



**T.C. SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
BAKIRKÖY DR. SADI KONUK SAĞLIK UYGULAMA VE
ARAŞTIRMA MERKEZİ**

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM KLİNİĞİ

İKİNCİ TRİMESTER MATERNAL ENDOTEL

HÜCRE SPESİFİK PROTEİN-1(ENDOKAN) DÜZEYİ VE

DOPPLER BULGULARININ PREEKLAMPSİ ERKEN

TANISINDAKİ YERİ

Dr. Rafıga Gasimova

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2019



**T.C. SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
BAKIRKÖY DR. SADI KONUK SAğLIK UYGULAMA VE
ARAşTIRMA MERKEZİ**

KADIN HASTALIKLARI VE DOğUM KLİNİğİ

İKİNCİ TRİMESTER MATERNAL ENDOTEL

**HÜCRE SPESİFİK PROTEİN-1(ENDOKAN) DÜZEYİ VE
DOPPLER BULGULARININ PREEKLAMPSİ ERKEN
TANISINDAKİ YERİ**

Dr. Rafiga Gasimova

**Tez Danışmanı
Op. Dr. İbrahim Karaca**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

İSTANBUL/2019

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimin sırasında bilgi ve deneyimlerini benden esirgemeyen Klinik Eğitim Sorumlumuz Sayın Hocam Doç. Dr. Levent Yaşar'a, her zaman desteğini gördüğüm, tezimin planlanması ve yürütülmesi sırasında özverisinden ve katkılarından dolayı Klinik İdari Sorumlumuz Sayın Hocam Doç. Dr. Murat Ekin'e teşekkürlerimi ve sonsuz saygılarımı sunarım. Bu süreçte desteğini ve katkısını esirgemeyen değerli Tez danışmanım Op. Dr. İbrahim Karaca'ya çok teşekkür ederim.

Eğitim sürecinde bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, her zaman desteklerini hissettiğim değerli uzmanlarımıza, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm asistan arkadaşlarıma, kliniğimizde uyum içinde çalıştığımız tüm ebe, hemşire, sekreter ve yardımcı sağlık personeline teşekkür ederim.

Hayatım boyunca beni destekleyen canım aileme;annem Solmaz'a ve abim Teyfik'e teşekkür ederim.

*Dr. Rafiga Gasimova
İstanbul, 2019*

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	ii
TABLO LİSTESİ.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	iv
ÖZET	v
ABSTRACT.....	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. PREEKLAMPSİ	2
2.2. PREEKLAMPSİ TANI KRİTERLERİ	3
3. YÖNTEM ve GEREÇ.....	7
4. BULGULAR.....	10
5. TARTIŞMA	14
6. KAYNAKLAR	17

TABLO LİSTESİ

Tablo1. Preeklampsi grubu ve sağlıklı gebelerin demografik, klinik ve laboratuvar verilerinin karşılaştırılması	10
Tablo 2. 24 Saatlik İdrardaki Protein düzeyi ile Endokan arasındaki korelasyonun incelenmesi.....	11
Tablo 3. Endokan ile 3. trimester sistolik kan basıncı arasındaki korelasyonun incelenmesi.....	11
Tablo 4.Endokan ile 3. trimester diastolik kan basıncı arasındaki korelasyonun incelenmesi.....	12
Tablo 5. Endokan ile Uterin PI arasındaki korelasyonun incelenmesi	12
Tablo 6. Uterin arterde Notch varlığı pozitif ve negatif olanlarda Endokan ortalamalarının karşılaştırılması.....	12
Tablo 7. Endokan düzeyinin preeklampsiyi öngörmeye tanısal değeri	13

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Endokan düzeyinin preeklampsiyi öngörmeye tanısal değeri 13



ÖZET

Amaç: Endotel Hücre Spesifik Protein-1(Endokan) endotel hücreleri tarafından eksprese edilen ve endotel disfonksiyonunu gösteren sistein bakımından zengin bir dermatan sülfat proteoglikandır. Bu çalışmadaki amacımız maternal - fetal mortalite ve morbiditenin önemli bir nedeni olan preeklampsinin tahmininde ikinci trimester maternal serum Endokan düzeyinin etkinliğini araştırmaktır.

Materyal ve Metod: Bu prospektif eşleştirilmiş vaka kontrol çalışması Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bakırköy Dr Sadi Konuk Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğine Kasım 2017 ile Ocak 2019 arasında gelen 20-24 hafta tekil gebelikler alınarak gerçekleştirildi. Gebelerin tamamından serum örneği alınarak -80°C de saklandı ve uterin arter doppler bakıldı. Gebeler doğuma kadar takip edildi. Preeklampsi gelişen hastalar yaş, vücut kitle indeksi ve gebelik haftalarına göre sağlıklı gebelerle eşleştirildi. Her iki grubun serum Endokan seviyeleri karşılaştırıldı.

Bulgular: Preeklampsi gelişen gebelerin(n:42 hasta) ikinci trimester serum Endokan düzeylerinin sağlıklı gebelerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu saptandı.(486.1 ± 160.6 pg/mL, 149.6 ± 43.9 pg/mL, AUC:0.998. %95 GA 0.993 – 1.003 p:0.001).Endokan seviyeleri doğum öncesi sistolik ve diyastolik arter basıncı ile yüksek korelasyon göstermekteydi (sırasıyla r:0.796,r:0,710 p:0.001). Serum Endokan düzeyi ile uterin arter notch pozitif ve negatif olan hastalarda fark saptamadık (p=0,4).

Sonuç: Sonuçlarımız ikinci trimesterde serum Endokan düzeyi ölçülmesinin klinisyenlere preeklampsiyi öngörmeye faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Mevcut bulguların daha büyük çalışmalarda da gösterilmesi halinde preeklampsi tanı-tedavi stratejilerinin belirlenmesinde serum endocan düzeylerinin önemli bir gösterge olarak tedaviye rehberlik etmesi muhtemeldir.

Anahtar kelimeler: Preeklampsi, Endotel Hücre Spesifik Protein-1(Endokan), İnflamasyon, biyobelirteç.

ABSTRACT

Objective: Endothelial Cell Specific Protein-1 (Endokan) is a cysteine-rich dermatan sulfate proteoglycan that is expressed by endothelial cells and exhibits endothelial dysfunction. The aim of this study is to research the efficacy of second trimester maternal serum endokan levels in the prediction of preeclampsia which is an important cause of maternal - fetal mortality and morbidity.

Material and Methods: This prospective case control and matched study was carried out by taking singleton 20-24 weeks pregnancies between November 2017 and January 2019 at Gynecology and Obstetrics Clinic of Bakirkoy Dr Sadi Konuk Training and Research Hospital, Health Sciences University. Serum samples were collected from all pregnant women and stored at -80°C and uterine artery doppler was measured. Patients included in this study were followed up until delivery. Preeclampsia patients were matched with healthy pregnant patient according to age, body mass index and gestational weeks. Serum Endokan levels of both groups were compared.

Results: In the second trimester serum Endokan levels of Preeclampsia patients (n: 42 patients) were significantly higher than those of the healthy patients. (486.1 ± 160.6 pg/mL, 149.6 ± 43.9 pg/mL, AUC:0.998. %95 GA 0.993 – 1.003 p:0.001). Endokan levels were highly correlated with prenatal systolic and diastolic arterial pressure (r: 0.796, r: 0.710 p: 0.001, respectively). We did not find any correlation between serum Endokan levels and uterine artery notch positive and negative patients (p = 0.4).

Conclusion: Our results suggest that measurement of serum Endokan level in the second trimester may be useful for practitioners in predicting of preeclampsia. If current findings are proven in larger studies, it is likely that serum Endokan levels could be important indicator in determining preeclampsia diagnosis-treatment strategies.

Key words: Preeclampsia, Endothelial Cell Specific Protein-1 (Endokan), Inflammation, biomarker.

1. GİRİŞ

Gebeliğin hipertansif hastalıkları, tüm gebeliklerin %8-15'i arasında gözlenir ve perinatal mortalitenin de en sık sebeplerinden birisidir (1). Preeklampsi; gebelikte gözlenen hipertansif hastalıkların başında gelir. Etyopatogenezinde hematolojik, genetik ve immünolojik etkenler dâhil olmak üzere pek çok faktör rol oynamaktadır. Preeklampsinin patofizyolojisi konusundaki birçok ilerlemeye ve araştırmalara rağmen, kesin patogenezi belirsizdir (2). Oksidatif stres, inflamasyon, plasenta anormal gelişimi ve endotel disfonksiyonunun hastalığın patogenezinde önemli faktörler olarak düşünülmektedir (2-5).

Gebelikte görülen hipertansiyonun nedenlerini açıklamaya ve bunların tedavilerini ortaya koymaya yönelik yapılan çalışmalarda ortak bir fikir birliğine varılamamıştır. Hastalığın erken teşhis edilmesi, yeni tanı seçenekleri keşfedilmesi ve oluşacak klinik bulguları düzeltmek avantaj sağlayacaktır.

İkinci trimester anormal uterin arter Doppler bulguları preeklampsiyi öngörmeye katkı sağlasada fizyolojik diastolik notch varlığı preeklampsi erken öngörü konusunda yeterince avantaj sağlamamaktadır (6). Preeklampsinin orijini plasenta gibi görünmesine rağmen, en çok etkilenen doku maternal endoteldir. Endotel Hücre Spesifik Protein-1(Endokan), endotel disfonksiyonu gösteren önemli bir biyobelirteçtir. Yapılan çalışmalarda preeklampsi gelişen gebelerde Endokan düzeyinin anlamlı olarak arttığı saptanmıştır. Ancak preeklampsinin klinik olarak saptanamadığı ikinci trimester gebelerde maternal serum Endokan seviyesinin preeklampsiyi öngörmedeki etkinliğini değerlendiren çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada maternal ve fetal mortalite ve morbiditenin önemli bir nedeni olan preeklampsinin öngörüsünde Endokan'ın etkinliğini araştırmayı amaçlamaktayız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. PREEKLAMPSİ

Preeklampsia gebeliğe özgü, endotel fonksiyon bozukluğu ve vazospazma sekonder, organ hipoperfüzyonu ile seyreden bir durumdur. 2013 yılından itibaren preeklampsia; Normotansif bir kadında, 20. haftadan sonra oluşan hipertansiyona (HT), ‘proteinüri veya end-organ hasarı’ nın eşlik etmesi olarak belirtilmiştir (7). Tansiyonun aşırı yüksekliği ve end-organ hasarının belirti ve bulgularının olması hastalığın şiddetli karakterini oluşturur (7).

Preeklampside kan basıncı yüksekliği, olguların erken ve en kesin bulgusudur. Working Group’a göre diyastolik kan basıncı sesin kaybolduğu değerdir (Korotkoff faz 5). Yanlış ölçümleri önlemek için uygun kaf kullanılmalıdır (üst kol çevresinin 1.5 katı büyüklüğünde kaf olmalıdır). Kan basıncı, hastanın en az 10 dakika dinlenmesinden sonra oturur pozisyonda ölçülmelidir. Kan basıncı ölçümünden 30 dakika öncesine kadar, sigara veya kahve içilmemiş olmalıdır (8). Chesley, proteinürinin preeklampsinin önemli bir bulgusu olduğunu açıklamıştır (9). Proteinüri glomerüler patolojinin göstergesidir. Proteinüri dipstik yöntemi veya sülfosalisilik asit ile tespit edilir. 24 saatlik idrarda 300 mg ve üstü protein saptanması, 6 saatlik veya daha fazla ara ile alınan en az 2 idrar örneğinde 1+’ den fazla proteinüri olması patolojik proteinüri tanısı için gereklidir (10).

Yapılan çalışmalarda dipstik ile tespit edilen protein düzeyi ve 24 saatlik idrardaki protein miktarı arasında zayıf bir korelasyon tespit edilmiştir. Bu yüzden 24 saatlik idrarda protein miktarı proteinüri için esas belirleyici yöntem olmalıdır (8). Ayrıca spontan bakılan idrarda protein/kreatinin oranının 0.3 ve üzerinde olması da proteinüri varlığını gösterir. Preeklampsia zaman zaman renal damarlardaki spazm ile karakterize bir durum olduğundan farklı idrar örneklerinde değişen miktarlarda proteinüri tespit edilebilir (11).

Ödem, serum kolloid onkotik basıncının azalması ve kapiller permeabilitenin artması dolayısıyla oluşur (12). Preeklampitik hastalarda, hem proteinüri hem de vasküler endotel hasarı ile geçirgenlik artışı ve ödem gelişir. Bazı çalışmalarda orta ve hafif derecede ödemin %80 oranında görüldüğünün gösterilmesi, ödemin tanıdaki

yerinin sorgulanmasına yol açmıştır (13). Ödem, birçok normal gebe kadında da görüldüğü için günümüzde tanısız kriter olmaktan çıkmıştır (12). 2013 yılında da proteinüri varlığı şiddetli/ağır preeklampsi kriteri olmaktan çıkarılmıştır (7).

2.2. PREEKLAMPSİ TANI KRİTERLERİ

Öncesinde normotansif seyreden >20 hafta gebelerde en az 4 saat arayla istirahat halindeyken yapılan iki ölçümde sistolik kan basıncının (SKB) ≥ 140 mmHg, diyastolik kan basıncının (DKB) ≥ 90 mmHg olarak ölçülmesi veya 20. gebelik haftasından sonra oluşan sistolik kan basıncının ≥ 160 mmHg ölçülmesi veya diastolik kan basıncının ≥ 110 mmHg ölçülmesi ve yakın zaman aralıklarıyla yapılan mükerrer ölçümde benzer düzeylerde tespit edilmesi ve 24 saatlik idrarda ≥ 0.3 g proteinüri veya protein / kreatinin oranının $\geq 0,3$ olması ya da rakamsal ölçüm imkanı yoksa kalitatif ölçüm olan Dipstick $\geq 1+$ protein saptanması veya;

- Yeni başlayan kan basıncı yüksekliği ve aşağıdaki durumlardan herhangi birinin yeni başlaması (proteinüri var veya yok)

- Platelet sayısı $< 100,000$ / mikro L
- Serum kreatinin $> 1,1$ mg/dL (97.2 mikromol / L) veya başka renal hastalık olmadan kreatinin konsantrasyonunun normalin 2 kat üstüne çıkması
- Karaciğer transaminaz (ALT-AST) düzeylerinin normal üst sınırının en az iki katına ulaşması
- Akciğer ödemi
- Serebral veya vizüel semptomlar (14) gibi bulgularından birinin eşlik etmesi.

Ağır Preeklampsi Tanı Kriterleri

- Gebe, yatak istirahati halindeyken en az 4 saat arayla iki ayrı ölçümde sistolik kan basıncının ≥ 160 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncının ≥ 110 mmHg olarak ölçülmesi ya da;
- Karaciğer fonksiyon bozukluğu, Karaciğer transaminaz düzeylerinin normal üst sınırının en az iki katı olması

- Progresif renal yetmezlik (Serum kreatinin >1.1 mg/dL (97.2 mikromol / L) veya başka renal patoloji olmaksızın kreatinin konsantrasyonunun ikiye katlanması) ya da;
- Platelet sayısı $<100,000$ / mikro L ya da;
- Pulmoner ödem ya da;
- Serebral veya vizüel semptomlar (14) bulgularından herhangi birinin olması, hastalığın şiddetli seyrettiğinin göstergesidir

Endotelyal Spesifik Molekül-1 (Endokan)

İlk olarak 1996 yılında tanımlanan Endokan (endothelial cell specific molecule 1), 5. kromozomun uzun kolunun (5q11.2) proksimal kısmında yer alan esm adlı tek bir genin ürünüdür (15). 2001 yılında Endokanın yapısı tek zincirli, 50 kDa ağırlığında dermatan sülfat proteoglikan olarak tanımlanmıştır. İlk olarak insan umbilikal ven endotelyal hücre kültürlerinde tespit edilen Endokan daha sonra dermal mikrovasküler endotel hücreleri, koroner ve pulmoner arterler, yağ dokusu kapillerleri gibi birçok insan endotel hücre kültüründe üretilmiştir. Son yapılan çalışmalarda endotelyal-mezenkimal oluşum sürecindeki arter duvar remodellinginde Endokan sentezi gösterilmiştir. Septik şok, akciğer, böbrek ve kolon kanseri varlığında plazma Endokan değerleri yükselmektedir.

Büyük oranda tümör endotelyal hücrelerine spesifik olduğu belirtilen Endokan sentezi, TNF α ve IL-1 β gibi proinflamatuvar moleküller tarafından arttırılır (16). Ayrıca sepsis patogeneğinde rol oynayan lipopolisakkarid (LPS) tarafından da sentezi uyarılır (17). Endokanın kan dolaşımında bulunması vasküler sağlamlığın göstergesi olarak kabul edilmiştir (18). 2008 yılında yayımlanan bir çalışmada, insan dermal lenfatik endotel hücrelerinde bulunan vasküler endotelyal growth faktör (VEGF)'ün Endokan genlerini uyarıcı güçlü uyarıcı olduğu gösterilmiştir (19)

Endokan'ın endotel hücrelerinin inflamasyonu, koagülasyona etkisi, anjiyogenezise tümör invazyonunda primer rol oynadığı gösterilmiştir. Bunu reseptör/ligand ilişkisini sağlayarak ve bazı değişik mediyatörlerin sentezinde rol oynayarak yapmaktadır. Endotel hücreleri “decorin”, “biglican”, PG-100, “glipican” ve sindekan ailesi üyesi bir çok hücre-hücre adezyon ve aktivasyonu sağlayan proteoglikan molekülü sentezler (20,21).

Proteoglikan molekülleri makromoleküllerdir. Polipeptid ve glikozaminoglikan zincirlerinin kovalent bağ ile bağlanmasından oluşurlar. Daha

önceden bir çok proteoglikan molekülü tanımlanmıştır. (heparin sülfat, dermatan sülfat gibi) Endokan endotel hücrelerinin yer aldığı patolojik olaylarda rol oynayan bir proteoglikandır. Serumda düzeyleri ölçülebilir. Sentezi TNF,IL-1 ve lipopolisakkaritler ile artarken, interferon gamma ile sentezi azalmaktadır. (22). Endocan CD11a/CD18 integrin (LFA-1) aracılı lökosit aktivleşmesinde başlıca rol oynar. İnflamatuar sitokinlerden TNF alfa ve proanjyogenik büyüme faktörlerinden VEGF ile FGF2 endotel hücrelerinden Endocan sentezini kuvvetle uyarılmaktadırlar (22). Hücre adezyonu, inflammatuar patolojiler ve tümör progresyonunda ana rolü üstlenmektedir. “ELISA” yöntemi ile bakılan serum düzeyi son dönem akciğer kanserli hastalarda yüksek bulunmuştur. Aynı hasta grubunda immunhistokimya ile tümör hücrelerinde aşırı sentezlendiği saptanmıştır (23).

Chen ve arkadaşları, Endokan mRNA düzeyleri ile intratümoral mikrodamar yoğunluğu, VEGF mRNA düzeyleri ile vasküler invazyon arasında ciddi bir korelasyon bulmuşlardır (24). Zahn ve arkadaşları Endokan düzeylerinin bazı sitokin ve VEGF tarafından düzenlendiğini göstermişlerdir (25). Endokan sentezinin neovaskülarize doku, endotel ve glandüler hücreler gibi aktif proliferen olan dokularda yüksek düzeyde olduğunu göstermişlerdir (25). Bu sebeble kanserlerde serum Endocan düzeyinin yüksek olması kötü prognoz göstergesi olarak bildirilmiştir. Endokan molekülünün ilk defa aterosklerotik süreçlerde rol oynayabileceği hipertansif hasta grubunda yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (25). Balta ve arkadaşları yeni teşhis konulmuş hipertansif hastalarda serum Endokan düzeyleri ile karotis intima media kalınlığı ve akım aracılı dilatasyon arasında yakın ilişki göstermişlerdir (25). Bir başka çalışmada ise kronik böbrek yetersizliği olan hastalarda iskemik kalp hastalığı ve buna bağlı mortalite ile serum Endokan düzeyleri arasında kuvvetli bir ilişki gösterilmiştir (26). Sonuç olarak, Endokan, inflammatuar hastalıklar, tümör progresyonu ve adezyonu, migrasyon ve anjiyogenez gibi endotel bağımlı patolojik yollarda rol oynar.

‘Endokan’ endotel hücre disfonksiyonunu gösteren yeni bir belirteç olarak kabul edilmektedir. Endotel disfonksiyonunun bulunduğu kardiyovasküler olaylardan malignitelere kadar her türlü patolojik olayda önemi bulunmaktadır (22). Daha önceki çalışmalarda Endokan molekülünün in vitro olarak vasküler düz kas hücre proliferasyon ve migrasyon ile neointima gelişiminde rol oynayabileceği deneysel

olarak gösterilmiştir. Vasküler endotelyal growth aktör-A (VEGF-A) ve VEGF-C anjiyogenezde rolü olan mediyatörler olup Endocan molekülünün sentezini arttırmaktadırlar. Endocan molekülü ile VEGF seviyelerinin aterosklerotik süreçlerde belirgin korelasyon gösterdiği bilinmektedir (23). Yapılmış olan çalışmalardan elde ettiğimiz bilgilere göre koroner kollateral dolaşım inflamasyon ile yakından ilişkilidir. Endocan molekülünün gerek inflamatuvar patolojiler gerekse anjiyogenezde üstlendiği rol itibari ile yukarıda tanımlanmış olan benzer fizyopatolojik mekanizmaların bulunduğu koroner kollateral dolaşımın gelişim sürecinde de Endocan molekülünün etkili olabileceğini düşündürmektedir.



3. YÖNTEM ve GEREÇ

Çalışma Kasım 2017 – Ocak 2019 yılları arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bakırköy Dr. Sadi Konuk Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniğinde etik kurul onayı alınarak yürütüldü. Çalışmaya bu süre içerisinde perinatoloji polikliniğimize ve gebe polikliniğimize başvuran 20-24 hafta arası tekil gebeler dahil edildi. Katılan gebelerin tamamına çalışma hakkında bilgi verilerek aydınlatılmış yazılı onam alındı. Çalışma koşulları açıklanan ve çalışmaya dahil olmayı kabul eden 817 olgunun bulguları kaydedildi. Çalışma prospektif eşleştirilmiş vaka kontrol çalışması olarak planlandı. Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri;

- Gebelik haftası 20 haftadan küçük, 24. haftadan büyük olanlar
- Preeklampsi öyküsü
- Çoğul gebelik
- Kromozomal veya konjenital fetal anomali
- Kronik hipertansiyon
- Maternal kalp hastalığı
- Tip 1 diabet
- Maternal renal hastalık varlığı olarak belirlendi.

Çalışmaya dahil edilen gebelerin gravidası, paritesi, yaşları, vücut kitle indeksi (VKİ), gebelik haftaları, son adet tarihlerini içeren demografik özellikleri kaydedildi. Gebelerin tamamına obstetrik ve uterin arter doppler ultrasonu ile (PI ve notch varlığı) deneyimli perinatoloji uzmanları tarafından Samsung HS70A-4D ve Voluson E6 makineleri vasıtasıyla değerlendirildi. Uterin arter Doppler incelemesi uterin arter - eksternal iliak arter çaprazlaşması distalindeki bir uterin arter trasesinden elde edilmiştir. Uterin arter pulsatilite indeksi ve notch varlığı/yokluğu kaydedilmiştir. Gebelerin tamamından hemogram ve biyokimya tetkiklerine ek olarak Endocan düzeyi için venöz 5cc daha kan alındı. Biyokimya tüpüne alınan kan 3000 xg de 10 dk santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri ependorf tüplere alınıp numaralandırıldıktan sonra çalışma gününde kullanılmak üzere -80°C ye kaldırıldı.

Hastaların hemoglobin düzeyi, trombosit sayısı, ortalama trombosit hacmi, açlık kan şekeri düzeyi, AST, ALT, ürikasit, kreatinin değerleri kaydedildi.

Hastalar doğuma kadar takip edildi ve her hastanın doğum şekli, bebek doğum ağırlığı, en yüksek sistolik ve diastolik arter basıncı kaydedildi. Toplam 51 hastada preeklampsi gelişti. Bu hastaların 9'u verilerinde eksiklik olması nedeniyle çalışmadan çıkarıldı. Toplamda 42 hasta preeklampsi grubumuzu oluşturmaktaydı. NHBPEP (the National High Blood Pressure Education Program) ve gebelikte yüksek kan basıncı çalışma grubu raporu kriterleri preeklampsi tanımı için kullanıldı. Kontrol grubumuz ise gebelik haftası, yaş \pm 1, VKİ \pm 1 olacak şekilde eşleştirilerek preeklampsi gelişmeyen hastalardan oluşturuldu.

Grupları oluşturan hastaların serumları çalışma gününde oda ısısına getirilerek donmuş halde olan örneklerinin erimesi sağlandı. Çalışmaya başlamadan önce örnekler ve kit oda ısısına getirildi. (HUMAN ESM-1 (Endothelial Cell SpecificMolecule 1) ELISA Kit (ElabscienceCo LTD, CatNum: E-EL-H1557)).6 adet standart; kitin içersinden çıkan stok standartın (1000 pg/ml)seri dilüsyonu ile elde edildi. Çalışılan kit için:sensivite: 9.38 pg/mL ,saptama aralığı: 15.63-1000 pg/mL. Antikor ile kaplı mikroplakkuyucuklarına hazırlanan standartlardan ve serum örneklerinden 100 'er µl eklendi. Mikroplak üzere kapatılarak 37 °C'de 90 dakika inkübe edildi. İnkübasyonun ardından kuyucuklardaki tüm sıvı uzaklaştırıldı ve yıkama yapmadan tüm kuyuculara Biotinylated Detection Ab working solution 100' er µl eklendi. Mikroplak üzere kapatılarak 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi. Mikroplak, kit içerisinde bulunan 30X'lik yıkama solüsyonu hazırlandıktan sonra, ELISA plak yıkayıcıda 350 µl de 5 kez yıkandı. Tüm kuyucuklara 100' er µl HRP Conjugate working solution pipetlendi. Mikroplak üzere kapatılarak 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Mikroplak, daha önceden hazırlanan yıkama solüsyonu ile ELISA plak yıkayıcıda 350 µl de 5 kez yıkandı. Yıkama işleminin ardından tüm kuyucuklara 90 µL of Substrate Reagent pipetlendi. Mikroplak üzere kapatılarak 37 °C'de 15 dakika karanlıkta inkübe edildi. Tüm kuyucuklara 50 µl Stop Solüsyon eklendi. Mikroplak 10 dakika içerisinde 450 nm absorbansda okundu.

İstatistik

İstatistiksel analizler SPSS 15.0 for Windows kullanılarak yapılmıştır. Tanımlayıcı ölçütler; ortalama ve yüzde dağılımı olarak sunulmuştur. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile kontrol edilmiştir. Gruplar arasındaki ortalama farklarının saptanması için student t-testi, yüzdelerarası farkları karşılaştırmak için Pearson Ki-Kare testi kullanılmıştır. Korelasyonu değerlendirmek için Pearson Korelasyon Analizi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi için $p < 0.05$ olarak alınmıştır. Araştırmanın post-hoc power analizi G*Power programında yapılmıştır. Etki büyüklüğü saptanan ortalama farkına göre 2.87 saptanmış olup alınan örnek büyüklüğü ile güç %90 'ın üzerinde hesaplanmıştır.



4. BULGULAR

Toplamda çalışma kriterlerini taşıyan 817 gebeden 51'inde preeklampsi gelişti. Hastaların 9'u verilerinde eksiklik olması nedeniyle çalışmadan çıkarıldı. 42 hasta preeklampsi grubumuzu oluşturmaktaydı. Kontrol grubu ise yaş, gebelik haftası ve vücut kitle indeksine göre eşleştirilerek oluşturuldu. Preeklampsi gelişen hastaların ortalama yaşı 31.6 ± 5.9 , ortalama VKİ'si 24.6 ± 3.2 idi.

Tablo1. Preeklampsi grubu ve sağlıklı gebelerin demografik, klinik ve laboratuvar verilerinin karşılaştırılması

	Sağlıklı Gebeler Ortalama \pm SS (n:42)	Preeklampsi Gelişen Gebeler Ortalama \pm SS (n:42)	p değeri
Yaş	31.6 ± 5.6	31.6 ± 5.9	0.97
İkinci trimester gebelik haftası	21 ± 1.2	21 ± 1.3	0,89
BMI	24.8 ± 2.9	24.6 ± 3.2	0.78
Uterin Arter PI	1.7 ± 0.5	1.9 ± 0.8	0.22
Hgb, mg/dl	11.6 ± 1.5	11.4 ± 1.8	0.66
AST	24.8 ± 7.3	24.6 ± 9.8	0.91
ALT	18.6 ± 8.5	17.3 ± 10.4	0.52
Urik Asit	3.1 ± 0.8	3.5 ± 1.0	0.06
Kreatinin	0.58 ± 0.15	0.55 ± 0.22	0.46
Açlık Kan Şekeri	78.5 ± 10.7	78.3 ± 14.2	0.92
MPV	11.3 ± 1.2	11.4 ± 1.1	0.92
PLT	229.195 ± 70.132	227.928 ± 70.069	0.93
İkinci trimester sistolik kan basıncı, mmHg	110.1 ± 7.7	109.1 ± 11.3	0.65
İkinci trimester diyastolik kan basıncı, mmHg	69.6 ± 9.2	70.3 ± 11.1	0.75
24 saatlik idrarda protein mg/dl	-	$777,26 \pm 313,22$	-
Bebek doğum ağırlığı,gr	3232.8 ± 410.7	2798.2 ± 591.8	0.001*
Doğumdaki gebelik haftası	38.3 ± 1.2	36.4 ± 2.4	0.001*
3.trimester sistolik kan basıncı,mmHg	117.5 ± 7.3	153.5 ± 12.8	0.001*
3.trimester diyastolik kan basıncı,mmHg	76.2 ± 4.7	99.5 ± 11.1	0.001*
Endokan ,pg/mL	149.6 ± 43.9	486.1 ± 160.6	0.001*

Yapılan istatistiksel analiz sonucunda preeklampsi gelişen gebelerde ortalama doğum haftası 36.4 ± 2.4 hafta, sağlıklı gebelerde ortalama doğum haftası 38.3 ± 1.2 dır ($p=0,001$). Preeklampsi gelişen hastaların bebek doğum ağırlıkları 2798.2 ± 591.8 gr, sağlıklı gebelerin ise 3232.8 ± 410.7 gr 'dır ($p=0,001$). Preeklampsi gelişen hastaların ortalama sistolik ve diastolik arter basınçları sırasıyla 153.5 ± 12.8 mmHg ve 99.5 ± 11.1 mmHg dır. Preeklampsinin bilinen maternal ve fetal etkilerini yansıtan sonuçlarımızın yanı sıra en önemli bulgumuz preeklampsi gelişen gebelerin ikinci trimester serum Endokan düzeylerinin sağlıklı gebelerden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek olduğu saptanmıştır (486.1 ± 160.6 pg/mL, 149.6 ± 43.9 pg/mL, $p=0,001$). Diğer laboratuvar parametreleri açısından ise iki grup arasında fark saptamadık.

Preeklampsi gelişen hastaların tamamından doğum öncesi 24 saatlik idrarda protein bakılmıştır.

Yirmidört saatlik idrardaki protein düzeyi ile Endokan düzeyi arasındaki ilişki pearson korelasyon analizi ile incelenmiş olup pozitif yönde, düşük düzeyde, istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir korelasyon saptanmıştır ($r:0.251$ $p:0.11$)

Tablo 2. 24 Saatlik İdrardaki Protein düzeyi ile Endokan arasındaki korelasyonun incelenmesi

	Korelasyon Katsayısı	p değeri
24 saatlik idrarda protein Endokan	0.251	0.11

Endokan düzeyi ile doğumda sistolik kan basıncı arasındaki ilişki pearson korelasyon analizi ile incelenmiş olup pozitif yönde yüksek düzeyde ve istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmıştır. ($r:0.796$ $p:0.001$)

Tablo 3. Endokan ile 3. trimester sistolik kan basıncı arasındaki korelasyonun incelenmesi

	Korelasyon Katsayısı	p değeri
Endokan Sistolik Kan Basıncı	0.796	0.001*

Endokan düzeyi ile doğumda diyastolik kan basıncı arasındaki ilişki pearson korelasyon analizi ile incelenmiş olup pozitif yönde yüksek düzeyde ve istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptanmıştır. (r:0.710 p:0.001)

Tablo 4.Endokan ile 3. trimester diyastolik kan basıncı arasındaki korelasyonun incelenmesi

	Korelasyon Katsayısı	p değeri
Endokan Diyastolik Kan Basıncı	0.710	0.001*

Endokan düzeyi ile ikinci trimester Uterin PI arasındaki ilişki pearson korelasyon analizi ile incelenmiş olup pozitif yönde düşük düzeyde ve istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir korelasyon saptanmıştır. (r:0.168 p:0.126)

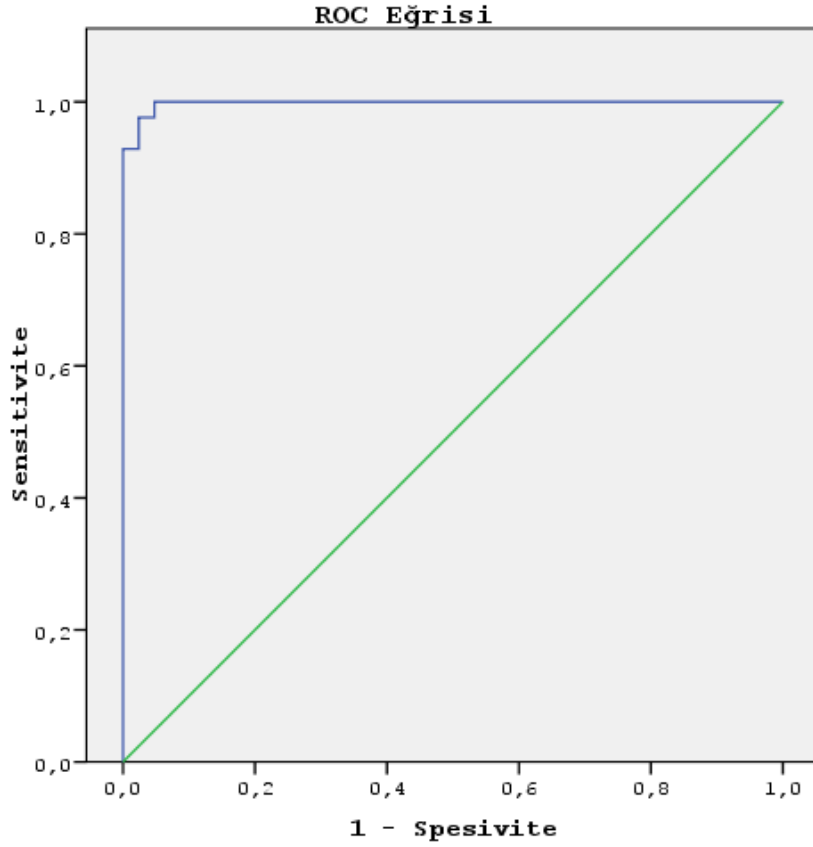
Tablo 5.Endokan ile Uterin PI arasındaki korelasyonun incelenmesi

	Korelasyon Katsayısı	p değeri
Endokan Uterin PI	0.168	0.126

Preeklampsi gelişen gebelerin yaklaşık %25 inde (n:10 hasta), sağlıklı gebelerin ise yaklaşık %4'ünde(n:4 hasta) ikinci trimesterde bakılan uterin arter doppler incelemesinde notch saptanmıştır. Uterin notch pozitif ve negatif olan hastalar Endokan düzeyleri açısından t testi ile karşılaştırılmış olup, notch pozitif olanlarda Endokan düzeyinin daha yüksek olduğu ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (p>0.05)

Tablo 6.Uterin arterde Notch varlığı pozitif ve negatif olanlarda Endokan ortalamalarının karşılaştırılması

	Uterin arter Notch – Ortalama ± SS(n:70)	Uterin Arter Notch + Ortalama ± SS(n:14)	p değeri
Endokan pg/ml	309.3 ± 212.1	360.3 ± 170.9	0.40



Şekil 1. Endokan düzeyinin preeklampsiyi öngörmeye tanısal değeri

ROC analizi ile yapılan değerlendirme sonucunda Endokan düzeyinin preeklampsiyi öngörmeye çok yüksek düzeyde tanısal değeri olduğu görülmüştür (AUC:0.998. %95GA 0.993 – 1.003 p:0.001). Bu değer için önerilen sınır değeri %100 duyarlılık ve %96 seçicilik düzeyi ile 239.1'dir.

Endokan değeri 239.1'in altında olan 40 hastanın hiçbirinde preeklampsi görülmezken, 239.1'in üstünde olan 44 hastanın 42'sinde (%95.5) preeklampsi görüldüğü ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (p<0.001).

Tablo 7. Endokan düzeyinin preeklampsiyi öngörmeye tanısal değeri

	Preeklampsi – n (%)	Preeklampsi + n (%)	p değeri
Endokan < 239.1 pg/ml	40 (100)	0 (0)	0.001*
Endokan > 239.1 pg/ml	2 (4.5)	42 (95.5)	

5. TARTIŞMA

Endocan vasküler endotel tarafından salgılanan çözünen bir proteoglikandır. Endokan, organ spesifik enflamasyona ve endotel bağımlı patolojik hastalıklara vasküler katkıda bulunup önemli bir rol oynar ve yeni endotel hücre disfonksiyonu biyobelirteç rolünü temsil edebilir (27).

Maternal serum Endokanın preeklampsi gelişen gebeler ve sağlıklı gebelerdeki seviyesini karşılaştıran kesitsel çalışmaların neredeyse tamamı Endokanı preeklampside yüksek saptamıştır. Bu çalışmaya başlamadan önceki hipotezimiz endotel hasarının göstergesi olan maternal serum Endokanın preeklampsi klinik bulguları başlamadan önce artacağı yönündeydi. Çalışmamız, hipotezimizi destekler nitelikte, ikinci trimester endokan düzeyinin preeklampsi gelişimini tahmin etmede yararlı bir biomarker olduğunu göstermiştir. Özellikle eşik değeri 239.1 pg/ml üzerinde preeklampsi için spesifite %96 'dır.

Endokan'ın preeklampsi ile ilişkisini gösteren ilk çalışma Adeloka H.ve arkadaşları tarafından 2014 kesitsel çalışmaydı (28). Bu çalışmada preeklampitik hastalarda plazma Endokan düzeyleri kontrol grubu gebelere göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ancak Endokan düzeyi ile preeklampsinin şiddeti arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı. 2015 de Çakmak ve arkadaşlarının yaptığı kesitsel çalışmada ise serum Endokan düzeyi Preeklampsinin şiddeti ile ilişkili bulunmuştur. Ayrıca, aynı çalışmada serum Endokan düzeylerinin; sistolik/ diastolik kan basınçları ve 24 saatlik idrarda protein miktarı ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştı (29). Çalışmamızda sistolik ve diastolik kan basıncı artışı ile endokan seviyesi arasında pozitif korelasyon saptadık. Çalışmamız; Çakmak M. ve arkadaşlarının çalışması ile karşılaştırıldığında: serum Endokan düzeyinin preeklampsi ile ilişkili bulunduğu fikrini paylaşmaktayız. Ancak Çakmak ve ark. aksine 24 saatlik idrarda protein düzeyi ile endokan değeri arasında ilişki saptamadık. ACOG tarafından 2013'te yayınlanan klavuzda proteinüri seviyesinin preeklampsinin şiddetini belirlemede bir faktör olmaktan çıkarılmış olması bulgularımızı desteklemektedir.

Çalışmamızın metodolojisine benzer şekilde serum Endokan düzeyini erken gebelik haftalarından itibaren ölçen Schuitemaker ve arkadaşlarının yaptığı prospektif vaka kontrol çalışmasında erken veya geç başlangıçlı olması fark etmeden preeklampsi gelişen hastalarda Endokan seviyesinin sağlıklı gebe grubuna göre yüksek olduğu tespit edilmiştir (30) . Bu çalışmada kontrol gebe grubunda ilk trimesterden doğuma kadar geçen sürede Endokan seviyelerinin düşük seyrettiği tespit edildi. Sonrasında preeklampsi gelişecek olan grupta ilk başta Endokan seviyesinin düşük olduğu, ardından hastalığın gelişme evresinde veya hemen öncesinde artmış olduğu görülmüştür. Ayrıca yine aynı çalışmada Endokan mRNA ve protein ekspresyonunun preeklampitik hastaların plasentalarında artmadığı saptanmıştır. Bu durum maternal endotelial hücrelerin Endokan'ın temel kaynağı olduğunu düşündürse, Chew ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada hipertansiyonu olan hastaların plasentasında Endokan salınımının normotansif hastalardan anlamlı olarak daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Postpartum numuneler incelendiğinde ise preeklampitik gebelerin Endokan seviyesinin gebe olmayan kadınlardaki seviyesine tekrar gerilediği görülmüştür (31).

İkinci trimesterdeki anormal uterin arter doppler bulgularının tespit edilmesi (yüksek pulsatilite indeksi ve / veya erken diyastolik çentik varlığı) preeklampsi gelişimi riskini altı kattan fazla arttırır (32). Preeklampsi öyküsü olan yüksek riskli hastalarda uterin arter doppler ultrasonu güçlü prediktif değere sahiptir, bu nedenle önceki gebeliğinde preeklampsi gelişen gebelerin takibi ve yönetimi açısından önemlidir. Erken diyastolik çentikle birlikte pulsatilite indeksi preeklampsiyi öngörmek için doppler ultrasonografinin en önemli parametresidir. Çalışmamıza preeklampsi gelişen gebelerin pulsatilite indeksi sağlıklı gebelerden yüksek olsada istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmamıştır. Bu durumun her iki gruptaki hasta sayısının sınırlı olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Güncel veriler preeklampsi hastalarının rutin taraması için doppler ultrasonografi kullanımını desteklemesede, biyobelirteçlerle birlikte oluşturulacak preeklampsi tahmin-risk modelinde önemli bir yere sahiptir (33). Son yıllarda, preeklampsiyi potansiyel belirteçlerle kombinasyon halinde tahmin etmek ve izlemek amaçlı çeşitli çok merkezli çalışmalar yapılmaktadır. Bu belirteçlerden bazıları şunlardır: Maternal cell free DNA, P-selektin, PAPP-A, Plasental Protein-13, Soluble Fms like tirozin kinaz-

1, Soluble Endoglin ve Plasental Büyüme Faktörü (PlGF) (34). Bulgularımız serum Endokan'ında preeklampsi tahmininde önemli bir biyobelirteç olacağı yönündedir.

Çalışmamızın bazı limitasyonları vardı. İlk olarak, bu çalışmamızda serum Endokan düzeyinin gebeliğin ilerleyen haftalarındaki değişimine bakmadığımız için, preeklampsinin teşhisi ile alakalı zamansal değişimler hakkında çıkarımlar yapamamaktayız. İkincisi, diğer enflamatuvar sitokinleri (IL-1b IL-6), pro-anjiyogenik büyüme faktörlerini (PlGF) ve antianjiyogenik biyobelirteçleri (Soluble Fms like tirozin kinaz-1, Soluble Endoglin) ölçmedik. Literatürdeki Endokanla ilişkili çalışmaların çoğu preeklampsi geliştikten sonra yapılan kesitsel vaka kontrol çalışmaları iken, çalışmamız ikinci trimesterdaki Endokan düzeyini ölçerek preeklampsi gelişimini tahmin etme konusunda yol gösterici olmuştur.

Sonuçlarımız ikinci trimesterde serum Endokan düzeyi ölçülmesinin klinisyenlere preeklampsiyi öngörmeye faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Mevcut bulguların daha büyük çalışmalarda da gösterilmesi halinde preeklampsi tanı-tedavi stratejilerinin belirlenmesinde serum Endokan düzeylerinin önemli bir gösterge olarak tedaviye rehberlik etmesi muhtemeldir.

6. KAYNAKLAR

1. Magee LA, Pels A, Helewa M, Rey E, Von Dadelszen P; Canadian Hypertensive Disorders of Pregnancy (HDP) Working Group. Diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy. *Pregnancy Hypertens* 2014. Available at: [http://www.pregnancyhypertension.org/article/S2210-7789\(14\)00004-X/fulltext](http://www.pregnancyhypertension.org/article/S2210-7789(14)00004-X/fulltext). Accessed on February 28, 2014.
2. American Congress of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) Task Force on Hypertension in Pregnancy, 2013.
3. Dekker GA, van Geijn HP. Hypertensive disease in pregnancy. *Curr Opin Obstet Gynecol* 1992; 4(1):10-27.
4. Şen C, Madazlı R, Ocak V. Gebelikte Hipertansiyon/Tanım ve Sınıflandırma. *Perinatoloji Dergisi* 1993; 1(1):7-10.
5. Friedman SA, Schiff E, Emeis JJ, Dekker GA, Sibai BM. Biochemical corroboration of endothelial involvement in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1995; 172(1, Part 1):202-203.
6. Papageorghio AT, Yu CHK, Bindra R, Pandis G, Nicholaides KH for fetal Medicine Foundation Second Trimester Screening Group. Multicenter screening for preeclampsia and fetal growth restriction by transvaginal uterine artery Doppler at 23 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol*; 18(5):441-449
7. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists Task Force on Hypertension in Pregnancy *Obstet Gynecol*. 2013; 122(5):1122.
8. Report of the National High Blood Pressure Education Program Working Group on High blood pressure in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*; 183:1-22, 2000.
9. Cunningham FG, Mac Donald PC, Gant NF, Leveno KJ, Gilstrap LJ, Hankins GDV, Clark SL. *Williams obstetrics*. 21th edition. Connecticut: McGrawHill; 2001. 567-609.
10. American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG), Practice Bulletin no. 33. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstet. Gynecol*. 2002; 99, 159.
11. Kaya E. Gebelik hipertansiyonu, preeklampsi ve eklampsi. *Nobel Kitabevi* 2001; 660-670.
12. Cunningham FG, Mac Donald PC, Gant NF, Leveno kKJ, Gilstrap LJ, Hankins GDV, Clark SL. *Williams Obstetrics*. 21th edition Connecticut, the McGraw- Hill 2001; p:174-178.
13. WHO/MCH/MSM: Detecting preeclampsia: a practical guide, Geneva, 1992 (3); p:33-35.
14. Hypertension in pregnancy. Report of the American College of Obstetricians and Gynecologists' Task Force on Hypertension in Pregnancy. American College of Obstetricians

- and Gynecologists, Task Force on Hypertension in Pregnancy *Obstet Gynecol* 2013 Nov; 122(5):1122-31.
15. Lassalle P, Molet S, Janin A, et al. ESM-1 is a novel human endothelial cell-specific molecule expressed in lung and regulated by cytokines. *J. Biol. Chem* 271: 20458- 20464, 1996.
 16. Bechard D, Scherpereel A, Hammad H, et al. Human endothelial-cell specific molecule-1 binds directly to the integrin CD11a/CD18 (LFA-1) and blocks binding to intercellular adhesion molecule-1. *J. Immunol* 167: 3099- 3106, 2001.
 17. Leroy X, Aubert S, Zini L et al. Vascular endocan (ESM-1) is markedly overexpressed in clear cell renal cell carcinoma. *Histopathol.* 56(2):180- 187, 2010.
 18. Grigoriu BD, Depontieu F, Scherpereel A et al. Endocan expression and relationship with survival in human non-small cell lung cancer. *Clin. Cancer Res.* 12(15):4575-4582, 2006.
 19. Shin JW, Huggenberger R and Detmar M. Transcriptional profiling of VEGF-A and VEGF-C target genes in lymphatic endothelium reveals endothelial- specific molecule-1 as a novel mediator of lymphangiogenesis. *Blood* 112(6):2318-2326, 2008.
 20. Waltenberger J, Claesson-Welsh L, Siegbahn A. Different signal transduction properties of KDR and Flt1, two receptors for vascular endothelial growth factor. *J Biol Chem.* 1994; 269:26988 –26995.
 21. Bechard D, Meignin V, Scherpereel A, et al. Characterization of the secreted form of endothelial-cell-specific molecule 1 by specific monoclonal antibodies. *J Vasc Res.* 2000;37(5): 417-425.
 22. Sarrazin S, Adam E, Lyon M, et al. endocan or endothelial cell specific molecule-1 (ESM-1): a potential novel endothelial cell marker and a new target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1765(1):25-37.
 23. Shin JW, Huggenberger R, Detmar M. Transcriptional profiling of VEGF-A and VEGF-C target genes in lymphatic endothelium reveals endothelial-specific molecule-1 as a novel mediator of lymphangiogenesis. *Blood.* 2008;112(6):2318- 2326.
 24. Zhang SM, Zuo L, Zhou Q, et al. Expression and distribution of endocan in human tissues. *Biotech Histochem.* 2012;87(3):172-178.
 25. Balta S, Mikhailidis DP, Demirkol S, et al. Endocan: a novel inflammatory indicator in newly diagnosed hypertensive patients? A pilot study. *Angiology* published online 8 January 2014 DOI: 10.1177/0003319713513492
 26. Yilmaz MI, Siriopol D, Saglam M, Kurt YG, Unal HU, Eyiletten T et al. Plasma endocan levels associate with inflammation, vascular abnormalities, cardiovascular events, and survival in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2014 Jul 2. doi: 10.1038/ki.2014.227.

27. Bechard D, Meignin V, Scherpereel A, Oudin S, Kervoaze G, Bertheau P, Janin A, Tonnel A, Lassalle P (2000) Characterization of the secreted form of endothelial-cell-specific molecule 1 by specific monoclonal antibodies. *J Vasc Res* 37(5):417–425.
28. Adekola H, Romero R, Chaemsaihong P, Korzeniewski SJ, Dong Z, Yeo L, Hassan SS, Chaiworapongsa T [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.
29. Cakmak M, Yilmaz H, Bağlar E, Darcin T, Inan O, Aktas A, Serum levels of endocan correlate with the presence and severity of preeclampsia. *Clin Exp Hypertens.* 2016;38(2):137-42.
30. Schuitemaker JHN, Cremers TIFH, Van Pampus MG, Scherjon SA, Faas MM. [Changes in endothelial cell specific molecule plasma levels during preeclamptic pregnancies compared to healthy pregnancies.](#) *Pregnancy Hypertens.* 2018 Apr;12:58-64.
31. Chew BS, Ghazali R, Othman H, Ismail NAM, Othman AS, Laim NMST, Wong YP, Tan GC. [Endocan expression in placenta of women with hypertension.](#) *J Obstet Gynaecol Res.* 2019 Feb;45(2):345-351.
32. Chien PF, Arnott N, Gordon A, Owen P, Khan KS: How useful is uterine artery Doppler flow velocimetry in the prediction of pre-eclampsia, intrauterine growth retardation and perinatal death? An overview. *BJOG* 2000, 107:196-208.
33. Barton JR, Sibai BM: Prediction and prevention of recurrent preeclampsia. *Obstet Gynecol* 2008, 112:359-372.
34. Simon Grill, Corinne Rusterholz, Rosanna Zanetti-Dällenbach .Potential markers of preeclampsia – a review. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2009, 7:70 doi:10.1186/1477-7827-7-70