

SELİN DEMİRER

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2018

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

**MATERNAL KANDA PREEKLAMPSİ İLE İLİŞKİLİ
MİKRORNA'LARIN BELİRLENMESİ**

SELİN DEMİRER

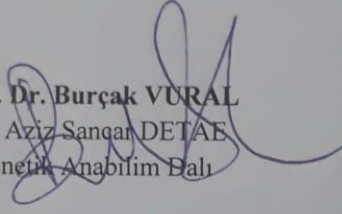
**DANIŞMAN
DOÇ. DR. AYŞE EVRİM BAYRAK**

**GENETİK ANABİLİM DALI
GENETİK PROGRAMI**

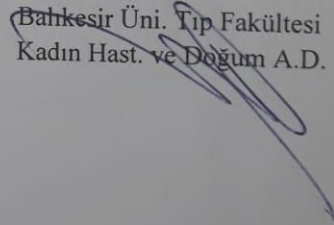
İSTANBUL-2018

TEZ ONAYI**YÜKSEK LİSANS TEZİ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı, Genetik Programında Yüksek Lisans öğrencisi Selin DEMİREK tarafından Doç. Dr. Ayşe Evrim BAYRAK'ın danışmanlığında hazırlanan **“Maternal Kanda Preeklampsi ile İlişkili mikroRNA'ların Belirlenmesi”** başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 10.07.2018 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Burçak VURAL
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Genetik Anabilim Dalı

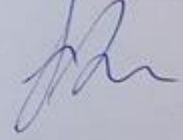

Doç. Dr. Ayşe Evrim BAYRAK
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
Genetik Anabilim Dalı

Dr. Öğr. Üyesi Akın USTA
Bakırköy Üni. Tıp Fakültesi
Kadın Hast. ve Doğum A.D.


BEYAN**BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar 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 olmadığı beyan ederim.

Selin DEMİRER



İTHAF

Annem'e ve Babam'a ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca, sabırla bana yol gösteren, bilgisini ve tecrübelerini benimle paylaşan ve her zaman destek olan, sevgili danışman hocam Sayın Doç.Dr. AYŞE EVRİM BAYRAK’a,

Tezim için hastaların toplanmasını sağlayan ve çalışmam boyunca benden yardımını, desteğini ve arkadaşlığını esirgemeyen Uzm. Dr. Meryem Hoccoğlu’na,

Tez projemin incelenmesinde verdikleri destek için Sayın Prof.Dr. Burçak Vural ve Yrd. Doç. Dr. Akın Usta’ya,

Tezimin deneysel çalışmalarını yapmamda emekleri geçen, beni her zaman motive eden canım arkadaşlarım Hilal Şentürk ve Esra Kaynak’a,

Tezim boyunca yanımda olan laboratuvar çalışma arkadaşlarım Pınar Köseoğlu, Muhammed Abdulvahid Kalkan ve Aybike Özuynuk’a,

Yüksek lisans eğitimi boyunca birlikte yol aldığımız ve her zaman yanımda olan sevgili arkadaşlarım Gizem Şentürk, Aslıhan Kaygusuz ve Tuğçe Sudutan’a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca her koşulda yanımda olan, beni hiç yalnız bırakmayan, bana sevgisiyle, sabrıyla destek olan, benim kadar emek veren yol arkadaşım sevgili eşim Güçlü Demire’ ve benim motivasyon kaynağım olan kızım İdil’e,

Yüksek lisans eğitimim boyunca gözüm arkamda kalmadan kızımı emanet edebildiğim, yanımda olan canım annem Songül Altuncu’ya ve yaşadığı süreçte eğitimimi destekleyen, beni her zaman izlediğini bildiğim canım babam Hüseyin Altuncu’ya teşekkür ederim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2017-27357

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	Xİ
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	Xİİ
ÖZET	Xİİİ
ABSTRACT.....	XİV
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. GEBELİK HİPERTANSİYON SINIFLAMASI:	3
2.2. PREEKLAMPSİ	4
2.2.1. Preeklampsisi Tanı Kriterleri:	5
2.2.2. Preeklampsinin Gruplandırılması:	5
2.2.3. Preeklampsinin Epidemiyolojisi	6
2.2.4. Preeklampsinin Patogenezi	9
2.2.5. Preeklampsinin Tedavisi	14
2.3. MikroRNA	15
2.3.1. miRNA'nın Keşfi ve Yapısı.....	16
2.3.2. miRNA'nın Biyogenezi	16
2.3.3. miRNA'nın Fonksiyonu.....	19
2.3.4. Gebelikte ve Preeklampside miRNA'lar.....	19
2.3.5. Preeklampsisi ve İmmünoloji İlişkisi ve miRNA'lar	20
2.4. ADAY miRNA'LARIN SEÇİMİ	21
2.4.1. miR-155:	21
2.4.2. miR-21:	22
2.4.3. miR-518:	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24

3.1. Gereçler.....	24
3.1.1. Hasta Grubu	24
3.1.2. Kontrol Grubu	25
3.1.3. Hasta ve Kontrol Gruplarından Kan Örneklerinin Alınması	26
3.1.4. Kullanılan Kimyasallar	27
3.1.5. Kullanılan Cihazlar	28
3.1.6. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler	28
3.1.7. Kullanılan Primer Setleri:	30
3.2. Yöntem.....	34
3.2.1. Periferik Kandan Lökosit Ayırıştırma:.....	34
3.2.2. Trizoldeki Lökosit Homojenatından Total RNA İzolasyonu:.....	34
3.2.3. Quick-DNA/RNA Tüpüne Alınan Kandan RNA İzolasyonu:.....	35
3.2.4. RNA Saflığı ile RNA Miktarının Ölçümü ve RNA Konsantrasyonunun Ayarlanması:	37
3.2.5. miRNA için cDNA Sentezi:.....	37
3.2.6. miRNA ifade düzeylerinin belirlenmesi:	38
3.2.7. Rölatif Kantitasyon ile miRNA İfade Düzeylerinin Belirlenmesi:	41
3.2.8. İstatiksel Analiz:	42
4. BULGULAR.....	43
5. TARTIŞMA	80
KAYNAKLAR	90
FORMLAR	102
ETİK KURUL KARARI	108
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	111
ÖZGEÇMİŞ	112

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1: Preeklampside klinik sınıflandırma kriterleri	6
Tablo 2: Preeklampsisi risk faktörleri ve hastalığa yakalanma rölatif riski.....	8
Tablo 3: Sık araştırılan preeklampsisiyle ilişkili genler	13
Tablo 4: Kullanılan kimyasallar	26
Tablo 5: Kullanılan cihazlar	27
Tablo 6: RT-PZR reaksiyon koşulları	38
Tablo 7: Tüm gebelerin klinik ve demografik özellikleri	43
Tablo 8 : Erken ağır, erken hafif ve kontrol grubu gebelerin fiziksel özellikleri	44
Tablo 9: Geç ağır, geç hafif ve 37. hafta kontrol grubu gebelerin fiziksel özellikleri....	45
Tablo 10: 29. hafta ve 37. hafta kontrol grubu gebeleri fiziksel özellikleri	45
Tablo 11: Gruplar arası doğum sonuçlarının karşılaştırılması	47
Tablo 12: Erken hafif, erken ağır ve 29.hafta kontrol grupları arası doğum sonuçlarının karşılaştırılması	48
Tablo 13: Geç hafif, geç ağır ve 37.hafta kontrol grupları arası doğum sonuçlarının karşılaştırılması	49
Tablo 14: Erken ve geç preeklampitik gebeler ile 29. ve 37. hafta kontrol gebeleri biyokimyasal parametreler	50
Tablo 15: Erken ağır, erken hafif ve 29. hafta kontrol gebeleri biyokimyasal parametreleri	51
Tablo 16: Geç ağır, geç hafif ve 37. hafta kontrol gebeleri biyokimyasal parametreleri	52
Tablo 17: 29. hafta ve 37. hafta kontrol gebeleri biyokimyasal parametreleri	53
Tablo 18: Erken hafif preeklampsisi, erken ağır preeklampsisi, geç hafif preeklampsisi, geç ağır preeklampsisi, 29. hafta kontrol ve 37. hafta kontrol grupları arasındaki miRNA ifade düzeyi karşılaştırmaları	54

Tablo 19: Erken hafif preeklampsi, erken ağır preeklampsi ve 29. hafta kontrol grupları arasındaki miRNA ifade düzeyi karşılaştırmaları	54
Tablo 20: Geç hafif preeklampsi, geç ağır preeklampsi ve 37. hafta kontrol grupları arasındaki miRNA ifade düzeyi karşılaştırmaları	57
Tablo 21: 29. hafta kontrol ve 37. hafta kontrol grupları arasındaki miRNA ekspresyon düzeyi karşılaştırmaları	59
Tablo 22: Geç preeklampitik gruplarda miR-21-3p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	60
Tablo 23: Geç preeklampitik gruplarda miR-155-5p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	61
Tablo 24: Geç preeklampitik gruplarda miR-518b düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	62
Tablo 25: Geç dönemde preeklampsi ve kontrol gruplarındaki miRNA düzeyleri arasındaki korelasyonlar	62
Tablo 26: Geç hafif dönemde miR-21-3p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	63
Tablo 27: Geç hafif dönemde miR-155-5p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon.....	64
Tablo 28: Geç hafif dönemde miR-518b düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	65
Tablo 29: Geç hafif preeklampsi miRNA düzeyleri arasındaki korelasyonlar	66
Tablo 30: Geç ağır dönemde miR-21-3p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	66
Tablo 31: Geç ağır dönemde miR-155-5p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	67
Tablo 32: Geç ağır dönemde miR-518b düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	68
Tablo 33: Geç ağır preeklampsi miRNA düzeyleri arasındaki korelasyonlar	68
Tablo 34: Erken preeklampitik gruplarda miR-21-3p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	69
Tablo 35: Erken preeklampitik gruplarda miR-155-5p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	70

Tablo 36: Erken preeklampitik gruplarda miR-518b düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	71
Tablo 37: Erken dönemde preeklampsi ve kontrol gruplarındaki miRNA düzeyleri arasındaki korelasyonlar	72
Tablo 38: Erken hafif dönemde miR-21-3p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	72
Tablo 39: Erken hafif dönemde miR-155-5p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	73
Tablo 40: Erken hafif dönemde miR-518b düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	74
Tablo 41: Geç hafif preeklampsi miRNA düzeyleri arasındaki korelasyonlar	74
Tablo 42: Erken ağır dönemde miR-21-3p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	75
Tablo 43: Erken ağır dönemde miR-155-5p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	76
Tablo 44: Erken ağır dönemde miR-518b düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon	77
Tablo 45: Erken ağır preeklampsi miRNA düzeyleri arasındaki korelasyonlar	77

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Normal ve preeklampitik gebelikte trofoblast invazyonu	10
Şekil 2: miRNA'nın biyogenezi	17
Şekil 3: miRNA oluşumu ve fonksiyonu	18
Şekil 4: miR-155-5p in 21. kromozom üzerindeki lokalizasyonu	29
Şekil 5: 21. kromozom ve miR-21-3p	30
Şekil 6: miR-21-3p in 17. kromozom üzerindeki lokalizasyonu	31
Şekil 7: 17. kromozom ve miR-21-3p	31
Şekil 8: miR-518b in 19. kromozom üzerindeki lokalizasyonu	32
Şekil 9: 19. kromozom ve miR-518b	32
Şekil 10: RT-PCR miR 518b amplifikasyon eğrileri	39
Şekil 11: RT-PCR miR 21-3p amplifikasyon eğrileri	39
Şekil 12: RT-PCR miR 155-5p amplifikasyon eğrileri	40
Şekil 13: miR-21-3p'nin erken dönemdeki gebeliklerde rölatif kantitasyon değeri grafiği	55
Şekil 14: miR 518b'nin erken dönemdeki gebeliklerde rölatif kantitasyon değeri grafiği.....	55
Şekil 15: miR-155-5p'nin erken dönemdeki gebeliklerde rölatif kantitasyon değeri grafiği	56
Şekil 16: miR-21-3p'nin geç dönemdeki gebeliklerde rölatif kantitasyon değeri grafiği.....	57
Şekil 17: miR-518b'nin geç dönemdeki gebeliklerde rölatif kantitasyon değeri grafiği.....	58
Şekil 18: miR-155-5p'nin geç dönemdeki gebeliklerde rölatif kantitasyon değeri grafiği.....	58

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

- miRNA:** MikroRNA, miR
- PE:** preeklampsi
- GHH:** gebelikte hipertansif hastalıklar
- IUGR:** intrauterin gelişim geriliği
- ACOG:** Amerikan Obstetri ve Jinekoloji Cemiyeti
- NHBPEP:** Ulusal Yüksek Kan Basıncı Eğitim Programı
- IUMF:** intra uterin mort fetalı
- YÜT:** Yardımcı üreme teknikleri
- WBC:** beyaz kan hücresi
- LDH:** laktat dehidrogenaz
- AST:** aspartat aminotransferaz
- ALT:** alanin amnotransferaz
- KB:** kan basıncı
- BKİ:** beden kitle indeksi
- RR:** rölatif risk
- MTHFR:** metilen tetrahidrofolat redüktaz
- AGT:** anjiotensinojen
- HLA:** insan lökosit antijenleri
- NOS3:** nitric oksit sentaz 3
- ACE:** anjiotensin-dönüştürücü enzim
- EMR:** erken membran rüptürü
- VEGF:** vasküler endoteliyal büyüme faktörü
- UTR:** “untranslated region”, translasyonu yapılmayan kısım
- ORF:** “open reading frame”, açık okuma çerçevesi
- Ago2:** argonat2
- XPO-5:** eksportin-5
- RISC:** RNA indüklenmiş baskılayıcı kompleks

ÖZET

Demirer S. Maternal Kanda Preeklampsisi ile İlişkili mikroRNA'ların Belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Genetik A.D. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul 2018.

Preeklampsisi (PE), maternal ve fetal morbidite ve mortalitenin nedenlerinden biri olup, hipertansiyon ve proteinüri ile birlikte çeşitli semptomlarla ilişkili hamileliğe özgü bir hastalıktır. Patofizyolojisi henüz tam olarak belirlenememiş olsa da anormal plasantasyon ile ilgili çok sayıda farklı olarak ifade edilen mikroRNA (miRNA) belirlenmiştir. miRNA'lar küçük, endojen, kodlamayan RNA'lar olup gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Bu çalışma da hem preeklampsisi ile maternal kan lökositlerindeki aday miRNA'lar arasındaki ilişki hem de bu miRNA'lar ile preeklampsinin başlangıç zamanı (34 haftadan erken veya geç) ve şiddeti (hafif veya ağır preeklampsisi) arasındaki ilişkinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

Araştırmaya başlangıç dönemine ve şiddetine göre gruplandırılan preeklampsili (n:83) gebeler ile sağlıklı gebeler (n:29) dahil edilmiştir. Tüm bireylerden periferik kan alınarak lökositleri elde edilmiş ve RNA izolasyonu yapılmıştır. Literatüre göre aday olarak seçilen miR-21-3p, miR-155-5p ve miR-518b ifade düzeyleri kantitatif RT-PCR ile belirlenerek elde edilen değişim katsayıları ve preeklampsisi ile olan ilişkileri istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

Buna göre, erken dönemde (29. hafta), miR-518b düzeyinin ağır preeklampsili gebelerde 4.6 kat, hafif preeklampsili gebelerde ise 2 kat arttığı belirlenmiştir ($p=0.023$). Geç dönemde (37. hafta) ise miR-155-5p düzeyinin ağır preeklampsili gebelerde 1.4 kat, hafif preeklampsili gebelerde ise 1.5 kat azaldığı belirlenmiştir ($p=0.051$). Ayrıca, miR-21-3p düzeyinin ağır preeklampsili gebelerde 1.9 kat, hafif preeklampsili gebelerde 1.5 kat azaldığı belirlenmiştir ($p=0.019$). Ek olarak, tüm gruplarda miRNA'lar ve klinik parametreler ile ilişkileri detaylı olarak incelenmiştir.

Sonuç olarak, preeklampsinin neden olduğu komplikasyonlar ile kan miRNA düzeyleri ilişkisi araştırılarak hem hastalığın daha erken tespiti ve dolayısıyla tedavi sürecine daha erken başlanması hem de patofizyolojisindeki rolünün anlaşılmasına katkı sağlanması mümkün olabilir.

Anahtar Kelimeler: preeklampsisi, maternal kan, aday mikroRNA'lar, ifade düzeyi, rölatif kantitasyon

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: TYL-2017-27357

ABSTRACT

Demirer, S. Determination of microRNAs related to with preeclampsia in maternal blood. İstanbul University, Institute of Health Science, Department of Genetics. Master Thesis. İstanbul. 2018

Preeclampsia (PE) is one of the causes for the maternal and fetal morbidity and peculiar to the pregnancy with some symptoms such as hypertension and proteinuria. Although its pathophysiology have not been cleared yet various microRNAs (miRNAs) have been specified which related with the abnormal placentation. miRNAs are short, endogenic and non-coding RNAs and take role in gene expression. Aim of this study is to show association between PE and candidate miRNA in maternal blood leukocyte and also association between these miRNAs and PE initiation period (before or after 34 week) and severity (mild or severe PE).

Pregnant subjects with PE (n:83) and healthy pregnant subjects (n:29) were included to the study and PE group was subgrouped according to early period and its severity. Peripheral blood samples were collected from all subjects and leucocytes were separated and RNA isolation was performed. Expression levels of miR-21-3p, miR-155-5p and miR-518b which assumed as candidate miRNAs in literature were determined by using RT-qPCR and then coefficient of variations and their relation with the PE were statistically evaluated.

Accordingly, in early period (29th week), miR-518b level is 4.6 fold increased in pregnant with severe PE and 2 fold increased in pregnant with mild PE ($p=0.023$). In late period (37th period) miR-155-5p levels 1.4 fold reduced in pregnant with severe PE, 1.5 fold reduced in pregnant with mild PE ($p=0.051$). Likewise, miR-21-3p level reduced 1.9 ad 1.5 fold reduced in pregnant with severe and mild PE respectively ($p=0.019$). Additionally, miRNAs and their association with clinical parameters have been investigated in detail for all groups. Consequently, investigating association between PE complications and blood miRNA levels can assist early diagnosis and early response and understanding of its role in pathophysiology of PE.

Key Words: preeclampsia, maternal blood, candidate microRNAs, expression level, relative quantitation

The present work was supported by the Research Fund of İstanbul University. Project No. 27357

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Preeklampsia tüm gebeliklerin % 7-10'unu etkileyen ve gelişmiş ülkelerdeki maternal morbidite ve mortalitenin ana nedenleri arasında olan ciddi bir klinik durumdur (1). Preeklampsia patofizyolojisiyle ilişkili olduğu düşünülen çeşitli biyolojik belirteçlerin erken gebelikte veya gebelik boyunca ölçümünün preeklampsia gelişimini öngörebileceği öne sürülmüştür. Heterojen bir kliniği olan preeklampsinin tanısında kullanılan asgari kriterler: 20. gebelik haftasından sonra kan basıncının $\geq 140/90$ mmHg'nin üzeri ve proteinüri (24 saatlik idrarda protein miktarının ≥ 300 mg üzerinde) olmasıdır. Kesin tanı kriterleri ise ; kan basıncı $\geq 160/110$ mmHg (yatağında dinlenirken ve 6 saat ara ile bakılmalı), proteinüri 24 saatlik idrarda ≥ 2 gr, serum kreatinin >1.2 mg/dL (eğer daha önceden yüksek olduğu bilinmiyorsa), trombositopeni (<100000 mm³), mikroanjiopatik hemoliz, artmış laktat dehidrojenaz (LDH), ALT veya AST yüksekliği, persistan baş ağrısı veya diğer serebral veya görsel bozukluklar ile persistan epigastrik ağrıdır (2). Preeklampsinin neden olduğu ciddi fetal-maternal komplikasyonlar sebebi ile hastaneye yatış sıklığı yüksektir ve patofizyolojisi sıklıkla araştırılan bir hastalık grubudur.

miRNA'lar genom üzerindeki genlerinden transkripsiyonu sağlanan; fakat proteine translasyonu gerçekleşmeyen, aktif formu yaklaşık 20-23 nükleotid uzunluğunda olan tek iplikçikli kodlamayan RNA molekülleridir. Bu küçük moleküller, mRNA'nın yıkımında rol oynayarak, translasyonu baskılar ve gen ifadesinin düzenlenmesinde görev alır (3,4). İnsan plasenta, miRNA ekspresyonundan zengindir ve preeklampsi plasentalarda çok sayıda farklı olarak ifade edilen miRNA'lar bulunmuştur. Bu miRNA'lardan bazılarının trofoblast hücre invazyonunun düzenlenmesine katıldığı gösterilmiştir (5-7). Maternal serumdaki plasental kaynaklı miRNA'ların, annenin gebeliğe adaptasyonunu sağlayarak, immun toleransı önemli ölçüde arttırdığı belirlenmiştir (8). Günümüzde plasental kaynaklı miRNA'ların anne serumundaki konsantrasyonlarındaki değişimin gebelik komplikasyonlarının saptanmasında önemli bir belirteç olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (9).

Preeklampsinin ciddi fetal-maternal komplikasyonlarla birlikteliği, sık hastaneye yatış endikasyonu olması nedeniyle takip ve tedavisinde erken tanı giderek önem kazanmaktadır. Bu çalışmada, preeklampsinin neden olduğu bu komplikasyonlar ile

kandaki miRNA düzeyleri ilişkisi araştırılmıştır. Böylece hastalığın patogenezi, daha erken tespiti ve dolayısıyla tedavi sürecine daha erken başlanmasına imkan sağlayabilecek bilgilerin eldesi hedeflenmiştir. Sonuçta prematüre doğum gibi riskli durumların önlenmesi, anne ve bebeğin minimal preeklampsi etkisi ile gebelik sürecinin tamamlanması önem taşımaktadır.

Bu tez çalışmasında, öncelikle preeklampsi ile maternal kan hücrelerindeki literatüre göre seçilmiş 3 aday miRNA'nın ifade düzeyleri arasındaki ilişkiyi ardından bu miRNA'lar ile preeklampsinin başlangıç zamanı (34 haftadan erken veya geç) ve şiddeti (hafif veya ağır preeklampsi) arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır. Sonuçta bu çalışma kapsamında, preeklampsi başlangıç dönemi ve ciddiyeti ile maternal kan hücrelerindeki miR-155-5p, miR-21-3p ve miR-518b miRNA ifade düzeyleri arasındaki ilişkinin ortaya konulması, böylece hem hastalık patogenezinin etkileri hem de hastalığın daha erken tespiti ve dolayısıyla tedavi sürecine daha erken başlanabilmesi için yeni bilgilerin eldesi hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Gebelikteki hipertansif hastalıklar (GHH), tüm gebeliklerin %8-15'inde görülen, maternal perinatal morbidite ve mortaliteyi arttıran gebelik hastalıklarının başında yer almaktadır. GHH, yılda 50.000'den fazla gebenin ölümüne sebep olmakla birlikte, uteroplasental yetmezliğe bağlı fetal büyüme geriliği, dekolman plasenta, preterm eylem gibi ciddi komplikasyonlara neden olmaktadır (10,11). Bu sebeple, hastalık etyopatogenezi anlamaya yönelik araştırmalar yeni gelişmelerle eş zamanlı olarak hızla devam etmektedir.

2.1. GEBELİK HİPERTANSİYON SINIFLAMASI:

Gebe kadınlarda hipertansiyon tanısı, en az 4 saat arayla iki ayrı kan basıncı ölçümünde, ölçüm ortalamasının $\geq 140/90$ mm/Hg ve üzerinde bulunması ile konulmakta olup buna bağlı gelişen hastalıkların çeşitli klinik alt grupları mevcuttur (10). GHH'nin sınıflaması, hastalığın prognozunu belirlemede, maternal ve fetal risklerin tespitinde, kan basıncı yükselişinin ve gebeliğin yönetiminde oldukça önemlidir.

Sınıflama konusunda dünyada değişik görüşler öne sürülmesine rağmen henüz tam olarak bir fikir birliğine varılamamıştır. Ulusal Yüksek Kan Basıncı Eğitim Programı (NHBPEP) Çalışma Grubu (2000) tarafından, gebelikte hipertansif hastalıklar aşağıdaki şekilde 4 kategoriye ayrılmıştır (10).

- Gestasyonel hipertansiyon
- Preeklampsi-eklampsi
- Kronik hipertansiyon zemininde gelişen preeklampsi (Süperempoze preeklampsi)
- Kronik hipertansiyon

Bu kategoriler aşağıdaki şeklide tanımlanmıştır.

Gestasyonel hipertansiyon: Gestasyonel hipertansiyon, gebeliğin 20. haftasından sonra annenin kan basıncının $\geq 140/90$ veya üzerinde olması ancak proteinüri bulunmaması durumunda meydana gelir. Postpartum dönemde ilk 12 hafta içinde bu artmış kan basıncının normale dönmesi beklenir. Kesin tanısı doğumdan sonra takip ile konulur. Bazı gebelerde preeklampsi de olduğu gibi trombositopeni ve epigastrik ağrı gözlenebilmektedir (12-13).

Preeklampsi-eklampsi: Preeklampsi, gebeliğin 20. haftasından sonra ortaya çıkan hipertansiyon ve idrarda proteinüri tespit edilmesiyle tanısı konulan bir gebelik hastalığıdır. Eklampsi, preeklampsi tanısı almış gebelerde başka bir neden ile açıklanamayan konvülsiyon meydana gelmesi durumudur (14).

Kronik hipertansiyon zemininde gelişen preeklampsi (Süperempoze preeklampsi): Süperempoze preeklampsi tanısı, gebelik öncesinde kronik hipertansiyon tanısı olan gebelerde, gebeliğinin 20. haftasından sonra proteinüri gelişmesi ile konur. Bu gebelerde aynı zamanda trombosit sayısının $\leq 100.000/\text{mm}^3$ olması, karaciğer enzimlerinde yükselme ve epigastrik ağrı meydana gelebilir (13).

Kronik hipertansiyon: Kronik hipertansiyon, gebelik öncesinde, gebeliğin 20. haftasından önce kan basıncının $\geq 140/90$ mmHg olması ve postpartum dönemin ilk altı haftasında veya daha uzun süre bu durumun devam etmesi ile tanımlanır (13).

2.2. PREEKLAMPSİ

Preeklampsi, gebelik öncesinde ve gebeliğin 20. haftasına kadar hipertansiyon tanısı almamış gebelerde, gebeliğin 20. haftasından sonra gelişen hipertansiyon ve proteinüri ile seyreden ve nadiren organ hasarı tablosunun geliştiği bir gebelik hastalığıdır (2).

Preeklampsi tanısı için en önemli kriterler hipertansiyon ve proteinüridir. Kan basıncının 20. gebelik haftasından sonra en az 4 saatlik ara ile yapılan ölçümlerde $\geq 140/90$ mmHg olması durumudur (15). Preeklampsi tanısında idrarda protein

miktarının, 24 saatlik ölçümde ≥ 300 mg ya da idrar analizinde bakılan protein/kreatin oranının ≥ 0.3 olması gerekir (16,17). Nadiren proteinüri olmadığı durumlarda, hipertansiyon ile birlikte trombositopeni, şiddetli baş ağrısı, son organ hasarı, karaciğer enzimlerinin yükselmesi, görmede bozukluk, bulantı, kusma ve batin sağ üst kadranda ağrısı varlığı şiddetli preeklampsisi tanısı koydurur (2,18).

2.2.1. Preeklampsia Tanı Kriterleri:

Preeklampsia tanısının konulmasında değerlendirilen klinik parametrelerin tümü aşağıda verilmektedir.

- a) 20. gebelik haftasından sonra kan basıncı $\geq 140/90$ mmHg
- b) Proteinüri 24 saatlik idrarda ≥ 300 mg ya da protein/kreatin oranının ≥ 0.3 olması
- c) Serum kreatinin >1.2 mg/dL
- d) Trombositopeni 100000/ml
- e) Mikroanjiyopatik hemoliz (artmış Laktat dehidrojenaz (LDH) düzeyi)
- f) ALT veya AST yüksekliği
- g) Persistan baş ağrısı
- h) Görme bozuklukları
- i) Persistan epigastrik ağrı (19)

2.2.2. Preeklampsinin Gruplandırılması:

Preeklampsia sıklıkla gebeliğin 34. haftasından sonra meydana gelir. Bu durum geç başlangıçlı preeklampsia olarak tanımlanır ve preeklampşik gebeliklerin %80'ini bu grup oluşturur (20,21). Preeklampsia, gebelerin %10-20'sinde ise gebeliğin 34. haftasından önce meydana gelir ve erken başlangıçlı preeklampsia olarak tanımlanır. Preeklampsia vakalarının %5'i ise postpartum ilk 48 saatte gerçekleşir (22,23).

Amerikan Obstetrik ve Jinekoloji Cemiyeti (ACOG) tarafından preeklampsia hafif ve ağır olarak sınıflandırılmıştır. Tablo 1'de preeklampside klinik sınıflandırma kriterleri listelenmiştir (2).

Tablo 1: Preeklampside klinik sınıflandırma kriterleri

Klinik Parametreler	Hafif	Ağır
Diastolik kan basıncı	<110 mmHg	≥110 mmHg
Sistolik kan basıncı	<160 mmHg	≥160 mmHg
Baş ağrısı	Yok	Var
Görme bozuklukları	Yok	Var
Epigastrik ağrı	Yok	Var
Oligüri	Yok	Var
Konvülsiyon	Yok	Var
Serum kreatinin	Normal	Artmış
Trombositopeni	Yok	Var
Serum transaminaz yükseliği	Çok az	Belirgin
Akciğer ödemi	Yok	Var

2.2.3. Preeklampsinin Epidemiyolojisi

Bir sistematik derleme sonuçlarına göre tüm dünyada gebeliklerin %4,6'sında (95%CI; 2.7-8.2) preeklampsisi görülmektedir (24). Amerika Birleşik Devletleri'nde preeklampsisi prevelansı %3,4 iken ilk gebelikte hastalığın görülme riski 1.5-2 kat artmaktadır (25). Preeklampsisi prevelansı ülkelere, maternal yaş ve nullipar gebe popülasyonun dağılımına göre değişiklik göstermektedir (26). Prevelansı ayrıca gebelik yaşından etkilenir ve özellikle genç yaştaki gebeliklerle 35 yaşından sonra olan gebeliklerde görülme sıklığı artmaktadır. Preeklampsisi görülme ihtimali, 34. gebelik haftasından önce daha azdır. Bir popülasyon temelli çalışma sonuçlarına göre preeklampsisi prevelansı, 34 gebelik haftasından önce %0,3 iken 34 gebelik haftasından sonra % 2,7' dir (27).

Gebelikte artmış kilo ile preeklampsisi riski arasında önemli bir ilişki vardır. Beden kitle indeksi (BKİ) <20 kg/m² olan gebelerin preeklampsisi insidansı %4,3 olup,

BKİ $>35 \text{ kg/m}^2$ olan gebelerde insidans %13,3 olarak görülür (28,29). Gebelikte sigara kullanımı birçok soruna neden olmasına rağmen sigara kullanımına bağlı preeklampsi insidansının diğer risk faktörlerine göre oldukça az olduğu bilinmektedir (30, 31).

Preeklampsi risk faktörleri ve bunlara bağlı rölatif risk oranları Tablo 2’de verilmiştir (30,31). Buna göre, önceki gebelikte preeklampsi öyküsü, mevcut hipertansiyon tanısı, pregestasyonel diyabet, çoğul gebelik, kronik böbrek hastalığı ve bazı otoimmün hastalıklar (antifosfolipit sendromu, sistemik lupus eritematozus) en yüksek rölatif risk oranına (RR) sahip oldukları görülmektedir.



Tablo 2: Preeklampsi risk faktörleri ve hastalığa yakalanma rölatif riski

Preeklampsi Risk Faktörleri	Rölatif risk
Önceki gebelikde preeklampsi öyküsü	8,4
Pregestasyonel diyabet	3,7
Kronik hipertansiyon	5,1
Sistemik lupus eritematozus	1,8
Antifosfolipid sendrom	2,8
Gebelik öncesi VKİ	2,1
Kronik böbrek hastalığı	1,8
Çoğul gebelik	2,9
İlk gebelik	2,1
Preeklampsi aile öyküsü	2,9
Önceki gebelikte plasental yetmezlikle ilgili komplikasyon varlığı	
Fetal gelişme geriliği	1,4
Ablasyo plasenta	2
IUMF (intra uterin mort fetalı)	2.4
Anne yaşı <20 veya ≥35	1,2
YÜT (yardımcı üreme teknikleri) ile gebelik	1,8

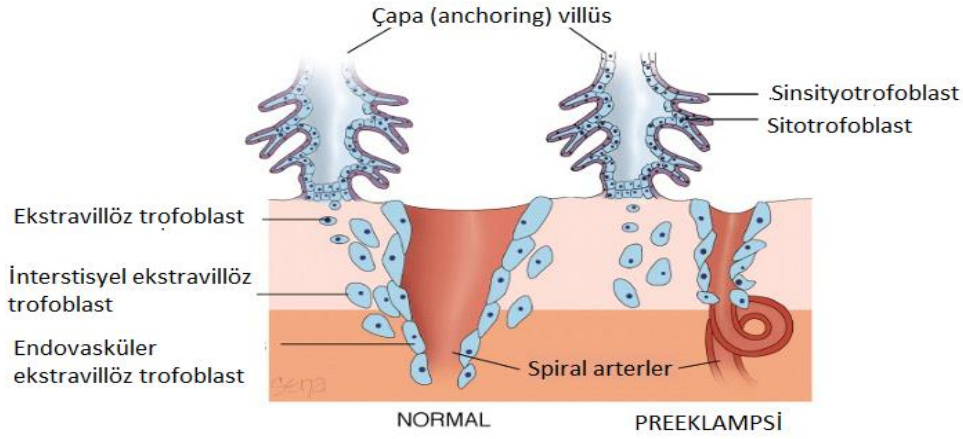
2.2.4. Preeklampsinin Patogenezi

Preeklampsinin etiyolojisi günümüzde halen kesin olarak bilinmemektedir. Patofizyolojinde maternal ve fetal/plasental faktörlerin her ikisi de mevcuttur. Etiyopatogenezinin aydınlatılamamasının nedenleri olarak, ilk trimester doku materyalinin elde edilememesi, patolojik nedenlere annenin vermiş olduğu reaksiyonun her vakada farklı olması ve bu hastalığın hangi gebede ve ne zaman ortaya çıkacağının bilinmemesi sayılabilir (10). Preeklampsi patogenezinde öne sürülen teoriler aşağıdaki gibi sıralanmaktadır (32).

- a) Anormal trofoblastik invazyon
- b) İmmünolojik faktörler
- c) Endotelial hücre aktivasyonu
- d) Beslenme faktörleri
- e) Genetik faktörler

a) Anormal trofoblastik invazyon

Sağlıklı gebelikte implantasyon sırasında, endovasküler trofoblastlarla invazyona uğrayan uterusun spiral arterioller, yaygın bir yeniden yapılanma sürecine girmektedir. Şekil 1’de gösterildiği gibi, bu trofoblast hücreleri, damar çapını arttırmak için vasküler endotelial ve musküler tabakaya geçer. Venler ise yalnızca yüzeysel invazyona uğrar. Ancak, preeklampside trofoblastik invazyon tam olarak gerçekleşemez. Derin miyometriyal arterioller, endotelial tabakalarını ve musküloelastik dokularını kaybetmezler ve ortalama dış çapları normal plasenta damarlarının yalnızca yarısıdır (33). Spiral arterlerdeki defektif trofoblastik invazyonun şiddeti ile hipertansif hastalığın şiddeti arasında ilişki olduğu bulunmuştur (34).



Şekil 1: Normal ve preeklamptik gebelikte trofoblast invazyonu (35)

b) İmmünolojik faktörler

Yapılan çalışmalar preeklampsinin patofizyolojisinde immünolojik uyumsuzluğun önemli rolü olduğunu göstermiştir (36). 12 aydan daha fazla cinsel ilişki sonrası gebe kalan kadınlarda preeklampsisi gelişme insidansının %11,9'dan %3,3'e gerilemesi, spermdeki antijenlerle önceden karşılaşma olmasına bağlanmaktadır. Bu durumun preeklampsisi insidansını azalttığı düşünülmektedir. İlk gebelikte daha sık görülmesi, partner değiştirenlerde sıklığının azalması ve insan lökosit antijeni B (HLA-B) ile ilişkisinin bulunması (37,38) immünolojik görüşü desteklemektedir.

Redman ve arkadaşları (2009), preeklampsisi patofizyolojisindeki olası immün uyumsuzluğun rolünü araştırdıkları çalışmada, preeklampsisi ile komplike bir gebelikte, ekstravillöz trofoblastlar tarafından eksprese edilen immünö-süpresif HLA-G miktarının azaldığını göstermişlerdir. Bu sonuçlar, hatalı plasental vaskülarizasyonu desteklemektedir (36).

c) Endotelial hücre aktivasyonu

Preeklampsinin ilk evresinde (plasental evre) immünolojik ve genetik mekanizmalar ile gerçekleştiği düşünülen ve fetoplasental hipoperfüzyonla sonuçlanan maternal spiral arteriollerde yetersiz trofoblastik invazyon meydana gelmektedir.

Gelişen plasentada uzun süreli hipoksi veya iskemi-reoksijenizasyon döngüsünün defalarca gerçekleşmesi, maternal kana serbest oksijen radikallerinin, inflamatuvar sitokinlerin, anjiogenetik faktörlerin ve mikropartiküllerin salınımına ve bunların birikimine neden olmaktadır. Plasenta kaynaklı bu faktörler sistemik endotelial disfonksiyonun görüldüğü ve klinik semptomların geliştiği preeklampsinin ikinci evresine geçişe (maternal evre) neden olmaktadır (39).

İntakt endotelin, antikoagulan özellikleri vardır ve vasküler düz kasların agonistlere yanıtını yumuşattığı gösterilmiştir. Diğer yandan hasarlı bir endotel, koagülasyonu destekleyici yönde endotel hücrelerini aktive ettiği ve vazopressör ajanlara karşı duyarlılığı arttırdığı belirlenmiştir (40).

d) Beslenme faktörleri

John ve arkadaşları (2002), antioksidan özelliği olan meyve ve sebzelerin fazla tüketilmesinin kan basıncında azalmaya neden olduğunu göstermiştir (41). Gün içerisinde 85 mg'dan fazla askorbik asit tüketiminin preeklampsi sıklığını 2 kat arttırdığı (42), kalsiyum tüketiminin ise, perinatal mortaliteyi azalttığı belirlenmiştir (43).

e) Genetik faktörler

Preeklampsi gelişme riskinin preeklampitik annelerin kızlarında %20-40, kız kardeşlerinde %11-37 olduğu bulunmuştur. Ayrıca dikoryonik ikizlerde ikiz eşinde preeklampsi gelişme riski, %22-47 iken monozigot ikizlerde risk %60'dır (44). Bazı genetik teoriler, fetusta besin transferini sağlayan genlerin paternal kökenine göre aktivite farklılıkları göstererek seçilebildiğini söylemektedir. Bu teoriye göre ayrıca, bu olayın dengelenmesini sağlayan maternal alleller de seçilmektedir. Bu 'genomik imprinting' olayı, fetal gen aktivitelerinin annedeki kan basıncını artırdığını; maternal gen aktivitelerinin ise kan basıncını düşürdüğünü öne sürmektedir (45).

"Genomik imprinting" gözlenen genler ("imprinted" genler), genellikle trofoblast büyümesi ve fetal gelişimin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (46). "Genomik imprinting" hem maternal hem de paternal allel varlığında oluşmakta olup, parental kökenine göre bu genlerde allelik ekspresyon gözlenmektedir ve herhangi bir

genetik varyasyonda fenotipik etkiler ve hastalıklar meydana gelmektedir. Bu durum, Mendel kalıtımı dışında bir kalıtım şekli göstermektedir. Bu mekanizma, kalıtsal görünen ancak etkilenmiş ailelerde tutarsız bir model gösteren bazı durumları açıklayabilir. Paternal allelin baskılandığı ve maternal allelin eksprese edildiği *H19* geni, embriyonun büyümesini ve gelişimini ve sitotrofoblast hücrelerinin farklılaşmasını düzenlemedeki rolü nedeniyle preeklampside de rol oynadığı gösterilmiştir. Normal plasentada, ilk trimesterde *H19*'un biallelik ekspresyonunun gözlemlendiği, ancak hamilelik ilerledikçe paternal allelin baskılanarak inaktive olduğu belirlenmesine rağmen, doğumda elde edilen pre-eklamptik plasentaların önemli bir kısmında biallelik ekspresyonun devam ettiği gözlemlenmiştir. Bu araştırma, *H19*'un gebelik sırasında dinamik olarak damgalandığını ve preeklampsisi ile ilişkili “imprinting” mekanizma kaybının olduğunu öne sürmüştür (47).

Genomik “imprinting” mekanizması dışında çok sayıda genetik faktör belirlenmiştir. Ward ve Lindheimer (2009) tarafından yapılan bir derlemede preeklampsisiyle ilişkili olarak araştırılan 70’den fazla genin etkisi değerlendirilmiş ve Tablo 3’de bu genlerin en önemli 7 tanesi listelenmiştir (44).

Tablo 3: Sık araştırılan preeklampsiyle ilişkili genler

Gen (polimorfizm)	Fonksiyonu etkilenen	Kromozom	Biyolojik ilişki
MTHFR (C677T)	Metilen tetrahidrofolat redüktaz	1p36.3	Damar hastalığı
F5 (Leiden)	Factor V leiden	1q23	Trombofili
AGT (M235T)	Anjiotensinojen	1q42-q43	Kan basıncının düzenlenmesi, esansiyel hipertansiyon ile ilişkili
HLA (çeşitli)	İnsan lökosit antijenleri	6q21.3	İmmünite
NOS3	Endotelial nitrik oksit	7q36	Vasküler endotel fonksiyonu
F2	Protrombin (factor II)	11p11-q12	Koagülasyon
ACE	Anjiotensin-konverting enzim	17q23	Kan basıncının düzenlenmesi

MTHFR, metilen tetrahidrofolat redüktaz; AGT, anjiotensinojen ; HLA, insan lökosit antijenleri; NOS3, nitric oksit sentaz 3; ACE, anjiotensin-konverting enzim

Diğer Genetik Değişkenler:

Preeklampsi gelişiminden sorumlu genetik ve fenotipik faktörler çok çeşitlidir. Bunlardan bazıları aşağıda özetlenmiştir (48).

1-Maternal veya paternal genotipik yapı: özellikle “imprinted” genlerdeki fonksiyonel genetik varyantlar

2-Diyabet gibi ilişkili hastalıklar ve parite gibi özellikler

3-Polimorfizm sıklığı, genetik yatkınlık, kurucu etki ve seçim

4-Spesifik alleller ile birbirini ve dolayısıyla fenotipi etkileyen iki veya daha fazla gen ürünleri

5-Fonksiyonel olarak stabil bir genin ekspresyonundaki değişiklikler

6-Gen-çevre etkileşimleri

2.2.5. Preeklampsinin Tedavisi

Preeklampsinin asıl tedavisi doğumdur. Doğum zamanlaması, gestasyonel yaşa ve hastalığın şiddetine göre değişmektedir. Bu nedenle ilk yapılması gereken, klinik tablonun hafif preeklampsisi ya da ağır preeklampsisi olup olmadığının ayrımıdır (49).

a) Hafif Preeklampside Tedavi

37. gebelik haftası veya üzerinde hafif preeklampsisi tanısı konulduğunda doğum planlanmaktadır (49). 37. gebelik haftasından önce gözlemsel yaklaşım uygulanarak bebeğin gelişmesi ve gebelik haftasının tamamlanması hedef alınmaktadır. Bunun için haftada iki kez fetal ve maternal değerlendirme yapılmaktadır (13). Ayaktan takip edilerek beklenen hastalarda, kan basıncının stabil olması, 24 saatlik idrarda protein miktarının 1000 mg ve daha az olması, trombosit sayısının 125.000 ve üzerinde olması, görme bozukluğu, baş ağrısı, bulantı-kusma, epigastrik ağrı gibi semptomların olmaması esas koşul olarak değerlendirilmektedir (50).

Hafif preeklampside 34-37 hafta gebelikte doğum endikasyonları (49);

- a. Ağır preeklampsisi bulgularının gelişmesi
- b. Erken membran rüptürü (EMR) varlığı
- c. Anormal biyofizik profil varlığı veya fetal distres olarak değerlendirilmektedir.

b) Ağır Preeklampside Tedavi

Ağır preeklampside, 34. gebelik haftasının üzerinde akciğer maturasyonuna bakılmaksızın anne ve bebek hayatı göz önüne alınarak doğum planlanmaktadır (49). 34. gebelik haftasından önce ağır preeklampsisi tanısı konan maternal ve fetal durumun stabil olduğu hastalarda gözlemsel yaklaşım uygulanabilmektedir. Bu hastalar hastaneye yatırıldıktan sonra anne ve fetus sağlığı yakın takibe alınmaktadır (6).

Ağır preeklampsisi grubunda olup gözlemsel yaklaşım uygulanan hastalara, aşağıda belirtilen şartların oluşması halinde doğum planlanmalıdır (51);

1. Kontrol edilemeyen kan basıncı
2. Fetal distres gelişmesi
3. Pulmoner ödem

4. HELLP sendromu bulgularının başlaması

Antihipertansif İlaçlar

Antihipertansif tedavide, sistolik kan basıncını 160 mmHg'nın, diyastolik kan basıncını 110 mmHg'nın altında tutmak amaçlanmaktadır. Hipertansiyon tedavisinde en önemli husus, konjestif kalp yetersizliğini ve maternal serebrovasküler hasarı önlemek ile serebral perfüzyonu ve ayrıca uteroplental kan akımını yeterli seviyede tutmaktır. Kan basıncında meydana gelen ani yükselmeler (diyastolik kan basıncı >120 mmHg), intraserebral kanama, akut böbrek yetersizliği, hipertansif ensefalopati, ventriküler aritmi, konjestif kalp yetersizliği ve plasenta dekolmanı gibi rahatsızlıklara neden olabilmektedir. Hastanın tansiyonu arteriyal $\geq 160/110$ mmHg olduğu aşamada akut hipertansiyonu tedavi edilmelidir. Akut hipertansiyonun gebelikteki tedavisinde kullanılabilen antihipertansif ilaçlar, parenteral tedavide labetalol ve hidralazin; oral tedavide nifedipin olarak sayılmaktadır. Kan basıncının otomatik olarak monitorize edilmesi ve kontrol altında tutulması gerekmektedir (51).

2.3. MikroRNA

MikroRNA'lar (miRNA), 19-25 nükleotit uzunluğunda, proteine translasyonu gerçekleştirilmeyen, hedefi olan mRNA'ya bağlanarak yıkımında rol oynayan ve translasyonu baskılayarak gen ifadesinin düzenlenmesinde görev alan küçük fonksiyonel RNA molekülleridir (52,53).

Hücrel birçok temel işlevin düzenlenmesinde görev alan çok sayıda miRNA, küçük nükleer (snRNA) ve nükleolar (snoRNA) RNA, küçük interfere edici RNA (small interfering RNA; siRNA) ve piwi-etkileşimli RNA (piwi-interacting RNA; piRNA) gibi farklı kodlamayan RNA molekülü keşfedilmiştir (54,55).

miRNA genlerinin büyük bir çoğunluğu genomda, protein kodlayan genlerin intronlarında, diğer bir kısmı ise protein kodlayan genlerin ekzonlarında veya intergenik bölgelerde lokalize bulunmaktadır (56,57).

2.3.1. miRNA'nın Keşfi ve Yapısı

miRNA'lar 1993 yılında Lee ve arkadaşları tarafından bir nematod olan *Caenorhabditis (C.) elegans*'da (solucan) keşfedilmiştir (58). Bu organizmada, LIN-14 proteinin ilk larva aşamasından (L1) ikinci (L2) aşamaya ilerlemesi esnasında azalma yönünde düzenlenmesinin gerekli olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, LIN-14'ün azalma yönünde düzenlenmesi, lin-4 adı verilen ikinci bir genin transkripsiyonuna bağlı olduğu bulunmuştur. Transkribe edilen lin-4'ün biyolojik olarak aktif bir proteine dönüştürülmediği saptanmıştır. Bunun yerine, yaklaşık 21 ve 61 nükleotit uzunluğunda 2 küçük RNA oluşturduğu belirlenmiştir. Daha uzun dizinin bir kök yapıyı oluşturduğu ve daha kısa bir RNA için öncül (prekürsör) olarak işlev gördüğü anlaşılmıştır. Daha sonra bu araştırma grubu (58), Wightman ve arkadaşları ile birlikte (59), küçük RNA'nın, lin-14 mRNA'sının 3'-UTR bölgesindeki çoklu dizilere karşı antisens olarak tamamlayıcı olduğu bulunmuştur. Bu tamamlayıcı bölgeler arasındaki bağlanmanın mRNA düzeylerinde anlamlı bir değişikliğe neden olmadan LIN-14 protein oluşumunu azalttığı belirlenmiştir (58, 59).

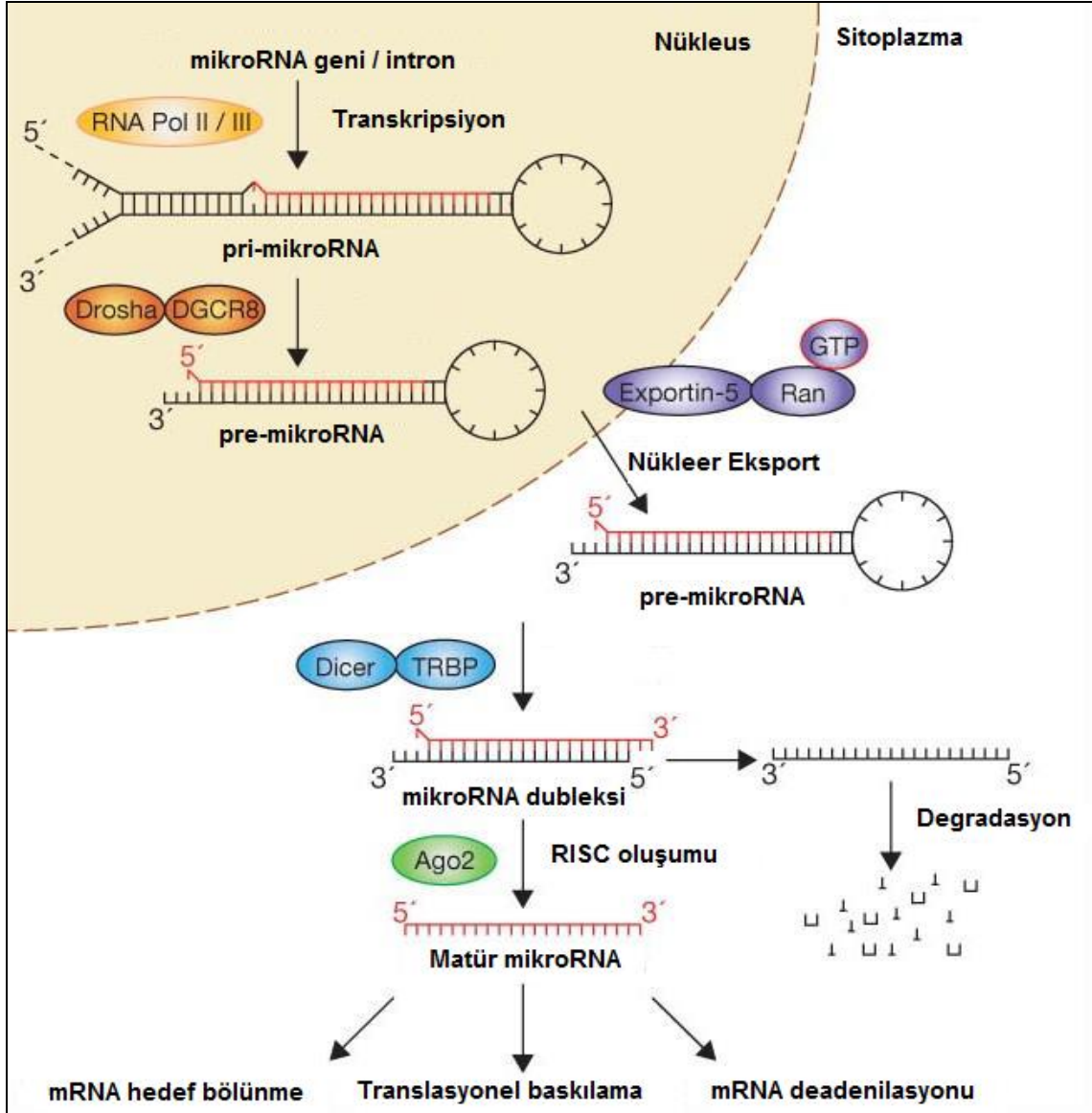
2000 yılında Reinhart ve arkadaşları tarafından, *C. elegans*'da, 22 nükleotid uzunluğunda, canlıda gelişim basamaklarını düzenleyen let-7 olarak isim verilen farklı bir miRNA daha keşfedilmiştir (60,61). Ardından birçok laboratuvar, insanlarda, sirke sineklerinde ve solucanlarda çok sayıda küçük RNA'ların klonladığı dönem takip etmiştir. Bu kodlamayan RNA'ların yaklaşık 19 ila 24 nükleotid uzunluğunda ve katlanmış bir yapı ile daha uzun bir öncüden türetilmiş oldukları ortaya konmuştur (62).

2.3.2. miRNA'nın Biyogenezi

miRNA'lar, sırayla üç basamaklı işlemler sonucunda meydana gelmektedir. İlk önce, miRNA genlerinden primer miRNA (pri-miRNA)'ların yazılımı gerçekleşir. Daha sonra pri-miRNA'lar prekürsör miRNA (pre-miRNA)'lara nükleus içinde dönüştürülür. Son olarak da sitoplazmaya geçerek olgun miRNA'lar oluşur (63).

Şekil 2'de şematik olarak gösterildiği gibi miRNA'lar, primer transkript olarak RNA polimeraz enzimi yardımı ile genomik DNA'dan sentezlenmektedir. Pri-miRNA "poli-A" ve "cap" kuyruğuna sahip olup saplı ve ilmekli yapıdadır (64). Çekirdekte bir

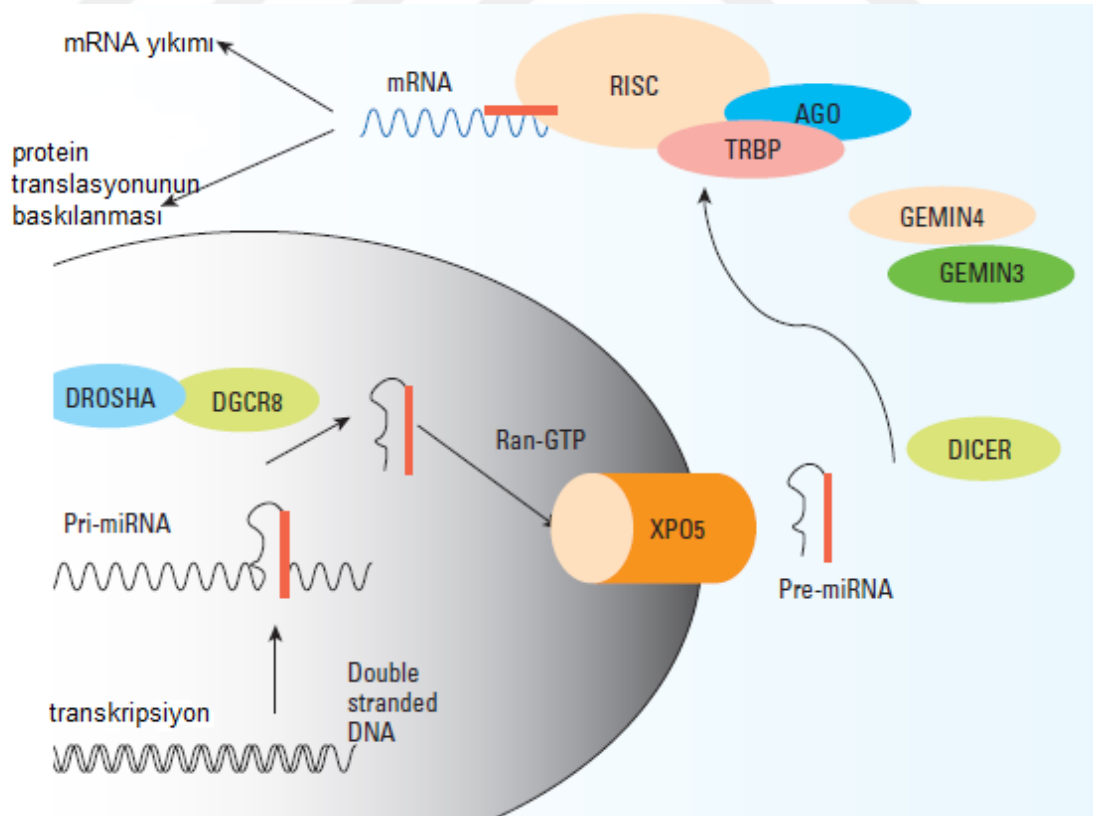
endonükleaz olan Drosha ve onun kofaktörü olan Pasha (veya DGCR8) yardımı ile 70 nükleotid uzunluğunda pre-miRNA'ya kırılmaktadır (58). Drosha ve Pasha'nın birleşiminin oluşturduğu kompleks mikroişlemci kompleks olarak adlandırılmaktadır (65).



Şekil 2: miRNA'nın biyogenezi (64)

Nükleer bir taşıma reseptörü olan eksportin-5 (XPO-5) ve bir nükleer protein olan RAN-GTP'ye bağımlı olarak pre-miRNA molekülü sitoplazmaya taşınmaktadır (66,67). RNAaz III enzimi ailesinden bir endonükleaz olan Dicer, TAR RNA bağlayan protein (TRBP) veya Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) aktive eden protein (PACT)

ile etkileşimde bulunarak sitoplazmada pre-miRNA'yı parçalayarak çift zincirli, 18-24 nükleotid uzunluğunda miRNA dubleksine dönüştürmektedir (67,68). Dicerin diğer fonksiyonu da RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksi (RNA İndüklenmiş Baskılayıcı Kompleksi); RISC oluşumunda kilit rol oynamasıdır (69). Pre-miRNA'nın saplı, ilmikli yapısı dicer tarafından kesildikten sonra miRNA dubleksinden sadece bir tanesi RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksine katılır. RNA ile tetiklenmiş susturma kompleksinin içerdiği bir RNAaz olan argonatın (AGO) yardımı ile bu iki iplikten 5' ucu daha kararlı olanı seçilip komplekse katılır. GEMIN3 ve GEMIN4 proteinleri, argonat proteinleri ile birlikte RISC kompleksinin oluşumunu kolaylaştırmak için kılavuz diziye seçici olarak bağlanır. Bu komplekse dahil olan yapı kılavuz iplik olarak isimlendirilmekte ve kılavuz olmayan ve yolcu iplik olarak adlandırılan iplik RISC kompleksi tarafından sindirilmektedir. Şekil 3'de gösterildiği gibi işlenmiş miRNA'lar, aktif RISC kompleksine katıldıktan sonra, ya protein translasyonunun engellenmesine ya da argonat proteinleri aracılığıyla mRNA'nın yıkımına neden olduğu belirlenmiştir (70).



Şekil 3. miRNA oluşumu ve fonksiyonu (71)

2.3.3. miRNA'nın Fonksiyonu

Olgun (matür) miRNA'lar hedef genlerin ifadesini azaltıp, protein sentezinin düzenlenmesini sağlamaktadır. miRNA'lar kendi nükleotid dizilerine tamamlayıcı (komplementer) olan hedef genleri tanıma özelliğine sahiptir ve RISC ile kompleks oluşturduktan sonra baz çiftleşme özelliği ile mRNA'ya bağlanarak, protein translasyonunun inhibisyonuna ve/veya mRNA'nın yıkımına neden olmaktadır (71). miRNA, hedef mRNA'nın 3' ucundaki translasyona uğramayan bölgeye (untranslated region-UTR) veya hedef mRNA'nın açık okuma çerçevesine (ORF-open reading frame) bağlanır. Bağlanma pozisyonu miRNA kompleksinin mRNA'ya nasıl tamamlayıcı olduğuna bağlıdır. 3'-UTR bölgesine bağlanma, kusurlu, tam olmayan, eksik tamamlayıcılık olarak olur ve translasyonun baskılanması ile sonuçlanmaktadır. ORF bölgesi içine bağlanma ise kusursuz, tam tamamlayıcılık gösterir ve Argonat2 (Ago2) tarafından mRNA'nın yıkımı ile sonuçlanmaktadır (72).

miRNA'ların birden çok mRNA'nın ifadesini düzenlediği ve mRNA'ların da birden çok miRNA tarafından hedeflenebildiği bilinmektedir (73).

2.3.4. Gebelikte ve Preeklampside miRNA'lar

Plasental miRNA'ların plasental farklılaşmaya ve hamileliğin korunmasına dahil olduğu düşünülmektedir (74). Plasental miRNA'lar insan plasental sinsityotrofoblastlardan ekzozomlar yoluyla maternal dolaşım içine aktarılır ve dolaşımdaki trofoblast kaynaklı miRNA'lar gebeliğin fizyolojik durumunu yansıtır ve bu nedenle tanısal olarak kullanılabileceği öngörülmektedir (75).

İnsan plasentalı, miRNA ifadesi bakımından zengin bir organdır ve preeklampitik plasentalarda çok sayıda farklı şekilde ifade edilen miRNA'lar bulunmuştur (76). Bu farklı miRNA'ların bazılarının trofoblast hücre invazyonunun (77,78), plasental immün aktivasyonunun ve trombosit agregasyonunun düzenlenmesinde rol aldığı gösterilmiştir (79).

Preeklampitik plasentada miRNA profillerinin tanımlanmasında çelişkili sonuçlar bulunmuştur. Bu tutarsızlıklar, örnek boyutları veya deneysel ortamlardaki ve

platformlardaki farklılıklar nedeniyle olabilmektedir. Bununla birlikte, örneğin alındığı yerdeki plasenta daha fazla etkiye sahip olabilir. İnsan plasentasının homojen bir doku olmadığı ve plasentanın farklı bölümlerinin çeşitli hücre tiplerinden oluştuğu bilinmektedir (80,81).

Preeklampsi, plasental ve fetal gelişimde vasküler homeostazın bozulmasından kaynaklandığından, epigenetik faktörler ve miRNA'ların katıldığı önemli düzenleyici olayların dengesizliği preeklampsi patogenezinde rolü olduğunu düşündürmektedir. Bununla ilgili yapılmış çalışmalarda, plasental dokularda hem konvansiyonel hem de mikrodizin yaklaşımları ile miRNA'ların ifade düzeyleri değerlendirilmiş ve preeklampside etkilenen kadınlarda plasental transkriptomunda farklı olarak ifade edilen genler tanımlanmıştır (80,81). Bu hücre tiplerinde, ifade profilleri ve miRNA'ların fonksiyonları önemli ölçüde değişebilmektedir. Sonuçta, bu konulara ilişkin ayrıntılı araştırmalar ile, fizyolojik ve patolojik gebelikler sırasında küçük kodlamayan RNA'ların rollerini açıklanması büyük bir değer taşımaktadır.

2.3.5. Preeklampsi ve İmmünoloji İlişkisi ve miRNA'lar

İmmün sistem, preeklampsi patogenezinin oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Preeklampside, plasentadan sinsityotrofoblast membran mikropartiküllerinin (STBMs) kana artan miktarda salınımı endotelial disfonksiyonu ve monositler, nötrofiller, natural öldürücü hücreler (NK) ve dentritik hücreler başta olmak üzere maternal lökositlerin aktivasyonunu başlatmaktadır. Monositler, proinflamatuvar sitokinlerin salınımı ve inflamatuvar sürecin devamında rol oynarken nötrofiller preeklampside görülen vasküler hasar ile ilişkilendirilmektedir. Diğer taraftan dentritik hücrelerin subtiplerinin değişimi preeklampsi patogenezinde katkıda bulunmaktadır. Lenfoid BDCA-2+ dentritik hücrelerin düşük seviyede olması, Th1-tip immün cevabın oluşumuna yol açmakta ve bu toll-like reseptör (TLR3) ile TLR9 ligandları tarafından düzenlenmektedir. Preeklampside, toll-like reseptörlerin inflamatuvar sürecin devam ettirilmesinde kilit rol oynayabileceği düşünülmektedir. Bunun yanında CD19+ CD5+ B hücreler, anjiotensin reseptör otoantikorları (AT1-AAs) üreterek preeklampsi patogenezinde ve preeklampsinin otoimmün karakteristikleri olan bir sendrom olmasına önemli katkıda bulunduğu belirtilmiştir (82).

miRNA'lar, preeklampsi patogenezinde rol oynamanın yanında hastalık için olası biyobelirteçler olarak değerlendirilmektedir. miR-182'in, T hücre klonal ekspansiyonu, hücre döngüsü ve apoptoz ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (83,84). Ağır preeklamptik plasentada bulunan miR-182, hem vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) yoluyla anjiyogenezisi düzenlediği hem de B cell lenfoma benzeri-2 geninin transkript varyantları olan 1 ve 2'nin düzenleyicisi olarak görev yaptığı saptanmıştır (85). Diğer yandan, miR-210, trofoblast hücrelerin migrasyonu ve invazyonunu inhibe ettiği ve hipoksida ise arttığı belirlenmiştir (86,87). Preeklampside ifade düzeyi arttığı tespit edilen miR-155 ise, anjiyogenetik-regülatuvar faktör CYR61'i inhibe ederek preeklampsik sürece katkıda bulunmaktadır (88).

2.4. ADAY miRNA'LARIN SEÇİMİ

Bu çalışma kapsamında araştırılmak üzere seçilen 3 aday miRNA ile ilgili genel bilgiler ve preeklampsi ile muhtemel ilişkileri aşağıda verilmektedir.

2.4.1. miR-155:

miR-155, endotele bağımlı vazorelaksasyonun temel bir regülatörü olarak belirlenmiştir (89). Li ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (90) kontrollerle karşılaştırdığında, ağır preeklampsi plasentalarında miR-155 ifade düzeylerinde ve eNOS ifadesinde önemli bir artış olduğu gösterilmiştir. Bir "transwell insert" invazyon analizi, miR-155'in trofoblast hücrelerinde hücre invazyonunu inhibe ettiğini ve etkinin eNOS'un aşırı ifadesi ile düzeltildiği göstermiştir. Lu Gan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (91) ise miR-155'in eNOS modülasyonu yoluyla göç davranışında negatif düzenleyici bir role sahip olduğu ortaya koyulmuştur.

2.4.2. miR-21:

miR-21'in artan regülasyonu, SOLID sekanslama kullanılarak hafif preeklampsili gebelerin plazması üzerinde yapılan bir Çin çalışması ile uyumlu bulunmuştur (92) ve ayrıca bir Slovak çalışması ile preeklampsili gebelerde plasental miR-21'in aşırı ifade edildiği gösterilmiştir (93). miR-21, apoptoz ile ilişkilendirilmiş bir miRNA'dır ve invazyon, intravasasyon ve metastazda rol aldığı kolorektal kanser de dahil olmak üzere çeşitli kanser tiplerinde en fazla araştırılan miRNA'lardan biridir ve anormal ifadesinin kolorektal kanserde kötü prognozu öngördürebileceği belirlenmiştir (94).

2.4.3. miR-518:

miR-518'inde yer aldığı C19MC mikroRNA'ları, testiste, embriyonik kök hücrelerde ve spesifik tümörlerde saptanmış olmasına rağmen, ağırlıklı olarak hamilelik sırasında plasental trofoblastlarda ifade edildiği gösterilmiştir (95-97). C19MC kümesindeki miRNA'ların ifade seviyesi, plasental trofoblastlarda (98) ve maternal plazmada birinci ile üçüncü trimesterde belirgin şekilde arttığı tespit edilmiştir (99).

Ilona ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (100), gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsii gibi gebeliğe bağlı komplikasyonlardan etkilenen hastalarda dolaşımdaki C19MC mikroRNA'larının değişken düzeylerinin, trofoblastlardaki hipoksiden ve plasentaki epitel hasardan etkilenebileceğini gösterilmiştir. Bu çalışmada, normal plasental gelişim sırasında trofoblast proliferasyonu ve apoptoz arasındaki dengede miRNA'ların rolünün çok önemli olduğunu ortaya konmuştur (100).

Hücre fonksiyonu ve bütünlüğünü sağlayan miRNA'lar, apoptoz, organogenez ve gelişmekte olan hücreler arasındaki iletişim gibi birçok göreve sahiptir. Bu nedenle, birçok geni düzenleyen miRNA'ların, hücre fonksiyonların regülasyonu için ne kadar gerekli olduğu sonucu kabul edilebilir. Gerek hücre içi gerek hücreden salınan miRNA'larda meydana gelen değişikliklerin birçok hastalığa yol açtığı görülmektedir. Bu nedenle günümüzde miRNA'ların hastalıkların tanısında ve takibinde yeni bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği düşünülmektedir (101,102). Bu tez çalışmasında,

seçilen aday miRNA’ların preeklampsi ile ilişkisi ve biyobelirteç nitelikleri araştırılmıştır.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Hasta Grubu

Hasta grubu, İstanbul Medeniyet Üniversitesi Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniği'ne başvuran, preeklampsi sendromunun gelişimi için klinikte kullanılan öngörü testleri olarak laboratuvar tetkikleri ve fiziki incelemeler yapılarak preeklampsi tanısı konmuş, 83 gebeden oluşturuldu. Preeklampsi tanısı, Amerikan Kadın Hastalıkları ve Doğum Cemiyeti'nin (ACOG) 2013'de yayınladığı Gebelikte Hipertansiyon Klavuzu'na göre konuldu. Kriterlere uygun olarak seçilen 83 preeklampsi gebe klinik değerlendirmeye göre aşağıdaki şekilde 4 alt gruba ayrıldı:

Erken başlangıçlı (<34. gebelik haftası) ve hafif preeklampsi n=24,

Erken başlangıçlı (<34. gebelik haftası) ve ağır preeklampsi n=16,

Geç başlangıçlı (>34. gebelik haftası) ve hafif preeklampsi n=24 ve

Geç başlangıçlı (>34. gebelik haftası) ve ağır preeklampsi n=19 olarak hasta grupları belirlendi.

Çalışmamıza gebeleri dahil etme kriterleri:

1. 18-45 yaş aralığında olması

2. Preeklampsi grubu için dahil olma kriterleri:

a. >20. Gebelik haftasında sistolik kan basıncı ≥ 140 ve/veya diyastolik kan basıncı ≥ 90 mmHg olması

b. İdrarda ≥ 0.3 gram/24 saat protein veya kanda protein/kreatinin oranı ≥ 0.3 mg/mg (30 mg/mmol) olması

c. Proteinüri yokluğunda hipertansiyon ile birlikte olması

3. Şiddetli preeklampsi grubunda dahil olma kriterleri, preeklampsi tanısı alan hastada $<100,000/\text{mikroL}$ platelet, >1.1 mg/dL serum kreatinin, AST-ALT 2 katı ve

üstü artış, pulmoner ödem, serebral veya visuel semptomların varlığından (baş ağrısı, görmede bulanıklık, ışık çakması, skotom) en az birisinin olması

4. <34. gebelik haftasında başlayan preeklampsi, erken başlangıçlı preeklampsi grubuna dahil edilmiştir.

5. >34. gebelik haftasında başlayan preeklampsili vakalar, geç preeklamsi grubuna dahil edildi.

Çalışmamıza gebeleri dahil etmeme kriterleri aşağıdaki şekilde belirlenerek uygulandı.

1. Kronik hipertansiyon
2. Superempoze preeklampsi
3. Multiple (çoğul) gebelik
4. İntrauterin mort fetalıs
5. Erken membran rüptürü
6. Kardiyavasküler hastalık
7. Fetal anomali varlığı
8. Hepatit
9. Renal hastalık
10. Ek yandaş hastalık varlığı olan gebeler çalışmaya dahil edilmedi.

3.1.2. Kontrol Grubu

Kontrol grubu, hasta grubu ile yaş, sigara içme durumu, BKİ ve gebelik haftası açısından eşleştirilerek sağlıklı, maternal veya fetal hastalık saptanmayan gebe kadınlar arasından rastgele seçildi. Kontrol grubuna 29 sağlıklı gebe dahil edildi. Hasta grubunda, erken dönem preeklampsi gebelerin gebelik haftaları ortalamaları 29 hafta, geç dönemdeki preeklampsi olan gebelerin gebelik haftaları ortalamaları 37 hafta olarak belirlendi ve kontrol grubuna bu haftalardaki sağlıklı gebeler dahil edildi. Kontrol

grubundaki 23 gebeden 29. ve 37. gebelik haftalarında 2 kez, diğer 6 gebenin 3'ünden 29. haftada ve diğer 3'ünden 37. gebelik haftalarında kan örnekleri alındı.

3.1.3. Hasta ve Kontrol Gruplarından Kan Örneklerinin Alınması

Preeklampsi tanısı

Preeklampsi tanısı ACOG'un Gebelikte Hipertansiyon Klavuzuna uygun olarak yukarıda belirtilen kriterlere göre konuldu. Kontrol ve preeklampsi grubu için gebelik haftası hesaplaması son adet tarihi ve erken ultrason ölçümleri birlikte dikkate alınarak yapıldı. Preeklampsi ve kontrol grubu gebelerin detaylı obstetrik anamnezi alındı; fizik muayene yapılarak tam kan sayımı ve biyokimyasal testler için periferik kan örneği ile idrar tetkiki yapıldı. Obstetrik ultrason yapıldı. Buna göre fetal kalp atımı varlığı, fetal biyometri ve amniyotik mayii volümü değerlendirildi. En az 15 dk istirahatte 4 saat arayla ortalama kan basıncı ölçümü yapıldı. Preeklampsi ile ilişkili prodromal semptomlar sorgulandı. Spot idrar analizinde protein/kreatinin değeri ve/veya 24 saat idrarda protein analizi istendi. Kısa sürede doğum planlanan hastalar için spot idrar testi tercih edildi. Hastalardan alınan periferik kan örneğinde biyokimyasal testlerden AST, ALT, LDH, total protein, albumin, kreatinin değerleri çalışıldı.

Genetik araştırma için, preeklampsi tanısı alan hasta ve sağlıklı gebelerden, 10 ml periferik kan örneği EDTA'lı tüplere alındı maksimum 4 saat içerisinde uygun şartlarda laboratuvara getirildi. Kan örneklerinden lökositler ayrıştırılarak RNA izolasyonları yapıldı. Sabah saat 08:00 ve 12:00 arasında alınan kanlar EDTA'lı tüplere, günün diğer saatlerinde ise stabilizatör sıvı içeren Quick DNA/RNA kan tüplerine alındı. Ardından yapılan RNA izolasyonu protokolleri ileride açıklanmaktadır.

Kontrol grubu ve preeklampsi grubundaki gebelerden kan alınmadan önce içersinde çalışmanın amacının yer aldığı "Bilgilendirilmiş Gönüllü Onam Formu" okutularak imzaları alındı.

3.1.4. Kullanılan Kimyasallar

Kullanılan kimyasallar aşağıdaki Tablo 4’te verilmektedir.

Tablo 4: Kullanılan kimyasallar

Kimyasal Adı	Markası
Amonyum Klorür (NH ₄ Cl)	Merck
Potasyum bikarbonat (KHCO ₃)	Merck
PBS (phosphate buffered saline)	Biomatik
DEPC (Dietil Pirokarbonat)	Sigma
Trizol	Qiagen
Kloroform	Merck
İsopropanol	Sigma
Etanol	Sigma
RNaz Zap	PanReac AppliChem

3.1.5. Kullanılan Cihazlar

Kullanılan cihazlar aşağıdaki Tablo 5’te verilmektedir.

Tablo 5: Kullanılan Cihazlar

Cihaz	Markası
Çeker ocak	Kermanlar
Nanodrop	Thermo
Mikropipetler	Eppendorf
Hassas Terazi	Shimadzu
Masaüstü mini santrifüj	Eppendorf
Vorteks	Kermanlar
-80°C	Thermo
Distile su cihazı	Milipore
Soğutmalı santrifüj	Heraus
Buzdolapları ve dondurucular (+4°C ve -20 C)	Bosch,Uğur
PZR cihazı	Techne
LightCycler 480	Roche

3.1.6. Kullanılan Tampon ve Çözeltiler

Gey’s (155mM NH₄Cl, 10mM KHCO₃) tamponu:

8,291 gr NH₄Cl ve 1,001 gr KHCO₃ hassas terazi ile tartıldıktan sonra DEPC’li distile su ile 1000 ml’ye tamamlandı. Otoklavlandıktan sonra oda ısısında saklandı.

1X PBS:

100 ml otoklavlanmış su içerisine 1 adet tablet PBS atarak çözündürüldü.

TE (10mM Tris, 1mM EDTA) tamponu:

1 ml 1M'lık Tris-HCl ve 2 ml 0,5 M'lık EDTA karıştırıldı, DEPC'li distile su eklenerek pH=8 olarak 100 ml'ye tamamlandı. Otoklavlanarak oda sıcaklığında saklandı.

cDNA sentez kiti:

cDNA sentezinde, miScript II RT Kiti (Qiagen, Kat No:218193) kullanılmıştır. Kit içerisindeki solüsyonlar aşağıdaki gibidir:

5x Hiflex Solüsyonu

10x Nucleik Miks

Ters Transcriptaz Miksi

RT-PCR Kit:

miRNA ifade düzeylerinin belirlenmesinde miScript SYBR Green PCR Kiti (Qiagen, Kat No: 218073) kullanıldı. Kit içerisindeki solüsyonlar aşağıdaki gibidir:

2x QuantiTect SYBR Green PCR Master Miks

10x Universal Primer

Quick kan tüpünden RNA izolasyon kiti:

RNA izolasyonu için Quick DNA/RNA Blood Tube Kiti (Zymo Research, Kat No: R1151) kullanıldı. Kit içerisindeki solüsyonlar aşağıdaki gibidir:

Proteinaz K:

6,5 ml Proteinaz K buffer 20 mg/ml'ye sulandırılıp vortekslendi. -20°C de muhafaza edildi.

DNA/RNA hazırlık tamponu:

Kitte hazır olarak mevcuttu.

DNA/RNA yıkama tamponu

24 ml DNA/RNA yıkama tamponu üzerine 96 ml %100 etanol eklenerek solüsyon konsantrasyon sağlandı.

DNaz I:

1U/ μ l DNazI içerisine 275 μ l DNaz/RNazsız su eklenerek karıştırıldı. -20°C de saklandı.

DNA sindirim tamponu:

Kitte hazır olarak mevcuttu.

3.1.7. Kullanılan Primer Setleri:**Hs_miR-155_2:**

QIAGEN miScript Primer Assay, Katalog no: MS00031486

500 μ l, pH=8 olan TE tamponunda çözölerek, 100 μ l lik parçalar halinde -20°C’de muhafaza edildi.

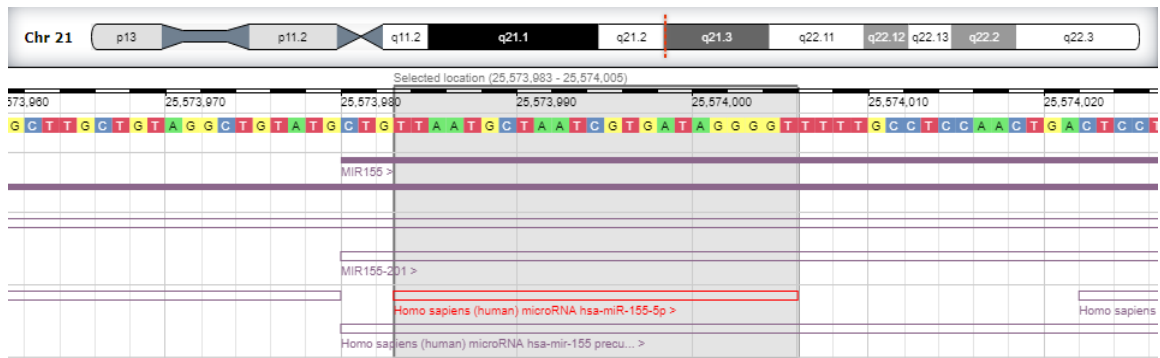
hsa-miR-155-5p, 21q21.3 bölgesine lokalizedir (Şekil 4 ve 5). Bu şekiller, <http://rnacentral.org/rna/URS0000338542/9606> internet sayfasında RNA Central veri bankasındaki analizler sonucunda elde edildi.

pre-miRNA ve olgun miRNA dizileri aşağıdaki gibidir.

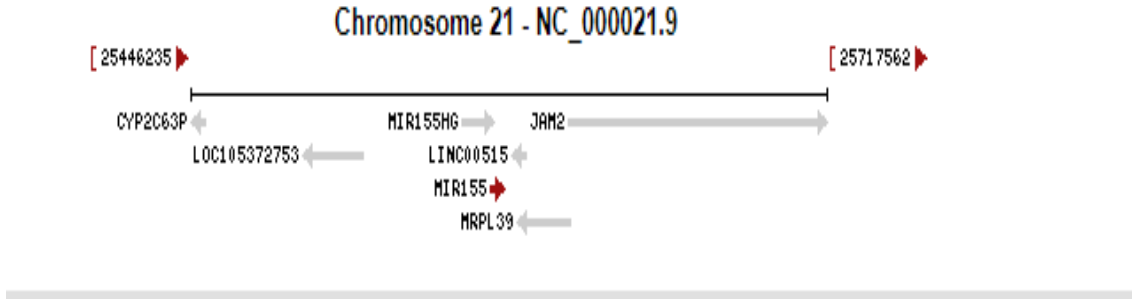
miRNA dizi (pre-miR):

CUGUAAUGCUAAUCGUGAUAGGGGUUUUUGCCUCCAACUGACUCCUAU
UAGCAUUAACAG

olgun miRNA dizi: 5’-UAAUGCUAAUCGUGAUAGGGGU-3’



Şekil 4: miR-155-5p’in 21. Kromozom üzerindeki lokalizasyonu



Şekil 5: 21. Kromozoma lokalize miR-155 geni

Hs_miR-21*_1:

QIAGEN miScript Primer Assay Katalog no: MS00009086

500 µl, pH=8 olan TE tamponunda çözülerek, 100 µl'lik parçalar halinde - 20°C'de muhafaza edildi.

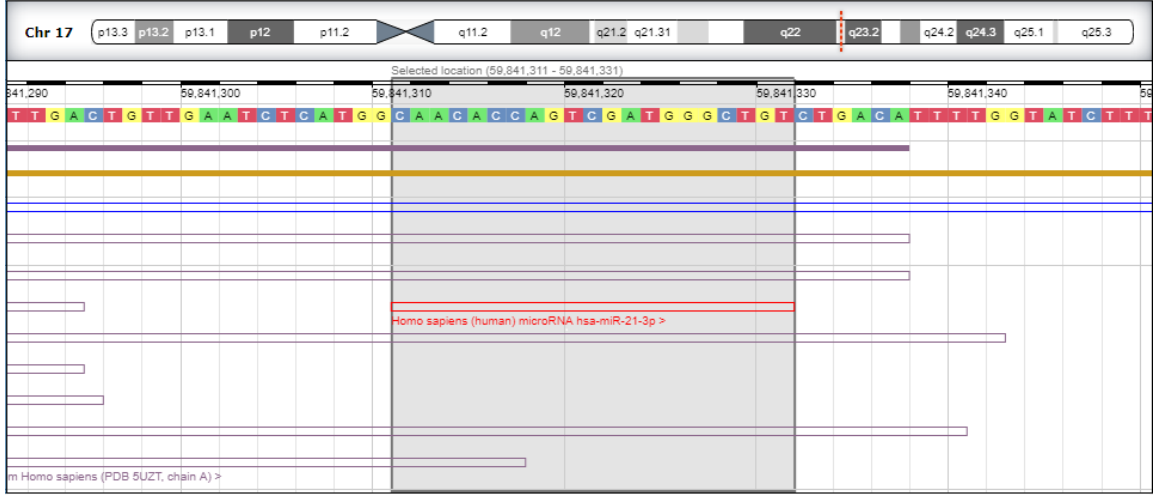
hsa-miR-21-3p, 17q23.1 bölgesine lokalizedir (Şekil 6 ve 7). Bu şekiller, <http://rnacentral.org/rna/URS000009262D/9606> internet sayfasında RNA Central veri bankasındaki analizler sonucunda elde edildi.

pre-miRNA ve olgun miRNA dizileri aşağıdaki gibidir.

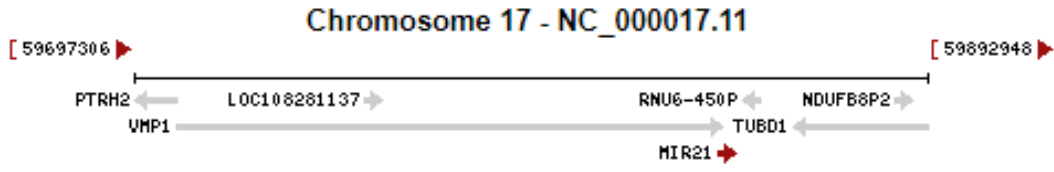
miRNA dizi (pre-miR):

UGUCGGGUAGCUUAUCAGACUGAUGUUGACUGUUGAAUCUCAUGGCAAC
ACCAGUCGAUGGGCUGUCUGACA

olgun miRNA dizi: 5'-CAACACCAGUCGAUGGGCUGU-3'



Şekil 6: miR-21in 17. Kromozom üzerindeki lokalizasyonu



Şekil 7: 17. Kromozoma lokalize miR-21-3p geni

Hs_miR-518b_1:

QIAGEN miScript Primer Assay Katalog no: MS00004466

500 µl, pH=8 olan TE tamponunda çözülerek, 100 µl lik parçalar halinde -20°C’de muhafaza edildi.

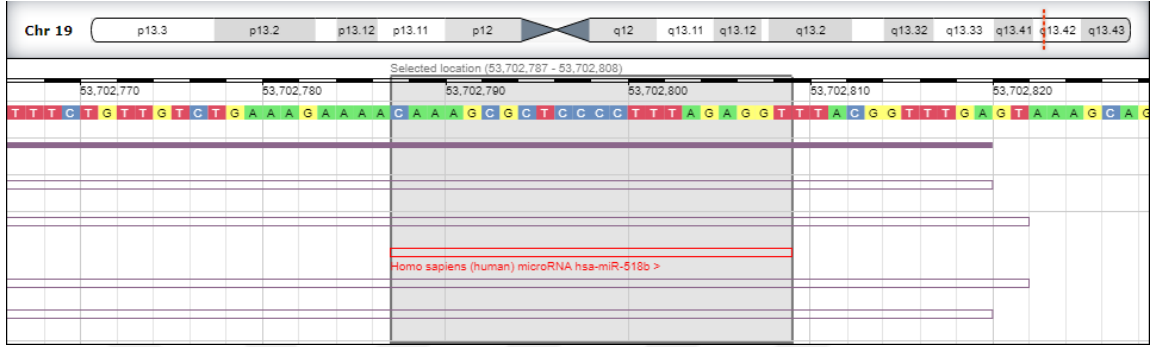
hsa-miR-518b, 19q13.42 bölgesine lokalizedir (Şekil 8 ve 9). Bu şekiller, <http://rnacentral.org/rna/URS00003676C9/9606> internet sayfasında RNA Central veri bankasındaki analizler sonucunda elde edildi.

pre-miRNA ve olgun miRNA dizileri aşağıdaki gibidir.

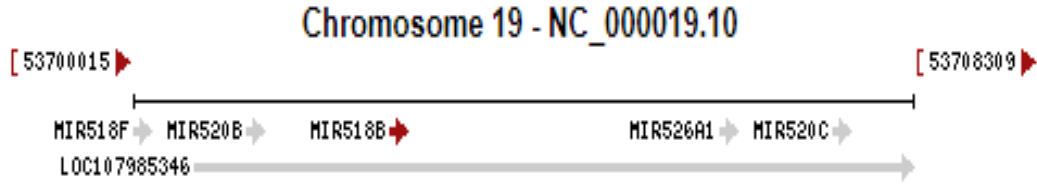
miRNA dizi (pre-miR):

UCAUGCUGUGGCCCUCCAGAGGGAAGCGCUUUCUGUUGUCUGAAAGAAA
ACAAAGCGCUCCCCUUUAGAGGUUUACGGUUUGA

olgun miRNA dizi: 5'-CAAAGCGCUCCCCUUUAGAGGU-3'



Şekil 8: miR-518b in 19. Kromozom üzerindeki lokalizasyonu



Şekil 9: 19. Kromozom ve miR-518b

Hs_RNU6-2_11:

İfade düzeylerinin belirlenmesinde beyaz kan hücrelerinde (lökositlerde) sıklıkla kullanılmakta olan bu miRNA, bu çalışmada da endojen kontrol olarak analizlere dahil edildi.

QIAGEN miScript Primer Assay Katalog no: MS00033740

İçerisine pH=8 olan 500 µl TE buffer eklenerek, 100 µl lik parçalar hazırlanıp -20°C de muhafaza edildi.

3.2. Yöntem

3.2.1. Periferik Kandan Lökosit Ayrıştırma:

10 ml EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri en geç 4 saat içerisinde soğuk zincir ile laboratuvara getirilerek, aşağıdaki işlemler uygulandı.

- 1- EDTA'lı tüp içerisindeki kan 50 ml'lik santrifüj tüpüne aktarıldı.
- 2- Gelen kanın iki katı kadar eritrosit parçalayıcı çözelti Gey's tamponu eklendi.
- 3- 20 dakika +4°C de bekletildi.
- 4- 10 dakika 1500 rpm'de oda sıcaklığında santrifüj yapıldı.
- 5- Santrifüj sonunda süpernatant döküldü ve dipte kalan pellet dağıtıldı.
- 6- Üzerine 10 ml Gey's tamponu eklenerek, 10 dakika 1500 rpm'de oda sıcaklığında tekrar santrifüj yapıldı.
- 7- Santrifüj sonunda süpernatant döküldü ve dipte kalan pellet dağıtıldı.
- 8- Üzerine 1 ml PBS eklenerek, 5 dakika 1500 rpm'de oda sıcaklığında santrifüj yapıldı.
- 9- Santrifüj sonunda süpernatant dökülerek santrifüj tüpü, buz üzerine yerleştirildi.
- 10- Santrifüj tüpü içerisine 800 µl trizol eklenerek hücre pelleti buz üzerinde pipetaj yaparak homojenize edildi.
- 11- Homojenize edilen örnekler 1500 µl'lik mikrosantrifüj tüpüne aktararak -80°C derin dondurucuya kaldırıldı.

3.2.2. Trizoldeki Lökosit Homojenatından Total RNA İzolasyonu:

- 1- -80°C derin dondurucudan alınan trizollü örnek buz üzerinde çözülene kadar beklendi.

- 2- Üzerine +4°C 160 µl kloroform eklenerek 15 saniye vorteks yapıldı.
- 3- Oda ısısında 2 dakika beklendi.
- 4- 1200 rpm'de +4°C'de 20 dakika santrifüj edildi.
- 5- Dikkatli bir şekilde buz üzerine alındı.
- 6- Üzerindeki aköz faz alttaki pellete değmeyecek şekilde alındı (500 µl).
- 7- Üzerine 500 µl %100'lük soğuk izopropanol eklendi.
- 8- Gece boyunca -20°C'de bekletildi.
- 9- Ertesi gün -20°C den alınan örnek 1200 rpm'de 10 dakika +4°C'de santrifüj edildi.
- 10- Alttaki pellete dokunmadan üst sıvı pipet ile çekildi.
- 11- Pellet üzerine 1 ml %75'lik soğuk etanol eklenerek yavaşça karıştırıldı.
- 12- 9000 rpm'de +4°C'de 5 dakika santrifüj edildi.
- 13- Üst sıvı pipet ile çekilerek ters olarak temiz kağıt üzerinde pelletin kuruması beklendi.
- 14- Üzerine 40 µl RNaz- DNazsız su eklenip çözündürüldü.
- 15- Çözünen örnek buz üzerinde 1 saat bekletildikten sonra nanodrop cihazında konsantrasyonu ölçüldü.
- 16- Ölçülen örnekler, -80°C derin dondurucuda kullanılıncaya kadar saklandı.

3.2.3. Quick-DNA/RNA Tüpüne Alınan Kandan RNA İzolasyonu:

Araştırmaya katılan 34 preeklampsili gebe ile 3 sağlıklı gebeden alınan kanlardan Quick-DNA/RNA kiti (Zymo Research) ile aşağıdaki protokole göre RNA izolasyonu yapıldı.

- 1- Vakalardan Quick-DNA/RNA tüpü içerisine 1,5 ml kan alındı ve tüp 10 kez alt üst edilerek yavaşça çalkalandı.

2- Tüp içerisindeki kan 50 ml'lik santrifüj tüpüne aktarıldı ve içerisine 120 µl Proteinaz K eklendi.

3- 3 kez 15 saniye boyunca vortekslendi ve oda sıcaklığında 30 dakika beklendi.

4- 9 ml soğuk izopropanol eklendi ve 3 kez 5 saniye boyunca vortekslendi.

5- Vakum makinesine basınç motoru bağlandı ve üzerine filtreli tüp yerleştirildi. Üzerine 25 ml'lik rezervuar tüp takıldı ve kan örneği içerisine aktarıldı. Basınç motoru çalıştırıldı.

6- Rezervuar içerisindeki bütün kan filtreden geçtikten sonra filtreli tüp, kapaksız kit tüpüne alındı.

7- Üzerine 400 µl DNA/RNA prep tamponu eklendi, 14000 rpm'de oda sıcaklığında 1 dakika santrifüj edildi. Tüpteki sıvı atıldı.

8- 400 µl DNA/RNA yıkama tamponu eklendi ve 1400 rpm'de oda sıcaklığında 1 dakika santrifüj edildi. Tüpteki sıvı atıldı.

9- Ayrı bir mikrosantrifüj tüpünde her bir örnek için 5 µl DNaz I + 75 µl DNA sindirim tamponu eklenerek karışım hazırlandı. Hazırlanan 80 µl'lik karışım filtreli tüp üzerine aktarıldı. Oda sıcaklığında 15 dakika beklendi.

10- Filtreli tüp üzerine 400 µl DNA/RNA prep tamponu eklendi, 1400 rpm'de oda sıcaklığında 1 dakika boyunca santrifüj edildi. Alttaki sıvı döküldü.

11- 700 µl DNA/RNA yıkama tamponu eklendi, 1400 rpm'de oda sıcaklığında 1 dakika santrifüj yapıldı. Alttaki sıvı döküldü.

12- 400 µl DNA/RNA yıkama tamponu eklendi, 1400 rpm'de oda sıcaklığında 2 dakika santrifüj yapıldı. Alttaki sıvı döküldü.

13- Filtreli tüp temiz 1500 µl'lik mikrosantrifüj tüpü üzerine alındı ve filtre içerisine 50 µl DNaz/RNazsız su eklendi. Oda sıcaklığında 2 dakika beklendi.

14- 1400 rpm'de 1 dakika santrifüj yapıldı. Filtre atıldı. Tüp buz üzerine alındı. Nanodrop ile konsantrasyonu ölçülerek -80°C derin dondurucuya kaldırıldı.

3.2.4. RNA Saflığı ile RNA Miktarının Ölçümü ve RNA Konsantrasyonunun Ayarlanması:

İzole edilen RNA'nın konsantrasyon ölçümünde, protein ve kimyasal kontaminasyonu olup olmadığının belirlenmesinde nanodrop cihazı kullanılmıştır. RNA örneklerinin konsantrasyonları, 260/280 ve 260/230 nanometre dalga boyundaki değerlerinin oranları kontrol edildi. 260/280 oranı, RNA'daki protein kirliliğini, 260/230 oranı RNA'daki kimyasal kirliliği göstermektedir.

Ölçülen miktar 1 µl'deki RNA miktarını göstermektedir. Elimizdeki RNA örnekleri ile [200ng/ µl] konsantrasyonlu 20 µl'lik RNA sulandırmaları yapıldı.

$$20 \mu\text{l} \times 200 \text{ ng} = 4000 \text{ ng } \mu\text{l}$$

$$1 \mu\text{l 'de} \quad A \text{ ng} \quad \text{RNA var}$$

$$\frac{X}{4000 \text{ ng}} \quad \text{Sulandırma için x kadar RNA koymak gereklidir.}$$

$x = 4000/A \mu\text{l}$ sonucu bize 20 µl içerisine konulması gereken RNA miktarını göstermektedir.

$20 \mu\text{l} - A \mu\text{l} = \text{RNAz Su } \mu\text{l}$ eklenmesi gereken su miktarını hesaplamış oluyoruz. Bu şekilde ara dilüsyon hazırlanarak cDNA için gerekli konsantrasyon belirlendi.

3.2.5. miRNA için cDNA Sentezi:

1- 20 µl'lik 200 ng/µl'ye ayarlanmış RNA örneği -80°C'den çıkarılıp erimeye bırakıldı. Çözünen örnek 30 saniye santrifüj yapıldı ve soğuk blok üzerine yerleştirildi.

2- RNA'dan cDNA sentezlemek için "miScript II RT Kit" kullanıldı.

3- 10x miScript Nucleik Miksi, 5x miScript Hiflex Solüsyonu ve miScript Ters Transkriptaz Miksi +4°C den çıkarılıp oda sıcaklığına alındı. Eridikten sonra tüpler nazikçe karıştırılarak santrifüj yapıldı. Buz üzerine alındı.

$$10x \text{ miScript Nucleik Miks} \quad 4 \mu\text{l}$$

$$5x \text{ miScript Hiflex Solüsyonu} \quad 2 \mu\text{l}$$

miScript Ters Transkriptaz Miks	2 µl
<u>RNase su</u>	<u>2 µl</u>

Toplam: 10 µl

4- Hazırlanan 10 µl'lik karışımın içersine, hazırlanan 20 µl'lik RNA dilüsyonunun içersinden 10 µl alınıp ilave edildi. 30 saniye santrifüj yapıldı.

10 µl Ters Transkriptaz master Miks + 10 µl RNA dilüsyonu = 20 µl

5- miRNA PreAmp Programı aşağıdaki gibi Techne cihazında ayarlandı:

60 dakika 37°C

5 dakika 95°C

cDNA sentezi için ayarlanmış olan programda 10 µl'lik Ters Transkriptaz master Miks ve RNA dilüsyonundan oluşan karışım ayarlanan programda çalıştırıldı.

6- Reaksiyon sonunda elde edilen cDNA bir sonraki işleme kadar -20°C'ye kaldırıldı.

3.2.6. miRNA ifade düzeylerinin belirlenmesi:

1-Bir önceki aşamada elde edilen cDNA'lar -20°C'den alınarak [10x] ve [20x]'lik dilüsyonlar hazırlanması için soğuk blok üzerine alındı.

2- 1000ng/10 µl cDNA içersine + 90 µl RNase'iz su eklenerek 100 ng/µl, [10x] olan ara stok cDNA hazırlandı ve kısa santrifüj yapıldı. Daha sonra bunun içersinden 5 µl ayrı bir mikrosantrifüj tüpü içersine alındı ve üzerine 95 µl RNase'iz su eklenerek 5 ng/µl, [20x] olan stok cDNA elde edildi. RT-PZR için kullanmak üzere bu cDNA'yı kısa santrifüj yapıldı.

3- Her örnek için 3 farklı primer (Hs_miR-518b b_1, Hs_miR-155-5p_2, Hs_miR-21-3p*_1) ve 1 kontrol primer (Hs_RNU6-2_11) karışımı hazırlandı. Her örnek çift olarak çalışıldı. PZR için "SYBR Green I master miks" kiti kullanıldı ve reaksiyon içeriği aşağıda belirtildiği gibi hazırlandı:

RT_PZR reaksiyon içeriği

<u>Malzeme</u>	<u>Miktar</u>
2x QuantiTect SYBR Green PCRMaster Mix	10 µl
10x miScript Universal Primer	2 µl
RNaz su	4 µl
Primer Assay	2 µl
cDNA	2 µl

Toplam=20 µl

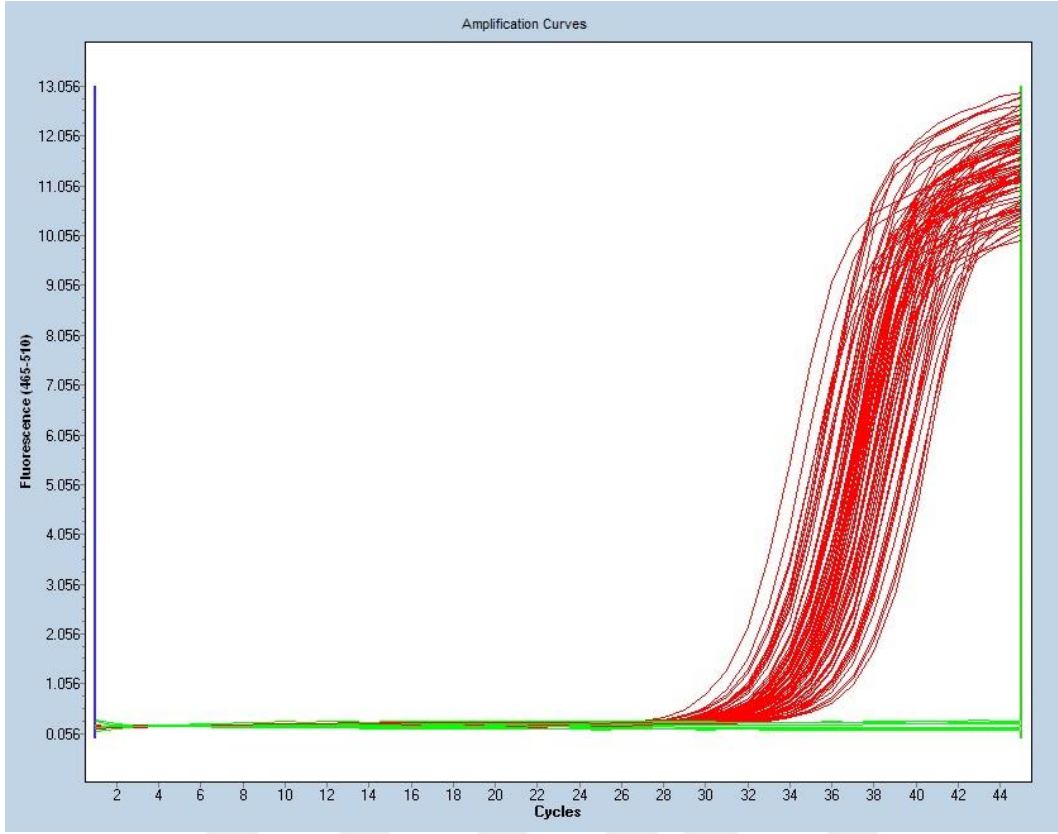
4- Hazırlanan karışımlar 96'lı platelere aktarıldı ve her primer seti için iki tane kuyuya negatif kontrol eklendi. Gerçek-zamanlı (RT) PZR için Light Cycler (LC) 480 sistemi kullanıldı. RT-PZR analizi Tablo 6'da belirtilen koşulda ve rölatif kantitasyon çalışma modülünde gerçekleştirildi.

Tablo 6: RT-PZR reaksiyon koşulları

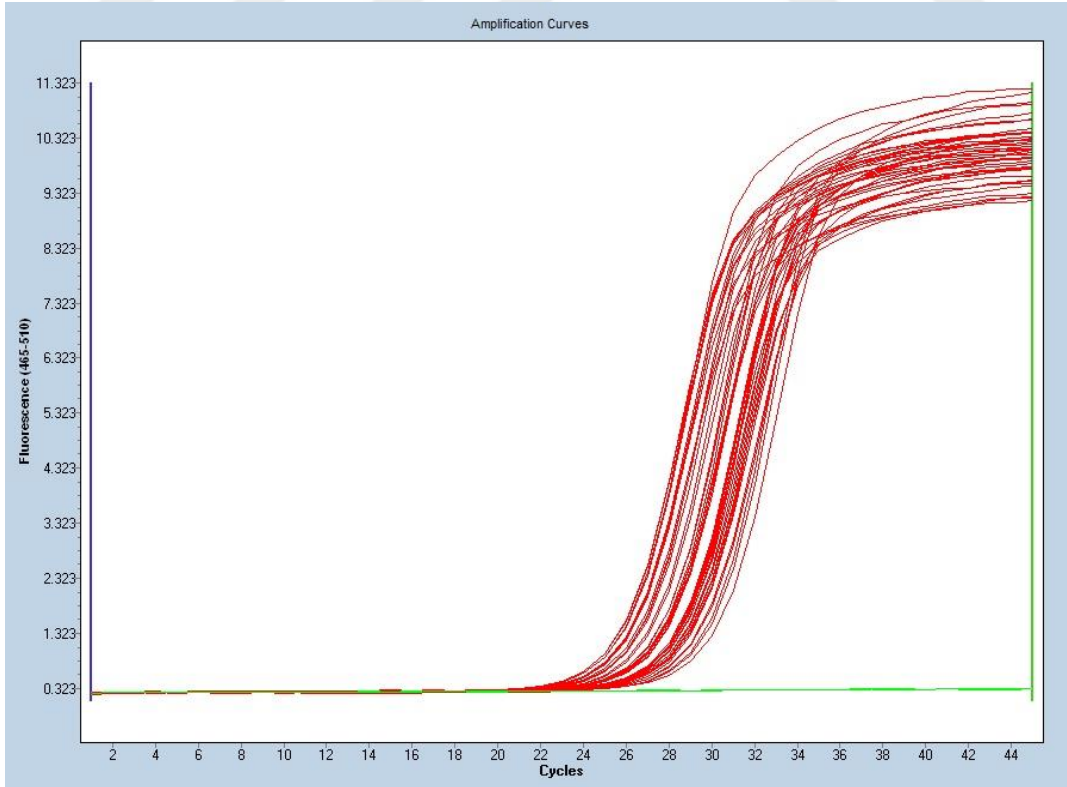
Program 1:	Ön denatürasyon	Döngü sayısı 1
Sıcaklık 95 °C	Süre 15 dakika	Ramp rate 4.40
Program 2:	Amplifikasyon	Döngü sayısı 45
Sıcaklık 94°C	Süre 15 sn	Ramp rate 1.00
55°C	30 sn	1.00
70°C	30 sn	1.00
Program 3:	Erime Eğrisi	Döngü sayısı 1
Sıcaklık 60°C	Süre 15 sn	Ramp rate 2.20
95°C	-	0.03

5- LC480 RT-PCR sisteminin yazılımında “Absolute Quantification w/2nd Derivative Maximum” metodu kullanılarak rölatif kantitasyon hesabı için Ct değerleri elde edildi.

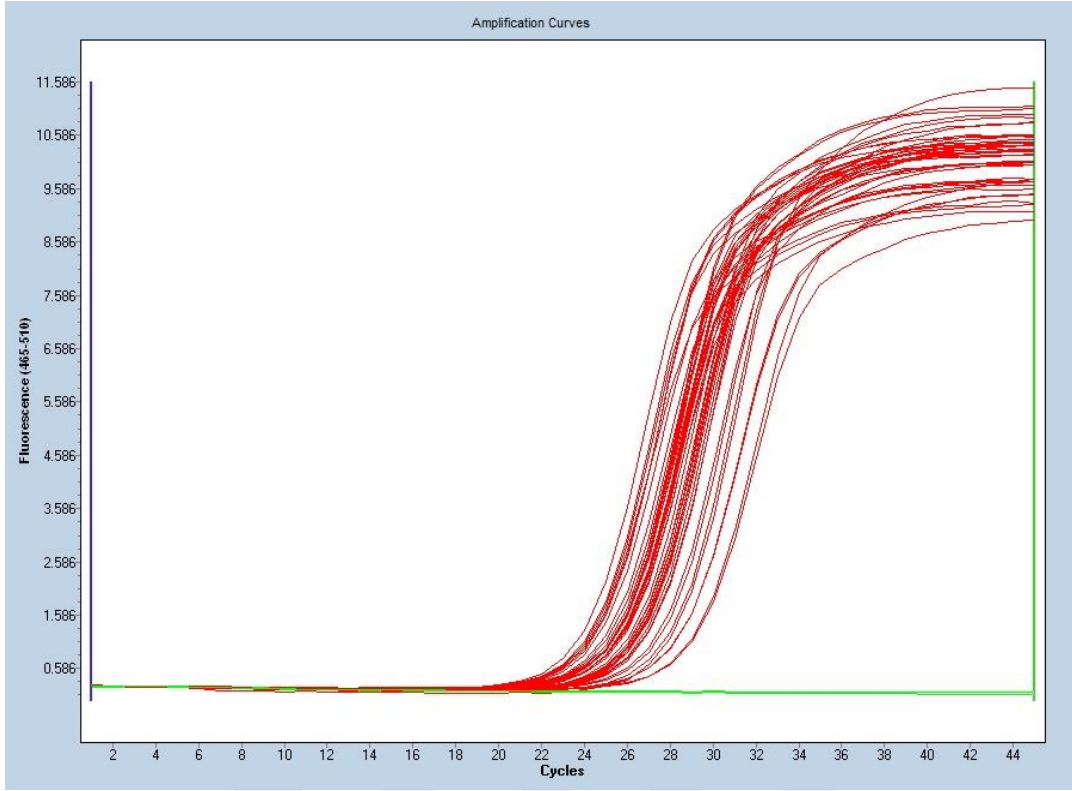
RT-PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen miR-518b, miR-21-3p ve miR-155-5p miRNA'larına ait amplifikasyon eğrilerinden birer örnek Şekil 10-12'de verilmiştir.



Şekil 10: RT-PCR miR-518b amplifikasyon eğrileri



Şekil 11: RT-PCR miR-21-3p amplifikasyon eğrisi



Şekil 12: RT-PCR miR-155-5p amplifikasyon eğrisi

3.2.7. Rölatif Kantitasyon ile miRNA İfade Düzeylerinin Belirlenmesi:

Çift çalışılan örnek kodları ve elde edilen Ct değerleri PZR etkinliği için kontrol edildikten sonra veriler excel dosyasına aktarıldı. Çift çalışılan örnekler arasında 1 Ct'den fazla fark olanlar tekrarlandı. Rölatif kantitasyon hesabı aşağıdaki şekilde yapıldı.

1- Her örnek için elde edilen Ct değerinden endojen kontrol Ct değeri çıkarıldı.

2- Çift çalışılan her örnekten elde edilen iki değer içinde bu işlem yapıldı.

$$\text{Delta Ct} = \text{hedef miRNA Ct} - \text{RNU6 Ct}$$

3- Elde ettiğimiz delta Ct değerinden, kontrol vakaların ortalama delta Ct değeri (kalibratör olarak belirlenerek) çıkartıldı.

$$\text{Delta Delta Ct} = \text{Delta Ct} - \text{Kalibratör Delta Ct}$$

4- Çift çalışılan örneklerden hesaplanan Delta Delta Ct değerinin ortalaması alındı.

5- $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (Ortalama Delta Delta Ct değeri), hesaplanarak rölatif kantitasyon (değişim katsayısı) değerleri tüm örnekler için hesaplandı.

3.2.8. İstatiksel Analiz:

Araştırılan her miRNA geni için ayrı ayrı, hasta ve kontrollerdeki ifade düzeyleri (qRT-PCR’da endojen kontrol geni olarak RNU6 ile kıyaslanarak elde edilen rölatif kantitasyon (değişim katsayısı; “fold change” değerleri) istatistiksel olarak kıyaslandı. miRNA ifade düzeylerinin gruplardaki normalliği, "Shapiro-Wilk" testi kullanılarak incelendi ve %95 güvenle verilerin normal dağılıma uymadığı belirlendi. Bu sebeple ifade düzeyleri, 2’li gruplarda Mann-Whitney U testi ile 2 ve üstü gruplar arasında Kruskal-Wallis testi ile karşılaştırıldı. Klinik datadaki sürekli değişkenlerin de gruplar arasındaki normalliği test edildi ve kan basınçları ve ALT ile Kreatin düzeyleri dışındaki verilerin %95 güvenle normal dağılıma uyduğu belirlendi. Normal dağılıma uyan veriler, ANOVA testi ile uymayanlar, Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Hastalar, gruplar arasında kategorik değişkenler X2 testi ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı. miRNA düzeylerinin sürekli değişkenler ile korelasyonunda Sperman’s testi kullanıldı. Korelasyon Katsayısı (r), 0.00-0.25 (çok zayıf), 0.26-0.49 (zayıf), 0.50-0.69 (orta), 0.70-0.89 (yüksek), 0.90-1.00 (çok yüksek) değerlerine göre ilişkisi değerlendirildi.

İstatistik analizlerinde anlamlılık için $p < 0.05$ değeri alındı ve SPSS yazılımı (14.0 versiyonu, Chicago, IL) kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmamıza katılan toplam 112 gebenin 83'ü (%74.1) preeklampsili, 29'u (%25.9) sağlıklı gebeden oluşmaktadır. Preeklampsili gebelerin 24'ü (%28.9) erken hafif preeklampsisi, 16'sı (%19.3) erken ağır preeklampsisi, 24'ü (%28.9) geç hafif preeklampsisi ve 19'u (%22.9) geç ağır preeklampsisi olarak gruplandırılmıştır.

Çalışma gruplarının gebelik haftaları ortalamaları, erken hafif preeklampsisi için 30.4 ± 3.9 , erken ağır preeklampsisi için 30.2 ± 2.8 ve erken dönem kontrol için 28.6 ± 0.8 (29. Hafta kontrol) olarak, geç hafif preeklampsisi için 37.0 ± 1.7 , geç ağır preeklampsisi için 36.8 ± 1.6 olarak ve geç dönem kontrol grubu için 36.5 ± 1.1 (37. Hafta kontrol) olarak belirlenmiştir. Hem erken hem de geç dönemdeki preeklampsisi ve kontrol grupları arasında, gebelik haftası açısından istatistiksel bir fark bulunmamaktadır ($p > 0.05$).

Çalışmaya dahil edilen tüm grupların yaş, gebelik öncesi ve gebelikteki BKİ değerleri, nulliparite durumu ve kan basınçlarının kıyaslaması Tablo 7'de verilmiştir. Buna göre, gruplar arasındaki yaş ortalamaları incelendiğinde preeklampsili gebeler 29.74 yıl, kontrol grubunun ise 28.31 yıl olduğu bulunmuştur. İstatistiksel olarak yaş ortalamalarının kontrol ve hasta grubu arasında anlamlı bir fark yoktur. Benzer olarak preeklampsili gebelerin gruplar arası yaş farkı ile kontrol grupları ile arasında da istatistiksel olarak anlamlılık bulunmamaktadır ($p = 0.492$) (Tablo 7).

Preeklampitik gebe grupları ile kontrol grubu gebelerin, gebelikten önceki beden kitle indeksleri (BKİ) arasında sınırda anlamsız bir ilişki olduğu gözlenmiştir ($p = 0.058$). Tüm gebelerin gebelikte kanları alındığı zaman ki BKİ'leri karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak belirgin bir anlamlı değişim gözlenmiştir ($p = 0.002$) (Tablo 7).

Preeklampsili gruplar incelendiğinde ise erken hafif gebelerin %29.2'si ($n=7$), erken ağır gebelerin %25'i ($n=4$), geç hafif gebelerin %41.7'si ($n=10$), geç ağır gebelerin %47.4'si ($n=9$) nullipar (hiç doğum yapmamış) idi. 29. hafta kontrol grubundaki gebelerin %23.1'i ($n=6$), 37. hafta kontrollerin ise %26.9'u ($n=7$) nullipardır. Tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p = 0.439$) (Tablo 7).

Erken hafif olan preeklampsili gebelerin ortalama sistolik kan basıncı (KB) değeri 145.9 ± 11.8 , diastolik KB 89.4 ± 4.3 , erken ağır gebelerin ise sistolik KB değeri 155.0 ± 20.3 , diastolik KB değeri 96.3 ± 13.6 'dir. Geç hafif grubundaki gebelerin ortalama sistolik KB değeri 144.2 ± 6.5 , geç ağır grubun ortalama diastolik KB değeri ise 87.5 ± 7.9 'dir. Kontrol grubu gebelerin KB değerleri incelendiğinde 29. hafta gebelerinin ortalama sistolik KB değeri 100.8 ± 4.8 , diastolik KB değeri 60.0 ± 4.9 'dir. 37. hafta gebelerinin ise sistolik KB değeri 103.1 ± 6.2 , diastolik KB değeri ise 61.9 ± 5.7 bulunmuştur. Çalışmadaki tüm grupların sistolik ve diastolik KB'leri incelendiğinde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0.0001$) (Tablo 7).

Tablo 7: Tüm gebelerin klinik ve demografik özellikleri

	Erken ağır preeklampsisi (n=16)	Erken hafif preeklampsisi (n=24)	Geç ağır preeklampsisi (n=19)	Geç hafif preeklampsisi (n=24)	Kontrol 29. Hafta (n=26)	Kontrol 37. Hafta (n=26)	P
Yaş	30.8 ± 4.8	30.5 ± 6.1	29.4 ± 5.6	28.6 ± 5.8	28.2 ± 5.5	28.2 ± 5.9	0.492
BKİ gebelik öncesi	26.4 ± 5.6	27.5 ± 4.7	26.5 ± 4.8	26.8 ± 5.9	24.1 ± 3.9	24.2 ± 3.9	0.058
BKİ kan alındığında	30.4 ± 5.8	30.9 ± 4.4	31.5 ± 4.6	31.6 ± 6.1	26.9 ± 3.8	28.1 ± 3.7	0.002
Nulliparite	%25 n=4	%29.2 n=7	%47.4 n=9	%41.7 n=10	%23.1 n=6	%26.9 n=7	0.439
Sistolik KB	155.0 ± 20.3	145.9 ± 11.8	162.3 ± 17.0	144.2 ± 6.5	100.8 ± 4.8	103.1 ± 6.2	<0.0001
Diastolik KB	96.3 ± 13.6	89.4 ± 4.3	98.6 ± 8.0	87.5 ± 7.9	60.0 ± 4.9	61.9 ± 5.7	<0.0001

Çalışma gruplarından erken dönemdeki preeklampsisi ve kontrol grupları arasındaki istatistiksel analizlerin sonuçları Tablo 8'de verilmiştir. Buna göre, yaş ve nulliparite açısından gruplar arasında fark olmadığı belirlenmiştir (sırasıyla, $p=0.221$ ve $p=0.883$). Ancak, gebelik öncesi ve gebelikte kan örneklerinin alındığı zaman ki BKİ'leri ile sistolik ve diastolik KB değerleri karşılaştırıldığında (Tablo 8) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0.05$).

Tablo 8 : Erken ağır, erken hafif preeklampsisi (PE) ve kontrol grubu gebelerin fiziksel özellikleri

	Erken ağır PE	Erken hafif PE	Kontrol 29. Hafta	P
Yaş	30.8 ± 4.8	30.5 ± 6.1	28.1 ± 5.5	0.221
BKİ gebelik öncesi	26.4 ± 5.6	27.5 ± 4.7	24.1 ± 3.9	0.035
BKİ kan alındığında	30.4 ± 5.8	30.9 ± 4.4	26.9 ± 3.8	0.005
Nulliparite	%25 n=4	%29.2 n=7	%23.1 n=6	0.883
Sistolik KB	155.0± 20.3	145.9± 11.8	100.8±4.8	<0.0001
Diastolik KB	96.3±13.6	89.4±4.3	60.0±4.9	<0.0001

Geç dönemdeki ağır ve hafif preeklampsisi ve kontrol grupları arasında aynı parametrelerin karşılaştırılması ise Tablo 9’da verilmiştir. Geç dönemde de yaş, nullipariteye ek olarak gebelik öncesi BKİ değerleri arasında anlamlı bir fark yokken diğer parametreler arasındaki anlamlı ilişkiler Tablo 9’da verilmiştir.

En önemli tanı kriteri olarak gebelikteki kan basınçlarının her iki dönemde ağır ve hafif preeklampsili gebelerde kontrollere göre oldukça anlamlı derecede yüksek olduğu görülmektedir ($p<0.0001$) (Tablo 8 ve 9).

Tablo 9: Geç ağır, geç hafif preeklampsi (PE) ve 37. Hafta kontrol grubu gebelerin fiziksel özellikleri

	Geç ağır PE	Geç hafif PE	Kontrol 37. Hafta	P
Yaş	29.4 ± 5.6	28.6 ± 5.8	28.2 ± 5.9	0.796
BKİ gebelik öncesi	26.5 ± 4.8	26.8 ± 5.9	24.2 ± 3.9	0.138
BKİ kan alındığında	31.5 ± 4.6	31.6 ± 6.1	28.1 ± 3.7	0.024
Nulliparite	%47.4 n=9	%41.7 n=10	%26.9 n=7	0.332
Sistolik KB	162.3±17.0	144.2±6.5	103.1±6.2	<0.0001
Diastolik KB	98.6±8.0	87.5±7.9	61.9±5.7	<0.0001

Kontrol grubuna dahil edilen 29 gebenin 23'ünden 29. ve 37. gebelik haftalarında, 29. haftada 3 gebe ve 37. haftada ise 3 farklı gebeden kan örneği alınmış ve erken ve geç dönemlerdeki klinik durumları Tablo 10'da özetlenmiştir. Buna göre sistolik KB dışında diğer parametrelerde istatistiksel bir farka rastlanmamıştır.

Tablo 10: 29. Hafta ve 37. Hafta kontrol grubu gebeleri fiziksel özellikleri

	Kontrol (n=26) 29. Hafta	Kontrol (n=26) 37. Hafta	P
Yaş	28.2 ± 5.5	28.2 ± 5.9	0.602
BKİ gebelik öncesi	24.1 ± 3.9	24.2 ± 3.9	0.932
BKİ kan alındığında	26.9 ± 3.8	28.1 ± 3.7	0.910
Nulliparite	%23.1 n=6	%26.9 n=7	0.749
Sistolik KB	100.8±4.8	103.1±6.2	0.036
Diastolik KB	60.0±4.9	61.9±5.7	0.183

Preeklampsili gebelerin doğum haftaları incelendiğinde, erken gruptaki hafif preeklampsili gebelerin doğum haftası 35.81, ağır preeklampsili gebelerin ise 31.56, geç gruptaki hafif preeklampsili gebelerin doğum haftası 38.34, ağır preeklampsili gebelerin ise 37.35'dir. 29. hafta kontrol grubundaki gebelerin doğum haftaları incelendiğinde ise 39.2, 37. hafta kontrol gruplarınınki 39.3 bulunmuştur. Gruplar arasındaki doğum haftaları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0.0001$) (Tablo 11).

Preeklampsi ve kontrol gebeleri doğum şekilleri yönünden karşılaştırıldığında preeklampitik gebelerin 23'ünde (%27.7) doğum vajinal yol ile olurken 60'ında (%72.7) doğum sezeryan yol ile gerçekleşmektedir, kontrol grubunda ise 16'sında (%55.2) doğum vajinal yol ile olurken 13'ünde (%44.8) sezeryan ile olmuştur. Erken hafif gruptaki gebelerin 5'i (%20.8) vajinal yol ile doğum yaparken, 19'u (%79.2) sezeryan ile doğum yapmıştır. Erken ağır grubunda ise, sadece 1 kişinin (%6.3) doğumu vajinal yol ile gerçekleşirken, 15'inin (%93.7) sezeryan ile gerçekleşmiştir. Geç hafif grubundaki gebelerin 12'si (%50) vajinal yol ile 12'si (%50) sezeryan ile doğum yapmıştır. Geç ağır grup preeklampitik gebelerden 5'inde (%26.3) doğum vajinal yol ile olurken, 14'ünde (%73.7) doğum sezeryan ile meydana gelmiştir. Tablo 11'de gösterildiği şekilde, tüm gruplar arasındaki bu doğum şekilleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlılık bulunmuştur ($p<0.0001$).

Preeklampsi ve kontrol gebeleri yenidoğan doğum kiloları ortalamaları açısından karşılaştırıldığında aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.0001$). Preeklampsi olan gebelerin bebeklerinin doğum ağırlıklarının kontrol grubundaki gebelerin bebeklerinden daha düşük bulunmuştur. Preeklampsi grupları arasındaki gebelerin bebeklerinin doğum kiloları karşılaştırıldığında ise erken gruptaki preeklampsi gebelerinin bebeklerinin geç gruptaki preeklampitik gebelerin bebeklerinin doğum kilolarından daha düşük olduğu görülmüştür. Preeklampitik gebelerde ağır preeklampsi grubundaki gebelerin bebeklerinin doğum kilolarının ise hafif preeklampsi gruptaki gebelerin bebeklerinkinden düşük olduğu bulunmuştur (Tablo 11).

Preeklampsili gebeler ile kontrol grubu gebelerin fetüs cinsiyetleri açısından istatistiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p<0.781$). Preeklampitik gebelerin fetüs cinsiyeti erken ağır, erken hafif, geç ağır ve geç hafif olarak istatistiksel yönden karşılaştırıldığında da fark anlamlı bulunmamıştır (Tablo 11).

Preeklampsili gebelerin bebeklerinin %24.1'i (n=20) IUGR (intrauterin gelişim geriliği) mevcutken, kontrol gebeleri bebeklerinde IUGR bulunmamaktadır. Preeklampsili gebelerden erken hafif gebelerin bebeklerinin %20.8'inde erken ağır gebelerinin ise %62,5'inde IUGR gelişmiştir. Geç ağır preeklampsili gebelerin bebeklerinin %26.3'ünde IUGR gelişirken geç hafif gebelerinin bebeklerinin gelişimleri normaldir. Tüm gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamlıdır (p<0.0001).

Tablo 11: Preeklampsia (PE) ve kontrol grupları arası doğum sonuçlarının karşılaştırılması

	Erken ağır PE (n=16)	Erken hafif PE (n=24)	Geç ağır PE (n=19)	Geç hafif PE (n=24)	Kontrol 29. Hafta (n=26)	Kontrol 37. Hafta (n=26)	P
Doğum Haftası	31.6 ± 3.2	35.8 ± 4.2	37.4 ± 1.6	38.3 ± 1.3	39.2 ± 1.2	39.3 ± 1.2	<0.0001
Doğum Ağırlığı	1275.9 ± 686.6	2409.2 ± 929.9	2693.4 ± 735.4	3023.9 ± 613.0	3414.6 ± 382.1	3340.7 ± 443.1	<0.0001
IUGR	%62.5 n=10	%20.8 n=5	%26.3 n=5	%0	%0	%0	<0.0001
Doğum Şekli; Sezeryan	%93.8 n=15	%79.2 n=19	%73.7 n=14	%50 n=12	%38.5 n=10	%34.6 n=9	<0.0001
Vajinal	%6.2 n=1	%20.8 n=5	%26.3 n=5	%50 n=12	%61.5 n=16	%65.4 n=17	
Fetal Cinsiyet; Erkek	%50 n=8	%41.7 n=10	%47.4 n=9	%37.5 n=9	%56 n=14	%53.8 n=14	0.781
Kız	%50 n=8	%58.3 n=14	%52.6 n=10	%62.5 n=15	%44 n=12	%46.2 n=12	

Çalışma gruplarından erken dönemdeki preeklampsia ve kontrol grupları arasındaki doğum sonu sonuçları Tablo 12'de verilmiştir. Buna göre, fetal cinsiyet açısından gruplar arasında fark olmadığı belirlenmiştir (p=0.603). Ancak doğum ağırlığı, doğum haftası, IUGR ve doğum şekli yönünden erken dönem preeklampitik

gebeler ve 29.hafta kontrolleri karşılaştırıldığında (Tablo 12) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0.0001$).

Tablo 12: Erken hafif, erken ağır preeklampsi (PE) ve 29.hafta kontrol grupları arası doğum sonuçlarının karşılaştırılması

	Erken ağır PE	Erken hafif PE	Kontrol 29. hafta	P
Doğum Haftası	31.6 ± 3.2	35.8 ± 4.2	39.2 ± 1.2	<0.0001
Doğum Ağırlığı	1275.9 ± 686.6	2409.2 ± 929.9	3414.6 ± 382.1	<0.0001
IUGR	%62.5 n=10	%20.8 n=5	%0	<0.0001
Doğum Şekli;				<0.0001
Sezeryan	%93.7 n=15	%79.2 n=19	%38.5 n=10	
Vajinal	%6.3 n=1	%20.8 n=5	%61.5 n=16	
Fetal Cinsiyet;				0.603
Erkek	%50 n=8	%41.7 n=10	%56 n=14	
Kız	%50 n=8	%58.3 n=14	%44 n=12	

Geç dönemdeki preeklampsi ve 37. hafta kontrol grupları arasındaki doğum sonu sonuçları Tablo 13’de verilmiştir. Sonuçlar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında, fetal cinsiyet açısından gruplar arasında fark olmadığı belirlenmiştir ($p=0.509$). Doğum ağırlığı, doğum haftası, IUGR ve doğum şekli yönünden karşılaştırıldığında ise (Tablo 13) gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur (sırasıyla $p=0.003$, $p<0.0001$, $p=0.001$, $p=0.035$).

Tablo 13: Geç hafif, geç ağır preeklampsi (PE) ve 37.hafta kontrol grupları arası doğum sonuçlarının karşılaştırılması

	Geç ağır PE	Geç hafif PE	Kontrol 37. Hafta	P
Doğum Haftası	37.4 ± 1.6	38.3 ± 1.3	39.3 ± 1.2	<0.0001
Doğum Ağırlığı	2693.4 ± 735.4	3023.9 ± 613.0	3340.7 ± 443.1	0.003
IUGR	%26.3 n=5	%0	%0	0.001
Doğum Şekli;				
Sezeryan	%73.7 n=14	%50 n=12	%34.6 n=9	0.035
Vajinal	%26.3 n=5	%50 n=12	%65.4 n=17	
Fetal Cinsiyet;				
Erkek	%47.4 n=9	%37.5 n=9	%53.8 n=14	0.509
Kız	%52.6 n=10	%62.5 n=15	%46.2 n=12	

Preeklampsili gebe grupları ve kontrol 29. ve 37. Hafta gebeleri hemoglobin (p=0.740), trombosit (p=0.120), ALT (p=0.069) değerleri açısından karşılaştırıldığında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Tablo 14).

Tüm gruplar arasında WBC (p=0.049), AST (p=0.040), LDH (p=0.001), kreatinin (p<0.0001), ve total protein (p<0.0001) serum değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 14).

Tablo 14: Erken ve geç preeklampitik (PE) gebeler ile 29. ve 37. Hafta kontrol gebeleri biyokimyasal parametreler

	Erken ağır PE	Erken hafif PE	Geç ağır PE	Geç hafif PE	Kontrol 29. Hafta	Kontrol 37. hafta	P
Hemoglobin , g/dL	11.9 ± 1.7	11.4 ± 1.3	11.8 ± 2.9	11.1 ± 1.4	11.6 ± 1.9	11.7 ± 2.0	0.740
Trombosit, x 10 ³ /μL	215.4 ± 86.9	231.4 ± 68.1	176.9 ± 68.9	209.5 ± 53.5	218.4 ± 50.4	205.2 ± 51.3	0.120
WBC, mm3	12.6 ± 4.0	11.8 ± 3.8	12.1 ± 3.9	11.1 ± 3.8	10.1 ± 2.3	9.9 ± 2.0	0.049
AST, U/L	92.5 ± 233.2	22.2 ± 33.1	40.2 ± 25.3	20.7 ± 8.5	14.9 ± 4.4	15.2 ± 4.6	0.040
ALT, U/L	96.3 ± 254.8	29.9 ± 80.3	38.9 ± 42.9	15.0 ± 12.8	11.8 ± 6.0	11.7 ± 6.2	0.069
LDH, U/L	408.0 ± 483.5	219.9 ± 65.7	301.6 ± 111.2	227.8 ± 75.3	177.5 ± 29.8	183.3 ± 40.4	0.001
Kreatinin, mg/dL	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	<0.0001
Total protein, g/dL	6.3 ± 0.7	6.3 ± 0.7	5.8 ± 0.5	6.2 ± 0.5	6.7 ± 0.5	6.6 ± 0.5	<0.0001
İdrarda protein	0.9 ± 0.5	1.25 ± 1.6	1.7 ± 1.9	1.9 ± 2.6	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	<0.0001

Erken ağır, erken hafif ve 29. Hafta kontrol gebeleri biyokimyasal değerleri açısından karşılaştırıldığında LDH, kreatinin, total protein ve idrarda protein değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla p=0.011, p<0.0001, p<0.029, p<0.0001) (Tablo 15).

Tablo 15: Erken ağır, erken hafif preeklamps (PE) ve 29. hafta kontrol gebeleri Biyokimyasal Parametreleri

	Erken ağır PE	Erken hafif PE	Kontrol 29. Hafta	P
Hemoglobin, g/Dl	11.9 ± 1.7	11.4 ± 1.3	11.6 ± 1.9	0.572
Trombosit, x 10 ³ /μL	215.4 ± 86.9	231.4 ± 68.1	218.4 ± 50.4	0.705
WBC, mm ³	12.6 ± 4.0	11.8 ± 3.8	10.1 ± 2.3	0.055
AST, U/L	92.5 ± 233.2	22.2 ± 33.1	14.9 ± 4.4	0.089
ALT, U/L	96.3 ± 254.8	29.9 ± 80.3	11.8 ± 6.0	0.135
LDH, U/L	408.0 ± 483.5	219.9 ± 65.7	177.5 ± 29.8	0.011
Kreatinin, mg/dL	0.6 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.0001
Total protein, g/dL	6.3 ± 0.7	6.3 ± 0.7	6.7 ± 0.5	0.029
İdrarda protein	0.9 ± 0.5	1.25±1.6	0.0±0.0	<0.0001

Geç ağır, geç hafif ve 37. hafta kontrol gebeleri biyokimyasal değerleri karşılaştırıldığında ise, AST, ALT, LDH, kreatinin, total protein ve idrarda protein açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla; p<0.0001, p=0.001, p=0.001, p<0.0001, p<0.0001, p<0.001) (Tablo 16).

Tablo 16: Geç ağır, geç hafif preeklampsisi (PE) ve 37. Hafta kontrol gebeleri Biyokimyasal Parametreleri

	Geç ağır PE	Geç hafif PE	Kontrol 37. Hafta	P
Hemoglobin, g/Dl	11.8 ± 2.9	11.1 ± 1.4	11.7 ± 2.0	0.475
Trombosit, x 10 ³ /μL	176.9 ± 68.9	209.5 ± 53.5	205.2 ± 51.3	0.149
WBC, mm3	12.1 ± 3.9	11.1 ± 3.8	9.9 ± 2.0	0.093
AST, U/L	40.2 ± 25.3	20.7 ± 8.5	15.2 ± 4.6	0.0001
ALT, U/L	38.9 ± 42.9	15.0 ± 12.8	11.7 ± 6.2	0.001
LDH, U/L	301.6 ± 111.2	227.8 ± 75.3	183.3 ± 40.4	0.001
Kreatinin, mg/dL	0.6 ± 0.2	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.0001
Total protein, g/dL	5.8 ± 0.5	6.2 ± 0.5	6.6 ± 0.5	0.0001
İdrarda protein	1.7±1.9	1.9±2.6	0.0±0.0	0.001

Kontrol grubunun erken ve geç dönemlerdeki biyokimyasal parametrelerdeki değişimleri Tablo 17’de özetlenmektedir. Buna göre, 29. hafta kontrol gebeleri ile 37. hafta kontrol gebeleri hemoglobin, trombosit ve WBC sayıları ile AST, ALT, LDH, kreatinin, total protein düzeyleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 17). Sağlıklı gebelerde idrarda protein bulunmadığından preeklampsili gebelerin idrarındaki protein miktarı artışı tanıda önem taşımaktadır.

Tablo 17: 29. hafta ve 37. hafta kontrol gebeleri biyokimyasal parametreleri

	Kontrol 29. hafta	Kontrol 37. Hafta	P
Hemoglobin, g/dL	11.6 ±1.9	11.7 ±2.0	0.826
Trombosit, x 10 ³ /μL	218.4 ± 50.4	205.2 ± 51.3	0.898
WBC, mm ³	10.1 ± 2.3	9.9 ± 2.0	0.973
AST, U/L	14.9 ± 4.4	15.2 ± 4.6	0.760
ALT, U/L	11.8 ± 6.0	11.7 ± 6.2	0.771
LDH, U/L	177.5 ± 29.8	183.3 ± 40.4	0.102
Kreatinin, mg/dL	0.5 ± 0.1	0.5 ± 0.1	0.495
Total protein, g/dL	6.7 ± 0.5	6.6 ± 0.5	0.730

Çalışmada, hasta ve sağlıklı gebe grupları arasında klinik parametrelerin incelemeleri ardından seçilen miRNA'ların ifade düzeyleri karşılaştırıldı.

Erken hafif, erken ağır, geç hafif, geç ağır preeklampsi grupları ile 29. hafta kontrol grubu ve 37. hafta kontrol grupları arasında miRNA'ların ekspresyon düzeyleri karşılaştırıldı. Tablo 18'de grupların rölatif kantitasyon (RK, değişim katsayıları) değerleri verilmiştir. Tüm gruplar arasında yapılan Kruskal-Wallis testi analizinde miR-21-3p'de anlamlı bir fark varken diğer miRNA'larda fark gözlenmemiştir (Tablo 18).

Tablo 18: Erken hafif preeklampsi (PE), erken ağır preeklampsi, geç hafif preeklampsi, geç ağır preeklampsi, 29. Hafta kontrol ve 37. Hafta kontrol grupları arasındaki miRNA ifade düzeyi karşılaştırmaları

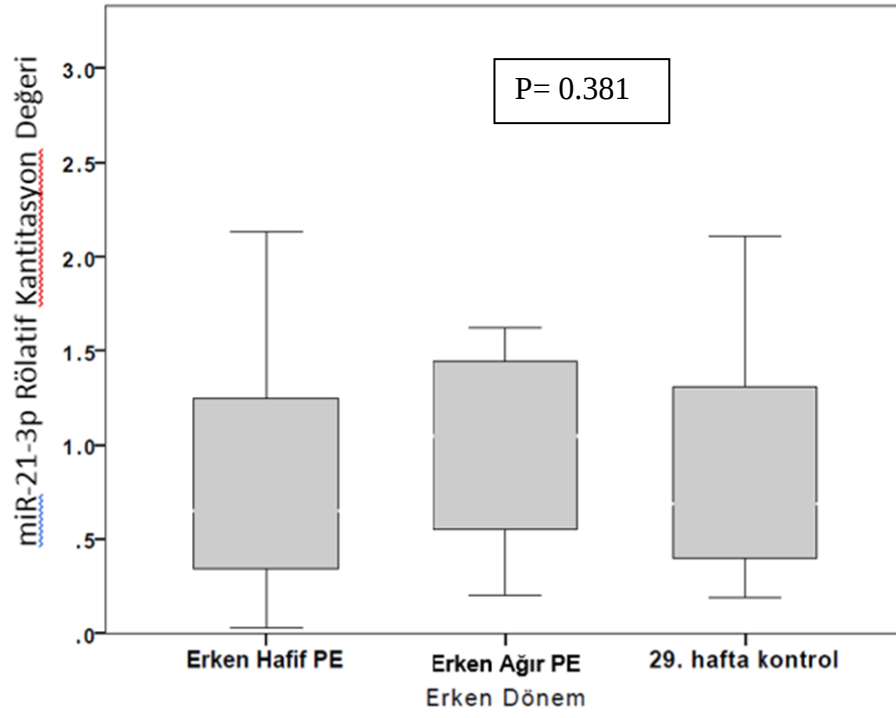
miRNA	Erken hafif PE	Erken ağır PE	Geç hafif PE	Geç Ağır PE	Kontrol 29. hafta	Kontrol 37. hafta	P
miR-155-5p	1.6 ±2.9	1.2 ±0.9	1.1±2.1	1.2 ±1.2	1.2 ± 1.2	1.7 ±1.6	0.224
miR-21-3p	0.8 ±0.6	1.6 ±2.0	1.1±1.4	0.9 ±0.8	1.4 ± 2.6	1.7 ± 1.3	0.044
miR-518b	2.4 ±2.4	5.5 ±6.8	5.6±11.7	3.0 ±2.9	1.2 ± 0.7	3.2 ± 7.2	0.103

Erken dönem ağır ve hafif preeklampsi ile 29. hafta kontrol grubu arasında yapılan analiz sonuçlarına göre miRNA'ların ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılmasında (Tablo 19), miR-518b düzeyinin kontrole göre preeklampsili gebelerde anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. Buna göre, miR-518b düzeyinin ağır preeklampsili gebelerde 4.6 kat, hafif preeklampsili gebelerde ise 2 kat arttığı belirlenmiştir.

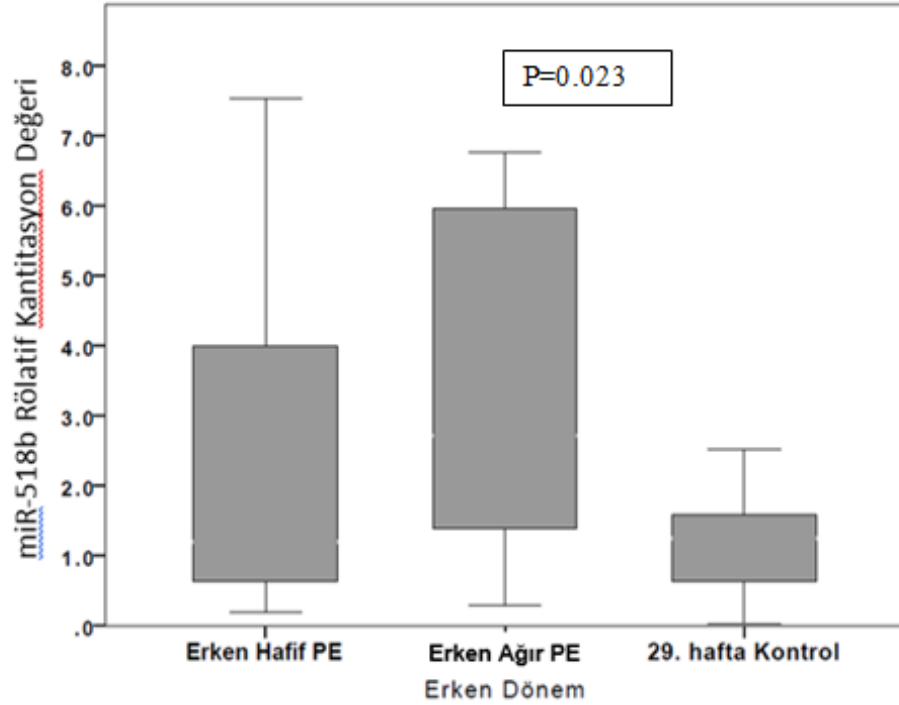
Tablo 19: Erken dönem hafif ve ağır preeklampsi (PE) ve 29. hafta kontrol grupları arasındaki miRNA ifade düzeyi karşılaştırmaları

miRNA	Erken ağır PE RK değeri (Ort ±SD)	Erken hafif PE RK Değeri (Ort ±SD)	Kontrol 29. Hafta RK Değeri (Or±SD)	P*
miR-155-5p	1.2 ± 0.9	1.6 ± 2.9	1.2 ± 1.2	0.835
miR-21-3p	1.6 ± 2.0	0.8 ± 0.6	1.4 ± 2.6	0.381
miR-518b	5.5 ± 6.8	2.4 ± 2.4	1.2 ± 0.7	0.023

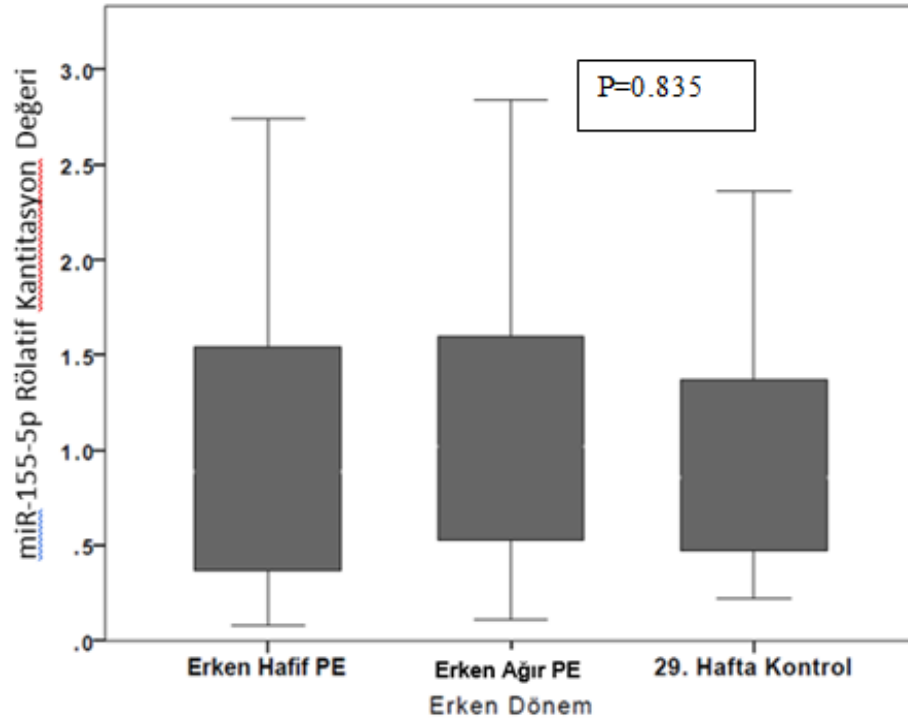
RK: Rölatif kantitasyon, *Kruskal-Wallis test sonucu



Şekil 13: miR-21-3p'nin erken dönemdeki gebeliklerde rölatif kantitasyon değeri grafiği



Şekil 14: miR-518b'nin erken dönemdeki gebeliklerde rölatif kantitasyon değeri grafiği



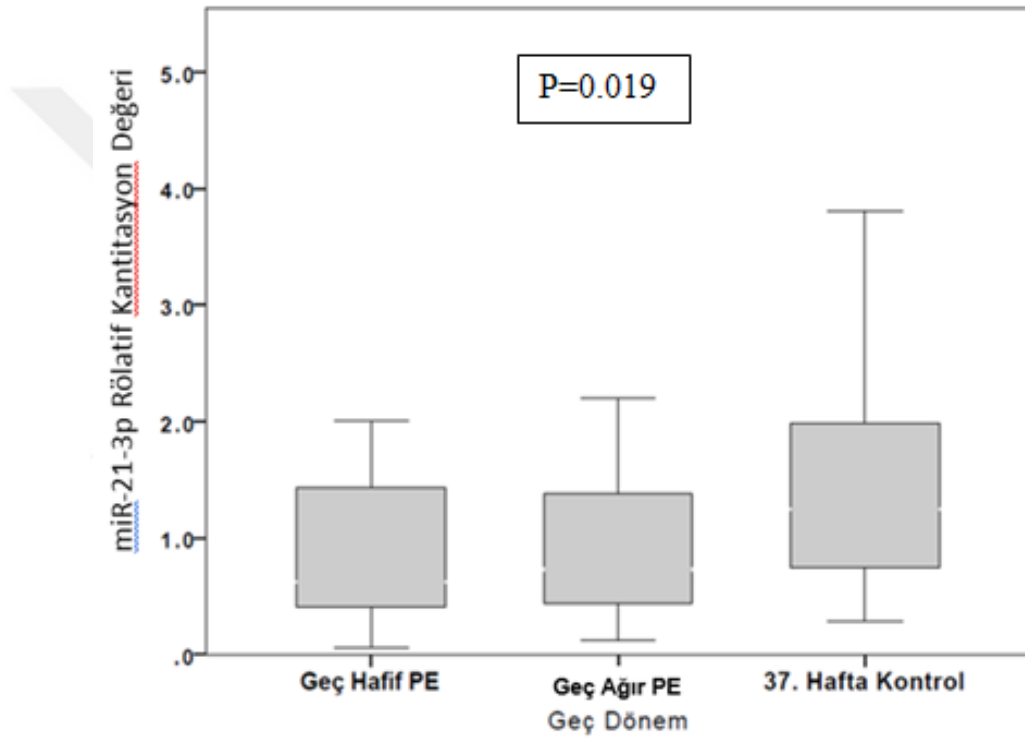
Şekil 15: miR-155-5p'nin erken dönemdeki gebeliklerde rölatif kantitasyon değeri grafiği

Geç ağır ve geç hafif preeklampsisi ile 37. hafta kontrol grubu arasında yapılan analiz sonuçlarına göre miRNA'ların ekspresyon düzeylerinin kar ıla tırılmasında (Tablo 20), miR-155-5p düzeyinin kontrole göre preeklampsili gebelerde anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. miR-155-5p düzeyinin ağır preeklampsili gebelerde 1.4 kat azaldığı, hafif preeklampsili gebelerde ise 1.5 kat azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca, miR-21-3p düzeyinin kontrole göre preeklampsili gebelerde anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. miR-21-3p düzeyinin ağır preeklampsili gebelerde 1.9 kat azaldığı, hafif preeklampsili gebelerde 1.5 kat azaldığı belirlenmiştir.

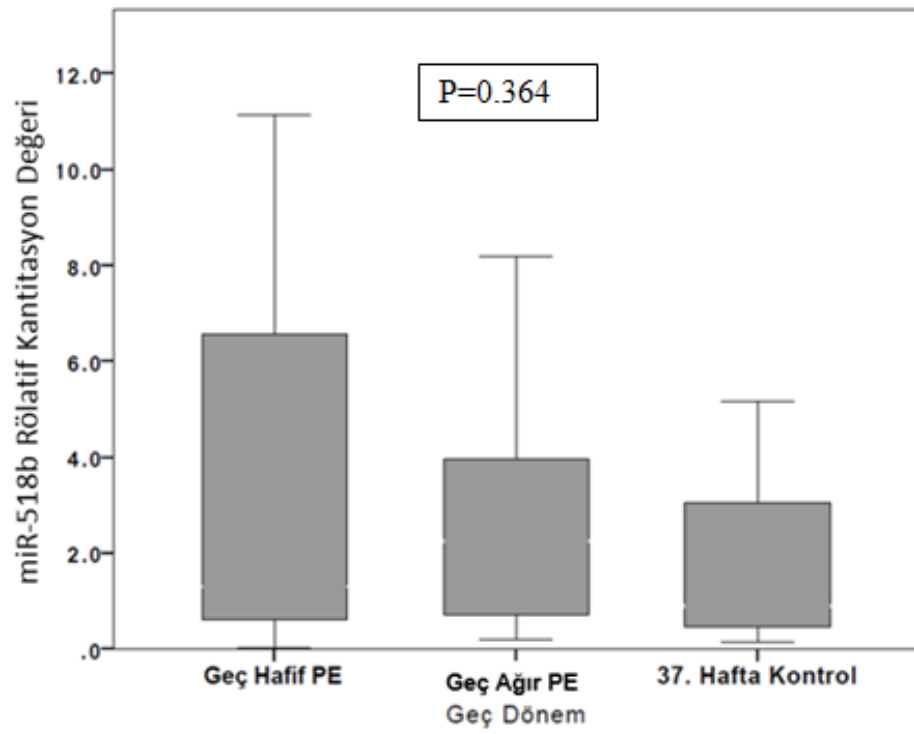
Tablo 20: Geç dönem hafif ve ağır preeklampsi (PE) ve 37. hafta kontrol grupları arasındaki miRNA ifade düzeyi karşılaştırmaları

MiRNA	Geç ağır PE RK seviyesi (Ort±SD)	Geç hafif PE RK seviyesi (Ort±SD)	Kontrol 37. Hafta RK seviyesi (Ort±SD)	P*
miR-155-5p	1.2 ± 1.2	1.1 ± 2.1	1.7 ± 1.6	0.051
miR-21-3p	0.9 ± 0.8	1.1 ± 1.4	1.7 ± 1.3	0.019
miR-518b	3.0 ± 2.9	5.6 ± 11.7	3.2 ± 7.2	0.364

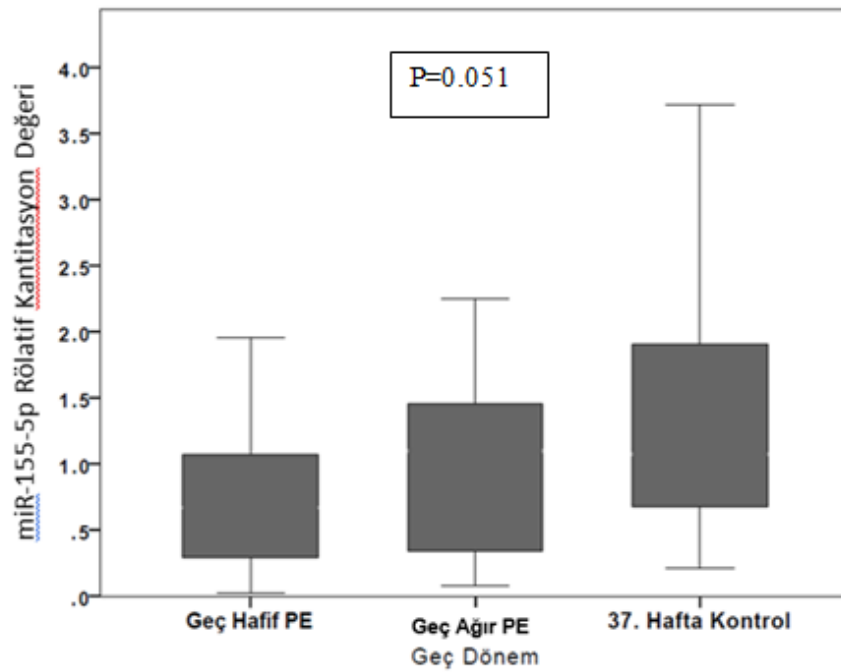
RK: Rölatif kantitasyon, *Kruskal-Wallis test sonucu



Şekil 16: miR-21-3p'nin geç dönemdeki gebeliklerde rölatif kantitasyon değeri grafiği



Şekil 17: miR-518b'nin geç dönemdeki gebeliklerde rölatif kantitasyon değeri grafiği



Şekil 18: miR-155-5p'nin geç dönemdeki gebeliklerde rölatif kantitasyon değeri grafiği

29. hafta kontrol ve 37. hafta kontrol grubu arasında yapılan analiz sonuçlarına göre miRNA'ların ekspresyon düzeylerinin karşılaştırılmasında (Tablo 21), sadece miR-21-3p düzeyinin gebelik haftası ilerledikçe anlamlı bir şekilde 1.2 kat arttığı gözlenmiştir.

Tablo 21: 29. hafta kontrol ve 37. hafta kontrol grupları arasındaki miRNA ekspresyon düzeyi karşılaştırmaları

miRNA	29. hafta kontrol RK seviyesi (Ort±SD)	37. hafta kontrol RK seviyesi (Ort±SD)	P*
miR-155-5p	1.2 ± 1.2	1.7 ± 1.6	0.151
miR-21-3p	1.4 ± 2.6	1.7 ± 1.3	0.021
miR-518b	1.2 ± 0.7	3.2 ± 7.2	0.843

RK: Rölatif kantitasyon, *Mann-Whitney U test sonucu

Çalışmamızda ayrıca geç dönemde gruplardaki her bir miRNA'nın klinik ve biyokimyasal sürekli değişkenler ile korelasyonu Sperman's testi ile incelenmiştir (Tablo 22-24). Buna göre miR-21-3p düzeyinin, kan protein/kreatin miktarı, LDH düzeyi, gebelikte SKB ve BKİ değerleri ile zayıfda olsa negatif korelasyonu olduğu bulunmuştur (Tablo 22).

Tablo 22: Geç dönem gruplarda miR-21-3p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P
İdrarda protein mg	-0.27	0.112
Protein/keratin	-0.28	0.024
Kreatin mg/dL	-0.16	0.203
Total protein g/dL	0.18	0.145
WBC mm ³	-0.16	0.897
Trombosit x 10 ³ /μL	-0.16	0.178
AST U/L	-0.05	0.674
ALT U/L	-0.02	0.897
LDH U/L	-0.33	0.005
Gebelikte diyastolik KB mmHg	-0.21	0.079
Gebelikte sistolik KB mmHg	-0.31	0.011
Gebelikte BKİ	-0.28	0.020

Geç dönem gruplardaki miR-155-5p ifade düzeyinin, sadece BKİ değerleri ile zayıf bir negatif korelasyonu olduğu bulunmuştur (Tablo 23).

Tablo 23: Geç dönem gruplarda miR-155-5p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P
İdrarda protein, mg	-0.21	0.214
Protein/keratin	-0.18	0.161
Kreatin, mg/dL	-0.04	0.770
Total protein, g/dL	0.14	0.264
WBC, mm ³	-0.08	0.503
Trombosit, x 10 ³ /μL	-0.20	0.099
AST, U/L	-0.04	0.772
ALT, U/L	0.04	0.739
LDH, U/L	-0.19	0.122
Gebelikte diyastolik KB, mmHg	-0.09	0.428
Gebelikte sistolik KB, mmHg	-0.18	0.137
Gebelikte BKİ	-0.25	0.042

Geç dönem gruplardaki miR-518b düzeyinin, biyokimyasal değerler ile anlamlı bir korelasyonu bulunmamıştır (Tablo 24).

Tablo 24: Geç dönem gruplarda miR-518b düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P
İdrarda protein, mg	0.21	0.222
Protein/keratin	0.18	0.159
Kreatin, mg/dL	-0.04	0.731
Total protein, g/dL	0.02	0.856
WBC, mm ³	0.11	0.375
Trombosit, x 10 ³ /μL	-0.05	0.662
AST, U/L	0.15	0.233
ALT, U/L	0.23	0.060
LDH, U/L	0.04	0.738
Gebelikte diyastolik KB mmHg	0.22	0.071
Gebelikte sistolik KB mmHg	0.17	0.162
Gebelikte BKİ	0.04	0.765

Geç dönem gruplardaki miR-21-3p, miR-155-5p ve miR-518b düzeyleri arasında saptanan pozitif korelasyonlar Tablo 25’de gösterilmektedir (p<0.001).

Tablo 25: Geç dönemde preeklampsi ve kontrol gruplarındaki miRNA düzeyleri birbirleri arasındaki korelasyonlar

	miR-21-3p	miR-518b	miR-155-5p
miR-21-3p	1	0.463	0.810
miR-518b	0.463	1	0.509
miR-155-5p	0.810	0.509	1

r değerleri: Sperman’ın koelasyon katsayısı, p<0.001

Geç hafif dönem grupta miR-21-3p düzeyinin, biyokimyasal değerler ile anlamlı bir korelasyonu bulunmamıştır (Tablo 26).

Tablo 26: Geç hafif dönemde miR-21-3p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P
İdrarda protein, mg	-0.54	0.171
Protein/keratin	0.08	0.724
Kreatin, mg/dL	-0.14	0.499
Total protein, g/dL	0.17	0.425
WBC, mm ³	0.13	0.540
Trombosit, x 10 ³ /μL	-0.34	0.102
AST, U/L	0.33	0.119
ALT, U/L	0.19	0.376
LDH, U/L	-0.39	0.063
Gebelikte diyastolik KB mmHg	0.23	0.273
Gebelikte sistolik KB mmHg	0.03	0.883
Gebelikte BKİ	-0.32	0.127

Geç hafif dönem grupta miR-155-5p düzeyinin, biyokimyasal değerler ile anlamlı bir korelasyonu bulunmamıştır (Tablo 27).

Tablo 27: Geç hafif dönemde miR-155-5p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P
İdrarda protein, mg	-0.39	0.333
Protein/keratin	-0.03	0.894
Kreatin, mg/dL	-0.12	0.588
Total protein, g/dL	0.28	0.187
WBC, mm ³	0.27	0.205
Trombosit, x 10 ³ /μL	-0.17	0.436
AST, U/L	0.19	0.387
ALT, U/L	-0.05	0.834
LDH, U/L	-0.32	0.128
Gebelikte diyastolik KB mmHg	0.23	0.267
Gebelikte sistolik KB mmHg	0.04	0.863
Gebelikte BKİ	-0.24	0.269

Geç hafif dönem grupta miR-518b ifade düzeyinin, sadece LDH değerleri ile zayıf bir negatif korelasyonu olduğu bulunmuştur (Tablo 28).

Tablo 28: Geç hafif dönemde miR-518b düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P
İdrarda protein, mg	-0.35	0.399
Protein/keratin	0.12	0.608
Kreatin, mg/dL	-0.20	0.340
Total protein, g/dL	0.28	0.178
WBC, mm ³	0.06	0.774
Trombosit, x 10 ³ /μL	-0.01	0.995
AST, U/L	0.19	0.378
ALT, U/L	0.14	0.520
LDH, U/L	-0.43	0.036
Gebelikte diyastolik KB mmHg	0.17	0.415
Gebelikte sistolik KB mmHg	-0.14	0.526
Gebelikte BKİ	-0.21	0.324

Geç hafif dönem gruptaki miR-21-3p, miR-155-5p ve miR-518b düzeyleri arasında saptanan pozitif korelasyonlar Tablo 29’da gösterilmektedir (p<0.001).

Tablo 29: Geç hafif dönemde preeklampsi miRNA düzeyleri birbirleri arasındaki korelasyonlar

	miR-21-3p	miR-518b	miR-155-5p
miR-21-3p	1	0.720	0.872
miR-518b	0.720	1	0.754
miR-155-5p	0.872	0.754	1

r değerleri: Sperman'ın koelasyon katsayısı, $p < 0.001$

Geç ağır dönem grupta miR-21-3p ifade düzeyinin, sadece trombosit değerleri ile orta bir negatif korelasyonu olduğu bulunmuştur (Tablo 30).

Tablo 30: Geç ağır dönemde miR-21-3p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P
İdrarda protein, mg	-0.50	0.667
Protein/keratin	0.38	0.134
Kreatin, mg/dL	-0.21	0.399
Total protein, g/dL	-0.28	0.251
WBC, mm ³	-0.13	0.596
Trombosit, x 10 ³ /μL	-0.66	0.002
AST, U/L	0.03	0.897
ALT, U/L	-0.08	0.737
LDH, U/L	-0.06	0.803
Gebelikte diyastolik KB mmHg	-0.09	0.701
Gebelikte sistolik KB mmHg	-0.15	0.544
Gebelikte BKİ	-0.27	0.257

Geç ağır dönem grupta miR-155-5p ifade düzeyinin, sadece trombosit değerleri ile zayıf bir negatif korelasyonu olduğu bulunmuştur (Tablo 31).

Tablo 31: Geç ağır dönemde miR-155-5p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P
İdrarda protein, mg	-0.50	0.667
Protein/keratin	0.44	0.077
Kreatin, mg/dL	-0.21	0.399
Total protein, g/dL	-0.11	0.659
WBC, mm ³	-0.14	0.580
Trombosit, x 10 ³ /μL	-0.47	0.042
AST, U/L	0.15	0.553
ALT, U/L	0.21	0.399
LDH, U/L	0.04	0.881
Gebelikte diyastolik KB mmHg	-0.10	0.684
Gebelikte sistolik KB mmHg	-0.07	0.768
Gebelikte BKİ	-0.37	0.119

Geç ağır dönem grupta miR-518b düzeyinin, biyokimyasal değerler ile anlamlı bir korelasyonu bulunmamıştır (Tablo 32).

Tablo 32: Geç ağır dönemde miR-518b düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P
İdrarda protein, mg	0.50	0.667
Protein/keratin	0.31	0.219
Kreatin, mg/dL	-0.03	0.915
Total protein, g/dL	-0.19	0.428
WBC, mm ³	0.31	0.205
Trombosit, x 10 ³ /μL	-0.32	0.185
AST, U/L	0.12	0.615
ALT, U/L	0.28	0.242
LDH, U/L	0.30	0.212
Gebelikte diyastolik KB mmHg	0.23	0.349
Gebelikte sistolik KB mmHg	0.40	0.091
Gebelikte BKİ	-0.09	0.716

Geç ağır dönem gruptaki miR-21-3p, miR-155-5p ve miR-518b düzeyleri arasında saptanan pozitif korelasyonlar Tablo 33’de gösterilmektedir (p<0.05).

Tablo 33: Geç ağır dönemde preeklampsi miRNA düzeyleri birbirleri arasındaki korelasyonlar

	miR-21-3p	miR-518b	miR-155-5p
miR-21-3p	1	0.265	0.823
miR-518b	0.265	1	0.418
miR-155-5p	0.823	0.418	1

r değerleri: Sperman’ın koelasyon katsayısı, p<0.05

Çalışmamızda erken dönem gruplardaki her bir miRNA'nın klinik ve biyokimyasal sürekli değişkenler ile korelasyonu Sperman's testi ile incelenmiştir (Tablo 34-36). Buna göre miR-21-3p ifade düzeyinin biyokimyasal değerler ile anlamlı bir korelasyonu olmadığı saptanmıştır (Tablo 34).

Tablo 34: Erken dönem gruplarda miR-21-3p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P değeri
İdrarda protein mg	-0.09	0.547
Protein/keratin	0.16	0.269
Kreatin mg/dL	0.02	0.880
Total protein g/dL	0.04	0.770
WBC mm ³	0.19	0.127
Trombosit x 10 ³ /μL	-0.06	0.642
AST U/L	-0.05	0.703
ALT U/L	0.04	0.731
LDH U/L	-0.11	0.403
Gebelikte diyastolik KB mmHg	0.04	0.782
Gebelikte sistolik KB mmHg	0.04	0.760
Gebelikte BKİ	0.09	0.498

Erken dönem gruplardaki miR-155-5p ifade düzeyinin, biyokimyasal değerler ile ilişkili korelasyonu olmadığı bulunmuştur (Tablo 35).

Tablo 35: Erken preeklampitik gruplarda miR-155-5p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P değeri
İdrarda protein, mg	-0.06	0.692
Protein/keratin	0.14	0.328
Kreatin, mg/dL	0.03	0.832
Total protein, g/dL	-0.08	0.530
WBC, mm ³	0.03	0.829
Trombosit, x 10 ³ /μL	-0.07	0.569
AST, U/L	-0.08	0.501
ALT, U/L	0.13	0.318
LDH, U/L	-0.13	0.305
Gebelikte diastolik KB, mmHg	-0.001	0.992
Gebelikte sistolik KB, mmHg	0.009	0.940
Gebelikte BKİ	0.05	0.689

Erken dönem gruplardaki miR-518b ifade düzeyinin, kan protein/kreatin miktarı, idrarda protein, gebelikte SKB ve DKB değerleri ile zayıfda olsa pozitif korelasyonu olduğu bulunmuştur (Tablo 36).

Tablo 36: Erken dönem gruplarda miR-518b düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P değeri
İdrarda protein, mg	0.27	0.049
Protein/keratin	0.40	0.005
Kreatin, mg/dL	-0.05	0.717
Total protein, g/dL	-0.05	0.700
WBC, mm ³	0.24	0.054
Trombosit, x 10 ³ /μL	0.10	0.426
AST, U/L	0.03	0.806
ALT, U/L	0.05	0.714
LDH, U/L	0.08	0.546
Gebelikte diastolik KB, mmHg	0.27	0.033
Gebelikte sistolik KB, mmHg	0.28	0.024
Gebelikte BKİ	0.15	0.237

Ayrıca çalışmamızda erken dönem gruplarındaki her bir miRNA'nın birbirleri ile korelasyonu Sperman's testi ile incelenmiştir (Tablo 37). Buna göre, miR-21-3p, miR-155-5p ve miR-518b düzeyleri arasında bulunan anlamlı pozitif korelasyonlar ($p < 0.05$) Tablo 37'de verilmektedir.

Tablo 37: Erken dönemde preeklampsi ve kontrol gruplarındaki miRNA düzeyleri arasındaki korelasyonlar

	miR-21-3p	miR-518b	miR-155-5p
miR-21-3p	1	0.502	0.763
miR-518b	0.502	1	0.535
miR-155-5p	0.763	0.535	1

r değerleri: Sperman'ın korelasyon katsayısı, $p < 0.05$

Erken hafif dönemde miR-21-3p ifade düzeyinin, AST, LDH değerleri ile zayıf, ALT değeri ile orta negatif korelasyonu olduğu bulunmuştur (Tablo 38).

Tablo 38: Erken hafif dönemde miR-21-3p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P
İdrarda protein, mg	0.02	0.949
Protein/keratin	- 0.09	0.800
Kreatin, mg/dL	-0.20	0.374
Total protein, g/dL	-0.20	0.364
WBC, mm ³	0.03	0.893
Trombosit, x 10 ³ /μL	-0.20	0.361
AST, U/L	-0.45	0.033
ALT, U/L	-0.52	0.011
LDH, U/L	-0.43	0.042
Gebelikte diyastolik KB mmHg	-0.03	0.883
Gebelikte sistolik KB mmHg	0.08	0.713
Gebelikte BKİ	-0.14	0.530

Erken hafif dönemde miR-155-5p ifade düzeyinin, biyokimyasal değerler ile ilişkili korelasyonu olmadığı bulunmuştur (Tablo 39).

Tablo 39: Erken hafif dönemde miR-155-5p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P
İdrarda protein, mg	0.07	0.771
Protein/keratin	0.20	0.552
Kreatin, mg/dL	0.02	0.923
Total protein, g/dL	-0.25	0.234
WBC, mm ³	-0.02	0.913
Trombosit, x 10 ³ /μL	-0.20	0.368
AST, U/L	-0.40	0.054
ALT, U/L	-0.26	0.219
LDH, U/L	-0.35	0.091
Gebelikte diyastolik KB mmHg	-0.23	0.276
Gebelikte sistolik KB mmHg	0.11	0.607
Gebelikte BKİ	0.17	0.939

Erken hafif dönemde miR-518b ifade düzeyinin, AST değeri ile zayıf, ALT değeri ile orta negatif korelasyonu olduğu bulunmuştur (Tablo 40).

Tablo 40: Erken hafif dönemde miR-518b düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P
İdrarda protein, mg	0.23	0.330
Protein/keratin	0.06	0.872
Kreatin, mg/dL	-0.15	0.481
Total protein, g/dL	0.04	0.844
WBC, mm ³	0.11	0.604
Trombosit, x 10 ³ /μL	-0.01	0.987
AST, U/L	-0.47	0.022
ALT, U/L	-0.55	0.005
LDH, U/L	-0.30	0.152
Gebelikte diyastolik KB mmHg	-0.06	0.772
Gebelikte sistolik KB mmHg	0.22	0.296
Gebelikte BKİ	0.01	0.994

Ayrıca erken hafif preeklampside miR-21-3p, miR-155-5p ve miR-518b düzeyleri arasında bulunan anlamlı pozitif korelasyonlar ($p < 0.001$) Tablo 41’de verilmektedir.

Tablo 41: Erken hafif preeklampsi miRNA düzeyleri birbirleri arasındaki korelasyonlar

	miR-21-3p	miR-518b	miR-155-5p
miR-21-3p	1	0.545	0.773
miR-518b	0.545	1	0.598
miR-155-5p	0.773	0.598	1

r değerleri: Sperman’ın korelasyon katsayısı, $p < 0.001$

Erken ağır dönemde miR-21-3p ifade düzeyinin, total protein değeri ile orta pozitif korelasyonu olduğu bulunmuştur (Tablo 42).

Tablo 42: Erken ağır dönemde miR-21-3p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P
İdrarda protein, mg	0.18	0.670
Protein/keratin	0.16	0.603
Kreatin, mg/dL	0.23	0.387
Total protein, g/dL	0.51	0.043
WBC, mm ³	0.47	0.068
Trombosit, x 10 ³ /μL	0.04	0.875
AST, U/L	0.29	0.274
ALT, U/L	0.41	0.111
LDH, U/L	0.38	0.152
Gebelikte diyastolik KB mmHg	-0.10	0.710
Gebelikte sistolik KB mmHg	0.42	0.877
Gebelikte BKİ	-0.09	0.733

Erken ağır dönemde miR-155-5p ifade düzeyinin ALT değeri ile orta pozitif korelasyonu olduğu bulunmuştur (Tablo 43).

Tablo 43: Erken ağır dönemde miR-155-5p düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P
İdrarda protein, mg	-0.12	0.778
Protein/keratin	0.31	0.301
Kreatin, mg/dL	-0.12	0.669
Total protein, g/dL	0.15	0.957
WBC, mm ³	0.27	0.305
Trombosit, x 10 ³ /μL	0.14	0.617
AST, U/L	0.15	0.572
ALT, U/L	0.52	0.038
LDH, U/L	-0.01	0.974
Gebelikte diyastolik KB mmHg	-0.07	0.811
Gebelikte sistolik KB mmHg	-0.19	0.486
Gebelikte BKİ	-0.19	0.488

Erken ağır dönemde miR-518b ifade düzeyinin, protein/kreatin değeri ile orta değerde pozitif korelasyonu olduğu bulunmuştur (Tablo 44).

Tablo 44: Erken ağır dönemde miR-518b düzeyi ile klinik ve biyokimyasal değişkenler arasındaki korelasyon

	Korelasyon katsayısı (r)	P
İdrarda protein, mg	0.43	0.289
Protein/keratin	0.60	0.031
Kreatin, mg/dL	-0.39	0.136
Total protein, g/dL	-0.29	0.285
WBC, mm ³	0.15	0.575
Trombosit, x 10 ³ /μL	0.34	0.196
AST, U/L	-0.15	0.586
ALT, U/L	0.18	0.516
LDH, U/L	-0.02	0.931
Gebelikte diyastolik KB, mmHg	0.01	0.977
Gebelikte sistolik KB, mmHg	-0.01	0.982
Gebelikte BKİ	-0.08	0.778

Erken ağır preeklampside miR-21-3p, miR-155-5p ve miR-518b düzeyleri arasında bulunan anlamlı pozitif korelasyonlar ($p < 0.05$) Tablo 45’de verilmektedir.

Tablo 45: Erken ağır preeklampsi miRNA düzeyleri birbirleri arasındaki korelasyonlar

	miR-21-3p	miR-518b	miR-155-5p
miR-21-3p	1	0.378	0.683
miR-518b	0.378	1	0.734
miR-155-5p	0.683	0.734	1

r değerleri: Sperman’ın korelasyon katsayısı, $p < 0.05$

Korelasyon analizlerinde özet olarak, geç dönemin tüm alt gruplarında miR-518b düzeyi ile herhangi bir parametre ile korelasyon bulunmamışken, miR-21-3p düzeyi ile kan protein/kreatin miktarı, LDH düzeyi, gebelikte SKB ve BKİ değerleri ile zayıfda olsa negatif korelasyonu olduğu, miR-155-5p ifade düzeyinin ise sadece BKİ değerleri ile zayıf bir negatif korelasyonu olduğu bulunmuştur.

Geç dönemde klinik şiddetine göre miRNA'ların korelasyonuna bakıldığında; Hafif grupta, sadece miR-518b ifade düzeyi LDH değerleri ile zayıf bir negatif korelasyonu olduğu bulunmuştur. Ağır klinik grupta ise, miR-21-3p ve miR-155-5p ifade düzeyleri sadece trombosit değerleri ile negatif korelasyonu olduğu tespit edilmiştir.

Çalışmamızda erken dönem gruplardaki her bir miRNA'nın klinik ve biyokimyasal sürekli değişkenler ile korelasyonunda, miR-21-3p ve miR-155-5p ifade düzeylerinin herhangi bir parametre ile korele değil iken miR-518b ifade düzeyinin, kan protein/kreatin miktarı, idrarda protein, gebelikte SKB ve DKB değerleri ile zayıfda olsa pozitif korelasyonu olduğu bulunmuştur.

Erken dönemin klinik şiddetine göre alt grup incelemesinde ise;

Hafif grupta, miR-21-3p ifade düzeyinin, AST, LDH değerleri ile zayıf, ALT değeri ile orta değerde negatif korelasyonu olduğu, miR-518b ifade düzeyinin ise, AST değeri ile zayıf, ALT değeri ile orta negatif korelasyonu olduğu bulunmuştur.

Ağır grupta ise, miR-21-3p ifade düzeyinin, total protein değeri ile orta pozitif korelasyonu olduğu, miR-155-5p ifade düzeyinin ALT değeri ile orta pozitif korelasyonu olduğu, miR-518b ifade düzeyinin, protein/kreatin değeri ile orta değerde pozitif korelasyonu olduğu bulunmuştur.

Sonuç olarak bu çalışmada, preeklampsinin geç ve erken dönem, ağır ve hafif klinik durumda 3 aday miRNA ifade düzeyleri belirlenmiş ve klinik parametreler ile ilişkileri detaylı olarak araştırılmıştır.

5. TARTIŞMA

Preeklampsi, hipertansiyon ve proteinüri ile karakterize olan, trombositopeni, böbrek yetmezliği, karaciğer fonksiyon bozukluğu, pulmoner ödem, serebral semptomlar ve görsel belirtiler ile ilişkili bir gebelik hastalığıdır. Dünya çapında gebeliklerin yaklaşık %5-8'ini etkilediği bildirilmiştir (103,2). Anne ve fetusta ciddi morbidite, uterin büyüme kısıtlaması ve prematüriteye yol açarak, anne ölümlerinin %10-15'inden sorumlu tutulmaktadır (103,45).

Anormal plasentasyon preeklampsinin başlıca patolojik nedenlerinden biridir ve gebeliğin sonlandırılması, preeklampsi için tek kesin tedavi yöntemi olmayı sürdürmektedir. Placenta yapısı, preeklampsinin gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. Normal gebelikte proinflatuvar olan trofoblastik debris ve mikropartiküllerin kana saçılması (veya dökülmesi) preeklampside oldukça artmış olarak gözlenmektedir (104). Preeklampsinin patofizyolojisi henüz tam olarak anlaşılamamış olmasına rağmen, plasental dolaşım faktörlerinin preeklampsi patogeneze katkıda bulunabileceği bildirilmiştir. Bu nedenle, özellikle preeklampsili gebelikte maternal kandaki moleküllerin değişimlerini belirlemek, preeklampsinin sebeplerini ve biyobelirteçlerini tanımlamak için yarar sağlayacağı belirtilmektedir (105).

miRNA'lar, hücre farklılaşması, proliferasyon, büyüme, apoptoz, anjiyogenez ve enflamasyonu içeren hem fizyolojik hem de patolojik süreçleri etkileme kapasitesine sahiptir. Plasental dokularda ve trofoblastlarda birçok miRNA tanımlanmıştır (52,62,106). Preeklampside plasental ve fetal, gelişim ve vasküler homeostazlar bozulduğundan, epidetik faktörler ve miRNA'lar gibi önemli düzenleyici olaylar preeklampsi patogenezinde bozulmaya başlamaktadır. Birkaç çalışmada, plasental dokularda hem konvansiyonel hem de mikroarray yaklaşımları ile miRNA'ların ekspresyonunu değerlendirmiş ve preeklampsiden etkilenen kadınların plasentasının transkriptomasında genlerin farklı olarak ifade edildiği tanımlanmıştır (6,76,81,107,108).

Preeklampsinin ciddi fetal-maternal komplikasyonları göz önüne alındığında, bu çalışmada klinik veriler ile kandaki miRNA düzeyleri arasındaki ilişki araştırılarak hem preeklampsi patogenezindeki rolü hem de hastalığın daha erken tespitinde bir

biyobelirteç olarak kullanımının uygun olup olmadığı hakkında yeni bilgilerin elde edilmesi amaçlanmıştır.

Preeklampsinin ilk gebeliklerde daha çok görüldüğü ve nulliparitenin bir risk faktörü olduğu bilinmektedir (2). Ancak bu çalışmada, erken hafif, erken ağır, geç hafif, geç ağır ve kontrol grupları karşılaştırıldığında nulliparite istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p>0.05$). Erken grupta PE ile 29. hafta kontrol arasında ($p>0.05$), geç grupta PE ile 37. hafta kontrol arasında, nulliparite yönünden karşılaştırıldığında da fark anlamsız bulunmuştur ($p>0.05$). Bunun nedeni nulliparite yönünden değerlendirebilmek için çalışmanın preeklampitik ve kontrol gebe sayısının yetersizliğinden olabilir.

Preeklamps, erken yaş (20 yaş altı) ile 35 yaş üstü kadınlarda daha fazla görülmektedir (2). Çalışmamıza dahil edilen gebelerin yaş ortalamaları, 29.75 ± 5.6 yıl olarak belirlenen preeklampsili gebelerden oluştuğu için kontrol grubundaki sağlıklı gebelerin yaş ortalamaları da 28.17 ± 5.6 yıl olarak buna göre seçilmiştir. Bu şekilde seçim yapmamızın sebebi, miRNA ifade düzeylerini incelerken yaş faktörünü ortadan kaldırılması düşünülmüştür.

Obezitenin preeklamps riskini arttırdığı belirlenmiştir. Obez ve aşırı kilolu kadınlarda, preeklamps riski hastalığın şiddetli veya hafif olmasına (109) ve erken veya geç dönemde (110) ortaya çıkmasından bağımsız olarak zayıf kadınlarda daha yüksektir. Ayrıca, bu ilişkinin obez ve aşırı kilolu kadınlar ile sınırlı olmadığı, gebelikteki BKİ artışları da preeklamps riskinin artması ile ilişkili bulunmuştur (111). Bu durumda, yağ kütlesinin artışının önemli olduğu, kilo kaybının preeklamps riskini azalttığı gösterilmiştir (112,113). Bu çalışmada, tüm gebelerin preeklamps ve kontrol grubuları arasında kanları alındığı zaman ki BKİ'leri incelendiğinde istatistiksel olarak belirgin bir anlamlı değişim gözlenmiştir ($p=0.002$). Ayrıca erken dönemdeki preeklampitik grupların kan alındığı zaman ki BKİ'leri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p<0.05$). Aynı şekilde geç dönemdeki preeklampitik grup gebelerinin kan alındığı zaman ölçülen BKİ'leri istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.024$). 29. Hafta ve 37.hafta kontrol gebelerin BKİ'leri karşılaştırma yapıldığında fark anlamsız çıkmıştır ($p=0.910$). Çalışma sonuçlarımız, literatür ile uyumlu olarak preeklamps ve BKİ arasındaki ilişkiyi destekler niteliktedir.

Preeklampsia tanısındaki en önemli kriterlerden biri hipertansiyondur. Hafif preeklampsia, 2 ayrı ölçümde kan basıncının (KB) 140/90mmHg üstünde olması, ağır preeklampsia ise kan basıncının 160/110mmHg üstünde olması hipertansiyon olarak değerlendirilmektedir (10). Çalışmadaki tüm gruplar, erken ve geç dönemdeki gebelerin sistolik ve diastolik KB'ları incelendiğinde gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (tüm gruplar $p<0.0001$), (erken grup $p<0.05$), (geç grup $p<0.0001$). En önemli tanı kriteri olarak preeklampsi gebelikteki kan basınçları gruplar arasında anlamlı derecede yüksek olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar, literatür ile uyumludur.

Preeklampsinin plasental iskemiye neden olması ve patofizyolojisinin plasenta kaynaklı olması, preeklampsinin ortadan kaybolması için plasentanın çıkarılmasını gerektirmektedir. Bu nedenle indüklenmiş erken doğum, preeklampsiyi tedavi etmek için tek seçenek olarak kalırken, postpartum komplikasyonların tam olarak çözülmesini garanti etmemektedir. Bu nedenle, preeklampsinin doğru ve zamanında tahmin edilmesi, komplikasyonlarının önlenmesi veya azaltılması açısından önemlidir (114). Bozhinova ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada (2004) doğumların %47.62 oranında termden önce sezaryen ile gerçekleştiği saptanmıştır (115). Yaptığımız bu çalışmada, preeklampsi gebelerin doğumları literatür ile uyumlu olarak kontrol grup ile karşılaştırdığımızda termden önce erken doğum haftalarında gerçekleşmiştir. Aynı şekilde literatür ile uyumlu olarak gruplar arasında doğum şekilleri yönünden karşılaştırma yapıldığında ise erken dönemde ağır gruptaki gebelerin %93.8'i, hafif gruptaki gebelerin ise %79.2'si sezaryen ile doğum yapmıştır. Geç dönemde ağır gruptaki gebelerin %73.7'si, hafif gruptakilerin ise %50'si sezaryen ile doğum yapmıştır.

Anormal plasental implantasyon ya da azalmış trofoblast invazyonu teorisi, preeklampsia ve IUGR'ı ortak bir patogeneze ile gebelik bozuklukları olarak ilişkilendirmektedir (116). Aslında, fetal IUGR hastalığının diğer maternal belirtilerine bakılmaksızın şiddetli preeklampsinin tanı kriterlerine dahil edilmiştir (117) ve preeklampsinin en şiddetli IUGR vakalarına yol açtığı düşünülmektedir. Srinivas ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2009) trofoblast invazyonu patogeneze dayanarak, hafif preeklampsili kadınlarda ağır preeklampsia ile kıyaslandığında IUGR'den etkilenen fetüslerin daha az olduğu gösterilmiştir (118). Çalışmamızda, erken ve geç dönemdeki

preeklampitik gebelerin bebeklerinin kontrol grubundaki sağlıklı gebelerin bebekleri ile kıyaslandığında doğum ağırlıklarının düşük olduğu ve IUGR geliştiği görülmüştür. Bunun nedeni preeklampsinin uteroplental bir rahatsızlık olması ve bebeğin anne plasentasından beslenmesi gerekirken anormal plasental invazyon nedeniyle bebeğin yeteri kadar beslenemeyip gelişim geriliği göstermesi olarak açıklanabilir.

Trombositopeni, preeklampsi tanısı almış gebelerde en sık görülen anormalliklerin başında gelmektedir. Trombositopeni görülme oranı ağır preeklampsi olan gebelerde %30-50 iken hafif preeklampside bu oran %7'dir. AST ve ALT ve LDH enzimlerinin yüksekliği de preeklampside beklenen bir bulgudur (40). Preeklampitik hastalar da WBC değerinde ki artışta sıkça rastlanılan bir durumdur (2). Çalışmamızda kanları alınan tüm gruplarımız biyokimyasal parametreler yönünden incelendiğinde erken gruptaki gebeler arasında LDH, geç gruptaki gebeler arasında ise AST, ALT ve LDH değerlerinde istatistiksel olarak anlamlılıklar gözlemlenmiştir.

Proteinüri preeklampsi tanısında en önemli ayırıcı özelliklerden ikincisidir. Preeklampitik gebelerde idrarda protein miktarının, 24 saatlik ölçümde ≥ 300 mg ya da idrar analizinde bakılan protein/kreatin oranının ≥ 0.3 olması gerekir (2). Preeklampitik gebe grupları sağlıklı gebeler ile proteinüri yönünden kıyaslandığında literatür ile uyumlu olarak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur.

Preeklampsinin etiyolojisi ve patogenezi hakkında birçok teori olsa da kesin bir cevap yoktur. Günümüzde tüm kaynaklar preeklampsinin plasenta iskemi ve hipoksi, immün faktörler ve genetik faktörler gibi çeşitli faktörlerle ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Plasental trofoblast hücre disfonksiyonu sığ trofoblast invazyonuna yol açar. Bu nedenle, plasentanın sığ implantasyonu preeklampsinin temel patolojik özelliğidir. Yetersiz plasental vasküler yeniden yapılanma, preeklampsinin patogenezi için kritik olan plasental hipoperfüzyona neden olur (119). Annenin ve dolayısıyla fetusun genellikle erken doğumu gerektiren bu ciddi rahatsızlık için spesifik bir tedavisinin olmaması nedeniyle, preeklampsinin tahmin edilmesi, maternal-fetal tıbbın en önemli hedeflerinden biridir. Gebelikte kadınları erken dönemde tanımlayabilen bir tarama testi, daha sonra preeklampsinin gelişmesi, sadece risk altındaki kadınların gözetimini arttırmakla kalmayıp, aynı zamanda profilaktik tedaviden yarar sağlayacak olanları da tanımlayacağı öngörülmektedir (120). Biyobelirteçlerin mevcut tanı gücü preeklampsi için sınırlıdır. Biyobelirteçler, preeklampsiyi, diğer hipertansif gebelik

koşullarından ayırmaya yetecek kadar duyarlı ve spesifik olmalıdır (121). Bu bağlamda anjiyogenik ve anti-anjiyogenik faktörler, anne dolaşımındaki dengesizliklerin preeklampsi ve bunun ciddiyeti için prediktif değere sahip olduğunu gösteren çalışmalarla tedavi için umut olmaktadır (122-125).

Son yıllarda, miRNA ekspresyonu preeklampsi gibi hamilelik komplikasyonlarıyla ilişkilendirilmiştir (126). Bu hastalıkla ilgili çalışmalarda miRNA'lar çeşitli avantajlara sahip olan odak noktaları olmuştur (127,128). Birinci avantajı, miRNA'lar bir çok geni (insan genlerinin yaklaşık üçte biri) düzenlediğinden, işlevleri kendine hastır ve bozulmaya karşı dirençlidir. İkincisi, plazmada bulunan miRNA'lar stabil olduğundan, biyobelirteç olarak daha kolay (non-invaziv ve elde edilmesi kolay) ve moleküler tanı için kullanımları elverişlidir. Bu nedenle, dolaşımdaki miRNA'ların preeklampsinin erken tanısı için duyarlı ve spesifik biyobelirteç olarak potansiyelini, ya kendi başlarına ya da sonografik belirteçler gibi diğer biyometrik değişkenler ile kombine edildiğinde tahmin modellerinde çok değişkenli algoritmalarla birlikte değerlendirilmesi mümkün görülmektedir (129,130). miRNA'lar son yıllarda üzerinde çok sayıda çalışma yapılan önemi her geçen gün daha da artan moleküllerdir. miRNA'ların gebelikle ve özellikle plasenta ile ilişkisinin belirlenmesi, miRNA'ların preeklampsinin tanı ve tedavisinde de kullanılabileceğini düşündürmüştür. Bu nedenle, preeklampsi ile ilişkili miRNA çalışmaları son yıllarda hız kazanmıştır. Bu çalışmada aday olarak belirlediğimiz miRNA'ların, maternal kan lökositlerindeki preeklampsi ile ilişkisi araştırılmıştır. Ancak, preeklampsinin tek tedavisinin doğum olması, çalışmamız süresince hasta takibinde ve örnek toplanmasında bazı sorunlara neden olmuştur. Preeklampsi şikayetiyle kliniğe başvuran gebelerin bazılarının sağlık durumu ciddileştiğinde, araştırma için kan örneği alınamadan acil doğum gerekliliği oluşmuştur. Aynı nedenle gün içinde kliniğe başvuran gebelerin sabah kan alım zamanına kadar kötüleşmesi durumunda da gebeler acil doğuma alınmıştır. Bu nedenle sabah 08:00 – 10:00 saatleri arasında kliniğe başvuran gebelerin kanları EDTA'lı tüplere, günün diğer saatinde başvuran gebelerin kanları ise stabilizatör içeren özel tüplere alınmıştır. EDTA'lı tüplere alınan kanın maksimum 4 saat içerisinde laboratuvara gelerek çalışılması gerekirken, özel kan tüplerindeki kanlar ise 1 ay boyunca stabil şekilde kalabilmektedir. Çalışma örneklerinin RNA izolasyonu için transferi ve çalışma tekniklerinin standardizasyonu, miRNA ifade düzeylerinin araştırıldığı çalışmalarda önem taşımaktadır. Çalışmamızda preeklampsi hastalarından acil durumlarda stabilizatör

içeren özel tüplere kan alınmıştır. Çalışma içi standardizasyonu için aynı oranda kontrol vakalarından da bu tüplere kan alınarak RNA izole edilmiştir. Sonuç olarak, çalışmamızda örnek toplanması ve uygulamalar olabildiğince standardize edilmeye çalışılmıştır. Ancak, literatürde bazı miRNA'ların gün içi ifade farklılıklarının dahi olduğu bilinmektedir (131). Hastalık tanı ve takibinde kullanılmak üzere biyobelirteç olarak miRNA'ların araştırıldığı çalışmalarda öncelikle gün içi ifade değişimlerinin olup olmadığının araştırılması önemli olabilir. Bu çalışmanın bir kısıtlılığı olarak, rastgele seçilmiş az sayıdaki sağlıklı ve hasta kanlarında gün içinde farklı saatlerde alınan örneklerdeki miRNA ifade düzeyleri araştırılamamıştır. Çalışılan miRNA'ların gün içi ifade farklılıkları halen bilinmemektedir.

miR-155'in aşırı ekspresyonu, bir preeklampsisi belirteci olarak ve onun şiddetinin belirleyicisi olarak çalışılmıştır (88). 2010 yılında, Zhang ve arkadaşları ilk kez miR-155'in CYR61 (cysteine-rich protein 61) düşürerek preeklampsie katkıda bulunduğunu keşfetmişlerdir. Yaptıkları çalışmada, miR-155'in, plasental angiogenezi engelleyen ve böylece preeklampsisi patogenezi artıran miR-155-CYR61-VEGF yolu ile trofoblast migrasyonuna müdahale ettiğini göstermişlerdir (88). Li ve arkadaşları yaptıkları çalışmada (2014), ağır preeklampsisi plasentalarında kontrollerle karşılaştırıldığında, miR-155 düzeylerinde ve eNOS ekspresyonunda önemli bir artış olduğunu göstermiştir (132). Son zamanlarda, preeklampsinin patogenezi NF- κ B'ye bağlı miR-155/eNOS yolunda yer alan miR-155 bulunmuştur. miR-155'in trofoblast hücrelerinde hücre invazyonunu inhibe ettiğini ve etkinin eNOS'un aşırı ekspresyonu ile kurtarıldığını göstermiştir (133). Bu çalışma, miR-155'in eNOS modülasyonu yoluyla göç davranışında negatif düzenleyici bir role sahip olduğunu ortaya koymuştur (89). Kim ve arkadaşları (2017) redoks-duyarlı NF- κ B/miR-155/eNOS ekseninin preeklampside de dahil olmak üzere vasküler bozuklukların patogeneziinde çok önemli olabileceğini göstermiştir (133). Jairajpuri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2017), yedi miRNA türü, preeklampitik gebeler ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, miRNA'lardan miR-215, miR-155, miR-650, miR-210 ve miR-21 düzeyleri yükselmişken, kontrol kadınlara göre preeklampitik kadınlarda miR-18a ve miR-19b aşağı regüle edilmiştir (134). Yaptığımız bu çalışma da, preeklampitik gebelerde ve sağlıklı gebelerde, miR-155-5p'nin ekspresyon düzeyleri karşılaştırılmıştır. Erken hafif preeklampsisi, erken ağır preeklampsisi ve 29. hafta kontrol grupları arasındaki miR 155-5p ifade düzeyi karşılaştırmalarında anlamsızlık gözlenirken, geç hafif preeklampsisi,

geç ağır preeklampsisi ve 37. hafta kontrol grupları arasındaki miR-155-5p ifade düzeyi karşılaştırmalarında, miR-155-5p düzeyinin kontrole göre preeklampsili gebelerde anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir. miR-155-5p düzeyinin geç ağır preeklampsili gebelerde 1.4 kat azaldığı, geç hafif preeklampsili gebelerde ise 1.5 kat azaldığı belirlenmiştir. Erken dönem ve geç dönem arasındaki bu ekspresyon farklıları bize preeklampsinin patogenezinin gebeliğin 34. haftasından sonra farklı olabileceğini göstermektedir. Tüm gruplar arasında ki ve erken dönemdeki miR 155-5p düzeylerinin literatüre göre anlamsız çıkmış olma sebebi diğer çalışmalarda maternal serumdaki düzeyleri incelenirken bu çalışmada maternal kandan elde edilen lökositlerdeki düzeyleri belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışmada ki preeklamptik gebeler erken ve geç dönem, ağır ve hafif preeklampsisi olarak gruplandırılarak literatürde daha önceki miRNA çalışmalarından farklı olarak sadece preeklampsisi tanısı şeklinde incelenmemiştir. Bu durumlar, miRNA ekspresyon farklılıklarının nedenleri olarak değerlendirilebilir.

miR-21, apoptosis ile ilişkilendirilmiş bir miRNA'dır ve invazyon, intravasasyon ve metastazda rol aldığı kolorektal kanser de dahil olmak üzere çeşitli kanser tiplerinde en fazla araştırılan miRNA'lardan biridir (94) ve anormal ekspresyonunda kolorektal kanserde kötü prognozu öngörebileceği belirtilmiştir (135,136). Lie ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (2013), SOLID sekanslama kullanılarak hafif preeklampsisi gebelerinin plazması üzerinde miR-21'in yukarı regülasyonu tespit edilmiştir (92). Ayrıca Lasabova ve arkadaşlarının 2015 yılında gerçekleştirmiş olduğu bir başka çalışmada preeklampsili kadınlarda plasental miR-21'in aşırı ekspresyonun olduğu gösterilmiştir (93). Jairajpuri ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada (2017), preeklamptik gebeleri sağlıklı gebelerle karşılaştırarak, her iki grupta alınan plazma örneklerinde miRNA ekspresyon farklılıkları incelemiştir. Araştırılan miRNA'lardan miR-215, miR-155, miR-650, miR-210 ve miR-21 düzeylerinin preeklamptik gebelerde yükseldiği, miR-18a ve miR-19b ise aşağı regüle edildiği belirlenmiştir (137). Bu çalışmada ise araştırılmak üzere seçilen miR-21-3p'in ifade düzeyleri özellikle geç dönemde preeklampsili gebelerde sağlıklı gruba göre azalmış bulunmuştur. Klinik şiddetine göre miR 21-3p ifade düzeyinin ağır preeklampsili gebelerde 1.9 kat azaldığı, hafif preeklampsili gebelerde 1.5 kat azaldığı belirlenmiştir. Sağlıklı gebelerde kendi içinde miR-21 düzeyinin gebelik haftası ilerledikçe anlamlı bir şekilde 1.2 kat arttığı (29. Haftasına göre 37. Haftada) gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, literatür

ile uyumlu olarak geç gruplarda ve kontrol gruplarında miR 21-3p'nin ekspresyonunda farklılar gözlemlenirken, tüm gruplar arasında ve erken dönem grupları arasında karşılaştırma yapıldığında istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. Bunun nedeni mir-21-3p'nin preeklampsisi ile ilişkili olarak yapılan çalışmaların çok az olması ve yapılan çalışmalarında maternal plazma ve plasenta dokusunda yapılmış olmasından kaynaklanıyor olabilir (92,93). Ayrıca literatürdeki yapılan çalışmalarda, ağır ve hafif grup olarak preeklampitik gebeler ayırılmamış, tüm grupları birlikte çalışılmıştır. Bu çalışmada preeklampitik gebelerde geç dönemde ve kontrol gruplarında 37. gebelik haftasında 29. haftaya kıyasla miR-21'in ekspresyonunun artmasından dolayı, miR-21'in üçüncü trimesterin son dönemi ile ilişkili olabileceğin düşündürmektedir.

Mikrodizin ve gerçek zamanlı PZR sonuçlarında, sağlıklı gebeler ile preeklampitik gebeler karşılaştırıldığında, preeklampsili gebelerde miR-518b'nin plasental ifadesinin anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir (12). Bu plasentaya özgü miRNA'lar, yaklaşık 100 kb'lik bir bölge içinde, plasenta ile oldukça ilişkili 46 miRNA içeren, yaygın olarak C19MC (kromozom 19 miRNA küme) olarak adlandırılan 19q13.42'de yerleştirilmiştir (137). C19MC miRNA'lar maternal dolaşıma salınmakta ve plasentada C19MC miRNA'ları preeklampsili kadınların plazmalarında anormal ifade düzeylerine sahip olduğu gözlenmiştir. Böylece, C19MC miRNA'larının preeklampsinin etiyolojisine katkıda bulunabileceği öngörülmektedir (8,138,139). Preeklampsinin patogenezi yeterince anlaşılamamış olmakla birlikte erken dönem preeklampsinin plasenta aracılıklı bir hastalık olduğu düşünülmektedir (140,141). STBM (yükselmiş dolaşım sinsitotrophoblastik mikropartiküller), erken dönem preeklampside geç dönem preeklampsie oranla daha sık tespit edilmiştir. STBM konsantrasyonu ve normal sağlıklı gebelik arasında da doğrusal bir ilişki vardır (142). Farklı çalışmalar da C19MC miRNA'larının hamilelik sırasında trofoblastlarda yüksek oranda eksprese edildiğini ve doğumdan sonra anne kanından atıldığını bildirmiştir (138). Bu çalışmada ise, tüm gruplar arasında ve geç dönemde miR-518b ifade düzeylerinde anlamlı bir değişim gözlenmezken diğer çalışma sonuçları ile uyumlu olarak erken dönemdeki (29. Haftadaki) preeklampsili gebelerde anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. Buna göre, miR 518b düzeyinin erken ağır preeklampsili gebelerde 4.6 kat, erken hafif preeklampsili gebelerde ise 2 kat arttığı belirlenmiştir. Mevcut hipoteze göre, bozulmuş ekstravillous trofoblastlar, hipoksiya, sinsityotrofoblast membran parçalarının maternal döngüye karışması ve klinik septomlara yol açan maternal inflamatuvar yanıtı

gibi etkilerinin ardından uterin spirel arterlerin dönüşümünde hatalara sebep olmaktadır. Bu nedenle, maternal plazmada C19MC miRNA'larının yukarı regülasyonu, preeklampsinin başlangıcında trofoblastların disfonksiyonu ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir (140). Benzer şekilde maternal kandaki lökositlerde de bu artışın gözlenmesi inflamatuvar bir etkileşim olduğunu da gösteriyor olabilir.

Çalışmamızda ayrıca geç ve erken dönemde gruplardaki her bir miRNA'nın klinik ve biyokimyasal sürekli değişkenler ile korelasyonu detaylı bir şekilde incelenmiştir. Geç dönemdeki korelasyon sonuçlarına göre, miR-21-3p düzeyinin, kan protein/kreatin miktarı, LDH düzeyi, gebelikte SKB ve BKİ değerleri ile zayıfda olsa negatif korelasyonu olduğu, miR-155-5p ifade düzeyinin, sadece BKİ değerleri ile zayıf bir negatif korelasyonu olduğu ve miR-518b düzeyinin, biyokimyasal değerler ile anlamlı bir korelasyonu bulunmamıştır. Erken dönemde miR-21-3p ve miR-155-5p ifade düzeyinin biyokimyasal değerler ile anlamlı bir korelasyonu olmadığı saptanmıştır. miR-518b ifade düzeyinin ise kan protein/kreatin miktarı, idrarda protein, gebelikte SKB ve DKB değerleri ile zayıfda olsa pozitif korelasyonu olduğu bulunmuştur. Preeklampitik gebelerde seçtiğimiz aday miRNA'ların preeklampsisi arasındaki ilişki hem literatürde hem de çalışmamızda gösterilmiştir. Preeklampsinin ortaya çıkması durumunda biyokimyasal parametrelerdeki AST, ALT, LDH yüksekliği, trombosit düşüklüğü gibi değişiklikler belirlenmiştir (2). Daha önce yapılan preeklampsisi ile miRNA arasındaki ilişkiye yönelik çalışmalarda, miRNA'lar ve biyokimyasal parametreler arasındaki korelasyonlar bu şekilde detaylı olarak gösterilmemiştir. Çalışmamızdaki biyokimyasal parametreler ve miRNA'lar arasındaki korelasyon sonuçları preeklampitik gebelerde ekspresyonu değişen miRNA'nın yine aynı şekilde preeklampitik gebelerde meydana gelen biyokimyasal parametrelerin değişmesinden kaynaklı bir ilişki olabilir.

Sonuç olarak yaptığımız bu çalışmamızda preeklampsinin erken, geç, hafif ve ağır grupları ile 29. hafta ve 37. hafta kontrol grupları karşılaştırıldığında aday olarak seçilmiş miRNA ifade düzeylerinde anlamlılıklar gözlenmiştir. Şimdiye kadarki çalışmalardan farklı olarak, preeklampsisi ile ilişkili olabilecek seçtiğimiz bu aday miRNA'lar ilk defa bu çalışmada, farklı başlangıç dönemi ve klinik şiddetine göre gruplanmış vakalarda araştırılmıştır. Bu proje sayesinde, ağır komplikasyonlara sebebiyet veren preeklampside gebelerin tanı ve takibinde kullanılabilecek yeni

biyobelirteçlerin belirlenmesine ve maternal kandaki lökositlerdeki ifade düzeylerinin belirlenmiş olması hastalık patogenezi aydınlatmaya yönelik yeni bilgilerin eldesine imkan sağlamıştır. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, preeklampsili gebelerde miRNA ifade düzeyleri araştırılırken dönem ve hastalık şiddetinin önem taşıdığı ortaya konmuştur. Bu çalışma sonuçlarına göre preeklampside, yeni biyobelirteç adayları olarak miRNA'ların tespitinde kullanılabilecek yeni tanı ve takip testlerinin geliştirilmesinde, özellikle RNA kaynağının kökeni ve kapsadığı gebelik dönemleri ile şiddetinin belirlenmesi gerekliliği ortaya çıkmıştır. Daha önce yapılmış olan preeklampsisi çalışmaları olduğu gibi (88,92), ileri vadede ise, çalışmış olduğumuz hasta gruplarından alınarak uygun şartlarda saklanmış olan serumlarında miRNA ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi ve böylece lökosit düzeyleri ile karşılaştırılarak tanı ve takipteki önemlerinin ortaya konulması hedeflenmektedir. Ayrıca, gebelik dönemlerinde miRNA ekspresyonları araştırılan preeklampitik hastaların doğumdan sonraki 2. aylarında ve 1. yıllarındaki kan miRNA düzeylerinin belirlenmesi de ileride yapılması planlanan çalışmaların arasında yer almaktadır. Preeklampsisi patogeneziinde lökositlerdeki miRNA düzeylerindeki değişimlerin etkisini incelemek için regüle ettiği hedef mRNA'ların ifade düzeylerinin belirlenmesi önem taşıyabilir.

KAYNAKLAR

1. Solomon CG, Seely EW. Preeclampsia-searching for the cause. *N Engl J Med*. 2004; 350: 641-642.
2. American College of, O., Gynecologists, and P. Task Force on Hypertension in, Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol*, 2013; 122(5): 1122-1131.
3. He H, Jazdzewski K, Li W, Liyanarachchi S, Nagy R, Volinia S, Calin GA, Liu CG, Franssila K, Suster S, Kloos RT, Croce CM, de la Chapelle A. The role of microrna genes in papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102: 19075-19080.
4. Storey JD. A direct approach to false discovery rates. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B (Statistical Methodology)*. 2002; 64: 479-498.
5. Storey JD, Tibshirani R. Statistical significance for genomewide studies. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2003; 100: 9440-9445.
6. Zhu XM, Han T, Sargent IL, Yin GW, Yao YQ. Differential expression profile of microRNAs in human placentas from preeclamptic pregnancies vs normal pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*. 2009; 200: 661-661.
7. Mayor-Lynn K, Toloubeydokhti T, Cruz AC, Chegini N. Expression profile of microRNAs and mRNAs in human placentas from pregnancies complicated by preeclampsia and preterm labor. *Reprod Sci*. 2011;18:46-56
8. Miura, K., Miura, S., Yamasaki, et al., Identification of pregnancy-associated MicroRNAs in maternal plasma. *Clin. Chem*. 2010; 56:11 1767-1771
9. Mouillet, J.F., Chu, T., Hubel, C.A. The levels of hypoxia-regulated microRNAs in plasma of pregnant women with fetal growth restriction. *Placenta*. 2010; 31: 781-784
10. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2000; 183(1): 1-22.
11. M.Nedim Çiçek: Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi.3.Atlas Kitapçılık: Gebelik ve Hipertansiyon.2012; 43: 523 – 524

12. Lenfant C; National Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. Working group report on high blood pressure in pregnancy. *J Clin Hypertens* (Greenwich). 2001;3(2): 75-88.
13. ACOG (American Collage of Obstetricans and Gynecologists) Practice Bulletin no 33, Diagnosis and manangement of preeclampsia and eclampsia. *Obstet.Gynecol* 2002; 99:159
14. Roberts Jm M. Pregnancy related hypertansion.(In): Creasy RK, Resnik R, eds. *Maternal–Fetal Medicine*. 5th ed. 2004: 859-99.
15. Dawey, DA., MacGillivray, I.. The classification and definition of the hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1988;158: 892-898.
16. Kyle PM, Fielder JN, Pullar B, et al. Comparison of methods to identify significant proteinuria in pregnancy in the outpatient setting. *BJOG* 2008;115:523–527
17. Papanna R, Mann LK, Kouides RW, et al. protein /creatinine ratio in preeclampsia: A systematic review. *Obstet Gynecol*, 2008; 112: 135
18. Levine, R.J., Ewell, M.G., Hauth, J.C., Curet, L.B., Catalano, P.M., Morris, C.D., et al. Should the definition of preeclampsia include a rise in diastolic blood pressure of ≥ 15 mm Hg to a level. 2000.
19. SOGC, Clinical Practice Guideline, Diagnosis, Evaluation and Management of the Hypertensive Disoreders Of Pregnancy. *J Obstet Gynecol Canada* 2008 March: 30 (3).
20. Von Dadelszen P, Magee LA, Roberts JM. Subclassification of preeclampsia. *Hypertens Pregnancy* 2003; 22:143-148.
21. Cunningham, F.G. and M.D. Lindheimer, Hypertension in pregnancy. *N Engl J Med*, 1992. 326 (14): 927-932.
22. Matthys, L.A., et al., Delayed postpartum preeclampsia: an experience of 151 cases. *Am J Obstet Gynecol*, 2004; 190(5): 1464-6.
23. Yancey, L.M., et al., Postpartum preeclampsia: emergency department presentation and management. *J Emerg Med*, 2011; 40 (4): p. 380-384.
24. Abalos E, Cuesta C, Grosso AL, et al. Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: a systematic review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013; 170:1.
25. Ananth CV, Keyes KM, Wapner RJ. Pre-eclampsia rates in the United States, 1980-2010: age-period-cohort analysis. *BMJ* 2013; 347.

26. Hutcheon JA, Lisonkova S, Joseph KS. Epidemiology of pre-eclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2011; 25: 391.
27. Lisonkova S, Sabr Y, Mayer C, et al. Maternal morbidity associated with early-onset and late-onset preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2014; 124:771.
28. Sibai BM, Ewell M, Levine RJ, et al: Risk factors associated with preeclampsia in healthy nulliparous women. *Am J Obstet Gynecol*, 1997; 177:1003
29. Walker JJ: Pre-eclampsia, *Lancet*. 2000;356:1260
30. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ*. 2005;330:565.
31. Bartsch E, Medcalf KE, Park AL, et al. Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: systematic review and meta-analysis of large cohort studies. *BMJ* 2016; 353:i1753.
32. Lindheimer MD, Taler S, Cunningham FG: Hypertensive disorders in Pregnancy. *J Am Soc Hyper* 2009;6:484.
33. Fisher SJ, McMaster M, Roberts JM: The placenta in normal pregnancy and preeclampsia. In Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG(eds): *Chesley's hypertensive Disorders of Pregnancy*, 3rd ed. New York ,Elsevier, 2009
34. Madazlı R, Budak E, Calay Z, et al: Hydralazine for treatment of severe hypertension in pregnancy: Meta-analysis, *BMJ*. 2003;327(7421):955
35. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth SJ, Rouse DJ, Sponge CY: *Williams Obstetrics*, 23rd edition. McGRAW-HILL
36. Redman CWG, Sargent II, Roberts JM: Immunology of abnormal pregnancy and preeclampsia. In Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG (eds): *Chesley's hypertensive Disorders of Pregnancy*, 2009, 129
37. Cunningham FG, Mac Donald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LJ, Hanks GDV, Clark SL. *Williams Obstetrics*. 21th ed, 2001; 567-609.
38. Klonoff-Cohen HS, Savitz DA, Cefalo RC. An epidemiologic study of contraception and preeclampsia. *JAMA* 1989;262:3143-47
39. Wilson ML, Goodwin TM, Pan VL, Ingles SA. Molecular epidemiology of preeclampsia. *Obstet Gynecol Surv* 2003;58(1):39-66
40. Cunningham FG, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LC, Hauth JC, Wenstrom KD. *Williams Obstetrics*. 21th edition. McGRAW-HILL, 2001; 584-8.

41. John JH, Ziebland S, Yudkin P, et al: Effects of fruits and vegetable consumption on plasma antioxidant concentrations and blood pressure: A randomized controlled trial. *Lancet*. 2002;359:1969
42. Zhang C, Williams MA, King IB, et al: Vitamin C and the risk of preeclampsia- results from dietary questionnaire and plasma assay. *Epidemiology*. 2002;13:382,
43. Villar J, Hany AA, Merialdi M, et al: World Health Organization randomized trial of calcium supplementation among low calcium intake pregnant women. *Am J Obstet Gynecol*. 2006;194:639
44. Ward K, Lindheimer MD: Genetic factors in the etiology of preeclampsia /eclampsia. In Lindheimer MD, Roberts JM, Cunningham FG(eds)Chesley's Hypertensive Disorders in Pregnancy,3rd ed. Elsevier, In press,2009, p51.
45. Sibai BM, Dekker G, Kupferminc M:Preeclampsia. *Lancet*. 2005;365: 785.
46. Bezerra PC, Leao MD, Queiroz JW et al. Family history of hypertension as an important risk factor for the development of severe preeclampsia. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2010; 89: 612–617.
47. Yu L, Chen M, Zhao D et al. The H19 gene imprinting in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Placenta* 2009; 30: 443–447.
48. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Hauth JC, Rouse DJ, Spong CY. Williams Obstetrik. 34.Bölüm.2010; ISBN:978-975-420-768-2
49. Çiçek N, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. 39. Bölüm 2. Basım. İstanbul: Güneş Kitabevi; 2006.
50. Abalos E, Duley L, Steyn DW, Henderson- Smart DJ. Antihypertensive drug therapy for mild to moderate hypertension during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2007;(1):CD002252.
51. Api M, Api O. Gebelik ve Hipertansiyon. *Türkiye Klinikleri J Endocrin-Special Topics*. 2013;6(3):79-91
52. Zhang, C. MicroRNomics: a newly emerging approach for disease biology. *Physiol Genomics*.2008; 33, 139–147
53. Huntzinger E, Izaurralde E. Gene silencing by microRNAs: Contributions of translational repression and mRNA decay. *Nat Rev Genet* 2011; 12(2): 99-110.
54. Goodfellow SJ, White RJ. Regulation of RNA polymerase III transcription during mammalian cell growth. *Cell Cycle* 2007; 6: 2323-2326.

55. Felton-Edkins ZA, Kenneth NS, Brown TR, et al. Direct regulation of RNA polymerase III transcription by RB, p53 and c-Myc. *Cell Cycle*. 2003; 2: 181-184.
56. Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD, et al. Human microRNA genes are frequently located at fragile sites and genomic regions involved in cancers. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101(9): 2999-3004.
57. Shomron N, Levy C. MicroRNA-biogenesis and pre-mRNA splicing crosstalk. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2009; Article ID 594678, 6 pages. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 1993; 75:843–854.
59. Wightman B, Ha I, Ruvkun G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell*. 1993; 75:855–862.
60. Pasquinelli EA, Reinhart JB. Conservation of the sequence and temporal expression of *let-7* heterochronic regulatory RNA. *Nature*. 2000; 408: 86-89.
61. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M. The 21-nucleotide *let-7* RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 2000; 403: 901–906
62. Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 2004; 116:281–297.
63. Kwak PB, Iwasaki S, Tomari Y. The microRNA pathway and cancer. *Cancer Sci*. 2010; 101: 2309-2315
64. Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs. *Science*. 2001; 294: 853-858.
65. Esquela-Kerscher A, Slack FJ. Oncomirs - microRNAs with a role in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2006; 6:259-269.
66. Lund E, Guttinger S, Calado A, et al. Nuclear export of micro-RNA precursors. *Science*. 2004; 303:95–98.
67. Yi R, Qin Y, Macara IG, et al. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev*. 2003; 17: 3011–3016.
68. Lee Y, Hur I, Park SY, et al. The role of PACT in the RNA silencing pathway. *EMBO J*. 2006; 25:522–532.
69. Schwarz DS, Hutvagner G, Du T, et al. Asymmetry in the assembly of the RNAi enzyme complex. *Cell*. 2003; 115:199–208.

70. Mustafa Hitit , Ercan Kurar, Aydın Güzeloğlu. MikroRNA Biyogenezi. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg. 2015; 10(3): 211-218
71. Shenouda SK, Alahari SK. MicroRNA function in cancer: oncogene or tumor suppressor? *Cancer Metastasis Rev.* 2009; 28: 369-378
72. Sun W, Li YSJ, Huang HD, Shyy JYJ, Chien S. microRNA: A Master Regulator of Cellular Processes for Bioengineering Systems. *Annu Rev Biomed Eng* 2010;12:127.
73. Pillai RS. MicroRNA function: multiple mechanisms for a tiny RNA? *RNA* 2005;11:1753–1761.
74. Askie LM, Duley L, Henderson-Smart DJ, Stewart LA; PARIS Collaborative Group. Antiplatelet agents for prevention of preeclampsia: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet.* 2007;369:1791–1798.
75. Liao Y, Lönnerdal B. miR-584 mediates post-transcriptional expression of lactoferrin receptor in Caco-2 cells and in mouse small intestine during the perinatal period. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010;42:1363–1369.
76. Pineles BL, Romero R, Montenegro D, Tarca AL, Han YM, Kim YM, Draghici S, Espinoza J, Kusanovic JP, Mittal P, Hassan SS, Kim CJ. Distinct subsets of microRNAs are expressed differentially in the human placentas of patients with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196:261-6.
77. Zhang Y, Fei M, Xue G, Zhou Q, Jia Y, Li L, Xin H, Sun S. Elevated levels of hypoxia-inducible microRNA-210 in preeclampsia: new insights into molecular mechanisms for the disease. *J Cell Mol Med.* 2012;16:249–259.
78. Askie LM, Duley L, Henderson-Smart DJ, Stewart LA; PARIS Collaborative Group. Antiplatelet agents for prevention of preeclampsia: a meta-analysis of individual patient data. *Lancet.* 2007;369:1791–1798.
79. Liao Y, Lönnerdal B. miR-584 mediates post-transcriptional expression of lactoferrin receptor in Caco-2 cells and in mouse small intestine during the perinatal period. *Int J Biochem Cell Biol.* 2010;42:1363–1369.
80. Pineles, B. L. et al. Distinct subsets of microRNAs are expressed differentially in the human placentas of patients with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2007; 196: 261–6 .
81. Hu, Y. et al. Differential expression of microRNAs in the placentae of Chinese patients with severe pre-eclampsia. *Clin Chem Lab Med.* 2009; 47, 923–929

82. Laresgoiti-Servitje E. A leading role for the immune system in the pathophysiology of preeclampsia. *J Leukoc Biol.* 2013;94:247-57
83. O'Neill, L. A. J. Outfoxing Foxo1 with miR-182. *Nat. Immunol.* 2010; 11: 983–984.
84. Tang, T., Wong, H. K., Gu, W., Yu, M. Y., To, K. F., Wang, C. C., Wong, Y. F., Cheung, T. H., Chung, T. K., Choy, K. W. MicroRNA-182 plays an onco-miRNA role in cervical cancer. *Gynecol. Oncol.* 2013;129:199–208.
85. Noack, F., Ribbat-Idel, J., Thorns, C., Chiriac, A., Axt-Flidner, R., Diedrich, K., Feller, A. C. miRNA expression profiling in formalin- fixed and paraffin-embedded placental tissue samples from pregnancies with severe preeclampsia. *J. Perinat. Med.* 2011;39: 267–271.
86. Zhang, Z., Sun, H., Dai, H., Walsh, R., Imakura, M., Schelter, J., Burchard, J., Dai, X., Chang, A. N., Diaz, R. L., Marszalek, J. R., Bartz, S. R., Carleton, M., Cleary, M. A., Linsley, P. S., Grandori, C. MicroRNA miR-21-3p0 modulates cellular response to hypoxia through the MYC antagonist MNT. *Cell Cycle.* 2009;8: 2756–2768.
87. Zhang, Y., Fei, M., Xue, G., Zhou, Q., Jia, Y., Li, L., Xin, H., Sun, S. Elevated levels of hypoxia-inducible microRNA-210 in pre-eclampsia: new insights into molecular mechanisms for the disease. *J. Cell. Mol. Med.* 2012;16: 249–259.
88. Zhang, Y., Diao, Z., Su, L., Sun, H., Li, R., Cui, H., Hu, Y. MicroRNA-155 contributes to preeclampsia by down-regulating CYR61. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2010; 202: 466.–466.
89. Sun HX, Zeng DY, Li RT, et al. Essential role of microRNA-155 in regulating endothelium-dependent vasorelaxation by targeting endothelial nitric oxide synthase. *Hypertension* 2012;60:1407–14.
90. Li X, Li C, Dong X, et al. MicroRNA-155 inhibits migration of trophoblast cells and contributes to the pathogenesis of severe preeclampsia by regulating endothelial nitric oxide synthase. *Mol Med Rep* 2014;10:550–4.
91. Lu Gan, Zheng Liu, et al. MiR-21-3p0 and miR-155-5p as potential diagnostic markers for pre-eclampsia pregnancies. *Medicine* 2017; 96:28
92. Li, H., Ge, Q., Guo, L., Lu, Z., Maternal Plasma miRNAs expression in Preeclamptic Pregnancies. *Biomed. Res. Int.* 2013; Article ID 970265, 9 pages
93. Lasabova, Z., Vazan, M., Zibolenova, J., Svecova, I., Overexpression of miR-21-3p and miR-122 in preeclamptic placentas. *Neuro. Endocrinol. Lett.* 2015; 36(7): 695-699.

94. Lu, J., Getz, G., Miska, E.A., Alvarez-Saavedra, E., Lamb, J., Peck, D., Sweet-Cordero, A., Ebert, B.L., Mak, R.H., Ferrando, A.A., Downing, J.R., Jacks, T., Horvitz, H.R., Golub, T.R., . MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature*.2005; 435: 834-838.
95. Liang Y, Ridzon D, Wong L, Chen C. Characterization of microRNA expression profiles in normal human tissue. *BMC Genomics*. 2007; 8: 166.
96. Morin RD, O'Connor MD, Griffith M, Kuchenbauer F, Delaney A, Prabhu AL, et al. Application of massively parallel sequencing to microRNA profiling and discovery in human embryonic stem cells. *Genome Res*. 2008; 18: 610-621.
97. Rippe V, Dittberner L, Lorenz VN, Drieschner N, Nimzyk R, Sendt W, et al. The two stem cell microRNA gene clusters C19MC and miR-371-3 are activated by specific chromosomal rearrangements in a subgroup of thyroid adenomas. *PLoS One*. 2010; 5: 9485.
98. Donker RB, Mouillet JF, Chu T, Hubel CA, Stolz DB, Morelli AE, et al. The expression profile of C19MC microRNAs in primary human trophoblast cells and exosomes. *Mol Hum Reprod*. 2012; 18: 417-424.
99. Gilad S, Meiri E, Yogeve Y, Benjamin S, Lebanony D, Yerushalmi N, et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One*. 2008; 3: 3148.
100. Ilona H, Katerina K, et al. First trimester screening of circulating C19MC microRNAs and the evaluation of their potential to predict the onset of preeclampsia and IUGR. *PLoS One*. 2017; e0171756.
101. G. Fu, J. Brkic, H. Hayder, C. Peng, MicroRNAs in Human Placental Development and Pregnancy Complications, *Int. J. Mol. Sci*. 2013; 14(3): 5519-44.
102. J.N. Weinstein, 'Omic' and hypothesis-driven research in the molecular pharmacology of cancer, *Curr. Opin. Pharmacol*. 2002; 2(4): 361–5.
103. Duley L: The global impact of pre eclampsia and eclampsia. *Semin Perinatol*.2009; 33: 130-137
104. Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: An excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 1999; 180: 499–506.
105. Zhao Z, Moley KH, Gronowski AM. Diagnostic potential for miRNAs as biomarkers for pregnancy-specific diseases. *Clin Biochem*. 2013; 46: 953–960.
106. Urbich, C., Kuehbach, A. & Dimmeler, S. Role of microRNAs in vascular diseases, inflammation, and angiogenesis. *Cardiovasc Res*.2008; 79:581–588

107. Enquobahrie, D. A. et al. Placental microRNA expression in pregnancies complicated by preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2011; 204: 178:12–21.
108. Wang, W. et al. Preeclampsia up-regulates angiogenesis-associated microRNA (i.e., miR-17, -20a, and -20b) that target ephrin-B2 and EPHB4 in human placenta. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97: 1051–1059
109. Bodnar LM, Catov JM, Klebanoff MA, Ness RB, Roberts JM. Prepregnancy body mass index and the occurrence of severe hypertensive disorders of pregnancy. *Epidemiology.* 2007; 18 :234–9.
110. Catov JM, Ness RB, Kip KE, Olsen J. Risk of early or severe pre-eclampsia related to pre existing conditions. *International Journal of Epidemiology.* 2007; 36 :412–9.
111. Bodnar LM, Ness RB, Markovic N, Roberts JM. The risk of preeclampsia rises with increasing prepregnancy body mass index. *Annals of Epidemiology.* 2005; 15 :475–82.
112. Grundy MA, Woodcock S, Attwood SE. The surgical management of obesity in young women: consideration of the mother's and baby's health before, during, and after pregnancy. *Surgical Endoscopy and Other Interventional Techniques.* 2008; 22 :2107–2116.
113. Abodeely A, Roye GD, Harrington DT, Cioffi WG. Pregnancy outcomes after bariatric surgery: maternal, fetal, and infant implications. *Surgery for Obesity and Related Diseases.* 2008; 4 :464–471.
114. Barton, J.R., Sibai, B.M., Prediction and prevention of preeclampsia. *Obstet. Gynecol.* 2008; 112: 359–372.
115. Bozhinova S, Poroshanova V, Sampat D. Delivery and perinatal aspects of pregnant women with pre-eclampsia-eclampsia. *Akush Ginekol (Sofiia).* 2004; 43(7): 3-9.
116. Kaufman P, Black S, Huppertz B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. *Biol Reprod.* 2003; 69 :1–7
117. American College of Obstetrics and Gynecology Practice Bulletin 33 Diagnosis and Management of Preeclampsia and Eclampsia. January, 2002
118. SK Srinivas , AG Edlow , PM Neff , MD Sammel , CM Andrela , MA Elovitz. Rethinking IUGR in preeclampsia: dependent or independent of maternal hypertension? *J Perinatol .* 2009 Oct; 29(10): 680–684.

119. Yonggang Zhang, Guoqing Huang, Yipeng Zhang, Hongling Yang, Yan Long, Qihua Liang & Zaoxiong Zheng. MiR-942 decreased before 20 weeks gestation in women with preeclampsia and was associated with the pathophysiology of preeclampsia in vitro, *Clinical and Experimental Hypertension*. 2017; 39:2, 108-113,
120. Bujold, E. et al. Prevention of preeclampsia and intrauterine growth restriction with aspirin started in early pregnancy: a meta-analysis. *Obstet Gynecol*. 2010; 116: 402–414
121. Than NG, Romero R, Hillermann R, Cozzi V, Nie G, Huppertz B. Prediction of Preeclampsia—A Workshop Report. *Placenta*. 2008;29:83–85.
122. Levine RJ, Lam C, Qian C, Yu KF, Maynard SE, Sachs BP, et al. Soluble endoglin and other circulating antiangiogenic factors in preeclampsia. *N Engl J Med*. 2006; 355: 992–1005.
123. Baumann MU, Bersinger NA, Surbek DV. Serum markers for predicting preeclampsia. *Mol Aspects Med*. 2007; 28: 227–244.
124. Moore Simas TA, Crawford SL, Bathgate S, Yan J, Robidoux L, Moore M, et al. Angiogenic biomarkers for prediction of early preeclampsia onset in high-risk women. *J Matern-Fetal Neonatal Med Off J Eur Assoc Perinat Med Fed Asia Ocean Perinat Soc Int Soc Perinat Obstet*. 2014; 27: 1038–1048.
125. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim K-H, England LJ, Yu KF, et al. Circulating Angiogenic Factors and the Risk of Preeclampsia. *N Engl J Med*. 2004; 350: 672–683.
126. Fu, G., Brkic', J., Hayder, H. & Peng, C. MicroRNAs in Human Placental Development and Pregnancy Complications. *Int J Mol Sci*. 2013; 14: 5519–5544
127. Zampetaki A, Mayr M. MicroRNAs in vascular and metabolic disease. *Circ Res* 2012;110:508–522.
128. Carine M, Linda T, Silvia B, Agnès N, Michelle N, Frédéric C. Dysregulated circulating miRNAs in preeclampsia. *Biomedical Reports*. 2016; 5: 686-692
129. Forest, J. C. et al. Candidate biochemical markers for screening of pre-eclampsia in early pregnancy. *Clin Chem Lab Med*. 2012; 50: 973–984
130. Caradeux, J. et al. First trimester prediction of early onset preeclampsia using demographic, clinical, and sonographic data: a cohort study. *Prenat Diagn*. 2013; 33:732–736

131. Diego de Siqueira Figueredo , Daniel Leite Góes Gitaí, Tiago Gomes de Andrade. Daily variations in the expression of miR-16 and miR-181a in human leukocytes. *Blood Cells, Molecules and Diseases*. 2015; 54: 364–368
132. Li X, Li C, Dong X, et al. MicroRNA-155 inhibits migration of trophoblast cells and contributes to the pathogenesis of severe preeclampsia by regulating endothelial nitric oxide synthase. *Mol Med Rep* 2014;10:550–4.
133. Kim J, Lee KS, Kim JH, et al. Aspirin prevents TNF- α -induced endothelial cell dysfunction by regulating the NF- κ B-dependent miR- 155/eNOS pathway: role of a miR-155/eNOS axis in preeclampsia. *Free Radic Biol Med* 2017;104:185–98.
134. Deeba S. Jairajpuria,, Zainab H. Malallaa, Naeema Mahmoodb, Wassim Y. Almawia. Circulating microRNA expression as predictor of preeclampsia and its severity. *Gene*. 2017;627: 543-548
135. Asangani, I.A., Rasheed, S.A., Nikolova, D.A., Leupold, J.H., Colburn, N.H., Post, S., Allgayer, H.,. MicroRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pdc4 and stimulates invasion invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer. *Oncogene*.2008; 27: 2128–2136.
136. Shibuya, H., Iinuma, H., Shimada, R., Horiuchi, A., Watanabe, T.,. Clinicopathological and prognostic value of microRNA-21and microRNA-155 in colorectal cancer. *Oncology*.2010; 79: 313–320.
137. Bentwich I, Avniel A, Karov Y et al. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs. *Nat Genet*. 2005; 37: 766–770.
138. Chim SS, Shing TK, Hung EC et al. Detection and characterization of placental microRNAs in maternal plasma. *Clin Chem*. 2008; 54: 482–490.
139. Hromadnikova I, Kotlabova K, OndrackovaMet al. Circulating C19MCmicroRNAs in preeclampsia, gestational hypertension, and fetal growth restriction. *Mediators Inflamm*. 2013; 2013:186041.
140. Huppertz B. Placental origins of preeclampsia: Challenging the current hypothesis. *Hypertension*. 2008; 51: 970–975.
141. Valensise H, Vasapollo B, Gagliardi G, Novelli GP. Early and late preeclampsia: Two different maternal hemodynamic states in the latent phase of the disease. *Hypertension*. 2008; 52: 873–880.

142. Goswami D, Tannetta DS, Magee LA et al. Excess syncytiotrophoblast microparticle shedding is a feature of early-onset pre-eclampsia, but not normotensive intrauterine growth restriction. *Placenta*. 2006; 27: 56–61.



FORMLAR

GENETİK ARAŞTIRMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırmanın Adı: Maternal kanda preeklampsi ile ilişkili mikroRNA'ların belirlenmesi

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

Preeklampsi gebelikte yüksek kan basıncı ve idrarda protein görülmesidir. İdrarda protein görülmesi böbreklerin tam çalışmadığını gösterir. Preeklampsi ayrıca toksemi olarak veya gebeliğe bağlı yüksek tansiyon olarak da bilinmektedir. Genelde gebeliğin 20. haftasından sonra teşhis edilir. Gebelikte ciddi riskler oluşturan preeklampsinin genetik nedenlerini bulmak üzere yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi “Maternal kanda preeklampsi ile ilişkili mikroRNA'ların belirlenmesi” dir ve yaklaşık 2 yıl sürecektir.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni, gebelik süresinde gelişen preeklampsi ile ilişkili şikayetinizin bulunmasından dolayıdır. İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı bu hastalığın nedenlerini ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirecektir. Kendinizde bir şikayet olmasa bile katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir. Araştırmaya katılacak gönüllü sayısı yaklaşık 120'dir.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Dr. Meryem Hocaoglu ve ekibi tarafından araştırma yapılacak ve bulgular kaydedilecektir. Bu kayıtlar ilerde tekrar incelenerek doğru tanı konulmasına yardımcı olacaktır. Bu kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Bu çalışmayı yapabilmek için hastalığınıza sebep olan genetik faktörleri belirlemek için kolunuzdan 10 (2 tüp) ml. kadar kan almamız gerekmektedir. Bu kandan ise genetik materyal (DNA ve RNA) elde edilecektir. Bu aşamada başarısız olduğunda bir kez daha kan vermeniz istenebilir.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya kan alma bölgesinde morarma sayılabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilginin gizli kalacağına dair elimizden geleni yapacağız. Ancak hemen belirtmemiz gerekir ki; yaptığımız testler sizin veya ailenizin bir ferdinin ileriki bir zamanda bu genetik hastalıktan etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de etkileyebilir. Sizin anormal bir gen taşıdığınızı saptadığımızda bulgularımızı herhangi bir ücret talep etmeden size bildireceğiz. Ancak böylesi bir bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Yine hemen belirtmeliyiz ki; bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninizle olacaktır.

Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmeyi sağlamak için elimizden geleni yapacağız. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler katılımcının/hastanın kendisine ya da ebeveyni/sorumlusuna iletilecektir.

Yapılacak genetik testin getireceği olası yararlar: Böyle bir analiz ilgili hastalığın genetik nedeninin öğrenilmesinde yararlı olacaktır. Şu anda bu çalışmanın hemen size bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz. Eğer örneğinizin imha edilmesine karar vererseniz, bu isteğinizden önce üretilmiş her türlü veri ve yapılmış analiz ortadan kaldırılmayacak ama daha fazla analiz yapılmayacaktır. Aksi halde, saklama süresinin sonunda örneğin imha edilmesinden destekleyici/araştırmacı sorumludur.

Örneklerin Saklanması

Sizden alınan örneklerin kullanımı bu olur formunda tanımlanan araştırma ile sınırlı olacaktır. Eğer bu örnekleri bu olur formunda tanımlanmayan başka test/amaçlar için kullanmak istersek, önce Etik Kurul'a onay verilmesi için başvurulacaktır. Eğer yeni çalışma onaylanacak olursa sizden başka bir bilgilendirilmiş olur formu imzalamanız istenecektir.

Veya

Bu bilimsel araştırma sırasında alınan kan örneklerinin tamamı kullanılmayıp bir bölümü benzeri araştırmalarda kullanılmak üzere saklanabilir. Lütfen aşağıdaki 2 cümleyi okuyarak uygun olanını işaretleyiniz:

- () Doku ve kan örneklerinin sadece bu çalışmayla ilgili olarak kullanılmasını istiyorum. Çalışma bitiminde kalan örneklerin uygun şekilde yok edilmesini istiyorum.
- () Doku ve kan örnekleri bu çalışmada kullanıldığı gibi gelecekteki hastalığımla ilgili diğer bilimsel çalışmalarda kullanılabilir. Ancak kalan örneklerimin hastalığım dışındaki başka bir araştırmada kullanılmasını uygun bulmuyorum.

Katılımcının/Hastanın Beyanı

Sayın Dr. Meryem Hoccoğlu ve ekibi tarafından (İrtibat Tel: 0212-4142200-33319) tarafından İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile

ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

5.1.1. GÖNÜLLÜNÜN		5.1.2. İMZASI
5.1.2.1. ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

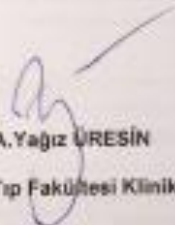
VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASININ		5.1.3. İMZASI
5.1.3.1. ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

5.1.4. AÇIKLAMALARI YAPAN ARAŞTIRICININ		5.1.5. İMZASI
5.1.5.1. ADI & SOYADI		
5.1.5.2. TARİH		

5.1.6. RIZA ALMA İŞLEMİNE BAŞINDAN SONUNA KADAR TANIKLIK EDEN KURULUŞ GÖREVLİSİNİN		5.1.7. İMZASI
5.1.7.1. ADI & SOYADI		
5.1.7.2. GÖREVİ		
5.1.7.3. TARİH		



ETİK KURUL KARARI

	T.C. İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
Sayı : 536 Konu: Doç. Dr. Ayşe Evrim BAYRAK hk.		Tarih : 24.05.2017
Sayın Doç. Dr. Ayşe Evrim BAYRAK Moleküler Genetik		
İlgi : Genetik Anabilim Dalının 08/05/2017 gün ve 172714 sayılı yazısı		
Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Bio. Selin DEMİRER' in yürüteceği 2017/503 dosya numaralı "Maternal Kanda Preeklampsi ile ilişkili mikroRNA'ların Belirlenmesi" başlıklı çalışma konulumuzun 12/05/2017 gün ve 09 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.		
Bilgilerinizi rica ederim.		
 Prof. Dr. A.Yağız ÜRESİN İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı		
Ekt: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Karar Formu		

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

AŞTIRMANIN AÇIK ADI "Maternal Kanda Preeklampsi ile ilişkili mikroRNA'ların Belirlenmesi"

BİLGİLENDİRİLEN BİLGİLER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	☒	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	☒		Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ	☐		Türkçe ☐ İngilizce ☐ Diğer ☐
BİLGİLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	☐	Açıklama	
	TÜRKÇE ETİKET ÖRNEĞİ	☐		
	SİGORTA	☐		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒		
	BİYOLOJİK MATERİYEL TRANSFER FORMU	☐		
	HASTA KARTI(GÖNÜLLÜKLERİ)	☐		
	İLAN	☐		
	YILLIK BİLDİRİM	☐		
	SONUÇ RAPORU	☐		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐		
	DİĞER:	☒	Anabilim Dalı Başkanlığında Üst Yürütme ve Akademik Kurul Kararı, Literatür Kaynağı, Sorumluluk Paylaşım Belgesi, Olgu Raporu Formu, İlgili Elemanların Bağlıdır olduğuna Dair Belge, CV, CD	
	KARAR BİLGİLERİ	Karar No:93	Tarih: 12/05/2017	
İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Enstitüsü Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Analizler Dalında görevli Doç. Dr. Ayşe Evrim BAYRAK'ın başkanlığında ve Bio. Selin DEMİREK' in yürüttüğü yukarıda bilgileri verilen araştırma hayvanı-donörler ile ilgili belgeler araştırmanın gerektirdiği, amaç, yaklaşımlar ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üyelerinin salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.				

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI		19.08.2011 tarihli, 28639 sayılı Resmî Gazetede yayımlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. A. Yağuz ÜRESİN							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Onay		Araştırma ile ilgili *		Katılım **	İmza	
Prof. Dr. A. Yağuz ÜRESİN	Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etiler) Genel Başkanı	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	İznil
Prof. Dr. Berrin UMMAN	Kardiyoloji	İstanbul Tıp Fakültesi (Etiler) Genel Başkan Yardımcısı	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Ahmet GÜL	Romatojenoloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Prof. Dr. Oğuzhan ÇOBAN	Nöroloji	İstanbul Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	
Dr. Sevdâ ÖZEL YILDIZ	Biyostatistik	İ.U. İstanbul Tıp Fakültesi Biyostatistik	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☐	

* Araştırma ile ilgili

** Toplantıda Bulunma

İ.U. İstanbul Tıp Fakültesi Klinik araştırmalar Etik Kurulu 13.04.2013 tarih, 28617 sayılı Resmî Gazetede yayımlanan Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik çerçevesinde kurulmuş ve T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Hıç ve Tıbbi Cihaz Kurumu tarafından onaylanmıştır. İlgili yönetmelik kapsamında kalan araştırmalar Sağlık Bakanlığından izin alınarak gerçekleştirilir. Yönetmelik kapsamı dışındaki kalan araştırmalar ise Etik Kurul bünyesinde değerlendirilir. 5 yıllık süre komisyon tarafından değerlendirilerek olup Sağlık Bakanlığı iznine tabi değildir.

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU
	AÇIK ADRESİ:	LÜ.İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ HULUSİ BEHÇET KÜTÜPHANESİ KAT:3 FATİH/İSTANBUL
	TELEFON	0 (212) 414 21 53
	FAKS	0 (212) 414 21 53
	E-POSTA	itfetikkurul@istanbul.edu.tr,

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	"Maternal Kanda Preeklampsi ile ilişkili mikroRNA'ların Belirlenmesi"			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	---			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADUSOYADI	Doç. Dr. Ayşe Evrim BAYRAK			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Moleküler Genetik			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü Genetik Anabilim Dalı			
	DESTEKLEYİCİ	İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	---			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ	FAZ 1	☐		
		FAZ 2	☐		
		FAZ 3	☐		
		FAZ 4	☐		
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Yeni Bir Endikasyon	☐		
Yüksek Düzey Araştırması		☐			
Diğer ise belirtiniz :					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TİC MERKEZ ☐	ÇOK MERKEZLİ ☒	ULUSAL ☒	ULUSLAR ARASI ☐	

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

MATERNAL KANDA PREEKLAMPSİ İLE İLİŞKİLİ MİKRORNA
LARIN BELİRLENMESİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 5	% 4	% 2	% 1
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1
2	www.readperiodicals.com İnternet Kaynağı	% 1
3	slideplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
4	Submitted to Mersin Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
5	kutuphane.pamukkale.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
6	acikerisim.deu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
7	Submitted to Ankara University Öğrenci Ödevi	<% 1
8	kutup.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Selin	Soyadı	Demirer
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	11.06.1988
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	19726798290
Email	selin.demirer34@gmail.com	Tel	05556023955

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	Namık Kemal Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji	Devam ediyor
Yük.Lis.	İstanbul Üniversitesi DETAE, Genetik AD.	
Lisans	Fatih Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü	2012
Lise	Suadiye Hacı Mustafa Tarman Anadolu Lisesi	2006

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.			-
2.			-
3.			-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	iyi	iyi		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	75		
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

- Erşahin AA, Hocaoglu M, **Demirer S**, Cengiz F. Quercetin improves metabolic sequels and placental morphology in streptozotocin-induced diabetic rats. Perinatal Journal 2016;24(3):147–155
- Hocaoglu M, Turgut A, Özdamar Ö, Aslan A, **Demirer S**, Usta A, Akdeniz E, Karateke A. Abdominal wall endometriosis in cesarean surgical scar: retrospective study of a rare entity. Annali Italiani di Chirurgia (*Basım aşamasında*)

Ulusal Kongre Özetleri

- 1- Meryem Hocaoglu, **Selin Demirer**, Evrim Kömürcü Bayrak, Hilal Şentürk, Abdulkadir Turgut, Ateş Karateke. Preeklampsi ve gestasyonel diyabetes mellitus tanısında maternal kan miRNA düzeylerinin incelenmesi. Türk Jinekoloji ve Obstetrik Kongresi 2018 (9 Mayıs- 13 Mayıs)

Uluslararası Kongre Özetleri

- 1- Akın Usta, Gulay Turan, Meryem Hocaoglu, Abdulkadir Turgut, **Selin Demirer**. The expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in eutopic end ectopic endometrial tissue of women with endometrioma. European Society of Gastrointestinal Endoscopy 26th Annual Congress 2017 (18 Ekim- 21 Ekim)
- 2- Hocaoglu M, Turgut A, Özdamar Ö, **Demirer S**, Akdeniz E, Karateke A. The Role of Neutrophil to Lymphocyte Ratio and Mean Platelet Volume in the Prediction of Endometriosis. Congress of Society of Pelvic Pain and Endometriosis 2017 (4 Mayıs- 7 Mayıs)
- 3- Hocaoglu M, Turgut A, Özdamar Ö, Aslan A, **Demirer S**, Usta A, Akdeniz E, Karateke A. Abdominal wall endometriosis in cesarean surgical scar: retrospective study of a rare entity. Congress of Society of Pelvic Pain and Endometriosis 2017 (4 Mayıs- 7 Mayıs)

Sertifikalar

- Real Time PCR Uygulama Kursu (04.04.2017)
- Kök Hücre Kursu (06.05.2017)
- Non-İnvaziv Prenatal Test Uygulama Kursu (04.05.2018)

