

T.C.
Sosyal Sigortalar Kurumu Başkanlığı
Sağlık İşleri Genel Müdürlüğü
Okmeydanı Eğitim Hastanesi
Biyokimya ve Klinik Biyokimya Laboratuvar
Eğitim Şefi: Uzm. Dr. Sembol TÜRKMEN

**PREEKLAMPTİK VE NORMOTANSİF HAMİLELERDE
SERUM OKSİDE LDL DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

(Uzmanlık Tezi)

Ahmet KOZAN

İstanbul-2004

T.C.
Sosyal Sigortalar Kurumu Başkanlığı
Sağlık İşleri Genel Müdürlüğü
Okmeydanı Eğitim Hastanesi
Biyokimya ve Klinik Biyokimya Laboratuvar
Eğitim Şefi: Uzm. Dr. Sembol TÜRKMEN

PREEKLAMPTİK VE NORMOTANSİF HAMİLELERDE
SERUM OKSİDE LDL DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

(Uzmanlık Tezi)

Ahmet KOZAN

İstanbul-2004

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	2
MATERYAL VE METOD	30
BULGULAR	34
TARTIŞMA	43
ÖZET	46
SUMMARY	48
KAYNAKLAR	50

ÖNSÖZ

Asistanlığım süresince Hastanemiz Başhekimi olan Uzm. Dr. Sayın Elvin DİNÇ'e, Prof. Dr. Servet KARAHAN'a ve yeni Başhekimimiz Uzm. Dr. Taner YILDIRMAK'a saygılarımı sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince üstün bilgi, deneyim ve yardımlarını esirgemeyen sayın hocam SSK Okmeydanı Eğitim Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Şefi Uzm. Dr. Sembol TÜRKMEN'e saygı ve şükranlarımı sunarım.

İkinci Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği Şefi Uzm. Dr. Ekrem ÖZAKIN'a destek ve katkılarından dolayı teşekkürü bir borç bilirim.

Uzmanlık eğitimim süresinde her alanda destek ve yardımlarını gördüğüm Şef Muavinimiz Biyokimya ve Klinik Biyokimya uzmanı Sayın Müberra Vardar'a ve değerli uzmanlarımız Dr. Hatice Birgül AYABAKAN, Dr. Vesile KALASLIOĞLU, Dr. Hülya Çerçi, Dr. Rıza SANDIKÇI ve Dr. Serkan DOĞAN 'a teşekkürlerimi sunarım

Asistanlık sürecimde birlikte çalışmaktan her zaman mutlu olduğum asistan arkadaşlarım Tuncay SARICAN, Dr. Suna DÜNDAR, Dr. Fuat ÇİMEN, Gökhan UTKU, Murat Yaşar IŞILDAK, Dr. Aylin YILMABAŞAR, Dr. Özden Ertuğrul ÖZYİĞİT ve tüm laboratuvar çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca bana destek olan ve tezimi hazırlarken yardımlarını esirgemeyen sevgili eşim Betül KOZAN ve dünyaya gelişiyle yaşamımıza ayrı bir renk getiren sevgili oğluma teşekkürü bir borç bilirim.

GİRİŞ ve AMAÇ

Düşük dansiteli lipoprotein (LDL), plasma kolesterolünün yaklaşık olarak %70'ini taşıyan ana lipoproteindir. LDL periferel hücreler için kolesterol kaynağıdır. Bileşiminin %38'i ester kolesterol, %8'i serbest kolesterol, %11'i trigliserid, %22'si fosfolipid ve %21'i proteindir.

Düşük dansiteli lipoproteindeki lipidlerin oksidasyonu pek çok klinik olayla ilişkilidir. Özellikle ateroskleroz üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda önem kazanmıştır. Aterosklerozda doku hasarında ve inflamasyonda oksidatif stresin önemli rol oynadığı kanıtlanmıştır. Bu tip hastalarda lipid peroksidasyonunun son ürünlerinin, artmış LDL oksidasyonu ile ilişkili olduğu belirlenmiştir.

Gebeliğin uyardığı hipertansiyon terimi genel bir tanımlama olarak kullanılmakta ve hafif veya şiddetli kan basıncı yüksekliği ile birlikte proteinüri ve ödem ile seyreden ve çeşitli organ disfonksiyonlarına kadar gidebilen geniş bir spektrum içermektedir.

Preeklampsinin etyoloji ve patogenezinde endotel hücre hasarı, koagülasyon anomalileri ve anormal lipoprotein metabolizması olduğunu gösteren kanıtlar vardır.

Bu çalışmadaki amaç, normotansif gebelerden oluşan kontrol grubu ile preeklampitik gebelerden oluşan grup arasındaki okside LDL değerlerini karşılaştırmak ve preeklampsinin etyopatogenezindeki rollerini araştırmaktır.

GENEL BİLGİLER

1- Lipoproteinlerin (Lp) Karakteri

Suda çözünmeyen yapıda olan lipidler kanda lipoproteinler (Lp) vasıtasıyla taşınırlar. Lipoproteinlerin genel fonksiyonu, çözünmeyen lipidlerin kanda çözünebilir lipid ve protein kompleksleri halinde taşınması için bir araç görevi olmasıdır. Bu lipidler arasında trigliseridler, kolesterol esterleri, serbest kolesterol ve fosfolipidler bulunmaktadır.

Lipoproteinlerin genel yapısı, hidrofobik lipidlerin (trigliseridler ve kolesterol esterleri) bir çoğunu kapsayan bir çekirdek ile protein, serbest kolesterol ve fosfolipidlerden (amfipatik türler) oluşan bir yüzey tabakasından meydana gelen küresel bir partikül şeklindedir.

Çeşitli lipoproteinlerle ilişkili, apolipoprotein adı verilen yaklaşık on değişik protein yapısı bulunmaktadır. Apolipoproteinler A, B, C gibi harflerle adlandırılır. Lp'lerin yüzeyinde özgül apolipoproteinlerin yer alması çeşitli Lp'lerin metabolik akıbetini belirler. Dolayısıyla, lipoprotein metabolizmasını ve lipid anomalileri ile ilişkili hastalıkları anlayabilmek için her apolipoprotein lipid metabolizmasının düzenlenmesindeki rolünü dikkate almak gerekmektedir.

Lp'ler kendi apolipoprotein bileşimlerine ve ultrasantrifüjde santrifügasyon sonucu farklı yoğunluklarda ayrılmalarına göre sınıflandırılırlar.

Lp'ler absorbe olmuş diyet yağının ve endojen olarak sentezlenmiş kolesterol ve trigliseridin transportunu sağlarlar. Lp metabolizması komplekstir ve lipoprotein türleri arasında ilişki mevcuttur. Üç ana yolla bu karmaşıklık basite indirgenmiştir. Eksojen yol endojen yol ve ters kolesterol transportu.

Eksojen Yol: Besinlerdeki kolesterol ve trigliseridler barsak epitel hücrelerinde, şilomikronlar adı verilen büyük lipoprotein parçacıklarına girmektedir. Barsak lümeninde pankreatik lipaz etkisi ile monoaçil gliserollere ve yağ asitlerine ayrılan trigliseridler miçeller oluşturmaktadır. Epitel hücrelerinden emilen yağ asitleri ve monoaçil gliseroller, yeniden trigliseridlere esterleşmektedirler. Fosfolipidler ve serbest kolesterol yeni sentez edilen apoB-48, A-I ve A-II ve diğer proteinler ile birlikte yüzeysel tabakayı meydana getirmektedirler. Yeni şilomikronlar, barsak lenf sisteminden genel dolaşıma geçerek ve yağ dokusu ile iskelet kasları kapillerlerine ulaşır. Burada lipoprotein lipaz (LPL) ile hidroliz olur, serbest yağ asitleri (FFA) ayrılır. Şilomikron kalıntıları apoE molekülüne spesifik hepatosit yüzeyinde bulunan reseptöre bağlanarak büyük ölçüde karaciğer (KC) de tutulmaktadır.

Endojen yol: KC'de sentezlenen trigliserid ve kolesterol, perifere lipidleri taşımak için görev yapan VLDL (very low density lipoprotein) nin büyüklüğü ve metabolik akıbeti birbirinden farklı şekilleri vardır. VLDL apoproteini apoB100, KC hücreleri tarafından devamlı sentezlenir. Mikrozomal transfer protein olarak isimlendirilen yeni bulunan bir protein bu yolda önemlidir. ApoB100 içeren VLDL, bir miktar apoC ile birlikte salgılanmakta ve apoC'nin fazlası HDL tarafından alınmaktadır. LPL enziminin etkisi ile VLDL molekülünden oluşan artıklar, şilomikronlardan oluşan artıklara benzemekte fakat çapları daha küçüktür.

KC tarafından katabolize edilen VLDL artıklarında trigliseridler uzaklaştırılır ve onların yerine kolesterol esterleri konur ve böylece IDL meydana gelir. IDL'nin yarısı KC tarafından tutulur, diğer yarısı LDL'ye dönüşür.

Ters Kolesterol Transportu: HDL (high density lipoprotein) ters kolesterol transportunda görev alır. Kolesterolü periferden alıp KC'e taşır. HDL dokulardan serbest kolesterol alıcısıdır. Serbest kolesterol lesitin kolesterol acil transferaz (LCAT) ile esterleştirilir ve partikülün hidrofobik lipid çekirdeğine girer.

HDL'deki kolesterol esterleri partikülün takip eden yeniden sirkülasyonu ile KC'e direkt olarak taşınabilir. Buna rağmen bu süre HDL kolesterol esterlerinin KC'e indirek taşınmasından daha az önemlidir. HDL'den kolesterol esterleri LDL ve VLDL'ye kolesterol ester transfer protein (CETP) ile taşınır (1,2).

2- Doğal LDL

2-1- Yapısı

LDL, plasma kolesterolünün yaklaşık olarak %70'ini taşıyan kolesterolce zengin ana Lp'dir. Yoğunluğu 1.019-1.063 g/mL'dir. Küreye benzer yapıda hidrofobik bölgede az miktarda trigliseridler ile kolesterol esterlerini içeren çoklu kompleks moleküldür. Polar yüzeyde fosfolipidler, serbest kolesterol ve tek bir geniş protein olan apoB100 yer alır.

Bileşiminin %38'i ester kolesterol, %8'i serbest kolesterol, %11'i trigliserid, %22'si fosfolipid (fostatidilkolin ve sfingomiyelin) ve %21'i proteindir . ApoB100 4536 amino asit içerir ve LDL'nin ana yapısını teşkil eder. LDL küçük miktarda antioksidan olarak rol oynayabilen maddeler içerir. Bunlar α -tokoferol , karotenoidler, ubiquinol-10 ve diğer lipofilik antioksidanlardır.

LDL partikül boyutu, moleküler ağırlığı, dansitesi gibi fiziksel özellikleri ile ve lipid alt sınıfları, içerdiği yağ asitleri, proteinler, elektriksel yüzey ve hidrodinamik özellikler gibi kimyasal özellikleri bakımından heterojen olan bir moleküldür (1,2).

2-2- Kaynağı

2-2-1- Çok Düşük Dansiteli Lipoproteinler (VLDL)

LDL'nin ana kaynağı VLDL'dir. VLDL karaciğer tarafından sentez edilir ve bunların üretimi hepatositlere daha fazla serbest yağ asidi götürülmesiyle stimüle edilebilir. VLDL'nin oluşturulmasında kullanılacak trigliserid ve fosfolipid kaba ve düz endoplazmik retikulumda sentez edilir. VLDL kolesterol de novo olarak sentez edilebilir veya Lp katabolizması sırasında karaciğer tarafından kazanılan kolesterolden yeniden kullanılır.

Golgi sekretuar vezikülleri hepatositlerin fırçamsı kenar yüzeyine göçer ve plazma membranına girerek VLDL partiküllerini disse boşluğuna bırakırlar. Partiküller buradan plazmaya girer. Yeni sentez edilmiş VLDL'nin protein yapı taşları apo-B100, apo-E ve küçük miktarlarda apo-C'lerdir. Plazma içinde VLDL, öncelikle HDL'den ek apo-D ve apo-E edinir.VLDL trigliseridleri, Lipoprotein Lipaz (LPL)'ın ve daha az ölçüde Hepatik Lipaz (HL)'ın etkinliği ile hidrolize edilirler.

VLDL sürekli olarak, kolesterol aldığından giderek zenginleşen küçük partiküllere çevrilir. VLDL'nin katabolizma ürünleri orta dansiteli lipoprotein (IDL) olarak anılır. VLDL'nin yaklaşık %50'si LDL'ye çevrilir. VLDL'nin geri kalan %50'si VLDL artıkları (küçük VLDL) ve IDL olarak doğrudan doğruya karaciğer tarafından temizlenir (1,2).

2-2-2- Orta Dansiteli Lipoproteinler (IDL)

Büyüklik ve kompozisyon bakımından VLDL ile LDL arasında yer almaktadır. Başlıca protein yapı taşları apoB100 ve apo-E'dir. IDL, lipazların etkisiyle plazmada meydana gelen VLDL katabolizmasının ürünlerini temsil eder ve LDL'nin yapı taşıdır (1,2).

2-3- LDL'nin alınması

LPL ve hepatik lipaz, IDL'nin LDL'ye hidrolizinden sorumlu enzimlerdir. Oluşan LDL den trigliserid ve apolipoproteinler ayrılmıştır. Önemli yapısal protein olan apo B100 molekülü kalmıştır. LDL'nin reseptörü ile bağlanmasında apo B100 molekülü aracılık eder. Reseptör aracılıklı endositoz ile hücre içine alınan LDL molekülü lizozomlarda parçalanır. Serbest kolesterol sitozol içine salınır ve kolesterol metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rol oynar. Serbest kolesterol LDL reseptör geni ile ilişkili olup reseptör sentezinde down regülasyona yol açar. Aksi halde hücrenin kolesterol sentezi, reseptör sentezini artırır. LDL reseptörünün bu regülasyonu plazma LDL seviyesini düzenler (1,2).

LDL reseptörü beş fonksiyonel domain içeren bir tek proteindir. 50 amino asit içeren karboksil terminali lipoproteinlerin alınmasında önemli rol oynayan sitoplazmik domaindir. Membrana gömülü domain 22 aminoasite sahiptir. 58 amino asitten oluşan üçüncü domain, serin ve treonin residülerinden zengindir ve bazı O-bağlı şekerlere sahiptir. En uzun domain 400 amino asitten oluşur ve %35'i epidermal büyüme faktörü (EGF)'ün öncül homologudur. 292 amino asit içeren N-terminali negatif yüklü amino asitlere sahiptir. Bu bölgelere apo B100 molekülü bağlanır.

Goldstein makrofajların aşırı miktarda LDL alması ve kolesterol birikimi olması için, LDL'nin modifiye olması gerektiğini ileri sürmüştür (3).

LDL'nin kimyasal türevi olan asetillenmiş LDL'nin makrofajlar tarafından alındığı ve bu olayda scavenger (çöpçü) reseptörün rol oynadığı anlaşılmıştır. Kimyasal olarak modifiye olmuş malondialdehit ile konjuge LDL'nin de aynı reseptör tarafından tanındığı bulunmuştur.

3- Serbest Radikaller ve Etkileri

Serbest radikaller bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden oldukça reaktif atom veya moleküllerdir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Anahtar rolü oynayan maddeler oksijen, süperoksit, H_2O_2 , geçiş metallerinin iyonları ve OH^{\cdot} radikalidir .

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak oranlarda oluştuğları zaman organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Biyomoleküller içinde lipidler serbest radikallerden en çok etkilenen sınıftır. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar. Poliansatüre yağ asitlerinin yıkımı, lipid peroksidasyonu olarak bilinir ve oldukça zararlıdır. Çünkü kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı dönüşümsüz olur.

Hücre kültürü ortamında LDL'de lipid peroksidasyonunun nasıl başladığı tam olarak bilinmemekte, ancak bazı mekanizmalar ileri sürülmektedir.

- Hücrelerden (örneğin endotel hücreleri) süperoksit anyonunun salınımı
- Metal iyonların katalizlediği lipid peroksidasyonu
- Membrana bağlı enzimlerin LDL ye direkt etkileri
- Hücre membranında oluşan lipid peroksidlerin LDL'ye transferi (4).

4-Lipid Peroksidasyonu

Lipid peroksidasyonu herhangi bir serbest radikal (hidroksil, alkoksil, peroksil, alkil radikali gibi) ile başlatılabilir. Serbest radikal doymamış bir yağ asitinin reaktif bir metilen grubundan bir hidrojen atomu çekme yeteneğindedir.

Ortamdaki Cu iyonları gibi çift değerlikli metallerin de etkisiyle peroksil radikalleri oluşur ve bu durum zincirleme reaksiyonlara neden olarak ortamdan çok fazla miktarda lipid peroksidlerin oluşmasına sebep olur. Ardından bağ düzenlenmesi gerçekleşir ve konjuge dien oluşumu gözlenir. Peroksi radikalleri birbirleriyle birleşebilir, proteinlere (örneğin Apo B) etki edebilir veya başka bir yağ asidinden hidrojen çekerek lipid peroksidasyonunu ilerletebilir. Lipid peroksidasyonunun başlıca ürünleri lipid hidroperoksidleri olup oldukça stabil moleküllerdir. Plazmada lipid hidroperoksidlerinin ana taşıyıcısı LDL' dir (4).

5-LDL Oksidasyonu

Son yıllarda ateroskleroz patogenezinde modifiye lipoproteinlerin önemli bir rol oynadığı çeşitli araştırmacılar tarafından ileri sürülmüştür. Lipoproteinlerin yapı ve fonksiyonlarını etkileyebilen çeşitli modifikasyonlara maruz kalabildikleri bildirilmiştir. Modifiye proteinlerden okside LDL en yaygın incelenmiş olanıdır. İnsanlardaki aterosklerotik lezyonlarda bulunan LDL fizikokimyasal özellikleri ve makrofajlar tarafından alınıp yıkılması bakımından kimyasal olarak modifiye edilmiş okside LDL'ye benzer. Bu bulgu LDL değişikliğinin ateroskleroz ile ilgili olabileceğini gösterir .

LDL modifikasyonları şunlardır;

1. Asetilasyon
2. Malondialdehit ilavesi
3. Asetoasetilasyon
4. Karbamilasyon
5. LDL-Dekstran sülfat kompleks oluşumu
6. Oksidasyon
7. Glikasyon
8. Desialilasyon

Oksidatif olarak modifiye olmuş hücre tipleri ise,

1. Endotel hücreleri
2. Düz kas hücreleri
3. Monositler
4. Makrofaj içeren köpük hücreleri
5. Fibroblastlar

6- LDL Oksidasyonu Etkileyen Faktörler

İntrinsik Faktörler:

1. Yağ Asidi Bileşimi:

LDL oksidasyonunda yağ asidi bileşimi özellikle poliansatüre yağ asitleri (PUFA) önemlidir. LDL'de başlıca linoleik asit olmak üzere bol miktarda PUFA bulunur. Tavşan ve insanlarda yapılan çalışmalarda LDL'nin oleik asit içeriğinin artırılmasının oksidasyona duyarlılığı azalttığı saptanmıştır (3,5).

2. LDL'nin antioksidan içeriği:

Endojenler (α -tokoferol, β -karoten, ubiquinol-10)

Eksojenler (probukol)

β -karoten, α -tokoferol ve ubiquinol-10 lipid peroksidasyonunun hızlı fazı başlamadan önce tüketilirler. Bu antioksidanların miktarının fazla olması oksidasyona direnci artırır, lag fazının (gecikme fazı) uzamasını sağlar.

3. Fosfolipaz A₂ (PLA₂) aktivitesi

4. LDL partikül büyüklüğü ve yoğunluğu:

Küçük, yoğun LDL subfraksiyonları oksidasyona daha duyarlıdır. Obezite, trigliserid yüksekliği ve HDL konsantrasyonunun düşük olması küçük ve yoğun LDL varlığıyla beraberdir (6).

Ekstrinsik Faktörler:

1. Hücrelerin süperoksid anyonu salgılama yetenekleri veya makrofajların 15-lipoksijenaz ekspresyonundaki farklılıklar LDL oksidasyonunu etkiler .

2. Plazma ve hücre dışı sıvıdaki bazı metallerin (Se,Cu, Fe) konsantrasyonu veya bu metalleri bağlayan proteinlerin konsantrasyonu.

3. Plazma veya hücre dışı sıvıdaki antioksidanların konsantrasyonu (özellikle ürik asit ve askorbik asit gibi antioksidanlar) önemlidir.

4. HDL'nin lipid peroksidasyonunu azalttığı belirtilmektedir, ancak mekanizma açık değildir.

5. LDL'yi bağlayan glikoproteinler ve matriks proteinlerindeki değişiklikler, LDL veya matriks proteinlerinin non-enzimatik glikozilasyonu LDL'nin intimada bulunma süresini etkiler.

7- LDL Oksidasyonu Sırasında Fizikokimyasal Değişiklikler

7-1- Fiziksel Değişiklikler

Henriksen ve arkadaşları hücreler ile inkübe edilmiş LDL'nin agaroz jelde elektroforetik hareketinde artış gözlemişlerdir (7). Bu artan anodik hareket hücrelerde modifiye LDL ölçümüyle uygunluk göstermektedir. İlaveten, bu artan negatif yük modifiye olmuş LDL partikül yoğunluğunun artması anlamına gelmektedir (5,8).

7-2- Kimyasal Değişiklikler

Fe, Cu gibi eser elementleri içeren ticari hücre kültür ortamında metal katalizli lipid peroksidasyonun LDL modifikasyonunun önemli bir basamağı olduğu belirtilmiştir. Bu peroksidasyon, makrofajlar tarafından inkübe edilen LDL'nin alınımı ile tiyobarbitürik asit reaktif maddeleri oluşumu ile ilişkili bulunmuştur. Esterbauer ve arkadaşları LDL'nin otooksidasyon çalışmalarında LDL'nin oksidasyonunun erken fazı sırasında LDL'de hızlı bir azalmanın vitamin E ve karotenoidler gibi antioksidanlarla ilişkili olabileceğini göstermişlerdir (5). Bu antioksidanlardaki azalma poliansatüre yağ asitlerinin oksitlenmesinden kaynaklanmaktadır. Benzer değişiklikler makrofajlar yoluyla modifikasyon esnasında da rapor edilmiştir.

Eksojen olarak ilave edilen vit E, butillenmiş hidroksitoluen (BHT) gibi antioksidanlar oksidasyonu inhibe etmektedir. Bu oksidasyon EDTA gibi metal şelatörler tarafından da daima inhibe edilmektedir. Metallerin hücre ortamında bulunması, lipid peroksidasyonunda serbest radikal üretimini başlatabilmesi olasılığı tartışmalıdır. Metallerin bilinen özelliği yağ asitlerinin peroksidasyonunda parçalanmaya katkıda bulunması ve aldehitlerin üretiminde LDL oksidasyonunda önemli olmasıdır .

LDL linoleik ve araşidonik asit miktarındaki azalma spesifik lipid hidroksi ve hidroperoksi türevlerinin üretimi ile uygunluk göstermektedir .

7-3- Fosfolipid Hidrolizi

LDL partikülü yüzeyinde fosfatidilkolin içerir, oksidatif modifikasyon sırasında lizofosfatidilkolin'e hidroliz olur. Bu hidroliz PLA₂ enzimi vasıtasıyla fosfatidilkolinin 2 nolu pozisyonunda yağ asidinin uzaklaştırılmasıyla gerçekleşir. PLA₂, LDL preparasyonlarında sadece oksitlenmiş fosfolipidleri hidrolizleme aktivitesi göstermektedir.

7-4- Kolesterolün Oksidasyonu

Lipid peroksidasyonunda 5,6-epoksi kolesterol, 7-hidroperoksi, 7-hidroksi ve 7-keto kolesterol oluşmaktadır. Ayrıca oksitlenmiş kolesterol esterleri de rapor edilmiştir (5).

7-5-Apo B'nin Fragmantasyonu

LDL'nin oksidatif modifikasyonu esnasında ApoB₁₀₀ bazı küçük fragmentlere ayrılmıştır. Oksidasyon sürecinde apoproteininin histidin, lizin, prolin ve metiyonin içeriği azalır ve aspartik asit artışı ile sonuçlanır. Aspartik asit Lp'in negatif yük artışına katkıda bulunur.

Okside LDL'nin Kimyasal ve Fizikokimyasal Özellikleri

1. Negatif yük ve dansitede artma
2. LDL reseptör yoluyla alınımında azalma
3. Scavenger reseptör yoluyla alınımında ve parçalanmada artma,
4. Vit E ve antioksidanların azalması
5. Poliansatüre yağ asitlerinde azalma
6. Kolesterol oksidasyon ürünlerinde artma (oksisteroller)
7. Yağ asidi peroksidasyon ürünlerinin oluşması (Konjuge dienler)
8. Fosfatidilkolin içeriğinde azalma ve lizofosfatidilkolin içeriğinde artma
9. Apo B'nin küçük peptidlere fragmantasyonu
10. Histidin, lisin ve prolin kaybı
11. Apoproteinlerin floresans özelliğinde artma
12. İmmunoreaktivite ve antijenitenin değişmesi
13. Elektroforetik mobilitede ve dansitede artma
14. Apo B yapısının ve fosfolipid tekli tabakanın konformasyonel düzenlenmesi

Okside LDL'nin Biyolojik Özellikleri

1. Makrofajlar yoluyla okside LDL'nin doğal LDL'ye göre alınması daha hızlıdır ve dolayısıyla biriken kolesterol miktarı daha fazladır.
2. Monosit ve makrofajlar için kemotaktiktir.
3. Subendotelyal makrofaj migrasyonunu inhibe eder.
4. Hücrelere sitotoksiktir.
5. Endotelyal gevşemeyi inhibe eder.
6. Minimal modifiye düşük dansiteli lipoprotein (MM-LDL) endotelyal hücrelere monosit migrasyonunu artırır.
7. MM-LDL granülosit ve makrofaj koloni stimüle edici faktörün endotelyal hücre ekspresyonunu indükler.
- 8- MM-LDL endotelyal ve düz kas hücrelerinden makrofaj kemotaktik peptid-1'i stimüle eder.

8- İn Vivo Okside LDL Varlığını Gösteren Bulgular

Aterosklerozun patogeneğinde LDL oksidasyonunun önemli olduğunu gösteren pek çok çalışma vardır. Bazı mekanizmalar in vivo oksitlenmiş LDL'nin varlığını desteklemektedirler.

LDL'nin modifiye olmuş şekli arterial lezyonlarda gözlenen Okside LDL'nin pekçok fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerine sahiptir. Örneğin oksidatif olarak modifiye ve fragmente edilmiş apo-B aterosklerozlu hastaların ve normal hastaların plazmasında izole edilmiştir. Daima okside LDL üzerinde epitoplara karşı antikorlar aterosklerotik lezyonlarda tanınırken, normal arterlerde gözlenmemiştir. Dolaşımda Okside LDL'nin epitoplarına karşı antikorlar insanlarda ve Watanabe türü Hiperlipidemik Tavşanlarda gösterilmiştir. Okside LDL'ye karşı otoantikorların varlığı aterosklerozun ilerlemesiyle pozitif olarak ilişkilidir. Son yıllarda anjiyografi yapılmış koroner aterosklerozlu hasta tiplerinde LDL oksidasyonunda değişiklikler gözlenmiştir (3,9).

Lp oksidasyonu, serbest ve protein bağlı metal iyonları, tiyoller, reaktif oksijen ara ürünleri, lipoksijenaz, peroksinitrit ve miyeloperoksidaz gibi farklı sistemler yoluyla in vitro olarak gerçekleşebilir. Fe bağlayan ve Fe metabolizmasını düzenleyen intrasellüler ve ekstrasellüler proteinler de önemli rol oynayabilmektedirler. Henüz fizyolojik olarak uygun yollar tanımlanmamıştır. Ancak bazı mekanizmalar önerilmektedir. İn vitro LDL oksidasyonu için önerilen mekanizmaların bazıları şöyledir:

a) Metal İyonları

İN vitro LDL oksidasyonunda metal iyonlarını içeren reaksiyonlar önemlidir. Düz kas hücre kültüründe LDL'yi modifiye etmek için ekstrasellüler demir (Fe) veya bakır (Cu)'a ihtiyaç vardır. Fe veya Cu'ın mikromolar konsantrasyonları arterial düz kas hücre kültüründe LDL'yi oksitleyebilirler. Hücrelerin yokluğunda ise yüksek konsantrasyonda serbest metal iyonları LDL'yi oksitlerler.

LDL oksidasyonunda protein bağlı metal iyonlarının rolü tam açık değildir. Serüloplazmin plazmada ana Cu taşıyıcısıdır, in vitro LDL'yi oksitler ve aterosklerotik lezyonlarda var olduğu bulunmuştur.

b) Tiyoller

İn vitro düz kas hücreleri L-sistini alarak önce disülfit şeklinde L-sisteine (RSSR) ve sonra tiyole (RSH) dönüştürürler. Tiyol hücrede ayrılarak otoksidasyonla süperoksid üretir. Metal iyonları katalizörlüğünde bu reaktif ara ürünler LDL'yi oksitlerler.

c) Süperoksid

Süperoksid, bir serbest radikal olmakla birlikte kendisi direkt olarak fazla zarar vermez. Asıl önemi, hidrojen peroksid kaynağı olması ve geçiş metalleri iyonlarının indirgeyicisi olmasıdır. Meydana gelen H_2O_2 geçiş metalleri varlığında OH^- radikali üretir. OH^- güçlü oksidan ajandır. Bu radikal hücre aracılığıyla LDL oksidasyonunda etkilidir.

d) Lipoksijenaz

Lipoksijenazlar makrofajlar, endotel hücreler ve düz kas hücrelerinde bulunan sitozolik enzimlerdir ve direkt olarak poliansatüre yağ asitlerini oksitlerler. 15-Lipoksijenaz fosfolipidlere ve LDL'ye bağlı yağ asitlerini oksitler.

Lipoksijenaz inhibitörlerinin LDL'nin oksidatif modifikasyonunu inhibe ettiğini, lipoksijenaz ile LDL'nin muamelesinin lipoprotein oksidasyonu ile sonuçlandığını, aterosklerotik aortada 15-Lipoksijenaz aktivitesi ve ürünlerinin arttığını gösteren çalışmalar yapılmıştır (8).

e) Glukoz

Glikooksidasyon vasküler hastalıklarda hızlandırıcı rol oynamaktadır. Protein glikasyonu ve glukoz metal iyonları varlığında LDL oksidasyonunu uyarırlar.

Yapılan çalışmalarda glikasyona uğramış proteinler için makrofajların spesifik reseptörlere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu yüzden diyabette LDL glikasyonu aterosklerozun artmasının bir sebebi olabilmektedir (10).

f) Nitrik Oksit

Endotelial hücrelerden salgılanan nitrik oksit (NO), arterlerin musküler tonusunu düzenleyen zayıf radikal özelliğinde, kısa ömürlü bir moleküldür. NO radikali yağ çizgileri oluşumunu LDL'yi oksidasyondan koruyarak, vasomotor reaksiyonu arttırarak veya platelet agregasyonunu inhibe ederek azaltır. Bununla beraber, in vivo peroksinitrit oluşumu için süperoksit ile reaksiyona girer, bu reaktif oksijen türleri LDL oksidasyonunu arttırlar.

g) Miyeloperoksidaz (MPO)

Aktive olmuş fagositlerden sekrete edilen bir hemo proteindir. Nötrofil ve monositler, primer lizozomal granüllerinde miyeloperoksidaz ihtiva ederler. Bu enzim H₂O₂ ile klorürü hipokloröz aside (HOCL) ve L-tirozin radikaline dönüştürür. Hem HOCL ve hem de tirozinil radikali serbest metal iyonlarına ihtiyaç duymadan LDL hasarı meydana getirirler. Meydana gelen ürünler miyeloperoksidaz aracılıklı vasküler yaralanmalar için spesifiktirler. Tirozin plazmada MPO ile tirozil radikali üretebilir. Tirozil radikali LDL de lipid peroksidasyonunu arttırır.

HOCL, LDL'nin negatif yükünü arttırarak LDL'yi modifiye eder, makrofajlardan kolesteril ester birikimini arttırır. LDL tam olarak miyeloperoksidaz klorür sistemine maruz bırakıldığında protein tirozil rezidülerinin klorlandığı görülmüştür. Fe, glukoz, peroksinitrit, HRP, laktoperoksidaz veya lipoksijenaz ile okside edildiğinde ise 3-klorotirozin tayin edilememiştir. Dolayısıyla 3-klorotirozin LDL'nin MPO tarafından oksidasyonunun spesifik bir markörüdür.

Okside LDL'nin biyolojik etkileri aterosklerozun başlamasına ve devam etmesine katkıda bulunmaktadır. Okside LDL dolaşımındaki monositler için güçlü kemoatraktan olup, nötrofiller için değildir.

Oksidasyonun ilk basamağında orta derecede LDL oksidasyonu subendotelial yüzeyde orta derecede modifiye olmuş LDL oluşumu olarak sonuçlanır . Önce MM-LDL endotel monosit kemotaktik protein-1 (MCP-1) ve monosit-koloni stimüle edici faktör (M-CSF) gibi adezyon moleküllerini sevk ve sekrete eder.

Bu olaylar monositlerin endotele bağlanması ile sonuçlanır ve subendotelyal yüzeye monositlerin göçünü artırır. MM-LDL, M-CSF yoluyla makrofajlara farklılaşır, modifiye MM-LDL daha okside hale döner. Bu Ox-LDL scavenger reseptör yoluyla kolesterol ester birikimine yol açar. Ox-LDL makrofaj hareketi için güçlü bir inhibitör durumundadır, daima arter duvarında makrofajların tutulmasını sağlar .

P-selektinin MM-LDL vasıtasıyla hücre içinde miktarı artar ve yüksek miktarda Ox-LDL içeren çeşitli maddeler salgılanmasına neden olur. İn vivo çalışmalarda, P-selektinin hücrelerden salgılanan okside LDL tarafından uyarıldığı ve insan lezyonlarında arttığı gösterilmiştir.

Parhami ve arkadaşları (11) MM-LDL'nin G-protein aracılıklı mekanizmayla cAMP'ın artan seviyelerini indüklediğini cAMP'nin bu yüksek seviyelerinin endotelyal adezyon molekül-1 (ELAM-1) ekspresyonunu azaltarak bu adezyon moleküllerinin arttığını belirlemişlerdir.

MCSF etkisiyle monositlerin makrofajlara dönüşümü indüklenir ve oluşan makrofajlar MM-LDL'nin Okside LDL'ye dönüşümünü hızlandırırlar. Okside LDL scavenger reseptörler aracılığıyla, down regülasyona uğramaksızın makrofajlarca alınabilir ve böylece köpük hücreleri oluşur. LDL'nin oksidasyon ürünleri sitotoksiktir ve bu sitotoksikite endotelyal hücreler için tehlikelidir. Bu hücrelerin kan elemanlarıyla teması büyüme faktörlerinin olaya karışmasına yol açar ve bu da düz kas hücrelerinin migrasyonuna ve proliferasyonuna neden olur. Böylece yağlı çizgiler daha kompleks lezyonlara döner. Okside LDL makrofajlardan IL-1 salınımını uyarır, IL-1 düz kas hücre proliferasyonuna ve lökositlerin endotele adezyonuna yol açar. Okside LDL doku faktörü ve PAI-1 sentezini indükleyerek pıhtılaşma sistemini etkiler.

Ayrıca okside LDL ürünleri tümör nekroz faktör ve trombositlerden türeyen gelişim faktörü gibi indüklenebilir genlerin ekspresyonunu bozabilir. MM-LDL yağlı çizgilerin oluşumuyla ilgili iken okside LDL ise progresyonda etkin görünmektedir.

Görüldüğü gibi okside LDL basit, homojen bir partikül olmayıp, heterojen bir moleküldür. Okside yağ asitleri ve yıkım ürünleri, okside steroller, okside fosfolipidler ve bunların apo B ve fosfolipidlerle konjuge olmuş hallerini içerir.

9- Okside LDL Ölçüm Yöntemleri

LDL oksidasyonunun in vivo ölçümü oldukça zordur. Ana problemlerden biri lipoprotein oksidasyonunun genel dolaşımdan ziyade arter duvarında meydana gelmesidir. Dolaşımda bazı Lp'ler oksitlenmiş halde bulunsa bile bu modifiye lipoproteinlerin tayini zor olabilir ve arter duvarında gözlenen LDL oksidasyonunu yansıtmayabilir. Daima, modifiye Lp'ler dolaşımdan scavenger reseptörler yoluyla hızlıca temizlenmektedirler. Diğer yandan plazmada kalış süreleri çok kısadır ve konsantrasyonları düşüktür.

İnsanlardan (kan, idrar) sınırlı elde edilen örneklerle rağmen ölçüm yapılabilmektedir. In vivo lipoprotein oksidasyonunun indirekt ölçümleri kullanılmak zorundadır. Son zamanlarda LDL oksidasyonun değişik ölçümleri tanımlanmıştır.

Bunlar;

1. Konjuge dienler
2. Lipid peroksidleri için spektrofotometrik tayin
3. Tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) in tayini
4. Rölatif Elektroforetik Mobilite
5. Apo B₁₀₀ Fluoresansı
6. Yağ Asit içeriği
7. Aldehitler
8. Oksisteroller
9. F₂-isoprostanlar

10- Okside LDL'nin Biyolojik Olarak Ölçülmesi

1. LDL makrofajlar ile 37°C de inkübe edildiği zaman scavenger reseptör yoluyla okside LDL hızlıca alınır ve sonra lizozomlara dağılır, protein ve kolesterol esterlerine hidrolize olur.

2. LDL endotelial hücreler veya diğer hücreler ile inkübe edildiği zaman okside LDL sitotoksik etki gösterir. Bu etki radyoaktif işaretli krom ve laktat dehidrogenaz salınımıyla hedef hücrede monitorize edilir .

11- Okside LDL Ölçümünde immünolojik Metodlar

Oksitlenmiş LDL'ye karşı monoklonal antikörlerin gelişmesi oksitlenmiş LDL immünolojik analizlerini (ELISA) ölçen yeni bir metoda ufuk açmıştır. Haberland ve arkadaşları (12) tarafından son zamanlarda aterosklerotik lezyonlarda MDA-lizin rezidüleri varlığında apo-B'ye lokalize olmuş MDA-lizin rezidülerine karşı bir monoklonal antikör kullanılması immuno-histokimyasal olarak geliştirilmiştir. MDA ile karşılaştırıldığında LDL oksidasyonu sırasında LDL partikülü içinde majör aldehit ürünü olan 4-Hidroksinonenal (HNE) konsantrasyonu daha yüksektir, fakat LDL oksidasyon süresinde HNE'nin total üretimi düşüktür. LDL'nin modifikasyon çalışmalarında oluşan aldehitler poliansatüre yağ asitlerinin lipid peroksidasyon ürünleridir.

Jürgens ve arkadaşları (13); in vitro olarak LDL içine HNE'nin MDA'dan daha hızlı bir şekilde alındığını göstermişlerdir. Böylece HNE-modifiye LDL araştırmaya daha yakın örnek olarak düşünülmüştür.

HNE-LDL insan fibroblastlarında ve makrofajlarda lipidlerin aşırı yüklenmesine yol açan LDL reseptörlerine azalmış bağlanma affinitesi göstermektedir.

Son zamanlarda Palinski ve arkadaşları (14) HNE-LDL'ye karşı polivalan ve monoklonal antikörler geliştirmiştir. Hem MDA ve hem de 4-HNE'a karşı geliştirilen antikörler, watanabe türü hiperlipidemik tavşanların aterosklerotik lezyonlarında immunohistokimyasal çalışmalarda belirlenmişlerdir. Bu antikörler MDA veya 4-HNE gibi peroksidasyon ürünleri ile çapraz reaksiyon gösterirler (15).

Holvoet ve arkadaşları (16) tarafından ELISA geliştirilmiştir. Bu yarışmalı ELISA MDA ile modifiye olmuş LDL'deki bir epitopu tanıyan monoklonal antikör, plazmada modifiye olmuş LDL'nin tayininde kullanılmaktadır. Antikör, hasta veya kontrol, örnek plazması ile inkübasyondan önce MDA ile modifiye edilmiş LDL ile kaplı kuyucuklara eklenir ve sonra inkübe edilir. Bağlı antikör HRP işaretli anti fare IgG konjugatı ile tayin edilir. Akut miyokard enfarktüsü veya karotid aterosklerozlu hastalar ve kontrol örnekleri arasında modifiye olmuş LDL değerlerinde belirgin bir artış görülmüştür.

Diğer bir tip ELISA Preobrazhensky ve arkadaşları (17) tarafından geliştirilmiştir. Onlar bu Sandviç ELISA'da doğal ve okside olmuş LDL'yi tanıyan bir monoklonal tutucu antikör ve bir koyun anti-human apo-B ile konjuge olmuş horseradish peroksidaz geliştirmişlerdir. Monoklonal tutucu antikör apo-B epitopunu tanır, fraksiyonlanmamış kan serumunda apo B oksidasyonunu gösterebilir. ELISA ile yapılan bu ölçüm tüm serumda oluşan konjuge dienerler ile korelasyon gösterir.

Son zamanlarda, bir başka sandviç ELISA daha tanımlanmıştır. Bunda da monoklonal antikordan yararlanılmaktadır. Bu antikör apoB içeren polipeptidlerle kompleks oluşturabilen fosfatidilkolinin oksitlenmiş ürünlerinin kalıntı epitopunu tanır. Analizde kullanılan antikör bir koyun anti-human apo B antikörüdür. Çalışmada analizden önce hasta ve kontrol örneklerinden LDL fraksiyonu izole edilir. Hastalardaki LDL oksidasyon seviyeleri normallerden daha yüksek olarak gözlenmiştir (18).

İmmünolojik metodlar kullanarak okside LDL'nin direkt ölçümü yetersizdir. Okside LDL'nin plazmadaki konsantrasyonunun çok küçük olması nedeniyle direkt ölçüm karmaşıktır. Direkt ölçümde analizden önce örnek plazmasının in vitro elle modifikasyonu daha fazla komplikasyona neden olabilmektedir.

İnsan serumunda oksitlenmiş LDL'ye karşı otoantikörlerin (α -okside LDL) tayini de in vivo oksitlenmiş LDL'nin varlığını kanıtlamaktadır. Aterosklerozda α -okside LDL olduğu yapılan çalışmalarda belirlenmiştir. Böylece aterosklerozun gelişmesi ve oksidatif süreç arasındaki ilişki ölçülen serum α -okside LDL seviyeleri ile anlaşılmaktadır (18).

Bu otoantikörler dokuda bağlanarak dolaşımdan uzaklaştırılabilirler ya da antijen seviyelerine karşı verilen immun cevapta değişiklikler gözlenebilmektedir.

Bu yüzden, serum seviyelerinin ölçümü total seviyeleri doğru olarak yansıtmayabilir. Analizler arasında tam bir standardizasyon yoktur ve laboratuvarlar arasındaki tayin metodlarında pek çok değişiklikler vardır. Bu nedenle çalışmalar arasındaki verileri karşılaştırmak zordur.

PREEKLAMPSİ

1- Gebelikte Fizyolojik Değişiklikler ve Kan Basıncı Regülasyonu

1. ve 2. trimesterde sistolik kan basıncı 10 mmHg ve diastolik kan basıncı 20 mmHg'lık bir düşüş gösterir, terme doğru yükselerek gebelik öncesi değerlerine ulaşır. Kan basıncındaki bu değişiklik 6-8. haftalarda hatta luteal fazda bile saptanabilir. Bu özellik sistemik vasküler rezistansın düşmesine bağlıdır, hemodilüsyon da buna katkıda bulunur.

Vazorelaksasyonun hem arteriel hem de venöz olduğu kabul edilir. Kan basıncında ve after load'daki düşüş kardiak output'un (K.O) yükselmesine yol açar. K.O. 4,5 L/dk'dan 6 L/dk'ya yükselerek %30-50 artış gösterir. Venöz tonusda azalma ve venöz göllenme volüm artırıcı mekanizmaların aktive olmasıyla sonuçlanır.

K.O'daki artışa ve renal damarların relaksasyonuna bağlı olarak renal plazma akımı ve glomerular filtrasyon hızında gebelik öncesi döneme oranla %30-50 artış saptanır.

Plazma renin seviyesinde ≈ 10 kat, aldosteron seviyesinde ≈ 5 kat artış olması, östrojen, deoksikortikosteron ve HPL (Human plasental lactogen) sayesinde Na miktarında net 1000 mEq artış gerçekleşir, bu da ekstrasellüler sıvıda 4-6 L, plazma volümünde %40-50 artışa yol açar. Plasental kitle, doğum kilosu ve kan volümü artışı arasında belirgin bir uyum vardır. Kan volümündeki yetersiz artış idiopatik fetal gelişme yetersizliği ile sonuçlanır. Gebeliğin ilk yarısında kan volümündeki artış neredeyse tamamıyla plazma volümündeki artışa bağlıdır, eritrosit sayısındaki artış 20. haftadan sonra belirgindir ve %33'lük bir artış söz konusudur ve plazma volümündeki artışa göre daha az olduğu için fizyolojik anemi gelişir. Bu fizyolojik hemodilüsyon viskozitede azalmaya ve intervillöz aralıkta dolaşımın daha rahat olmasına yardımcı olur.

Gebelikte progesteron seviyesi 20 kat artar, PGI_2 ve PGE_2 de artışlar gözlenir ve renin-angiotensin-aldosteron sistemi aktive olur.

Renin böbrekte jukstaklomerüler aparatusdan salınan bir maddedir, renal perfüzyonda azalma, distal tübülüsde Na konsantrasyonunda artış ve ayakta durma renin salınmasında artışa, hiperkalemi, anjiotensin II, ANP (Atrial natriüretik peptit) ise salınımında azalmaya yol açar. Renin anjiotensinojeni anjiotensinI'e çevirir. Anjiotensinojenin östrojen etkisi ile karaciğerden üretimi artar, gebelik anjiotensinojen üretiminin arttığı bir ortamdır. Anjiotensin I aktif formu anjiotensin II'ye özellikle plasental ve pulmoner vasküler yapıda üretilen anjiotensin konverting enzim ile dönüşür. Anjiotensin II'nin üç önemli fonksiyonu vardır.

1- Direkt olarak arteriolar ve prekapiller düzeyde düz kas hücrelerine etki eder, vazokonstrüksiyon ve arter basıncında artışa yol açar.

2- Adrenal korteksten aldosteron salınımını uyarır. Aldosteron renal Na reabsorbsiyonunu böylece su tutulumunu sağlar ve kan volümünde artış gerçekleşir.

3- PGE₂ ve PGI₂ yapımını renal damarlarda uyarır, bu vazodilatatör prostaglandinler sistemik arter basıncının artmasına rağmen renal kan akımını bu basınç artışından korur, uterus ve plasenta da aynı prostaglandinleri üretebilmektedir.

Anjiotensin II'nin bu etkileri sayesinde renal perfüzyon normale döner ve renin salınımı azalır.

Gebelikte renin-anjiotensin-aldosteron seviyeleri (RAAS) ve kan volümündeki artışa rağmen paradoks olarak kan basıncında bir miktar düşme gözlenir, bunun nedeni artmış anjiotensin seviyelerine damarın gösterdiği duyarsızlıktır. Normal gebelikte plasentanın çıkmasından 30 dakika sonra anjiotensin II'ye oluşan duyarsızlık kaybolur. Araştırmalar plasental progestinlerin ve prostaglandinlerin bu duyarsızlığa yol açtığını göstermektedir. Normal gebeye aspirin veya indometasin verilmesiyle anjiotensin II'ye olan hassasiyetin arttığı, PGE₂ verilmesiyle de duyarsızlığın arttığı görülmüştür.

Prostaglandinler (PG), 20 karbonlu doymamış yağ asidi olan araşidonik asitten sentez edilir, hücre zarında bulunan araşidonik asit kimyasal fiziksel uyarı veya reseptör aktivasyonu ile fosfolipaz A₂ tarafından serbestleştirilir ve siklooksijenaz, lipooksijenaz, epoksijenaz ile üç yoldan oksijenizasyona uğrar.

Siklooksijenaz sonrasında peroksidaz ile PGG₂ ve PGH₂ oluşur. PGH₂, PGD₂-E₂-F₂-TXA₂ ve PGI₂'ye dönüşür. Bu maddeler sentez edildikleri dokularda (akciğer, karaciğer, böbrek) PG redüktaz ve PG dehidrojenaz ile parçalanır.

Normal gebelikte PGI₂ 3-10 kat artar, bu artış 1. trimesterde başlar ve tüm gebelik boyunca sürer. TXA₂ de gebelikte artar ancak olay biyolojik PGI₂ dominansı ile sonuçlanır ve vazokonstriktörlere karşı damarsal cevapsızlık oluşur. PGI₂'nin gebelikte tek vazodilatör olmadığı gösterilmiştir.

Progesteron metaboliti olan 5 α dihidroprogesteron anjiyotensin II'ye karşı oluşan duyarsızlıkta rol oynar. Aynı zamanda birçok regülatuar peptid faktörün vazodilatasyonda rol aldığı düşünülmektedir. NO (Nitrik oksit) bunlardan biridir. Gebe farelerde NO'un vazodilatasyona yol açtığı ve NO oksidasyonu ürünü nitratın üriner atılımının arttığı gösterilmiştir. İnsanlar da immuno-histokimyasal olarak, sinsisyotrofoblastlarda NO üretildiği gösterilmiştir. Gebeliğin erken döneminde maternal doku, paternal orijinli fetal dokuya karşı sitokin salgılar, sitokine cevap olarak da NO ve PG'ler salgılanır. Sitokine yetersiz cevapta NO ve PG üretimi azalacağından preeklampsi gelişimi söz konusu olabilir.

Sinsisyotrofoblastların yüzeyindeki annexin 5 adlı proteinin de güçlü bir antikoagulan olduğu, intervillöz aralıkta trombosit agregasyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir.

Gebelikte ANP'in de regülatuar rolü vardır. ANP atrial lifler gerildiği zaman salınır, hem renin hem de aldosteron salınımını inhibe eder, anjiyotensin II veya katekolaminlerce stimule edilmiş düz kas hücrelerinde vazodilatasyon meydana getirir. ANP 3. trimester ve postpartum 1. haftada artış gösterir ancak bu artış anjiyotensin II'ye oranla çok düşük düzeydedir.

Gebelikte koagülasyon faktörlerinde de önemli değişiklikler olur. Fibrinojen %50 artış gösterir, buna paralel olarak eritrosit sedimentasyon hızında artış meydana gelir. Faktör II, V, VII, VIII, IX, X düzeylerinde önemli artış saptanır.

Antitrombin III seviyesi ve aktivitesi azalabilir, ancak azalmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (19). 3. trimesterde protein S seviyesi ve aktivitesinde azalma saptanır. Plazminojen seviyesi gebelikte artar ancak plazmin aktivitesi azalır. Bu paradoksun sadece plasenta tarafından salınabilen plazminojen aktivator inhibitörüne bağlı olduğu düşünülmektedir. Gebelikte hiperkoagulabl bir ortam olmasına rağmen laboratuvar çalışmalarında minimal değişiklikler saptanır. Birçok normal gebelikte dolaşımda fibrin yıkım ürünü, plasental ve spiral arter duvarında fibrin depozitleri saptanmıştır. Trombosit sayısı normal değerler (150.000-400.000) arasında olsa bile gebelik ilerledikçe az miktarda düşüş gösterir, ancak trombosit fonksiyonunu gösteren kanama zamanında değişiklik olmaz.

2- Gebelikte Hipertansiyon

Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Derneğinin Terminoloji Komitesi (The Committee on Terminology of The American College of Obstetricians and Gynecologist) gebelikte hipertansiyon için bir sınıflama geliştirmiştir.

Bu sınıflamaya göre :

2-1. Kronik Hipertansiyon(HT) : Gebelikten önce veya gebeliğin 20. haftasından önce HT'un saptandığı veya postpartum 42 günden uzun sürdüğü olgulardır. Burada kan basıncının 140/90 mmHg üzerinde olması HT olarak kabul edilmiştir.

2-2. Preeklampsi-eklampsi : Kan basıncındaki artışa proteinüri ve/veya ödemin eşlik ettiği olgulardır. 20. gebelik haftasından önce ölçülen sistolik kan basıncında 30 mmHg veya diastolik kan basıncında 15 mmHg üzerinde artış saptanması, 20. gebelik haftasından önce basınç değerleri mevcut değilse, kan basıncının 140/90 mmHg veya üzerinde olması veya ortalama arter basıncının $[OAB=(SKB+2 \times DKB)/3]$ 105 mmHg veya üzerinde olması ve bu değerlerin istirahat sırasında 6 saat arayla 2 kez elde edilmesiyle tanı konabilir (SKB=Sistolik kan basıncı, DKB=Diastolik kan basıncı). Proteinüri, idrarda 0,3 g/L protein saptanması ile, ödem ise klinik olarak veya kilo alımında hızlı artış ile tespit edilebilir.

Preeklampsi hafif ve ağır olmak üzere 2 grupta incelenir. Ağır preeklampsinin özellikleri :

- Sistolik basıncın 160 mmHg veya diastolik basıncın 110 mmHg'nın üzerinde ölçülmesi .

- 24 saatlik idrarda 5g veya daha fazla protein saptanması (4+ proteinüri)
- Oligüri
- Başağrısı, skotom, bilinç bulanıklığı gibi serebral veya vizüel bozukluklar
- Pulmoner ödem veya siyanoz
- Epigastrik ağrı

Eklampsi ise preeklampitik hastada konvülziyon gelişimini ifade eder (20).

2-3. Kronik HT zemininde gelişen preeklampsi : SKB'da 30 mmHg, DKB'da 15 mmHg, OAB'da 20 mmHg'dan fazla yükselme olması, proteinüri veya generalize ödemin gelişmesi.

2-4. Geçici HT : Gebelikte veya postpartum ilk 24 saatte ortaya çıkan, proteinüri ve ödemin eşlik etmediği hipertansif olgular.

2-5. Sınıflanamayan : Yeterli bilgi edinilemeyen olgular.

3- Epidemiyoloji

Preeklampsi 1. trimesterde abortusla sonuçlanmayan tüm gebeliklerin ortalama %10'unda gelişir.

Özellikle nulliparlarda görülür, hastaların 2/3'ü nullipardır, muitiparlarda ise daha sıklıkla kronik hipertansiyon zemininde preeklampsi gelişir.

Genetik predispozisyon mevcuttur, preeklampitik kadınların kardeşlerinde %37, kızlarında %26, kız torunlarında %16, annelerinde %15 oranında preeklampsi hikayesi söz konusudur.

Preeklampsi riski polihidramnios'ta %30, diabetes mellitusda %50, ikiz gebelikte %30, mol hidatiformda %70, fetal hidropsta %50 oranında artmaktadır. Sosyoekonomik düzey düşüklüğü ve ırk faktörü artık predispozan olarak görülmemektedir (20, 21).

4-Patofizyolojik değişiklikler

4-1. Kan volümü

Hafif preeklampitik gebelerde plazma hacmi normal gebelerdekinden %9, ağır preeklampitik gebelerde ise %30-40 daha azdır. Hacim azalması preeklampsi semptomları gelişmeden ortaya çıkmaktadır. Hemoglobın (Hb) konsantrasyonundaki artış ilk trimesterde bile kanıtlanabilir. Aslında total ekstrasellüler sıvı miktarı değişmemiştir ancak intra ve ekstrasvasküler kompartmanlar arasında uygunsuz dağılım söz konusudur ve volüm ekstrasvasküler alana kaymıştır. Preeklampside ödem normal gebelikteki gibi artmış intrakapiller basınca bağlı gelişmez, çünkü preeklampside prekapiller rezistans artmış olduğu için intrakapiller basınç düşüktür. Patolojik ödem artmış mikrovasküler permeabilite, düşük plazma kolloid basıncı ve artmış interstisyel protein miktarına bağlı olarak gelişir. Bu gebelerde normal gebelerde görülen kardiyak output ve sol ventrikül boyutlarındaki artış gözlenmez, bu sirkülatuar maladaptasyonun ilk göstergesidir ve implantasyondan hemen sonra ortaya çıkması trofoblastların invazyonunun hatalı olması sonucu hemodinamik maladaptasyon ve malplasentasyonun kanıtıdır.

4-2. Uteroplazental damarlardaki değişiklikler

Preeklampitik gebelerde, özellikle 2. trimesterde gerçekleşen spiral arterlerin miyometrial segmentlerinin invaze edildiği sekonder trofoblastik dalganın olmadığı tespit edilmiştir. Sonuç olarak spiral arterlerin musküler tabakası ve sempatik innervasyonu tahrip edilmez ve yüksek akımlı düşük rezistanslı uteroplazental dolaşım gerçekleşmez; arter duvarı kalın, lümeni dar olarak kalır.

4-3. Kardiyak output

Kan basıncı, kardiyak output ve sistemik vasküler rezistansın çarpımına eşittir. Normal gebelikte kardiyak output artışı %50'dir. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki tedavi edilmemiş preeklampitik gebelerde kardiyak output normal veya düşük düzeydedir, bu da hipertansiyonun sistemik vasküler rezistansdaki artışa bağlı olduğunu ortaya koymaktadır.

4-4. Endotel hasarı

Endotel hasarının preeklampsinin önemli bir patofizyolojik komponenti olduğu düşünülmektedir. Preeklampside glomerüler endotelinde, plasenta ve umbilikal arter endotelinde ciddi hücre harabiyeti, hücre içi inklüzyon cisimciklerinde artış, hücre içi vaküolizasyonlar, mitokondrilerde belirgin şişme ve hücre arası yapılarda bozulmalar tespit edilmiştir. Hücrelerin bir arada bulunmasını sağlayan adezyon moleküllerinin, örneğin sellüler fibronektin, von Willebrand faktör antijeni, F8 antijeni gibi, serum seviyeleri klinik hastalık belirtileri başlamadan yükselmektedir.

Endotelin 1 (ET 1), endotel tarafından salgılanan güçlü bir vazokonstrüktör maddedir. 21 aminoasidden meydana gelmiş bu peptidin preeklampitik gebede, hastalığın şiddeti ile korele olarak yükseldiği ve düz kas hücrelerinde hücre içi Ca düzeyinde artışa sebep olduğu saptanmıştır. Endotelin miktarının artışı klinik belirtiler başladıktan sonra gelişmektedir. İn vitro çalışmalar ve ET 1 verilerek aynı plazma konsantrasyonu elde edilmesine rağmen arter basıncında sadece 5 mmHg gibi minimal yükselmeye sebep olması ET 1'in endotel hasarını yansıtan bir madde olduğu görüşünü doğrulamıştır (22).

Endotel fonksiyonlarından en önemli 2 tanesi olan koagülasyonun önlenmesi ve vasküler tonusun ayarlanması preeklampside bozulmuştur. İntakt endotel trombus oluşumuna dirençlidir, vasküler hasar ile endotelyal hücreler intrensek veya ekstrensek yol ile koagülasyonu başlatabilir, hasardan sonra subepitelyal kollajen ve mikrofibrillerin ortaya çıkmasıyla trombosit adezyonu oluşur.

Endotel vasküler düz kasın vazoaaktif maddelere cevabını da önemli ölçüde etkiler. Güçlü bir vazodilatatör olan PGI₂ endotel tarafından üretilmektedir, preeklampitik gebelerde ve fetuslarının umbilikal kord kanında normal gebelere göre daha az PGI₂ üretimi olduğu gösterilmiştir.

NO (nitrik oksit; EDRF: endothelium derived relaxing factor) normal endotel tarafından yapılan bioaktif bir maddedir. Salınımı birçok hormon, nörotransmitter ve hidrodinamik stress ile uyarılmaktadır. NO, PGI₂ ile sinerjistik olarak görev yapan, lokal vazodilatatör ve trombosit agregasyonunu engelleyici fonksiyonları olan bir maddedir. Preeklampitik gebelerde ve umbilikal kordonda miktarı azalmış olarak bulunmuştur (23).

4-5. Renin-Anjiotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS)

Normal gebelikte bu sistemin tüm öğeleri artmıştır ancak PGI₂ sayesinde damar cevabı azalmıştır. Preeklampside ise plazma renin konsantrasyonu, renin aktivitesi, aldosteron, anjiotensin II düzeyleri azalmıştır. Buna sebep olarak RAAS uyarıcısı olduğu düşünülen PGI₂ ve iyonize Ca düzeylerindeki azalma gösterilmektedir.

4-6. Prostaglandin sistemi

Preeklampside vazoaaktif maddelere duyarsızlık gelişmez ve sonuçta vazokonstriksiyon oluşur. Anjiotensin II'ye duyarlılığın artışı vasküler düz kastaki reseptörlerde artış ile olmaktadır. Olayın temelinde vazodilatatör, vazokonstriktör eikozonoidler arasında fonksiyonel eşitsizliğin olduğu düşünülmektedir. Preeklampitik gebelerde TXA₂/PGI₂ oranı vazokonstriktör ve agregan etkili TXA₂ lehine bozulmuştur. Klinik tablo yerleşmeden önce PGI₂ metabolitleri olan 6 keto PGE_{1α} ve PGE₂ düzeyleri kanda düşük olarak saptanır. PGI₂'nin idrar metaboliti olan 2,3,6 keto PGF_{1α}'nın normotensif gebelerde, gebe olmayanlara oranla 5-10 kat fazla olduğu, ancak sonradan preeklampsi gelişecek gebelerde bu artışın 2-3 katla sınırlı olduğu gösterilmiştir. TXA₂'nin üriner atılımı da hastalığın ciddiyeti ile paralellik gösterir. TXA₂'nin trombositlerde ve plasentada yapımı preeklampitiklerde normal gebelere göre 3 kat artmıştır. TXA₂ metaboliti olan 11 dehidro TXB₂ hem annede hem de fetusda yüksek bulunmuştur ve bu maddenin plasentadan geçemediği bilinmektedir (24).

4-7. Koagülasyon sistemi

Preeklampside koagülasyon sisteminin aktivasyonu söz konusudur. Pıhtılaşma ekstrensek ve intrinsek olmak üzere iki farklı mekanizma ile oluşmaktadır. İntrinsek pıhtılaşma reaksiyonları kollajen gibi (-) yüklü bir yabancı yüzeyle temas, ekstrensek pıhtılaşma reaksiyonları ise hasarlanmış dokulardan dolaşıma katılan doku tromboplastini ile başlamaktadır. Pıhtı oluşumu sırasında ve sonrasında birçok pıhtılaşmayı inhibe eden veya pıhtıyı eritmeye yönelik reaksiyonlar da başlamaktadır. Antitrombin III, heparin kofaktör II, Protein C, Protein S, plazminojen, ekstrensek yol inhibitörü (EPI), doku plazminojen aktivatörü (tPA), proürokinaz gibi faktörler pıhtılaşmada negatif yönde rol oynarken, bu faktörler de α_2 antiplazmin, PAI 1 ve PAI 2 (plazminojen aktivatör-inhibitörü) tarafından inhibe edilmektedir.

Preeklampside oluşan endotel hasarı sonucu trombosit adezyon, agregasyon ve sekresyon fonksiyonları aktifleşmiştir. Normal gebelikte PAF (platelet activating factor) aktivitesi düşmektedir ancak preeklampside bu düşme olmaz ve trombosit agregasyonu kolaylaşır. Hafif preeklampsisi olgularında bile koagülasyon sisteminin hassas indikatörlerini saptamak mümkündür; trombosit sayısında, trombosit yarı ömründe, fibrinojen miktarında azalma, fibrin yıkım ürünlerinde, antitrombin III-trombin kompleksinde, doku fibronektininde yükselme, antitrombin III aktivitesinde, F8 aktivitesi / F8 antijen oranında azalma tespit edilebilir (25).

Normotansif gebelerde tPA aktivitesi azalır. Preeklampside tPA aktivitesinin azalması daha da erken başlamaktadır. Preeklampatiklerde plasental kitle ve fonksiyon azalmasına bağlı PAI₂ düzeylerinde azalma ve gebeliğe özgü olmamakla birlikte renal hasara bağlanan PAI₁ düzeylerinde artma saptanmıştır, normal gebelerde ise PAI₁ ve PAI₂ düzeyleri yüksek bulunur.

4-8. Natriüretik hormonlar

Beyin ve kalp kaynaklı peptid hormonlardır. Beyin kaynaklı natriüretik faktör ekstrasellüler volüm artışlarında, renal kan akımı, glomerüler filtrasyon hızı ve mineralokortikoid aktiviteyi değiştirmeden Na atılımına neden olur. Kalpte pozitif inotropik etkiye, damar reaktivitesinde artışa ve preeklampitik gebelerde anjiotensin II'ye hassasiyet artışına neden olur. Bu faktör preeklampitik gebe ve bebeklerinde yüksek olarak bulunur.

ANP'nin ise natriüretik, diüretik, düz kas gevşetici ve RAAS üzerine inhibitör etkisi mevcuttur. Santral venöz basınç artışına paralel olarak gerilen atrium duvarı salınımı için gerekli stimulustur. Preeklampitiklerde ANP düzeyi belirgin olarak artmış bulunur (26).

4-9. Serbest radikal aktivitesi

Birden çok doymamış bağ içeren yağ asitleri O₂'li ortamda lipid peroksidasyon yolu ile metabolize olmaktadır. Bu reaksiyon sonucunda doku hasarına yol açan serbest radikaller oluşmaktadır. Bu reaksiyon antioksidan sistem ile kontrol edilir. Vit E, vit C, ürat, β karoten, süperoksit dismutaz önemli antioksidan maddelerdir.

Preeklampside lipid peroksidasyonu artar ve antioksidan aktivite azalır. Serbest radikal oksidasyon ürünleri preeklampsi kliniği başlamadan önce kanda yükselmektedir. Preeklampitiklerde kompensatuar olarak antioksidan sistemin bir parçası olan eritrosit-plazma glutatyon peroksidaz aktivitesi ve eritrosit glutatyon düzeyleri de yükselmiştir. Serbest radikal oksidasyon ürünleri PGI₂'nin azalmasına, TXA₂'nin yükselmesine, trombosit agregasyonuna neden olur (27).

4-10. Kalsitonin geni ile ilişkili peptid

Perivasküler sinir dokusunda bulunan güçlü bir vazodilatatör maddedir. Normal gebelikte artarken, preeklampitik gebelerde gün içinde büyük varyasyonlar gösterir (28).

4-11. CRH/ACTH

CRH /ACTH plazma oranı gebelikte artar. İnsan plasentası CRH ve ACTH üretir. CRH muhtemelen NO sayesinde daha önce PGF_{2α} ile vazokonstrükte olmuş damarlarda vazodilatasyona yol açar. Plasental CRH hipoksi ve/veya azalmış uteroplasental perfüzyona cevap olarak yükselir ve vazodilatasyon ile perfüzyonu arttırmak için gelişmiş otopregulatuvar bir mekanizmadır. CRH seviyesi preeklampatiklerde yüksek bulunur, bunun hastalığın kompensasyonunda etkili olduğu düşünülmektedir (29).

4-12. Tiroid fonksiyonları

Preeklampatiklerde böbrek yoluyla hormona bağlı proteinlerin kaybı ve T₄'ün T₃'e dönüşümünün gerçekleştiği karaciğer ve böbrek disfonksiyonu nedeniyle hipotiroidiye eğilim saptanmıştır (30).

4-13. Böbrek fonksiyonları

Preeklampside azalmış glomerüler filtrasyon hızı sık saptanmakta olup renal kan akımının azalması ile açıklanmıştır. Bir başka açıklama da glomerüloendotelyolizise bağlı olarak şişmiş endotelial hücrelerin glomerüler kapilleri tıkayarak birçok glomerülüsün fonksiyonunun engellenmesidir.

İdrarda proteinin saptanmamasının nedeni glomerüllerin büyük proteinlere geçirgen olmaması, geçebilen küçük proteinlerin ise tübüler reabsorbsiyonudur. Glomerüler hasar ile hem büyük hem küçük molekülü proteinler idrarda saptanabilecektir.

4-14. Kalsiyum dengesi

Normal gebelikte idrarla kalsiyum atılımında özellikle 3. trimesterde maksimuma ulaşan bir artış olmaktadır.

Normal gebelikte 1,25 vit D seviyelerinde de artış 3. trimesterde pik seviyelerine ulaşır. Preeklampside ise belirgin hipokalsiüri vardır, bu azalmış fraksiyonel kalsiyum ekskresyonuna ve artmış tübüler reabsorbsiyona bağlanmıştır ve normotensif gebelere göre 1,25 vit D seviyeleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Serum iyonize Ca değerlerinin azaldığını ve PTH arttığını iddia eden çalışmalar da mevcuttur (31).

MATERYAL VE METOD

01/11/2002 - 01/04/2003 tarihleri arasında S.S.K. Okmeydanı Eğitim Hastanesi 2. Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği ve Doğumhanesi'ne başvuran gebeler arasından, III. trimesterde bulunan preeklampsi tanısı konulmuş 27 gebe çalışma grubu, yine III. trimesterde bulunan normotansif 26 gebe ise kontrol grubu olarak çalışmaya alındı. Çalışma kapsamına alınan gebeler; preeklamptik grupta 27 gebenin 12 tanesi primigravid (ilk gebelik), 15 tanesi ise multigravid (çoğul gebelik), kontrol grubunda 26 gebenin 9 tanesi primigravid ve 17 tanesi multigravid şeklinde belirlendi. Hasta ve kontrol grubu olgularına, alınan örneklerin neden alındığı açıklandı ve araştırmayı kabul edenler çalışma kapsamına alındı.

Kan basıncı ölçümleri, 10 dk dinlenme süresinden sonra, oturur pozisyonda ve sol kol kalp seviyesinde olacak şekilde yapıldı. Kan basıncı 140/90 mmHg altında olanlar normotansif, eşit ve üzerindeki değerlere sahip olanlar ise hipertansif olarak kabul edildi.

Preeklampsi için aşağıdaki tanı kriterleri kullanıldı;

-Kan Basıncı : En az 6 saat ara ile ölçülen, iki ayrı değer 140/90 mmHg ve üstünde olması

-Proteinüri : > 75 mg/dL olması

-Ödem : 24 saatlik yatak istirahatını takiben > +1'lik ödem varlığı.

Kontrol grubumuzu, III.trimesterdeki 26 sağlıklı gebe oluşturdu. Herhangi bir gebelik komplikasyonu ve sistemik sorunu olmayan normal olgular çalışma kapsamına alındı.

Okside LDL ve lipid profili için antikoagülan içermeyen 10 mL'lik cam tüplere antekubital venden kan örneği alındı. Kanlar alınır alınmaz soğuk zincir sistemi içinde laboratuvara getirildi. 30 dakika 2-8 °C 'de bekletildi. 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Serum çalışma anına kadar -80 °C'de saklandı.

Okside LDL Ölçüm Prensipleri:

Mercodia okside LDL ELİSA solid faz 2 yönlü enzim immunoassaydır. Okside apoB molekülü üzerindeki antijenik determinantlara karşı yönlendirilmiş 2 monoklonal antikorun olduğu direkt sandviç tekniğidir. İnkübasyon süresince serumdaki okside LDL kuyucuğa bağlı antiokside LDL antikoruyla reaksiyona girer yıkama sonrasında nonreaktif plazma bileşenleri uzaklaştırılır. Peroksidazla konjuge anti-human apoB antikorunu solid faza tutunmuş okside LDL yi tanır. İkinci bir inkübasyon ve basit yıkama basamağından sonra enzimle işaretli bağlı olmayan antikorlar uzaklaştırılır, bağlı konjugat TMB (tetra metil benzoik asit) reaksiyonuyla saptanır. Reaksiyon asit eklenmesiyle durdurulur. Oluşan rengin absorbansı 450 nm de okunur.

Kit Komponentleri

25 µL, 50 µL, 100 µL, 200 µL ve 1000 µL otomatik pipet,
Redistile su,
Başlıklı test tüpleri,
Shaker (karıştırıcı),
Vortex-Mixer,
ELİSA okuyucusu ve yıkayıcısı.

Reaktifler

Coated Plate (fare monoklonal anti-okside LDL),
Kalibratörler,
Kontroller (Düşük, Yüksek)
Kalibratör 0,
Enzim Konjugat 11X (Konjuge Peroksidaz fare Monoklonal anti-apoB) (6µg/mL),
Enzim Konjugat Buffer,
Assay Buffer,
Sample Buffer 4X,

Wash Buffer 21X,

Substrat TMB,

Stop Solüsyonu (0,5M H₂SO₄).

Tavsiye edilen saklama sıcaklığı 2 -8 °C dir.

Sonuçların Hesaplanması:

1- Okside LDL konsantrasyonlarına karşı elde edilen kalibratörlerin absorban değerlerini içeren eğri Lin-log kağıdı üzerine çizilip ve kalibrasyon eğrisini oluşturuldu.

2- Kalibrasyon eğrisinden kontrollerin ve numunelerin konsantrasyonları okundu ve dilüsyon faktörü (6561) ile çarpıldı.

Presizyon:

Numune	Dilüsyon	Gözlenen Değer (mU/L) (Ölçüm1/Ölçüm2)	Gözlenen /Beklenen (Ölçüm1/Ölçüm2)
Numune 1	1:3321		
	1:6642	19,9/18,3	
	1:13284	9,4/9,5	0,94/1,04
Numune 2	1:3321		
	1:6642	20,6/20,4	
	1:13284	10,6/9,8	10,2/0,97
Numune 3	1:3321	29,1/32,0	
	1:6642	15,6/15,5	1,07/0,97
	1:13284	7,7/8,0	1,05/1,0
Numune 4	1:3321	21,6/20,2	
	1:6642	10,4/10,4	0,97/1,03
	1:13284	5,9/5,7	1,08/1,12
Numune 5	1:3321	15,9/15,7	
	1:6642	8,1/8,0	1,02/1,02
	1:13284	4,0/4,4	1,02/1,13

numune	Gözlenen	% CV		
	değer	Within-Run	Between-Run	total
1	8,5	5,5	6,2	8,3
2	19	7,3	4	8,3
3	32	6,2	4	7,4

Deteksiyon Limiti:

Zero kalibratörün 3 SD Üzerinde olarak, <1mU/L hesaplanır.

Referans Aralığı:

26-117 U/L

İnterferens:

Aşırı Lipemik , ikterik veya hemolizli numuneler ölçümü interfere etmez.

Recovery:

% 85-107 (ortalama değer % 95).

İstatiksel Analiz :

Veriler 'SPSS for windows 10.0 istatistik paket programı' kullanılarak değerlendirildi. Karşılaştırmalarda student's t testi kullanıldı. $p < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Çalışma kapsamına 26'sı normotansif, 27'si preeklampitik olmak üzere 53 hamile alındı. Çalışmaya alınan hamilelerin ölçülen değerleri Tablo I, II, III, IV' te gösterilmiştir.

Normotansif hamilelerin yaşları $27,9 \pm 5,7$ yıl (en küçük 19, en büyük 39 yaşında) , preeklampitik hamilelerin yaşları ise $28,7 \pm 5,5$ yıl (enküçük 18, enbüyük 40 yaşında) olarak bulundu (ort \pm SD) . Normotansif hamilelerin gebelik haftaları $30,9 \pm 3,0$ (en düşük gebelik haftası 26, en yüksek gebelik haftası 36), preeklampitik hamilelerin gebelik haftaları $32,3 \pm 2,7$ (endüşük 27, enyüksek 36) olarak bulundu (ort \pm SD). İki grubun yaş ve gebelik haftası dağılımında istatiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0,05$).

Normotansif hamilelerin diastolik kan basınçları 71 ± 5 mmHg, sistolik kan basınçları 110 ± 8 mmHg. Preeklampitik hamilelerin diastolik kan basınçları 96 ± 8 mmHg, sistolik kan basınçları 147 ± 8 mmHg olarak bulundu (ort \pm SD) . İki grubun diastolik ve sistolik kan basınçları arasında yüksek derecede anlamlı fark saptandı ($p<0,01$).

Normotansif hamilelerin okside LDL düzeyleri 130 ± 60 U/L, preeklampitik hamilelerinki 133 ± 69 U/L (ort \pm SD) olup bu değerler arasında istatiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$). İki grubun Histogram ve Box-Plot grafikleri şekil 1, 2, 3' te gösterilmiştir.

Normotansif hamilelerin LDL-kolesterol düzeyleri 147 ± 61 mg/dL, HDL-kolesterol düzeyleri 68 ± 14 mg/dL, total kolesterol düzeyleri 248 ± 49 mg/dL. Preeklampitik hamilelerin LDL-kolesterol düzeyleri 136 ± 59 mg/dL, HDL-kolesterol düzeyleri 61 ± 16 mg/dL, total kolesterol düzeyleri 248 ± 82 mg/dL olarak bulundu (ort \pm SD) . İki grubun LDL, HDL ve total kolesterol değerleri arasında istatiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). (Tablo V).

Normotansif hamilelerde VLDL-kolesterol düzeyleri 41 ± 15 mg/dL, trigliserid düzeyleri 207 ± 77 mg/dL, preeklampitik hamilelerde VLDL-kolesterol düzeyleri 51 ± 18 mg/dL, trigliserid düzeyleri 257 ± 88 mg/dL olarak bulundu (ort \pm SD). Preeklampitik hamilelerin VLDL-kolesterol ve trigliserid değerleri normotansif hamilelere göre anlamlı derecede yüksekti ($p < 0,05$). (Tablo V).

TabloI . Normotansif Hamilelerde Kan Basıncı (K.B) Değerleri

	Yaş (yıl)	Gebelik Haftası	Sistolik K.B (mmHg)	Diastolik K.B (mmHg)
1	23	34	100	70
2	36	28	110	60
3	32	26	110	70
4	23	32	110	70
5	28	28	120	80
6	29	30	110	70
7	35	36	120	80
8	30	34	120	80
9	28	26	110	70
10	22	27	110	70
11	19	29	100	70
12	23	34	110	70
13	21	34	100	70
14	29	34	100	70
15	23	31	100	70
16	34	32	110	70
17	30	33	110	70
18	36	28	110	70
19	24	34	110	70
20	26	32	110	70
21	39	35	120	80
22	37	28	130	60
23	25	31	110	70
24	22	30	100	70
25	22	28	100	70
26	28	30	110	70

Tablo II. Normotansif Hamilelerde Lipid Değerleri

	Ox-LDL (U/L)	LDL- kolesterol (mg/dL)	VLDL- kolesterol (mg/dL)	HDL- kolesterol (mg/dL)	Total Kolesterol (mg/dL)	Trigliserid (mg/dL)
1	99	143	46	103	292	231
2	111	159	39	64	262	194
3	133	121	56	63	240	281
4	97	126	25	79	230	125
5	69	374	38	56	268	188
6	71	120	19	66	205	94
7	217	161	52	59	272	258
8	113	131	38	64	233	188
9	131	136	74	66	276	371
10	49	76	24	69	169	119
11	72	83	38	63	184	192
12	123	81	55	57	193	276
13	173	207	36	71	314	179
14	81	105	25	66	196	123
15	154	166	62	86	314	309
16	67	161	33	88	282	167
17	129	178	35	45	258	173
18	92	145	23	77	245	114
19	182	104	72	67	243	362
20	171	98	54	40	192	272
21	300	218	62	55	335	312
22	122	117	32	68	217	160
23	71	86	26	56	168	131
24	227	201	32	78	311	161
25	120	131	42	55	228	209
26	208	194	39	93	326	195

Tablo III. Preeklampitik Hamilelerde Kan Basıncı (K.B) değerleri

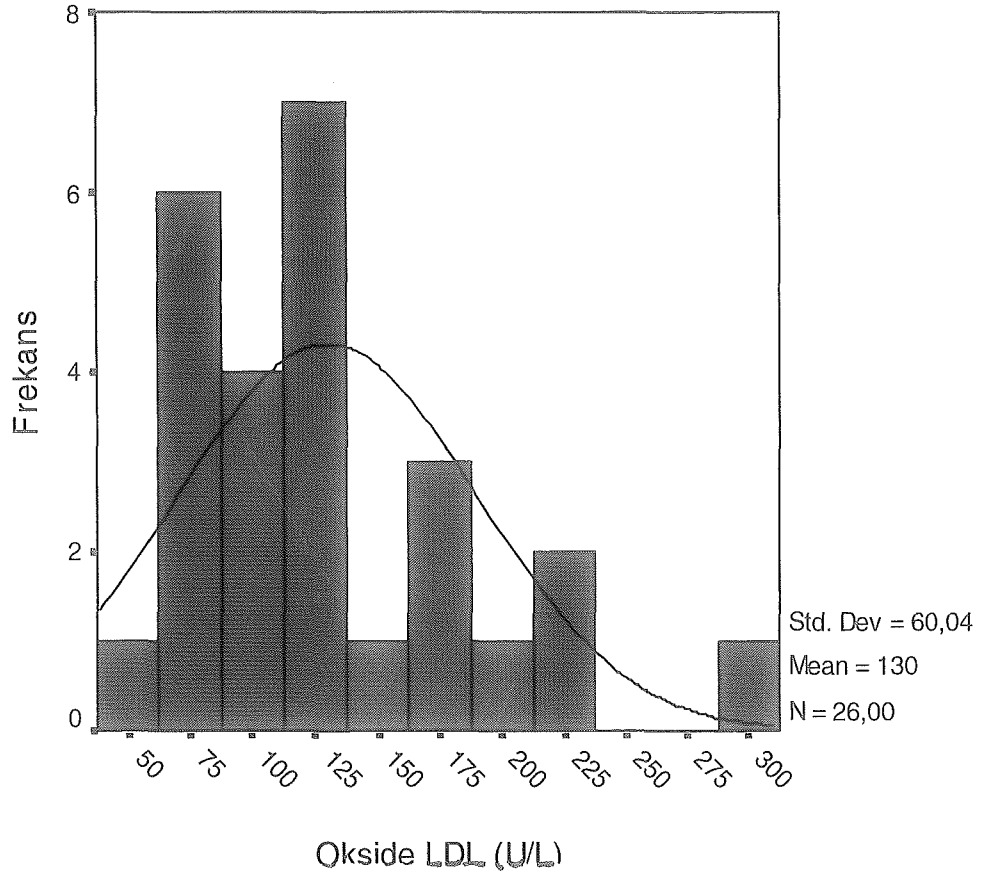
	Yaş (yıl)	Gebelik Haftası	Sistolik K.B (mmHg)	Diastolik K.B (mmHg)
1	31	35	150	100
2	37	34	150	100
3	23	29	140	100
4	27	28	140	100
5	29	27	140	90
6	31	35	160	90
7	33	30	150	90
8	33	33	150	100
9	24	34	140	100
10	28	33	150	100
11	30	32	140	90
12	24	31	150	90
13	34	34	160	110
14	27	36	150	110
15	40	32	150	100
16	27	28	150	80
17	35	35	140	90
18	31	31	140	90
19	38	36	150	100
20	24	32	140	90
21	22	32	140	90
22	32	29	150	90
23	23	36	140	90
24	18	34	140	90
25	29	30	170	120
26	22	32	140	100
27	23	35	150	90

Tablo IV. Preeklampitik Hamilelerde Lipid Değerleri.

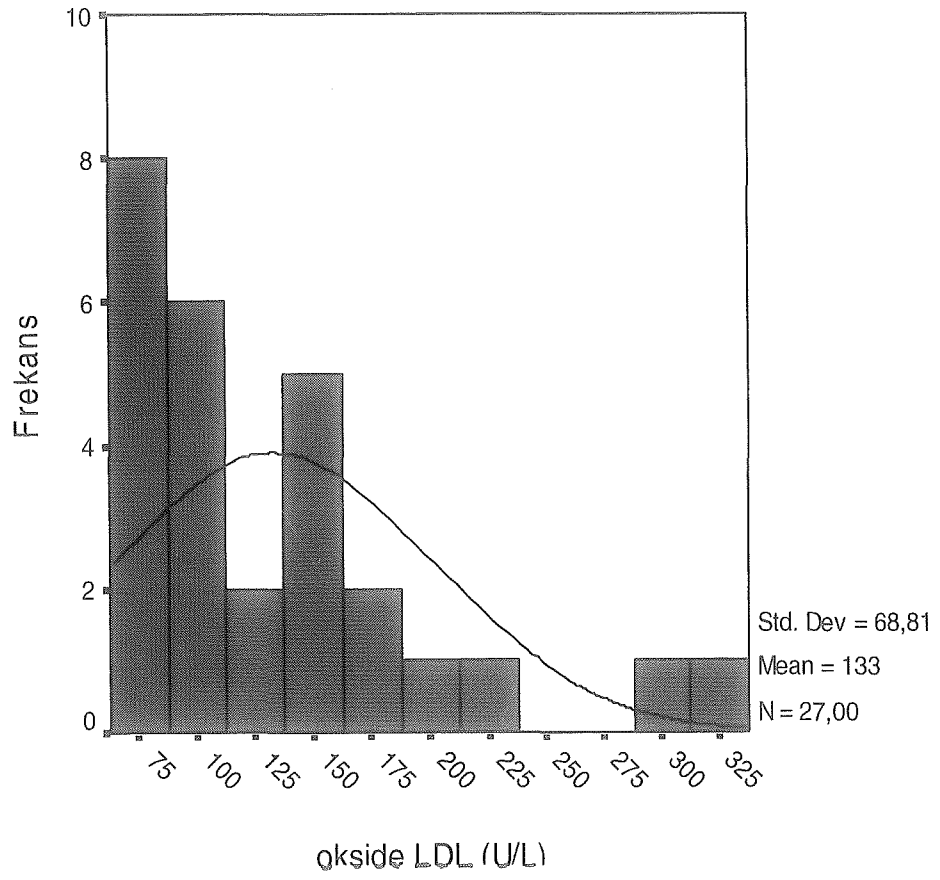
	Ox-LDL (U/L)	LDL- kolesterol (mg/dL)	VLDL- kolesterol (mg/dL)	HDL- kolesterol (mg/dL)	Total Kolesterol (mg/dL)	Trigliserid (mg/dL)
1	105	135	35	74	244	177
2	146	82	46	30	158	281
3	162	136	75	44	255	377
4	95	131	33	74	238	166
5	159	137	74	44	255	372
6	146	195	61	67	323	306
7	89	98	41	67	206	207
8	64	101	37	34	172	185
9	86	76	49	55	180	245
10	71	91	29	50	170	146
11	217	152	58	67	277	289
12	71	305	83	98	486	417
13	173	133	43	71	247	217
14	150	141	46	75	262	232
15	70	95	41	69	205	205
16	173	145	59	64	268	297
17	80	80	71	52	203	354
18	93	90	29	52	171	147
19	74	75	49	56	180	246
20	137	147	24	66	237	121
21	124	191	60	67	318	302
22	94	76	71	54	201	353
23	90	148	59	66	273	295
24	300	157	57	66	280	285
25	331	143	25	68	236	125
26	75	104	35	34	173	173
27	211	303	82	94	479	412

Tablo V. Grupların Lipid Profili.

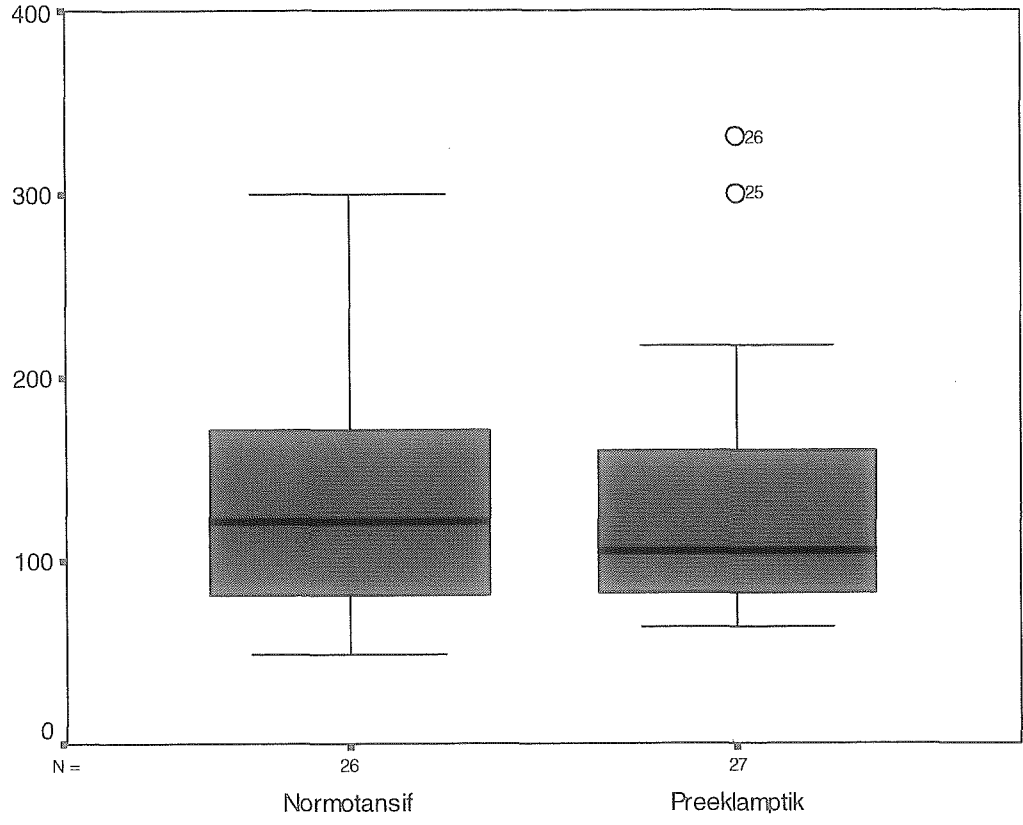
	Grup	Ortalama	SD	p
Ox-LDL (U/L)	kontrol	130,08	60,04	0,878
	preeklampsi	132,81	68,81	
LDL-kolesterol (mg/dL)	kontrol	147,00	61,25	0,501
	preeklampsi	135,81	59,03	
VLDL-kolesterol (mg/dL)	kontrol	41,42	15,26	0,040
	preeklampsi	50,81	17,55	
HDL-kolesterol (mg/dL)	kontrol	67,46	14,30	0,156
	preeklampsi	61,41	16,19	
Total Kolesterol (mg/dL)	kontrol	248,19	49,37	0,990
	preeklampsi	248,04	81,50	
Trigliserid (mg/dL)	kontrol	207,08	76,90	0,033
	preeklampsi	256,74	87,86	



Şekil 1. Normotansif Hamilelerin Okside LDL Histogramı.



Şekil 2. Preeklamptik Hamilelerin okside LDL Histogramı



Şekil 3. Normotansif ve Preeklampitik Hamilelerin Okside LDL Değerlerinin Box-Plot Gösterimi

TARTIŞMA

Preeklampsi hamilelik-spesifik sendrom olup artmış kan basıncı ve proteinüri varlığı ile tanı konur. Hamilelerin %3-5'inde görülür (32). Hamilelikte plasentaya kan sağlayan spiral arterlerde önemli değişiklikler olur. Preeklampside bu değişiklikler normal ölçülerde gerçekleşmez (33). Normal hamilelerde spiral arterlerin luminal çapı çok genişler. Bu değişiklikler myometriyumun 3. tabakasına kadar uzanarak intervillöz aralığın perfüzyonu için düşük rezistanslı dolaşım sağlanmasına yardımcı olur. Bu modifikasyonlar anne damarlarına fetal endovasküler invazyon ile birlikte. Preeklampside endovasküler invazyon uygun şekilde olmaz.

Hiperlipidemi endotelial fonksiyonu bozabilir bu da aterosklerotik hastalık gelişmesine zemin hazırlar (34). Hamilelikte fizyolojik hiperlipidemiler bildirilmiştir (35). Normal hamilelikte bu özellik aterojenik değildir (36). Normal hamilelerde major lipid modifikasyonlarına rağmen, bu fenomen anne tarafından çok iyi tolere edilir. Bu durum gelişen fetüse gerekli kolesterol, TG gibi metabolik prekürsörler ile ilişkilidir.

Preeklampsi, ateroskleroz ve diabette dislipidemi ortaktır. Artmış trigliserid ve small dense LDL konsantrasyonu ve azalmış HDL konsantrasyonu bu bozuklukların karakteristiğidir.

Normal gebelikte trigliserid artışı small dense LDL artışı ile birlikte (38). Belo ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre (6); normal hamilelerde TG , VLDL ve small dense LDL artış gösterirken preeklampside bu artış daha fazla olmaktadır.

Anormal lipid profilleri preeklampside gözüken vasküler disfonksiyon ve oksidatif stresin ilerlemesinde rol almaktadır (37).

Mevcut hipotezler, aterosklerozda endotelial değişimlerin bir sebebi olarak oksidatif stresi vurgulamaktadır. Oksidatif stres preeklampsinin bir komponenti olup azalmış plasental perfüzyon ve maternal sendrom arasında bağlantı sağlar (39).

Roberts ve arkadaşlarına göre (40); preeklampsideki endotelial fonksiyon değişikliği aterosklerozdakine benzerdir. Preeklampside nötrofiller ve monositler oksidatif stres ile aktive olmakta ve sonra endotelium ile temas kurarak serbest radikal açığa çıkmasını sağlamaktadır.

Hubel ve arkadaşlarına (4) göre; oksidan-antioksidan balansındaki dengesizlik lipid peroksidasyonunu artırıp vasküler endotelin vazodilatör ve antiagregat aktivitesinde 'savunma' disfonksiyonuna sebep olur. Preeklampside lipid peroksitleri normal hamilelere göre daha yüksek sirkülasyon derecesi gösterir.

Serum LDL homojen özellik göstermez; boyutu, yoğunluğu, fonksiyonu ve kompozisyonu farklı olan çeşitli partiküllerden ibarettir. Bunlardan small dense LDL oksidasyona daha hassastır (41). Oxide LDL yüksek derecede aterojenik olarak bilinir keza okside LDL partikülleri endotel-bağımlı relaksasyonu bozar (42).

Okside LDL oldukça reaktif olup membran proteinleri ve fosfolipidlerini değiştirir, monosit toplanması için sinyal moleküllerini artırır. Okside LDL tarafından oluşturulan membran hasarı endotel fonksiyonunu değiştirmekle birlikte monositler tarafından alınarak köpük hücrelerine dönüşür, sonuçta aterosklerozun karakteristiği olan yağ çizgileri oluşur (41).

Palinski ve arkadaşlarına (14) göre; aortik lezyonlardan okside LDL izolasyonu, LDL' nin in vivo oksidatif modifikasyona maruz kaldığının kanıtıdır.

Oksidasyonun ilk basamağında orta derecede LDL oksidasyonu subendotelial yüzeyde orta derecede modifiye olmuş LDL oluşumu olarak sonuçlanır. MM-LDL, M-CSF yoluyla makrofajlara farklılaşır böylece MM-LDL daha okside hale döner. Parhami ve arkadaşlarının (11) yaptığı çalışmada; endotel hücrelerin minimal olarak okside (modifiye) LDL (MM-LDL) ye maruz kaldığında monosit bağlanması arttığı gösterilmiştir.

Modifiye poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkım ürünleri, MDA ve 4-HNE, ApoB nin lizin rezidülerine kovalent olarak bağlanır (16). Hörkö ve arkadaşlarına (18) göre; Okside LDL patojenitesinde MDA-LDL ye karşı oluşan otoantikorlar çok önemlidir. Branch ve arkadaşlarının (43) yaptığı çalışmaya göre; MDA-LDL otoantikor titresini sağlıklı hamilelere göre preeklampside oldukça yüksek seyretmektedir.

Önceki çalışmalarla paralel olarak bizim çalışmamızda da gebelik ve preeklampsisi nedenli lipid profili değişiklikleri gözlenmiştir. Normotansif hamilelerin % 77'si ve preeklampsitik hamilelerin % 74'ünün total kolesterol değerleri; normotansif hamilelerin % 53'ü ve preeklampsitiklerin % 48'inin okside LDL değerleri; normotansif hamilelerin % 77'si ve preeklampsitiklerin % 85'inin trigliserid ve VLDL-kolesterol değerleri; normotansif hamilelerin % 58'i ve preeklampsitiklerin % 59'unun LDL-kolesterol değerleri; normotansif hamilelerin % 69'u ve preeklampsitiklerin % 59'unun HDL-kolesterol değerleri üst referans değerlerin üzerinde bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda yaşları ve gebelik haftaları benzer dağılıma sahip normotansif ve preeklampsitik hamilelerde ox-LDL , LDL-kolesterol ve total kolesterol değerleri arasında istatistiksel olarak ($p>0.05$) anlamlı bir fark bulunmazken, bu parametrelerin düzeyleri referans değerlerin üstünde bulunmuştur. VLDL-kolesterol ve trigliserid düzeylerindeki bu artış preeklampsitik hamilelerde normotansiflerden daha fazladır.

Normotansif ve Preeklampsitik hamilelerde, okside LDL düzeyi yüksek seyrettiği halde preeklampsitik gebelerde normotansiflerden farklı bulunmamıştır. Dolayısı ile diagnostik bir gösterge olarak uygun değildir. Yükselmiş okside LDL'nin hamilelerde preeklampsisi gelişmesine predispozan bir faktör olup olmadığı ve ateroskleroz katkısının aydınlatılabilmesi için doku düzeyinde yapılacak ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

NORMOTANSİF VE PREEKLAMPTİK HAMİLELERDE SERUM OKSİDE LDL DÜZEYLERİ

Okside LDL aterosklerotik lezyonların patogeneğinde önemli bir role sahiptir. Preeklampside, atherosklerozdakine benzer şekilde desidual damarlarda vasküler duvar fibrinoid nekrozu ve lipid yüklü makrofajların fokal birikimi vardır. Preeklampside aynı zamanda lipid peroksidasyon anomalileri ile de ilişkilidir. Bu çalışmadaki amacımız preeklamptik hastalarda serum ox-LDL seviyelerinin artıp artmadığını araştırmak ve normotansif gebelerle karşılaştırmaktır.

26 normotansif ve 27 preeklamptik gebe de serum okside LDL, total kolesterol, HDL-kolesterol, LDL-kolesterol, trigliserid ve VLDL-kolesterol düzeyleri ölçüldü. Normotansif preeklamptik gebelerde okside LDL (U/L), total kolesterol (mg/dL), HDL kolesterol (mg/dL), LDL-kolesterol (mg/dL), trigliserid (mg/dL) ve VLDL-kolesterol (mg/dL) düzeyleri sırası ile 130 ± 60 ve 133 ± 69 ; 248 ± 49 ve 248 ± 81 ; 67 ± 14 ve 61 ± 16 ; 147 ± 61 ve 135 ± 59 ; 207 ± 76 ve 256 ± 87 ; 41 ± 15 ve 50 ± 17 olarak bulundu (ort \pm SD). Her iki grupta okside LDL konsantrasyonu ve diğer lipid parametreleri referans aralıklarının üst sınırlarını üzerindeydi. Ancak, preeklamptik ve normotansif gebelerde okside LDL, total kolesterol, HDL ve LDL kolesterol düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptanmadı. Bununla beraber, her iki grup arasında trigliserid ve VLDL-kolesterol düzeyleri açısından istatistiksel farklılık bulundu. Lipid metabolizmasında gebelik süresince önemli değişiklikler olur.

Normal gebelerde hiperlipidemi varken, preeklampitik gebelerde daha fazladır. Bu da gebelik toksemisinde anormal lipid metabolizmasının rolü olabileceğini akla getirmektedir. Ancak bizim çalışmamızda, normotansif ve preeklampitik okside LDL, total ve LDL kolesterol düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptanmadı. Bununla beraber, preeklampitik gebelerdeki trigliserid düzeyleri normotansif gebelere göre daha yüksek bulundu. Bu sonuçlar bize okside LDL ve diğer lipid parametrelerinin preeklampsinin bir sonucu değil gebeliğin bir sonucu olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlara göre, preeklampitik gebelerde serum okside LDL düzeylerinin arttığına dair bir bulgu yoktur. Buna ek olarak, okside LDL konsantrasyonlarının preeklampside tanısal değeri bulunmamaktadır.

SUMMARY

SERUM OXIDISED LOW DENSITY LIPOPROTEIN LEVELS IN NORMOTENSIVE AND PREECLAMPTIC PREGNANTS

Oxidatively modified low density lipoprotein (ox-LDL) may have an important role in the pathogenesis of atherosclerotic lesions. In preeclampsia, decidual vessels show fibrinoid necrosis of the vascular wall and focal accumulation of lipid-laden macrophages, similar to the situation in atherosclerosis. Preeclampsia has also been associated with abnormalities of lipid peroxidation. Our aim was to study whether the serum levels of ox-LDL were also increased in preeclamptic patients and to compare with the those of normotensive pregnant.

Serum concentrations of ox-LDL, total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglyceride and VLDL-cholesterol were measured in 26 normotensive pregnant and 27 preeclamptic women. Concentrations of ox-LDL (U/L), total cholesterol (mg/dL), HDL-cholesterol (mg/dL), LDL-cholesterol (mg/dL), (mg/dL) triglyceride and VLDL-cholesterol (mg/dL) in normotensive and preeclamptic pregnant were found as 130 ± 60 and 133 ± 69 ; 248 ± 49 and 248 ± 81 ; 67 ± 14 and 61 ± 16 ; 147 ± 61 and 135 ± 59 ; 207 ± 76 and 256 ± 87 ; 41 ± 15 and 50 ± 17 respectively (mean \pm SD). Concentrations of ox-LDL and the other lipid parameters were higher than the upper limits of their reference ranges in the both of groups. But no significant differences were found between preeclamptic patients and normotensive pregnant in the levels of ox-LDL, total cholesterol, HDL and LDL-cholesterol. However, the levels of triglyceride and VLDL-cholesterol were statistically different between the groups.

Lipid metabolism is dramatically altered during pregnancy. Normal pregnant women have hyperlipidemia, even more so in women with preeclampsia, suggesting that abnormal lipid metabolism may have role in the genesis or expression of toxemia. But in our study, there were no significant differences between normotensive and preeclamptic pregnant women in the levels of ox-LDL, total and LDL-cholesterol, but the levels of triglyceride in preeclamptic women were higher than those of normotensive pregnant women. These results suggest that ox-LDL and the other lipid parameters rise as a result of pregnant state rather than as a result of preeclampsia. According to these results, there is no evidence of increased production of serum ox-LDL in the women with preeclampsia. In addition, concentrations of ox-LDL have no diagnostic value in preeclampsia.

KAYNAKLAR

1. Muray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell WV.: Lipid Taşınması ve depolanması. Harper'ın Biyokimyası (24. baskı Türkçe Çevirisi); 256-296
2. Montgomery R., Conway T., Spector A., Chappel D.: lipoproteinler. Biyokimya Olgu Sunumlu Yaklaşım (6. baskı, Çeviri: Nilgün Altan); 356-389
3. Dirican, M.: LDL Oksidasyonu ve Atherosklerozla ilişkisi. Biyokimya Dergisi. 24:41-48, 1994.
4. Hubel CA, Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rogers GM, McLaughlin MK. Lipid peroxidation in pregnancy: New perspectives on preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 1989;161:1025-34
5. Esterbauer, H., Gebickı, J., Puhı, H., and Jürgens, G.: The Role of Lipid Peroxidation and Antioxidants in Oxidative Modification of LDL Free Radic Biol Med., 3:341-390, 1992
6. Belo L, Caslake M, Gaffney D, Santos-Silva A, Pereira-Leite L, Quntanilha A, Rebelo I.: Changes in LDL size and HDL concentration in normal and preeclamptic pregnancies. Atherosclerosis. 162;425-432, 2002
7. Henriksen T., Mahoney EM., Steinberg D. Enhanced macrophage degradation of LDL previously incubated with cultured endothelial cells: Recognition by receptors for acetylated LDL. Proc Natl Acad Sci USA. 1981 oct;78(10):6499-503
8. Parthasarathy, S., and Rankın, S. M.: Role of Oxidized Low Density Lipoprotein in Atherogenesis. Prog. Lipid Res., 31: 127-143, 1992.
9. Jialal, I., Devaraj, S.: The Fats of Life. AACC Lipids and Lipoproteins. Vol. 8. 1995.
10. Hunt, J. V., Bottoms, M. A.: Glucose oxidation and low-density lipoprotein-induced macrophage ceroid accumulation: possible implications for diabetic atherosclerosis. Biochem. J., 300: 343-49, 1994.

11. Parhami, F., Fang Z. T., Fogelman, A. M., Andalibi, A., Territo, M.C., Berliner, Y.A.: Minimally modified low density lipoprotein-induced inflammatory responses in endothelial cells are mediated by cyclic adenosine monophosphate. *J. Clin. Invest.*, 92: 471-78, 1993.
12. Haberland, M. E., Fong, D., Cheng, L.: Malondialdehyde-altered protein occurs in atheroma of watanabe heritable hyperlipidemic rabbits. *Science*. 241: 215-241, 1988.
13. Jürgens, G., Lang, J., Esterbauer, H., and Holasek, A.: *IRCS Med. Sci.*, 12: 252-253, 1984.
14. Palinski, W, Yla-Herituale, s., et. al.: Antisera and Monoclonal Antibodies Specific for Epitopes Generated during Oxidative Modification of Low Density Lipoproteins. *Arteriosclerosis*, 10: 325-335, 1990.
15. Hammer, A., Kager, G., Dohr, G., Rabl, H., Ghassempur, I., Jürgens, G.: Generation, Characterization, and Histochemical Application of Monoclonal Antibodies Selectively Recognizing Oxidatively Modified Apo B-Containing Serum Lipoproteins. *Arterioscler Thromb. Vasc. Biol.*, 15: 704-713, 1995.
16. Holvoet, P., Perez, G., Zhao, Z., Brouwers, E., Bemar. H., and Collen, D.: Malondialdehyde-modified Low Density Lipoproteins in Patients With Atherosclerotic Disease. *J. Clin. Invest.*, 95: 2611-2619, 1994.
17. Preobrazhensky, S., Trakht, I., Monoclonal antibody-based immunassay for evaluation of lipoprotein Oxidation. *Analyt. Biochem.*, 227: 225-234, 1995.
18. Hörkö S, Binder CJ, Shaw PX, Chang MK, Silverman G, Palinski W, Witztum JL.: Immunological responses to oxidized LDL. *Free Radical Biology and Medicine*. 2000 Jun 15;28(12):1771-9
19. Savelieva GM, Dfimov US, Grishin VL, et al: Blood coagulation changes in pregnant women at risk of developping preeclampsia *Inti Gyneocol Obstet* 1995;48:3.

20. Saftlas AF, Olson DR, Franks AL, Atrash HK, Pokras R.: Epidemiology of preeclampsia in the United States, 1979-1986. *Am J Obstet Gynecol* 1990; 163:460-5.

21. Leon C. Chesley. History and Epidemiology of Preeclampsia-Eclampsia. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, Vol. 27, No.4, December 1984.

22. Nova A, Sibai BM, Barton JR, et al: Maternal plasma level of endothelin is increased in preeclampsia *Am. J. Obstet Gynecol* 1991; 165:724.

23. Morris NH, Sooranna SR, Leormont JG, et al: Nitric oxide synthetase activities in placental tissue from normotensive, preeclamptic and growth retarded pregnancies. *Br. J. Obstet Gynecol* 1995; 102:711.

24. Moodley J, Norman RJ, Reddi K: Decreased central venous concentration of immunoreactive prostaglandins E₂, F₂, and 6 keto F_{1α} in eclampsia. *Br. Med. J. Clin Res End.* 1984;288:1487-9.

25. Weiner CP, Brond J: Plasma antithrombin III activity: An aid in the diagnosis of preeclampsia, eclampsia. *Am J. Obstet Gynecol* 1985;142:275-81.

26. Ausiello DA, Natriuretic hormones. In: Wyngaarden JB, Smith JLH, Bennet JC ed. *Cecil textbook of medicine* 19th ed. Saunders company. Philadelphia 1992;XVI:211:1212-3.

27. Wisdom SJ, Wilson R, Mc Killop JH: Antioxidant system in normal pregnancy and in pregnancy induced hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 1991;165:1701-4.

28. Gleicher Norbet, Louis Buttino, Un Elkayom, M. Evans. R. Galbraith, S Gali, Baho Sibai: *Principles and Practice of Medical Therapy in Pregnancy*. Appleton, Lange. A Simon, Schuster Company. 1988

29. Challis JRG, Matthews SG, Von Meir C, Ramirez MM: The placental corticotrophin releasing hormone-adrenocorticotrophin trophic axis. *Placenta* 1995;16:481.
30. Lao TT, Chin RKH, Swaninathan R: Thyroid function in preeclampsia. *Br. J. Obstet Gynecol* 1988;95:880-3.
31. Seely E.W., Wood R.J., Brown E.M., Graves S.W.: Lower serum ionized calcium and abnormal calcitropic hormone levels in preeclampsia. *J. Clin. End and. Met.* 1992;74; 1436-40.
32. Chesley L.C. Hypertensive disorders of pregnancy, Appleton-Century-Crofts, New York, NY, USA (1978).
33. Brosens I.A., Robertson WB and Dixon HG., The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. In: R Wynn, Editor, *Obstetrics and Gynecology Annual* (1979), pp. 177–191.
34. Stewart D.J. and Monge J.C. Hyperlipidemia and endothelial dysfunction. *Curr. Opin. Lipidol.* 4 (1993), pp. 319-324.
35. Pocovi M., Ordovas J.M. and Grande-Covian F.. Plasma lipids and apolipoproteins A and B in human pregnancy. *Rev. Esp. Fisiol.* 40 (1984), pp. 183-190.
36. Piechota W. and Staszewski A.. Reference ranges of lipids and apolipoproteins in pregnancy. *Eur J Obstet Gynecol. Reprod. Biol.* 45 (1992), pp. 27-35.

37. Mayatt L. and Miodovnik. Prediction of preeclampsia. *Semin. Perinatol.* 23 (1999), pp. 45-57.

38. Sattar N., Bedomir A., Berry C., Shepherd J., Greer I.A and Packard C.J.. Lipoprotein subfraction concentrations in preeclampsia: pathogenic parallels to atherosclerosis. *Obstet Gynecol.* 89 (1997), pp. 403-408.

39. Roberts JM and Hubel CA., Is oxidative stress the link in the two-stage model of pre-eclampsia. *Lancet* 353 (1999), pp. 788–789.

40 Roberts J M. and Cooper DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *The Lancet.* 2001, 257:53-56

41. Witztum J.L.. Susceptibility of low-density lipoprotein to oxidative modification. *Am J Med.* 94 (1993), pp. 347-349.

42 Chin. J.H., Azhar S. and Hofman B.B, Inactivation of endothelial derived relaxing factor by oxidised lipoproteins. *J. Clin. Invest.* 89 (1992). pp.10-18.

43. Branch DW, Mitchell MD, Miller E, Palinski W, Witztum JL. Pre-eclampsia and serum antibodies to oxidised low-density lipoprotein. *Lancet.* 1994 Mar; 343(8898):645-6.

