



T.C. PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**PREEKLAMPSİ İLE KOMPLİKE GEBELİKLERDE PLASENTAL NETRİN-1,
NETRİN-4 VE UNC5B EKSPRESYONUNUN İMMUNOHİSTOKİMYASAL
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

HAZIRLAYAN: DR. DENİZ AYDIN CEYLAN

DANIŞMAN: DOÇ. DR. CİHAN KABUKÇU

DENİZLİ 2022



T.C. PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**PREEKLAMPSİ İLE KOMPLİKE GEBELİKLERDE PLASENTAL NETRİN-1,
NETRİN-4 VE UNC5B EKSPRESYONUNUN İMMUNOHİSTOKİMYASAL
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

HAZIRLAYAN: DR. DENİZ AYDIN CEYLAN

DANIŞMAN: DOÇ. DR. CİHAN KABUKÇU

Bu proje Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2022TIPF005 numaralı bilimsel araştırma projesi olarak desteklendi ve 14.02.2021 tarihinde 60116787-014-143164 sayılı karar no'su ile etik kurul onayı almıştır.

DENİZLİ 2022

ONAY SAYFASI

Doç.Dr. Cihan KABUKÇU danışmanlığında Dr. Deniz Aydın CEYLAN tarafından yapılan “ Preeklampsi ile Komplike Gebeliklerde Plasental Netrin-1, Netrin-4, UNC5B Ekspresyonlarının İmmünohistokimyasal Olarak Değerlendirilmesi ” başlıklı tez çalışması 22/11/2022 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı’nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN: Doç.Dr. Cihan KABUKÇU

ÜYE: Prof.Dr. İbrahim Veysel FENKÇİ

ÜYE: Prof.Dr. Hasan YÜKSEL

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

TARİH

T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANI
Prof. Dr. Osman İsmail ÖZDEL

TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimimde tez olarak sunduğum bu çalışmada, uzmanlık tezimin planlanmasında, çalışmalarımın yapılmasında ve tezimin yazımı aşamasında sabır, özveri ve tüm desteği ile yanımda olan öğrencisi olmaktan gurur duyduğum saygıdeğer hocam ve danışmanım Doç. Dr. Cihan KABUKÇU'ya,

Jinekopatolojiyi bana sevdiren, bilimsel araştırma, makale yazımı konusunda önemli katkılar sağlayan ve tezime olan desteğini hiçbir aşamada esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Yeliz ARMAN KARAKAYA'ya,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgilerinden ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum, donanımlı bir cerrah olarak yetişmemi sağlayan, birlikte çalıştığım değerli hocalarım, Prof. Dr. Babür KALELİ'ye, Prof. Dr. Erkan ALATAŞ'a, Prof. Dr. Veysel FENKİ, Prof. Dr. Özer ÖZTEKİN'e, Prof. Dr. Tolga GÜLER'e, Doç. Dr. Derya KILIÇ'a, Doç. Dr. Özlem KOŞAR CAN'a, Doç. Dr. Ümit ÇABUŞ'a, Dr. Öğr. Üyesi Soner GÖK'e saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlığım boyunca bana her konuda destek olan, bilgilerini ve tecrübelerini bana aktarmakta cömert davranan değerli kıdemlilerime, öncelikle bir cerrah olarak yetişmemde büyük katkıları olan, başasistanlık sürecinde örnek aldığım Dr. Şükriye KARACA'ya, Dr. Ekrem ÇİFTÇİ'ye, Dr. Füsun YÜKSEL'e, Dr. Elif AVŞAROĞLU ERCAN'a, Dr. Gülşah ÇETİNDARİ DEMİRCİ'ye, Dr. Ertan KARAMAN'a, başasistanlık sürecindeki tüm zorlukları birlikte göğüslediğim Dr. Alike Büşra KOYU'ya ve Dr. Mübetcel OCAK TURGUT'a ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarım Dr. Mert ERDEMİR'e, Dr. Tülay SEMİZ'e, Dr. Mesut ÖZER'e, Dr. Zeynep KARATAY'a, Dr. Nilda NALBANT'a, Dr. İbrahim ATICI'ya, Dr. Büşra CAMGÖZ'e, Dr. Oğuzcan KARAGÖZ'e, Dr. Dide Almira ŞAHİN'e ve ebe, hemşire, personel tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Asistanlık sürecinde uzun süre çalışma fırsatı bulduğum, güzel kalpleriyle her zaman yanımda olan, bana her konuda destek olan başta Seher KONAKÇI'ya ve tüm doğumhane ekibine teşekkür ederim.

TMA bloklarımın hazırlanmasında ve kesilmesindeki yardımları için laboratuvar teknisyeni arkadaşlarımıza, immünohistokimyasal çalışmaların yapılması sırasında her

türlü sorunumu çözen ve her konuda destek veren biyolog arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu günlere ulaşmamda en büyük pay sahibi olan, yoğun geçen bu süreçte çokça özlediğim, sevgi ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, verdiğim her kararda yanımda olan ve yolumu aydınlatan sevgili aileme, annem Zuhal AYDIN CEYLAN'a, babam Orhan CEYLAN'a, kardeşim Uğur Güneş CEYLAN'a sonsuz teşekkür ederim.

Denizli'deki dayanağım, asistanlık sürecinde yaşadığım tüm sıkıntılarda yanımda olan dostum Kemal KALE'ye teşekkür ederim.

Dr. Deniz Aydın CEYLAN

2022

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜRLER	iv
TABLolar DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMA LİSTESİ.....	x
ÖZET	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Plasenta.....	4
2.2 Gebelikte Kan Basıncı	7
2.3 Gebelikte Hipertansif Hastalıkların Sınıflandırılması.....	8
2.3.1 Gestasyonel Hipertansiyon	9
2.3.2 Kronik Hipertansiyon	9
2.3.3 Kronik Hipertansiyon ile Birlikte Süperempoze Preeklampsi	10
2.3.4 Preeklampsi	10
2.3.4.1 Preeklampsinin İnsidansı ve Epidemiyolojisi	14
2.3.4.2 Preeklampsi Risk Faktörleri	15
2.3.4.3 Preeklampsi Etiyopatogenezi.....	16
2.3.4.3 Plasentanın Anormal Gelişimi	17
2.3.4.4 İmmünolojik Faktörler.....	18
2.3.4.5 Sistemik Endotel Disfonksiyon	20
2.3.4.6 Anjiyogenik Faktörler	20
2.3.4.7 Genetik Faktörler	21
2.3.4.8 Çevresel Faktörler.....	22
2.3.4.9. Patofizyoloji.....	22
2.3.4.10. Preeklampsi Öngörülmesi ve Önlenmesi.....	25
2.3.4.11 Preeklampsi Yönetimi	27
2.3.4.12 Preeklampsi Tedavisi	29
2.4 Netrin Protein Ailesi	33
2.4.1 Netrin-1 ve Reseptörü UNC5B	34
2.4.2 Netrin-4.....	37

2.4.3 Netrin-1, Netrin-4 ve UNC5B'nin Plasental Ekspresyonu	39
3. Materyal Metod	40
3.1 Doku Mikrodizilerinin (tissue microarray=TMA) hazırlanması	41
3.2 İmmünohistokimyasal Yöntemlerin Uygulanması ve Analizi	41
3.2.1 İmmünohistokimyasal Yöntemlerin Uygulanması	41
3.2.2 1 İmmünohistokimyasal Yöntemlerin Analizi	43
3.3 İstatiksel Analiz:	43
5.Tartışma	60
6.Sonuçlar	70
7. Kaynaklar.....	71



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: ACOG'a göre gebelikte görülen hipertansif hastalıkların sınıflandırılması.....	8
Tablo 2. Preeklampsinin Tanı Kriterleri.....	11
Tablo 3. Şiddetli Preeklampsisi Tanı Kriterleri.....	12
Tablo 4. HELLP Sendromu Tanı Kriterleri	14
Tablo 5. Preeklampsisi Risk Faktörleri	16
Tablo 6. Gebelikte Görülen Hipertansif Hastalıklarda Kullanılan Antihipertansif Ajanlar	30
Tablo 7. Çalışmada Kullanılan İmmünohistokimyasal Belirteçler	42
Tablo 8. İmmünohistokimyasal Boyanma Yüzdesi ve Yoğunluğu Sınıflaması ve Puan Karşılıkları.....	43
Tablo 9. Çalışma Gruplarının Obstetrik Parametreleri	46
Tablo 10. Çalışma Gruplarının Laboratuvar Parametreleri	47
Tablo 11. Preeklampsisi ile Komplike Gebelerde Meydana Gelen Komplikasyonlar	47
Tablo 12. Netrin-1, Netrin-4 ve UNC5B ile İmmünohistokimyasal Boyanma Yüzdeleri, Boyanma Yoğunlukları ve Boyanma Skorları	49
Tablo 13. Netrin-1, Netrin-4 ve UNC5B ile İmmünohistokimyasal Boyanma Yüzdeleri, Boyanma Yoğunlukları ve Boyanma Skorları	51
Tablo 14. 32 Haftanın Altındaki ve Üstündeki Preeklampitik Hastaların İmmünohistokimyasal Parametreleri	53
Tablo 15. UNC5B, Netrin1 ve Netrin4'e ait İmmünoreaktif Skorlarının Spearman Korelasyon Analizi ile Bağımlılık Açısından Değerlendirilmesi	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Preeklampside İzlenen Anormal Trofoblastik İnvazyon (63).....	18
Şekil 2. Netrin Protein Ailesi (144).....	33
Şekil 3. Netrin Reseptörleri ve Netrin-1'in Kullandığı Sinyal Yolakları (147).....	34
Şekil 4. Netrin-1, Netrin-4, UNC5 Ailesi, DCC Ailesi ve Biyolojik Etkileri (152).....	38
Şekil 5. Preeklampsisi ve Kontrol Grubunun İmmünboyanma Paternlerinin Karşılaştırma Grafikleri	56
Şekil 6. 32 Hafta Baz Alınarak İki Gruba Ayrılan Preeklampsisi Hastalarının İmmünboyanma Paternlerinin Karşılaştırma Grafikleri	57
Şekil 7. Netrin-1 ile İmmünohistokimyasal Boyanma Paternleri	58
Şekil 8. Netrin-4 ile İmmünohistokimyasal Boyanma Paternleri	58
Şekil 9. UNC5B ile İmmünohistokimyasal Boyanma Paternleri.....	59

KISALTMA LİSTESİ

PLT: Platelet

AST: Aspartat Aminotransferaz

ALT: Alanin Aminotransferaz

BMI: Body Mass Index

AFAS: Antifosfolipit Antikor Sendromu

VEGF: Vasküler Endotelyal Growth Faktör

PIGF: Plasental Growth Faktör

FGF: Fibroblast Growth Faktör

FIt-1: FMS benzeri tirozin kinaz-1

SKB: Sistolik Kan Basıncı

DKB: Diastolik Kan Basıncı

IUGR: İntrauterin Gelişme Geriliği

SGA: Gebelik yaşına göre küçük

MTHFR: Metilen Tetrahidrofolat Redüktaz

PCOS: Polikistik Over Sendromu

LDH: Laktat Dehidrogenaz

HELLP: Hemolysis, elevated liver enzmymes, low platelet

mm Hg: Milimetre civa

mg/ dl: Miligram/desilitre

ng: Nanogram

IU: İnternasyonal Uluslararası Ünite

PPROM: Preterm Prematür Membran Rüptürü

NK: Naturel Killer

MMP: Matriks Metalloproteinaz

MHC: Antijen sunucu hücre

s Eng: Soluable Endoglin

TGF-B: Transforming Growth Faktör Beta

IL: İnterlökin

IFN: İnterferon

TNF: Tümör Nekroz Faktör

CRP: C-reaktif Protein

DIC: Dissemine İntravasküler Koagülasyon

NO: Nitrik Oksit

CSF: Koloni Stimülan Faktör

Tr 13: Trizomi 13

PG I: Prostoglandin I

TXA: Tromboxan A

OAB: Ortalama Arteriyal Basing

PRES: Posterior Reversible Ensefalopati Sendromu

ACOG: American Collage of Obstetricians and Gynecologists

CHS: Canadian Hospital specialists

DIC: Dissemine İntravasküler Koagülasyon

NST: Non Stres Test

DCC: Deleted in Colorectal Cancer

UNC: Uncoordinated

DSCAM: Down's Sendrome Cell Adhesion Molecule

HUVEC: Human Umbilical Vein Endothelial Cells

HUAEC: Human Umbilical Arterial Endothelial Cells

HPEC: Human Placental Endothelial Cells

ÖZET

PREEKLAMPSİ İLE KOMPLİKE GEBELİKLERDE PLASENTAL NETRİN-1, NETRİN-4 VE UNC5B EKSPRESYONUNUN İMMUNOHİSTOKİMYASAL DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Deniz Aydın CEYLAN

Amaç: Çalışmamızda preeklampsisi ile komplike gebeliklerden ve term sağlıklı gebeliklerden elde edilen plasentalarda, immünohistokimyasal yöntemler kullanarak netrin-1, netrin-4, UNC5B immünekspresyonunun düzeyini araştırmak; bu belirteçlerin klinikopatolojik parametrelerle ilişkisini sorgulamak, farklı klinikopatolojik özelliklerdeki olgu gruplarında bu boyaların immünekspresyonlarını karşılaştırmak; elde edilecek sonuçları literatür ışığında tartışmak amaçlanmıştır.

Materyal Metod: Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'nda 2014-2022 yılları arasında Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği tarafından opere edilen ve plasentaları Tıbbi Patoloji Kliniği'nde incelenen preeklampsisi tanısı almış hastalar ve term sağlıklı gebeler, hastane bilgi yönetim sisteminde geriye dönük (retrospektif) taranmıştır. Çalışma kriterlerini karşılayan 125 preeklampsisi tanılı hasta ve kontrol grubu kriterlerini karşılayan 125 sağlıklı gebe araştırma evrenimizi oluşturdu. Yeterli plasental doku içermeyen veya immünohistokimyasal boyama için yeterli olmayan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Toplam 96 preeklampsisi tanılı hasta ve 71 sağlıklı gebe çalışmaya dahil edildi.

Bulgular: Preeklampsisi grubu ile kontrol grubu arasında netrin-1 ekspresyon azalışı ($p<0,0001$), netrin-4 ekspresyon artışı ($p<0,0001$), UNC5B ekspresyon artışı ($p<0,0001$) istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Şiddetli preeklampsisi grubu ile şiddetli olmayan preeklampsisi grubu arasında ise sadece netrin-4 boyanma yoğunluğu ($p<0,0001$) ve skoru ($p=0,002$) ikili karşılaştırmalar sonucunda istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Bu iki grup arasında netrin-1 ve UNC5B boyanma yüzdesi, yoğunluğu, skoru ve netrin-4 boyanma yüzdesi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. 32 hafta altı preeklampsili gebelerle 32 hafta üstü preeklampsili gebeler arasında yapılan istatistiksel analizler sonucunda her 3 boyanın tüm immünohistokimyasal parametrelerinde anlamlı bir fark tespit etmedik.

Sonuç: Preeklampsia grubunda anjiyogenik protein olan netrin-1'in ekspresyonunun azalışı, antianjiyogenik proteinler netrin-4 ve UNC5B'nin ekspresyonlarının artması plasental vasküler gelişim basamaklarında etkili olarak preeklampsia patogeneğinde rol almaktadır. Bulgularımız preeklampsinin kliniğinden sorumlu tutulan antianjiyogenik faktörlerin artması hipotezini destekler niteliktedir. Netrin-4 ekspresyonunun şiddetli preeklampsia grubunda şiddetli olmayan preeklampsia grubuna göre anlamlı yüksek olması da netrin-4'ün şiddetli preeklampsia gelişiminde rol oynadığını düşündürmektedir. Preeklampsia ile komplike gebelerde netrin-1 ekspresyonunun azalmasının, netrin-4 ve UNC5B ekspresyonunun artmasının gebelik haftasından bağımsız olması, preeklampsia patogenesizinin implantasyon aşamasında başladığını görüşünü desteklemektedir.



SUMMARY

IMMUNOHISTOCHEMICAL EVALUATION OF PLACENTAL NETRIN-1, NETRIN-4 AND UNC5B EXPRESSION IN PREGNANCY COMPLICATED WITH PREECLAMPSIA

Dr. Deniz Aydın CEYLAN

Objective: In our study, to investigate the level of immunoexpression of netrin-1, netrin-4, UNC5B using immunohistochemical methods in placentas obtained from pregnancies complicated with preeclampsia and term healthy pregnancies; to question the relationship of these markers with clinicopathological parameters, to compare the immunoexpression of these dyes in case groups with different clinicopathological features; It is aimed to discuss the results to be obtained in the light of the literature.

Material and Method: Patients diagnosed with preeclampsia and term healthy pregnant women who were operated by Pamukkale University Hospital Gynecology and Obstetrics Clinic between 2014-2022 at Pamukkale University Hospital and whose placentas were examined in Medical Pathology Clinic were retrospectively screened in the hospital information management system. Our research population consisted of 125 patients with preeclampsia who met the study criteria and 125 healthy pregnant women who met the criteria of the control group. Patients who did not have sufficient placental tissue or were not sufficient for immunohistochemical staining were not included in the study. A total of 96 patients with preeclampsia and 71 healthy pregnant women were included in the study.

Results: Statistically significant decrease in netrin-1 expression ($p<0.0001$), increase in netrin-4 expression ($p<0.0001$), increase in UNC5B expression ($p<0.0001$) between preeclampsia group and control group found. Only netrin-4 staining intensity ($p<0.0001$) and score ($p=0.002$) were found to be statistically significant between the severe preeclampsia group and the non-severe preeclampsia group as a result of pairwise comparisons. There was no statistically significant difference between the netrin-1 and UNC5B staining percentage, intensity, score and netrin-4 staining percentage between these two groups. As a result of the statistical analyzes performed between pregnant women with preeclampsia below 32 weeks and those with preeclampsia over 32 weeks,

we did not detect a significant difference in all immunohistochemical parameters of all 3 proteins.

Conclusion: Decreased expression of angiogenic protein netrin-1 and increased expression of antiangiogenic proteins netrin-4 and UNC5B in the preeclampsia group play a role in the pathogenesis of preeclampsia by being effective in placental vascular development steps. Our findings support the hypothesis of increased antiangiogenic factors responsible for the clinic of preeclampsia. The fact that netrin-4 expression was significantly higher in the severe pre-eclampsia group compared to the non-severe pre-eclampsia group suggests that netrin-4 plays a role in the development of severe pre-eclampsia. The fact that the decrease in netrin-1 expression and the decrease in netrin-4 and UNC5B expression in pregnant women complicated with preeclampsia are independent of the gestational week supports the view that the pathogenesis of preeclampsia begins at the implantation stage.

Keywords: Preeclampsia, Placenta, Netrin-1, Netrin-4, UNC5B

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hipertansif hastalıklar gebeliğe bağlı en sık görülen komplikasyonlardan biri olmakla birlikte maternal ve fetal mortalite ve morbiditenin önemli nedenleri arasında bulunmaktadır. Tüm gebeliklerin yaklaşık olarak %5-10'unda hipertansif hastalıklar görülmektedir (1). 2019 yılında Amerikan Obstetri ve Jinekoloji Derneği (ACOG) gebelikte görülen hipertansif hastalıkları: Gebelikte Hipertansiyon, Kronik Hipertansiyon, Kronik hipertansiyonla birlikte süperempoze preeklampsi, Şiddetli Hipertansiyon olmak üzere 4 gruba ayırdı (2).

Preeklampsi gebelik öncesinde kan basıncı normal olduğu bilinen ve 20. gebelik haftasından sonra ortaya çıkan, en az 4 saat ara ile yapılan 2 ölçümde sistolik kan basıncının 140mmHg ve /veya diyastolik kan basıncının 90mmHg ve üzeri ölçülmesi ve buna eşlik eden yeni başlangıçlı proteinüri ya da proteinüri olmadan end organ fonksiyon bozukluklarının eşlik ettiği çoklu organ tutulumu ile seyreden gebeliğe özgü bir sendromdur (3).

Preeklampsinin patogenezi tam olarak aydınlatılamamış olsa da günümüzde yaygın kabul edilen teori anormal plasental vasküler yapılanmayla birlikte plasental dokuya karşı gelişen maternal immün toleransın yetersiz olmasıdır. Preeklampsinin kesin tedavisinin doğumla plasental dokuya maruziyetin ortadan kaldırılması oluşu bu teoriyi güçlendirmektedir. Preeklampsi gelişimi için plasenta gereklidir ancak fetüs gerekli değildir. Öne sürülen diğer teoriler arasında koagülasyon bozuklukları, vasküler endotelial hasar, genetik yatkınlık, kardiyovasküler adaptasyon bozuklukları, oksidatif stres ve aşırı inflamatuvar yanıt yer almaktadır (3). Son yapılan çalışmalarda proanjyogenik ve antianjyogenik faktörler arasındaki dengenin başarılı bir plasental oluşum ve trofoblastlarca gerçekleştirilen spiral arter yeniden yapılanması için oldukça önemli rol oynadığı vurgulanmaktadır. Kusurlu trofoblastik invazyonla ilişkili uteroplakental hipoperfüzyon anjyogenik ve proanjyogenik faktörler arasında ki dengeyi bozmakta ve preeklampsi patogenezinde yer alabilmektedir (4). Sonuçta oluşan sistemik inflamasyon ve yaygın endotel hücre disfonksiyonu hastalığın patofizyolojisinde önemli yere sahiptir (5).

Netrin protein ailesi nöral ve vasküler dokuların gelişiminde rehberlik görevi yapan ekstraselüler proteinlerdir (6). Netrinler biyolojik süreçlerde hücre rehberliği, adezyon, farklılaşma gibi önemli görevler almaktadırlar ve son zamanlarda anjyogeneizde önemli

roller aldıkları gösterilmiştir (7). İnsan plasentasında netrin-1, netrin-4 ve reseptörleri neogenin ve UNC5B'nin varlığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (8). Netrin-1 endotelial ve vasküler düz kas hücrelerinin morfogenezisinde, tümör büyümesinde ve inflamasyonda regülatör olarak görev yapar (6). Yapılan bir çalışmada klonlanmış civcivlerde netrin-1'in UNC5B'ye bağlanarak anjiyogenezi inhibe ettiğini tespit edildi (9). Başka bir çalışmada, netrin-1'in insan göbek ven endotel hücrelerinde (HUVEC) ve insan göbek ve arteriyel endotel hücrelerinde (HUAVEC) proanjiyogenik etkilerine ilişkin kanıtlar sunarak, daha sonra proliferasyon, migrasyon, tubal oluşum ve kılcal dallanmada bir artış olduğu gösterilmiştir (9). Netrin-1'in hamile sıçanların plasentasında neovaskülarizasyonu hızlandırdığı da yapılan çalışmalarda gözlenmiştir. Daha da önemlisi, plasentada netrin-1 ekspresyonunun baskılanması, in vivo olarak azalmış vasküler oluşum ile sonuçlanmıştır (10). Yapılan çalışma sonuçları göz önün alındığında, netrin-1'in insan plasentasında kan damarı oluşumunun önemli bir promotörü olarak görev aldığını düşündürmektedir. Bu da netrin-1'in plasental damar sistemi ile ilgili hastalıklarda yeni terapötik stratejiler için potansiyel bir hedef olması için güçlü bir destek sağlar. Netrin-1'in plasental patolojilere katılımını ilk olarak Yang ve ark. preeklampsili gebe kadınlarda term plasentada azalmış vasküler yoğunluk ile birlikte azalmış netrin-1 mRNA ve protein ekspresyonları bildirmiştir (10).

Netrin-4 hücre dışı protein ailesi olan netrinlerin bir üyesidir. Embriyonik vasküler gelişimde proanjiyogenik bir faktör olarak hareket eden Netrin-4, endotel hücrelerinin farklılaşmasını ve göçünü engelleyerek ve düz kas hücrelerinin farklılaşmasını ve göçünü uyarak antianjiyogenik etki göstermektedir (11). Hipoksi ve patolojik vasküler gelişimi uyaran durumlarda netrin-4 anjiyogeneizde antianjiyogenik olarak rol alır. Yapılan birkaç çalışma sonucunda netrin-4'ün VEGF ile uyarılan anjiyogenezi önemli ölçüde inhibe ettiği raporlanmıştır (12).

Preeklampsia patogenezi net olarak aydınlatılamamış olsa da patogenezi başlatan süreçlerin implantasyon aşamasında başladığı düşünülmektedir. Öncelikle plasental implantasyon aşamasında trofoblastların myometrial spiral arterleri invaze etmesinde, yeniden şekillendirmede ki problemler ve sonrasında artan antianjiyogenik moleküllerin preeklampsinin patogenezinde yer aldığı üzerinde durulmaktadır. Netrin protein ailesi de anjiyogenez basamaklarında çeşitli önemli roller üstlenmektedir. Bu süreçte ortaya çıkacak problemlerin çeşitli patolojilere yol açabileceği çok olasıdır. Çalışmamızda preeklampsia ile komplike gebelerden ve sağlıklı gebelerden elde edilen plasentalarda

immünohistokimyasal yöntemler kullanarak, anjiyogenik roller atfedilen netrin-1, antianjiyogenik roller atfedilen netrin-4 ve UNC5B'nin ekspresyonlarını değerlendirerek preeklampsi patogenezindeki rollerini belirlemeyi amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Placenta

Placenta koryon ve desiduanın birleşmesi ile oluşan ekstraembriyonik bir dokudur. Anne ve fetüs arasındaki madde alışverişini sağlayan aynı zamanda hormonal ve metabolik ilişkileri sağlayan endokrin bir organdır. Üç tanesi maternal ve üç tanesi fetal olmak üzere toplamda altı tabakadan oluşmaktadır (13). Allantois kesesi, damar duvarını döşeyen endotel, korioallantoik mezodermal bağ doku ve koryon epiteli fetal tabakaları oluşturmaktadır. Maternal tabakaları ise damar endoteli, endoteli saran bağ dokusu ve yüzey epiteli oluşturmaktadır (14). Placentanın büyüklüğü gebelik haftasına göre değişkenlik gösterir ve maksimum büyüklüğe 36. gebelik haftasında ulaşır. Placentanın fetal yüzü amniyon zarı ve koryon zarından dolayı maternal yüzüne göre yüzeyi daha düzgün ve rengi daha soluktur (15). Placentanın en dışında fetüs tarafında amniyon zarı ve onun altında koryon zarı bulunur. Bu iki membranın ardından sırasıyla koryonik villuslar, intervillöz boşluklar, desidua ve myometrium bulunur (16).

Placentanın en temel görevi anne ve fetüs arasındaki fizyolojik transportu sağlamaktır. Aynı zamanda gebelik boyunca bir endokrin organ gibi çalışır. Placental transport fetal damarlar etrafındaki sinsityotrofoblastların özelleşmiş bölgelerinde meydana gelir (17). Placentanın fetal bölümü anne ve fetüs kanlarının karışmasını engelleyerek bariyer görevi görür (14).

Blastokistin endometriuma tutunmasının ardından trofoblastik hücreler hızla çoğalırlar ve iki tabakalı trofoblast dizini oluştururlar. İç tabakayı tek çekirdekli sitotrofoblastlar oluşturur. Dış tabakayı ise sitotrofoblastların çoğalması ve birleşmesiyle daha sonra maternal dokuyla temas halinde olan, çok çekirdekli sinsityotrofoblastlar oluşturur. Sitotrofoblastik hücrelerin (Langhans hücreleri) büyük bir çekirdeği ve PAS pozitif boyanan sitoplazmaları vardır. Sitotrofoblastlarda gebeliğin erken dönemlerinde mitoz izlenir. İlk trimesterde villusların çevresinde aralıksız bir tabaka meydana getirirler. İkinci trimesterde sitotrofoblastlarda mitoz nadiren rastlanır ve villusların çevresinin %50'sini kaplarlar. Son trimesterdeyse villus çevresinin sadece %20 kadarını kaplarlar. Koryonik plak ve koryon leavede devamlı bir tabaka halinde bulunurlar. Ekstravillöz sitotrofoblastlar tabanda proliferatif ekstravillöz sitotrofoblastlar, distal uca ise invaziv ekstravillöz sitotrofoblastlar sütun şeklinde proliferasyon göstererek placentanın invaziv komponentini oluştururlar. Desiduayı invaze eden trofoblastlar interstisiyel ekstravillöz

sitotrofoblast, spiral arterleri invaze edenler endovasküler ekstrasvillöz sitotrofoblast olarak adlandırılırlar. Endovasküler ekstrasvillöz sitotrofoblastların spiral arterleri invaze ederek düz kas dokusunun yerini alanlar intramural ekstrasvillöz sitotrofoblast, spiral arter endotelinin yerini alanlar ise intraarteriyel ekstrasvillöz sitotrofoblast olarak adlandırılmaktadır (18). Hücre yapılarında meydana gelen düzleşme ve diğer stromal hücrelerden kolaylıkla ayrılmaları yapılamadığı için sitotrofoblastların tanımlanması çoğunlukla zordur (19). Sitotrofoblastların gelişmiş desmozomları vardır. Retiküler bazal membranla sitotrofoblastlar villöz stromadan ayrılırlar. Gebelik ilerledikçe sayıları azalır ama tamamen yok olmazlar. Postmatür plasentada sitotrofoblastlar oldukça nadir izlenir ve bazılarında vakuolizasyona rastlanır (20). Sitotrofoblastların sinsityotrofoblastlarda hasar meydana geldiğinde izlendiği düşünülmektedir ve bu duruma iskemi, preeklampsi, preterm ve uzamış eylem, diyabetes mellitus ve rh uyumsuzluğunda rastlanmaktadır (21). Sitotrofoblastların polimorfik ve genişleyebilen yapıdaki özelleşmiş formları olan hücre kolonları postpartum 14. günün sonunda villusların ucunda izlenir. Hücre kolonlarında sıklıkla mitoz görülür ve sitoplazmalarında yoğun glikojen izlenir (22). Sitotrofoblast adaları özellikle kan dolaşımının yeterli olmadığı bölgelerdeki koryonik villusların uç kısımlarında oluşurlar. Gebeliğin ilk aylarında oluşmaya başlayan adalar, üçüncü ve altıncı aylar arasında en belirgin halde görülürler. Sitotrofoblastik adaların çoğu bağlayıcı villuslara ya da plasental septaya bağlıdır ve maternal intervillöz alanın içine doğru uzanım gösterirler (19).

Sinsityotrofoblastlar çift katmanlı trofoblastik tabakanın dış kısmında yer alırlar ve progenitör sitotrofoblastların çoğalıp birleşmesi ile oluşan çok çekirdekli hücrelerdir. Sinsityotrofoblastların sitoplazmaları daha bazofiliktir. Mitotik aktivite göstermezler ve çoğunlukla çekirdekleri diploiddir. Sinsityotrofoblastlar proliferer olmasalar bile DNA sentezi endoreduplikasyonla devam etmektedir (23). Sinsityotrofoblastlar, gaz, metabolik substrat ve atık transportunda görevli olan ve fetal ve maternal metabolizmada etkili olan çeşitli hormonlar sentezleyen bir çeşit özelleşmiş epitelyumdur. Sinsityal tomurcuklar bulundukları villusa bağlantı sapı ile bağlı bulunmakta olup intervillöz boşluğun içine doğru uzanım göstermektedirler. Bu tomurcuklar yeni villus gelişiminin ilk göstergesidir. Bu tomurcuklar villus kökünün stromasını ve sitotrofoblastları oluşturur. Yapılanma vaskülarizasyonla tamamlanır. Gebelik süresince yeni villus oluşumu devam eder ancak gebeliğin sonlarına doğru daha ince yapılı villuslar oluşmaktadır. Sinsityal tomurcuklardan bazılarının bağlantı sapı zaman içerisinde zayıflar ve ardından kopar. Intervillöz boşlukta serbetçe hareket edebilen, endometrial ve myometriyal damarlara

gönderilebilen bir sinsityum oluşur(24). Villusler üzerinde belli belirsiz uzanabilen çekirdek kümeleri sinsityal düğüm olarak adlandırılır. Normalden fazla miktarda olan sinsityal düğümler Tenney-Parker olarak adlandırılırlar ve postmatür plasenta, preeklamside infarkt alanları gibi iskemik bölgelerde izlenirler (25).

Villüs yapıları içerisinde ilk fetal kapiller yapıların oluşması postkondepsiyonel 18-20. günlere denk gelmektedir. Fetal kapiller yapıların olduğu villusler tersiyer villus olarak adlandırılırlar. Fetal kapiller yapılar çoğalıp füzyona uğrayarak plasentanın fonksiyonel fetal kapiller ağını oluştururlar. Bu süreç beşinci gestasyonel haftada tamamlanır (26).

İnterstisiyel ekstrasvillöz sitotrofoblastlar endometrial stroma ve myometriumu invaze ederken, endovasküler ekstrasvillöz sitotrofoblastlar maternal spiral arterlere ulaşırlar. Böylelikle lakünler maternal dolaşımla birleşir ve maternal kanla dolarlar. İntramural ekstrasvillöz sitotrofoblastlar spiral arterleri invaze ederek düz kas hücrelerinin yerini alırlar. İntraarteryel ekstrasvillöz sitotrofoblastlarsa kısmen spiral arter endoteninin yerini alırlar. Bu sayede yüksek dirençli, düşük akımlı periferik damarlar, uteroplental dolaşım için uygun olan düşük dirençli, yüksek akımlı geniş tübüler yapılara dönüşürler(26).

2.2 Gebelikte Kan Basıncı

Gebeliğe adaptasyon sürecinde ve semi-allojenik fetüsün ihtiyaçlarını karşılamak için kardiyovasküler sistemde önemli fizyolojik değişimler olmakta ve bunların sonucunda sistolik kan basıncı ve sistemik vasküler direnç azalmaktadır. Gebeliğin beşinci haftası içerisinde başlayarak kalp debisi ve kalp atım hacmi artış gösterir. İkinci trimesterin sonu ya da üçüncü trimesterin başına kadar bu artış devam eder. Sistemik vasküler dirençteki azalma ilk trimesterde başlar ve ikinci trimesterin yarısına kadar devam eder. Gebelikte görülen kan basıncındaki düşmenin temel sebebi meydana gelen periferik vasküler direnç azalmasıdır. Temel sebebi ise büyüyen uterusun ve gelişmekte olan fetüsün ihtiyaç duyduğu kan akımını sağlamaktır (27). Kan basıncındaki azalma gebeliğin 24-26. haftalarında en düşük seviyeye ulaşır ve terme yakın normal seviyesine geri döner.

Kan basıncı ölçümü yapılırken dikkat edilmesi gereken temel prensipler vardır. Ölçüm 5 dakikalık dinlenme sonrasında, sessiz bir ortamda, hasta oturur pozisyonda ve hastanın sırtı ve kolu desteklenerek, hastanın kol çevresine uygun manşon boyutu seçilerek, ölçüm yapılan kol kalp hizasından yukarıda olacak şekilde yapılmalıdır. Yapılan iki ölçüm arasında 1-2 dakikalık süre bırakılmalıdır (28).

Hipertansif hastalıklar gebeliğe bağlı en sık görülen komplikasyonlardan biridir. Hipertansiyonun reproduktif dönemdeki kadınlar arasında görülme sıklığı yaklaşık %7 civarındadır (29). Tüm gebeliklerin %5-10'unda hipertansif hastalıklar izlenmektedir. Dünya genelinde fetomaternal mortalite ve morbiditenin önemli nedenleri arasındadır(1). Gebelik sırasında görülen hipertansif hastalıkların sınıflandırılması fetomaternal prognoz ve risk değerlendirmesi açısından son derece önemlidir.

2.3 Gebelikte Hipertansif Hastalıkların Sınıflandırılması

Gebelikte görülen hipertansif hastalıkların sınıflandırılması ilk olarak 1972 yılında ACOG (The American Collage of Obstetricians and Gynecologist) tarafından yapılmıştır. Sınıflamada yaşanan problemlerden dolayı Amerika’da 1990 yılında Ulusal Yüksek Tansiyon Eğitim Programı Çalışma Grubu (NHBPEP) yeni bir sınıflama yaptı. 2000 yılında sınıflamayı yeniden düzenleyerek gebelikte gözlenen hipertansif hastalıkları 5 gruba ayırdılar: Kronik Hipertansiyon, Gestasyonel Hipertansiyon, Preeklampsi, Eklampsi ve Kronik Hipertansiyona Sekonder Süperempoze Preeklampsi (30).

Kanada Hipertansiyon Derneği (CHS) gebelikteki hipertansif hastalıkları 4 gruba ayırmıştır: Sınıflandırılmayan Hipertansiyon, Önceden mevcut olan hipertansiyon, Önceden mevcut olan hipertansiyon ve proteinüriyle birlikte süperempoze gestasyonel hipertansiyon, Gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi (2). 2019 yılında Amerikan Obstetri ve Jinekoloji Derneği (ACOG) gebelikte görülen hipertansif hastalıkları 4 grupta değerlendiren bir sınıflama yayınladı: Gebelikte Hipertansiyon, Kronik Hipertansiyon, Kronik hipertansiyonla birlikte süperempoze preeklampsi, Şiddetli Hipertansiyon

Tablo 1: ACOG’a göre gebelikte görülen hipertansif hastalıkların sınıflandırılması

Hastalık	Tanımı
Gebelikte Hipertansiyon	Sistolik kan basıncı ≥ 140 mmHg veya diastolik kan basıncı ≥ 90 mmHg, veya ikisi, en az dört saat arayla iki ölçüm
Kronik Hipertansiyon	Hipertansiyon tanılı veya gebelikten önce olan hipertansiyon veya 20. gebelik haftasından önce hipertansiyon veya gebelikte ilk kez hipertansiyon tanısı konulan ve postpartum dönemde gerilemeyen hipertansiyon
Kronik Hipertansiyon ile Birlikte Süperempoze Preeklampsi	20. gebelik haftasından önce veya gebelikten önce hipertansiyon öyküsü olan preeklampsili kadınlar
Şiddetli Hipertansiyon	Sistolik kan basıncı ≥ 160 mmHg veya diastolik kan basıncı ≥ 100 mmHg, veya ikisi, en az dört saat arayla iki ölçüm

2.3.1 Gestasyonel Hipertansiyon

Gestasyonel Hipertansiyon gebelikte rastlanan tansiyon hastalıkları içerisinde en sık görülenidir. Gebelik öncesinde normatansif olan bir kadında, 20. gebelik haftasından sonra en az 4 saat arayla yapılan iki ölçümde sistolik kan basıncının 140mmHg ve üzeri ve/veya diyastolik kan basıncının 90mmHg ve üzeri tespit edilmesi olarak tanımlanır. Gestasyonel hipertansiyonun kesin tanısı ancak postpartum 12. haftaya kadar tansiyonun normal aralığa gelmesi ile konulur (2, 30). Sağlıklı nullipar kadınların %6-17'sine ve multipar kadınların %2-%4'üne gestasyonel hipertansiyon tanısı konulmaktadır (31). Genellikle 37. gebelik haftası ve daha sonrasında tanı konulur. Gebelik sonuçları tansiyon yüksekliği olmayan gebeliklerle benzerdir (32, 33). Özellikle 32. gebelik haftasından önce tanı konulması halinde preeklampsiye progresyon ihtimali artmaktadır (31). Sistolik kan basıncının 160mmHg ve üzeri ve/veya diastolik kan basıncının 110mmHg ve üzeri olması, gebeliğin erken dönemlerinde antihipertansif tedavi başlanması şiddetli gestasyonel hipertansiyon olarak kabul edilir. Bu sınıflamaya dahil olan hastalar maternal, fetal mortalite ve morbiditenin en alt seviyede tutulması için şiddetli preeklampsi gibi takip ve yönetimi yapılmalıdır (2).

Gestasyonel hipertansiyon için risk faktörleri arasında; preeklampsi veya gestasyonel hipertansiyon öyküsü, ailede preeklampsi öyküsü, nulliparite, 40 yaş ve üzerindeki gebelikler, iki gebelik arasındaki sürenin 10 yıldan fazla olması, çoğul gebelikler, vücut kitle indeksinin 35kg/m² ve üzerinde olması, renal ve vasküler hastalık öyküsü yer almaktadır (34).

2.3.2 Kronik Hipertansiyon

Gebelikte kronik hipertansiyon insidansı %1-5 arasındadır. Kronik hipertansiyon gebelikten önce mevcut olan veya gestasyonel trofoblastik hastalık yokluğunda 20. gebelik haftasından önce tespit edilen hipertansiyondur. İlk kez gebelikte tanı alan ve postpartum 12. haftadan sonra da devam eden hipertansiyon için de kronik hipertansiyon tanımlaması kullanılır (35). Kronik hipertansiyon varlığında gebelikte intrauterin gelişme geriliği, dekolman plasenta, prematürite, süperempoze preeklampsi riski artar (36). Hafif ve orta şiddetli hipertansiyonun tedavi edilmesiyle preeklampsi önlenememekle birlikte periferik hasarı önlemek için tedavi başlanmalıdır (37). Kronik hipertansiyon tanısı olan gebelerin yaklaşık %13-40'ında süperempoze preeklampsi gelişmektedir (38).

2.3.3 Kronik Hipertansiyon ile Birlikte Süperempoze Preeklampsi

Bütün kronik hipertansif hastalıklar, sebebi ne olursa olsun preeklampsi ve eklampsi gelişimi için bir zemin hazırlar. Süperempoze preeklampsi tanısı, kronik hipertansif gebede 20. gebelik haftasından sonra başlayan proteinüri (bir günlük idrarda 300 miligram(mg) ve daha fazla) ya da spot idrarda protein/kreatinin oranının 0,3'ten daha fazla olması ya da 20. gebelik haftasından önce hipertansiyonu ve proteinürisi olan gebede proteinürü ve kan basıncında şiddetli artış ve semptom bulunması ya da trombositopeni ($<100.000/\text{mm}^3$), karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma, kreatinin düzeyinde yükselme gibi preeklampsinin end organ hasarını gösteren bulguların olması ile konulur. Süperempoze preeklampsi çoğunlukla preeklampsiye göre gebeliğin erken haftalarında gelişme ve kötü prognozlu olma eğilimindedir (39).

Süperempoze preeklampside antihipertansif tedavi dozunun artırılmasına rağmen sistolik kan basıncının 160mmHg üzerinde olması ya da diastolik kan basıncının 110mmHg üzerinde olması ya da baş ağrısı, vizüel semptomlar gibi persiste eden serebral semptomların olması ya da karaciğer fonksiyon testlerinde iki kat ve üzerinde artış ya da trombositopeni ($<100.000/\text{mm}^3$) varlığında şiddetli süperempoze preeklampsi tanısı konulmaktadır (40).

2.3.4 Preeklampsi

Gebelik öncesinde kan basıncı normal olan, gestasyonel trofoblastik hastalık yokluğunda 20. gebelik haftasından sonra ortaya çıkan, en az 4 saat ara ile yapılan 2 ölçümde sistolik kan basıncının 140mmHg ve /veya diastolik kan basıncının 90mmHg ve üzeri ölçülmesi ve buna eşlik eden yeni başlangıçlı proteinüri ya da proteinüri olmadan end organ fonksiyon bozukluklarının olduğu multisistem tutulumu olan bir hastalıktır. Proteinürü tanımlaması 24 saatlik idrarda proteinin 300mg ve üzeri olması, spot idrar/protein kreatinin oranının 0,3 ve üzeri olması ya da idrar preparatında persistan protein (1+) varlığında yapılır (3).

Yeni başlangıçlı hipertansiyonu olan ama proteinürisi olmayan hastalarda son organ hasarını gösteren trombositopeni ($<100.000/\text{mm}^3$), renal hastalığa bağlı olmayan kreatinin konsantrasyonunun 2 katına çıkması veya serum kreatinin konsantrasyonunun 1.1mg/dl'nin üzerine çıkması, karaciğer enzim konsantrasyonlarının normal değerinin 2 katına çıkması, pulmoner ödem, serebral veya görme ile ilgili semptomların olması ile de

preeklamps tanısı konabilir (30). 2013 yılından önce proteinüri preeklamps tanısı koyabilmek için gerekli bir kriterdi. Yapılan çalışmalarda bir grup hastada idrarda proteinüri saptanabilecek düzeye gelmeden önce çeşitli organlarda hasarların gelişmiş olabileceği bulunmuştur. Bunun üzerine Amerikan Obstetri ve Jinekoloji Derneği (ACOG) Gebelikte Hipertansiyon Görev Gücü'nün 2013 raporunda proteinüriyi kesin tanı kriterliğinden çıkarmıştır (41).

Tablo 2. Preeklampsinin Tanı Kriterleri

Kan basıncı

- Gebelik öncesi normotansif olup 20. gebelik haftasından sonraki dönemde en az 4 saat arayla ölçülen sistolik kan basıncının 140 mm Hg veya daha fazla veya diastolik kan basıncının 90 mm Hg veya daha fazla olması, veya her ikisinin bir arada olması
- Sistolik kan basıncının 160 mm Hg veya daha fazla veya diastolik kan basıncının 110 mm Hg veya daha fazla olması, (şiddetli hipertansiyon, kısa bir süreçte kesinleştirilmelidir ki antihipertansif tedavinin zamanında başlanması mümkün olabilsin)

VE

Proteinüri

- 24 saatte toplanan idrarda proteinin 300 mg veya daha fazla olması veya
- Spot idrarda protein kreatinin oranının 0.3. mg/dL ve daha fazla olması veya
- Okunan dipstikte +2 olması (ancak diğer kantitatif yöntemlerin kullanılmadığı durumlarda bu yöntemle başvurulmalıdır)

VEYA proteinürinin olmadığı durumlarda, yeni başlangıçlı hipertansiyona aşağıdakilerden herhangi birinin eşlik etmesi:

- Trombositopeni: Platelet sayısının 100.000/mm³ den az olması
- Renal yetmezlik: Serum kreatinin konsantrasyonunun 1.1 mg dL olması veya serum kreatininkonsantrasyonunun ikiye katlanması ve diğer renal hastalıkların olmaması
- Bozulmuş Karaciğer fonksiyonu: Karaciğer transaminazlarının normal konsantrasyonuna göre en az iki kat artmış olması

Akciğer ödemi

Görme Kaybı Bozuklukları: Skotom, kortikal körlük, retinal vazospazm, fotopsi, diplopi, amorozis fugaks gibi yeni başlangıçlı vizüel semptomlar

Sağ üst kadranda ağrısı veya epigastrik ağrı: Başka bir tanıyla açıklanamayan, persistan ve şiddetli

Baş ağrısı: Başka bir tanıyla açıklanamayan, asetaminofene cevap vermeyen, yeni başlangıçlı baş ağrısı

Bazı otoriteler 34. gebelik haftasından önce gelişen preeklampsiyi erken başlangıçlı, 34. gebelik haftası ve sonrasında gelişen preeklampsiye ise geç başlangıçlı olarak iki sınıfa ayırırlar. Klinik özellikleri benzer olsa da hastalık spektrumu ve sonuçları farklılık göstermektedir. Erken başlangıçlı preeklampside daha şiddetli plasental, maternal, fetal klinik bulgular izlenmekle birlikte daha kötü maternal-fetal sonuçlarla ilişkilendirilmiştir (42). ACOG 2013 yılında hafif preeklampsi tanımını kaldırarak preeklampsiyi şiddetli özellik göstermeyen preeklampsi ve şiddetli preeklampsi olarak iki şekilde sınıflandırmıştır (2). Şiddetli olmayan ve şiddetli preeklampsi ayrımında kullanılan parametreler Tablo 3'te verilmiştir.

Tablo 3. Şiddetli Preeklampsi Tanı Kriterleri

	Şiddetli Olmayan Preeklampsi	Şiddetli Preeklampsi
Diastolik Kan Basıncı	<110 mm Hg	≥110 mm Hg
Sistolik Kan Basıncı	<160 mm Hg	≥160 mm Hg
Baş Ağrısı	Yok	Var
Görme Bozuklukları	Yok	Var
Epigastrik Ağrı	Yok	Var
Oligüri	Yok	Var
Konvülsiyon (Eklampsi)	Yok	Var
Serum Kreatinin	Normal	Artmış
Trombositopeni (<100.000/ml)	Yok	Var
Serum Transaminaz Yüksekliği	Az	Belirgin
Fetal Büyüme Kısıtlılığı	Yok	Var
Akciğer ödemi	Yok	Var

Sağ üst kadranda ağrısının veya epigastrik ağrı hepatosellüler nekroz, iskemi, Glisson kapsülünde gerilmeye neden olan ödemden kaynaklanmaktadır. Ancak genellikle hepatik histopatolojiyle laboratuvar anormallikleri arasında bir korelasyon olmayabilir. Trombositopeni preeklampsinin kötüleştiğini gösteren karakteristik bir bulgudur çünkü trombosit aktivasyonu ve agregasyonunun yanı sıra ağır vazospazmın neden olduğu mikroanjyopatik hemolizi gösterir. Proteinüri miktarı preeklampsinin şiddetini belirlemede

kullanılmamaktadır (3). Bu bulgular ve semptomlar ne kadar şiddetliyse gebeliğin sonlandırılma gerekliliği de o derecede artış gösterir. Preeklampsiyi şiddetli olmayan ve şiddetli olarak ayırımını yapmak her zaman yardımcı olmayabilir çünkü şiddetli olmayan hastalık olarak sınıflandırılanlar hızla şiddetli forma dönüşebilirler.

Eklampsi

Preeklampsi tanısı konulan gebelerde yeni başlangıçlı ve başka hiçbir nedene bağlanamayan jeneralize tonik klonik nöbetlerin klinik tabloya eşlik etmesi eklampsi olarak tanımlanır. Eklampsi insidansı artış göstermektedir. Maternal fetal morbidite ve mortalite ile yakından ilişkilidir. Konvülsiyonlar postpartum da görülebilmektedir. Yaklaşık yarısı postpartum ilk 48 saat içerisinde görülürken postpartum 6. haftaya kadar oluşabileceği belirtilmektedir (43).

HELLP Sendromu

HELLP sendromu preeklampsinin en şiddetli formu olup ciddi maternal fetal morbidite ve mortalite ile ilişkili bir sendromdur. Hemoliz (H), yükselmiş karaciğer enzim düzeyleri (elevated liver enzymes, EL) ve trombositopeni (low platelet, LP) ile karakterize bir sendromdur. Mikroanjiopatik hemolitik anemi varlığıyla tanımlanan hemoliz, sendromun en önemli bulgusudur (44). Sınıflandırmada HELLP sendromu şiddetli preeklampsinin bir varyantı olarak gösterilse kriterleri karşılayan hipertansiyon ve proteinüri olmadan da gelişebilmektedir. Gebeliğin akut yağlı karaciğeri, trombotik trombositopenik purpura, antifosfolipid sendromu ve hemolitik üremik sendrom ile karışabilmektedir. Tedavinin gecikmemesi için dikkatli olunmalıdır. Tedavinin temel dayanağı maternal stabilizasyon ve doğum zamanının doğru belirlenmesidir (45).

Tablo 4. HELLP Sendromu Tanı Kriterleri

Hemoliz bulguları (en az iki kriterin bulunması gerekmektedir) - Periferik kan (şistositler, burr hücreleri) - Serum bilirubin > 1.2 mg/dl - Düşük serum haptoglobin düzeyi
Kan kaybına bağlı olmayan şiddetli anemi
Karaciğer enzim düzeylerinde artış -ALT ve AST, normalin üst sınırından en azı iki katı yükseklik -Laktat dehidrogenaz değerinin normalin üst sınırından en azı iki katı yükseklik
Düşük trombosit düzeyi (<100 bin/mm ³)

2.3.4.1 Preeklampsinin İnsidansı ve Epidemiyolojisi

Preeklampsi indisansı; ırk, etnik köken, çevresel faktörler, sosyoekonomik durum, mevsimsel değişiklikler ve rakım farkı gibi faktörlerin etkisiyle değişkenlik göstermektedir. Preeklampsi insidansı gelişmiş ülkelerde 10.000 doğumda 1,6-10 iken, gelişmekte olan ülkelere 10.000 doğumda 50-151 arasında değişmektedir (46). Gelişmekte olan ülkelere anne ve perinatal ölüm ve hastalık oranları daha yüksek izlenmektedir. İnsidans ve gebelik sonuçlarındaki bu fark, gebelik ve doğumda sağlık hizmetlerine erişim, preeklampsinin erken tespiti, doğru zamanlanmış doğum ve sağlık kaynaklarının varlığıyla ilişkili olabilir. Preeklampsi insidansı tüm dünyada artmaya devam etmektedir. Bu artışının temel nedenleri arasında artan ileri yaş gebelik, obezite, yardımcı üreme teknikleri ile elde edilen gebelik, çoğul gebelik oranları yer almaktadır. Maternal morbidite ve mortalite açısından çok önemli olup her yıl yaklaşık 50.000 ölüme neden olmaktadır (47). Gelişmekte olan ülkelere gelişmiş ülkelere kıyasla fetal mortalite preeklampside üç kat, eklampside ise 4,5 kat daha yüksek görülmektedir. Hipertansif hastalıklar gelişmekte olan ülkelere ölü doğumların ve erken neonatal ölümlerin obstetrik kaynaklı en sık ikinci nedenidir (48). Her yıl dünyada yaklaşık olarak dört milyondan fazla gebeye preeklampsi tanısı konulmaktadır ve bunların %90'ından fazlası gelişmemiş ülkelere görülmektedir. Eklampsi konvülsiyonlar ise yüz binden fazla kadında görülmektedir.

2.3.4.2 Preeklampsi Risk Faktörleri

Preeklampsi klinik prezantasyon, epidemiyoloji, eşlik eden morbiditeler açısından heterojenite göstermesi nedeniyle hangi gebelerde gelişeceği öngörülemez ancak bazı klinik durumlarda gelişme riskinin arttığı saptanmıştır (49). Sıklıkla genç ve nullipar gebeleri etkilemektedir. İleri yaş gebeliklerde kronik hipertansiyon zemininde preeklampsi gelişme riski daha yüksektir. İnsidansın ırk ve etnik kökenden etkilenmesi genetik predispozisyonla ilgilidir. Yüksek rölatif riskler arasında; preeklampsi öyküsü, gebelik öncesi diyabet, hipertansif hastalıklar, çoğul gebelik, kronik böbrek hastalığı, antifosfolipid antikor sendromu, sistemik lupus eritematozus, obezite yer almaktadır (3, 49). İkinci trimesterde olan veya şiddetli preeklampsi öyküsünde risk daha fazla artmaktadır. Gebelik öncesinde mevcut olan diyabetin, kronik renal hastalık, vasküler hastalıklar, obezite, anormal lipid metabolizması gibi klinik durumlarla birliktelik seyretme ihtimalinden dolayı risk artmaktadır. Maternal kilo ile preeklampsi riski arasındaki ilişki doğru orantılıdır. Vucüt kitle indeksindeki her 5-7kg/m² artış preeklampsi gelişme riskini 2 kat artırır (50). Preeklampsi etiyopatogenezinde rolü olduğu düşünülen bir teoriye dayanarak, ilk kez koryon villusla karşılaşanlar, çoğul ve mol gebelikte olduğu gibi fazla koryon villusla karşılaşanlar, diyabet ve bazı otoimmün hastalıklarda görülen endotel hücre aktivasyonu ve inflamasyonu olanlar, hipertansiyon gelişimi için genetik yatkınlığı olanlarda risk artmaktadır. Nullipar kadınların bağışıklık sisteminin paternal antijenlere sınırlı maruz kalmasından kaynaklı desensitizasyon eksikliğinin riski arttırdığı düşünülmektedir. Paternal faktörler de önemlidir. Erkeğin daha önceden preeklampitik gebeliğe babalık yapmış olması da riski arttırmaktadır. Gebelik öncesi spermle karşılaşma süresi kısaldıkça risk artmaktadır (51). Kontrasepsiyon yöntemi olarak bariyer kullanan kadınlarda risk artarken, gebelik öncesi cinsel aktivite süresinin artmasıyla risk azalmaktadır (52). Sigara içmek preeklampsi riskini azalmaktadır.

Tablo 5. Preeklampsi Risk Faktörleri

Nulliparite, Çoğul Gebelik
Önceki gebeliklerinde preeklampsi öyküsü, Ailede preeklampsi öyküsü
Anne yaşının > 40 ya da < 18 olması
Kronik Hipertansiyon, Kronik Böbrek Yetmezliği, Diyabet (gestasyonel-pregestasyonel), Hipertiroidi
Otoimmün hastalıklar (örn. Antifosfolipid antikor sendromu, Sistemik Lupus Eritramatozis)
Siyahi ırk
Hidrops fetalis, Önceki gebelikte fetal büyüme geriliği, ablasyo plasenta veya fetal ölüm
Önceki gebelik normotansif ise uzun süreli gebelik aralığı; önceki gebelik preeklampsi ise, gebelikler arası kısa olması nüks riskini artırır
Partnerle ilgili faktörler (yeni partner, sınırlı sperm maruziyeti [örn.bariyer kontrasepsiyonun önceki kullanımı])
In vitro fertilizasyon
Obezite , Obstruktif uyku apnesi

2.3.4.3 Preeklampsi Etyopatogenezi

Preeklampsi 1990'lı yıllarda bazı araştırmacılar tarafından teorilerin hastalığı olarak adlandırılmıştır (53). Pek çok çalışma yapılmış olmasına rağmen preeklampsi etyopatogenezi halen net olarak açıklanamamıştır.

Preeklampsi insan dışı türlerde görülmeyen gebeliğe özgü multisistemik bir hastalıktır. Bu özgülüğün sebebi, insan fetüsünün beyin/vücut ağırlığı oranının diğer memelilere göre çok yüksek olmasından kaynaklı besin ihtiyacının da fazla olması olabilir (54). Etyolojisi net olarak aydınlatılamamış olsa da günümüzde yaygın kabul edilen teori anormal plasental vasküler yapılanma ve plasental dokuya karşı maternal immün toleransın yetersiz olmasıdır. Preeklampsinin kesin tedavisinin doğumla plasental dokuya maruziyetin ortadan kaldırılması oluşu bu teoriyi güçlendirmektedir. Hastalığın gelişimi için plasenta gereklidir ancak fetüs gerekli değildir. Öne sürülen diğer teoriler ise;

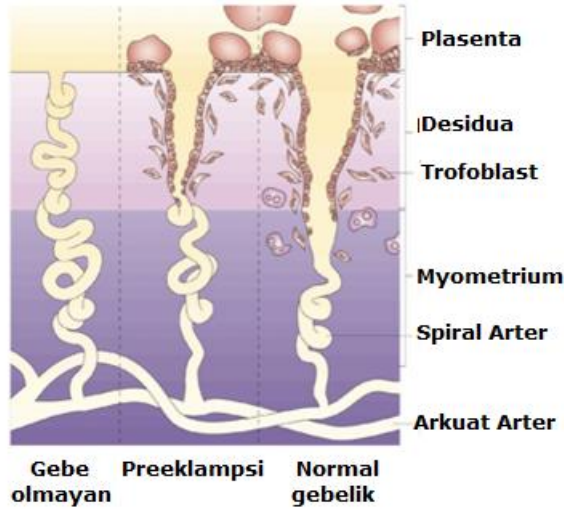
koagülasyon bozuklukları, vasküler endotelial hasar, genetik yatkınlık, kardiyovasküler adaptasyon bozuklukları, oksidatif stres ve aşırı inflamatuvar yanıtıdır. Etyolojiden bağımsız meydana gelen endotelial hasara bağlı gelişen vazospazm, koagülasyon sistemi aktivasyonu, kan basıncı ve sıvı miktarını etkileyen humoral ve lokal kontrolde olumsuz değişimlerle karakterize bir hastalıktır preeklamps (3).

2.3.4.3 Plasentanın Anormal Gelişimi

Sağlıklı bir gebelikte fetüsün oksijen ve besin ihtiyacını karşılamak için sitotrofoblastlar tarafından uterin arterin terminal dalları olan spiral arterlerin hem endotel hem de kas dokusundan zengin olan tunika medyasını invaze etmek için desidua ve myometriyumun bir bölümünü invaze edilir. Spiral arterlerin vazoaktif mediyatörlere yanıtı azalır (55). Böylelikle spiral arter çapı 15-20 mikrondan 300-500 mikrona çıkartılmakta ve intervillöz aralıktaki akım direnci azaltılmaktadır. Bunun sonucunda intervillöz aralık yüksek akımlı hale gelerek plasenta ile fetüs arasında transport artmaktadır. Bu yeniden düzenleme ile spiral arterler küçük musküler arterlerden düşük dirençli büyük kapasiteli damarlara dönüşerek plasentaya olan kan akışını büyük ölçüde kolaylaştırır (56). Spiral arterlerin yeniden şekillendirilmesi ilk trimesterin sonlarında başlayarak 18-20. gebelik haftalarında tamamlanır. Sağlıklı gebeliklerde bu fizyolojik sürecin tamamlanmasıyla kan basıncı düşük olsa bile fetüse ve plasentaya yeterli destek sağlanmış olur.

Preeklampside trofoblastlar tarafından gerçekleştirilen spiral arter invazyonu bozulmuş ve arterlerin etrafındaki trofoblastlarda apoptozis artmıştır (57). Sitotrofoblastlar spiral arterlerin desidual tabakasını invaze ederler ancak myometriyal tabakaya nüfuz edemezler (58, 59). Yetersiz sitotrofoblast invazyonu, plasental invazyonun ve maternal vasküler yapılanmanın yetersiz olmasına sebep olur. Yetersiz sitotrofoblast invazyonuna bağlı olarak spiral arter etrafında invaze olmamış sitotrofoblastlarda artış, kalın duvarlı ve yüksek basınçlı spiral arterler, damar lümeni içerisinde aterom plakları ve tromboz artışı izlenir (60). Plasental perfüzyonun azalmasına bağlı olarak gelişen iskemi ve hipoksi sonucunda plasentada bazı histopatolojik değişimler meydana gelir (61). Plasental hipoperfüzyon anormal plasental gelişimin hem nedeni hem de sonucu gibi görülmektedir. Uteroplasental akımın mekanik olarak azaltılmasıyla preeklamps benzeri bulguların meydana geldiği yapılan hayvan modeli bir çalışmada gösterilmiştir (4, 62). Kronik hastalıklara bağlı meydana gelen

vasküler yetmezlik de plasental kütlenin artmasıyla oluşan iskemi varlığında preeklampsi insidansındaki artış bu ilişkiyi desteklemektedir. Azalan kan akımını arttırmak için devreye giren fizyolojik faktörler kan basıncında artmaya sebep olurlar.



Şekil 1. Preeklampside İzlenen Anormal Trofoblastik İnvazyon (63)

2.3.4.4 İmmünolojik Faktörler

Semi-allogenik fetüse karşı doğru immün yanıtın oluşmasıyla trofoblast invazyonu gerçekleşmektedir. Paternal antijenlerle daha az karşılaşan nullipar kadınlar, kontrasepsiyon olarak bariyer yöntemini kullananlar, intrastoplazmik sperm enjeksiyonu ile gebelik elde edilen kadınlarda preeklampsi riskinin yüksek olması, gebelik materyaline karşı immün toleransın zayıf olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (49, 64). Yapılan bir çalışmada preeklampsi insidansı primigravid kadınlarda %12, tek eşli multigravid kadınlarda %5, çok eşli multigravid kadınlarda %24 olduğu tespit edilmiştir. Molar gebelik gibi maternal antijenik yükün fazla olduğu durumlarda preeklampsi görülme sıklığının artması da bu teoriyi destekler niteliktedir (65). Maternal-fetal arayüzde yer alan hücrelerin ürettikleri sitokinler bu süreçte önemli rol oynarlar. İlk trimesterden başlayarak çok sayıda makrofaj, NK hücreleri, T helper hücreleri, dentritik hücreler desiduaya gelirler ve desidual hücrelerin %40'ını oluştururlar (66). NK hücrelerinin ve makrofajların implantasyonun yönetiminde önemli rolleri olduğu düşünülmektedir (67).

Yabancı dokudaki ana doku uyumluluk kompleksi (MHC) proteinlerine karşı immün cevap gelişir (68). MHC proteinlerinin insan dokusundaki karşılığı insan lökosit antijeni (HLA)'dır. Sitotrofoblastlar sınıf 1 antijenlerden olan HLA-C, HLA-E, HLA-G'yi eksprese

ederler. NK hücreleri sınıf 1 antijenleri tanıyan reseptörlere sahiptirler. Sitotrofoblastlarla yakın temas halindedirler ve aralarındaki etkileşim hem trofoblastların göçünü sağlayan yolakların aktive olmasını hem de göç ettikleri damarlarda varlıklarını sürdürebilmeleri için gerekli immün toleransın oluşmasını sağlar (69, 70). Yapılan çalışmalarda preeklampitik gebelerin plasentalarında trofoblastların HLA sunumunda defektler olduğu gösterilmiştir. NK hücrelerle etkileşime geçemedikleri için trofoblast invazyonunun yetersiz olduğu düşünülmektedir. Özellikle HLA-G ekspresyonunun spiral arter invazyonu esnasında sinsityotrofoblastları NK hücreleri tarafından yok edilmekten koruduğu düşünülmektedir (71).

Desidual makrofajlar plasenta gelişiminde rol alan sitokinler ve büyüme faktörlerini salgılar, fetüsü enfeksiyon etkenlerine karşı korur ve fetüse karşı immün tolerans gelişiminde anahtar rol oynarlar (72). Proinflamatuvar özellikler gösteren M1 makrofajlar anjiyogenin, keratinosit büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü B, vasküler endotelial büyüme faktörü A, anjiyopoietin 1 ve 2 gibi anjiyogenik faktörler salgılayarak spiral arterlerin yeniden yapılanmasını sağlarlar (73). Spiral arterlerin yeniden yapılanması sırasında apoptozise uğrayan hücrelerin temizlenmesini sağlayarak aşırı endotelial aktivasyonu ve immün cevabı önlediği varsayılmaktadır (74).

Preeklampsia tanısı konan hastaların desidualarında makrofaj sayısının belirgin artmış olduğu görülmüştür (75). Makrofajlar ve dentritik hücreler, hipoksik koşullar, oksidatif stres ve inflamasyona bağlı nekroze uğrayan trofoblastları fagosite ettikten sonra TNF- α , IL-12, IFN- γ gibi sitokinler üreterek inflamasyonun şiddetini artırırlar (76). Sitokinler T-helper 1 hücre aktivasyonuna sebep olarak sitotoksik kronik inflamasyon yaratırlar. Muhtemelen bu durumun etkisiyle sitotrofoblastların apoptozisi indüklenir ve preeklampside olduğu gibi anormal plasental gelişime sebep olur. Oluşan kronik inflamasyon, anormal plasental gelişim, hipoksi sonucu oluşan oksijen radikallerinin yarattığı sitotoksikite endotel hasarına neden olarak maternal hipertansiyon, proteinüri ve son organ hasarı meydana getirir. Sağlıklı gebeliklerde antiinflamatuvar özellikli T helper-2 (Th2) hücrelerinin proinflamatuvar T helper-1 (Th1) hücrelerine baskındır. Bu sayede sitotoksik Th1 hücrelerinin salgıladığı sitokinlerin olumsuz etkileri baskılanarak, gebelik materyaline karşı immün toleransın oluşmasına olanak sağlar (77). Preeklampside ise Th1 hücre hakimiyeti mevcuttur (71).

2.3.4.5 Sistemik Endotel Disfonksiyon

Endotelyal disfonksiyon ve vazospazm preeklampsi patogenezinin temel bileşenleri olarak kabul edilmekle birlikte klinik bulgulardan sorumludurlar (78). Anormal plasental gelişim ile oluşan hipoksik, iskemik ortam serbest oksijen radikallerinin maternal dolaşıma geçmesine sebep olur. Serbest oksijen radikalleri ve salınımını uyardıkları antianjiyogenik faktörler, inflamasyon mediyatörleri maternal sistemik vasküler endotel aktivasyonu ve disfonksiyonuna neden olur. İntakt endotel antikoagülan özelliğe sahiptir. Hasarlı endotelde bu etki yoktur ve prostaglandin üretim dengesi, nitrik oksit salınımıyla vazodilatör etki bozulmakta, ortalama kan basıncı artmakta, kalp atım hızı azalmakla birlikte prokoagülan ve vazopressör etkili mediyatörlere duyarlılığı arttıran maddeler de sentezlerler (79, 80). Vazopressör etkili endotelin, tromboksan sentezinin artması vazospazma yol açar. Prokoagülan faktörlerin de sentezi artmıştır. Oksidatif hasara bağlı olarak ateroskleroz, lipid yüklü makrofaj köpük hücreleri, mikrovasküler koagülasyon aktivasyonu sonucu trombositopeni, ödem, kapiller permeabilite artışına bağlı proteinüri oluşur (3). Son organ hasarının en temel sebebi endotel hasarıdır (81). Dissemine intravasküler koagülasyon tablosunun endotel hasarı ve mikrotrombüslerin yaygın hale gelmesi ile meydana geldiği bilinmektedir. Beyin damarlarının endotelinin etkilenmesine bağlı baş ağrısı, görme bulanıklığı, nöbetler meydana gelebilir. Sağ üst kadranda ağrısı karaciğer damarlarının, proteinüri ise glomerüler damarların endotelinin etkilenmesi sonucu gelişebilir. Plasental damarlardaki endotel hasarına bağlı intrauterin gelişme geriliği oluşabilir (81, 82).

2.3.4.6 Anjiyogenik Faktörler

Plasentadan VEGF, PIGF gibi proanjiyogenik ve sFlt-1, endoglin gibi antianjiyogenik faktörler salgılanır ve faktörler arasındaki denge plasentanın normal gelişimi için gereklidir. sFlt-1, TNF-alfa, IL-6 ve anjiyotensin tip 1 reseptör antikorları gibi vazoaktif faktörlerin sentezindeki artışta anormal gelişime bağlı hipoksik plasentanın neden olduğu düşünülmektedir. Artan sFlt-1, VEGF ve PIGF'yi bağlar ve endotel disfonksiyonu meydana gelir (79). Yapılan hayvan modeli bir çalışmada, bir adenovirüs kullanılarak sıçanlara sFlt-1 enjekte edilmesiyle preeklampsi ile örtüşen hipertansiyon, proteinüri, glomerüllerde genişleme ve fibrin birikimi, endotelyoz gibi histolojik değişimler meydana gelmiştir. Bu bulguya dayanarak sFlt-1'in preeklampsi patogenezinde önemli bir rolü olduğunu söyleyebiliriz (83). Sinsityotrofoblastlardan ve damar endotelinden salgılanan çözünebilir endoglin (sEng) antianjiyogenik bir protein olup preeklampsinin diğer önemli

mediyatörü gibi görünmektedir. TGF- β ailesinden bir anjiyogenik reseptör olan endoglinin parçalanması sonucu oluşur (64). sEng TGF-beta için koreseptör görevi yaparak nitrik okside bağlı vazodilatasyonun azalmasına neden olur (84). Gebe sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada sFlt-1 ve sEng'in birlikte verildiği sıçanlarda şiddetli preeklampsi ve HELLP sendromunun ayırt edici özelliklerinden olan trombositopeni ve Laktat Dehidrogenaz (LDH) yüksekliği olduğu bildirilmiştir (85). sFlt-1 ve sEng'in preeklampsi kliniği gelişmeden üç ay kadar önce maternal serumda yüksek tespit edildiği bildirilmiştir. Terapötik yaklaşımlar için umut vericidir (86).

2.3.4.7 Genetik Faktörler

Preeklampsi vakaların çoğu sporadik olarak görülmektedir ancak genetik faktörlerin preeklampsiye yatkınlığa sebep olduğu düşünülmektedir. Preeklampsi multifaktöryel ve poligenetik bir hastalıktır. Preeklampsiye neden olabilecek spesifik bir gen henüz tanımlanmamıştır. Birden fazla maternal fetal genin hem çevresel faktörler hem de birbirleri ile olan karmaşık ilişkilerinin sonucunda preeklampsi gelişiminde rol oynadıkları düşünülmektedir (87). Preeklampside genetik faktörlerin etkili olduğunu düşündüren durumlardan biri ailesinde preeklampsi öyküsü olan kadınlarda hastalık riskinin daha yüksek olmasıdır (88).

Genetik çelişki teorisine göre fetal genler fetüse oksijen ve besin aktarımını arttırmak için seçilirken, maternal genler bu aktarımı belirli bir sınır içinde tutmak için seçilmektedir (89). Çelişkiler teorisinde plasental faktörler yani fetal genler maternal kan basıncını artması yönünde etki göstermekteyken, maternal faktörler kan basıncını düşürmek için etki etmektedir (90).

Preeklampsi ile komplike gebelik geçirme öyküsü olan kadınlarda preeklampsi gelişme riski yaklaşık yedi kat artmaktadır (91). Herhangi bir hastalık öyküsü bulunmayan primigravid gebelerde anne veya kız kardeşinde preeklampsi öyküsü olması preeklampsi riskini iki ile beş kat arttırmaktadır (88). Dizigotik ikizlere kıyasla monozigotik ikizlerde preeklampsi gelişme riski daha yüksek saptanmıştır (92). Preeklampitik annelerden dünyaya gelen babaların çocuklarında preeklampsi gelişme riski normal popülasyona göre artmıştır (90, 92).

Genetik yapısının tamamı paternal genlerden oluşan mol hidatiform varlığında preeklampsinin daha erken başlangıçlı ve şiddetli forma seyretmesi, preeklampsi

gelişiminde fetal genlerin rolü olduğunu düşündürmektedir (93). Preeklampsia patofizyolojisinde önemli olan sFlt-1 gen lokusu 13. kromozom üzerinde bulunmaktadır. Trizomi 13 genotipli fetüs taşıyan gebelerde preeklampsia riski artmıştır (94).

Preeklampsia gelişiminde rol alabilecek çok sayıda gen incelenmiştir. Bunlar içerisinde vazoaaktif proteinler, trombofili, oksidatif stres ve lipid metabolizması, endotel hasarı ve immünogenetik yollarda görev yapan genler bulunmaktadır (95). Preeklampsia gelişimi hem maternal hem de fetal kaynaklı, multigenetik ve multifaktöriyel bir hastalık olduğu için tüm etmenler göz önünde bulundurularak değerlendirilmelidir.

2.3.4.8 Çevresel Faktörler

Preeklampsia gelişiminde rol oynayan çevresel faktörler arasında vücut kitle indeksi, diyet ve beslenme alışkanlıkları, yaşam tarzı değişiklikleri yer almaktadır. Vücut kitle indeksinin preeklampsia riski ile doğrudan ilişkilidir (82). Obeziteye bağlı oluşan mikroanjyopatik değişimlerin ve plasental anjiyogenik faktörlerin sinerjik etkisiyle oluşan kronik inflamasyon ve endotelial hasar preeklampsia gelişimine zemin hazırlar (88, 96). Vitamin alımıyla ilgili yapılan çalışmalarda günlük askorbik asit alımının 85 mg'ın altında olduğu gebelerde preeklampsia riskinin iki kat arttığı gözlenmiştir. C ve E vitaminlerinin antioksidan etkileriyle oksidatif strese karşı koruyucu rol oynayarak preeklampsia riskini azaltacağı öngörülse de yapılan çalışmalar bunu desteklememektedir (97). Bir başka çalışmada kalsiyum desteğinin preeklampsia gelişimini önlemediği ama şiddetli preeklampsia komplikasyonlarını azalttığı görülmüştür (98).

2.3.4.9. Patofizyoloji

Preeklampsili kadınlarda görülen sadece tansiyon yüksekliğinden anne ve bebeğin yaşamını tehdit eden sistemik çoklu organ bozukluklarına kadar değişen klinik spektrumun temel sebepleri endotel fonksiyon bozukluğu, vazospazm ve iskemidir.

Oksidatif stresin ve inflamatuvar süreçlerin neden olduğu endotel hasarı vazopressör ajanlara duyarlılığı artırır. Vazodilatör etkili prostaglandinler, nitrik oksit ve vazokonstriktör etkili tromboksan A, endotelinler gibi çeşitli vazoaaktif mediyatörlerin etkileşimiyle vazospazm olur. Endotel hasarına bağlı üçüncü boşluğa sıvı kaçağı izlenir ve hemokonsantrasyon gelişir. Bunların sonucunda normal gebelerde beklendiği gibi preeklampşik gebelerde hipervolemi gelişmez ve sıvı kaybına duyarlı hale gelirler (99).

Anjiyogenik ve antianjiyogenik faktörler arasındaki dengenin bozulması da sistemik vasküler dirençte artmaya ve kan basıncı artışına yol açar. Kan basıncı artışının sebep olduğu artmış kardiyak afterload ventriküler yeniden yapılanmaya ve bunlarında bir kısmında diastolik disfonksiyona yol açtığını gösteren çalışmalar vardır (100). Preeklampsili gebelerde ilk trimesterden itibaren yüksek arteriyel direncin olduğu gösterilmiş ve bazı gebelerde kardiyovasküler değişimlerin kan basıncı yüksekliği ortaya çıkmadan geliştiğini düşündürmektedir (101).

Preeklampside en sık görülen hematolojik bozukluk trombositopenidir ve hastalığın şiddetinin göstergelerinden biridir. Trombositopeni varlığında maternal ve fetal morbidite oranları artmaktadır (102). Mikroanjiyopatik endotel hasarı ve aktivasyonuna bağlı trombüsler oluşur ve trombosit tüketimini artırarak trombositopeniye sebep olurlar (103). Bazı hastalarda şiddetli preeklampside görülen hemoliz bulguları olan serum LDH seviyesinin yükselmesi, haptoglobulin düzeyinin azalması ile birlikte şistositlerin görülmesi, sferositoz ve retikülosit gibi periferik kan değişiklikleri gözlemlenebilir (104). Hemoglobinemi, hemoglobinüri ve hiperbilirubinemi gibi aşırı hemoliz bulguları da şiddetli preeklampsisi göstergesidir. Preeklampside kapiller sızıntıya sekonder ortaya çıkan hemokonsantrasyon nedeniyle hematokrit düzeyi yükselir ama tabloya hemoliz eşlik ediyorsa hematokrit düzeyi normal de olabilir. Trombin aktivitesine bağlı olarak fibrinojenden üretilen fibrinopeptid A ve B düzeylerinde ve faktör 8 tüketiminde artış, antitrombin III, protein C ve S düzeylerinde azalmalar görülür(105). Koagülasyon sistemi parametrelerinde anlamlı farklılıklar olmaz (106).

Preeklampside glomerüllerin afferent arteriyollerinde artan direnç ve plazma hacmindeki azalma sebebiyle glomerüller filtrasyon azalır (107). Böbrek fonksiyon bozukluğunun ilk aşaması tübüler fonksiyonlarda bozulmadır. Bunun sonucunda proteinüriden önce hiperürisemi gelişir ve ardından glomerüller filtrasyonun bozulmasına bağlı proteinüri gelişir (108). Proteinüri nonselektif olarak albümin, globulin, transferrin, hemoglobin gibi büyük moleküler ağırlıklı proteinlere artan tübüler geçirgenliğin bir sonucudur. Henüz proteinüri gelişmemişken şiddetli preeklampsisi, eklampsisi, HELLP sendromu ya da doğum gerçekleşebilir. Renal kan akımındaki azalmaya ve hemokonsantrasyona bağlı olarak oligüri görülebilir (109). Ciddi vazospazma bağlı olarak gelişen renal değişiklikler sonucu kreatinin seviyesi normalin üstündedir. Prerenal değişiklikler sonucunda idrar osmolaritesi ve idrar/plazma kreatinin oranı artmıştır. Renal biyopside klasik olarak şişmiş, fibrillerle vakumlanmış endotel hücreleri, şişmiş

mezengiyal hücreler, glomerüler filtrattan tekrar emilen proteinlerin subendotelyal tabakada birikintileri ve tübüler döküntüler olarak tanımlanan glomerüler endotelyoz izlenebilir (110).

Karaciğer tutulumu preeklampsinin şiddetinin göstergelerinden biridir. En sık görülen karaciğer fonksiyon bozukluğu serum transaminazlarında hafif yükselmedir. Hemoliz ve hepatik disfonksiyona bağlı olarak serum LDH miktarı artabilir. Şiddetli preeklampside hepatosellüler nekroz, iskemi ve ödem sonucu oluşan Glisson kapsülünün gerilmesi sağ üst kadranda ağrısı veya epigastrik ağrıya neden olur (111).

Preeklampside serebral otoregülasyonda bozulmalara bağlı serebrovasküler hipoperfüzyon ve ödeme bağlı baş ağrısı, görme değişiklikleri, konvülsiyonlar, mental değişiklikler gibi belirtiler görülebilir. Eklampsinin fokal serebral vazospazm, hipoperfüzyonun sonucu veya ani kan basıncı yükselmesinin serebral damarlarda yaptığı endotel hasarına bağlı oluşan beyin ödemi sonucu geliştiği varsayılmaktadır (105). Eklampside görüntüleme yöntemleriyle ön planda posterior reversible lökoensefalopati sendromu (PRES) tanısı konabilir. Körlük, konvülsiyon, letarji gibi semptomlardan oluşan bir sendromdur (112).

Preeklampside sıvı elektrolit dengesindeki bozulmalar çeşitli klinik bulgularla karşımıza çıkmaktadır. Özellikle anjiyotensin-II'ye karşı artmış duyarlılık vardır. Anjiyotensin, renin, aldosteron seviyeleri gebe olmayanlara kıyasla daha düşük düzeyde olmalarına rağmen kan basıncı yüksekliği gözlenir (113). Yapılan çeşitli çalışmalarda preeklampside elektrolit imbalansı ile ilgili anlamlı farklar bulunamamıştır (114). Endotel hasarı, vazospazm ve artmış kapiller permeabiliteye bağlı periferik ödeme çok sık karşımıza çıkar. Nadir de olsa mortal seyir gösteren akciğer ödemi plazma onkotik basıncında azalma ve kapiller permeabilite artışı sonucunda gelişir (115).

Preeklampsi hem maternal hem de fetal yaygın morbidite ve mortalite ile seyreden komplike bir hastalıktır. Maternal komplikasyonlar arasında; konvülsiyon, pulmoner ödeme, akut böbrek yetmezliği, kalp yetmezliği, stroke, intrakranial kanama, HELLP, DIC tablosu yer almaktadır. Anormal gelişen plasenta sonucunda bozulan uteroplazental akım IUGR, oligohidramnios, prematürite, ablasyo plasenta, asfiksi ve asidoz gibi fetal komplikasyonlara yol açabilir.

2.3.4.10. Preeklampsi Öngörülmesi ve Önlenmesi

Gebeliğin erken dönemlerinde preeklampsi geliştirebilecek hastaların belirlenmesi gebelik takibi, profilaktik tedavi başlanması ve doğumun tecrübeli merkezlerde planlanması açısından önemlidir. Çeşitli biyokimyasal bileşenler, çevresel faktörler ve biyofiziksel bulgular çalışılmış ancak hiçbir tarama testi preeklampsiyi öngörmeye yetkin, güvenilir ve maddi açıdan yeterli bulunmamıştır (116). Preeklampsi etyopatogenezi tam olarak aydınlatılamadığı için hastalığın önlenmesi için yapılan öneriler teorik olarak preeklampside görülen anormalliklere dayanmaktadır.

Bütün gebeler vizitlerin her birinde preeklampsi açısından değerlendirilmelidir çünkü erken tanı ve uygun tedavi uygulamalarıyla maternal ve perinatal sonuçlarda iyileşme sağlanabilir. Preeklampsi gelişimine neden olan patolojik süreç ebeliğin oluşumundan beri vardır ancak klinik belirtiler gebeliğin ilerleyen haftalarında ortaya çıkmaktadır. Klinik tablo oluşmadan önce preeklampsiyi öngörmeye yönelik çok fazla preeklampsi öngörü testleri önerilmiştir (117).

Uterin arter doppler taramasıyla preeklampsinin öngörülmesi, erken tanınması açısından yapılan birçok çalışma vardır (118). Uterin arterde akıma karşı oluşan dirençle ilgili olarak uterin arter dopplerinde anormal dalga paterni oluşur. Rezistans artışı, pulsallite indeksi ya da diyastolik çentiklenme şeklinde bulgu verebilir (119). Uterin arter doppleri erken başlangıçlı preeklampsiyi öngörmeye daha başarılı bulunmakla birlikte hastalığı öngörme oranı çok değişkenlik göstermektedir. Preeklampsi için düşük risk altında olan gebelerde pozitif prediktif değeri düşüktür. Bu yüzden yüksek risk altında olan gebelerde uterin arter doppler bakılması yararlı olabilir (120).

Multifaktöriyel bir bulgu olan kan basıncı ölçümleri preeklampsi tarama testi olarak kullanmak çok güvenilir değildir. Sistolik kan basıncı ve iki kere diyastolik kan basıncı toplamının üçe bölünmesiyle bulunan ortalama arteriyel basınç, düşük risk grubundaki gebelerde preeklampsi öngörüsünde birinci ve ikinci trimesterde daha etkilidir. Ancak preeklampsi öngörüsünde zayıf/orta derecede etkilidir (120)

Preeklampside afferent arteriollerdeki vazospazma bağlı glomerüler filtrasyonun azalmasına bağlı ürik asit düzeyi artar. Fakat ürik asit düzeyi ile fetal maternal sonuçlar arasında korelasyon bulunmamaktadır. Bir çalışmada preeklampsi gelişiminde ürik asit düzeylerinin yol gösterici olduğu bulunmuştur (121). Gestasyonel hipertansiyon tanısı

alan gebelerde serum ürik asit konsantrasyonunun 5,2mg/dl'den fazla olmasının preeklampsiyi ve kötü maternal-fetal sonuçları %91'lik pozitif prediktif değerle öngörmektedir (122).

Preeklampside idrarda kalsiyum miktarı anlamlı oranda düşük bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada kalsiyumdan fakir diyetle beslenen gebelerde preeklampsinin daha sık görüldüğü bulunmuştur (123).

Preeklampsi patogeneğinde önemli rolleri olduğu düşünülen Netrin 1 ve 4 ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Yüksek serum netrin1 düzeyinin erken başlangıçlı preeklampsiyle ilişkili olduğu bulunmuştur. Gebeliğin erken dönemlerinde serum netrin-1 düzeyinin, gestasyonel hipertansiyonlu gebelerde erken başlangıçlı preeklampsi gelişim riskini belirlemede faydalı olabileceği düşünülmektedir (124). sFlt-1 gibi antianjiyogenik faktörlerin preeklampsi patogeneğinde önemli roller alırlar ve olumsuz sonuçlarla yakın ilişkilidirler. Bir çalışmada maternal sFlt-1 ve netrin-4 düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğu gözlenmiştir (117). Plasental hipoksiye sekonder olarak netrin-4'ün yükseldiği düşünülmektedir. Ancak antianjiyogenik faktörler olan sFlt-1 ve netrin-4'ün preeklampsinin teşhisi ve prognozunu belirlemede kullanılması için yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmektedir (125). Netrin-1 ile ilgili yapılan bir çalışmada hamile sıçanların plasentasında neovaskülarizasyonu hızlandığı gözlenmiştir. Netrin-1 ekspresyonunun plasental baskılanmasının, in vivo olarak azalmış vasküler oluşumla sonuçlandığı gözlemlenmiştir. İnsan plasental mikrovasküler endotel hücrelerinin netrin-1'e maruz kalması ayrıca hücre canlılığının, göçünün ve tüp formasyonunun artmasıyla sonuçlanmıştır (126). Biyobelirteçleri preeklampsi gelişimini ve şiddetini öngermeye kullanabilmek için ilk değerlendirmede daha kesin ve hızlı sonuç vermeleri gerekmektedir. Bunun içinde biyobelirteçlerle ilgili çalışmalara ihtiyaç vardır. Günümüzde preeklampsiyi öngermek için risk faktörlerinin belirlenmesinden başka tarama testleri önerilmemektedir (127).

Preeklampsiyi önlemek, riski azaltmak için yapılan beslenme ve yaşam tarzı değişikliği önerileri hakkındaki çalışmalar yeterli değil ve birbiri ile çelişmektedir. Yaklaşık yirmi bin kadın üzerinde yapılan bir çalışmada gebelikler arası kilo vermenin preeklampsi rekürrensini azalttığı bulunmuştur (128). Dünya Sağlık Örgütü preeklampsi ve eklampsiyi önlemek ve tedavi etmek için öneriler kılavuzunda sadece kalsiyum alımı az olan bölgelerde gebelik süresince günlük 1500-2000mg kalsiyum replasmanı yapılmasını

önermektedir (129). ACOG 2019 yılında yayınladığı gebelikte kronik hipertansiyon rehberinde preeklampsii öyküsü, çoğul gebelik, böbrek hastalığı, otoimmün hastalıklar, diabetes mellitus tip 1 ve 2, kronik hipertansiyon gibi yüksek risk faktörlerinden en az birinin olması ya da nulliparite, maternal yaşı 35 ve üzerinde olması, VKİ'nin 30'dan yüksek olması, ailede preeklampsii öyküsü gibi orta risk faktörlerinden birden fazla olması durumunda profilaksi için tercihen 16. haftadan önce (12-28. haftalar arası) düşük doz asetil salisilik asit (81mg/gün) başlanmasını ve gebelik sonlanana kadar kullanılmasını önermektedir (130).

2.3.4.11 Preeklampsii Yönetimi

Gebelikte hastalığın şiddetine, gestasyonel yaşa ve maternal fetal duruma bağlı olarak hipertansif hastalıkların yönetimi değişmekle birlikte hepsinin nihai tedavisi doğumdur. Doğumun şekline rutin obstetrik değerlendirme sonucunda karar verilir. Doğum zamanı preterm doğuma bağlı gelişebilecek risklerle maternal riskler dengelenerek belirlenmelidir.

Öncelikle maternal ve fetal değerlendirme yapılmalıdır. Fetal değerlendirmede tahmini fetal ağırlık hesaplanmalı, amniyon sıvı miktarı ölçülmeli ve non stres test uygulanmalıdır. Daha sonra tam kan sayımı, koagülasyon profili, kreatinin, karaciğer ve renal fonksiyon testleri ve idrar tetkikleri istenmelidir.

Gebe olmayan hastalarda hipertansiyon tedavisinde diyet, tuz kısıtlaması gibi yaşam tarzı değişiklikleri önemli yer tutmaktadır. Gebe hastalarda sağlıklı kilo alımı desteklenmeli ve kalori kısıtlaması önerilmemelidir. Yapılan çalışmalarda kalori kısıtlamasının fetal gelişimi olumsuz etkileyebileceği ve diyet yapan obez gebelerin çocuklarında düşük doğum ağırlığı gösterilmiştir. Sıkı tuzsuz diyet ve ağır egzersizler de önerilmemektedir (131, 132).

Şiddetli özellik göstermeyen preeklampitik gebelerde gebelik haftası ve fetüsün iyilik hali belirleyici rol oynarlar. Genel öneri doğumun 37. haftadan sonra gerçekleşmesi yönündedir. Şiddetli olmayan preeklampsii tanılı 36 ve 41. gebelik haftaları arasında olan gebeler üzerinde yapılan bir çalışmada doğum indüksiyonuyla maternal sonuçlarda iyileşme, sezaryen ile doğum oranlarında azalma görülürken yenidoğan sonuçları açısından anlamlı bir farklılık görülmemiştir (133).

Geç preterm dönemde yani 34-37. gebelik haftaları arasında uygulanacak yaklaşımla ilgili fikir birliği bulunmamaktadır. Maternal ve fetal durum değerlendirilmeli ve beklemekle gelişebilecek riskler göz önünde bulundurularak karar verilmelidir. Maternal ve fetal durum stabilse yenidoğan sonuçları göz önünde bulundurularak ekspektan yaklaşım en uygun seçenektir.

34. gebelik haftasından önce ise maternal durum değerlendirilerek ekspektan yaklaşım seçilmelidir. Detaylı değerlendirme sonrasında maternal durum stabil ve preeklampsi şiddetli özellikler göstermiyorsa hastalar ayaktan sıkı takibe alınır (134). Ayaktan izlenecek hastalara obstetrik aciller ve şiddetli preeklampsinin belirtileri hakkında detaylı bilgi verilmelidir. Takiplerde her vizitte kan basıncı ölçümü, fetal büyümeyi değerlendirmek için seri ultrasonografi, haftalık NST, haftalık laboratuvar testleri yapılmalıdır. Proteinüri tespit edildikten sonra miktarı ve artma hızı maternal ve fetal sonuçları etkilememektedir (135). Aktivite kısıtlaması önerilebilir ancak mutlak yatak istirahati tromboemboli riski yaratacağı için önerilmemektedir (2). Antihipertansif tedavi başlanması ile şiddetli preeklampsi gelişme riski azalmıştır. Ancak maternal ve fetal sonuçlara anlamlı bir etkisinin bulunmadığı varsayılmaktadır (68).

Preeklampsi tanısı alan gebelerde fetusta gelişme geriliği saptandığında, fetoplasental kan akımını değerlendirmek için umbilikal arter dopplerini de içeren ek değerlendirmeler yapılmalıdır. Sistolik kan basıncı 160mmHg'den küçük ve diyastolik kan basıncı 110mmHg'den küçük olan ve maternal semptomu bulunmayan preeklampsi tanılı hastalarda eklampsiyi önlemek için magnezyum sülfat tedavisi önerilmemektedir (2).

Gestasyonel yaşı 34 hafta ve daha üzerinde olan şiddetli preeklampsili kadınlarda maternal ve fetal bulgular güven vermiyorsa gestasyonel haftadan bağımsız olarak maternal şartlar sağlandıktan sonra doğum önerilir. 34 haftadan küçük şiddetli preeklampsili gebelerde maternal ve fetal durum güven veriyorsa, maternal ve neonatal yoğun bakım şartlarının sağlandığı durumlarda ekspektan yaklaşım önerilir. Fetal akciğer gelişiminin sağlanması için kortikosteroid yapılmalıdır. Şiddetli preeklampside doğum kararı proteinürinin miktarına veya atış hızına göre verilmez. Fetüsün viabilite sınırlarının altında olduğu şiddetli preeklampsili gebelerde maternal uygun şartlar sağlanarak doğum planlanmalıdır. Viabilite sınırı altındaki fetüslerde konservatif yaklaşımı neonatal sonuçlar açısından yararı sınırlı kalırken, maternal morbidite ve mortalite de artışlara

sebeptir. Fetüsün viabilite sınırının üzerinde olduğu ve 34 haftadan küçük gebeliklerde kortikosteroid tedavisi önerilmektedir. Kontrolsüz şiddetli hipertansiyon, eklampsi, pulmoner ödem, ablasyo plasenta, DIC, güven vermeyen fetal iyilik hali, intrauterin ex varlığında acil doğum önerilir (2).

Şiddetli preeklampsi ve eklampsi tanısı alan gebelerde intrapartum ve postpartum parenteral magnezyum sülfat tedavisi önerilmektedir. Rejyonel anesteziyle sezaryen doğuma alınan hastalarda eklampsiyi gelişimini önlemek amacıyla parenteral magnezyum sülfat tedavisi devam ederken operasyona alınması tavsiye edilir.

HELLP sendromunda fetüs viabilite sınırlarının altındaysa maternal uygun şartlar sağlanarak doğum gerçekleştirilmelidir. Fetüs viabilite sınırının üzerinde ancak 34 haftadan küçükse eğer maternal ve fetal açıdan risk bulunmuyorsa, neonatal sonuçlar açısından steroid dozlarının tamamlanması için doğum ertelenebilir. 34 ve daha büyük haftalarda maternal uygun şartlar sağlandıktan sonra en kısa sürede doğum gerçekleştirilmelidir (2).

2.3.4.12 Preeklampsi Tedavisi

Tedavideki amaç kan basıncı seviyesinin güvenli aralıkta tutularak, yakın takiple en doğru doğum zamanı ile maternal ve neonatal sonuçların iyileştirilmesidir. Yapılan çalışmalarda hastanede yatışlı ya da ayaktan takip edilen hastalarda prenatal ya da neonatal sonuçları anlamlı oranda etkilemediği gözlenmiştir. Hastanede yatarak takip edilen hastalarda artmış enfeksiyon, tromboemboli riski, artmış maliyetler nedeniyle şiddetli preeklampsi özellikleri tanımayan hastalar ayaktan takip edilebilir. Preeklampsinin nihai tedavisi doğumla plasentanın uzaklaştırılmasıdır. Postpartum maternal semptomlar genellikle 48-72 saat içerisinde düzelmektedir. Bu süreç zarfında maternal antihipertansif tedaviyle kan basıncı kontrol altına alınmalı aynı zamanda maternal sıvı dengesi de korunmalıdır.

ACOG Gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi kılavuzunda sistolik kan basıncının 160mmHG ve üzerinde, diastolik kan basıncının 110mmHG ve üzerinde olması durumunda antihipertansif tedavi başlanmasını önerilmektedir (2). Avrupa kardioloji derneğinin yayınladığı kılavuzdaysa ACOG kılavuzundaki kritere ek olarak sistolik kan

basıncının 140mmHg ve üzeri, diyastolik kan basıncının 90mmHG ve üstü olması ve buna klinik bulguların eşlik etmesi durumunda antihipertansif tedavi başlanması gerektiği belirtilmektedir (131). Kan basıncının 110/80mmHg altına düşürmekten kaçınılmalıdır çünkü uteroplasental hipoperfüzyona ve serebrovasküler olaylara neden olabilmektedir.

Acil kan basıncı kontrolünde en sık kullanılan ajanlar intravenöz olarak hidralazin ve labetalol, oral olarak nifedipindir (2). Yapılan çalışmaların sistematik derlemesinde hidralazin-labetalol arasında ve hidralazin-kalsiyum kanal blokörleri arasında etkinlik güvenlik açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (136).

Tablo 6. Gebelikte Görülen Hipertansif Hastalıklarda Kullanılan Antihipertansif Ajanlar

İlaç	Doz	Yan Etkileri	Etki Başlangıcı
Labetalol	10-20 mg IV, ardından her 10-30 dakikada bir 20-80 mg, maksimum kümülatif doz 300 mg veya 1-2 mg/dakika IV sabit infüzyon	Taşikardi	1-2 dakika
Hidralazin	5 mg IV veya IM, ardından 20-40 dakikada bir 5-10 mg IV, maksimum kümülatif doza 20 mg veya 0,5-10 mg/saat sabit infüzyon	Maternal hipotansiyon, baş ağrısı ve anormal fetal kalp hızı	10-20 dakika
Nifedipin	Oral olarak 10-20 mg, gerekirse 20 dakika içinde tekrarlayın; daha sonra her 2-6 saatte bir 10-20 mg; maksimum günlük doz 180 mg	Refleks taşikardi ve baş ağrısı	5-10 dakika

Santral etkili sempatotitik ve antihipertansif olan metildopa hipertansif gebelerde sıklıkla kullanılmaktadır. Fetüs için uzun dönemde güvenli olduğu kanıtlanmış bir ajandır. Etki gücünün zayıf olması ve etki başlangıcının yavaş olması dezavantajlarındandır. Günde 250mg dozlar 2-3 kez oral olarak kullanılabilir, günlük maksimum dozu 3000mg'dır (137).

Preeklamside kapiller geçirgenlik arttığı ve onkotik basınç düştüğü için masif sıvı tedavisinin eklenmesi akciğer ödemile sonuçlanabilir. Bundan dolayı anormal bir sıvı kaybı olmadığı sürece sıvı desteği saatte 80ml'yi geçmemelidir (138).

Diüretik tedavi sadece pulmoner ödem varlığında endikedir.

Kontrolsüz hipertansiyon, baş ağrısı, görme bulanıklığı gibi şiddetli preeklamps kriterlerinin varlığında eklamps gelişme riskinden dolayı konvülsiyon profilaksisi önerilmektedir. İntrapartum ya da postpartum dönemde profilakside magnezyum sülfat tedavisi önerilmektedir. Yükleme tedavisinde 150ml %5 dekstrozu mayi içerisinde 4-6gr magnezyum sülfat konularak, 15-20 dakikada infüzyon şeklinde verilmelidir. Tedavinin idamesinde saatte 1,5-2gr magnezyum sülfat verilecek şekilde düzenlenmelidir (2). İntravenöz tedavi verilemeyen durumlarda intramüsküler tedavide verilebilir ancak yan etkileri daha fazladır (139). İntramüsküler tedavide yükleme dozu 10gr, ardından her dört saatte bir 5gr olacak şekilde idame tedavi düzenlenir. Yükleme dozu böbrek fonksiyon testlerine bakılmaksızın verilebilir ancak idame tedavi böbrek fonksiyonlarına göre düzenlenmelidir. Magnezyum konvülsiyon eşiğini NMDA reseptörlerine bağlanarak glutamat antagonisti etki göstererek yükseltir. Aynı zamanda periferik sinir kas kavşağındaki presinaptik kalsiyum taşınmasını ve asetilkolinin salımını azaltarak kas uyarılarını da azaltır. Tedavinin yan etkileri arasında maternal ve fetal nöromüsküler depresyon yer alır. Renal klirensin azalmasına bağlı toksik etki gösterebileceğinden 6-12 saat aralıklarıyla serum magnezyum düzeyi kontrol edilmelidir. Terapötik düzey aralığı 4,8-8,4mg/dl'dir (140). Bu düzeylerin üzerinde öncelikle derin tendon refleksleri kaybolur, ardından solunum depresyonu, en son kardiyak arrest oluşur (141). Bu nedenle magnezyum tedavisi uygulanırken hastaların derin tendon refleksleri, idrar çıkışları ve solunum sayıları yakın takip edilmelidir. Toksikite riskine karşı magnezyum sülfat antidotu kalsiyum glukonat ve acil müdahale kiti hazır olmalıdır. Toksikite semptomları varlığında magnezyum tedavisi kesilmeli, alternatif hava yoluyla solunum sağlanmalı, monitörizasyon altında 1gr kalsiyum glukonat en az beş dakikada olacak şekilde intravenöz verilmelidir.

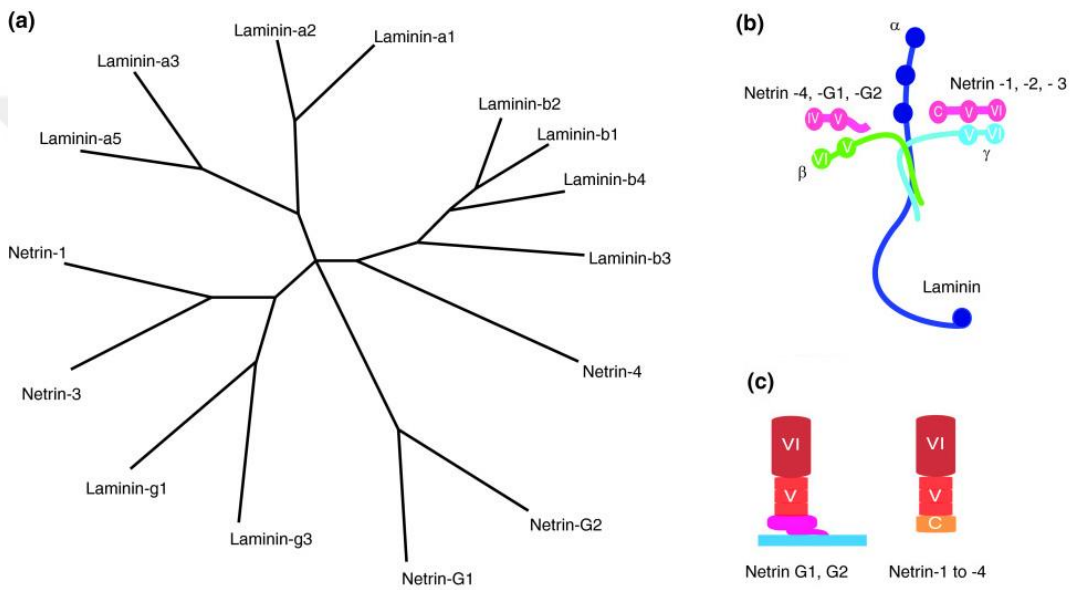
Eklampside görülen konvülsiyonlar hayatı tehdit eden acil bir durumdur ve ölümler genellikle intraserebral kanama, pulmoner ödem, renal yetmezliğe bağlı gelişmektedir. Eklamps yönetiminde temel öncelik maternal hasarın engellemesi ve kardiyovasküler fonksiyonların desteklenmesidir. Öncelikle hava yolu açıklığı sağlanmalı ve aspirasyonu

riskini azaltmak için hasta yan yatırılmalıdır. Vital bulguları kontrol edilerek desteklenmeli, damar yolu açılmalı ve idrar çıkışı takip edilmelidir. Nöbet esnasında ve profilaktik olarak seçilmesi gereken ilk tedavi magnezyum sülfattır. Tekrarlayan konvülsiyonlarda 2gr bolus magnezyum sülfat verilmelidir. Tedaviye yanıt alınamazsa 10mg diazepam intravenöz yavaş infüzyonlar verilebilir. İhtiyaç durumunda doz tekrarlanabilir. Sıkı maternal ve fetal bulgular takip edilir ve en kısa sürede doğum gerçekleştirilmelidir.



2.4 Netrin Protein Ailesi

Netrin, Sankritçe'de kılavuzluk eden, öncülük eden anlamına gelmekte ve netr kelimesinden köken almaktadır. Netrinler ilk kez 1990 yılında bir nematod solucanı olan *Caenorhabditis elegans*'da tespit edilmiştir (142). Netrin protein ailesi nöral ve vasküler dokuların gelişiminde rehberlik görevi yapan ekstraselüler proteinlerdir (6). Memelilerde netrin-1, netrin-3, netrin-4, netrin-G1, netrin-G2 olmak üzere 5 farklı netrin proteini ekspresyonu tespit edilmiştir. Netrin-1, netrin-3, netrin-4 membranlardan salgılanabilirler ancak netrin-G1, netrin-G2 plazma membranına karboksiterminal glikozilfosfatidilinositol kuyrukları ile bağlı halde bulunurlar ve reseptör görevi görürler (143).



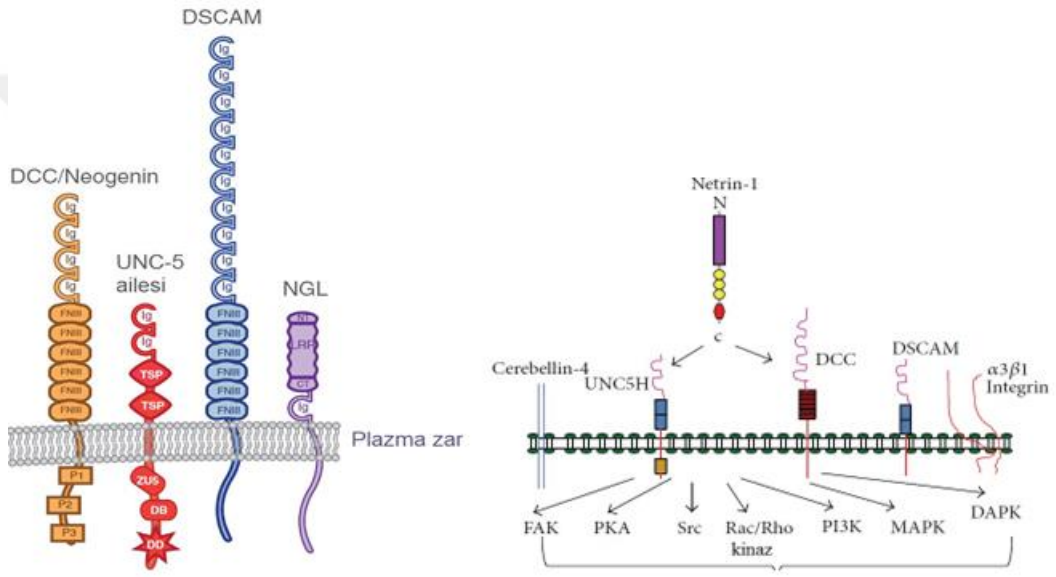
Şekil 2. Netrin Protein Ailesi (144)

Netrinler laminin süper ailesinin üyeleridir. Şekil 2'de insan protein dizilerine dayanan bir filogenetik ağaç, netrin ve laminin aile üyeleri arasındaki ilişkiyi göstermektedir. Laminin mavi α, yeşil β ve turkuaz γ zincirlerinden oluşan heterotrimer yapıda bir proteindir. Netrin 1 ve 3'ün aminoterminal VI ve V alanları, laminin 1'in γ zinciriyle homologdur. Netrin-4, netrin-G1, netrin-G2'deki VI ve V alanları, laminin 1'in β zincirine daha çok benzemektedir (144). G netrinlerinin netrin-1, 2 ve 3'den bağımsız geliştiği düşünülmektedir. G netrinleri sadece omurgalı hayvanlarda görülmektedir (143).

Netrin reseptörleri immunoglobülin ailesi içerisinde yer alırlar ve hücre adezyonu, sinyal iletimini yönlendiren çok sayıda protein grubu tarafından kodlanırlar.

İmmunoglobulin süper ailesi üyeleri hücre adezyonunda görev alan ve hücre iskelet sistemine bağlanan transmembran glikoproteinleridir. Netrinler etkilerini Deleted in Colorectal Cancer (DCC), Down's Sendrome Cell Adhesion Molecule (DSCAM) ve Uncoordinated-5 (UNC-5A, B, C, D) olmak üzere 3 ana reseptör üzerinden gösterirler (7).

Netrinler biyolojik süreçlerde hücre rehberliği, adezyon, farklılaşma ve son zamanlarda anjiyogenezde önemli roller aldıkları gösterilmiştir (7, 145). Merkezi sinir sisteminin yanı sıra netrin ifadesi pankreasta, akciğerde, memede ve son zamanlarda plasentada gösterilmiştir (146).



Şekil 3. Netrin Reseptörleri ve Netrin-1'in Kullandığı Sinyal Yolakları (147)

2.4.1 Netrin-1 ve Reseptörü UNC5B

Netrin-1 embriyonik nöral tüpün ventral orta hattında, özelleşmiş sekretuvar hücre grubunda ve santral sinir sisteminde myelizan hücrelerde ve oligodentrositlerden sentezlenir. Ayrıca memelilerde gelişmekte olan santral sinir sisteminin diğer bölgelerinden (vizüel sistem, olfaktör sistem, ön beyin ve serebellum) salınır. Netrin-1 gelişim süresince bu beyin bölgelerinde akson migrasyonu ve hücre regülasyonunu sağlar. Netrin-1 enterik sinir sistemi gelişiminde nöronal kılavuzluk yapan iyi karakterize edilmiş bir kemoatraktandır. Aynı zamanda Netrin-1 somatik mezoderm, meme bezi, pankreas, dorsal aorta ve kalp kasında, yetişkinlerde ise spinal kord nöronlarında oligodentrositlerde ve overlerde yüksek oranda bulunmaktadır. Netrin-1 endotelial ve

vasküler düz kas hücrelerinin morfogenezinde, tümör büyümesinde ve inflamasyonda regülatör olarak görev yapar. Sitoiskeletin reorganizasyonunda önemli rolleri bulunur. Netrin-1 geni 17p13-p12 bölgesinde bulunmaktadır (134).

Bouvier ve arkadaşları klonlanmış civcivlerde netrin-1'in UNC5B'ye bağlanarak anjiyogenezi inhibe ettiğini tespit ettiler (9). 2004'te Anne Eichmann ve arkadaşları, netrin-1 ve reseptörü UNC5B'nin vasküler sistemin morfogenezini kontrol etmedeki rollerini tanımladılar (146). Nitekim, in vitro kültürlerde netrin-1'in aort halkasına eklenmesi üzerine, filopodia oluşumunun ve filizlenmenin inhibisyona uğradığı gözlemlenmiştir, bu da netrin-1'in bir antianjiyogenik faktör olarak rol oynayabileceğini düşündürmektedir (148). Bununla birlikte diğer çalışmalar, netrin-1'in insan göbek ven endotel hücrelerinde HUVEC) ve insan göbek ve arteriyel endotel hücrelerinde (HUAVEC) proanjiyogenik etkilerine ilişkin kanıtlar sunarak, daha sonra proliferasyon, migrasyon, tubal oluşum ve kılcal dallanmada bir artış olduğunu göstermiştir (149). Başka bir çalışmada, netrin-1'in UNC5B reseptörü tarafından indüklenen kısmen apoptoz blokajına bağlı olarak endotel hücrelerinin hayatta kalmasının kontrolü sağlayarak anjiyogenezi desteklediği bulunmuştur (150). Literatür incelemesinde netrin-1'in plasental anjiyogeneze oynadığı kesin roller hakkında net bir fikir birliği ortaya çıkmamıştır. Bazı çalışmalar, bu sinyalleri anjiyogenezin destekleyicileri olarak tanımlarken, diğerleri karşıt sonuçlara varmıştır (151). Mevcut verilerdeki bu tutarsızlıklar, netrinlerin anjiyogenezin kontrolünde potansiyel rolleri hakkındaki soruyu cevapsız bırakmaktadır.

Yapılan bir çalışmada insan plasentasında netrin-1 ve reseptörleri DCC ve UNC5B'nin ekspresyonu araştırılmış ve tanımlanmıştır. Villöz sitotrofoblastlarda ve endotel hücrelerinde hem netrin-1 hem de UNC5B reseptörünün birlikte ekspresyonu bu hücrelerde bir otokrin düzenleyici mekanizmanın olduğunu düşündürmektedir. Sinsitiotrofoblastlar, DCC reseptörünü eksprese eder, ancak yalnızca hücre dışı netrin-1 etiketlemesine sahiptir, bu da bir parakrin mekanizma varlığını düşündürür. DCC ekspresyonunun farklılaşma ve organogenez sırasında belirli hücre tiplerinin gelişimi ile ilişkisi, gebelik boyunca plasental evrimde DCC ekspresyonu ve DCC aracılı uyarının büyük önemi olduğunu vurgular (152, 153). Ayrıca netrin-1'in sitotrofoblast proliferasyonunda anahtar bir rol oynadığını ve UNC5B'nin gen ekspresyonunun hipoksi maruziyetinde ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Ramkhalawon ve ark. ayrıca

makrofajda hipoksi maruziyetinde UNC5B'nin ve ayrıca HIF yoluyla hipoksi varlığında netrin-1'in ekspresyonlarının arttığını göstermiştir (152).

Plasental gelişim sırasında, anjiyogenez vaskülogenezi takip eder ve artan besin ve gaz alışverişini ve fetal atıkların etkin bir şekilde ortadan kaldırılmasını sağlamak için vasküler pleksusun dallı bir vasküler ağaçta yeniden şekillenmesine yol açar. Plasental anjiyogenez, vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), plasental büyüme faktörü (PIGF) ve temel fibroblastik büyüme faktörü (bFGF) dahil olmak üzere çeşitli büyüme faktörlerine bağlıdır. Aksonal kılavuz moleküllerinin, netrinlerin de anjiyogenik süreçlerin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı öne sürülmüştür. Daha da önemlisi, en korkulan plasental patolojilerden biri olan preeklampsinin bu faktörlerin ekspresyonundaki değişikliklerle ilişkili olduğu bildirilmiştir (154). Netrin-1'in hamile sıçanların plasentasında neovaskülarizasyonu hızlandırdığı da yapılan çalışmalarda gözlenmiştir. Daha da önemlisi, plasentada netrin-1 ekspresyonunun baskılanması, in vivo olarak azalmış vasküler oluşum ile sonuçlanmıştır. Bu bulgular, netrin-1'in HUVEC'lerin düzgün işleyişi ve sıçan plasentasında anjiyogenez için gerekli olduğunu ve bu nedenle plasenta ve fetüs gelişimi için gerekli görüldüğünü göstermektedir. İnsan plasental mikrovasküler endotel hücrelerinin (HPEC'ler) netrin-1'e maruz kalması ayrıca hücre canlılığının, göçünün ve tüp formasyonunun artmasıyla sonuçlanmıştır (126, 154).

Nguyen ve Cai yaptıkları çalışmada Netrin-1'in anjiyogenez indüksiyonunun NO aracılığıyla olduğunu tespit ettiler. Netrin-1 hücre dışı sinyal ayarlı kinaz $\frac{1}{2}$ (ERK $\frac{1}{2}$) ve DCC aracılığıyla NO stimülasyonunu gerçekleştirir. NO ayrıca ERK $\frac{1}{2}$ aktivasyonu ile döngüye destekte bulunuyor (155). Netrin-1 ateroskleroz, anjiyogenez ve iskemi reperfüzyon hasarında önemli roller alan kardiyoprotektif bir ajandır (156).

Yapılan çalışmalardan elde edilen verilerin hepsi göz önüne alındığında, netrin-1'in insan plasentasında kan damarı oluşumunun önemli bir promotörü olarak görev aldığını düşündürmektedir. Bu da netrin-1'in plasental damar sistemi ile ilgili hastalıklarda yeni terapötik stratejiler için potansiyel bir hedef olması için güçlü bir destek sağlar. Netrin-1'in plasental patolojilere katılımını ilk olarak Yang ve ark. preeklampsili gebe kadınlarda term plasentada azalmış vasküler yoğunluk ile birlikte azalmış netrin-1 mRNA ve protein ekspresyonları bildirmiştir (157). Ayrıca, Qian-Hua ve ark. hamile sağlıklı fetüs taşıyan kadınlarla karşılaştırıldığında, büyüme geriliği olan fetüs taşıyan kadınlarda plasentada netrin-1 ekspresyonunun önemli ölçüde azaldığını göstermiştir. Ayrıca, netrin-1'in

HPEC'lerin yaşayabilirliğini arttırdığı ve apoptozunu inhibe ettiği gösterildiğinden, bu proteinin plasentadaki vasküler büyümeyi kontrol ettiği ve ekspresyonundaki başarısızlığın, fetal büyüme kısıtlılığı gibi plasental patolojilerin gelişimi ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (10, 152).

Netrin-1'in inflamasyon sırasında dokulara lökosit göçünü düzenleyici rolleri vardır. Vasküler endotelden inflamatuvar hücrelerin penetrasyonunda bariyer görevi yapmaktadır ve inflamasyonda lökositlerin organlara uygun olmayan geçişini azaltarak dokuları yıkımdan korumaktadır. Enfeksiyon varlığında bu bariyerin geçirgenliği artmakta ve enflamatuvar hücreler etkilenen dokulara geçebilmektedir. Netrin-1 lökosit yüzeyindeki reseptörü UNC5B'ye bağlanarak doku yıkımını önlediği ve inflamasyonda regülatör rol oynadığını gösteren çalışmalar mevcuttur (158).

2.4.2 Netrin-4

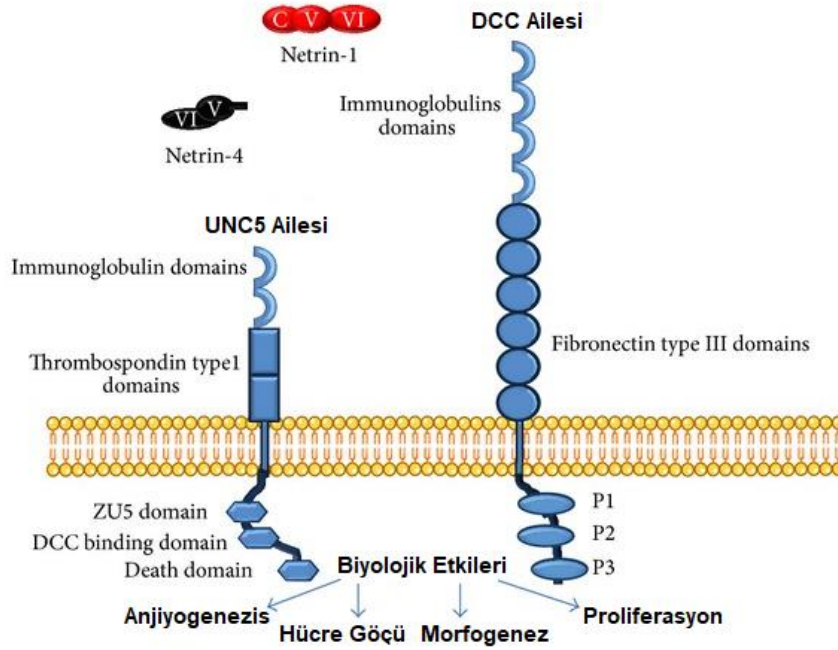
Netrin-4 hücre dışı protein ailesi olan netrinlerin bir üyesidir. Diğer netrinlerden farklı olarak laminin zincirleri ile daha yakın ilişkili oldukları için bazal membran bileşeni olarak da tanımlanmaktadır. Netrin-4 merkezi sinir sisteminin gelişiminde nörit büyümesi ve göç oryantasyonunda görev alan bir proteindir. Embriyonik vasküler gelişimde proanjyogenik bir faktör olarak hareket eden Netrin-4, endotel hücrelerinin farklılaşmasını ve göçünü engelleyerek ve düz kas hücrelerinin farklılaşmasını ve göçünü uyararak antianjyogenik etki göstermektedir (11). Yapılan çalışmalarda pankreasta, lenfanjyogenezde, anjyogenezde ve tümör büyümesinde epitelyal dallanma ve morfogenezini düzenlenmesinde görev aldığı gösterilmiştir (152). VEGF ile uyarılan endotel hücrelerde spesifik olarak netrin-4'ün hem in vitro hem de in vivo olarak aşırı eksprese edildiği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (8).

Netrin-4, netrin-1'in aksine sadece neogenine bağlanır. UNC5 ailesi reseptörlerine bağlanmaz. Yapılan bir çalışmada bloke edici antikolar kullanılarak neogenine bağlanan netrin-4'ün veya UNC5B'nin inhibe edilmesiyle, netrin-4'ün endotel hücre göçü üzerindeki inhibitör etkinin ortadan kalktığı tespit edildi (8). Yapılan diğer çalışmalarda bu sonucu desteklemektedir. Bu gözlemler netrin-4'ün neojenine bağlanma ve UNC5B'nin inhibe edilmesi yoluyla antianjyogenik faktör rolü üstlendiğini düşündürmektedir (8, 159).

Hipoksi ve patolojik vasküler gelişimi uyaran durumlarda netrin-4 anjyogenezde antianjyogenik olarak rol alır. Yapılan birkaç çalışma sonucunda netrin-4'ün VEGF ile

uyarılan anjiyogenezi önemli ölçüde inhibe ettiği raporlanmıştır (12, 160). Başka bir çalışmada netrin-4'ün endotel tabakada yoğun bir şekilde exprese edildiği, endotelial fonksiyonların, hemostazın korunmasında ve vasküler yapılanmanın düzenlenmesinde, endotelial inflamasyonun önlenmesinde önemli roller aldığı gösterilmiştir (161).

Boutsikou ve ark. Yaptıkları çalışmada IUGR olgularında kordon kanında netrin-4 seviyelerinin arttığını tespit ettiler. İlerleyen gebelik haftasıyla birlikte kordon kanında artan netrin-4 seviyeleri fetal gelişim üzerindeki etkileri gösterebilir. Gestasyonel yaşa göre 90 persentilin üstünde olan bebek grubundaki azalan maternal netrin-1 seviyeleri büyük ihtimalle artan anjiyogeneze karşı meydana geldiği düşünülmektedir. IUGR görülen yenidoğanlarda artan maternal netrin-4 seviyeleri uteroplental hipoksiyi gösterebilirken, fetal netrin-1 ve netrin-4 seviyeleri arasındaki negatif korelasyon, anjiyogenik ve antianjiyogenik etkiler arasındaki dengeyi kurabilir (11).



Şekil 4. Netrin-1, Netrin-4, UNC5 Ailesi, DCC Ailesi ve Biyolojik Etkileri (152)

2.4.3 Netrin-1, Netrin-4 ve UNC5B'nin Plasental Ekspresyonu

İnsan plasentasında netrin-1, netrin-4 ve reseptörleri neogenin ve UNC5B'nin varlığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Netrin-1 villöz, ekstrasvillöz sitotrofoblastların sitoplazmalarında ve sinsityotrofoblastların yüzeyinde yer almaktadır. Sinsityotrofoblastlar zaman içerisinde netrin-1 sentez yeteneklerini kaybetmektedirler.

Villus içerisinde yer alan endotel hücrelerinde güçlü netrin-4 ve neogenin ekspresyonun gösterilmesi netrin-4'ün otokrin etkili olabileceğini düşündürmüştür. Aynı zamanda netrin-4 ve neogenin sinsityotrofoblastlarda da bulunması hem parakrin hem de otokrin etkilere sahip olabilir. Netrin-4 ayrıca proksimal ekstrasvillöz ve distal invaziv sitotrofoblastlarda bulunmaktadır. Villöz sitotrofoblastlarda netrin-4 ve UNC5B bulunurken, neogenin bulunmamaktadır. Neogenin villöz mezenkimal hücreler tarafından da eksprese edilmektedir (11, 162)

3. Materyal Metod

Çalışmamızda 2014-2022 yılları arasında Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde doğum yapan ve plasentaları Tıbbi Patoloji Kliniğinde incelenen hastalar hastane bilgi yönetim sisteminde geriye dönük (retrospektif) olarak tarandı. Çalışma kriterlerini karşılayan 125 preeklampsi tanılı hasta ve kontrol grubu kriterlerini karşılayan 125 sağlıklı gebe araştırma evrenimizi oluşturdu. Yeterli plasental doku içermeyen veya immünohistokimyasal boyama için yeterli olmayan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Toplam 96 preeklampsi tanılı hasta ve 71 sağlıklı gebe çalışmaya dahil edildi..

Olgulara ait Hematoksilen – Eozin (H&E) ve immünohistokimyasal boyama lamaları arşivden çıkarıldı. 250 olguya ait preparatların tamamı retrospektif olarak yeniden değerlendirildi. Moleküler çalışma için yeterli plasental doku bulunan parafin bloklar belirlendi. Plasental dokulara ait H&E boyalı lamlarda villöz dokuyu en iyi yansıtan bloklar immünohistokimyasal inceleme için belirlendi ve seçildi.

Hastalara ait demografik veriler, obstetrik öykü ve laboratuvar bulguları hastane bilgi yönetim sisteminden elde edildi. Histopatolojik parametreler patoloji raporları ile birlikte preparatların değerlendirilmesiyle elde edildi.

Çalışmamız Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Klinik Araştırmalar Girişimsel Olmayan Klinik Araştırma Etik Kurulu'ndan 14.02.2021 tarihinde 60116787-014-143164 sayılı karar no'su ile onay almıştır. Bu proje Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından 2022TIPF005 numaralı bilimsel araştırma projesi olarak desteklendi.

Hastaların çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- 18 – 45 yaş aralığında gebeliği preeklampsi ile komplike olan,
- Ek hastalık öyküsü olmayan,
- Hasta bilgi sisteminde çalışmada kullanılacak verileri tam olan,
- Parafin blokları yeterli olan gebeler

Kontrol grubunun çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- 18 – 45 yaş aralığında gebeliği herhangi bir hastalıkla komplike olmayan,
- Ek hastalık öyküsü olmayan,
- Hasta bilgi sisteminde çalışmada kullanılacak verileri tam olan,
- Parafin blokları yeterli olan gebeler

3.1 Doku Mikrodizilerinin (tissue microarray=TMA) hazırlanması

96 hastaya ait ve 71 kontrol grubuna ait formalin tespitli parafine gömülü plasentaya ait preparatlar yeniden değerlendirilerek her vaka için en tanısal tek blok seçildi. Seçilen blokların hematoksinle eosin kesitleri tekrar incelenerek plasental villüslerin en bol bulunduğu alan işaretlendi. Her vaka için 3 mm çaplı 1 adet doku UNİTMA Quick-ray Manuel Tissue Microarrayer cihazı ile elde edildi. Her bloğa 23 vaka 23 adet doku yerleştirilip tissue microarray yöntemi ile yeni bloklar oluşturuldu. Yeni oluşturulan TMA bloklarından immünohistokimyasal çalışmalar için 4 mikrometre kalınlıkta kesitler alındı. Doku kesitleri elektrostatik yüklü lamlara (TOMO) alındı.

İmmünohistokimyasal işlemler Tıbbi Patoloji bölümünün İHK laboratuvarında yapıldı.

3.2 İmmünohistokimyasal Yöntemlerin Uygulanması ve Analizi

3.2.1 İmmünohistokimyasal Yöntemlerin Uygulanması

Çalışmamızda immünohistokimyasal boyamalar için boyama prospektüsünde önerilen talimatlar küçük değişikliklerle gerçekleştirildi. Ayrıca, boyamalar için ultraView Universal ve OptiView HQ DAB detection kiti kullanıldı. İmmünohistokimyasal boyama için hazırlanan kesitler 45 dakika 75°C'de etüvde deparafinize edildi. Etüv aşaması tamamlanan numunelere barkodlamaları yapıp cihaza inkübasyon için yerleştirildi. Daha sonra kesitler antijen retrieval işlemi de dahil olmak üzere tüm boyama aşamalarını sabit ısı ve koşullarda gerçekleştiren tam otomatik immünohistokimya cihazında (VENTANA, Benchmark Ultra, Ventana Medical Systems, USA) boyandı.

Netrin-1 unkonjuge poliklonal antikoru (Dilüsyon 1/200, Katolog No: #bs-1858R, Bioss Antibodies, ABD), Netrin-4 unkonjuge poliklonal antikoru (Dilüsyon 1/40, Katolog No: #bs-10065R, Bioss Antibodies, ABD), UNC5B/UNC5H2 unkonjuge poliklonal antikoru (Dilüsyon 1/200, Katolog No: #bs-11492R, Bioss Antibodies, ABD) damıtılarak hedeflenen proteinler görünür hale getirildi. İlk olarak 75°C'de deparafinizasyon işlemi tamamlandı. Hücre iyileştirme amacıyla hazırlanan lamlar Netrin-1 için 64 dakika, Netrin-

4 için 72 dakika, UNC5B için 76 dakika sitratlı suda inkübe edildi. Bu aşamadan sonra cihaz sıcaklığı 37°C'ye düşürüp antikor damlatma aşamasına hazırlandı. Antikor titrasyonu Netrin-1 ve Netrin-4 için 44 dakika, UNC5B için 36 dakika olarak seçildi. Antijen açığa çıkarma işleminden sonra her lam OV HQ UNIV LINKR uygulanarak 12 dakika, OV HRP MULTIMER uygulanarak 12 dakika olacak şekilde inkübe edildi. Ardından amplifikasyon işlemine geçildi. Her lamel için öncelikle OV AMP H2O2 ve OV AMPLIFIER uygulanarak Netrin-1 ve UNC5B için 4 dakika, Netrin-4 için 8 dakika inkübe edildi. Her lama OV AMP MULTIMER uygulanarak Netrin-1 ve UNC5B için 4 dakika, Netrin-4 için 8 dakika inkübe edildi. Kesitlerde arka plan boyaması için Hematoksilen ile 8 dakika, Bluing Reagent ile 4 dakika süreyle boyama yapıldı. Boyama işlemi tamamlandıktan sonra yıkama prosedürü için lamdaki dokular zarar görmeyecek şekilde derin kaba doldurulmuş olan deterjanlı suya 3-4 defa, yine aynı derinlikteki bir kaptaki temiz suya 3-4 defa daldırılıp çıkartıldı. Son olarak alkol dolu olan kaba daldırılıp kuruması için beklendi; ksilen ile şeffaflaştırıldı ve entellan damlatılıp lamel ile kapatılarak işlem sonlandırıldı. Çalışmamızda kullanılan immünohistokimyasal belirteçlerin özellikleri Tablo- 'de gösterilmiştir. Primer antikorların kullanım kılavuzunda özellikli belirtilen pozitif kontrol dokulardan Netrin-1 için nontümöral beyin dokusu, Netrin-4 için nontümöral böbrek dokusu, UNC5B için de tümöral meme dokusu seçildi. İmmünohistokimya boyama sonrası tüm örnekler ışık mikroskopunda (NİKON Eclipse Ci) ile değerlendirildi.

Tablo 7. Çalışmada Kullanılan İmmünohistokimyasal Belirteçler

İmmünohistokimyasal Belirteç	Katalog No	Dilüsyon	Marka	Pozitif Kontrol
<i>Netrin-1</i>	Bs-1858R	1/200	Bioss Antibodies	Nontümöral Beyin Dokusu
<i>Netrin-4</i>	Bs-10065R	1/40	Bioss Antibodies	Nontümöral Böbrek Dokusu
<i>UNC5B</i>	Bs-11492R	1/200	Bioss Antibodies	Tümöral Meme Dokusu

3.2.2 1 İmmünohistokimyasal Yöntemlerin Analizi

Netrin-1, Netrin-4 ve UNC5B'nin immünohistokimyasal boyanma paternleri, hastaların klinikopatolojik bilgilerine kör olan biri patolog 2 araştırmacı tarafından çok başlı mikroskop kullanılarak değerlendirildi. Her üç antikor içinde boyanma oranı ve boyanma yoğunluğu ayrı ayrı değerlendirildi ve puanlandı. Hücre boyanma oranı %0-10 arasındaysa 1 puan, %11-50 arasındaysa 2 puan, %51-80 arasındaysa 3 puan, %81-100 arasındaysa 4 puan olacak şekilde skorlandı. İmmün boyanmanın yoğunluğuysa negatifse 0 puan, zayıf pozitifse 1 puan, orta derecede pozitifse 2 puan, güçlü pozitifse 3 puan olacak şekilde skorlandı. Nihai puan boyanma oranı ve boyanma yoğunluğu skorları çarpılarak hesaplandı. Çalışmada kullanılan immünohistokimyasal belirteçler tabloda özetlenmiştir (Tablo 7).

Tablo 8. İmmünohistokimyasal Boyanma Yüzdesi ve Yoğunluğu Sınıflaması ve Puan Karşılıkları

İmmünohistokimyasal Boyanma Yoğunluğu	Boyanma Yoğunluğu Puanı	İmmünohistokimyasal Boyanma Yüzdesi	Boyanma Yüzdesi Puanı
Negatif	0	Negatif	0
+	1	%1-10	1
++	2	%11-50	2
+++	3	%51-80	3
		%81-100	4

3.3 İstatiksel Analiz:

Değerlendirmelerde SPSS 25.0 (IBM SPSS Statistics 25 Software (Armonk, NY: IBM Corp.)) programı kullanıldı. Sürekli değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma, ortanca, minimum, maksimum değerleri, kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde olarak verildi. Sürekli verilerin normal dağılıma uygunluğu için Kolmogorov-Smirnov testi ve dağılım grafipleri kullanıldı.

Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında İki Ortalama Arasındaki Farkın Önemlilik Testi; parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. 3 gruplu bağımsız değişkenlerin karşılaştırılmasında

parametrik test varsayımları sağlandığında Tekrarlı Ölçümlerde Varyans Analizi; parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Ayrıca sürekli değişkenlerin arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon analizi ve kategorik değişkenler arasındaki farklılıklar ise Ki kare analizi ile incelendi. İstatistiksel anlamlılık sınırı olarak $p<0,05$ kabul edildi.



4.Bulgular

Pamukkale Üniversitesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı ve Patoloji Anabilim Dalında yapılan klinik çalışmamıza, çalışma kriterlerine uygun olan toplam 167 gebe dahil edilmiştir. Hasta grubunda 96 tane preeklampsisi ile komplike gebe yer alırken, kontrol grubunu 71 tane sağlıklı gebe yer aldı. Hasta grubundan 48 tanesi şiddetli olmayan preeklampsisi ile, diğer 48'i ise şiddetli preeklampsisi ile komplike gebeydi. Çalışmamıza dahil edilen preeklampsisi grubunda yaş ortalaması ($\pm$ standart sapma [SD]) $30,95 \pm 6,42$, en küçük hastanın 18, en büyük hastanın 43 yaşında olduğu görülmüştür. Kontrol grubunda ise yaş ortalaması $33,31 \pm 6,52$, en küçük gebenin 18, en büyük gebenin ise 45 yaşında olduğu görülmüştür. Preeklampsisi grubu ile kontrol grubu yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0,36$).

Preeklampsisi grubunda gravida ortalaması $2,05 \pm 1,30$, kontrol grubunda ise gravite ortalaması $2,73 \pm 1,52$ bulunmuş olup gravite ile preeklampsisi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p=0,01$). Preeklampsisi grubunda parite ortalaması $0,78 \pm 1,03$, kontrol grubunda parite ortalaması $1,23 \pm 1,12$ bulunmuştur. Parite ile preeklampsisi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p=0,03$). Preeklampsisi grubunda abortus ortalaması $0,21 \pm 0,61$, kontrol grubunda abortus ortalaması $0,38 \pm 0,70$ bulunmuş olup abortus ile preeklampsisi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p=0,35$).

Preeklampsisi grubunda gebelik haftası ortalaması $32,76 \pm 4,00$, kontrol grubunda gebelik haftası ortalaması $38,09 \pm 1,02$ bulunmuş olup gebelik haftası ile preeklampsisi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir ($p < 0,0001$). Preeklampsisi grubunda fetal doğum ağırlığı ortalaması $1784,62 \pm 861,72$ gr, kontrol grubunda fetal doğum ağırlığı $3073,94 \pm 390,22$ gr bulunmuştur. Fetal doğum ağırlığı ile preeklampsisi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı tespit edilmiştir ($p < 0,0001$). Preeklampsisi grubunda plasental ağırlık ortalaması $340,75 \pm 140,25$ gr, kontrol grubunda plasental ağırlık ortalamasının $423,79 \pm 68,62$ gr olduğu tespit edilmiş olup plasental ağırlık ile preeklampsisi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p=0,01$). Preeklampsisi grubu ve kontrol grubunda bebek cinsiyetleri ki-kare testi kullanılarak istatistiksel olarak analiz edildi. Preeklampsisi grubundaki hastaların bebeklerinin 42 tanesi (%50,6) erkek, kontrol grubundaki gebelerin bebeklerinin 41 tanesi (%49,4) erkekti. Preeklampsisi grubundaki hastaların bebeklerinin 54 tanesi (%50,6) ise kız, kontrol grubundaki gebelerin bebeklerinin 30 tanesi (%35,7) ise kızdı. Preeklampsisi gelişimiyle

fetal cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. ($\chi^2 = 3,198$ $p=0,74$).

Tablo 9. Çalışma Gruplarının Obstetrik Parametreleri

		Preeklampsi Grubu n=96 Ortalama $\pm$ SD Ortanca (min – max)	Kontrol Grubu n=71 Ortalama $\pm$ SD Ortanca (min - max)	P
Hasta Yaşı		30,95 $\pm$ 6,42 32 (18 - 43)	33,31 $\pm$ 6,52 34 (18 - 46)	0,36
Gravite		2,05 $\pm$ 1,3 2 (1 - 6)	2,73 $\pm$ 1,52 2 (1 - 7)	0,01
Parite		0,78 $\pm$ 1,03 0 (0 - 4)	1,23 $\pm$ 1,12 1 (0 - 6)	0,03
Abortus		0,21 $\pm$ 0,61 0 (0 - 4)	0,38 $\pm$ 0,7 0 (0 - 3)	0,35
Gebelik Haftası		32,76 $\pm$ 4 33 (21,5 - 40,2)	38,09 $\pm$ 1,02 38,1 (36,2 - 41,4)	0,0001
Doğum Ağırlığı		1784,62 $\pm$ 861,72 1690 (420 - 4145)	3073,94 $\pm$ 390,22 3100 (2100 - 4100)	0,0001
Plasenta Ağırlığı		340,75 $\pm$ 140,25 340 (112 - 930)	423,79 $\pm$ 168,62 420 (100 - 796)	0,01
Bebek Cinsiyeti	Erkek (n,%)	42 (50,6)	41 (49,4)	$\chi^2=3,198$ 0,74
	Kız (n,%)	54 (64,3)	30 (35,7)	

Çalışmamıza dahil edilen gebelerin tam kan sayımları, biyokimyasal değerleri ve 24 saatlik idrarda protein verileri istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Preeklampsi grubunda 24 saatlik idrarda protein ortalaması 2884,44 $\pm$ 2569,91mg tespit edilmiştir. Preeklampsi grubunda kreatinin ortalaması 0,78 $\pm$ 0,26mg/dl, kontrol grubunda kreatinin ortalaması 0,52 $\pm$ 0,1mg/dl bulunmuş olup kreatinin ile preeklampsi farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0,0001$). Karaciğer fonksiyon testlerinden AST ve ALT değerleri istatistiksel olarak analiz edildi. Preeklampsi grubunda AST ortalaması 70,29 $\pm$ 186,44IU/L, ALT ortalaması ise 47,89 $\pm$ 111,16IU/L'di. Kontrol grubunda ise AST ortalaması 17,66 $\pm$ 8,85IU/L, ALT ortalaması 17,66 $\pm$ 8,85IU/L'di. AST ve ALT ile preeklampsi arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0,0001$). Preeklampsi grubunda ürik asit ortalaması 5,96 $\pm$ 1,5mg/dl, kontrol grubunda ürik asit ortalaması 4,05 $\pm$ 1,23mg/dl olduğu bulundu. İstatistiksel olarak ürik asit düzeyiyle preeklampsi arasındaki farkın anlamlı olduğu tespit edildi. Preeklampsi grubunda trombosit sayısı

ortalaması 176,34±70,99K/uL, kontrol grubunda trombosit sayısı ortalaması ise 248,73±71,33K/uL olduğu bulunmuş olup trombosit sayısı ile preeklampsisi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olarak bulundu ($p < 0,0001$).

Tablo 10. Çalışma Gruplarının Laboratuvar Parametreleri

	Preeklampsisi Grubu n=96 Ortalama ± SD Ortanca (min –max)	Kontrol Grubu n=71 Ortalama ± SD Ortanca (min –max)	<i>P</i>
Proteinüri (mg/24s)	2884,44 ± 2569,91 2182,16 (353 - 11816)	-	-
Kreatinin (mg/dl)	0,78 ± 0,26 0,71 (0,29 - 1,66)	0,52 ± 0,1 0,5 (0,33 - 0,85)	0,0001
AST (IU/L)	70,29 ± 186,44 25 (10 - 1647)	17,66 ± 8,85 15 (8 - 66)	0,0001
ALT (IU/L)	47,89 ± 111,16 15 (3 - 880)	12,61 ± 18,18 10 (3 - 158)	0,0001
Ürik asit (mg/dl)	5,96 ± 1,5 6 (1,9 - 11,1)	4,05 ± 1,23 4,1 (0,47 - 7,2)	0,0001
Trombosit (K/uL)	176,34 ± 70,99 177 (32 - 341)	248,73 ± 71,33 230 (121 - 457)	0,0001

Preeklampsisi ile komplike olan 96 gebede, gebelik süreçleri boyunca çeşitli komplikasyonlar meydana gelmiştir. Preeklampsinin en şiddetli formu olan ve ciddi maternal fetal morbidite ve mortalite ile ilişkili olan HELLP sendromu 4 hastada, eklampsi ise 2 hastada meydana gelmiştir. 16 hastanın bebeklerinde IUGR tespit edilmiştir. Oligohidroamnios ise 4 gebede gözlenmiştir. 1 hastada plasenta dekolmanı gelişmiştir.

Tablo 11. Preeklampsisi ile Komplike Gebelerde Meydana Gelen Komplikasyonlar

Komplikasyonlar	n	%
HELLP Sendromu	4	4,2
Eklampsi	2	2,1
IUGR	16	16,7
Dekolman Plasenta	1	1
Oligohidroamnios	4	4,2

İmmünohistokimyasal boyanma paternleri boyanma yüzdesi, boyanma yoğunluğu ve boyanma skoru (boyanma yüzdesi ile boyanma yoğunluğundan elde edilen değerlerin çarpılmasıyla elde edilen değer) olmak üzere 3 kategoride değerlendirildi.

Preeklampsi grubunda Netrin-1 ile boyanma yüzdesi ortalaması $52,19 \pm 37,03$ olarak bulundu. Kontrol grubunda ise Netrin-1 ile boyanma yüzdesi ortalaması $95,35 \pm 14,82$ olarak bulundu. Netrin-1 boyanma yüzdesi ile preeklampsi grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı olarak farklı bulundu ($p < 0,0001$). Netrin-1 ile boyanma şiddeti ortalaması preeklampsi grubunda $1,3 \pm 0,53$, kontrol grubunda netrin-1 ile boyanma şiddeti ortalaması ise $1,73 \pm 0,76$ bulunmuş olup netrin-1 boyanma yoğunluğu iki grup arasında anlamlı olarak farklıydı ($p < 0,0001$). Netrin-1 boyanma skoru ortalaması preeklampsi grubunda $3,46 \pm 2,57$ olarak bulundu. Kontrol grubunda ise Netrin-1 ile boyanma skoru ortalaması $1,73 \pm 0,76$ olarak bulundu. Netrin-1 boyanma skoru preeklampsi ile kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı bulundu ($p < 0,0001$).

Netrin-4 ile boyanma yüzdesi ortalaması preeklampsi grubunda $88,44 \pm 17,13$ olarak bulundu. Kontrol grubunda ise Netrin-4 ile boyanma yüzdesi ortalaması $22,75 \pm 23,52$ olarak bulundu. Netrin-4 boyanma yüzdesi ile preeklampsi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi. ($p < 0,0001$) Netrin-4 ile boyanma yoğunluğu ortalaması preeklampsi grubunda $2,31 \pm 0,77$, kontrol grubunda netrin-1 ile boyanma şiddeti ortalaması ise $1,18 \pm 0,42$ bulunmuş olup netrin-4 boyanma yoğunluğu ile preeklampsi arasındaki istatistiksel analizin anlamlı olduğu tespit edildi. ($p < 0,0001$) Netrin-4 boyanma skoru ortalaması preeklampsi grubunda $8,6 \pm 3,22$ olarak bulundu. Kontrol grubunda ise Netrin-4 ile boyanma skoru ortalaması $1,92 \pm 1,59$ olarak bulundu. İstatistiksel analiz sonucunda Netrin-4 boyanma skoru ile preeklampsi arasındaki farkın anlamlı olduğu tespit edildi. ($p = 0,0001$)

Preeklampsi grubunda UNC5B ile boyanma yüzdesi ortalaması $89,84 \pm 19,66$, kontrol grubunda UNC5B ile boyanma yüzdesi ortalaması $75,77 \pm 28,62$ bulunmuş olup UNC5B boyanma yüzdesi ile preeklampsi arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi. ($p < 0,0003$) UNC5B ile boyanma yoğunluğu ortalaması preeklampsi grubunda $1,25 \pm 0,44$ olarak bulundu. Kontrol grubunda ise UNC5B ile boyanma şiddeti ortalaması $1,04 \pm 0,2$ olarak bulundu. UNC5B boyanma yoğunluğu ile preeklampsi arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi. ($p < 0,0005$) Preeklampsi grubunda UNC5B ile boyanma skoru ortalaması $4,75 \pm 1,95$ olarak tespit edildi. Kontrol grubunda ise UNC5B ile

boyanma skoru ortalaması $3,49 \pm 1,3$ olarak tespit edildi. İstatistiksel analiz sonucunda UNC5B boyanma skoru ile preeklampsi arasındaki farkın anlamlı olduğu gözlemlendi. ($p < 0,0001$)

Tablo 12. Netrin-1, Netrin-4 ve UNC5B ile İmmünohistokimyasal Boyanma Yüzdeleri, Boyanma Yoğunlukları ve Boyanma Skorları

	Preeklampsi Grubu n=96	Kontrol Grubu n=71	P
	Ortalama $\pm$ SD Ortanca (min –max)	Ortalama $\pm$ SD Ortanca (min –max)	
Netrin-1 ile Boyanma Yüzdesi	52,19 $\pm$ 37,03 40 (10 - 100)	95,35 $\pm$ 14,82 100 (30 - 100)	0,0001
Netrin-1 ile Boyanma Yoğunluğu	1,3 $\pm$ 0,53 1 (1 - 3)	1,73 $\pm$ 0,76 2 (1 - 3)	0,0001
Netrin-1 ile Boyanma Skoru	3,46 $\pm$ 2,57 3 (1 - 12)	6,77 $\pm$ 3,17 8 (2 - 12)	0,0001
Netrin-4 ile Boyanma Yüzdesi	88,44 $\pm$ 17,13 95 (10 – 100)	22,75 $\pm$ 23,52 10 (5 – 100)	0,0001
Netrin-4 ile Boyanma Yoğunluğu	2,31 $\pm$ 0,77 2,5 (1 – 3)	1,18 $\pm$ 0,42 1 (1 – 3)	0,0001
Netrin-4 ile Boyanma Skoru	8,6 $\pm$ 3,22 8,5 (1 - 12)	1,92 $\pm$ 1,59 2 (1 - 12)	0,0001
UNC5B ile Boyanma Yüzdesi	89,84 $\pm$ 19,66 100 (5 - 100)	75,77 $\pm$ 28,62 90 (10 - 100)	0,0003
UNC5B ile Boyanma Yoğunluğu	1,25 $\pm$ 0,44 1 (1 - 2)	1,04 $\pm$ 0,2 1 (1 - 2)	0,0005
UNC5B ile Boyanma Skoru	4,75 $\pm$ 1,95 4 (1 - 8)	3,49 $\pm$ 1,3 4 (1 - 8)	0,0001

Preeklampsi grubunda yer alan 96 hasta ACOG kriterleri kullanılarak, preeklampsi şiddetine göre iki gruba ayrıldı. Şiddetli olmayan preeklampsi grubunda 48 hasta, şiddetli preeklampsi grubunda 48 hasta yer aldı. Kontrol grubu da dahil edilerek, bu üç grubun immünohistokimyasal boyanma paternleri Kruskal-Wallis testi kullanılarak değerlendirildi ve ikili karşılaştırmalarla hangi gruplar arasında istatistiksel fark olduğu tespit edildi.

Netrin-1 ile boyanma yüzdesi ortalaması şiddetli preeklampsi grubunda $46,25 \pm 35,35$, şiddetli olmayan preeklampsi grubunda $58,13 \pm 38,07$, kontrol grubunda ise $95,35 \pm 14,82$ olarak tespit edildi. İkili karşılaştırmalar sonucunda şiddetli preeklampsi grubu ile kontrol

grubu arasında ve şiddetli olmayan preeklampsi grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark olduğu gözlemlendi ($p<0,0001$). Ancak şiddetli preeklampsi grubu ile şiddetli olmayan preeklampsi arasında anlamlı fark bulunamadı. Netrin-1 ile boyanma şiddeti ortalaması şiddetli preeklampsi grubunda $1,33\pm0,6$, şiddetli olmayan preeklampsi grubunda $1,27\pm0,45$, kontrol grubunda ise $1,73\pm0,76$ olarak tespit edildi. Şiddetli preeklampsi ile kontrol grubu arasında ikili karşılaştırma sonucu anlamlı bulundu ($p=0,004$). Şiddetli olmayan preeklampsi ile kontrol grubunun da ikili karşılaştırması anlamlı bulundu ($p=0,002$). Netrin-1 boyanma şiddeti açısından preeklampsi grupları arasında ikili karşılaştırmalarda anlamlı bir fark bulunmadı. Netrin-1 boyanma skorları ortalaması şiddetli preeklampsi grubunda $3,42\pm3$, şiddetli olmayan preeklampsi grubunda $3,5\pm2,07$ ve kontrol grubunda $6,77 \pm 3,17$ olarak bulundu. İkili karşılaştırmalar sonucunda Şiddetli preeklampsi ile kontrol grubu arasında ve şiddetli olmayan preeklampsi ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık olduğu gözlemlendi ($p<0,0001$). Preeklampsi grupları arasında Netrin-1 boyanma skoru açısından anlamlı fark bulunamadı.

Netrin-4 ile boyanma yüzdeleri ortalamaları şiddetli preeklampsi grubunda $88,96\pm16,53$, şiddetli olmayan preeklampsi grubunda $87,92\pm17,86$, kontrol grubunda ise $22,75\pm23,52$ olarak tespit edildi. İkili karşılaştırmalar sonucunda şiddetli preeklampsi ile kontrol grubu arasında ve şiddetli olmayan preeklampsi ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık tespit edildi ($p<0,0001$). Fakat preeklampsi gruplarının ikili karşılaştırmalarında anlamlı bir fark tespit edilmedi. Netrin-4 boyanma yoğunluğu ortalamaları şiddetli preeklampsi grubunda $2,79\pm0,46$, şiddetli olmayan preeklampsi grubunda $1,83\pm0,72$, kontrol grubunda ise $1,18\pm0,42$ olarak tespit edildi. Her üç grubun birbiri ile ikili karşılaştırmalarında anlamlı farklılık tespit edildi ($p<0,0001$). Netrin-4 ile boyanma skorları ortalaması şiddetli preeklampsi grubunda $10,4\pm2,33$, şiddetli olmayan preeklampsi grubunda $6,81\pm3$ ve kontrol grubunda $1,92\pm1,59$ olduğu bulundu. Şiddetli preeklampsi ile kontrol grubu arasında ve şiddetli olmayan preeklampsi ile kontrol grubu arasında ikili karşılaştırmaların sonucunda anlamlı fark saptandı ($p<0,0001$). Preeklampsi grupları arasında anlamlı fark tespit edilmedi.

Tablo 13. Netrin-1, Netrin-4 ve UNC5B ile İmmunohistokimyasal Boyanma Yüzdeleri, Boyanma Yoğunlukları ve Boyanma Skorları

	Şiddetli Preeklampsi Grubu n=48 Ortalama ± SD Ortanca (min - max)	Şiddetli Olmayan Preeklampsi Grubu n=48 Ortalama ± SD Ortanca (min - max)	Kontrol Grubu n=71 Ortalama ± SD Ortanca (min - max)	<i>p</i> *
Netrin 1 ile Boyanma Yüzdesi	46,25 ± 35,35 30 (10 - 100)	58,13 ± 38,07 50 (10 - 100)	95,35 ± 14,82 100 (30 - 100)	0,0001 ^{a,b}
Netrin 1 ile Boyanma Yoğunluğu	1,33 ± 0,6 1 (1 - 3)	1,27 ± 0,45 1 (1 - 2)	1,73 ± 0,76 2 (1 - 3)	0,004 ^a 0,002 ^b
Netrin 1 ile Boyanma Skoru	3,42 ± 3 2 (1 - 12)	3,5 ± 2,07 4 (1 - 8)	6,77 ± 3,17 8 (2 - 12)	0,0001 ^{a,b}
Netrin 4 ile Boyanma Yüzdesi	88,96 ± 16,53 90 (10 - 100)	87,92 ± 17,86 100 (40 - 100)	22,75 ± 23,52 10 (5 - 100)	0,0001 ^{a,b}
Netrin 4 ile Boyanma Yoğunluğu	2,79 ± 0,46 3 (1 - 3)	1,83 ± 0,72 2 (1 - 3)	1,18 ± 0,42 1 (1 - 3)	0,0001 ^{a,b,c}
Netrin 4 ile Boyanma Skoru	10,4 ± 2,33 12 (1 - 12)	6,81 ± 3 7 (2 - 12)	1,92 ± 1,59 2 (1 - 12)	0,0001 ^{a,b} 0,002 ^c
UNC5B ile Boyanma Yüzdesi	90,31 ± 21,35 100 (5 - 100)	89,38 ± 18,03 100 (20 - 100)	75,77 ± 28,62 90 (10 - 100)	0,015 ^a 0,004 ^b
UNC5B ile Boyanma Yoğunluğu	1,17 ± 0,38 1 (1 - 2)	1,33 ± 0,48 1 (1 - 2)	1,04 ± 0,2 1 (1 - 2)	0,0001 ^a
UNC5B ile Boyanma Skoru	4,46 ± 1,74 4 (1 - 8)	5,04 ± 2,11 4 (2 - 8)	3,49 ± 1,3 4 (1 - 8)	0,0001 ^a 0,001 ^b

^aİkili karşılaştırmalarda şiddetli preeklampsi grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark vardı.

^bİkili karşılaştırmalarda şiddetli olmayan preeklampsi grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark vardı.

^cİkili karşılaştırmalarda şiddetli preeklampsi ile şiddetli olmayan preeklampsi grubu arasında anlamlı bir fark vardı.

*Kruskal–Wallis testi, düzeltilmiş p değeri

UNC5B boyanma yüzdeleri ortalamaları şiddetli preeklampsi grubunda 89,38±18,03, şiddetli olmayan preeklampsi grubunda 90,31±21,35 ve kontrol grubunda 75,77±28,62 olarak bulundu. Şiddetli preeklampsi grubu ile kontrol grubu arasında ikili karşılaştırmada anlamlı farklılık gözlemlendi (*p*=0,015). Şiddetli olmayan preeklampsi grubu ile kontrol grubu

arasında da anlamlı farklılık gözlemlendi ($p=0,004$). Preeklampsisi grupları arasında anlamlı bir fark bulunamadı. UNC5B ile boyanma yoğunluğu ortalaması şiddetli preeklampsisi grubunda $1,33\pm0,48$, şiddetli olmayan preeklampsisi grubunda $1,17\pm0,38$, kontrol grubundaysa $1,04 \pm 0,2$ olarak tespit edildi. İkili karşılaştırmalar sonucunda sadece şiddetli preeklampsisi ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0,0001$). UNC5B ile boyanma skorları ortalaması şiddetli preeklampsisi grubunda $5,04\pm2,11$, şiddetli olmayan preeklampsisi grubunda $4,46\pm1,74$ ve kontrol grubunda $3,49\pm1,3$ olarak saptandı. Şiddetli preeklampsisi ile kontrol grubu arasında ikili karşılaştırmada anlamlı farklılık tespit edildi ($p<0,0001$). Şiddetli olmayan preeklampsisi ile kontrol grubu arasında da anlamlı farklılık olduğu gözlemlendi ($p=0,001$). Preeklampsisi grupları arasında UNC5B ile boyanma skorlarının ikili karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmadı.

Preeklampsisi grubunda yer alan hastalar gebelik haftası olarak 32 hafta baz alınarak iki gruba ayrıldı. Netrin-1 ile immünohistokimyasal boyanma dereceleri sırasıyla 32 hafta altındaki preeklampsili gebelerde ve 32 hafta üzerindeki preeklampsili gebelerde, netrin-1 boyanma yüzdesi $54\pm36,15$ ve $51,15\pm37,78$ ($p=0,483$), netrin-1 yoğunluğu $1,23\pm0,43$ ve $1,34\pm0,57$ ($p= 0,414$), netrin-1 skoru $3,34\pm2,22$ ve $3,52\pm2,76$ ($p=0,950$) bulunmuş olup hiçbirisi istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.

Netrin-4 ile boyanma parametreleri sırasıyla 32 hafta altındaki preeklampsili gebelerde ve 32 hafta üzerindeki preeklampsili gebelerde, netrin-4 boyanma yüzdesi $90,29\pm12,94$ ve $87,38\pm19,14$ ($p=0,895$), netrin-4 yoğunluğu $2,43\pm0,74$ ve $2,25\pm0,79$ ($p=0,262$), netrin-4 skoru $9,11\pm2,87$ ve $8,31\pm3,4$ ($p=0,275$) bulunmuş olup hiçbirisi istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.

UNC5B immünohistokimyasal parametreler sırasıyla 32 hafta altındaki preeklampsili gebelerde ve 32 hafta üzerindeki preeklampsili gebelerde, UNC5B boyanma yüzdesi $89,43\pm19,39$ ve $90,08\pm19,97$ ($p= 0,845$), UNC5B yoğunluğu $1,34\pm0,48$ ve $1,2\pm0,4$ ($p= 0,113$), UNC5B skoru $5,11\pm2,1$ ve $4,54\pm1,84$ ($p= 0,161$) bulunmuş olup hiçbirisi istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı.

Tablo 14. 32 Haftanın Altındaki ve Üstündeki Preeklampitik Hastaların İmmünohistokimyasal Parametreleri

	<32 hafta Preeklampsi Grubu n=35 Ortalama $\pm$ SD Ortanca (min –max)	>32 hafta Preeklampsi Grubu n=61 Ortalama $\pm$ SD Ortanca (min –max)	<i>p</i>
Netrin 1 ile Boyanma Yüzdesi	54 $\pm$ 36,15 40 (10 - 100)	51,15 $\pm$ 37,78 30 (10 - 100)	0,483
Netrin 1 ile Boyanma Yoğunluğu	1,23 $\pm$ 0,43 1 (1 - 2)	1,34 $\pm$ 0,57 1 (1 - 3)	0,414
Netrin 1 ile Boyanma Skoru	3,34 $\pm$ 2,22 2 (1 - 8)	3,52 $\pm$ 2,76 3 (1 - 12)	0,950
Netrin 4 ile Boyanma Yüzdesi	90,29 $\pm$ 12,94 90 (60 - 100)	87,38 $\pm$ 19,14 100 (10 - 100)	0,895
Netrin 4 ile Boyanma Yoğunluğu	2,43 $\pm$ 0,74 3 (1 - 3)	2,25 $\pm$ 0,79 2 (1 - 3)	0,262
Netrin 4 ile Boyanma Skoru	9,11 $\pm$ 2,87 9 (3 - 12)	8,31 $\pm$ 3,4 8 (1 - 12)	0,275
UNC5B ile Boyanma Yüzdesi	89,43 $\pm$ 19,39 100 (20 - 100)	90,08 $\pm$ 19,97 100 (5 - 100)	0,845
UNC5B ile Boyanma Yoğunluğu	1,34 $\pm$ 0,48 1 (1 - 2)	1,2 $\pm$ 0,4 1 (1 - 2)	0,113
UNC5B ile Boyanma Skoru	5,11 $\pm$ 2,1 4 (2 - 8)	4,54 $\pm$ 1,84 4 (1 - 8)	0,161

Netrin-1, Netrin-4 ve UNC5B'nin immünohistokimyasal boyanma yüzdeleri, boyanma şiddetleri ve boyanma skorları Spearman korelasyon analizi ile bağımlılık açısından değerlendirildi.

UNC5B boyanma yüzdesi ile UNC5B boyanma şiddeti ($p=0,001$), UNC5B boyanma yüzdesi ($p<0,0001$), netrin-4'ün her 3 immünohistokimyasal boyanma paterni ile ($p<0,0001$) pozitif korelasyon gösterdiği ve bunların istatiksel olarak anlamlı olduğunu tespit ettik. UNC5B boyanma yüzdesi netrin-1 boyanma parametreleriyle negatif korelasyon göstermekteydi. Ancak netrin-1 boyanma şiddeti ($p=0,008$) ve boyanma skoru ($p=0,008$) ile gösterdiği negatif korelasyonun anlamlı olduğu, Netrin-1 boyanma yüzdesi ile ise anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi. UNC5B boyanma yoğunluğu ile UNC5B boyanma skoru ($p=0,0001$) ve netrin-4'ün her 3 boyanma paterni ile ($p=0,0001$) anlamlı pozitif korelasyon gösterdiğini tespit ettik. Netrin-1 boyanma paternleri ile negatif korelasyon göstermesine rağmen bu istatiksel olarak anlamlı tespit edilmedi. UNC5B boyanma skorunun netrin-1 boyanma yüzdesi ($p=0,021$) ve netrin-1 boyanma skoru

($p=0,005$) ile olan negatif korelasyonun anlamlı olduğu, netrin-1 boyanma şiddeti ile olan negatif korelasyonunda anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi.

Tablo 15. UNC5B, Netrin1 ve Netrin4'e ait İmmünoreaktif Skorlarının Spearman Korelasyon Analizi ile Bağımlılık Açısından Değerlendirilmesi

	UNC5B Yüzdesi	UNC5B Şiddeti	UNC5B Skoru	Netrin-1 Yüzdesi	Netrin-1 Şiddeti	Netrin-1 Skoru	Netrin-4 Yüzdesi	Netrin-4 Şiddeti	Netrin-4 Skoru
	<i>r</i> <i>p</i>	<i>r</i> <i>p</i>	<i>r</i> <i>p</i>	<i>r</i> <i>p</i>	<i>r</i> <i>p</i>	<i>r</i> <i>p</i>	<i>r</i> <i>p</i>	<i>r</i> <i>p</i>	<i>r</i> <i>p</i>
UNC5B ile Boyanma Yüzdesi	1,000	,265** ,001	,741** ,0001	-,104 ,181	-,205** ,008	-,201** ,009	,314** ,0001	,286** ,0001	,302** ,0001
UNC5B ile Boyanma Şiddeti		1,000	,712** ,0001	-,114 ,142	-,052 ,505	-,134 ,084	,318** ,0001	,405** ,0001	,393** ,0001
UNC5B ile Boyanma Skoru			1,000	-,178* ,021	-,143 ,065	-,214** ,005	,413** ,0001	,415** ,0001	,439** ,0001
Netrin1 ile Boyanma Yüzdesi				1,000	,399** ,0001	,834** ,0001	-,468** ,0001	-,424** ,0001	-,509** ,0001
Netrin1 ile Boyanma Şiddeti					1,000	,815** ,0001	-,154* ,047	-,160* ,038	-,186* ,016
Netrin1 ile Boyanma Skoru						1,000	-,388** ,0001	-,358** ,0001	-,425** ,0001
Netrin4 ile Boyanma Yüzdesi							1,000	,597** ,0001	,856** ,0001
Netrin4 ile Boyanma Şiddeti								1,000	,899** ,0001
Netrin4 ile Boyanma Skoru									1,000

p değeri <.05 istatistiksel olarak anlamlıdır

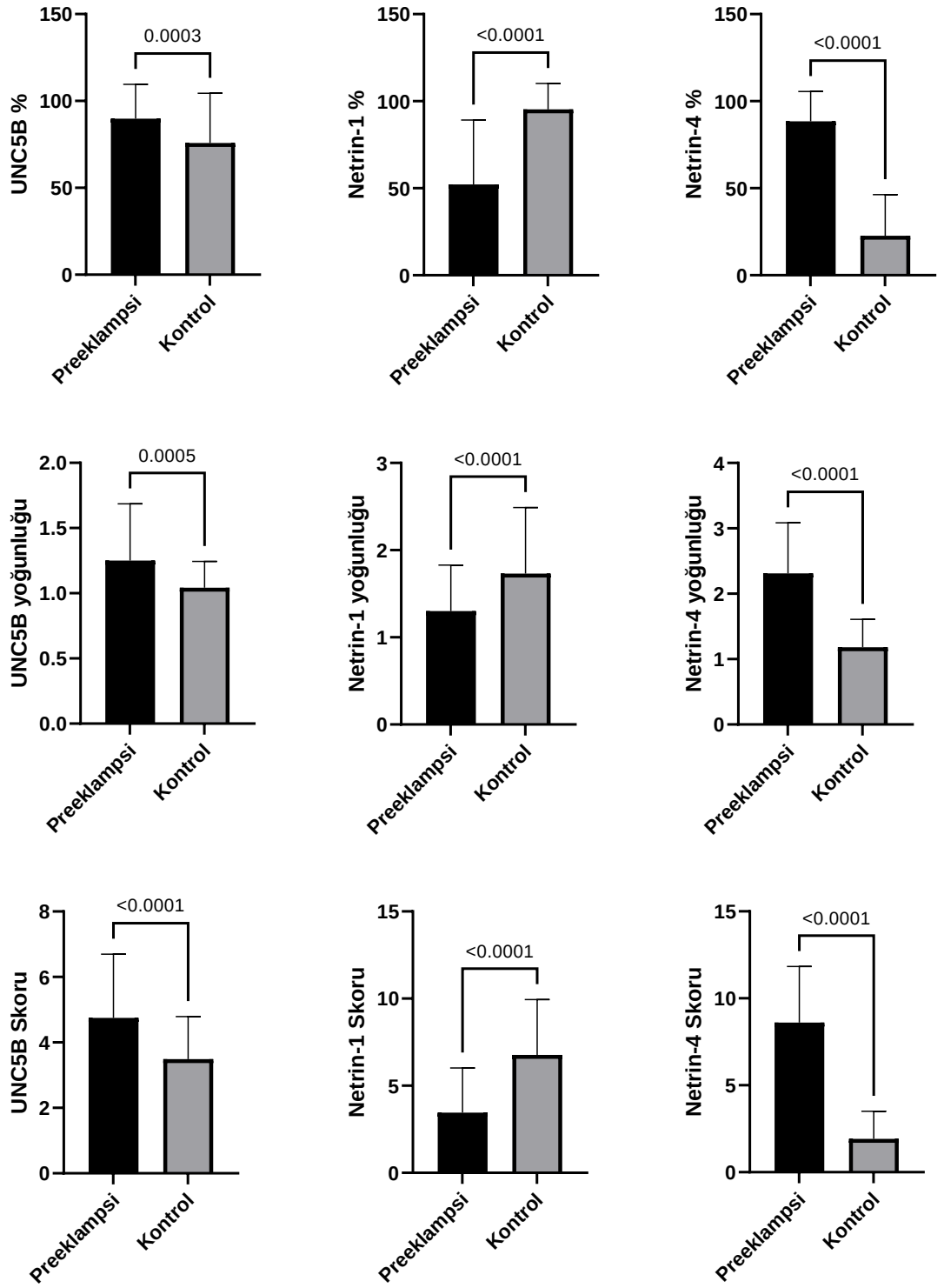
*Korelasyon 0,05 düzeyinde (2-tailed) anlamlıdır

** Korelasyon 0,01 düzeyinde (2-tailed) anlamlıdır

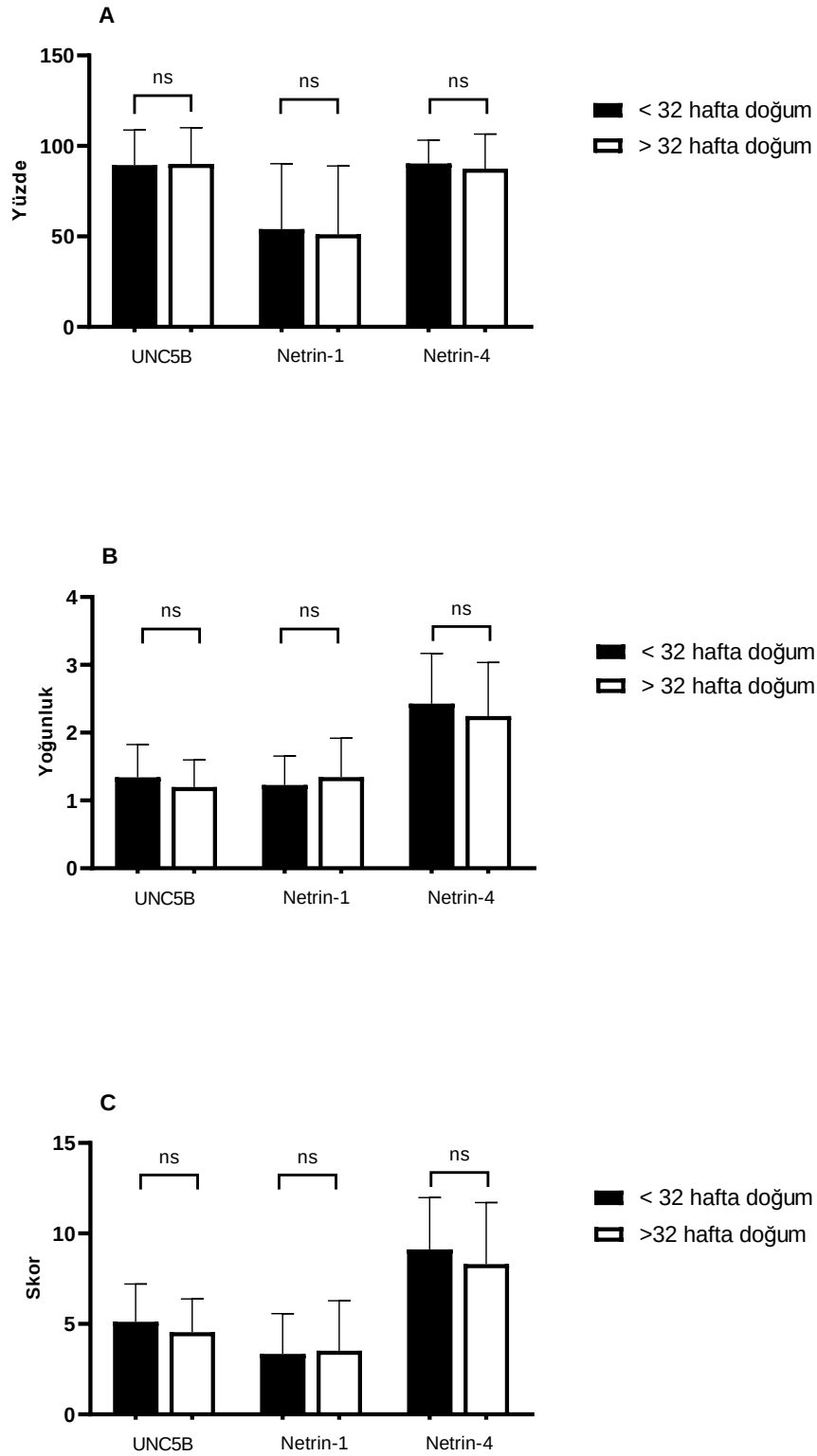
Netrin-1 boyanma yüzdesiyle netrin-1 boyanma yoğunluğu, netrin-1 boyanma skoru arasında pozitif korelasyon, netrin-4 boyanma paternleri ile arasında negatif korelasyon olduğu ve tüm korelasyonların istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi. ($p=0,0001$) Netrin-1 boyanma yüzdesi ile netrin-1 boyanma şiddeti arasındaki pozitif korelasyon ($p<0,0001$) ve netrin-4 boyanma yüzdesi ($p=0,047$), netrin-4 boyanma yoğunluğu ($p=0,038$), netrin-4 boyanma skoru ($p=0,016$) arasındaki negatif korelasyon anlamlı

bulundu. Netrin-1 boyanma skoru ile netrin-4 boyanma paternleri arasındaki negatif korelasyon istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,0001$). Netrin-4 'ün tüm boyanma paternleri arasındaki ikili pozitif korelasyonların hepsi anlamlı tespit edildi ($p<0,0001$).

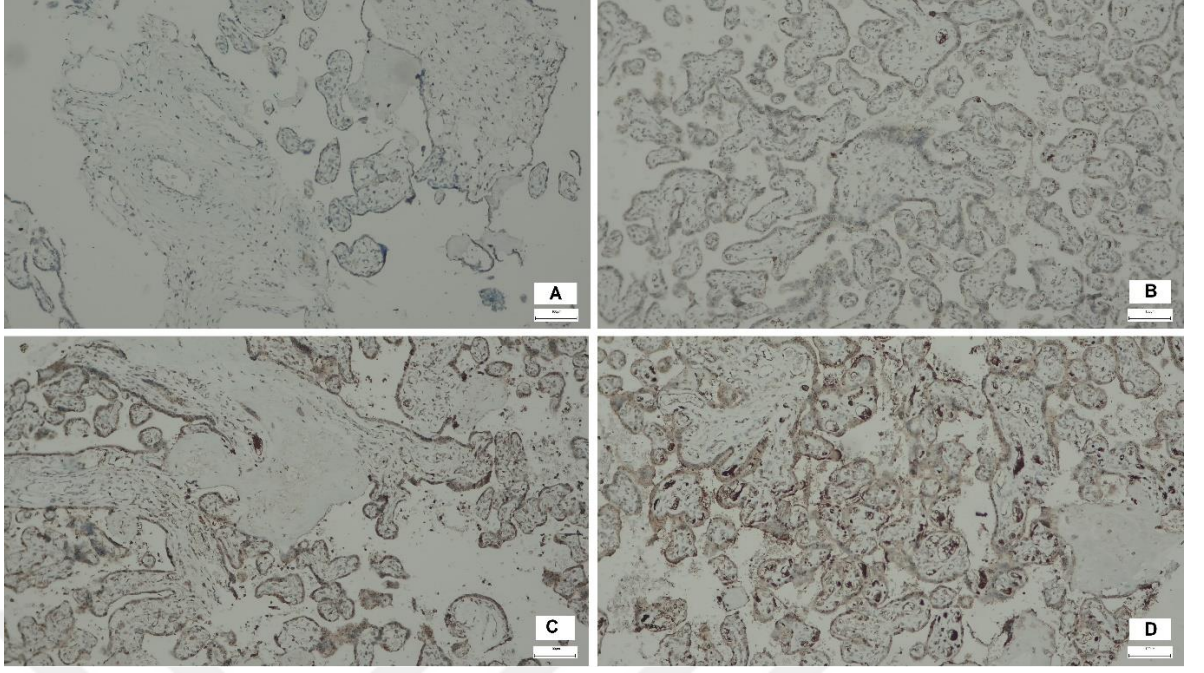




Şekil 5. Preeklampsia ve Kontrol Grubunun İmmünboyanma Paternlerinin Karşılaştırma Grafikleri

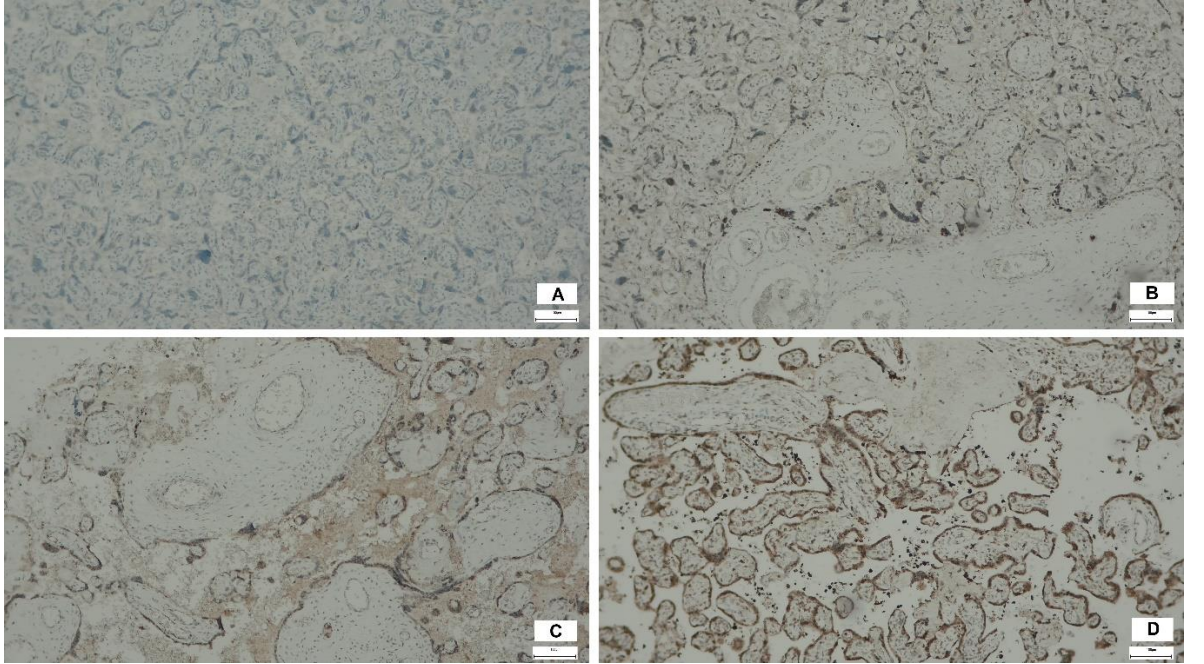


Şekil 6. 32 Hafta Baz Alınarak İki Gruba Ayrılan Preeklampsi Hastalarının İmmünboyanma Paternlerinin Karşılaştırma Grafikleri



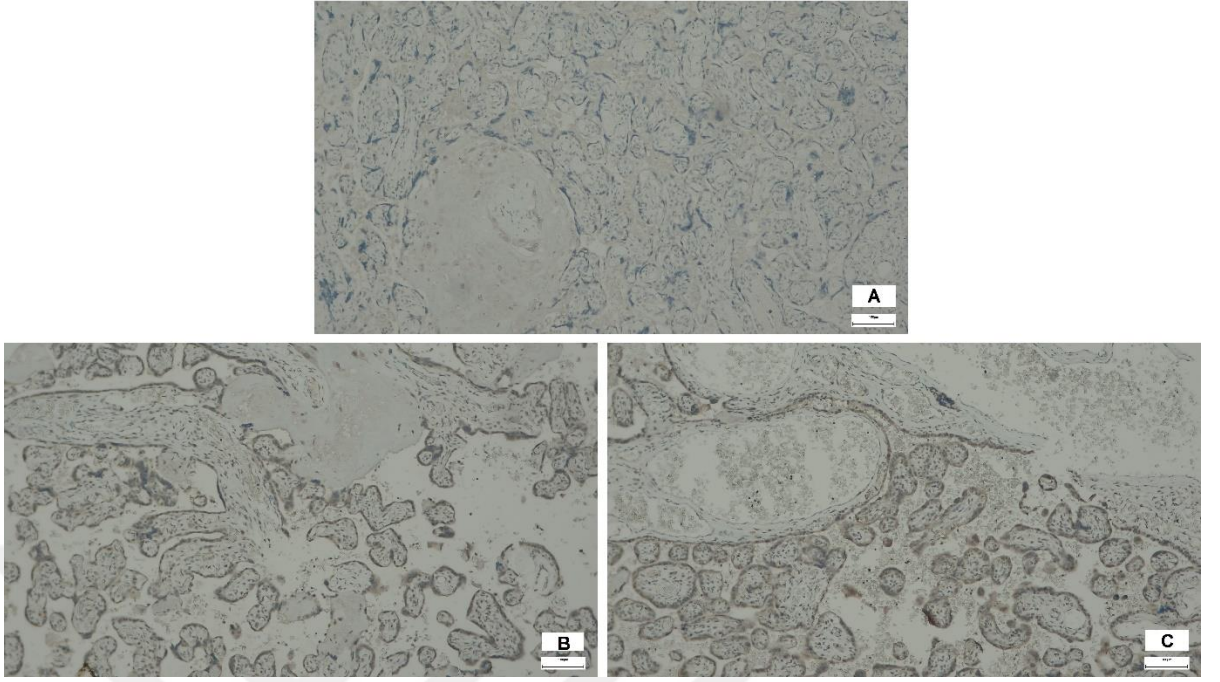
Şekil 7. Netrin-1 ile İmmünohistokimyasal Boyanma Paternleri

A. Netrin-1 ile Boyana Negatif (x100), **B.** Netrin-1 ile Boyanma zayıf pozitif (+1) (x100), **C.** Netrin-1 ile Boyanma güçlü pozitif (+2)(x100), **D.** Netrin-1 ile Boyanma çok güçlü pozitif (+3)(x100)



Şekil 8. Netrin-4 ile İmmünohistokimyasal Boyanma Paternleri

A. Netrin-4 ile Boyana Negatif, **B.** Netrin-4 ile Boyanma zayıf pozitif (+1)(x100), **C.** Netrin-4 ile Boyanma güçlü pozitif (+2)(x100), **D.** Netrin-1 ile Boyanma çok güçlü pozitif (+3)(x100)



Şekil 9. UNC5B ile İmmünohistokimyasal Boyanma Paternleri

A. UNC5B ile Boyana Negatif (x100), **B.** UNC5B ile Boyanma zayıf pozitif (+1)(x100),
C. UNC5B ile Boyanma güçlü pozitif (+2)(x100)

5.Tartışma

Preeklampsia gebeliğin hipertansif bir bozukluğu olup önemli maternal ve fetal morbidite ve mortaliteye neden olan multisistemik bir gebelik komplikasyonudur. Dünya genelinde gebelerin %1,5-16,7'sini etkilemekte ve her yıl dünya çapında 60 bin maternal ölüm ve 500 binden fazla erken doğuma neden olmaktadır (163). Preeklampsia çoklu organ sistemlerini etkileyen maternal-fetal arayüzden kaynaklanan komplike bir hastalıktır. Plasental bir hastalık olan preeklampsinin iki aşamalı olarak meydana geldiği düşünülmektedir. İlk aşama, ilk trimesterde anormal plasantasyonun olmasıdır (164). Klinik sendrom hastalığın belirtilerinin ortaya çıkmasından çok önce anormal trofoblast invazyonuyla başlar. Anormal plasantasyon mekanizması tartışmalı olsa da yapılan hayvan modeli çalışmalarda, maternal preeklampsik sendromda gözlenen hipertansiyona ve çoklu organ yetmezliğine uteroplazental iskeminin yol açtığı gösterilmiştir (165). Trofoblastlar, implantasyon sırasında myometrial spiral arterlerin tunika medyasının yeniden şekillendirilmesinde yetersiz kalırlar (166). Buna bağlı olarak ortaya çıkan plasental iskemi sonucunda, çözünür fms benzeri tirozin kinaz-1 (sFlt-1) ve çözünür endoglin (sEng) gibi antianjiyogenik faktörlerin ekspresyonu artar (167, 168). sFlt-1 endotel hücre fonksiyonunun önemli aracılığı olan VEGF ve plasental büyüme faktörüne bağlanarak etkilerini inhibe eder (168). Yüksek sFlt-1 ve sEng seviyeleri, preeklampsia patojenezinin altında yattığı düşünülen endotel disfonksiyonuna, vazokonstriksiyona ve immün düzensizliklere neden olurlar (169). İkinci aşamada artan antianjiyogenik faktörlerin ikinci ve üçüncü trimesterde ortaya çıkan preeklampsinin klinik sendromuna yol açtığı düşünülmektedir (164).

Travaglino ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptıkları çalışmada, 41 tane erken başlangıçlı preeklampsia ile komplike gebeden ve 31 tane sağlıklı gebeden elde ettikleri plasentaları immünohistokimyasal yöntemlerle incelediler. Preeklampsia ile komplike gebeliklerin tamamının plasentalarında villöz bir bozukluk mevcut olduğunu ve özellikle plasentalın merkezinde distal villusların azalmış olduğunu gözlemlediler. Rezidü distal villuslar ince, dallanmamış, zayıf vaskülarizasyona ve fokal sisityal düğüm sayısında artış mevcuttu. Tersiyer villusların periferde belirgin olduğunu, villuslarda stromal kollojen artışı, musküler arter hipertrofisi, intervillöz fibrin birikimi ve villöz aglütinasyonun olduğunu gözlemlediler (170).

Erken plasental yetmezlik ve hipoksi ile birlikte endotel disfonksiyonu, preeklampsia sendromunun gelişmesine yol açan önemli bir patofizyolojik mekanizmadır. Anjiyogenik

faktörlerdeki değişiklikler nitrik oksit azalmasıyla ve buna müteakip endotelial disfonksiyon gelişmesiyle doğrulan ilişkilidir. Dolaşımdaki antianjiyogenik faktörlerdeki yükselmeler, plasental yetmezlik olayını başlatan olaydan preeklampsiye ilerlemede önemli bir adım olarak görülmektedir (171) Bu veriler ışığında preeklampsi patogenezi aydınlatmak için anjiyogenez basamaklarında rol olan moleküller üzerinde kapsamlı çalışmalar yapılması gerekmektedir. Son zamanlarda netrin protein ailesi üyelerinin anjiogenezde de önemli roller oynadıkları gösterilmiş ve bununla ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır (147).

Netrinler merkezi sinir sisteminde aksonal rehberliğe aracılık eden, hücre adezyonunda, hareketliliğinde, çoğalmasında, farklılaşmasında ve hayatta kalmasında önemli roller alan protein ailesidir. Bu süreçler plasentada da gerçekleştiğinden, netrin protein ailesinin ve reseptörlerinin plasental hücreler tarafından eksprese edilip edilmediği sorusunu gündeme getirmiştir. Giudicelli ve arkadaşları insan plasentasında netrin-1 ve reseptörlerinin yani DCC'nin (deleted in coleractal cancer), UNC5B'nin (uncordinated-5 homolog) ekspresyonunu RT-PCR, Western Blot ve immünohistokimyasal yöntemlerle analiz ettiler. Sitotrofoblastların Netrin-1 proteini, DCC ve UNC5B reseptörünü eksprese ettiğini gösterdiler. İmmünohistokimyasal olarak endojen netrin-1 protein boyanmasının villöz ve ekstrasvillöz sitotrofoblastlarda lokalize ettiler. Sinsityotrofoblastların DCC reseptörünü eksprese ettiğini ancak yalnızca hücre dışı netrin-1 etkilenmesine sahip olduklarını tespit ettiler (153).

Giudicelli ve arkadaşlarının bir diğer çalışmasında, Netrin-4 ve neogeninin ekspresyonunu ilk trimester ve term plasentada RT-PCR ve Western Blot yöntemlerini kullanarak analiz ettiler. Villöz ve ekstrasvillöz sitotrofoblastların, sinsityotrofoblastların ve endotel hücrelerinin netrin-4 antikorları ile boyandığını, stromal hücrelerde ise zayıf boyanma olduğu gözlemlendiler (172).

Biz de çalışmamızda anjiogenez basamaklarında önemli roller oynayan, plasental hücreler tarafından da eksprese edildiği gösterilen netrin-1, netrin-4 proteinlerinin ve UNC5B reseptörünün preeklampsi patogeneziinde ki rolünü araştırmayı amaçladık. Bunun için preeklampsi ile komplike olan gebeliklerden elde edilen plasentalarda ve sağlıklı term gebeliklerden elde edilen plasentalarda netrin-1, netrin-4 ve UNC5B ekspresyonunu immünokimyasal yöntemleri kullanarak araştırdık.

Xie ve arkadaşları Netrin-1'in plasental anjiogenezdeki fonksiyonel ilişkisini daha iyi anlamak için, Netrin-1'in insan umbilikal damarı endotel hücreleri (HUVEC'ler) ve sıçan plasentası üzerindeki etkisini araştırdılar. Araştırmalarının sonucunda netrin-1'in HUVEC'lerin canlılığını, çoğalmasını, göçünü ve tüp formasyonu oluşumunu desteklediğini gösterdiler. Netrin-1 ekspresyonu inhibe edildikten sonra in vitro olarak hücre kapasitesinde güçlü bir azalma gözlemlendiler. Netrin-1 hamile sıçanların plasentalarında neovaskülarizasyonu hızlandırdı. Plasentada netrin-1 ekspresyonunun baskılanması, in vivo olarak azalmış vasküler filizlenme ile sonuçlandı. Bu bulgular, netrin-1'in HUVEC'lerin düzgün çalışması ve sıçan plasentasının anjiyogenezi için gerekli olduğunu ve plasenta ve fetüsün gelişiminde rol oynadığını göstermektedir. Çalışmanın sonucu, Netrin-1'in proanjiyogenik etkisinin, plasentanin vasküler hastalığının tedavisi için alternatif bir terapötik yaklaşım sunabileceğini düşündürmektedir (173).

Wang ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada Xie ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın sonucunu destekler bulgular elde ettiler. Netrin-1'in insan plasental mikrovasküler endotel hücrelerinin canlılığını ve tüp formasyonunu arttırdığını gösterdiler. Çalışmalarının sonucunda netrin-1'in insan plasentasında kan damarı oluşumunu önemli ölçüde destekleyebileceğini ve plasental damar sistemi ile ilgili hastalıklar için yeni terapötik stratejiler geliştirmek için potansiyel bir hedef olabileceğini öne sürdüler (126). Bu verilerin ışığında Netrin-1'in plasental anjiogenez basamaklarında önemli roller aldığını açıkça söyleyebiliriz. Vasküler endotel hücrelerinin canlılığı, çoğalmasını, göçünü ve tüp formasyonunu destekleyen Netrin-1 proteininin inhibe edilmesi plasental vasküler gelişim basamaklarını olumsuz etkilemiştir. Plasental vasküler gelişim basamaklarındaki problemlerden kaynaklanan hastalıkların patogenezinde Netrin-1 proteinin rol alıp almadığı sorusu akıllara gelmektedir. Özellikle patogenezi henüz net olarak aydınlatılamamış, spiral arterlerin yeniden şekillendirilmesindeki kusurlar ve artan antianjiyogenik faktörlerin neden olduğu düşünülen preeklampsisi gelişiminde Netrin-1'in rolü nedir?

Preeklampsisi ile komplike gebeliklerin plasentalarında Netrin-1 ekspresyonu ve anjiogenez ile ilgili ilk çalışma Yang ve arkadaşları tarafından 2006 yılında yapılmıştır. Çalışmalarına 8 tanesi şiddetli preeklampsisi olmak üzere toplam 20 preeklampsisi tanısı konulan gebe ve 20 sağlıklı gebeyi dahil etmişlerdir. Netrin-1'in mRNA ve protein ekspresyonunu RT-PCR ve Western Blot ile, plasental vasküler yoğunluğu

immünohistokimyasal F8 boyaması ile incelediler. Preeklampsi tanılı hastaların plasentalarında Netrin-1 ekspresyonunun ve plasental vasküler yoğunluğunun kontrol grubuna göre azaldığını, şiddetli preeklampsi grubunda azalmanın daha belirgin olduğunu belirlediler. Çalışmanın sonucunda preeklampsili hastaların plasentalarında netrin-1 ekspresyon azalmasının plasental vasküler yoğunluğun azalmasının olası nedenlerinden biri olduğunu göstermişlerdir (154). Çalışmamızda preeklampsi ile komplike olan toplam 96 hastamız, kontrol grubunda ise 71 tane sağlıklı gebe yer aldı. Preeklampsi grubundaki hastaların 48 tanesi şiddetli olmayan preeklampsi, 48 tanesi de şiddetli preeklampsi tanısı almıştı. Biz de çalışmamızda Yang ve arkadaşlarının çalışmasına benzer sonuçlar bulduk. Preeklampsi ile komplike gebeliklerin plasentalarında netrin-1 protein ekspresyonu kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda azalmıştı. Ancak şiddetli preeklampsi grubu ile şiddetli olmayan preeklampsi grubu arasında Netrin-1 protein ekspresyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit etmedik. Preeklampsi grubundaki hastaların plasental incelemelerinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında distal villus hipoplazisinin daha fazla olduğunu gözlemledik. Bununla birlikte preeklampsi grubunda plasental netrin-1 ekspresyonunun azalması, Yang ve arkadaşlarının önerdiği gibi plasental vasküler yoğunluk azalması ile ilişkili olabilir. Plasental vasküler yoğunluktaki azalmalarda gebelikte çeşitli komplikasyonlarla sonuçlanabilir. Quian-hua ve arkadaşları da yaptıkları çalışmanın sonucunda bu öneriyi destekler nitelikte bulgular elde ettiler (153).

Quian-hua ve arkadaşları fetal büyüme kısıtlılığı (FGR) ile komplike gebeliklerden elde edilen plasentalarda netrin-1 ekspresyonunu ve bunun insan plasental mikrovasküler endotel hücrelerinin canlılığı ve apoptozu üzerindeki etkisini araştırdılar. Netrin-1'in insan plasental mikrovasküler endotel hücrelerinin canlılığını arttırdığını ve apoptozlarını inhibe ettiğini gösterdiler. Netrin-1 ekspresyonunun kontrol gruplarına göre FGR ile komplike gebeliklerde önemli ölçüde azaldığını, FGR ve preeklampsi ile komplike grupta ekspresyon kaybının daha fazla olduğunu tespit ettiler. Elde edilen bulgular Netrin-1 ekspresyon kaybının plasental vasküler gelişimi etkileyerek FGR ve preeklampsi patogeneğinde önemli roller oynayabileceğini düşündürmektedir (10). Çalışmamızın preeklampsi grubundaki 96 gebeden 16 tanesi FGR ile komplikeydi. Quian-hua ve arkadaşlarının yayınladıkları raporun da desteklediği gibi Netrin-1 plasental anjiyogenez basamaklarında çok önemli görevleri bulunan bir proteindir. Netrin-1 ekspresyon kaybı da preeklampsi, FGR gibi komplikasyonlarla sonuçlanabilmektedir. Netrin-1'e atfedilen

proanjyogenik rolü destekleyen çok sayıda rapor olsa da, bunun aksini bildiren çeşitli raporlar da bulunmaktadır.

Sitotrofoblastda, sinsityotrofoblastlarda ve endotelial hücrelerde güçlü netrin-4 ekspresyonunun gözlenmesi, bu proteinin plasental anjiyogenez basamaklarında potansiyel bir rolü olduğunu düşündürmüştür. Boutsikou ve arkadaşları intrauterin gelişme geriliği (IUGR) ile komplike olan gebeliklerle kontrol grupları arasında maternal serum ve umbilikal kord Netrin-1 ve Netrin-4 düzeylerini karşılaştırdılar. IUGR grubunda maternal netrin-4 düzeyinin arttığını tespit ettiler ve bununda uteroplasental hipoksiyi yansıtabileceğini bildirdiler. Gestasyonel yaşa göre 90 persentilin üzerinde olan gruptaki (LGA) azalan maternal netrin-1 seviyeleri muhtemelen artan anjiyogeneze karşı negatif geri beslenme mekanizmasını temsil etmektedir. Umbilikal kord netrin1 ve netrin-4 düzeyleri arasındaki negatif korelasyon, anjiyojenik ve antianjiyojenik dinamik dengeyi yansıtmaktadır (11).

Boutsikou ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın ışığında, netrin-4'ün plasental ve fetal gelişim üzerine olumsuz bir etkisi olduğu ve bir antianjiyojenik faktör rolü oynadığı düşüncesinden yola çıkarak, Giudicelli ve arkadaşları yaptıkları çalışmada netrin-4'ün plasental anjiogenezdaki rolünü belirlemeyi amaçladılar. Netrin-4'ün insan plasental mikrovasküler endotel hücrelerinin (HPEC) proliferasyonu, göçü, tüp benzeri organizasyonu ve sferoid filizlenmesini inhibe ettiğini gösterdiler. Bu bulgu netrin-4'ün villüs içi anjiogenezin düzenlenmesinde doğrudan bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Giudicelli ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma, netrin-4'ün insan plasental üzerindeki anti-anjiyojenik aktivitesinin ilk raporudur (174). Bu iki çalışmanın elde ettiği verilerle, netrin-1 ve netrin-4'ün plasental gelişimin anjiogenez basamaklarında karşıt etki gösterdikleri sonucuna varabiliriz. Aynı zamanda netrin-4'ü bir antianjiyojenik faktör olarak tanımlayabilirsek de, netrin-4'ün doz bağımlı etki gösterdiğini savunan yayınlar mevcuttur (174).

Lambert ve arkadaşları, Netrin-4'ün vasküler aktivitedeki rollerini belirlemek için hem insan umbilikal arterinin ve veninin endotel hücrelerini hücre bazlı modeller, hem de zebra balığı modellerini kullanarak analiz ettiler. Netrin-4'ü endotel hücrelerinde eksprese edilen ve vasküler embriyonik gelişim için gerekli bir gen olarak tanımladılar. In vitro verileri, Netrin-4'ün endotelial hücrelerde hayatta kalma, çoğalma ve anjiyogenez aktiviteleri için gerekli olduğunu ve hücrenin hayatta kalmasına ve çoğalmasına yol açan sinyallerde yer alan ortak proteinler aracılığıyla etki ettiğini göstermiştir. Ayrıca Netrin-

4'ün, üç boyutlu anjiyogenez analizinde in vitro ve zebra balığı embriyonik gelişiminde in vivo olarak bir pro-anjiyojenik aktiviteye sahip olduğunu gösterdiler. Önemli olarak netrin-4'ü zamana ve doza bağlı bir şekilde HUVEC'lerin ve HUAEC'lerin çoğalmasını ve hayatta kalmasını indüklediğini tespit ettiler. Bu sonuçlar, Netrin-4'ün bir anti-anjiyogenik faktör olduğunu bildiren önceki verilerle karşılaştırıldığında zıt sonuçlar olarak yorumlanabilir. Önceki çalışmalarda optimal antianjiyojenik etki çok yüksek netrin-4 konsantrasyonlarında gözlemlenmiştir. Dolayısıyla bu sonuçlar, netrin-4'ün invitro endotel hücrelerini düşük konsantrasyonlarda uyardığı, ancak daha yüksek dozlarda inhibitör etki gösterdiği hipotezi ile tutarlılık göstermektedir. (175).

Lejmi ve arkadaşları 2008 yılında yaptıkları çalışmada Netrin-4'ü hem in vitro hem de in vivo olarak VEGF ile uyarılan endotelial hücrelerde spesifik olarak aşırı eksprese edilen bir gen olarak tanımladılar. Netrin-4'ün VEGF aracılı endotelial hücre göçünü ve vasküler tüp oluşumunu engellediğini gösterdiler. Netrin-1'in aksine Netrin-4 sadece neogenin resptörüne bağlanır ve UNC5B'ye bağlanmaz. Ayrıca neogenin ve UNC5B'nin inhibe edilmesi, endotelial hücre göçü üzerindeki Netrin-4'ün inhibitör etkisini ortadan kaldırdı. Bu bulgu her iki reseptörün de Netrin-4'ün in vitro işlevi için gerekli olduğunu ortaya koydu. Çalışmanın sonucunda şu öneri ortaya çıktı, Netrin-4 neogenine bağlanma ve UNC5B'nin devreye girmesiyle bir antianjiyogenik faktör olarak hareket etmektedir (8).

Netrin-4'ün sFlt-1 benzeri etki göstererek VEGF aracılı etkileri inhibe etmesi, antianjiyogenik etkilerinin bulunması plasental patogeneze rol alabileceği düşüncesini doğurmuştur. İçen ve arkadaşları preeklampsisi ile komplike gebeliklerde maternal serumda ve umbilikal kord kanında sFlt-1 ve netrin-4 düzeylerini araştırdılar. Maternal sFlt-1 seviyeleri şiddetli preeklampsisi ve şiddetli olmayan preeklampsisi gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek tespit ettiler. Maternal ve fetal netrin-4 seviyelerinde üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenemedi. Ancak netrin-4 düzeyi kontrol grubunda en düşük, preeklampsisi gruplarında ise daha yüksek bulundu. Korelasyon analizi sonucu maternal serum sFlt-1 ile maternal serum netrin-4 arasında pozitif bir ilişki tespit ettiler (30). Bu veriler maternal serumda netrin-4 düzeyindeki yükselmenin sFlt-1 gibi plasental hipoksiye sekonder geliştiği ve sFlt-1 gibi preeklampsinin klinik sendromuna yol açabileceğini düşündürmektedir. Biz de çalışmamızda preeklampsisi grubu ile kontrol grubu arasında netrin-4 immünohistokimyasal parametrelerinden boyanma yüzdesi, şiddeti, skoru arasında

istatistiksel olarak anlamlı fark tespit ettik. Preeklampsi grubunda netrin-4 ekspresyonu belirgin olarak artmıştı. Şiddetli preeklampsi grubunda netrin-4 boyanma şiddetinin ve skorunun şiddetli olmayan preeklampsi grubuna göre anlamlı olarak artmış olduğunu gözlemledik. Antianjiyogenik faktörler preeklampsi kliniğinin ortaya çıkmasından sorumlu tutulmaktadır. Netrin-4 de antianjiyogenik bir faktör olarak preeklampsi kliniğinin şiddetlenmesine neden olabilir. Elde ettiğimiz veriler netrin-4 ekspresyon artışının preeklampsi patogenezinde netrin-1 ile karşıt etkiler göstererek yer aldığını düşüncesini desteklemektedir.

UNC5B'nin ekspresyonunu ve doğum sonrası ve patolojik anjiyogenez sırasındaki işlevini ilk kez Larrivé ve arkadaşları incelediler. Netrin-1 reseptörü olan UNC5B vasküler paternin yeniden düzenlenmesi için embriyonik gelişim sırasında gereklidir. Bu da doğum sonrası ve patolojik anjiyogeneze katkıda bulunabileceğini düşündürür. Larrivé ve arkadaşları yaptıkları çalışmanın sonucunda UNC5B'nin sessiz olgun damar sisteminde ekspresyonunun azaldığını, gelişim gösteren dokularda ki damar sistemindeyse yeniden ifade edildiğini gösterdiler. UNC5B eksprese eden damarların Netrin-1 ile uyarılması sonucunda anjiyogenezin inhibe edildiğini gözlemlediler. Ancak UNC5B'nin ekspresyon kaybının, Netrin-1 aracılı anjiyogenez inhibisyonunu azalttığını gösterdiler. Bu çalışma UNC5B aktivasyonunun anjiyogenezi inhibe ettiğini göstermektedir. Çalışmadan elde edilen veriler ışığında UNC5B potansiyel bir anti-anjiyogenik hedef olarak tanımlanmıştır (176). Netrin-1 reseptörü olan UNC5B'nin plasental dokuda ki varlığı yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (146). Bu da UNC5B ekspresyon artışının tıpkı netrin-4 ekspresyon artışında olduğu gibi antianjiyogenik etkiler göstererek plasental patolojilere ve gebelik komplikasyonlarına neden olabileceğini düşündürür. Çalışmamızda preeklampsi grubundaki UNC5B ekspresyon artışının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğunu tespit ettik. UNC5B'nin tüm immünohistokimyasal parametride iki grup arasında anlamlı fark mevcuttu. Şiddetli preeklampsi grubu ile şiddetli olmayan preeklampsi grubu arasında UNC5B immünohistokimyasal parametreleri arasında anlamlı bir fark gözlemlemedik. Netrin-1 ile UNC5B arasında gözlenen negatif korelasyon istatistiksel olarak anlamlıydı. Bu bulgu netrin-1 ve UNC5B aktivasyonlarının zıt etkili olduğu düşüncesini desteklemektedir. Yayınlanan bazı raporlar Netrin-1'in antianjiyogenik etkiler gösterdiğini belirtmektedir. Netrin-1'in UNC5B reseptörü ile etkileşiminin yarattığı etki ile ilgili de farklı raporlar bulunmaktadır.

Netrin-1'in proanjyogenik etkisi iki yönlü olabilir. İlk olarak endotel hücrelerinin proliferasyonunu, göçünü ve farklılaşmasını uyararak anjiyogeneze katkı sağlar. İkinci olarak ise UNC5B'ye bağlanarak, UNC5B'nin endotel hücreleri üzerindeki apoptotik etkisini inhibe ederek anjiyogenezi destekler (177). Lu ve arkadaşları fareler üzerinde gen tuzağı stratejisini kullanarak yaptıkları çalışmada dallanmış damarlarda UNC5B ekspresyonunun arttığını gözlemlediler. Çalışmalarının sonucunda Netrin-1'in UNC5B'ye bağlanarak antianjiyogenik rol oynadığını bildirdiler (151). Navankasattusas ve arkadaşları da UNC5B aracılı sinyallemenin, fetal-plasental anjiyogenezin spesifik ve özerk bir bileşeni olduğunu bildirdiler (178). Ancak bu raporlar literatürde yer alan çeşitli çalışmaların sonucunda bildirilen netrin-1'in proanjyogenik rolüyle çelişmektedir. Yaniv ve arkadaşları zebra balıkları üzerinde yaptıkları çalışmada hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak netrin-1'in anjiyogenezi uyardığını ve netrin-1'in inhibe edildiğinde ise anjiyogenezin de inhibe olduğunu tespit ettiler (179). Bununla birlikte rapor edilen veriler netrin-1'in bir proanjyogenik veya bir antianjiyogenik faktör olduğu konusunda çelişkili sonuçlara yol açmıştır. Bu veriler bağımlı reseptörler modeli altında ele alınırsa, netrin-1 ve UNC5B'ye atfedilen zıt fenotipler açıklanabilir.

Castets ve arkadaşları netrin-1'in endotel hücreleri için bir hayatta kalma faktörü olduğunu ve UNC5B'nin proapoptotik etkisini inhibe ederek etki ettiğini göstererek bu karşıt görüşleri uzlaştırmışlardır. Vasküler gelişim üzerindeki netrin-1 etkisinin *ex vivo* deneylerde taklit edilmesiyle ve UNC5B reseptörünün inhibe edilmesiyle netrin-1 tarafından indüklenen vasküler gelişim basamaklarındaki olumsuzluklar giderilmiştir. UNC5B'nin proapoptotik etkisi ve netrin-1'in endotel hücreleri üzerindeki hayatta kalma etkisi anjiyogenik süreci ince bir şekilde ayarlamaktadır (150).

Preeklampsi patogenezi net olarak aydınlatılamamış olsa da patogenezi başlatan süreçlerin implantasyon aşamasında başladığı düşünülmektedir. Öncelikle plasental implantasyon aşamasında trofoblastların myometrial spiral arterleri invaze edemesinde, yeniden şekillendirmede ki problemler ve sonrasında artan antianjiyogenik moleküllerin preeklampsinin patogenezinde yer aldığı üzerinde durulmaktadır (71). Netrin protein ailesi de anjiyogenez basamaklarında çeşitli önemli roller üstlenmektedir. Bu süreçte ortaya çıkacak problemlerin çeşitli patolojilere yol açabileceği çok olasıdır. Netrin proteinleri ile ilgili literatürde çelişkili raporlar olsa da ağırlıklı olarak netrin-1'in proanjyogenik, netrin-4 ve UNC5B'nin ise antianjiyogenik faktörler olduğu vurgulanmaktadır. Çalışmamızda da bu moleküllerin preeklampsi patogenezindeki yerini

immunohistokimyasal yöntemlerle araştırdık. Netrin-1 ekspresyonunun preeklampsi grubunda azaldığını, netrin-4 ve UNC5B ekspresyonunun ise arttığını gözlemledik. Proanjiyogenik faktör olan netrin-1 ekspresyonunun azalması, antianjiyogenik faktörler olan netrin-4 ve UNC5B ekspresyonunun artması, preeklampsi patogenezinde vurgulanan antianjiyogenik faktörlerin artması hipotezini desteklemektedir. Şiddetli preeklampsi grubu ile şiddetli olmayan preeklampsi grubu arasında sadece netrin-4 ile boyanma şiddeti ve skoru ile istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardı. Netrin-4 ekspresyonunun daha çok artması preeklampsi sürecinin şiddetli preeklampsi yönüne kaymasının olası nedenlerinden biri olabilir. Preeklampsi grubu 32 hafta altındaki gebeler ve 32 haftanın üzerindeki gebeler olarak ikiye ayrıldığında ise çalıştığımız üç proteinin tüm immunohistokimyasal parametreleri arasında anlamlı bir fark tespit etmedik. Netrin-1 ekspresyonunun azalmasının, netrin-4 ve UNC5B ekspresyonunun artmasının gebelik haftasından bağımsız olduğunu gözlemledik. Bu bulgular preeklampsi patogenezinin haftadan bağımsız olarak henüz implantasyon aşamasında başladığı görüşünü desteklemektedir.

Çalışmamızda preeklampsi ile komplike gebelerden ve sağlıklı gebelerden elde edilen plasentalarda immunohistokimyasal yöntemler kullanarak, anjiyogenik roller atfedilen netrin-1, antianjiyogenik roller atfedilen netrin-4 ve UNC5B'nin ekspresyonlarını değerlendirerek preeklampsi patogenezindeki rollerini belirlemeyi hedefledik. Yaptığımız immunohistokimyasal boyamalar sonucu preeklampsi grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak netrin-1 ekspresyonunun azaldığını, netrin-4 ve UNC5B ekspresyonunun ise arttığını tespit ettik. Anjiyogenik bir protein olan netrin-1'in azalması ve antianjiyogenik proteimler netrin-4 ve UNC5B'nin artması plasental vasküler gelişim basamaklarını olumsuz etkileyerek preeklampsi patogenezinde önemli roller oynamaktadır. Bulgularımız preeklampsinin kliniğinden sorumlu tutulan antianjiyogenik faktörlerin artması hipotezini destekler niteliktedir. Netrin-4 ekspresyonunun şiddetli preeklampsi grubunda şiddetli olmayan preeklampsi grubuna göre anlamlı yüksek olması da netrin-4'ün şiddetli preeklampsi gelişiminde rol oynadığını düşündürmektedir. Preeklampsi ile komplike gebelerde netrin-1 ekspresyonunun azalmasının, netrin-4 ve UNC5B ekspresyonunun artmasının gebelik haftasından bağımsız olduğunu tespit ettik. Bulgularımız preeklampsi patogenezinin implantasyon aşamasında başladığını görüşünü desteklemektedir.

Çalışmamızda yer alan hasta grubu ve kontrol grubu seçilirken vasküler gelişim basamaklarını ya da plasental dokuyu etkileyebilecek herhangi bir hastalık tanılarının

olmamasına, antihipertansif ilaç dışında ilaç kullanmamalarına, fetal anomali tanısı olmamasına dikkat edilerek seçilmesi ve çalışma gruplarının geniş tutulması çalışmamızın güçlü yönleriydi. Çalıştığımız üç proteinin ekspresyonunu sadece immünohistokimyasal olarak değerlendirmemiz, retrospektif bir çalışma yaptığımız için hastaların BMI ve kan basıncı ölçümlerine eksiksiz ulaşamamız çalışmamızın zayıf yönleriydi.

Netrin-1, netrin-4 ve UNC5B preeklampsisi patogenezinde rol almaktadır hipotezini yaptığımız çalışma ile doğruladık. Preeklampsisi patogenezinin aydınlatmak, henüz preeklampsisi kliniği gelişmeden önlem almamızı sağlayacak, klinik geliştikten sonra ise tedavi basamaklarında yol gösterici olacaktır. Netrin proteinleri ve reseptörlerinin preeklampsideki rolü ile ilgili çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Çalışmamızda ileride yapılacak çalışmalara bilimsel destek sağlayacaktır.

6.Sonuçlar

Preeklampsi ile komplike gebeler ve term sağlıklı gebelerden elde ettiğimiz plasentalarda, netrin-1, netrin-4 ve UNC5B ekspresyonunu immünohistokimyasal olarak değerlendirdiğimiz çalışmamızda çeşitli bulgular elde ettik.

Preeklampsi grubunda kontrol grubuna göre netrin-1 boyanma yüzdesi, yoğunluğu, skoru anlamlı ölçüde azalmıştı ve netrin-4 ve UNC5B boyanma yüzdesi, yoğunluğu, skoru ise anlamlı oranda artmıştı. Bu bulgular netrin-1 ekspresyonunun azalmasının, netrin-4 ve UNC5B ekspresyonlarının artmasının preeklampsi patogenezinde rol aldığını düşündürmektedir.

Preeklampsi ile komplike hastalar şiddetli preeklampsi ve şiddetli olmayan preeklampsi olarak iki gruba ayrıldı. Şiddetli preeklampsi grubunda şiddetli olmayan preeklampsi grubuna göre netrin-4 boyanma yoğunluğu ve skoru anlamlı olarak artmış tespit edildi. İki grup arasında netrin-1 ve UNC5B boyanma yüzdesi, yoğunluğu, skoru ve netrin-4 boyanma yüzdesi arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. Netrin-4 ekspresyon artışı preeklampsinin şiddetli forma ilerlemesinin nedenlerinden biri olabilir.

Preeklampsi grubunda yer alan hastaları 32 haftanın altındaki gebeler ve 32 haftanın üzerindeki gebeler şeklinde iki gruba ayırdık. Netrin-1, netrin-4, UNC5B boyanma yüzdeleri, yoğunlukları, skorları arasında anlamlı bir fark gözlemlemedik. Bu da preeklampsi patogenezinin gebeliğin çok erken safhalarında meydana geldiği düşüncesini desteklemektedir.

7. Kaynaklar

1. Ananth CV, Basso O. Impact of pregnancy-induced hypertension on stillbirth and neonatal mortality. *Epidemiology*. 2010;21(1):118-23.
2. ACOG Practice Bulletin No. 202: Gestational Hypertension and Preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2019;133(1):1.
3. Cunningham FG, Leveno KJ, Bloom SL, Dashe JS, Hoffman BL, Casey BM, et al. Hypertensive Disorders. *Williams Obstetrics*, 25e. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2018.
4. Makris A, Thornton C, Thompson J, Thomson S, Martin R, Ogle R, et al. Uteroplacental ischemia results in proteinuric hypertension and elevated sFLT-1. *Kidney Int*. 2007;71(10):977-84.
5. Roberts JM, Lain KY. Recent Insights into the pathogenesis of pre-eclampsia. *Placenta*. 2002;23(5):359-72.
6. Çekmez Y, Garip Ş, Ulu İ, Gülşen S, Haberal ET, Olgac Y, et al. Maternal serum Netrin-1 levels as a new biomarker of preeclampsia. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2017;30(9):1072-4.
7. Freitas C, Larrivée B, Eichmann A. Netrins and UNC5 receptors in angiogenesis. *Angiogenesis*. 2008;11(1):23-9.
8. Lejmi E, Leconte L, Pédrón-Mazoyer S, Ropert S, Raoul W, Lavalette S, et al. Netrin-4 inhibits angiogenesis via binding to neogenin and recruitment of Unc5B. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(34):12491-6.
9. Bouvrée K, Larrivée B, Lv X, Yuan L, DeLafarge B, Freitas C, et al. Netrin-1 inhibits sprouting angiogenesis in developing avian embryos. *Developmental Biology*. 2008;318(1):172-83.
10. Qian-hua W, Shao-ping Z, Jian-wen Z, Yun Y, Li Z. Reduced expression of netrin-1 is associated with fetal growth restriction. *Mol Cell Biochem*. 2011;350(1-2):81-7.
11. Boutsikou T, Giotaki M, Gourgiotis D, Boutsikou M, Briana DD, Marmarinos A, et al. Cord blood netrin-1 and -4 concentrations in term pregnancies with normal, restricted and increased fetal growth. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2014;27(18):1849-53.
12. Eveno C, Broqueres-You D, Feron JG, Rampanou A, Tijeras-Raballand A, Ropert S, et al. Netrin-4 delays colorectal cancer carcinomatosis by inhibiting tumor angiogenesis. *Am J Pathol*. 2011;178(4):1861-9.
13. HASSA O. Embriyoloji. Ankara: Yorum Matbacılık; 1997. 145 p.
14. ZIK B. Ekstraembriyonal Keseler ve Plasenta. ÖZER A, editor. Ankara: Nobel Yayınevi; 2010. 266 p.
15. Çiçek MN AC, Çelik Ç, Haberal A. Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Ankara: Güneş Kitapevi; 2014. 1244 p.
16. Moore K PT. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2009.
17. Kierszenbaum AL TL. Histology and Cell Biology: An Introduction to Pathology. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2016. 749 p.
18. Roberts RM, Fisher SJ. Trophoblast stem cells. *Biol Reprod*. 2011;84(3):412-21.
19. Benirschke K KP. Pathology of the Human Placenta. New York: Springer Verlag; 1995. 925-30 p.
20. Boyd JD, Hamilton WJ. Electron microscopic observations on the cytotrophoblast contribution to the syncytium in the human placenta. *J Anat*. 1966;100(Pt 3):535-48.
21. Fox H, Elston CW. Pathology of the placenta. *Major Probl Pathol*. 1978;7:1-491.
22. Vićovac L, Jones CJ, Aplin JD. Trophoblast differentiation during formation of anchoring villi in a model of the early human placenta in vitro. *Placenta*. 1995;16(1):41-56.

23. Ilgren EB. Control of trophoblastic growth. *Placenta*. 1983;4(3):307-28.
24. Kaufmann P, Luckhardt M, Schweikhart G, Cattle SJ. Cross-sectional features and three-dimensional structure of human placental villi. *Placenta*. 1987;8(3):235-47.
25. Tenney B, Parker F. The placenta in toxemia of pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1940;39:1000-5.
26. Benirschke K, Kaufmann P. Early Development of the Human Placenta. In: Benirschke K, Kaufmann P, editors. *Pathology of the Human Placenta*. New York, NY: Springer New York; 2000. p. 42-9.
27. Klein HH, Pich S. [Cardiovascular changes during pregnancy]. *Herz*. 2003;28(3):173-4.
28. Members ATF, Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. *European Heart Journal*. 2013;34(28):2159-219.
29. Bateman BT, Shaw KM, Kuklina EV, Callaghan WM, Seely EW, Hernández-Díaz S. Hypertension in women of reproductive age in the United States: NHANES 1999-2008. *PLoS One*. 2012;7(4):e36171.
30. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 2000;183(1):S1-s22.
31. Sibai BM, Stella CL. Diagnosis and management of atypical preeclampsia-eclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2009;200(5):481.e1-7.
32. Campbell DM, Templeton A. Maternal complications of twin pregnancy. *Int J Gynaecol Obstet*. 2004;84(1):71-3.
33. Bernstein PS, Martin JN, Jr., Barton JR, Shields LE, Druzin ML, Scavone BM, et al. National Partnership for Maternal Safety: Consensus Bundle on Severe Hypertension During Pregnancy and the Postpartum Period. *Obstet Gynecol*. 2017;130(2):347-57.
34. Visintin C, Mugglestone MA, Almerie MQ, Nherera LM, James D, Walkinshaw S. Management of hypertensive disorders during pregnancy: summary of NICE guidance. *Bmj*. 2010;341:c2207.
35. Scardo JA, Ellings JM, Newman RB. Prospective determination of chorionicity, amnionicity, and zygosity in twin gestations. *Am J Obstet Gynecol*. 1995;173(5):1376-80.
36. von Dadelszen P, Magee L. Antihypertensive Medications in Management of Gestational Hypertension-Preeclampsia. *Clinical obstetrics and gynecology*. 2005;48:441-59.
37. Leeman L, Dresang LT, Fontaine P. Hypertensive Disorders of Pregnancy. *Am Fam Physician*. 2016;93(2):121-7.
38. Sibai BM, Lindheimer M, Hauth J, Caritis S, VanDorsten P, Klebanoff M, et al. Risk factors for preeclampsia, abruptio placentae, and adverse neonatal outcomes among women with chronic hypertension. National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. *N Engl J Med*. 1998;339(10):667-71.
39. Mark Landon HG, Eric Jauniaux, Deborah Driscoll, Vincenzo Berghella, William Grobman, Sarah Kilpatrick, Alison Cahill. *Gabbe's Obstetrics: Normal and Problem Pregnancies* 2020.
40. Cheung KL, Lafayette RA. Renal physiology of pregnancy. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2013;20(3):209-14.
41. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol*. 2013;122(5):1122-31.
42. Harmon QE, Huang L, Umbach DM, Klungsøyr K, Engel SM, Magnus P, et al. Risk of fetal death with preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2015;125(3):628-35.

43. Beech A, Mangos G. Management of hypertension in pregnancy. *Aust Prescr.* 2021;44(5):148-52.
44. Sibai BM. Diagnosis, controversies, and management of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count. *Obstet Gynecol.* 2004;103(5 Pt 1):981-91.
45. Lam MTC, Dierking E. Intensive Care Unit issues in eclampsia and HELLP syndrome. *Int J Crit Illn Inj Sci.* 2017;7(3):136-41.
46. Jung E, Romero R, Yeo L, Gomez-Lopez N, Chaemsaitong P, Jaovisidha A, et al. The etiology of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2022;226(2s):S844-s66.
47. Sandsæter HL, Horn J, Rich-Edwards JW, Haugdahl HS. Preeclampsia, gestational diabetes and later risk of cardiovascular disease: Women's experiences and motivation for lifestyle changes explored in focus group interviews. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2019;19(1):448.
48. Ngoc NT, Merialdi M, Abdel-Aleem H, Carroli G, Purwar M, Zavaleta N, et al. Causes of stillbirths and early neonatal deaths: data from 7993 pregnancies in six developing countries. *Bull World Health Organ.* 2006;84(9):699-705.
49. Bartsch E, Medcalf KE, Park AL, Ray JG. Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: systematic review and meta-analysis of large cohort studies. *Bmj.* 2016;353:i1753.
50. O'Brien TE, Ray JG, Chan WS. Maternal body mass index and the risk of preeclampsia: a systematic overview. *Epidemiology.* 2003;14(3):368-74.
51. Benedetto C, Marozio L, Tavella AM, Salton L, Grivon S, Di Giampaolo F. Coagulation disorders in pregnancy: acquired and inherited thrombophilias. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1205:106-17.
52. Taylor R, Roberts J, Cunningham F, Lindheimer MD. Chesley's hypertensive disorders in pregnancy, fourth edition 2014. 1-489 p.
53. Broughton Pipkin F, Rubin PC. Pre-eclampsia--the 'disease of theories'. *Br Med Bull.* 1994;50(2):381-96.
54. Robillard PY, Dekker G, Iacobelli S, Chaouat G. An essay of reflection: Why does preeclampsia exist in humans, and why are there such huge geographical differences in epidemiology? *J Reprod Immunol.* 2016;114:44-7.
55. Uzan J, Carbonnel M, Piconne O, Asmar R, Ayoubi JM. Pre-eclampsia: pathophysiology, diagnosis, and management. *Vasc Health Risk Manag.* 2011;7:467-74.
56. Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *J Clin Invest.* 1997;99(9):2152-64.
57. Robertson WB, Brosens I, Dixon G. Maternal uterine vascular lesions in the hypertensive complications of pregnancy. *Perspect Nephrol Hypertens.* 1976;5:115-27.
58. Roberts JM, Redman CW. Pre-eclampsia: more than pregnancy-induced hypertension. *Lancet.* 1993;341(8858):1447-51.
59. Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, McFadyen IR, van Asshe A. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol.* 1994;101(8):669-74.
60. Madazli R, Budak E, Calay Z, Aksu MF. Correlation between placental bed biopsy findings, vascular cell adhesion molecule and fibronectin levels in pre-eclampsia. *Bjog.* 2000;107(4):514-8.
61. Sánchez-Aranguren LC, Prada CE, Riaño-Medina CE, Lopez M. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress. *Front Physiol.* 2014;5:372.

62. Casper FW, Seufert RJ. Atrial natriuretic peptide (ANP) in preeclampsia-like syndrome in a rat model. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 1995;103(5):292-6.
63. Bell E. A bad combination. *Nature Reviews Immunology*. 2004;4(12):927-.
64. Ileakis JV, Reddy UM, Roberts JM. Preeclampsia--a pressing problem: an executive summary of a National Institute of Child Health and Human Development workshop. *Reprod Sci*. 2007;14(6):508-23.
65. Kho EM, McCowan LM, North RA, Roberts CT, Chan E, Black MA, et al. Duration of sexual relationship and its effect on preeclampsia and small for gestational age perinatal outcome. *J Reprod Immunol*. 2009;82(1):66-73.
66. von Rango U. Fetal tolerance in human pregnancy--a crucial balance between acceptance and limitation of trophoblast invasion. *Immunol Lett*. 2008;115(1):21-32.
67. Jena MK, Nayak N, Chen K, Nayak NR. Role of Macrophages in Pregnancy and Related Complications. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2019;67(5):295-309.
68. Tilburgs T, Scherjon SA, Claas FH. Major histocompatibility complex (MHC)-mediated immune regulation of decidual leukocytes at the fetal-maternal interface. *J Reprod Immunol*. 2010;85(1):58-62.
69. Gregori S, Amodio G, Quattrone F, Panina-Bordignon P. HLA-G Orchestrates the Early Interaction of Human Trophoblasts with the Maternal Niche. *Front Immunol*. 2015;6:128.
70. Ferreira LMR, Meissner TB, Tilburgs T, Strominger JL. HLA-G: At the Interface of Maternal-Fetal Tolerance. *Trends Immunol*. 2017;38(4):272-86.
71. Saito S, Sakai M. Th1/Th2 balance in preeclampsia. *J Reprod Immunol*. 2003;59(2):161-73.
72. PrabhuDas M, Bonney E, Caron K, Dey S, Erlebacher A, Fazleabas A, et al. Immune mechanisms at the maternal-fetal interface: perspectives and challenges. *Nat Immunol*. 2015;16(4):328-34.
73. Brown MB, von Chamier M, Allam AB, Reyes L. M1/M2 macrophage polarity in normal and complicated pregnancy. *Front Immunol*. 2014;5:606.
74. Chen Q, Guo F, Jin HY, Lau S, Stone P, Chamley L. Phagocytosis of apoptotic trophoblastic debris protects endothelial cells against activation. *Placenta*. 2012;33(7):548-53.
75. Lockwood CJ, Matta P, Krikun G, Koopman LA, Masch R, Toti P, et al. Regulation of monocyte chemoattractant protein-1 expression by tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1beta in first trimester human decidual cells: implications for preeclampsia. *Am J Pathol*. 2006;168(2):445-52.
76. Huppertz B, Kingdom J, Caniggia I, Desoye G, Black S, Korr H, et al. Hypoxia favours necrotic versus apoptotic shedding of placental syncytiotrophoblast into the maternal circulation. *Placenta*. 2003;24(2-3):181-90.
77. Redman CW, Sargent IL. Circulating microparticles in normal pregnancy and pre-eclampsia. *Placenta*. 2008;29 Suppl A:S73-7.
78. Adekola H, Romero R, Chaemsathong P, Korzeniewski SJ, Dong Z, Yeo L, et al. Endocan, a putative endothelial cell marker, is elevated in preeclampsia, decreased in acute pyelonephritis, and unchanged in other obstetrical syndromes. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2015;28(14):1621-32.
79. Fukui A, Yokota M, Funamizu A, Nakamura R, Fukuhara R, Yamada K, et al. Changes of NK cells in preeclampsia. *Am J Reprod Immunol*. 2012;67(4):278-86.
80. Lamarca B, Speed J, Ray LF, Cockrell K, Wallukat G, Dechend R, et al. Hypertension in response to IL-6 during pregnancy: role of AT1-receptor activation. *Int J Interferon Cytokine Mediat Res*. 2011;2011(3):65-70.

81. Eastabrook G, Brown M, Sargent I. The origins and end-organ consequence of pre-eclampsia. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2011;25(4):435-47.
82. Paré E, Parry S, McElrath TF, Pucci D, Newton A, Lim KH. Clinical risk factors for preeclampsia in the 21st century. *Obstet Gynecol.* 2014;124(4):763-70.
83. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest.* 2003;111(5):649-58.
84. Kumasawa K, Ikawa M, Kidoya H, Hasuwa H, Saito-Fujita T, Morioka Y, et al. Pravastatin induces placental growth factor (PGF) and ameliorates preeclampsia in a mouse model. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(4):1451-5.
85. Venkatesha S, Toporsian M, Lam C, Hanai J, Mammoto T, Kim YM, et al. Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia. *Nat Med.* 2006;12(6):642-9.
86. George EM, Granger JP. Recent insights into the pathophysiology of preeclampsia. *Expert Rev Obstet Gynecol.* 2010;5(5):557-66.
87. Williams PJ, Broughton Pipkin F. The genetics of pre-eclampsia and other hypertensive disorders of pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2011;25(4):405-17.
88. Cincotta RB, Brennecke SP. Family history of pre-eclampsia as a predictor for pre-eclampsia in primigravidas. *Int J Gynaecol Obstet.* 1998;60(1):23-7.
89. Steegers EA, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2010;376(9741):631-44.
90. Sibai B, Dekker G, Kupferminc M. Pre-eclampsia. *The Lancet.* 2005;365(9461):785-99.
91. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *Bmj.* 2005;330(7491):565.
92. Salonen Ros H, Lichtenstein P, Lipworth L, Cnattingius S. Genetic effects on the liability of developing pre-eclampsia and gestational hypertension. *Am J Med Genet.* 2000;91(4):256-60.
93. Esplin MS, Fausett MB, Fraser A, Kerber R, Mineau G, Carrillo J, et al. Paternal and maternal components of the predisposition to preeclampsia. *N Engl J Med.* 2001;344(12):867-72.
94. Tuohy JF, James DK. Pre-eclampsia and trisomy 13. *Br J Obstet Gynaecol.* 1992;99(11):891-4.
95. Mütze S, Rudnik-Schöneborn S, Zerres K, Rath W. Genes and the preeclampsia syndrome. *J Perinat Med.* 2008;36(1):38-58.
96. Laivuori H, Lahermo P, Ollikainen V, Widen E, Häivä-Mällinen L, Sundström H, et al. Susceptibility loci for preeclampsia on chromosomes 2p25 and 9p13 in Finnish families. *Am J Hum Genet.* 2003;72(1):168-77.
97. Kramer MS, Kakuma R. Energy and protein intake in pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2003(4):Cd000032.
98. Villar J, Abdel-Aleem H, Merialdi M, Mathai M, Ali MM, Zavaleta N, et al. World Health Organization randomized trial of calcium supplementation among low calcium intake pregnant women. *Am J Obstet Gynecol.* 2006;194(3):639-49.
99. Pritchard JA, Cunningham FG, Pritchard SA. The Parkland Memorial Hospital protocol for treatment of eclampsia: evaluation of 245 cases. *Am J Obstet Gynecol.* 1984;148(7):951-63.
100. Melchiorre K, Sutherland GR, Liberati M, Thilaganathan B. Preeclampsia is associated with persistent postpartum cardiovascular impairment. *Hypertension.* 2011;58(4):709-15.
101. Khalil A, Akolekar R, Syngelaki A, Elkhoul M, Nicolaides KH. Maternal hemodynamics at 11-13 weeks' gestation and risk of pre-eclampsia. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2012;40(1):28-34.

102. Leduc L, Wheeler JM, Kirshon B, Mitchell P, Cotton DB. Coagulation profile in severe preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 1992;79(1):14-8.
103. Burrows RF, Hunter DJ, Andrew M, Kelton JG. A prospective study investigating the mechanism of thrombocytopenia in preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 1987;70(3 Pt 1):334-8.
104. Abildgaard U, Heimdal K. Pathogenesis of the syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelet count (HELLP): a review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013;166(2):117-23.
105. Kenny L, Baker PN. Maternal pathophysiology in pre-eclampsia. *Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 1999;13(1):59-75.
106. Barron WM, Heckerling P, Hibbard JU, Fisher S. Reducing unnecessary coagulation testing in hypertensive disorders of pregnancy. *Obstet Gynecol.* 1999;94(3):364-70.
107. Conrad KP, Davison JM. The renal circulation in normal pregnancy and preeclampsia: is there a place for relaxin? *Am J Physiol Renal Physiol.* 2014;306(10):F1121-35.
108. Hamilton P, Myers J, Gillham J, Ayers G, Brown N, Venning M. Urinary protein selectivity in nephrotic syndrome and pregnancy: resurrection of a biomarker when renal biopsy is contraindicated. *Clin Kidney J.* 2014;7(6):595-8.
109. Gant NF, Cunningham FG. Management of preeclampsia. *Semin Perinatol.* 1994;18(2):94-102.
110. Hennessy A, Makris A. Preeclamptic nephropathy. *Nephrology (Carlton).* 2011;16(2):134-43.
111. Carlson KL, Bader CL. Ruptured subcapsular liver hematoma in pregnancy: a case report of nonsurgical management. *Am J Obstet Gynecol.* 2004;190(2):558-60.
112. Fishel Bartal M, Sibai BM. Eclampsia in the 21st century. *Am J Obstet Gynecol.* 2022;226(2s):S1237-s53.
113. Xia Y, Zhou CC, Ramin SM, Kellems RE. Angiotensin receptors, autoimmunity, and preeclampsia. *J Immunol.* 2007;179(6):3391-5.
114. Borghi C, Esposti DD, Immordino V, Cassani A, Boschi S, Bovicelli L, et al. Relationship of systemic hemodynamics, left ventricular structure and function, and plasma natriuretic peptide concentrations during pregnancy complicated by preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(1):140-7.
115. Millman AL, Payne B, Qu Z, Joanne Douglas M, Hutcheon JA, Lee T, et al. Oxygen saturation as a predictor of adverse maternal outcomes in women with preeclampsia. *J Obstet Gynaecol Can.* 2011;33(7):705-14.
116. Poon LC, Kametas NA, Chelemen T, Leal A, Nicolaides KH. Maternal risk factors for hypertensive disorders in pregnancy: a multivariate approach. *J Hum Hypertens.* 2010;24(2):104-10.
117. Myatt L. The prediction of preeclampsia: the way forward. *Am J Obstet Gynecol.* 2022;226(2s):S1102-S7.e8.
118. Bramham K, Seed PT, Lightstone L, Nelson-Piercy C, Gill C, Webster P, et al. Diagnostic and predictive biomarkers for pre-eclampsia in patients with established hypertension and chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2016;89(4):874-85.
119. Cnossen JS, Morris RK, ter Riet G, Mol BW, van der Post JA, Coomarasamy A, et al. Use of uterine artery Doppler ultrasonography to predict pre-eclampsia and intrauterine growth restriction: a systematic review and bivariable meta-analysis. *Cmaj.* 2008;178(6):701-11.
120. Cnossen JS, Vollebregt KC, de Vrieze N, ter Riet G, Mol BW, Franx A, et al. Accuracy of mean arterial pressure and blood pressure measurements in predicting pre-eclampsia: systematic review and meta-analysis. *Bmj.* 2008;336(7653):1117-20.

121. Williams KP, Galerneau F. The role of serum uric acid as a prognostic indicator of the severity of maternal and fetal complications in hypertensive pregnancies. *J Obstet Gynaecol Can.* 2002;24(8):628-32.
122. Hawkins TL, Roberts JM, Mangos GJ, Davis GK, Roberts LM, Brown MA. Plasma uric acid remains a marker of poor outcome in hypertensive pregnancy: a retrospective cohort study. *Bjog.* 2012;119(4):484-92.
123. Ray J, Vasishta K, Kaur S, Majumdar S, Sawhney H. Calcium metabolism in pre-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet.* 1999;66(3):245-50.
124. Sert ZS. The role of serum netrin-1 level in the detection of early-onset preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2022;270:164-8.
125. İçen MS, Ağaayak E, Fındık FM, Yaman Tunç S, Kaplan İ, Tan İ, et al. Are serum Netrin-4 levels predictive of preeclampsia? *Ginekolo Pol.* 2020;91(12):733-9.
126. Wang Q, Zhu J, Zou L, Yang Y. Role of axonal guidance factor netrin-1 in human placental vascular growth. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci.* 2011;31(2):246-50.
127. von Hellens H, Keski-Nisula L, Sahlman H. Increased risk of preeclampsia after use of paracetamol during pregnancy - causal or coincidence? *BMC Pregnancy Childbirth.* 2021;21(1):24.
128. Mostello D, Jen Chang J, Allen J, Luehr L, Shyken J, Leet T. Recurrent preeclampsia: the effect of weight change between pregnancies. *Obstet Gynecol.* 2010;116(3):667-72.
129. Organization WH. WHO recommendations for prevention and treatment of pre-eclampsia and eclampsia. 2011.
130. ACOG Practice Bulletin No. 203: Chronic Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2019;133(1):e26-e50.
131. Members ATF, Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal.* 2013;34(28):2159-219.
132. WHO Recommendations for Prevention and Treatment of Pre-Eclampsia and Eclampsia. Geneva: World Health Organization; 2011.
133. Koopmans CM, Bijlenga D, Groen H, Vijgen SM, Aarnoudse JG, Bekedam DJ, et al. Induction of labour versus expectant monitoring for gestational hypertension or mild pre-eclampsia after 36 weeks' gestation (HYPITAT): a multicentre, open-label randomised controlled trial. *Lancet.* 2009;374(9694):979-88.
134. Barton JR, Stanziano GJ, Sibai BM. Monitored outpatient management of mild gestational hypertension remote from term. *Am J Obstet Gynecol.* 1994;170(3):765-9.
135. Hall DR, Odendaal HJ, Steyn DW, Grové D. Urinary protein excretion and expectant management of early onset, severe pre-eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet.* 2002;77(1):1-6.
136. Duley L, Meher S, Jones L. Drugs for treatment of very high blood pressure during pregnancy. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;2013(7):Cd001449.
137. Sibai BM. Chronic hypertension in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 2002;100(2):369-77.
138. Anthony J, Schoeman LK. Fluid management in pre-eclampsia. *Obstet Med.* 2013;6(3):100-4.
139. Altman D, Carroli G, Duley L, Farrell B, Moodley J, Neilson J, et al. Do women with pre-eclampsia, and their babies, benefit from magnesium sulphate? The Magpie Trial: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet.* 2002;359(9321):1877-90.
140. Sibai BM, Lipshitz J, Anderson GD, Dilts PV, Jr. Reassessment of intravenous MgSO₄ therapy in preeclampsia-eclampsia. *Obstet Gynecol.* 1981;57(2):199-202.

141. Lu JF, Nightingale CH. Magnesium sulfate in eclampsia and pre-eclampsia: pharmacokinetic principles. *Clin Pharmacokinet*. 2000;38(4):305-14.
142. Ishii N, Wadsworth WG, Stern BD, Culotti JG, Hedgecock EM. UNC-6, a laminin-related protein, guides cell and pioneer axon migrations in *C. elegans*. *Neuron*. 1992;9(5):873-81.
143. Nakashiba T, Ikeda T, Nishimura S, Tashiro K, Honjo T, Culotti JG, et al. Netrin-G1: a novel glycosyl phosphatidylinositol-linked mammalian netrin that is functionally divergent from classical netrins. *J Neurosci*. 2000;20(17):6540-50.
144. Rajasekharan S, Kennedy TE. The netrin protein family. *Genome Biol*. 2009;10(9):239.
145. Lai Wing Sun K, Correia JP, Kennedy TE. Netrins: versatile extracellular cues with diverse functions. *Development*. 2011;138(11):2153-69.
146. Barallobre MJ, Pascual M, Del Río JA, Soriano E. The Netrin family of guidance factors: emphasis on Netrin-1 signalling. *Brain Res Brain Res Rev*. 2005;49(1):22-47.
147. Görür A ÜA, Tamer L. Role of Netrin-1 in Cardiovascular Diseases. *Archives Medical Review Journal*. 2018.
148. Bouvrée K, Larrivée B, Lv X, Yuan L, DeLafarge B, Freitas C, et al. Netrin-1 inhibits sprouting angiogenesis in developing avian embryos. *Dev Biol*. 2008;318(1):172-83.
149. Fang X, Xu Y, Li K, Liu P, Zhang H, Jiang Y, et al. Exosomal lncRNA PCAT1 Promotes Tumor Circulating Cell-Mediated Colorectal Cancer Liver Metastasis by Regulating the Activity of the miR-329-3p/Netrin-1-CD146 Complex. *J Immunol Res*. 2022;2022:9916228.
150. Castets M, Coissieux MM, Delloye-Bourgeois C, Bernard L, Delcros JG, Bernet A, et al. Inhibition of endothelial cell apoptosis by netrin-1 during angiogenesis. *Dev Cell*. 2009;16(4):614-20.
151. Lu X, Le Noble F, Yuan L, Jiang Q, De Lafarge B, Sugiyama D, et al. The netrin receptor UNC5B mediates guidance events controlling morphogenesis of the vascular system. *Nature*. 2004;432(7014):179-86.
152. Dakouane-Giudicelli M, Alfaidy N, de Mazancourt P. Netrins and their roles in placental angiogenesis. *Biomed Res Int*. 2014;2014:901941.
153. Dakouane-Giudicelli M, Duboucher C, Fortemps J, Missey-Kolb H, Brulé D, Giudicelli Y, et al. Characterization and expression of netrin-1 and its receptors UNC5B and DCC in human placenta. *J Histochem Cytochem*. 2010;58(1):73-82.
154. Yang Y, Zou L, Xu KS. [Expression of netrin-1 in placenta from patients with pre-eclampsia and the relation to placental angiogenesis]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2006;41(9):597-600.
155. Nguyen A, Cai H. Netrin-1 induces angiogenesis via a DCC-dependent ERK1/2-eNOS feed-forward mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(17):6530-5.
156. Baker KA, Moore SW, Jarjour AA, Kennedy TE. When a diffusible axon guidance cue stops diffusing: roles for netrins in adhesion and morphogenesis. *Curr Opin Neurobiol*. 2006;16(5):529-34.
157. Xie H, Zou L, Zhu JW, Yang Y, Zhong SP, Wang QH. [In vivo and in vitro research study of the influence on placenta angiogenesis by gene silencing of netrin-1]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*. 2011;46(5):364-9.
158. Ranganathan PV, Jayakumar C, Mohamed R, Dong Z, Ramesh G. Netrin-1 regulates the inflammatory response of neutrophils and macrophages, and suppresses ischemic acute kidney injury by inhibiting COX-2-mediated PGE2 production. *Kidney Int*. 2013;83(6):1087-98.
159. Nacht M, St Martin TB, Byrne A, Klinger KW, Teicher BA, Madden SL, et al. Netrin-4 regulates angiogenic responses and tumor cell growth. *Exp Cell Res*. 2009;315(5):784-94.
160. Han Y, Shao Y, Liu T, Qu YL, Li W, Liu Z. Therapeutic effects of topical netrin-4 inhibits corneal neovascularization in alkali-burn rats. *PLoS One*. 2015;10(4):e0122951.

161. Zhang H, Vreeken D, Leuning DG, Bruikman CS, Junaid A, Stam W, et al. Netrin-4 expression by human endothelial cells inhibits endothelial inflammation and senescence. *Int J Biochem Cell Biol.* 2021;134:105960.
162. Ahmed A, Perkins J. Angiogenesis and intrauterine growth restriction. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology.* 2000;14(6):981-98.
163. Ma'ayeh M, Costantine MM. Prevention of preeclampsia. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2020;25(5):101123.
164. Rana S, Lemoine E, Granger JP, Karumanchi SA. Preeclampsia: Pathophysiology, Challenges, and Perspectives. *Circ Res.* 2019;124(7):1094-112.
165. Palei AC, Spradley FT, Warrington JP, George EM, Granger JP. Pathophysiology of hypertension in pre-eclampsia: a lesson in integrative physiology. *Acta physiologica.* 2013;208(3):224-33.
166. Sircar M, Thadhani R, Karumanchi SA. Pathogenesis of preeclampsia. *Current opinion in nephrology and hypertension.* 2015;24(2):131-8.
167. El-Sayed AA. Preeclampsia: A review of the pathogenesis and possible management strategies based on its pathophysiological derangements. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology.* 2017;56(5):593-8.
168. Mustafa R, Ahmed S, Gupta A, Venuto RC. A comprehensive review of hypertension in pregnancy. *Journal of pregnancy.* 2012;2012.
169. Spradley FT. Sympathetic nervous system control of vascular function and blood pressure during pregnancy and preeclampsia. *Journal of hypertension.* 2019;37(3):476.
170. Travaglino A, Raffone A, Saccone G, Migliorini S, Maruotti GM, Esposito G, et al. Placental morphology, apoptosis, angiogenesis and epithelial mechanisms in early-onset preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2019;234:200-6.
171. Hakim J, Senterman MK, Hakim AM. Preeclampsia is a biomarker for vascular disease in both mother and child: the need for a medical alert system. *Int J Pediatr.* 2013;2013:953150.
172. Dakouane-Giudicelli M, Duboucher C, Fortemps J, Salama S, Brulé A, Rozenberg P, et al. Identification and localization of netrin-4 and neogenin in human first trimester and term placenta. *Placenta.* 2012;33(9):677-81.
173. Xie H, Zou L, Zhu J, Yang Y. Effects of netrin-1 and netrin-1 knockdown on human umbilical vein endothelial cells and angiogenesis of rat placenta. *Placenta.* 2011;32(8):546-53.
174. Dakouane-Giudicelli M, Brouillet S, Traboulsi W, Torre A, Vallat G, Si Nacer S, et al. Inhibition of human placental endothelial cell proliferation and angiogenesis by netrin-4. *Placenta.* 2015;36(11):1260-5.
175. Lambert E, Coissieux MM, Laudet V, Mehlen P. Netrin-4 acts as a pro-angiogenic factor during zebrafish development. *J Biol Chem.* 2012;287(6):3987-99.
176. Larrivée B, Freitas C, Trombe M, Lv X, Delafarge B, Yuan L, et al. Activation of the UNC5B receptor by Netrin-1 inhibits sprouting angiogenesis. *Genes Dev.* 2007;21(19):2433-47.
177. Castets M, Mehlen P. Netrin-1 role in angiogenesis: to be or not to be a pro-angiogenic factor? *Cell Cycle.* 2010;9(8):1466-71.
178. Navankasattusas S, Whitehead KJ, Suli A, Sorensen LK, Lim AH, Zhao J, et al. The netrin receptor UNC5B promotes angiogenesis in specific vascular beds. *Development.* 2008;135(4):659-67.
179. Yaniv K, Isogai S, Castranova D, Dye L, Hitomi J, Weinstein BM. Live imaging of lymphatic development in the zebrafish. *Nat Med.* 2006;12(6):711-6.