3 (ng/mL)	13.63 $\pm$ 10.68	8.61(17.33)	.966	-.332
	Mpges-1 (ng/mL)	31.07 $\pm$ 22.34	21.18(34.88)	1.079	.280

$\bar{x}$: Ortalama; ss: Standart sapma; IQR: Çeyrekler arası aralık; Skewness: Çarpıklık; Kurtosis: Basıklık; HCII: Heparin Kofaktör II; DPP3: Dipeptidil Peptidaz 3; mPGES-1: Mikrozomal Prostaglandin E sentaz-1

Preeklampsi grubunda miR-29b-3p ortalaması .99 $\pm$ 1.09, medyanı .50 (1.23) olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubunda miR-29b-3p ortalaması 1.08 $\pm$.61, medyanı .97 (.95) olarak hesaplanmıştır. Preeklampsi grubunda HCII ortalaması 10.04 $\pm$ 6.90, medyanı 7.41 (6.70) olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubunda HCII ortalaması 23.56 $\pm$ 24.33, medyanı 9.59 (35.62) olarak hesaplanmıştır. Preeklampsi grubunda DPP3 ortalaması 8.60 $\pm$ 5.45, medyanı 6.90 (5.67) olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubunda DPP3 ortalaması 13.63 $\pm$ 10.68, medyanı 8.61 (17.33) olarak hesaplanmıştır. Preeklampsi grubunda mPGES-1 ortalaması 39.08 $\pm$ 31.72, medyanı 25.61 (28.47) olarak hesaplanmıştır. Kontrol grubunda mPGES-1 ortalaması 31.07 $\pm$ 22.34, medyanı 21.18 (34.88) olarak hesaplanmıştır. Her iki grupta da analiz edilen çarpıklık basıklık değerlerinin normal ve normale yakın olduğu görülmektedir.



Şekil 4. 1: miR-29b-3p, HCII, DPP3 ve mPGES-1 düzeylerinin preeklampsisi ve kontrol grubunda farkları.

*p<.05; **p<.001; t: Bağımsız örneklem t testi; HCII: Heparin Kofaktör II; DPP3: Dipeptidil Peptidaz 3; mPGES-1: Mikrozomal Prostaglandin E sentaz-1

Preeklampsisi grubunda miR-29b-3p ekspresyonu ortalaması $0,99\pm1,09$, kontrol grubunda miR-29b-3p ortalaması $1,08\pm0,61$ olup, yapılan bağımsız örneklem t testi sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan farklılık olmadığı bulunmuştur (t: .415; p>.05). Bu bulguya göre miR-29b-3p ekspresyonları sağlıklı gebeler ve preeklampitik gebeler arasında benzerdir.

Preeklampsisi grubunda HCII düzeyleri ortalaması 10.04 ± 6.90 , kontrol grubunda 23.56 ± 24.33 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan farklılık olduğu bulunmuştur (t: 3.703; p<.05). Bu bulguya göre preeklampitik gebelerdeki HCII konsantrasyonları, normal sağlıklı gebelerden daha düşüktür.

Preeklampsisi grubunda DPP3 düzeyleri ortalaması 8.60 ± 5.45 , kontrol grubunda 13.63 ± 10.68 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan farklılık olduğu bulunmuştur (t: 2.789; p<.05). Bu bulguya göre preeklampitik gebelerdeki DPP3 düzeyleri, normal sağlıklı gebelerden daha düşüktür.

Preeklampsisi grubunda mPGES-1 konsantrasyonu ortalaması 39.08 ± 31.72 , kontrol grubunda ortalaması 31.07 ± 22.34 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan farklılık olmadığı bulunmuştur (t: -1.214; p>.05). Bu bulguya göre mPGES-1 konsantrasyonu sağlıklı gebeler ve preeklampitik gebeler arasında benzerdir.

Tablo 4. 5: Proteinüri görülen ve görülmeyen preeklampsi gruplarında miR-29b-3p, HCII, DPP3 ve mPGES-1 farkları.

	miR-29b-3p	HCII	DPP3	mPGES-1
Değişken	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$	$\bar{x} \pm ss$
Proteinüri yok (17)	0.63±0.88	11.78±8.18	9.44±6.31	49.31±36.86
Proteinüri ≥2+ (33)	1.17±1.15	9.14±6.08	8.17±5.00	33.81±27.88
	Z: -1.792	Z: -1.014	Z: -.266	Z: -1.198
	p= .073	p= .311	p= .790	p= .231

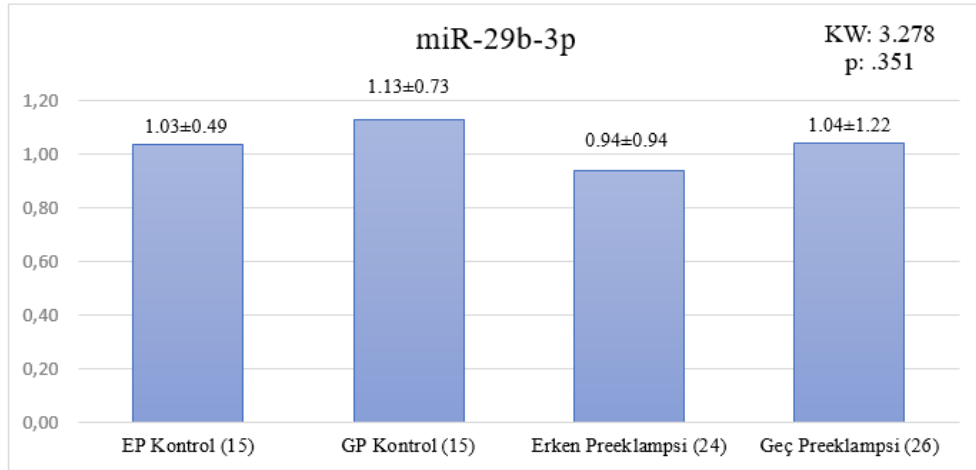
$\bar{x}$: Ortalama; ss: Standart sapma; Z: Mann Whitney U testi; HCII: Heparin Kofaktör II; DPP3: Dipeptidil Peptidaz 3; mPGES-1: Mikrozomal Prostaglandin E sentaz-1

Proteinüri görülmeyen preeklampsi grubunda miR-29b-3p ekspresyonu ortalaması 0.63±0.88, proteinüri görülen preeklampsi grubunda 1.17±1.15 olup, yapılan Mann Whitney U testi sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (Z: -1.792; p>.05). Ortalamalar incelendiğinde istatistiksel anlamlılık olmasa da miR-29b-3p ekspresyonu proteinüri olan preeklampsi grubunda, proteinüri olmayan grubun yaklaşık iki katı kadardır.

Proteinüri görülmeyen preeklampsi grubunda HCII düzeyi ortalaması 11.78±8.18, proteinüri görülen preeklampsi grubunda 9.14±6.08 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (Z: -1.014; p>.05).

Proteinüri görülmeyen preeklampsi grubunda DPP3 düzeyi ortalaması 9.44±6.31, proteinüri görülen preeklampsi grubunda 8.17±5.00 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (Z: -.266; p>.05).

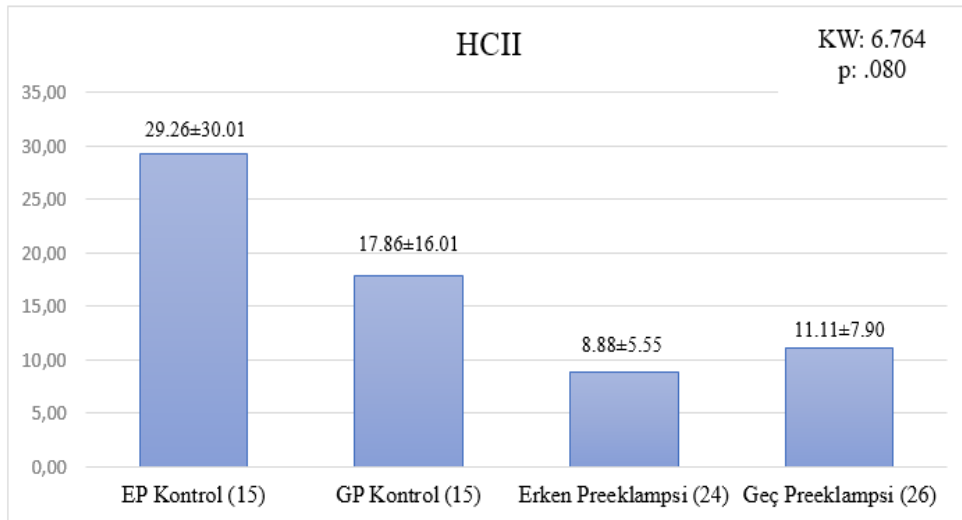
Proteinüri görülmeyen preeklampsi grubunda mPGES-1 düzeyi ortalaması 49.31±36.86, proteinüri görülen preeklampsi grubunda 33.81±27.88 olup, yapılan analiz sonucunda iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (Z: -1.198; p>.05).



Şekil 4. 2: miR-29b-3p ekspresyon düzeylerinin gestasyonun farklı dönemlerinde sağlıklı ve preeklampitik gebelerde farkları.

KW: Kruskal Wallis H testi

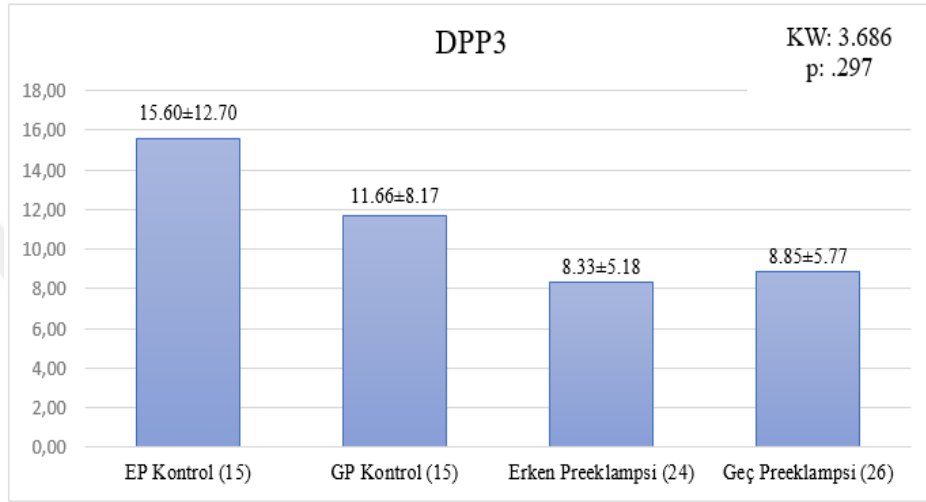
miR-29b-3p ekspresyonu ortalaması erken preeklampsi kontrol grubunda 1.03 ± 0.49 , geç preeklampsi kontrol grubunda 1.13 ± 0.73 , erken preeklampsi grubunda 0.94 ± 0.94 , geç preeklampsi grubunda 1.04 ± 1.22 olup, yapılan Kruskal Wallis H testi sonucunda gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (KW: 3.278; $p > .05$). Bu bulguya göre miR-29b-3p ekspresyon seviyeleri gestasyonun erken ve geç evrelerinde, preeklampitik ve sağlıklı gebeler arasında değişiklik göstermemektedir.



Şekil 4. 3: HCII konsantrasyonlarının gestasyonun farklı dönemlerinde sağlıklı ve preeklampitik gebelerde farkları.

KW: Kruskal Wallis H testi

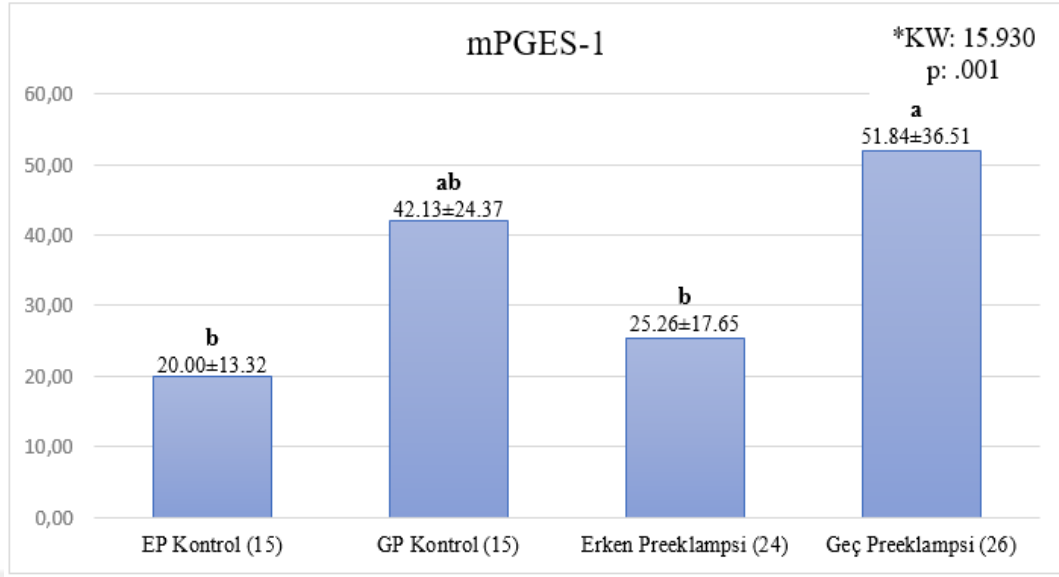
HCII konsantrasyon ortalaması erken preeklampsi kontrol grubunda 29.26 ± 30.01 , geç preeklampsi kontrol grubunda 17.86 ± 16.01 , erken preeklampsi grubunda 8.88 ± 5.55 , geç preeklampsi grubunda 11.11 ± 7.90 olup, yapılan Kruskal Wallis H testi sonucunda gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (KW: 6.764; $p > .05$). Bu bulguya göre HCII seviyeleri gestasyonun erken ve geç evrelerinde, preeklamptik ve sağlıklı gebeler arasında değişiklik göstermemektedir.



Şekil 4. 4: DPP3 konsantrasyonlarının gestasyonun farklı dönemlerinde sağlıklı ve preeklamptik gebelerde farkları.

KW: Kruskal Wallis H testi

DPP3 konsantrasyon ortalaması erken preeklampsi kontrol grubunda 15.60 ± 12.70 , geç preeklampsi kontrol grubunda 11.66 ± 8.17 , erken preeklampsi grubunda 8.33 ± 5.18 , geç preeklampsi grubunda 8.85 ± 5.77 olup, yapılan Kruskal Wallis H testi sonucunda gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olmadığı bulunmuştur (KW: 3.686; $p > .05$). Bu bulguya göre DPP3 seviyeleri gestasyonun erken ve geç evrelerinde, preeklamptik ve sağlıklı gebeler arasında değişiklik göstermemektedir.



Şekil 4. 5: mPGES-1 konsantrasyonlarının gestasyonun farklı dönemlerinde sağlıklı ve preeklampitik gebelerde farkları.

a>b; KW: Kruskal Wallis H testi; *Bonferoni düzeltmesi yapılmıştır (p<.0125 anlamlı kabul edilmiştir).

mPGES-1 konsantrasyon ortalaması erken preeklampsi kontrol grubunda 20.00 ± 13.32 , geç preeklampsi kontrol grubunda 42.13 ± 24.37 , erken preeklampsi grubunda 25.26 ± 17.65 , geç preeklampsi grubunda 51.84 ± 36.51 olup, yapılan Kruskal Wallis H testi sonucunda gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık olduğu bulunmuştur (KW: 15.930; $p < .05$). Yapılan ileri analiz sonucunda; geç preeklampsi grubunun mPGES-1 düzeyleri en yüksek, erken preeklampsi ve erken preeklampsi kontrol grubunun düzeyleri ise en düşük bulunmuştur. Bu bulguya göre gestasyonun geç dönemlerinde oluşan preeklampsideki mPGES-1 düzeyleri, erken dönem sağlıklı ve preeklampitik gebelerden daha yüksektir.

Tablo 4. 6: Preeklampsi ve kontrol grubunda miR-29b-3p, HCII, DPP3 ve mPGES-1'in birbiri ile ilişkisi.

Grup	Parametre	(1)	(2)	(3)	(4)
Preeklampsi (50)	miR-29b-3p (1)	1	r: -.251 p= .079	r: -.180 p= .211	r: -.139 p= .337
	HCII (2)		1	r: .730 p= .000	r: .379 p= .007
	DPP3 (3)			1	r: .344 p= .014
	mPGES-1 (4)				1
Kontrol (30)	miR-29b-3p (1)	1	r: -.270 p= .150	r: -.215 p= .253	r: -.154 p= .417
	HCII (2)		1	r: .959 p= .000	r: .092 p= .627
	DPP3 (3)			1	r: .161 p= .395
	mPGES-1 (4)				1

r: Korelasyon katsayısı; HCII: Heparin Kofaktör II; DPP3: Dipeptidil Peptidaz 3; mPGES-1: Mikrozomal Prostaglandin E sentaz-1

Preeklampsi grubunda miR-29b-3p ekspresyon düzeyi ile serum HCII, DPP3 ve mPGES-1 düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir korelasyon olmadığı bulunmuştur ($p>.05$). Preeklampsi grubunda serum HCII düzeyi ile serum DPP3 arasında pozitif yönde korelasyon istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($r: .730$; $p<.001$). Preeklampsi grubunda serum HCII düzeyi ile serum mPGES-1 arasında pozitif yönde korelasyon istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($r: .379$; $p<.05$). Preeklampsi grubunda serum DPP3 düzeyi ile serum mPGES-1 arasında pozitif yönde korelasyon istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($r: .344$; $p<.05$).

Kontrol grubunda miR-29b-3p ekspresyon düzeyi ile serum HCII, DPP3 ve mPGES-1 düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir korelasyon olmadığı bulunmuştur ($p>.05$). Kontrol grubunda serum HCII düzeyi ile serum DPP3 arasında pozitif yönde korelasyon istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($r: .959$; $p<.001$). Kontrol grubunda serum mPGES-1 düzeyleri ile serum HCII ve serum DPP3 düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir korelasyon olmadığı bulunmuştur ($p>.05$).

Tablo 4. 7: miR-29b-3p, HCII, DPP3 ve mPGES-1 düzeylerinin gebelerin tanımlayıcı özellikleri ile ilişkisi.

Değişken	miR-29b-3p		HCII		DPP3		mPGES-1	
	PE	K	PE	K	PE	K	PE	K
Yaş	r: .215	r: .114	r: -.027	r: .105	r: -.063	r: .025	r: -.106	r: .196
	p= .134	p= .550	p= .850	p= .582	p= .663	p= .896	p= .463	p= .299
VKİ	r: .096	r: -.263	r: .012	r: .007	r: -.083	r: -.017	r: -.044	r: .156
	p= .508	p= .160	p= .937	p= .971	p= .565	p= .927	p= .761	p= .411
SKB	r: .279	r: .052	r: -.251	r: -.234	r: -.106	r: -.213	r: -.179	r: -.250
	p= .049	p= .785	p= .079	p= .212	p= .462	p= .258	p= .214	p= .182
DKB	r: .115	r: .162	r: -.081	r: -.320	r: .107	r: -.277	r: -.049	r: -.034
	p= .426	p= .392	p= .577	p= .085	p= .458	p= .138	p= .735	p= .860
GH	r: .005	r: .016	r: .150	r: -.435	r: .128	r: -.349	r: .363	r: .226
	p= .973	p= .934	p= .299	p= .016	p= .377	p= .059	p= .010	p= .229
Fetal kilo	r: -.030	r: .066	r: .195	r: -.437	r: .209	r: -.420	r: .453	r: -.017
	p= .834	p= .727	p= .174	p= .016	p= .145	p= .021	p= .001	p= .929

r: Korelasyon katsayısı; HCII: Heparin Kofaktör II; DPP3: Dipeptidil Peptidaz 3; mPGES-1: Mikrozomal Prostaglandin E sentaz-1; PE: Preeklampsisi grubu; K: Sağlıklı gebe kontrol grubu; VKİ: Vücut kütle indeksi; SKB: Sistolik kan basıncı; DKB: Diyastolik kan basıncı; GH: Gebelik haftası

Yapılan korelasyon analizi sonucunda miR-29b-3p ekspresyon düzeyleri preeklampsisi ve kontrol grubunda yaş, VKİ, diyastolik kan basıncı, gebelik haftası ve fetal kilo ile istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki göstermemiştir ($p>.05$). Bu bulguya göre gebelerde miR-29b-3p'nin yaş, VKİ, diyastolik kan basıncı, gebelik haftası ve fetal kilo ile ilişkisi yoktur.

Preeklampsisi grubunda miR-29b-3p ile sistolik kan basıncı arasında pozitif yönde korelasyon istatistiksel açıdan düşük düzeyde anlamlı bulunmuştur ($r: .279$; $p<.05$). Bu bulguya göre preeklampsi grubunda sistolik kan basıncı arttıkça miR-29b-3p ekspresyonları da artmaktadır.

Yapılan korelasyon analizi sonucunda HCII düzeyleri preeklampsisi ve kontrol grubunda yaş, VKİ, sistolik kan basıncı ve diyastolik kan basıncı ile istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki göstermemiştir ($p>.05$). Bu bulguya göre gebelerde HCII'nin yaş, VKİ, sistolik kan basıncı ve diyastolik kan basıncı ile ilişkisi yoktur.

Preeklampsisi grubunda HCII ile gebelik haftası ve fetal kilo arasında ilişki bulunmamıştır ($p>.05$). Diğer taraftan kontrol grubundaki sağlıklı gebelerde HCII ile gebelik haftası ($r: -.435$; $p<.05$) ve fetal kilo ($r: -.437$; $p<.05$) arasında negatif yönde korelasyon istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Bu bulguya göre sağlıklı gebelerde gebelik haftası ve fetal kilo arttıkça HCII düzeyleri azalmaktadır.

Yapılan korelasyon analizi sonucunda DPP3 düzeyleri preeklampsisi ve kontrol grubunda yaş, VKİ, sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı ve gebelik haftası ile istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki göstermemiştir ($p>.05$). Bu bulguya göre gebelerde DPP3'ün yaş, VKİ, sistolik kan basıncı, diyastolik kan basıncı ve gebelik haftası ile ilişkisi yoktur. Preeklampsisi grubunda DPP3 ile fetal kilo arasında ilişki bulunmamıştır ($p>.05$). Diğer taraftan kontrol grubundaki sağlıklı gebelerde DPP3 ile fetal kilo arasında negatif yönde korelasyon istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($r: -.420$; $p<.05$). Bu bulguya göre sağlıklı gebelerde fetal kilo arttıkça DPP3 düzeyleri azalmaktadır.

Yapılan korelasyon analizi sonucunda mPGES-1 düzeyleri preeklampsisi ve kontrol grubunda yaş, VKİ, sistolik kan basıncı ve diyastolik kan basıncı ile istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki göstermemiştir ($p>.05$). Bu bulguya göre gebelerde mPGES-1'in yaş, VKİ, sistolik kan basıncı ve diyastolik kan basıncı ile ilişkisi yoktur. Kontrol grubunda mPGES-1 ile gebelik haftası ve fetal kilo arasında ilişki bulunmamıştır ($p>.05$). Diğer taraftan preeklampsisi grubundaki gebelerde mPGES-1 ile gebelik haftası ($r: .363$; $p<.05$) ve fetal kilo ($r: .453$; $p<.05$) arasında pozitif yönde korelasyon istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Bu bulguya göre preeklampsi gebelerde gestasyonel yaş ve fetal kilo arttıkça mPGES-1 düzeyleri de artmaktadır.

Tablo 4. 8: miR-29b-3p, HCII, DPP3 ve mPGES-1 düzeylerinin preeklampsi (50) ve kontrol (30) gruplarında biyokimyasal parametreler ile ilişkisi.

	miR-29b-3p		HCII		DPP3		mPGES-1	
	PE	K	PE	K	PE	K	PE	K
Total protein (g/dL)	r: -.086 p= .554	r: .031 p= .873	r: .087 p= .546	r: -.298 p= .110	r: .130 p= .369	r: -.335 p= .070	r: .218 p= .128	r: -.089 p= .640
Albümin (g/dL)	r: .022 p= .879	r: -.051 p= .787	r: .084 p= .561	r: .132 p= .487	r: .127 p= .380	r: .087 p= .649	r: .141 p= .329	r: .164 p= .385
AST (IU/L)	r: -.250 p= .080	r: -.105 p= .579	r: .310 p= .028	r: -.231 p= .220	r: .314 p= .026	r: -.264 p= .158	r: .326 p= .021	r: .018 p= .926
ALT (IU/L)	r: -.232 p= .105	r: -.219 p= .245	r: .034 p= .813	r: -.103 p= .588	r: .172 p= .232	r: -.156 p= .412	r: -.029 p= .842	r: -.052 p= .785
Total Bilirubin (mg/dL)	r: .143 p= .322	r: .239 p= .204	r: -.164 p= .255	r: -.118 p= .536	r: -.021 p= .886	r: -.147 p= .439	r: -.039 p= .787	r: -.176 p= .351
Üre (mg/dL)	r: -.063 p= .666	r: .279 p= .135	r: -.030 p= .836	r: -.109 p= .565	r: .080 p= .581	r: -.131 p= .490	r: .043 p= .767	r: -.311 p= .095
Kreatinin (mg/dL)	r: .175 p= .223	r: .245 p= .193	r: -.134 p= .354	r: -.411 p= .024	r: -.116 p= .424	r: -.463 p= .010	r: -.052 p= .718	r: -.125 p= .509
Sodyum (mEq/L)	r: -.193 p= .179	r: .086 p= .650	r: -.289 p= .042	r: .034 p= .860	r: -.120 p= .406	r: .055 p= .774	r: .100 p= .491	r: .115 p= .547
Potasyum (mEq/L)	r: -.151 p= .295	r: .083 p= .661	r: .125 p= .385	r: .043 p= .823	r: .209 p= .146	r: .008 p= .967	r: .162 p= .260	r: -.074 p= .699
Klor (mEq/L)	r: -.194 p= .177	r: .177 p= .350	r: -.072 p= .617	r: -.169 p= .371	r: .005 p= .975	r: -.071 p= .708	r: .133 p= .359	r: .114 p= .547
Kalsiyum (mEq/L)	r: -.007 p= .962	r: -.047 p= .806	r: -.046 p= .749	r: .033 p= .864	r: -.069 p= .632	r: -.017 p= .929	r: .035 p= .810	r: .001 p= .996
Ürik asit (mg/dL)	r: .072 p= .619	r: -.159 p= .402	r: .074 p= .609	r: -.250 p= .183	r: .161 p= .265	r: -.245 p= .192	r: -.062 p= .667	r: -.071 p= .710

r: Korelasyon katsayısı; HCII: Heparin Kofaktör II; DPP3: Dipeptidil Peptidaz 3; mPGES-1: Mikrozomal Prostaglandin E sentaz-1; PE: Preeklampsi grubu; K: Sağlıklı gebe kontrol grubu; AST: Aspartat amino transferaz; ALT: Alanin amino transferaz

Yapılan korelasyon analizi sonucunda; preeklampsi ve kontrol gruplarında Total protein, Albümin, AST, ALT, Total Bilirubin, Üre, Kreatinin, Sodyum, Potasyum, Klor, Kalsiyum ve Ürik Asit düzeylerinin miR-29b-3p ile ilişkisi olmadığı bulunmuştur ($p>.05$).

HCII ile biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki incelendiğinde; preeklampsi ve kontrol gruplarında Total protein, Albümin, ALT, Total Bilirubin, Üre, Sodyum, Potasyum, Klor, Kalsiyum ve Ürik Asit düzeylerinin HCII ile ilişkisi olmadığı bulunmuştur ($p>.05$). Ayrıca HCII'nin kontrol grubunda AST ile, preeklampsi grubunda ise Kreatinin ile ilişkisi olmadığı bulunmuştur ($p>.05$). Diğer taraftan HCII preeklampsi grubunda AST ile pozitif yönde ($r: .310$; $p<.05$), kontrol grubunda ise Kreatinin ile negatif yönde korelasyon göstermiştir

($r: -.411$; $p<.05$). Bu bulguya göre preeklampitik gebelerde AST arttıkça HCII artarken, sağlıklı gebelerde Kreatinin arttıkça HCII azalmaktadır.

DPP3 ile biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki incelendiğinde; preeklampsi ve kontrol gruplarında Total protein, Albümin, ALT, Total bilirubin, Üre, Sodyum, Potasyum, Klor, Kalsiyum ve Ürik Asit düzeylerinin DPP3 ile ilişkisi olmadığı, ayrıca DPP3'ün kontrol grubunda AST ile, preeklampsi grubunda ise Kreatinin ile ilişkisi olmadığı bulunmuştur ($p>.05$). Diğer taraftan DPP3, preeklampsi grubunda AST ile pozitif yönde ($r: .314$; $p<.05$) korelasyon, kontrol grubunda ise Kreatinin ile negatif yönde korelasyon göstermiştir ($r: -.463$; $p<.05$). Bu bulguya göre preeklampitik gebelerde AST arttıkça DPP3 artarken, sağlıklı gebelerde Kreatinin arttıkça DPP3 azalmaktadır.

mPGES-1 ile biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki incelendiğinde; preeklampsi ve kontrol gruplarında Total protein, Albümin, ALT, Total bilirubin, Üre, Kreatinin, Sodyum, Potasyum, Klor, Kalsiyum ve Ürik Asit düzeylerinin mPGES-1 ile ilişkisi olmadığı bulunmuştur ($p>.05$). Diğer taraftan kontrol grubunda mPGES-1 ile AST anlamlı ilişki göstermezken, preeklampsi grubunda AST ile pozitif yönde korelasyon istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($r: .326$; $p<.05$). Bu bulguya göre preeklampitik gebelerde AST arttıkça mPGES-1 düzeyleri de artış göstermektedir.

Tablo 4. 9: miR-29b-3p, HCII, DPP3 ve mPGES-1 düzeylerinin biyokimyasal parametreler ile ilişkisi (n:80).

	miR-29b-3p	HCII	DPP3	mPGES-1
Total protein (g/dL)	r: -.033 p= .773	r: .107 p= .343	r: .093 p= .411	r: .063 p= .578
Albümin (g/dL)	r: .037 p= .746	r: .291 p= .009	r: .254 p= .023	r: .031 p= .784
AST (IU/L)	r: -.208 p= .064	r: -.081 p= .473	r: -.029 p= .801	r: .238 p= .034
ALT (IU/L)	r: -.210 p= .061	r: -.123 p= .276	r: -.071 p= .533	r: -.017 p= .880
Total Bilirubin (mg/dL)	r: .161 p= .153	r: -.100 p= .380	r: -.072 p= .524	r: -.073 p= .519
Üre (mg/dL)	r: -.040 p= .727	r: -.220 p= .050	r: -.138 p= .221	r: .056 p= .621
Kreatinin (mg/dL)	r: .153 p= .175	r: -.263 p= .018	r: -.253 p= .024	r: -.009 p= .939
Sodyum (mEq/L)	r: -.133 p= .239	r: -.080 p= .479	r: -.044 p= .696	r: .109 p= .337
Potasyum (mEq/L)	r: -.118 p= .297	r: -.095 p= .402	r: -.018 p= .873	r: .153 p= .175
Klor (mEq/L)	r: -.117 p= .301	r: -.221 p= .049	r: -.125 p= .268	r: .163 p= .148
Kalsiyum (mEq/L)	r: -.013 p= .906	r: .014 p= .900	r: -.029 p= .801	r: .022 p= .847
Ürik asit (mg/dL)	r: .008 p= .946	r: -.247 p= .027	r: -.149 p= .187	r: .013 p= .910

r: Korelasyon katsayısı; HCII: Heparin Kofaktör II; DPP3: Dipeptidil Peptidaz 3; mPGES-1: Mikrozomal Prostaglandin E sentaz-1; AST: Aspartat amino transferaz; ALT: Alanin amino transferaz

Yapılan korelasyon analizi sonucunda; tüm örnekleme Total protein, Albümin, AST, ALT, Total Bilirubin, Üre, Kreatinin, Sodyum, Potasyum, Klor, Kalsiyum ve Ürik Asit düzeylerinin miR-29b-3p ile ilişkisi olmadığı bulunmuştur ($p>.05$).

HCII ile biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki incelendiğinde; tüm örnekleme Total protein, AST, ALT, Total Bilirubin, Üre, Sodyum, Potasyum ve Kalsiyum düzeylerinin HCII ile ilişkisi olmadığı bulunmuştur ($p>.05$). Diğer taraftan HCII'nin Albümin ile pozitif yönde ($r: .291$; $p<.05$), Kreatinin ile negatif yönde ($r: -.263$; $p<.05$), Klor ile negatif yönde ($r: -.221$; $p<.05$), Ürik Asit ile negatif yönde ($r: -.247$; $p<.05$) korelasyonu istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Bu bulguya göre HCII düzeyleri arttıkça; serum Albümin düzeyleri artmakta, Kreatinin, Klor ve Ürik Asit düzeyleri ise azalmaktadır.

DPP3 ile biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki incelendiğinde; tüm örnekleme Total protein, AST, ALT, Total Bilirubin, Üre, Sodyum, Potasyum, Klor, Kalsiyum ve Ürik Asit düzeylerinin DPP3 ile ilişkisi olmadığı bulunmuştur ($p>.05$). Diğer taraftan DPP3'ün Albümin ile pozitif yönde ($r: .254$; $p<.05$), Kreatinin ile negatif yönde ($r: -.253$; $p<.05$) korelasyonu istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur. Bu bulguya göre DPP3 düzeyleri arttıkça; serum Albümin düzeyleri artmakta, Kreatinin düzeyleri ise azalmaktadır.

mPGES-1 ile biyokimyasal parametreler arasındaki ilişki incelendiğinde; tüm örnekleme Total protein, Albümin, ALT, Total Bilirubin, Üre, Kreatinin, Sodyum, Potasyum, Klor, Kalsiyum ve Ürik Asit düzeylerinin mPGES-1 ile ilişkisi olmadığı bulunmuştur ($p>.05$). Diğer taraftan mPGES-1 ile AST arasında pozitif yönde korelasyon istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ($r: .238$; $p<.05$). Bu bulguya göre gebelerde mPGES-1 düzeyleri arttıkça AST düzeyleri de artış göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Preeklampsi gebeliğin 20. haftasından sonra başlayan hipertansiyona ($>140/90$ mmHg) ek olarak maternal organ fonksiyon bozukluklarının eşlik ettiği ve uteroplasental disfonksiyon ile de karakterize edilen bir gebelik komplikasyonudur [1]. Preeklampside hipertansiyona ek olarak proteinüri, trombositopeni, böbrek yetmezliği, karaciğer fonksiyon bozukluğu, pulmoner ödem, serebral veya görsel maternal semptomlar da görülebilmektedir [66]. Yapılan çalışmalarda preeklampside antianjiyogenik faktörlerin düzeylerinde artış görülürken [13], anjiyogenezi destekleyen moleküllerin düzeylerinde ise azalma olduğu belirtilmiştir [52, 53, 72, 73, 74, 75]. Buna ek olarak preeklampside inflamatuvar yanıtın yüksek düzeyde olduğu da belirtilmiştir [14]. Önceki çalışmalarda proinflamatuvar sitokin düzeylerinin preeklampsi olgularında artmış olduğu gösterilmiştir [15, 16].

miR-29b-3p'nin VEGFA'yı hedefleyerek [22, 23], anjiyogenezi baskıladığı düşünülmektedir [24]. Ayrıca kardiyovasküler doku ve aort dokusu [17], miyokardiyal doku ve kardiyomiyositler [18] ayrıca kardiyak metabolizma [19] üzerinde düzenleyici etkiye sahip miR-29 ailesi; kardiyak gelişim, kardiyak hipertrofi ve kalp yetmezliği üzerindeki etkileriyle [20] son zamanlarda dikkat çeken bir parametre olmuştur. Bu literatür ışığında miR-29b-3p'nin ekspresyon düzeylerinin erken ve geç preeklampitik gebelerde araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre; serum miR-29b-3p'nin ekspresyon düzeyleri sağlıklı gebeler ve preeklampitik gebeler arasında farklılık göstermemiştir. Ancak istatistiksel anlamlılık olmasa da miR-29b-3p ekspresyonu proteinüri görülen preeklampsi grubunda, proteinüri görülmeyen grubun yaklaşık iki katı kadardır.

Yapılan bir çalışmada preeklampitik gebe kadınların plazma miR-29b-3p ekspresyon düzeyleri, kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunmuştur [192]. Diğer taraftan Murphy ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise; hafif preeklampsi tanısı alan gebelerin, doğum sırasında kontrollerle karşılaştırıldığında plazma miR-29b-3p ekspresyonlarının fark göstermediği, ancak şiddetli preeklampitik gebelerin miR-29b-3p ekspresyonlarının kontrollere göre artmış olduğu bulunmuştur [193]. Senousy ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan elde edilen sonuçlar, miR-29b'nin hem erken başlangıçlı preeklampsi hem de şiddetli preeklampsi de armış olduğunu göstermiştir. Senousy ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, preeklampsinin şiddeti ACOG

yönergelerine göre belirlenmiştir [194]. ACOG'a göre sistolik kan basıncı 160 mmHg veya daha yüksek ve/veya diyastolik kan basıncı 110 mmHg veya daha yüksek olduğunda, diğer komplikasyonların varlığı ile birleşmiş proteinüri (idrar çubuğu 2 + veya daha yüksek) görülmesi durumunda hastalar şiddetli preeklampsi olarak sınıflandırılır. Sistolik kan basıncının 140 ila 159 mmHg arasında veya diyastolik kan basıncının 90 ila 109 mmHg arasında olması ve çubuk testinde 1+ proteinüri görülmesi halinde hafif preeklampsi olarak sınıflandırılır [57].

Bizim çalışmamızdaki proteinüri görülen preeklampsi grubunda istatistiksel anlamlılık olmasa da miR-29b-3p ekspresyonunun yaklaşık iki kat artması sonucu önceki iki çalışmayla örtüşmektedir. İstatistiksel anlamlılığın olmamasının nedeni, preeklampitik gebeleri proteinüri semptomuna göre ayırdığımızda gruplardaki katılımcı sayılarının azalması olabilir. Literatürde miR-29b-3p ekspresyonlarının plasental dokularda araştırıldığı çalışmalar daha fazladır. Gebe olmayan, sağlıklı gebe ve gestasyonel vasküler komplikasyonlara sahip bireyler üzerinde yapılan bir çalışmada; miR-29b-3p'nin esasen plasental kökenli olduğu ve ayrıca trofoblast hücre canlılığının ana düzenleyicilerinden biri olarak hizmet ettiği ileri sürülmüştür [195]. Bu nedenle dolaşımdaki düzeylerinin tespiti ve değerlendirilmesi daha zor olabilir.

Yapılan başka bir çalışmada da miR-29b-3p'nin ekspresyonunun plasenta dokularında önemli ölçüde up regüle edildiği gösterilmiştir [196]. Şiddetli preeklampsi ve normal gebeliklerden elde edilen plasenta örneklerinde farklı miRNA'ların araştırıldığı bir çalışmada; şiddetli preeklampsi tanısı almış gebelerin plasentasında miR-29b'nin ekspresyonunun önemli ölçüde arttığı bulunmuştur [197]. Normal ve preeklampitik plasenta dokularından miR-29b-3p ve Bradikinin B2 reseptörünün (B2R) mRNA'nın patolojisi ve ekspresyonunun, preeklampsi gelişimindeki etkileri ve mekanizmaların araştırıldığı başka bir çalışmada; miR-29b-3p gen ekspresyonunun preeklampsi şiddetiyle orantılı olarak arttığı belirtilmiştir. Buna ek olarak miR-29b-3p inhibitörü veya B2R transfeksiyonu ile B2R, VEGFA, Siklin-1 (CCND-1), MMP-2 ve MMP-9'un protein ekspresyon seviyeleri önemli ölçüde artmış ve hücre biyolojik aktiviteleri geri kazanılmıştır. miR-29b-3p inhibitörünün neden olduğu artmış B2R ekspresyonunun, sırasıyla CCND-1 ve VEGFA ekspresyonunu artırarak trofoblast proliferasyonunu ve migrasyon/invazyonu teşvik edebileceği ileri sürülmüştür [198]. Başka bir çalışmada da, desidua kaynaklı mezenkimal kök hücrelerde miR-29b'nin şiddetli preeklampsi vakalarında up regüle edildiği gösterilmiştir [199]. Yapılan başka

bir çalışmada da, miR-29b'nin apoptozu indüklediği, trofoblast hücrelerinin invazyonunu ve anjiyogenezi inhibe ettiği gösterilmiştir [200].

Çalışmamızdan elde ettiğimiz diğer bulgu ise; preeklampitik gebelerde sistolik kan basıncı arttıkça miR-29b-3p ekspresyonlarının da anlamlı derecede artış göstermesidir. Kontrol grubunda ise miR-29b-3p ile sistolik kan basıncı arasında ilişki bulunmamıştır.

Yapılan bir çalışmada miR-29'un, NO üretimini artırarak insan arteriyollerinde endotel fonksiyonunu desteklediği ve ayrıca her üç günde bir enjekte edilen kimyasal olarak modifiye edilmiş bir miR-29b analogunun (miR-29b-CH-NP), Ang-II'nin neden olduğu hipertansiyonu önemli ölçüde azalttığı belirtilmiştir. Ek olarak 12 hafta boyunca miR-29b-CH-NP tedavisinin kardiyak ve renal fibröz ve idrar albümin seviyelerini azalttığı gözlenmiştir [201]. Ang-II ile indüklenen hipertansiyonun rat modelinde ise miR-29b'nin kardiyak yeniden şekillenmede koruyucu bir rol oynadığı ve TGF- β /Smad3 yolağını hedefleyerek kardiyak fibröz için terapötik bir ajan olabileceği ileri sürülmüştür [202]. Bu iki çalışma bizim bulgumuzla kısmen örtüşmektedir. Sağlıklı gebelerde sistolik kan basıncı ile ilişki göstermeyip, preeklampitik gebelerde görülen hipertansiyona paralel olarak miR-29b-3p ekspresyonlarının artması, hipertansiyona karşı koruyucu bir mekanizma olabilir.

Yaptığımız bu çalışmada; preeklampitik gebelerden elde edilen serum örneklerindeki HCII konsantrasyonları, normal sağlıklı gebelerden daha düşük bulunmuştur.

Normotansif, esansiyel hipertansiyon, gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsili olan gebeler üzerinde yapılan bir çalışmada HCII plazma düzeyleri, üçüncü trimester ve doğumdan 72 saat sonra ölçülmüş olup, şiddetli preeklampsili grubundaki kadınlarda diğer gruplardaki kadınlara göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur [203]. Gestasyonun üçüncü trimesterinde ve doğumdan sonraki üçüncü günde plazma koagülasyon ve fibrinoliz parametrelerinin araştırıldığı bir çalışmada; preeklampsili gebelerin daha düşük düzeyde Antitrombin III ve HCII seviyelerine sahip olduğu gösterilmiştir. Aynı çalışmada Trombin-Antitrombin III kompleksi konsantrasyonları ise hem gestasyonel hipertansiyon hem de preeklampsili gebelerde, normal gebelere göre daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca doku plazminojen aktivatörü ve plazminojen aktivatör inhibitörleri tip 1 ve tip 2 düzeyleri, sağlıklı ve gestasyonel hipertansiyon gruplarında farklılık göstermezken, preeklampsili kadınların doku plazminojen aktivatörü daha yüksek, plazminojen aktivatör inhibitörü tip 2 seviyeleri ise daha düşük bulunmuştur. Bu çalışmada preeklampsili açısından ayırıcı olan parametrenin HCII olduğu belirtilmiştir. Çünkü sadece

preeklampsili gebelerde HCII düzeyleri normalin %40 ila %50'si kadar azalmıştır [204]. Antitrombin III ve HCII'nin etkinliğinin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada; preeklampsia hastalarında Antitrombin III ve HCII düzeylerinin azaldığı ve bu azalmanın hastalığın şiddeti ile paralellik gösterdiği bildirilmiştir. Yapılan seri ölçümler sonucunda Antitrombin III antijen seviyesinin antepartum dönemde sabit kalmasına rağmen, HCII seviyesinin giderek düştüğü belirlenmiştir. Hem Antitrombin III antijeni hem de HCII düzeyleri doğumdan sonra hızla artış göstermiştir [205] .

Yapılan bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar bizim çalışmamızla örtüşmektedir. HCII düzeylerinin preeklampitik gebelerde düşük olması, preeklampside görülen hiper koagülasyon tablosuna katkıda bulunabilir. Sonuç olarak HCII, preeklampsia patogenezinde potansiyel bir belirteç olarak değerlendirilebilir.

Yaptığımız bu çalışmada sağlıklı gebelerde, gebelik haftası ve fetal kilo arttıkça HCII düzeylerinin azaldığı bulunmuştur.

Yapılan bir çalışmada gebe olan veya oral kontraseptif kullanan kadınlarda daha yüksek HCII plazma konsantrasyonları bildirilmiştir [125]. Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise; Trombin-HCII kompleks düzeyinin termde, gebeliğin ilk trimesteri ile karşılaştırıldığında yaklaşık dört kat artmış olduğu bulunmuştur [123]. Bizim çalışmamızda serbest HCII konsantrasyonları değerlendirilmiş olup, Liu ve arkadaşlarının sonuçlarıyla kısmen örtüşmektedir. Çünkü HCII düzeylerinin gebeliğin ilerleyen dönemlerinde azalması, Trombin-HCII komplekslerinin oluşması ile ilişkili olabilir. Gestasyonun farklı evrelerinde serbest ve Trombin-HCII kompleks düzeylerinin ayrı ayrı değerlendirildiği daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Preeklampside karakteristik bir semptom olan hipertansiyon, ACOG'un 2013'te yayımlanan kılavuzuna göre preeklampsia tanı kriterleri arasında yer almaktadır [66]. Hipertansiyon hem tanılama aşaması hem de yapılan çalışmalarda patogenezin araştırılması sürecinde, günümüzde hala araştırmacılar tarafında önemini koruyan bir patolojidir [206, 207, 208]. RAAS, hipertansiyonun patogenezinde ve gelişiminde düzenleyici bir rol oynamaktadır [33]. RAAS bileşenleri böbrek, kalp, beyin, yumurtalık ve plasenta olmak üzere birçok dokuda bulunmaktadır. RAAS ve Ang-II'nin, sıvı elektrolit dengesini ve kan basıncını düzenleyerek, büyüyen fetüsün metabolik ihtiyaçlarına entegre bir yanıt oluşturarak, sağlıklı gebelik sırasında kan hacminin artmasına katkıda bulunabileceği düşünülmektedir [34]. RAAS'ın hemen hemen

tüm bileşenlerinin normal sağlıklı gebeliklerde arttığı belirtilmiştir [35, 36]. Preeklampside ise RAAS'ın çeşitli bileşenlerinden olan Ang-I, Ang-II ve Ang-(1-7) plazma seviyelerinin sağlıklı gebelere göre belirgin derecede düşüş gösterdiği bildirilmiştir [36]. Başka bir çalışmada da benzer şekilde preeklampitik gebelerde RAAS bileşenlerinden renin, Ang-II ve Aldosteronun dolaşımdaki düzeylerinin, normal gebeliklerle kıyasla anormal derecede azaldığı gösterilmiştir [34]. Diğer çalışmalarda da preeklampitik gebelerde, plazma Ang-(1-7), Ang-II ve Renin aktivitesinin normotansif gebelere göre azaldığı gösterilmiştir [37, 38]. Plazma ACE, ACE2 ve Ang-(1-7) düzeyleri ve ACE2 aktivitesi normal gebe kadınlarda gebe olmayan kadınlara göre yüksek bulunmuştur. Ayrıca bu çalışmada preeklampitik gebelerde plazma ACE, ACE2 ve Ang-(1-7) düzeyleri ve ACE2 aktivitesi normal gebelere göre daha düşük bulunmuştur [209]. Fakat diğer taraftan ACE2'nin, Ang-II'yi Ang-(1-7)'ye parçalanmasında rol aldığı bilinmektedir [210].

DPP3, RAAS sisteminin düzenlenmesinde rol alan önemli bir biyomoleküldür. Hücrel bir hasar oluştuğunda DPP3 dolaşıma salınır ve Ang-II gibi kardiyovasküler mediatörlerin dolaşımdaki DPP3 (cDPP3) tarafından hızlıca parçalanması hemodinamik düzensizliğe katkıda bulunabilir [211]. DPP3'ün, heptapeptid Ang-(1-7)'nin Ang-(3-7) ve ardından Ang-(5-7)'ye parçalanmasında rol aldığı düşünülmektedir [32, 143]. Daha önce yapılan çalışmalarda ACE2 aktivitesinin preeklampside azalmasına rağmen Ang-II'nin düşük seviyeleri [34, 36, 37, 38, 209], Ang-II'nin parçalanmasının başka bir molekül tarafından da düzenlenebileceğini düşündürmektedir.

Yaptığımız literatür taraması sonucunda; DPP3'ün dolaşımdaki düzeylerinin sağlıklı gebeler ve preeklampitik gebelerde araştırıldığı bir çalışmaya rastlamadık. Bu bilgiler doğrultusunda preeklampitik gebelerde dolaşımdaki DPP3 seviyelerinin araştırılması literatürdeki boşluğu giderebilir. Ayrıca hastalığın karakteristik özelliği olan hipertansiyona karşı geliştirilecek yeni terapötik hedeflerin belirlenmesinde yol gösterici olabilir.

Bu çalışmada ilk defa DPP3 serum düzeyleri preeklampsi hastalarında gösterilmiştir. Elde ettiğimiz bulgulara göre preeklampitik gebelerdeki serum DPP3 düzeyleri, normal sağlıklı gebelerden daha düşüktür.

Picod ve arkadaşlarının yaptığı yakın zamanlı bir çalışmada dolaşımdaki DPP3'ün Ang-II'yi in vivo olarak parçaladığı gösterilmiştir [212]. Ayrıca Ang-II ile indüklenen hipertansif rat modelinde de; DPP3 uygulaması sonrasında kan basıncında düşüş görülmüştür. DPP3

uygulaması sonrasında Ang-II infüzyonunun neden olduğu idrar Albümin atılımını, böbrek hasarını ve proinflatuar molekül olan MCP-1 ve prokoagülan Trombosit Aktivatör İnhibitörü-1'in renal protein seviyelerini azalttığı gözlemlenmiştir [32]. Diğer taraftan ratlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada; sağlıklı deneklere DPP3 enjeksiyonu sonrasında miyokard depresyonu ve bozulmuş böbrek hemodinamiği gelişmiştir. Ardından Procizumab tarafından cDPP3 inhibisyonu ile, akut kalp yetmezliği rat modelinde kardiyak fonksiyon ve böbrek hemodinamiğinin hızlı ve sürdürülebilir bir şekilde normale döndüğü ve oksidatif stres ve inflamatuvar sinyallemede belirgin bir azalma olduğu gösterilmiştir [213].

Çalışma sonucumuz, Picod ve arkadaşlarının ayrıca Pang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarla örtüşmektedir. Ang-II'nin parçalanmasında rol oynadığı düşünülen DPP3'ün dolaşımdaki düşük düzeyleri, preeklampside görülen hipertansiyon tablosunun gelişmesine katkıda bulunabilir. Ayrıca Ang-II seviyelerinin ACE2 ve DPP3 ile birlikte değerlendirildiği daha kapsamlı ve deneysel çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bir diğer sonuç ise preeklampitik gebelerde AST ile DPP3 seviyelerinin pozitif yönde korelasyon göstermesidir.

Preeklampside, hemoliz, karaciğer enzimlerinde yükselme ve düşük trombosit düzeyleri görülebilmektedir [66, 214]. Yapılan bir çalışmada Covid-19 hastalarının yoğun bakım ünitesine kabulün 1, 3 ve 7. günlerinde cDPP3 seviyelerinin giderek yükseldiği belirtilmiştir. Ayrıca cDPP3 seviyeleri ile transaminazlar (ALT ve AST) arasında pozitif korelasyon gösterilmiştir [215]. Plazma DPP3 seviyelerinin Siroz hastalarında, sağlıklı kontrollere kıyasla önemli derecede yüksek bulunduğu bir çalışmada; plazma DPP3 seviyelerinin serum Albümini ile negatif yönde, serum Bilirubin ve INR ile pozitif yönde korelasyona sahip olduğu gösterilmiştir. DPP3 ile karaciğer disfonksiyonunun şiddeti arasında belirgin bir ilişki olduğu belirtilmiştir [216]. DPP3 ve AST arasındaki ilişkinin önceki çalışmalardan elde edilen sonuçları destekleyen bulgularımız, DPP3'ün yüksek konsantrasyonlarının karaciğeri ilgilendiren patolojilere neden olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızdaki diğer bulgu ise; sağlıklı gebeler ve preeklampitik gebeleri içeren tüm örnekleme; DPP3 düzeyleri arttıkça, serum Albümin düzeylerinin artmakta, Kreatinin düzeylerinin ise azalmasıdır.

ACOG kriterlerine göre preeklampside Kreatinin düzeyleri artmakta ve idrarda protein çıkışı görülmektedir [66]. Çalışmamızda Kreatinin düzeyleri preeklampitik gebelerin olduğu grupta daha yüksekti. Bu durumda düzeyleri artan DPP3'ün böbrek fonksiyonlarını düzenleyebileceği düşünülebilir. DPP3'ün serum Albümini ile ilişkisi ele alındığında; elde ettiğimiz bulgunun aksine, Siroz hastalarında yüksek plazma DPP3 seviyelerinin serum Albümini ile negatif yönde ve serum Bilirubin ile pozitif yönde korelasyona sahip olduğu gösterilmiştir [216].

Hücre ölümü gerçekleştiğinde, hücre içi DPP3 dolaşıma salınır. Dolaşımdaki DPP3 Ang-II dahil olmak üzere çeşitli biyoaktif peptitlerin bozunmasını sağlar [32, 213]. DPP3'ün önemli substratlarından biri olan Ang-(1-7), RAAS antagonistik yolu olarak kabul edilen, ACE2/Ang(1-7)/Mas reseptörü (AAM) ekseninin bir parçasıdır [141]. Ang-(1-7)'nin MAS reseptörüne bağlanmasıyla, AAM yolunun aktiflenmesiyle antianjiyogenik, antiproliferatif, proapoptotik, antifibrotik, antitrombotik ve antiaritmik etkilerin oluşabileceği düşünülmektedir [144, 145]. Yüksek DPP3 konsantrasyonlarında Ang-(1-7)'nin DPP3 tarafından parçalanması, AAM yolunun potansiyel olarak faydalı etkilerini engelleyebilir [150].

Sonuç olarak DPP3'ün ılımlı yüksek seviyeleri koruyucu özellik gösterirken, aşırı yüksek seviyeleri olumsuz sonuçlarla ilişkili olabilir. Literatürde bulunan farklı sonuçlar, DPP3 üzerinde daha detaylı çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir.

Sistemik inflamatuvar yanıt tüm gebeliklerde görülen bir tablodur. Diğer taraftan, preeklampsi ve inflamasyon ile komplike olan gebeliklerde, inflamatuvar yanıtın ciddi düzeye ulaşabileceği belirtilmiştir [14]. Birçok çalışmada interlökinlerin, TGF β 1, TNF- α , IFN- γ , MCP-1 düzeylerinin, preeklampsi olgularında artarak, preeklampsi gelişimine katkıda bulunduğu ve hastalığın şiddetiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir [15, 16]. mPGES-1 ve COX-2'nin makrofajlar ve fibroblastlardaki proinflamatuvar sitokinler tarafından yüksek oranda hızla indüklenmesiyle [40, 42], oluşan ürün PGE2'nin, immün yanıtları ve inflamasyon gelişimini uyararak, hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalıkların patogenezinde rol oynayabileceği belirtilmiştir [42]. Bu çalışmada; inflamatuvar yanıtın olduğu ileri sürülen preeklampsi hastalığı [14, 15, 16] ile mPGES-1 serum düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Yaptığımız literatür taraması doğrultusunda preeklampsi hastalarında mPGES-1 serum düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmaya rastlamadık. Bu nedenle elde edeceğimiz bulguların sonraki çalışmalar için öncü olabileceğini düşünmekteyiz.

Yaptığımız bu çalışmada mPGES-1 konsantrasyonu sağlıklı gebeler ve preeklampşik gebeler arasında anlamlı farklılık göstermemiştir. Fakat erken ve geç preeklampsi grupları ile onların kontrollerini karşılaştırdığımızda; geç preeklampsi grubundaki mPGES-1 düzeylerinin, erken preeklampsi ve erken sağlıklı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Geç kontrol grubundaki mPGES-1 düzeyleri de erken preeklampsi ve erken kontrol grubundan yüksekti fakat anlamlı değildi. Ayrıca yaptığımız korelasyon analizi sonucunda; sağlıklı normotansif gebelerde ilişki göstermezken, preeklampşik gebelerde gestasyonel yaş ve fetal kilo arttıkça mPGES-1 düzeyleri de anlamlı olarak artmıştır.

Endotel hücrelerinde eikosanoid sentezini uyarmada $TNF\alpha$ 'dan daha güçlü ve etkili olduğu düşünülen IL-1 β ile oluşturulan inflamasyon modelinde; İnsan Umbilikal Ven Endotel Hücrelerinde (HUVEC) yapılan bir çalışmada, 24 saat boyunca çeşitli IL-1 β konsantrasyonları uygulanmış ve IL-1 β uygulamasının COX-1'in ekspresyonunu değiştirmediği, buna karşılık, COX-2 ekspresyonunda doza bağlı bir şekilde güçlü bir artış gözlemlendiği belirtilmiştir. Ayrıca mPGES-1 ekspresyonunda, COX-2'ye paralel olarak up regüle edildiği bulunmuştur [217]. Yapılan başka bir çalışmada da insan miyometriyal düz kas hücrelerinde IL-1 β uygulamasından sonra, RT-PCR ve Western Blot analizi ile mPGES-1, mRNA ve protein ekspresyonunun arttığı, cPGES ekspresyonunun ise miyometriyal düz kas, vasküler düz kas ve vasküler endotel hücrelerinde anlamsız düzeyde düşük olduğu, stromal hücrelerde ise lekelenme göstermediği belirtilmiştir. Ayrıca cPGES, mPGES-1 ve mPGES-2'nin desidual hücrelerde bol miktarda eksprese edildiği gösterilmiştir [218]. İnsan plasentalarından elde edilen desidual hücre kültürü örneklerinde de IL-1 β tarafından indüklenen inflamasyona yanıt olarak ekspresyonu artan mPGES-1 ve mPGES-2'nin, Omega-3 yağ asitleri tedavisi sonrasında ekspresyonunun önemli derecede (%50) azaldığı gösterilmiş, bunun da PGE2 ve PGF2 α üretiminin azalmasına eşlik ettiği belirtilmiştir. Aynı çalışmada, Dokosaheksaenoik asit (DHA) veya Eikosapentaenoik asit (EPA) ile ön inkübasyonun COX-1, COX-2 ve PGDH mRNA veya protein ekspresyonu üzerinde hiçbir etkisi olmadığı belirtilmiştir [219]. Enfeksiyöz yanıtla bağlı preterm doğumda mPGES-1'in rolünü araştırmak için, Lipopolisakkarit (LPS) ile indüklenen preterm doğum deneysel rat modelinde myometrium, plasenta ve fetal membranda LPS tedavisinden 6 saat sonra COX-2 mRNA üretiminin arttığı, ancak COX-1 ve cPGES-1 mRNA'nın LPS

tedavisinden etkilenmediği gözlenmiştir. mPGES-1 mRNA ekspresyonu myometrium ve plasentada yükselirken, bu dokulardaki mPGES-2 mRNA ekspresyonu LPS tedavisinden etkilenmediği görülmüştür. Ek olarak myometriumda mPGES-1 protein seviyesi LPS tedavisinden altı saat sonra arttığı Western Blot ile gösterilmiştir [220]. Yapılan çalışmalar; mPGES-1 ekspresyon düzeylerinin HUVEC'lerde, miyometriyal düz kas hücrelerinde, insan plasentalarından elde edilen desidual hücrelerde inflamasyona yanıt olarak arttığını göstermiştir [217, 218, 219, 220]. Ayrıca diğer insan çalışmalarında da hem tekrarlayan spontan abortus hem de preeklamps vakalarında IL-1 β seviyesinde artış olduğu gösterilmiştir [221, 222].

Diğer taraftan mPGES-1 aktivitesiyle oluşan PGE2'nin, stromal desidualizasyon için gerekli olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur [223]. Öyle ki PGE2 konsantrasyonlarının implantasyon bölgelerinde daha yüksek olduğu ve desidualizasyondan sonra arttığı belirtilmiştir [224]. Deneysel bir rat modelinde de mPGES-1'in, gebeliğin beşinci gününde uterustaki implantasyon alanlarında ve Desidual hücrelerde yüksek oranda eksprese edildiği bildirilmiştir [225]. Bununla birlikte COX-2 ve mPGES-1 veya mPGES-2 ekspresyonunun artması sonucunda PGE2 düzeylerinin artmasının, doğumun başlamasında anahtar rol oynayan, servikal olgunlaşmayı ve membran rüptürünü kolaylaştırdığı düşünülmektedir [226]. PGE2 servikal olgunlaşma ve membran aktivasyonunda rol alarak doğum başlamasına hazırlık aşamasında rol alırken, PGF2 α 'nın miyometriyal kasılmaları sağlayarak doğum eyleminde önemli rol oynadığı belirtilmiştir [227]. Sonuç olarak inflamasyonun, implantasyonda rol oynayabileceği ancak yüksek inflamasyon düzeylerinin ise erken doğuma neden olan risk faktörlerinden biri olduğu düşünülmektedir [228].

Preeklamps veya LPS kaynaklı kürtaja benzeyen deneysel rat modelinde; IL-1 β düzeylerinin yüksek olması plasental hasar ve abortus ile sonuçlanmıştır. Ek olarak PGE2 seviyesinin gebeliğin son dönemlerinde artmaya başladığı gösterilmiştir. Yüksek PGE2 seviyelerinin geç gebelikte normal fetal gelişimin sürdürülmesinde kritik bir rol oynamanın yanı sıra doğumu teşvik etme rolünün de olduğu düşünülmektedir [229].

Bulduğumuz sonuçlar daha önce yapılan çalışmalar ile aynı doğrultudadır. Bizim çalışmamızda gebeliğin geç dönemlerinde düzeyleri artan mPGES-1, özellikle preeklamps grubunda bunu belirgin bir şekilde göstermiştir. Geç dönem preeklampitik gebelerde mPGES-1 düzeylerinin, erken dönem sağlıklı ve erken preeklamps grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olması, bu durumun hem gebeliğin son dönemleri hem de preeklampsde görülen inflamasyondan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.

Ayrıca yaptığımız çalışmada hem preeklampitik gebelerin olduğu grupta hem de tüm örnekleme mPGES-1 düzeyleri ile AST düzeyleri pozitif korelasyon göstermiştir. Fas'ın neden olduğu hepatosit apoptozu ve akut karaciğer hasarını değerlendirmek için karaciğerde mPGES-1 ekspresyonu olan transgenik fareler üzerinde yapılan bir çalışmada; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, mPGES-1 ekspresyonu olan farelerin olduğu grupta daha düşük serum AST ve ALT seviyeleri, daha az hepatik nekroz görülmüştür [230]. Yaptığımız çalışmada vaka grubunu oluşturan preeklampsi hastalığının ACOG tanı kriterlerinde, karaciğer enzim seviyelerinde artış kriteri mevcut [66] olsa da AST ve inflamatuvar süreçlerde düzeyleri artan mPGES-1 [226] arasındaki ilişkinin belirlenebilmesi için; daha fazla deneysel ve klinik çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Çalışmamızda preeklampitik gebelerin olduğu grupta serum HCII, DPP3 ve mPGES-1 düzeylerinin her üçü de birbiriyle pozitif yönde istatistiksel olarak anlamlı derecede ilişkili bulunmuştur.

HCII'nin, DS tarafından aktif hale gelerek vasküler yaralanmayı takiben antikoagülan etki gösterdiği [113], DPP3'ün ise Ang-II'yi parçalayarak hipertansiyonu azaltıcı süreçlerde rol alabileceği [30] düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada; HCII'nin, NADPH oksidaz-TGF- β 1 sinyal yolunun aktivasyonu yoluyla, Ang-II ile indüklenen kardiyak yeniden şekillenmeye karşı koruyucu etkilere sahip olduğu gösterilmiştir [231]. Bu bağlamda çalışmamızda preeklampitik gebelerdeki HCII ve DPP3 düzeylerinin sağlıklı normal gebelerden daha düşük olması, preeklampside görülen koagülasyon ve hipertansiyonun artmasına katkıda bulunabilir.

mPGES-1 aracılığıyla oluşan PGE2'nin böbrek ve vasküler sistemlerde RAAS sistemine karşı koyarak antihipertansif etkiler gösterebileceği belirtilmiştir [169, 177, 178]. Yapılan bir çalışmada; Ang-II + IL-1 β uygulaması sonrasında VSMC'lerde sadece COX-2'nin değil, aynı zamanda mPGES-1 ekspresyonlarının da arttığı, COX-2 ve mPGES-1 ekspresyonlarının ise Ang-II infüze edilmiş farelerin aortlarında artmış olduğu gösterilmiştir [232]. Yapılan başka bir çalışmada hem COX-2 inhibitörü hem de PGE2 reseptörü olan EP'nin antagonisti ile tedavi sonrasında, Ang-II infüzyonunun neden olduğu artmış vazokonstriktör yanıtların ve endotel disfonksiyonunun azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca Ang-II infüzyonu sonucunda hipertansif hayvanlardan elde edilen damarlarda mPGES-1 ve PGE2 ekspresyonunun artmış olduğu gösterilmiştir. Düzeyleri artan mPGES-1 ekspresyonunun yüksek kan basıncının bir sonucu olabileceği ileri sürülmüştür [233]. Başka bir çalışmada da mPGES-1 mRNA düzeylerinin sistolik ve diyastolik kan basıncı ile pozitif korelasyon

gösterdiği bulunmuştur. Sonuç olarak, mPGES-1 aktivitesiyle oluşan PGE2'nin NADPH oksidaz ve mitokondri tarafından üretilen oksidatif stresin artması yoluyla hipertansiyonda vasküler yeniden şekillenme ve endotel disfonksiyonunda rol oynayabileceği düşünülmektedir [234].

Çalışmamızda mPGES-1'in de preeklampitik gebelerin olduğu grupta HCII ve DPP3 ile pozitif yöndeki ilişkisine ek olarak, serum mPGES-1 düzeylerinin geç preeklampsi grubunda artmış olduğunu bulduk. DPP3 düzeylerinin preeklampsi grubunda azalmasına karşılık mPGES-1 düzeylerinin artması, preeklampside görülen hipertansiyona katkıda bulunabilir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

“Preeklampsi Patogenezi Üzerine miR-29 Ekspresyonu ile Serum HCII, DPP3 ve mPGES-1 Düzeylerinin Olası Etkileri” başlıklı bu tez çalışmasından elde edilen sonuçlar aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır.

- Yapılan bu çalışmada serum miR-29b-3p’nin ekspresyon düzeyleri sağlıklı gebeler ve preeklampitik gebeler arasında farklılık göstermemiştir. Ancak istatistiksel anlamlılık olmasa da miR-29b-3p ekspresyonu proteinüri görülen preeklampsi grubunda, proteinüri görülmeyen grubun yaklaşık iki katı kadardır. Ayrıca preeklampitik gebelerde sistolik kan basıncı arttıkça miR-29b-3p ekspresyonları da artmaktadır. Sağlıklı gebelerde ise miR-29b-3p ile sistolik kan basıncı arasında ilişki bulunmamıştır. Preeklampitik gebelerde hipertansiyon ve miR-29b-3p ekspresyonlarının pozitif yöndeki ilişkisi ve proteinüri görülen preeklampsi grubunda miR-29b-3p ekspresyonunun yaklaşık iki kat artması, miR-29b-3p’nin hipertansiyona karşı koruyucu bir rol oynayabileceğini göstermektedir.
- Preeklampitik gebelerdeki serum HCII düzeyleri, normal sağlıklı gebelerden daha düşük bulunmuştur. Ayrıca sağlıklı gebelerde, gebelik haftası ve fetal kilo arttıkça HCII düzeyleri azalmıştır. Gebelik ilerledikçe serum HCII konsantrasyonlarının azalması gebeliğin fizyolojik sürecinde sürdürülebilir koagülasyonla sonuçlanırken, serum HCII düzeylerinin aşırı düşük düzeyleri ise preeklampside görülen hiperkoagülasyon tablosunun gelişmesine katkıda bulunabilir.
- Bu çalışmada ilk defa DPP3 serum düzeyleri preeklampsi hastalarında gösterilmiştir. Preeklampitik gebelerde serum DPP3 düzeyleri, normal sağlıklı gebelerden daha düşük bulunmuştur. RAAS sisteminde rol alan DPP3’ün dolaşımdaki düşük düzeyleri, preeklampsinin en bilinen semptomu olan hipertansiyon tablosunun gelişmesine katkıda bulunabilir. DPP3’ün preeklampsi ile ilişkisi, hastalığın patogenezinin aydınlatılması yönündeki daha sonraki çalışmalar için öncü bir sonuçtur.
- Bu çalışmada mPGES-1 serum düzeyleri ilk defa preeklampsi hastalarında gösterilmiştir. Serum mPGES-1 düzeyleri gebeliğin geç dönemlerinde hem hasta hem de kontrol grubunda anlamlı artış göstermiştir. Ayrıca geç dönem preeklampitik gebelerde mPGES-1 düzeylerinin, erken dönem sağlıklı ve erken preeklampsi grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Gebeliğin

geç dönemlerinde düzeyleri artan mPGES-1'in özellikle preeklampsi grubunda bunu belirgin bir şekilde göstermesi; mPGES-1'in gebeliği sonlandırmada rol oynayabileceğini fakat aşırı yüksek mPGES-1 düzeylerinin ise enflamasyonu şiddetlendirerek preeklampsi patogeneze katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar hipertansiyon, inflamasyon ve koagülasyon açısından değerlendirildiğinde, araştırdığımız parametrelerin hastalıkla ilişkisinin olabileceğini düşündürmektedir. Bununla birlikte preeklampsiyi alt gruplara ayırdığımızda, gruplardaki katılımcı sayısının düşmesi çalışmamızdaki sınırlılıklardan biriydi. Bu nedenle daha büyük örneklerle yapılan çok merkezli çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Araştırdığımız parametrelerin her biri preeklampsi patogenezinde rol oynayabilecek farklı yollarla ilişkiliydi. Bu parametrelerin hastalık patogenezi ile ilişkisini güçlendirmek için, her bir parametrenin bulunduğu yoldaki biyomoleküllerin birlikte ele alındığı daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca çalışmamızda araştırdığımız özellikle DPP3 ve mPGES-1 parametreleri, preeklampsi patogenezinin aydınlatılmasında sonraki çalışmalar için öncü olabilir.

KAYNAKLAR

- [1]. Sibai, B., Dekker, G., Kupferminc, M., 2005, Pre-eclampsia, *The Lancet*, 365(9461), 785–99.
- [2]. Jim, B., Karumanchi, S.A., 2017, Preeclampsia: Pathogenesis, Prevention, and Long-Term Complications. *Semin Nephrol*, 1;37(4), 386–97.
- [3]. Kvalvik, L.G., Wilcox, A.J., Skjaerven, R., Østbye, T., Harmon, Q.E., 2020 Term complications and subsequent risk of preterm birth: registry based study, *BMJ*, 369.
- [4]. Shaikh, N., Nahid, S., Ummunnisa, F., Fatima, I., Hilani, M., Gul, A., et al, 2021, Preeclampsia: From Etiopathology to Organ Dysfunction. *Preeclampsia*.
- [5]. Pittara, T., Vyrides, A., Lamnisos, D., Giannakou, K., 2021, Pre-eclampsia and long-term health outcomes for mother and infant: an umbrella review. *BJOG*, 128(9), 1421–30.
- [6]. ACOG, 2019, ACOG Practice Bulletin No. 202: Gestational Hypertension and Preeclampsia. *Obstetrics and gynecology*, 133(1).
- [7]. Huppertz, B., 2018, The Critical Role of Abnormal Trophoblast Development in the Etiology of Preeclampsia. *Curr Pharm Biotechnol.*, 19(10):771–80.
- [8]. Chappell, L.C., Enye, S., Seed, P., Briley, A.L., Poston, L., Shennan, A.H., 2008, Adverse Perinatal Outcomes and Risk Factors for Preeclampsia in Women With Chronic Hypertension. *Hypertension*, 51(4 PART 2 SUPPL.), 1002–9.
- [9]. Huppertz, B., 2008 Placental origins of preeclampsia: Challenging the current hypothesis. *Hypertension*, 51(4 PART 2 SUPPL.), 970–5.
- [10]. Xiong, X., Fraser, W.D., 2004, Impact of pregnancy-induced hypertension on birthweight by gestational age, *Paediatr Perinat Epidemiol*, 18(3), 186–91.
- [11]. Roberts, J.M., Hubel, C.A., 2009, The Two Stage Model of Preeclampsia: Variations on the Theme, *Placenta*, 32–7.
- [12]. Rana, S., Burke, S.D., Karumanchi, S.A., 2022, Imbalances in circulating angiogenic factors in the pathophysiology of preeclampsia and related disorders, *Am J Obstet Gynecol.*, 226(2), 1019–34.
- [13]. Brown, M.A., Magee, L.A., Kenny, L.C., Karumanchi, S.A., McCarthy, F.P., Saito, S., et al., 2018, Hypertensive disorders of pregnancy: ISSHP classification, diagnosis, and management recommendations for international practice, *Hypertension*, 72(1), 24–43.

- [14]. Redman, C.W.G., Sargent, I.L., 2010, Immunology of Pre-Eclampsia, *American Journal of Reproductive Immunology*, 63(6), 534–43.
- [15]. Szarka, A., Rigó, J., Lázár, L., Beko, G., Molvarec, A., 2010, Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array, *BMC Immunol*, 11(1), 1–9.
- [16]. Aggarwal, R., Jain, A.K., Mittal, P., Kohli, M., Jawanjal, P., Rath, G., 2019 Association of pro- and anti-inflammatory cytokines in preeclampsia, *J Clin Lab Anal*, 33(4), e22834.
- [17]. Liao, M., Zou, S., Weng, J., Hou, L., Yang, L., Zhao, Z., et al., 2011, A microRNA profile comparison between thoracic aortic dissection and normal thoracic aorta indicates the potential role of microRNAs in contributing to thoracic aortic dissection pathogenesis, *J Vasc Surg*, 1;53(5), 1341-1349.e3.
- [18]. Lyu, G., Guan, Y., Zhang, C., Zong, L., Sun, L., Huang, X., et al., 2018, TGF- β signaling alters H4K20me3 status via miR-29 and contributes to cellular senescence and cardiac aging. *Nature Communications*, 9(1), 1–13.
- [19]. Fu, X.M., Zhou, Y.Z., Cheng, Z., Liao, X.B., Zhou, X.M., 2015, MicroRNAs: Novel Players in Aortic Aneurysm, *Biomed Res Int*, 2015(1), 831641.
- [20]. Suárez, Y., Fernández-Hernando, C., 2012, New insights into microRNA-29 regulation: a new key player in cardiovascular disease, *J Mol Cell Cardiol*, 3(52), 584–6.
- [21]. Tang, W., Guo, J., Gu, R., Lei, B., Ding, X., Ma, J, et al., 2020, MicroRNA-29b-3p inhibits cell proliferation and angiogenesis by targeting VEGFA and PDGFB in retinal microvascular endothelial cells, *Mol Vis*, 26, 64.
- [22]. Gao, D., Niu, Q., Gong, Y., Guo, Q., Zhang, S., Wang, Y., et al., 2021, Y-Box Binding Protein 1 Regulates Angiogenesis in Bladder Cancer via miR-29b-3p-VEGFA Pathway, *J Oncol*, 2021(1), 9913015.
- [23]. Zhang, Y., Kang, Z., Wang, J., Liu, S., Liu, X., Li, Z., et al., 2024, Peptide OM-LV20 promotes arteriogenesis induced by femoral artery ligation via the miR-29b-3p/VEGFA axis, *Atherosclerosis*, 1(391), 117487.
- [24]. Chen, H.X., Xu, X.X., Tan, B.Z., Zhang, Z., Zhou, X.D., 2017, MicroRNA-29b Inhibits Angiogenesis by Targeting VEGFA through the MAPK/ERK and PI3K/Akt Signaling Pathways in Endometrial Carcinoma, *Cellular Physiology and Biochemistry*, 41(3), 933–46.
- [25]. Lv, X., Lu, P., Hu, Y., Xu, T., 2021, Overexpression of MiR-29b-3p Inhibits Atrial Remodeling in Rats by Targeting PDGF-B Signaling Pathway, *Oxid Med Cell Longev*, 2021(1), 3763529.

- [26]. Parker, K.A., Tollefsen, D.M., 1985, The protease specificity of heparin cofactor II. Inhibition of thrombin generated during coagulation, *Journal of Biological Chemistry*, 260(6), 3501–5.
- [27]. Tollefsen, D.M., Pestka, C.A., Monafo, W.J., 1983, Activation of heparin cofactor II by dermatan sulfate. *Journal of Biological Chemistry*, 258(11), 6713–6.
- [28]. Ohkubo, I., Li, Y.H., Maeda, T., Yamamoto, Y., Yamane, T., Du, P.G., et al., 2000, Molecular cloning and immunohistochemical localization of rat dipeptidyl peptidase III, *Forensic Sci*, 113(1–3), 147–51.
- [29]. Hashimoto, J.I., Yamamoto, Y., Kurosawa, H., Nishimura, K., Hazato, T., 2000, Identification of Dipeptidyl Peptidase III in Human Neutrophils, *Biochem Biophys Res Commun*, 273(2), 393–7.
- [30]. Jha, S., Taschler, U., Domenig, O., Poglitsch, M., Bourgeois, B., Pollheimer, M., et al., 2020, Dipeptidyl peptidase 3 modulates the renin–Angiotensin system in mice. *Journal of Biological Chemistry*, 295(40), 13711–23.
- [31]. Abramić, M., Karačić, Z., Šemanjski, M., Vukelić, B., Jajčanin-Jozić, N., 2015, Aspartate 496 from the subsite S2 drives specificity of human dipeptidyl peptidase III. *Biol Chem*, 396(4), 359–66.
- [32]. Pang, X., Shimizu, A., Kurita, S., Zankov, D.P., Takeuchi, K., Yasuda-Yamahara, M., et al., 2016, Novel therapeutic role for dipeptidyl peptidase III in the treatment of hypertension, *Hypertension*, 68(3), 630–41.
- [33]. Paz Ocaranza, M., Riquelme, J.A., García, L., Jalil, J.E., Chiong, M., Santos, R.A.S., et al., 2019, Counter-regulatory renin–angiotensin system in cardiovascular disease, *Nature Reviews Cardiology*, 17(2), 116–29.
- [34]. Lumbers, E.R., Delforce, S.J., Arthurs, A.L., Pringle, K.G., 2019, Causes and Consequences of the Dysregulated Maternal Renin-Angiotensin System in Preeclampsia, *Front Endocrinol (Lausanne)*, 10, 469943.
- [35]. Irani, R.A., Xia, Y., 2008, The Functional Role of the Renin–Angiotensin System in Pregnancy and Preeclampsia, *Placenta*, 29(9), 763–71.
- [36]. Leal, C.R.V., Costa, L.B., Ferreira, G.C., Ferreira, A.M., Reis, F.M., Simões e Silva, A.C., 2022, Renin-angiotensin system in normal pregnancy and in preeclampsia: A comprehensive review, *Pregnancy Hypertens*, 28, 15–20.
- [37]. Velloso, E.P., Vieira, R., Cabral, A.C., Kalapothakis, E., Santos R.A.S., 2007, Reduced plasma levels of angiotensin-(1-7) and renin activity in preeclamptic patients are associated with the angiotensin I- converting enzyme deletion/deletion genotype. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 40(4), 583–90.
- [38]. Merrill, D.C., Karoly, M., Chen, K., Ferrario, C.M., Brosnihan, K.B., 2002, Angiotensin-(1–7) in normal and preeclamptic pregnancy, *Endocrine*, 18, 239–45.

- [39]. Swan, C.E., Breyer, R.M., 2011, Prostaglandin E2 modulation of blood pressure homeostasis: Studies in rodent models. *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 96(1–4), 10–3.
- [40]. Stichtenoth, D.O., Thorén, S., Bian, H., Peters-Golden, M., Jakobsson, P.J., Crofford L.J., 2001, Microsomal Prostaglandin E Synthase Is Regulated by Proinflammatory Cytokines and Glucocorticoids in Primary Rheumatoid Synovial Cells, *The Journal of Immunology*, 167(1), 469–74.
- [41]. Smith, W.L., Urade, Y., Jakobsson, P.J., 2011, Enzymes of the cyclooxygenase pathways of prostanoid biosynthesis, *Chem Rev*, 111(10), 5821–65.
- [42]. Ozen, G., Norel, X., 2017, Prostanoids in the pathophysiology of human coronary artery, *Prostaglandins Other Lipid Mediat*, 133, 20–8.
- [43]. Redman, C.W., Sargent, I.L., 2005, Latest Advances in Understanding Preeclampsia. *Science*, 308(5728), 1592–4.
- [44]. Poon, L.C.Y., Kametas, N.A., Chelemen, T., Leal, A., Nicolaides, K.H., 2010, Maternal risk factors for hypertensive disorders in pregnancy: a multivariate approach, *Journal of Human Hypertension*, 24(2), 104–10.
- [45]. Davis, E.F., Lazdam, M., Lewandowski, A.J., Worton, S.A., Kelly, B., Kenworthy, Y., et al., 2012, Cardiovascular Risk Factors in Children and Young Adults Born to Preeclamptic Pregnancies: A Systematic Review, *Pediatrics*, 129(6), e1552–61.
- [46]. Young, B.C., Levine, R.J., Ananth Karumanchi, S., 2010, Pathogenesis of preeclampsia, *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 5, 173–92.
- [47]. Bakrania, B.A., Spradley, F.T., Drummond, H.A., Lamarca, B., Ryan, M.J., Granger, J.P., 2020, Preeclampsia: Linking Placental Ischemia with Maternal Endothelial and Vascular Dysfunction, *Compr Physiol*, 11(1), 1315.
- [48]. Wikström, A.K., Larsson, A., Eriksson, U.J., Nash, P., Nordén-Lindeberg, S., Olovsson, M., 2007, Placental growth factor and soluble FMS-like tyrosine kinase-1 in early-onset and late-onset preeclampsia, *Obstetrics and Gynecology*, 109(6), 1368–74.
- [49]. Noori, M., Donald, A.E., Angelakopoulou, A., Hingorani, A.D., Williams, D.J., 2010, Prospective study of placental angiogenic factors and maternal vascular function before and after preeclampsia and gestational hypertension, *Circulation*, 122(5), 478–87.
- [50]. Sela, S., Itin, A., Natanson-Yaron, S., Greenfield, C., Goldman-Wohl, D., Yagel, S., et al., 2008, A novel human-specific soluble vascular endothelial growth factor receptor 1: Cell type-specific splicing and implications to vascular endothelial growth factor homeostasis and preeclampsia, *Circ Res*, 102(12), 1566–74.
- [51]. Powe, C.E., Levine, R.J., Karumanchi, S.A., 2011, Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: The role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease, *Circulation*, 123(24), 2856–69.

- [52]. Cindrova-Davies, T., Sanders, D.A., Burton, G.J., Charnock-Jones, D.S., 2011, Soluble FLT1 sensitizes endothelial cells to inflammatory cytokines by antagonizing VEGF receptor-mediated signalling, *Cardiovasc Res*, 89(3), 671–9.
- [53]. Zeisler, H., Llorba, E., Chantraine, F., Vatish, M., Staff, A.C., Sennström, M., et al., 2016, Predictive Value of the sFlt-1:PlGF Ratio in Women with Suspected Preeclampsia, *New England Journal of Medicine*, 374(1), 13–22.
- [54]. Brosens, J.J., Pijnenborg, R., Brosens, I.A., 2002, The myometrial junctional zone spiral arteries in normal and abnormal pregnancies: A review of the literature, *Am J Obstet Gynecol*, 187(5), 1416–23.
- [55]. Makris, A., Thornton, C., Thompson, J., Thomson, S., Martin, R., Ogle, R., et al., 2007, Uteroplacental ischemia results in proteinuric hypertension and elevated sFLT-1. *Kidney Int*, 71(10), 977–84.
- [56]. Dimitriadis E., Rolnik D.L., Zhou W., Estrada-Gutierrez G., Koga K., Francisco R.P.V. et al., 2023, Pre-eclampsia. *Nature Reviews Disease Primers*, 9(1), 1–22.
- [57]. ACOG. 2020, Gestational hypertension and preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. *Obstetrics and gynecology*, 135(6), e237-e260.
- [58]. Ditisheim, A., Sibai, B., Tatevian, N., 2020, Placental Findings in Postpartum Preeclampsia: A Comparative Retrospective Study, *Am J Perinatol*, 37(12), 1217–22.
- [59]. Huppertz, B., Frank, H.G., Kingdom, J.C.P., Reister, F., Kaufmann, P., 1998, Villous cytotrophoblast regulation of the syncytial apoptotic cascade in the human placenta. *Histochem Cell Biol*, 110(5), 495–508.
- [60]. Lisonkova, S., Joseph, K.S., 2013, Incidence of preeclampsia: risk factors and outcomes associated with early- versus late-onset disease, *Am J Obstet Gynecol*. 209(6), 544.e1-544.e12.
- [61]. Orabona, R., Donzelli, C.M., Falchetti, M., Santoro, A., Valcamonico, A., Frusca, T., 2016, Placental histological patterns and uterine artery Doppler velocimetry in pregnancies complicated by early or late pre-eclampsia, *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, 47(5), 580–5.
- [62]. Chaiworapongsa, T., Chaemsaitong, P., Korzeniewski, S.J., Yeo, L., Romero, R., 2014, Pre-eclampsia part 2: prediction, prevention and management. *Nature Reviews Nephrology*, 10(9), 531–40.
- [63]. Duckitt, K., Harrington, D., 2005, Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies, *BMJ*, 330(7491), 565.
- [64]. Al-Jameil, N., Khan, F.A., Khan, M.F., Tabassum, H., 2014, A brief overview of preeclampsia, *J Clin Med Res*, 2014;1–1.

- [65]. Day, M.C., Barton, J.R., O'Brien, J.M., Istwan, N.B., Sibai, B.M., 2005, The effect of fetal number on the development of hypertensive conditions of pregnancy, *Obstetrics and Gynecology*, 106(5), 927–31.
- [66]. Roberts, J.M., August, P.A., Bakris, G., Barton, J.R., Bernstein, I.M., Druzin, M., 2013, Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on hypertension in pregnancy, *Obstet Gynecol*, 122(5), 1122–1131.
- [67]. Nirupama, R., Divyashree, S., Janhavi, P., Muthukumar, S.P., Ravindra, P.V., 2021, Preeclampsia: Pathophysiology and management, *J Gynecol Obstet Hum Reprod*, 50(2), 101975.
- [68]. Ragab, A., Goda, H., Raghib, M., Barakat, R., El-Samanoudy, A., Badawy, A., 2013, Does immediate postpartum curettage of the endometrium accelerate recovery from preeclampsia-eclampsia? A randomized controlled trial, *Arch Gynecol Obstet*, 288(5), 1035–8.
- [69]. Brosens, I., Puttemans, P., Benagiano, G., 2019, Placental bed research: I. The placental bed: from spiral arteries remodeling to the great obstetrical syndromes, *Am J Obstet Gynecol*, 221(5), 437–56.
- [70]. Kalkunte, S.S., Mselle, T.F., Norris, W.E., Wira, C.R., Sentman, C.L., Sharma, S., 2009, Vascular Endothelial Growth Factor C Facilitates Immune Tolerance and Endovascular Activity of Human Uterine NK Cells at the Maternal-Fetal Interface, *The Journal of Immunology*, 182(7), 4085–92.
- [71]. Faas, M.M., de Vos, P., 2017, Uterine NK cells and macrophages in pregnancy, *Placenta*, 56, 44–52.
- [72]. Herraiz, I., Llurba, E., Verlohren, S., Galindo, A., Bartha, J.L., De La Calle, M., et al., 2018, Update on the Diagnosis and Prognosis of Preeclampsia with the Aid of the sFlt-1/ PlGF Ratio in Singleton Pregnancies, *Fetal Diagn Ther*, 43(2), 81–9.
- [73]. Zhou, Q., Liu, H., Qiao, F., Wu, Y., Xu, J., 2010, VEGF deficit is involved in endothelium dysfunction in preeclampsia, *Journal of Huazhong University of Science and Technology - Medical Science*, 30(3), 370–4.
- [74]. Livingston, J.C., Chin, R., Haddad, B., McKinney, E.T., Ahokas, R., Sibai, B.M., 2000, Reductions of vascular endothelial growth factor and placental growth factor concentrations in severe preeclampsia, *Am J Obstet Gynecol*, 183(6), 1554–7.
- [75]. Polliotti, B.M., Fry, A.G., Saller, Jr D.N., Mooney, R.A., Cox, C., Miller, R.K., 2003, Second-trimester maternal serum placental growth factor and vascular endothelial growth factor for predicting severe, early-onset preeclampsia, *Obstetrics & Gynecology*, 101(6), 1266–1274.
- [76]. Cindrova-Davies, T., Sanders, D.A., Burton, G.J., Charnock-Jones, D.S., 2011, Soluble FLT1 sensitizes endothelial cells to inflammatory cytokines by antagonizing VEGF receptor-mediated signalling. *Cardiovasc Res*, 89(3), 671–9.

- [77]. Phipps, E.A., Thadhani, R., Benzing, T., Karumanchi, S.A., 2019, Pre-eclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies, *Nature Reviews Nephrology*, 15(5), 275–89.
- [78]. Bartel, D.P., 2004, MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function. *Cell*, 116(2), 281–97.
- [79]. Michlewski, G., Cáceres, J.F., 2019, Post-transcriptional control of miRNA biogenesis, *RNA*, 25(1), 1–16.
- [80]. Han, J., Lee, Y., Yeom, K.H., Kim, Y.K., Jin, H., Kim, V.N., 2004, The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing, *Genes Dev*, 18(24), 3016–27.
- [81]. Yeom, K.H., Lee, Y., Han, J., Suh, M.R., Kim, V.N., 2006, Characterization of DGCR8/Pasha, the essential cofactor for Drosha in primary miRNA processing. *Nucleic Acids Res*, 34(16), 4622–9.
- [82]. Bohnsack, M.T., Czaplinski, K., Görlich, D., 2004, Exportin 5 is a RanGTP-dependent dsRNA-binding protein that mediates nuclear export of pre-miRNAs, *RNA*, 10(2), 185–91.
- [83]. Hutvagner, G., McLachlan, J., Pasquinelli, A.E., Bálint, É., Tuschl, T., Zamore, P.D., 2001, A cellular function for the RNA-interference enzyme dicer in the maturation of the let-7 small temporal RNA, *Science*, 293(5531), 834–8.
- [84]. Gregory, R.I., Chendrimada, T.P., Cooch, N., Shiekhattar, R., 2005, Human RISC couples microRNA biogenesis and posttranscriptional gene silencing, *Cell*, 123(4), 631–40.
- [85]. Rivas, F.V., Tolia, N.H., Song, J.J., Aragon, J.P., Liu, J., Hannon, G.J., et al., 2005, Purified Argonaute2 and an siRNA form recombinant human RISC, *Nature Structural & Molecular Biology*, 12(4), 340–9.
- [86]. Chendrimada, T.P., Finn, K.J., Ji, X., Baillat, D., Gregory, R.I., Liebhaber, S.A., et al., 2007, MicroRNA silencing through RISC recruitment of eIF6, *Nature*, 447(7146), 823–8.
- [87]. Hall, T.M.T., 2005, Structure and function of argonaute proteins, *Structure*, 13(10), 1403–8.
- [88]. Cerqueira, D.M., Tayeb, M., Ho, J., 2022, MicroRNAs in kidney development and disease, *JCI Insight*, 7(9), e158277.
- [89]. Jiang, H., Zhang, G., Wu, J.H., Jiang, C.P., 2014, Diverse roles of miR-29 in cancer. *Oncol Rep*, 31(4), 1509–16.
- [90]. Kwon, J.J., Factor, T.D., Dey, S., Kota, J., 2019, A Systematic Review of miR-29 in Cancer. *Mol Ther Oncolytics*, 12, 173–94.

- [91]. Kriegel, A.J., Liu, Y., Fang, Y., Ding, X., Liang, M., 2012, The miR-29 family: Genomics, cell biology, and relevance to renal and cardiovascular injury, *Physiol Genomics*, 44(4), 237–44.
- [92]. Yan, B., Guo, Q., Fu, F.J., Wang, Z., Yin, Z., Wei, Y.B., et al., 2015, The role of miR-29b in cancer: Regulation, function, and signaling, *Onco Targets Ther*, 8, 539–48.
- [93]. Yu, S., Li, G., 2010, MicroRNA expression and function in cardiac ischemic injury, *J Cardiovasc Transl Res*, 3(3), 241–5.
- [94]. Ge, Y., Chen, G., Sun, L., Liu, F., 2011, MicroRNA-29 and fibrosis diseases, *Journal of Central South University. Medical Sciences*, 36(9), 908–12.
- [95]. Deng, Z., He, Y., Yang, X., Shi, H., Shi, A., Lu, L., et al., 2017, MicroRNA-29: A Crucial Player in Fibrotic Disease, *Mol Diagn Ther*, 21(3), 285–94.
- [96]. Nemezc, M., Alexandru, N., Tanko, G., Georgescu, A., 2016, Role of MicroRNA in Endothelial Dysfunction and Hypertension, *Curr Hypertens Rep*, 18(12), 1–21.
- [97]. Sun, L., Zhang, J., Li, Y., 2019, Chronic central miR-29b antagonism alleviates angiotensin II-induced hypertension and vascular endothelial dysfunction, *Life Sci*, 235, 116862.
- [98]. Liu, M.N., Luo, G., Gao, W.J., Yang, S.J., Zhou, H., 2021, miR-29 family: A potential therapeutic target for cardiovascular disease, *Pharmacol Res*, 166, 105510.
- [99]. Licholai, S., Szczeklik, W., Sanak, M., 2016, miR-29c-3p is an Effective Biomarker of Abdominal Aortic Aneurysm in Patients Undergoing Elective Surgery, *MicroRNA*, 2016(5),124–31.
- [100]. Fang, J.H., Zhou, H.C., Zeng, C., Yang, J., Liu, Y., Huang, X., et al., 2011, MicroRNA-29b suppresses tumor angiogenesis, invasion, and metastasis by regulating matrix metalloproteinase 2 expression, *Hepatology*, 54(5),1729–40.
- [101]. Fabbri, M., Garzon, R., Cimmino, A., Liu, Z., Zanesi, N., Callegari, E., et al., 2007, MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(40), 15805–10.
- [102]. Blinder, M.A., Marasa, J.C., Reynolds, C.H., Deaven, L.L., Tollefsen, D.M., 1988, Heparin Cofactor II: cDNA Sequence, Chromosome Localization, Restriction Fragment Length Polymorphism, and Expression in Escherichia Coli, *Biochemistry*, 27(2), 752–9.
- [103]. Ragg, H., 1986, A new member of the plasma protease inhibitor gene family, *Nucleic Acids Res*, 14(2), 1073–88.

- [104]. Zhang, G.S., Mehringer, J.H., Van Deerlin, V.M.D., Tollefsen, D.M., Kozak, C.A., 1994, Murine Heparin Cofactor II: Purification, cDNA Sequence, Expression, and Gene Structure, *Biochemistry*, 33(12), 3632–42.
- [105]. Sie, P., Dupouy, D., Pichon, J., Boneu, B., 1985, Turnover study of heparin cofactor II in healthy man, *Thromb Haemost*, 54(3), 635–8.
- [106]. Tollefsen, D.M., Pestka, C.A., 1985, Heparin cofactor II activity in patients with disseminated intravascular coagulation and hepatic failure, *Blood*, 66(4), 769–74.
- [107]. Kounnas, M.Z., Church, F.C., Argraves, W.S., Strickland, D.K., 1996, Cellular Internalization and Degradation of Antithrombin III-Thrombin, Heparin Cofactor II-Thrombin, and α 1-Antitrypsin-Trypsin Complexes Is Mediated by the Low Density Lipoprotein Receptor-related Protein, *Journal of Biological Chemistry*, 271(11), 6523–9.
- [108]. Griffith, M.J., Noyes, C.M., Tyndall, J.A., Church, F.C., 1985, Structural Evidence for Leucine at the Reactive Site of Heparin Cofactor II, *Biochemistry*, 24(24), 6777–82.
- [109]. Tollefsen, D.M., Maimone, M.M., Mcguire, E.A., Peacock, M.E., 1989, Heparin Cofactor II Activation by Dermatan Sulfate, *Ann NY Acad Sci*, 556(1), 116–22.
- [110]. Van Deerlin, V.M.D., Tollefsen, D.M., 1991, The N-terminal acidic domain of heparin cofactor ii mediates the inhibition of α -thrombin in the presence of glycosaminoglycans, *Journal of Biological Chemistry*, 266(30), 20223–31.
- [111]. Tollefsen, D.M., 2007, Heparin cofactor II modulates the response to vascular injury, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 27(3), 454–60.
- [112]. Tuddenham, E.G.D., Lane, R.S., Rotblat, F., Johnson, A.J., Snape, T.J., Middleton, S., et al., 1982, Response to infusions of polyelectrolyte fractionated human factor VIII concentrate in human haemophilia A and von Willebrand's disease, *Br J Haematol*, 52(2), 259–67.
- [113]. Tollefsen, D.M., 2010, Vascular Dermatan Sulfate and Heparin Cofactor II. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 93(C), 351–72.
- [114]. Kontovazainitis, C.G., Gialamprinou, D., Theodoridis, T., Mitsiakos, G., 2024, Hemostasis in Pre-Eclamptic Women and Their Offspring: Current Knowledge and Hemostasis Assessment with Viscoelastic Tests, *Diagnostics*, 14(3), 347.
- [115]. Khadijah Ismail, S., Higgins, J.R., 2011, Hemostasis in pre-eclampsia, *Semin Thromb Hemost*, 37(2), 111–7.
- [116]. Ataullakhanov, F.I., Koltsova, E.M., Balandina, A.N., Serebriyskiy, II, Vuimo, T.A., Panteleev, M.A., 2016, Classic and Global Hemostasis Testing in Pregnancy and during Pregnancy Complications, *Semin Thromb Hemost*, 42(7), 696–716.

- [117]. Espinoza, J., Vidaeff, A., Pettker, C.M., Simhan, H., 2020, Gestational hypertension and preeclampsia, *Obstetrics and gynecology*, 135(6), E237–60.
- [118]. Lidan, H., Jianbo, W., Liqin, G., Jifen, H., Lin, L., Xiuyan, W., 2019, The diagnostic efficacy of thrombelastography (TEG) in patients with preeclampsia and its association with blood coagulation, *Open Life Sci*, 14(1), 335–41.
- [119]. Giri, T.K., Tollefsen, D.M., 2006, Placental dermatan sulfate: isolation, anticoagulant activity, and association with heparin cofactor II, *Blood*, 107(7), 2753–8.
- [120]. Brennan, M.J., Oldberg, A., Pierschbacher, M.D., Ruoslahti, E., 1984, Chondroitin/dermatan sulfate proteoglycan in human fetal membranes. Demonstration of an antigenically similar proteoglycan in fibroblasts, *Journal of Biological Chemistry*, 259(22), 13742–50.
- [121]. Delorme, M.A., Xu, L., Berry, L., Mitchell, L., Andrew, M., 1998, Anticoagulant Dermatan Sulfate Proteoglycan (Decorin) in the Term Human Placenta, *Thromb Res*, 90(4), 147–53.
- [122]. Wasserman, L., Shlesinger, H., Abramovici, A., Goldman, J.A., Allalouf, D., 1980, Glycosaminoglycan patterns in diabetic and toxemic term placentas, *Am J Obstet Gynecol*, 138(7), 769–73.
- [123]. Liu, L., Dewar, L., Song, Y., Kulczycky, M., Blajchman, M.A., Fenton, J.W., et al., 1995, Inhibition of thrombin by antithrombin III and heparin cofactor II in vivo, *Thromb Haemost*, 73(3), 405–12.
- [124]. Hackney, D.N., Chiao, J.P., MacPherson, T.A., Simhan, H.N., 2009, First trimester maternal concentrations of thrombin-inhibitor complexes and the presence of histologic placental lesions at delivery, *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 22(10), 837–42.
- [125]. Massouh, M., Jatoi, A., Gordon, E.M., Ratnoff, O.D., 1989, Heparin cofactor II activity in plasma during pregnancy and oral contraceptive use, *J Lab Clin Med*, 114(6), 697–9.
- [126]. Uchikova, E.H., Ledjev, II., 2005, Changes in haemostasis during normal pregnancy, *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 119(2), 185–8.
- [127]. Sato, A., Ogita, H., 2017, Pathophysiological Implications of Dipeptidyl Peptidases. *Curr Protein Pept Sci*. 18(8).
- [128]. Ohara-Nemoto, Y., Shimoyama, Y., Nakasato, M., Nishimata, H., Ishikawa, T., Sasaki, M., et al., 2018, Distribution of dipeptidyl peptidase (DPP) 4, DPP5, DPP7 and DPP11 in human oral microbiota—potent biomarkers indicating presence of periodontopathic bacteria, *FEMS Microbiol Lett*, 365(22).

- [129]. Söderberg, C., Giugni, T.D., Zaia, J.A., Larsson, S., Wahlberg, J.M., Möller, E., 1993, CD13 (human aminopeptidase N) mediates human cytomegalovirus infection, *J Virol*, 67(11), 6576–85.
- [130]. Selvakumar, P., Lakshmikuttyamma, A., Das, U., Pati, H.N., Dimmock, J.R., Sharma, R.K., 2009, NC2213: A novel methionine aminopeptidase 2 inhibitor in human colon cancer HT29 cells, *Mol Cancer*, 8(1), 65.
- [131]. Pham, V.L., Cadel, M.S., Gouzy-Darmon, C., Hanquez, C., Beinfeld, M.C., Nicolas, P., et al., 2007, Aminopeptidase B, a glucagon-processing enzyme: Site directed mutagenesis of the Zn²⁺-binding motif and molecular modelling, *BMC Biochem*, 8(1), 1–20.
- [132]. Shibata, K., Kikkawa, F., Suzuki, Y., Mizokami, Y., Kajiyama, H., Ino, K., et al., 2004, Expression of Placental Leucine Aminopeptidase Is Associated with a Poor Outcome in Endometrial Endometrioid Adenocarcinoma, *Oncology*, 66(4), 288–95.
- [133]. Lowther, W.T., Matthews, B.W., 2002, Metalloaminopeptidases: Common functional themes in disparate structural surroundings, *Chem Rev*, 102(12):4581–607.
- [134]. Shimamori, Y., Watanabe, Y., Fujimoto, Y., 1986, Purification and Characterization of Dipeptidyl Aminopeptidase III from Human Placenta, *Chem Pharm Bull*, 34(8), 3333–40.
- [135]. Ellis, S., Nuenke, J.M., 1967, Dipeptidyl Arylamidase III of the Pituitary: Purification And Characterization, *Journal of Biological Chemistry*, 242(20), 4623–9.
- [136]. Baral, P.K., Jajčanin-Jozić, N., Deller, S., Macheroux, P., Abramić, M., Gruber, K., 2008, The first structure of dipeptidyl-peptidase III provides insight into the catalytic mechanism and mode of substrate binding, *Journal of Biological Chemistry*, 283(32), 22316–24.
- [137]. Baršun, M., Jajčanin, N., Vukelić, B., Špoljarić, J., Abramić, M., 2007, Human dipeptidyl peptidase III acts as a post-proline-cleaving enzyme on endomorphins, *Biol Chem*, 388(3), 343–8.
- [138]. Bezerra, G.A., Dobrovetsky, E., Viertlmayr, R., Dong, A., Binter, A., Abramić, M., et al., 2012, Entropy-driven binding of opioid peptides induces a large domain motion in human dipeptidyl peptidase III, *Proc Natl Acad Sci*, 109(17), 6525–30.
- [139]. Mazzocco, C., Fukasawa, K.M., Raymond, A.A., Puiroux, J., 2001, Purification, partial sequencing and characterization of an insect membrane dipeptidyl aminopeptidase that degrades the insect neuropeptide proctolin, *Eur J Biochem*, 268(18), 4940–9.
- [140]. Chiba, T., Li, Y.H., Yamane, T., Ogikubo, O., Fukuoka, M., Arai, R., et al., 2003, Inhibition of recombinant dipeptidyl peptidase III by synthetic hemorphin-like peptides, *Peptides*, 24(5), 773–8.

- [141]. Simões, E., Silva, A.C., Silveira, K.D., Ferreira, A.J., Teixeira, M.M., 2013, ACE2, angiotensin-(1-7) and Mas receptor axis in inflammation and fibrosis, *Br J Pharmacol*, 169(3), 477–92.
- [142]. Santos, R.A.S., Ferreira, A.J., Verano-Braga, T., Bader, M., 2013, Angiotensin-converting enzyme 2, angiotensin-(1-7) and Mas: new players of the renin-angiotensin system, *Metabolism Journal of Endocrinology*, 216, 1–17.
- [143]. Cruz-Diaz, N., Wilson, B.A., Pirro, N.T., Brosnihan, K.B., Marshall, A.C., Chappell, M.C., 2016, Identification of dipeptidyl peptidase 3 as the Angiotensin-(1–7) degrading peptidase in human HK-2 renal epithelial cells, *Peptides*, 83, 29–37.
- [144]. Beitia, M., Solano-Iturri, J.D., Errarte, P., Sanz, B., Perez, I., Etxezarraga, M.C., et al., 2019, Altered expression of renin-angiotensin system receptors throughout colorectal adenoma-adenocarcinoma sequence, *Int J Med Sci*, 16(6), 813.
- [145]. Boorsma, E.M., Ter Maaten, J.M., Damman, K., van Veldhuisen, D.J., Dickstein, K., Anker, S.D., et al., 2021, Dipeptidyl peptidase 3, a marker of the antagonist pathway of the renin–angiotensin–aldosterone system in patients with heart failure, *Eur J Heart Fail*, 23(6), 947–53.
- [146]. Fyhrquist, F., Saijonmaa, O., 2008, Renin-angiotensin system revisited. *J Intern Med*, 264(3), 224–36.
- [147]. Romero, C.A., Orias, M., Weir, M.R., 2015, Novel RAAS agonists and antagonists: clinical applications and controversies, *Nature Reviews Endocrinology*, 11(4), 242–52.
- [148]. Ferreira, A.J., Santos, R.A.S., 2005, Cardiovascular actions of angiotensin-(1-7), *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 38(4), 499–507.
- [149]. Hernández Prada, J.A., Ferreira, A.J., Katovich, M.J., Shenoy, V., Qi, Y., Santos, R.A.S, et al., 2008, Structure-based identification of small-molecule angiotensin-converting enzyme 2 activators as novel antihypertensive agents, *Hypertension*, 51(5), 1312–7.
- [150]. Benter, I.F., Yousif, M.H.M., Al-Saleh, F.M., Raghupathy, R., Chappell, M.C., Diz, D.I., 2011, Angiotensin-(1-7) blockade attenuates captopril- or hydralazine-induced cardiovascular protection in spontaneously hypertensive rats treated with NG-nitro-l-arginine methyl ester, *J Cardiovasc Pharmacol*, 57(5), 559–67.
- [151]. Carroll, M.A., Kang, Y.J., Chander, P.N., Stier, C.T., 2015, Azilsartan Is Associated With Increased Circulating Angiotensin-(1–7) Levels and Reduced Renovascular 20-HETE Levels, *Am J Hypertens*, 28(5), 664–71.
- [152]. Velez, J.C.Q., Ierardi, J.L., Bland, A.M., Morinelli, T.A., Arthur, J.M., Raymond, J.R., et al., 2012, Enzymatic processing of angiotensin peptides by human glomerular endothelial cells, *Am J Physiol Renal Physiol*, 302(12).

- [153]. Pörsti, I., Bara, A.T., Busse, R., Hecker, M., 1994, Release of nitric oxide by angiotensin-(1–7) from porcine coronary endothelium: implications for a novel angiotensin receptor, *Br J Pharmacol*, 111(3), 652–4.
- [154]. Brosnihan, K.B., Li, P., Ferrario, C.M., 1996, Angiotensin-(1-7) dilates canine coronary arteries through kinins and nitric oxide, *Hypertension*, 27(3 II), 523–8.
- [155]. Li, P., Chappell, M.C., Ferrario, C.M., Brosnihan, K.B., 1997, Angiotensin-(1-7) augments bradykinin-induced vasodilation by competing with ACE and releasing nitric oxide, *Hypertension*, 29(1 II), 394–400.
- [156]. Muthalif, M.M., Benter, I.F., Uddin, M.R., Harper, J.L., Malik, K.U., 1998, Signal Transduction Mechanisms Involved in Angiotensin-(1–7)-Stimulated Arachidonic Acid Release and Prostanoid Synthesis in Rabbit Aortic Smooth Muscle Cells, *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 284(1), 388–398.
- [157]. Iyer, S., Leonidas, D., Swaminathan, G.J., Maglione, D., Battisti, M., Tucci, M., ... & Acharya, K. R., 200, The crystal structure of human placenta growth factor-1 (PlGF-1), an angiogenic protein, at 2.0 Å resolution. *Journal of Biological Chemistry*, 276(15), 12153–12161.
- [158]. Fernandes, L., Fortes, Z.B., Nigro, D., Tostes, R.C.A., Santos, R.A.S., Catelli de Carvalho, M.H., 2001, Potentiation of bradykinin by angiotensin-(1-7) on arterioles of spontaneously hypertensive rats studied in vivo, *Hypertension*, 37(2 II), 703–9.
- [159]. Takagi, K., Blet, A., Levy, B., Deniau, B., Azibani, F., Feliot, E., et al., 2020, Circulating dipeptidyl peptidase 3 and alteration in haemodynamics in cardiogenic shock: results from the OptimaCC trial, *Eur J Heart Fail*, 22(2), 279–86.
- [160]. McDonagh, T.A., Metra, M., Adamo, M., Baumbach, A., Böhm, M., Burri, H., et al., 2021, ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC, *Eur Heart J*, 42(36), 3599–726.
- [161]. Chioncel, O., Parissis, J., Mebazaa, A., Thiele, H., Desch, S., Bauersachs, J., et al., 2020, Epidemiology, pathophysiology and contemporary management of cardiogenic shock – a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology, *Eur J Heart Fail*, 22(8), 1315–41.
- [162]. Reynolds, H.R., Hochman, J.S., Cardiogenic shock current concepts and improving outcomes. *Circulation*, 117(5), 686–97.
- [163]. Frigyesi, A., Lengquist, M., Spångfors, M., Annborn, M., Cronberg, T., Nielsen, N., et al., 2021, Circulating dipeptidyl peptidase 3 on intensive care unit admission is a predictor of organ dysfunction and mortality, *J Intensive Care*, 9(1), 1–8.

- [164]. Funk, C.D., 2001, Prostaglandins and Leukotrienes: Advances in Eicosanoid Biology. *Science*, 294(5548), 1871–5.
- [165]. Harizi, H., Corcuff, J.B., Gualde, N., 2008, Arachidonic-acid-derived eicosanoids: roles in biology and immunopathology, *Trends Mol Med*, 14(10), 461–9.
- [166]. Woodward, D.F., Jones, R.L., Narumiya, S., 2011, International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXXIII: Classification of Prostanoid Receptors, Updating 15 Years of Progress, *Pharmacol Rev*, 63(3), 471–538.
- [167]. Smith, W.L., DeWitt, D.L., Garavito, R.M., 2000, Cyclooxygenases: Structural, cellular, and molecular biology. *Annu Rev Biochem*, 69, 145–82.
- [168]. Jia, Z., Zhang, A., Zhang, H., Dong, Z., Yang, T., 2006, Deletion of microsomal prostaglandin E synthase-1 increases sensitivity to salt loading and angiotensin II infusion, *Circ Res*, 99(11), 1243–51.
- [169]. Facemire, C.S., Griffiths, R., Audoly, L.P., Koller, B.H., Coffman, T.M., 2010, The impact of microsomal prostaglandin e synthase 1 on blood pressure is determined by genetic background, *Hypertension*, 55(2), 531–8.
- [170]. Zhu, L., Xu, C., Huo, X., Hao, H., Wan, Q., Chen, H., et al., 2019, The cyclooxygenase-1/mPGES-1/endothelial prostaglandin EP4 receptor pathway constrains myocardial ischemia-reperfusion injury, *Nature Communications*, 10(1), 1–12.
- [171]. Sampey, A.V., Monrad, S., Crofford, L.J., 2005, Microsomal prostaglandin E synthase-1: The inducible synthase for prostaglandin E2, *Arthritis Res Ther*, 7(3), 114–7.
- [172]. Hohjoh, H., Inazumi, T., Tsuchiya, S., Sugimoto, Y., 2014, Prostanoid receptors and acute inflammation in skin, *Biochimie*, 107(Part A), 78–81.
- [173]. Sugimoto, Y., Narumiya, S., 2007, Prostaglandin E receptors, *Journal of Biological Chemistry*, 282(16), 11613–7.
- [174]. Glenn, J.R., White, A.E., Iyu, D., Heptinstall, S., 2012, PGE2 reverses Gs-mediated inhibition of platelet aggregation by interaction with EP3 receptors, but adds to non-Gs-mediated inhibition of platelet aggregation by interaction with EP4 receptors, *Platelets*, 23(5), 344–51.
- [175]. Abramovitz, M., Adam, M., Boie, Y., Carrière, M.C., Denis, D., Godbout, C., et al., 2000, The utilization of recombinant prostanoid receptors to determine the affinities and selectivities of prostaglandins and related analogs, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1483(2), 285–93.
- [176]. Schneider, A., Zhang, Y.H., Zhang, M., Lu, W.J., Rao, R., Fan, X., et al., 2004, Membrane-associated PGE synthase-1 (mPGES-1) is coexpressed with both COX-1 and COX-2 in the kidney, *Kidney Int.*, 65(4), 1205–13.

- [177]. Zhang, D.J., Chen, L.H., Zhang, Y.H., Yang, G.R., Dou, D., Gao, Y.S., et al., 2010, Enhanced pressor response to acute Ang II infusion in mice lacking membrane-associated prostaglandin E2 synthase-1, *Acta Pharmacologica Sinica*, 31(10), 1284–92.
- [178]. Jia, Z., Guo, X., Zhang, H., Wang, M.H., Dong, Z., Yang, T., 2008, Microsomal prostaglandin synthase-1-derived prostaglandin E2 protects against angiotensin II-induced hypertension via inhibition of oxidative stress, *Hypertension*, 52(5), 952–9.
- [179]. Yang, G., Chen, L., 2016, An Update of Microsomal Prostaglandin E Synthase-1 and PGE2 Receptors in Cardiovascular Health and Diseases, *Oxid Med Cell Longev*, 2016(1), 5249086.
- [180]. Dey, I., Lejeune, M., Chadee, K., 2006, Prostaglandin E2 receptor distribution and function in the gastrointestinal tract, *Br J Pharmacol.*, 149(6), 611–23.
- [181]. Hohlfeld, T., Meyer-Kirchrath, J., Vogel, Y.C., Schrör, K., 2000, Reduction of Infarct Size by Selective Stimulation of Prostaglandin EP3Receptors in the Reperfused, *Ischemic Pig Heart. J Mol Cell Cardiol.*, 32(2), 285–96.
- [182]. Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A.G., Buchner, A., 2007, G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences, *Behav Res Methods*, 39(2), 175–91.
- [183]. Cohen, J., 2013, Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences. 2nd Edition. New York: *Routledge*; 2013. 567 p.
- [184]. Himes, J.H., Dietz, W.H., Bray, G., Guo, S., Roche, A.F., Story, M., et al., 1994, Guidelines for overweight in adolescent preventive services: recommendations from an expert committee, *Am J Clin Nutr*, 59(2), 307–16.
- [185]. Salvi, G., De Los Rios, P., Vendruscolo, M., 2005, Effective interactions between chaotropic agents and proteins. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 61(3), 492–9.
- [186]. Mommaerts, K., Sanchez, I., Betsou, F., Mathieson, W., 2015, Replacing β -mercaptoethanol in RNA extractions, *Anal Biochem.*, 479, 51–3.
- [187]. Jalali, M., Zaborowska, J., Jalali, M., 2017, The Polymerase Chain Reaction: PCR, qPCR, and RT-PCR, *Basic Science Methods for Clinical Researchers*, 1–18.
- [188]. Farkas, D.H., Holland, C.A., 2009, Overview of Molecular Diagnostic Techniques and Instrumentation- Cell and Tissue Based Molecular Pathology, *Churchill Livingstone*, Philadelphia; 2009. 19-32. p.
- [189]. Günel, T., 2007, Gen Anlatımının Kantitatif Analizi, *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 27(5), 763–7.
- [190]. Livak, K.J., Schmittgen, T.D., 2001, Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2– $\Delta\Delta$ CT Method, *Methods*, 25(4), 402–8.

- [191]. Tabachnick, B.G., Fidell, L.S., Ullman, J.B., 2013, Using multivariate statistics, *Pearson*. Vol. 6. Boston, 497–516 p.
- [192]. Prozorovskaya, K.N., Fayzullin, L.Z., Karnauhov, V.N., Kan, N.E., Tyutyunnik, V.L., Ganichkina, M.B., et al., 2016, Quantification of plasma microRNA expression in pregnant women with preeclampsia, *Obstetrics and Gynecology*, 12, 47–52.
- [193]. Murphy, M.S.Q., Casselman, R.C., Tayade, C., Smith, G.N., 2015, Differential expression of plasma microRNA in preeclamptic patients at delivery and 1 year postpartum, *Am J Obstet Gynecol.*, 213(3), 367.e1-367.e9.
- [194]. Senousy, M.A., Shaker, O.G., Elmaasrawy, A.H.Z., Ashour, A.M., Alsufyani, S.E., Arab, H.H., et al., 2024, Serum lncRNAs TUG1, H19, and NEAT1 and their target miR-29b/SLC3A1 axis as possible biomarkers of preeclampsia: Potential clinical insights, *Noncoding RNA Res.*, 9(4), 995–1008.
- [195]. Aharon, A., Rebibo-Sabbah, A., Ahmad, R.S., Dangot, A., Bar-Lev, T.H., Brenner, B., et al., 2023, Associations of maternal and placental extracellular vesicle miRNA with preeclampsia, *Front Cell Dev Biol.*, 11, 1080419.
- [196]. Quan, X., Zhao, M., Yang, X., Zhu, Y., Tian, X., 2019, AP2 γ mediated downregulation of lncRNA LINC00511 as a ceRNA suppresses trophoblast invasion by regulating miR-29b-3p/Cyr61 axis, *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 120, 109269.
- [197]. Hu, Y., Li, P., Hao, S., Liu, L., Zhao, J., Hou, Y., 2009, Differential expression of microRNAs in the placentae of Chinese patients with severe pre-eclampsia, *Clin Chem Lab Med*, 47(8), 923–9.
- [198]. Wang, L., Li, Y., 2020, MiR-29b-3p affects growth and biological functions of human extravillous trophoblast cells by regulating bradykinin B2 receptor, *Arch Med Sci.*, 18(2), 499.
- [199]. Wang, Y., Fan, H., Zhao, G., Liu, D., Du, L., Wang, Z., et al., 2012, miR-16 inhibits the proliferation and angiogenesis-regulating potential of mesenchymal stem cells in severe pre-eclampsia, *FEBS J.*, 279(24), 4510–24.
- [200]. Li, P., Guo, W., Du, L., Zhao, J., Wang, Y., Liu, L., et al., 2013, microRNA-29b contributes to pre-eclampsia through its effects on apoptosis, invasion and angiogenesis of trophoblast cells, *Clin Sci.*, 124(1), 27–40.
- [201]. Jensen, D.M., Han, P., Mangala, L.S., Lopez-Berestein, G., Sood, A.K., Liu, J., et al., 2022, Broad-acting therapeutic effects of miR-29b-chitosan on hypertension and diabetic complications, *Molecular Therapy*, 30(11), 3462–76.
- [202]. Zhang, Y., Huang, X.R., Wei, L.H., Chung, A.C., Yu, C.M., Lan, H.Y., 2014, MiR-29b as a therapeutic agent for angiotensin ii-induced cardiac fibrosis by targeting TGF- β /Smad3 signaling, *Molecular Therapy*, 22(5), 974–85.

- [203]. Bellart, J., Gilabert, R., Cabero, L., Fontcuberta, J., Monasterio, J., Miralles, R.M., 1998, Heparin cofactor II: a new marker for pre-eclampsia, *Blood Coagul Fibrinolysis*, 9, 205–8.
- [204]. Bellart, J., Gilabert, R., Fontcuberta, J., Borrell, M., Miralles, R.M., Cabero, L., 1998, Coagulation and Fibrinolysis Parameters in Normal and in Hypertensive Pregnancies, *Hypertens Pregnancy*, 17(2), 115–23.
- [205]. Friedman, K.D., Borok, Z., Owen, J., 1986, Heparin cofactor activity and antithrombin iii antigen levels in preeclampsia, *Thromb Res.*, 43(4), 409–16.
- [206]. Kametas, N.A., Nzelu, D., Nicolaides, K.H., 2022, Chronic hypertension and superimposed preeclampsia: screening and diagnosis, *Am J Obstet Gynecol.*, 226(2), S1182–95.
- [207]. Gyselaers, W., 2022, Hemodynamic pathways of gestational hypertension and preeclampsia, *Am J Obstet Gynecol.*, 226(2), S988–1005.
- [208]. Antwi, E., Amoakoh-Coleman, M., Vieira, D.L., Madhavaram, S., Koram, K.A., Grobbee, D.E., et al., 2020, Systematic review of prediction models for gestational hypertension and preeclampsia, *PLoS One*, 15(4), e0230955.
- [209]. Tamanna, S., Clifton, V.L., Rae, K., van Helden, D.F., Lumbers, E.R., Pringle, K.G., 2020, Angiotensin Converting Enzyme 2 (ACE2) in Pregnancy: Preeclampsia and Small for Gestational Age, *Front Physiol*, 11, 590787.
- [210]. Vickers, C., Hales, P., Kaushik, V., Dick, L., Gavin, J., Tang, J., et al., 2002, Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase, *Journal of Biological Chemistry*, 277(17), 14838–43.
- [211]. van Lier, D., Kox, M., Pickkers, P., 2021, Promotion of vascular integrity in sepsis through modulation of bioactive adrenomedullin and dipeptidyl peptidase 3, *J Intern Med*, 289(6), 792–806.
- [212]. Picod, A., Placier, S., Genest, M., Callebort, J., Julian, N., Zalc, M., et al., 2024, Circulating Dipeptidyl Peptidase 3 Modulates Systemic and Renal Hemodynamics Through Cleavage of Angiotensin Peptides, *Hypertension*, 81(4), 927–35.
- [213]. Deniau, B., Rehfeld, L., Santos, K., Dienelt, A., Azibani, F., Sadoune, M., et al., 2020, Circulating dipeptidyl peptidase 3 is a myocardial depressant factor: dipeptidyl peptidase 3 inhibition rapidly and sustainably improves haemodynamics, *Eur J Heart Fail.*, 22(2), 290–9.
- [214]. Weinstein, L., 1982, Syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count: A severe consequence of hypertension in pregnancy, *Am J Obstet Gynecol.*, 142(2), 159–67.
- [215]. van Lier, D., Deniau, B., Santos, K., Hartmann, O., Dudoignon, E., Depret, F., et al., 2023, Circulating dipeptidyl peptidase 3 and bio-adrenomedullin levels are associated

with impaired outcomes in critically ill COVID-19 patients: a prospective international multicentre study, *ERJ Open Res.*, 9(1).

- [216]. Voiosu, A.M., Wiese, S., Goetze, J.P., Hartmann, O., Voiosu, T., Santos, K., et al., 2022, Dipeptidyl peptidase-3 is associated with severity of liver disease and circulatory complications in patients with cirrhosis, *Biomarkers*, 27(2), 196–204.
- [217]. Rood, K.M., Patel, N., DeVengencie, I.M., Quinn, J.P., Gowdy, K.M., Costantine, M.M., et al., 2023, Aspirin modulates production of pro-inflammatory and pro-resolving mediators in endothelial cells, *PLoS One*, 18(4), e0283163.
- [218]. Astle, S., Newton, R., Thornton, S., Vatish, M., Slater, D.M., 2007, Expression and regulation of prostaglandin E synthase isoforms in human myometrium with labour, *Mol Hum Reprod.*, 13(1), 69–75.
- [219]. Roman, A.S., Schreher, J., Mackenzie, A.P., Nathanielsz, P.W., 2006, Omega-3 fatty acids and decidual cell prostaglandin production in response to the inflammatory cytokine IL-1 β , *Am J Obstet Gynecol.*, 195(6), 1693–9.
- [220]. Kubota, K., Kubota, T., Kamei, D., Murakami, M., Kudo, I., Aso, T., et al., 2005, Change in prostaglandin E synthases (PGESs) in microsomal PGES-1 knockout mice in a preterm delivery model, *Journal of Endocrinology*, 187(3), 339–45.
- [221]. Siljee, J.E., Wortelboer, E.J., Koster, M.P.H., Imholz, S., Rodenburg, W., Visser, G.H.A., et al., 2013, Identification of interleukin-1 beta, but no other inflammatory proteins, as an early onset pre-eclampsia biomarker in first trimester serum by bead-based multiplexed immunoassays, *Prenat Diagn.*, 33(12), 1183–8.
- [222]. Dong, W., Yin, L., 2014, Expression of lipoxin A4, TNF α and IL-1 β in maternal peripheral blood, umbilical cord blood and placenta, and their significance in pre-eclampsia, *Hypertens Pregnancy*, 33(4), 449–56.
- [223]. Ruan, Y.C., Guo, J.H., Liu, X., Zhang, R., Tsang, L.L., Dong, J Da, et al., 2012, Activation of the epithelial Na⁺ channel triggers prostaglandin E2 release and production required for embryo implantation, *Nature Medicine*, 18(7), 1112–7.
- [224]. Kennedy, T.G., Gillio-Meina, C., Phang, S.H., 2007, Prostaglandins and the initiation of blastocyst implantation and decidualization, *Reproduction*, 134(5), 635–43.
- [225]. Ni, H., Sun, T., Ding, N.Z., Ma, X.H., Yang, Z.M., 2002, Differential Expression of Microsomal Prostaglandin E Synthase at Implantation Sites and in Decidual Cells of Mouse Uterus, *Biol Reprod.*, 67(1), 351–8.
- [226]. Slater, D.M., Astle, S., Woodcock, N., Chivers, J.E., de Wit, N.C.J., Thornton, S., et al., 2006, Anti-inflammatory and relaxatory effects of prostaglandin E2 in myometrial smooth muscle, *Mol Hum Reprod.*, 12(2), 89–97.
- [227]. Li, W., Lu, J., wen, Zhang, C., yue, Wang, W., sheng, Ying, H., Myatt, L., et al., 2021, PGE2 vs PGF2 α in human parturition, *Placenta*, 104, 208–19.

- [228]. Cha, J., Bartos, A., Egashira, M., Haraguchi, H., Saito-Fujita, T., Leishman, E., et al., 2013, Combinatory approaches prevent preterm birth profoundly exacerbated by gene-environment interactions, *J Clin Invest.*, 123(9), 4063–75.
- [229]. Guo, Q., Li, J., Zhong, L., Cai, H., Wang, H., Yan, H., et al., 2019, Prostaglandin-E2 deficiency during late pregnancy and the associated increase in interleukin-1 β derived from periaortic lymph nodes lead to abortion, *Mol Hum Reprod.*, 25(12), 825–37.
- [230]. Yao, L., Chen, W., Han, C., Wu, T., 2016, Microsomal prostaglandin E synthase-1 protects against Fas-induced liver injury, *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.*, 310(11), G1071–80.
- [231]. Sumitomo-Ueda, Y., Aihara, K.I., Ise, T., Yoshida, S., Ikeda, Y., Uemoto, R., et al., 2010, Heparin cofactor II protects against angiotensin II-induced cardiac remodeling via attenuation of oxidative stress in mice, *Hypertension*, 56(3), 430–6.
- [232]. Aguado, A., Rodríguez, C., Martínez-Revelles, S., Avendaño, M.S., Zhenyukh, O., Orriols, M., et al., 2015, HuR mediates the synergistic effects of angiotensin II and IL-1 β on vascular COX-2 expression and cell migration, *Br J Pharmacol.*, 172(12), 3028–42.
- [233]. Avendaño, M.S., Martínez-Revelles, S., Aguado, A., Simões, M.R., González-Amor, M., Palacios, R., et al., 2016, Role of COX-2-derived PGE2 on vascular stiffness and function in hypertension, *Br J Pharmacol.*, 173(9), 1541–55.
- [234]. Avendaño, M.S., García-Redondo, A.B., Zalba, G., González-Amor, M., Aguado, A., Martínez-Revelles, S., et al., 2018, MPGES-1 (Microsomal prostaglandin E synthase-1) mediates vascular dysfunction in hypertension through oxidative stress, *Hypertension*, 72(2), 492–502.

EKLER

Ek-1. Gönüllü olur formu

IÜ-CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI VE BIYOKİMYA ANABİLİM DALI KAN ÖRNEĞİ ALIMI İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Değerli katılımcı, sizi IÜC- Cerrahpaşa Tıp Fakültesinde gerçekleştirilecek olan “Preeklampsi Patogenezi Üzerine miR-29 Ekspresyonu ile Serum HCII, DPP3 ve mPGES-1 Düzeylerinin Olası Etkileri” başlıklı projeye davet ediyoruz. Bu araştırmaya 30 sağlıklı birey ve 50 preeklampsi hastası olan bireylerin katılması beklenmektedir. Bu formu imzalamanız, çalışmanın kapsamı hakkında bilgilendirildiğinizi ve kararınızı serbestçe verdiğinizi belirtmektedir. Anlamadığımız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa açıklanmasını talep ediniz.

Araştırmanın Konusu ve Prosedürü:

Vasküler bozunmaların nedenleri ve olası sonuçları ile ilişkili bu parametrelerin, preeklampsi hastalarında da aynı yönde değişim gösterip, hedef yolakları etkileyerek preeklampsi somut belirtilerinin ortaya çıkmasıyla ilişkisini değerlendirmek, preeklampsi gelişim mekanizmalarını daha iyi anlamamızı sağlayacaktır. Çalışma parametreleri gelecekte potansiyel tedavi edici seçeneklerin geliştirilmesi için öneme sahiptir.

Çalışmaya katılmayı kabul etmeniz dahilinde sizden venöz kan (toplardamar kanı) alınacaktır. Alınan kan örneği planladığımız çalışmada bilimsel amaçlı kullanılacaktır. Bu çalışmada yer almanız durumunda sizden ve diğer katılımcılardan elde edilecek veriler ile bilimsel bir sonuca ulaşılabilecektir. Sizden ek bir örnek alımı ya da talebi olmayacaktır. Kan alma işleminin komplikasyonu ve riski yoktur. Bu işlem dışında herhangi bir ilaç, madde verilmeyecek veya girişim yapılmayacaktır.

Bu proje kapsamında yapılacak her türlü işlem için sizden ücret talep edilmeyecektir. Bu proje sizin sosyal güvenlik kurumu (SGK) veya diğer sağlık sigortası kuruluşlarıyla ilgili ödemelerinize herhangi bir yük getirmeyecektir. Araştırmaya katılmak istememeniz ya da doktorumuzun sizi çalışmadan çıkarması durumunda tedavinizde herhangi bir aksama olmayacaktır. Çalışmaya katılmanız durumunda sonuçlarınız ve kimliğiniz gizli tutulacaktır.

Gönüllünün/Hastanın Beyanı:

Gönüllü Onam Formunu okudum. Bana IÜC-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi hastanesinde yapılacak çalışma hakkında gerekli bilgiler sözlü ve yazılı olarak açıklanmış olup, açıklamaları tamamen anladım. Yapılacak çalışma ile ilgili soru sorma hakkım anlatıldı. Sorularına açıklayıcı ve anlaşılır yanıtlar verildi.

Bana çalışmanın muhtemel riskleri ve faydaları da açıklandı. Çalışmaya katılmamam halinde hiçbir sorumluluk altına girmeyeceğim ve herhangi bir zamanda çalışmadan ayrılabilirim açıkça söylendi. Bu koşullar altında projeye kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum. Çalışmadan elde edilen bilgilerin ve klinik örneklerimin kimliğim gizli kalmak koşulu ile yayın ve arşivleme dahil bu ve ileride yapılması planlanan bilimsel çalışmalarda kullanımına onay veriyorum.

Gönüllünün Adı Soyadı:

İmzası:

Açıklamaları Yapan Araştırmacının Adı Soyadı: Nesibe YILDIZ

İmzası:

Rıza Alma İşlemine Başından Sonuna Kadar Tanıklık Edenin

Adı Soyadı, Görevi

İmzası:

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

PREEKLAMPSİ PATOGENEZİ ÜZERİNE miR-29 EKSPRESYONU ile SERUM HCII, DPP3 ve mPGES-1 DÜZEYLERİNİN OLASI ET...

Phd Tez

2024_İntihal

İstanbul Üniversitesi - Cerrahpaşa

Belge Ayrıntıları

Gönderi Kimliği

trnoid::1:3096312479

120 Sayfa

Gönderi Tarihi

29 Kas 2024 13:05 GMT+3

25.338 Sözcük

İndirme Tarihi

29 Kas 2024 13:17 GMT+3

173.891 Karakter

Dosya Adı

PREEKLAMPSİ_PATOGENEZİ_UZERİ_NE_miR-29_EKSPRESYONU_ile_SERUM_HCII_DPP3_ve_mPGES-....docx

Dosya Boyutu

4.3 MB



Sayfa 1 of 120 - Kapak Sayfası

Gönderi Kimliği trnoid::1:3096312479



Sayfa 2 of 120 - Bütünlük Genel Bakış

Gönderi Kimliği trnoid::1:3096312479

13% Genel Benzerlik

Her veri tabanı için çekilen kaynaklar da dâhil tüm eşleşmelerin kombine toplamı.

Rapordan Filtrelenen

- Bibliyografi
- Alınan Metin

ETİK KURUL İZİN YAZISI

- ☒ Etik Kurul izni gerekmektedir.
- ☐ Etik Kurul izni gerekmemektedir.

Nesibe YILDIZ
(İmza)

İÜC Tarih ve Sayı: 26.12.2022-572301



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
REKTÖRLÜĞÜ
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı : E-83045809-604.01.01-572301
Konu : Prof.Dr.Hakan EKMEKÇİ etik kurul
kararı

26.12.2022

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi : 07.12.2022 tarihli 558373 sayılı yazınıza istinaden

Anabilim Dalınızda görevli Prof.Dr.Hakan EKMEKÇİ'nin yürütücülüğünde yapılacak olan "Preeklampsi patogenezi üzerine miR-29 ekspresyonu ile serum HCII, DPP3 ve mPGES-1 düzeylerinin olası etkileri" başlıklı çalışma 20.12.2022 tarihli etik kurulumuzca müzakere edilmiş olup, etik açıdan uygun görülmüştür.

Bilgilerinize rica ederim

Prof. Dr. Mehmet Sarper ERDOĞAN
Başkan

Ek:01 Adet karar fiziki olarak teslim alınacaktır

Bu belge, görevli elektronik imza ile onaylanmıştır.

Belge Doğrulama Kodu: E5L3M1AKT1J2

Belge Takip Adresi : <https://www.belge.gov.tr/istanbul-universitesi-cerrahpaşa-etik-kurulu>

Adres:İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Eğitimliği, 34320 Avcılar-İstanbul

Telefon:0212 464 03 00 Faks:0212 464 67 01

Web: <http://www.iu.edu.tr>

E-posta Adresi: ic@iu.edu.tr

İlgi için: Hakan CENİZİ





