

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SURAMİN İLE SIÇANDA OLUŞTURULAN PREEKLAMPSİ-
BENZERİ SENDROMDAKİ DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE
NEBİVOLOLÜN ETKİLERİ**

Dr. Sebile GÜLER

Farmakoloji Programı
DOKTORA TEZİ

ANKARA

2011

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SURAMİN İLE SIÇANDA OLUŞTURULAN PREEKLAMPSİ-
BENZERİ SENDROMDAKİ DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE
NEBİVOLOLÜN ETKİLERİ**

Dr. Sebile GÜLER

Farmakoloji Programı

DOKTORA TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. E. Rüştü ONUR

ANKARA

2011

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından Farmakoloji Programında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Başkanı

ve Danışman: Prof. Dr. E. Rüştü ONUR
Hacettepe Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Mehmet MELLİ
Ankara Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. İnci ERDEMLİ
Hacettepe Üniversitesi



Üye: Prof. Dr. Alper B. İSKİT
Hacettepe Üniversitesi



Üye: Yrd. Doç. Dr. A. Mert ERTUNÇ
Hacettepe Üniversitesi



ONAY:

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Hakan S. ORER

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Prof. Dr. E. Rüştü ONUR'a danışmanım olarak bu çalışmanın her aşamasında getirdiği öneriler ve yaptığı katkılar için teşekkür ederim.

Doktora öğrenimim süresince çok değerli bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, hiçbir zaman yardımlarını ve her türlü konuda desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Meral TUNCER'e tezimin gerçekleşmesi için gösterdiği çabaları ve eksilmeyen ilgisi için teşekkür ederim.

Yrd. Doç. Dr. Güray SOYDAN'a yardımcı danışmanım olarak tez çalışmalarında her aşamada yaptığı katkılar için çok teşekkür ederim.

Bu bölümde geçirdiğim süre boyunca hiçbir zaman yardımlarını esirgemeyen, çok iyi bir çalışma arkadaşı olup bana ağabeylik yapan Dr. Edip Güvenç ÇEKİÇ'e teşekkür ederim.

Elektron mikroskopisi incelemelerindeki özverili katkıları için Prof. Dr. F. Mustafa SARGON'a ve histopatolojik incelemelerindeki katkıları için Yrd. Doç. E. Arzu SAĞLAM AYHAN ve Prof. Dr. Dilek B. ERTOK'a çok teşekkür ederim.

Farmakoloji Ab.D.'nin tüm öğretim üyeleri, araştırma görevlileri ve yardımcı personeline verdikleri destek ve yaptıkları yardımlar için teşekkür ederim.

Prof. Dr. Yahya LALELİ'ye lise yıllarımdan beri eğitim sürecinde verdiği değerli tavsiyeleri ve çalışmadaki maddi desteği için teşekkür ederim.

Dr. Erdiñ ÇEKİÇ'e bu süreçte her zaman bana destek olduğu için teşekkür ederim.

Son olarak desteklerini esirgemeyen aileme ve her türlü nazımı çekip bana ailemi aratmayan başta Tuğba ADALI ve Dr. Diler TAŞ KILIÇ olmak üzere tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenmiştir (010 D02 108 001 ve 011 T04 101 001).

Yazar TÜBİTAK Doğrudan Yurt İçi Doktora Burs Programı çerçevesinde Ocak 2010 tarihinden itibaren desteklenmektedir.

ÖZET

Güler, S. Suramin ile sıçanda oluşturulan preeklampsi-benzeri sendromdaki değişiklikler üzerine nebivololün etkileri. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Programı Doktora Tezi, Ankara, 2011. Suramin, gebe sıçanlarda anjiyojenezi inhibe ederek, plasental yetmezliğe neden olan defektif plasenta oluşumuna yol açmaktadır. Bu çalışmada sıçanlarda suramin ile oluşturulan preeklampsi-benzeri sendromda, uterus arterinin kontraktıl yanıtlarında meydana gelen olası değişiklikler ve preeklampsinin neden olduğu fonksiyonel ve yapısal değişiklikler değerlendirildi ve bu değişiklikler üzerine bir β -blokör ilaç olan nebivolol tedavisinin etkileri incelendi. Bu amaçla gebeliğin 10. ve 11. günlerinde suramin (100 mg/kg, intraperitoneal) enjeksiyonu yapıldı. Sıçanların kan basınçları günlük olarak takip edildi. Gebelik yirminci günde sonlandırılarak hayvanların plasenta, fetüs, idrar, böbrek ve uterus arterleri incelendi. Suramin verilen sıçanların kan basıncında artma ve idrarlarında proteinüri saptandı. Plasenta ve fetüs sayı ve ağırlıkları azaldı ve böbreklerinde akut tübüler nekroz gelişti. Uterus arterlerinde KCl kontraksiyonları değişmedi, fenilefrin, anjiyotensin II, endotelin-1 ve prostaglandin $F_{2\alpha}$ ile olan kasılmaların amplitüdleri arttı ve asetilkolin gevşemeleri azaldı. Nebivolol (1 mg/kg, subkütan, 10 gün) tedavisi kan basıncı ve idrarda protein düzeylerini azalttı, böbreklerde gelişen akut tübüler nekrozu kısmi olarak iyileştirdi, fetüs ve plasenta sayılarını ve ağırlıklarını artırdı. Uterus arterinde meydana gelen endotel disfonksiyonunu düzeltti. Suramin etkisiyle gelişen endotel disfonksiyonunun nitrik oksit (NO) aracılı olduğu düşünüldü. Bu bulgular direkt NO salıverici etkisi bulunan nebivololün bu özelliği ile endotel disfonksiyonunu düzelttiğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Suramin, sıçan, preeklampsi, uterus arteri, nebivolol

Çalışma Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından desteklenmiştir (010 D02 108 001 ve 011 T04 101 001).

ABSTRACT

Güler, S. The effects of nebivolol on the changes in suramin-induced preeclampsia-like syndrome in rats. Hacettepe University Institute of Health Sciences PhD Thesis in Pharmacology, Ankara, 2011. Suramin, by inhibiting angiogenesis in pregnant rats, causes defective placentation which induces placental deficiency. It has been aimed to investigate the effects of nebivolol, which is a β -blocker drug, on suramin-induced preeclampsia-like syndrome in rats. For this purpose, suramin (100 mg/kg, intraperitoneal) was injected on 10th and 11th days of pregnancy. Blood pressures of rats were observed daily. Pregnancies were terminated on the 20th day. Fetuses, placentae, kidneys, urine and functional contractile responses of uterine arteries were investigated. Increased blood pressures and proteinuria were detected in suramin-treated rats. Numbers and weights of fetuses and placentae were reduced. Acute tubular necrosis was detected. Contractile responses to phenylephrine, angiotensin II, prostaglandin F_{2 α} and endothelin-1 were increased, while KCl-induced responses were not altered. Acetylcholine-induced relaxations were inhibited. Nebivolol treatment (1 mg/kg, subcutaneously 10 days) reduced the increased blood pressures and proteinuria, partially improved acute tubular necrosis in the kidneys, increased numbers and weights of fetuses and placentae. Nebivolol restored endothelial dysfunction in uterine artery. In preeclampsia-like syndrome induced by suramin, nitric oxide (NO) appears to have a significant role in the pathogenesis of endothelial dysfunction in uterine arteries. These findings suggest that nebivolol restores suramin-induced alterations in this model by its NO producing effect.

Key Words: Suramin, rat, preeclampsia, uterine artery, nebivolol

This study was supported by Hacettepe University Scientific Research Unit (010 D02 108 001 and 011 T04 101 001).

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER	xi
TABLolar	xiv
1. GİRİŞ	1
1.1.Hipotez	2
1.2. Amaç	2
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Preeklampsi tanımı ve etyolojisi	3
2.2 Preeklampsi patogenezi	4
2.2.1. Yetersiz plasenta oluşumu	4
2.2.2. Endotel disfonksiyonu	5
2.2.3. Anjiyojenik faktörler	8
2.2.4 Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS) Aktivasyonu	8
2.2.5. Sistemik İnflamasyon	9
2.3. Preeklampsi modelleri	10
2.4.1. Suramin ile Uyarılan Preeklampsi-Benzeri Sendrom	11
2.4. Nebivolol ve Gebelikte Kullanımı	12
3. GEREÇ VE YÖNTEM	15
3.1. Genel Protokol	15
3.2. Gruplar	15

3.3. Sıçanlarda Gebelik Tayini	16
3.4. Sıçanlarda ağırlık takibi	17
3.5. Sistolik Kan Basıncı Ölçülmesi	17
3.6. Gebeliğin Sonlandırılması ve Preeklampsi ile İlgili Parametrelerin Değerlendirilmesi	18
3.7. Uterus Arterinde Fonksiyonel Çalışmalar	19
3.8. Böbreklerin Patolojik Olarak İncelenmesi	20
3.9. Elektron Mikroskopisi	21
3.10. Kullanılan İlaçlar	22
3.11. Verilerin Analizi	22
4. BULGULAR	24
4.1 Suramin ile Preeklampsi-Benzeri Sendrom Oluşumunun Gösterilmesi	24
4.1.1. Suramin Verilen Sıçanlarda Gebelik Sırasında Gözlenen Fizyolojik Değişiklikler	24
4.1.2. Suramin Verilen Sıçanlarda Histopatolojik Değişiklikler	29
4.1.3. Suramin Verilen Sıçanlarda İzole Uterus Arterindeki Fonksiyonel Değişiklikler	29
4.2 Suraminin Oluşturduğu Preeklampsi-Benzeri Sendromda Oluşan Değişiklikler Üzerine Nebivololün Etkileri	40
4.2.1. Nebivololün Preeklampsi-Benzeri Sendromda Gözlenen Fizyolojik Değişiklikler Üzerine Etkileri	40
4.2.2. Nebivololün Preeklampsi-Benzeri Sendromda Histopatolojik Değişiklikler Üzerine Etkileri	48
4.2.3. Nebivololün Preeklampsi-Benzeri Sendromda İzole Uterus Arterindeki Fonksiyonel Değişiklikler Üzerine Etkileri	53
5. TARTIŞMA	64
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	72
7. KAYNAKLAR	73
EKLER	

- EK 1 Çalışmanın Deney Hayvanları Etik Kurul Onayı
- EK 2 Bu konu hakkında yayınlamış bildiriler
- EK 3 Dr. Sebile GÜLER'in diğer bildiri ve yayınları

SİMGE VE KISALTMALAR

5-HT	Serotonin
ACh	Asetilkolin
ATN	Akut Tübüler Nekroz
AT-II	Anjiyotensin II
AT ₁ -AA	Anjiyotensin-1 reseptörü otoantikoru
AT ₁ R	Anjiyotensin-1 reseptörü
AT ₂ R	Anjiyotensin-2 reseptörü
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
EDHF	Endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör
ET-1	Endotelin-1
EVT	Endovasküler sitotrofoblast
FE	Fenilefrin
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
IL-6	İnterlökin-6
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
PIGF	Plasental büyüme faktörü
PGI ₂	Prostasiklin
PGF _{2α}	Prostaglandin F _{2α}
sFlt-1	Çözünür Fms benzeri tirozin kinaz
sEng	Çözünür endoglin
TNF-α	Tümör nekrozis faktör-α
TXA ₂	Tromboksan A ₂
VCAM-1	Vasküler hücre adezyon molekülü-1
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü

ŞEKİLLER

3.1.	Işık mikroskopunda incelenen vajinal yaymada x100'lük büyütmede görülen sıçan spermatozoaları	17
3.2.	Kuyruk ısıtıcıyla kuyrukları ısıtılan kısıtlayıcı içindeki sıçanlar	18
4.1.	Suramin verilen (SG) ve kontrol (KG) gebe sıçanlarda gebelik süresi boyunca sistolik kan basıncında meydana gelen değişiklikler	25
4.2.	Suramin verilen (S) ve kontrol (K) gebe olmayan sıçanlarda 20 gün boyunca sistolik kan basıncında meydana gelen değişiklikler	26
4.3.	Kontrol (KG) ve suramin verilen (SG) gebe sıçanlarda idrarda protein düzeyleri	27
4.4.	Kontrol ve suramin verilen gebe ve gebe olmayan sıçanların hemotoksilen/eozin boyası ile boyanmış böbrek kesitlerinin mikroskopik görüntüleri	28
4.5.	Sıçanların izole uterus arter segmentlerinde 100 mM KCl uygulanması sonrasında elde edilen kasılma yanıtları	30
4.6.	Kontrol (KG) ve suramin verilen (SG) gebe sıçanlarda izole uterus arterinde artan konsantrasyonlarda fenilefrin (FE) kasılmaları	31
4.7.	Kontrol (KG) ve suramin verilen (SG) gebe sıçanlarda izole uterus arterinde serotonin (5-HT) kasılmaları	32
4.8.	Kontrol (KG) ve suramin verilen (SG) gebe sıçanlarda izole uterus arterinde endotelin-1 (ET-1) kasılmaları	34
4.9.	Kontrol (KG) ve suramin verilen (SG) gebe sıçanlarda	

	izole uterus arterinde	
	prostaglandin- $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) kasılmaları	35
4.10.	Kontrol ve suramin verilen gebe olmayan (A) ve gebe (B) sıçanların izole uterus arterinde asetilkolin (ACh) gevşemeleri	37
4.11.	Kontrol ve suramin verilen gebe ve gebe olmayan sıçanların izole uterus arterinde sodyum nitroprusiyat (SNP) gevşemeleri	38
4.12.	Kontrol (KG) ve suramin verilen (SG) gebe sıçanlarda izole uterus arterinde L-NAME (10^{-4} M) varlığında alınan asetilkolin (ACh) gevşemeleri	39
4.13.	Nebivololün gebelikte meydana gelen ağırlık değişimleri üzerine etkisi	41
4.14.	Nebivololün gebe sıçanlarda gebelik süresi boyunca sistolik kan basıncında meydana gelen değişiklikler üzerine etkisi	42
4.15.	Nebivololün idrarda protein düzeylerine etkisi	43
4.16.	Nebivololün gebelik başına düşen ortalama plasenta ağırlıkları üzerine etkisi	45
4.17.	Nebivololün doğum başına düşen ortalama fetüs ağırlıkları üzerine etkileri	46
4.18.	Nebivololün doğum başına düşen ortalama fetüs sayısı üzerine etkileri	47
4.19.	Nebivololün standardize böbrek oranı üzerine etkisi	48
4.20.	Sıçanların böbreklerinden hazırlanan kesitlerin ışık	

	mikrosobunda görülen tübüler hasar ve semi-kantitatif değerlendirilmesi için yapılan skarlama örneği	49
4.21.	Sıçan böbrek dokusunda mikroskobik açıdan semi-kantitatif skorlanarak elde edilen tübüler hasar üzerine preeklampsi-benzeri sendromun ve bu sendromda kronik nebivolol tedavisinin etkileri	50
4.22.	Uterus arterinin transmisyon elektron mikroskobisi ile ultrastrüktürel incelenmesi	52
4.23.	İzole uterus arterinde 100 mM KCl yanıtları	53
4.24.	Nebivololün izole uterus arterinin artan fenilefrin (FE) konsantrasyonlarında oluşan yanıtlar üzerine etkileri	54
4.25.	Nebivololün izole uterus arterinin artan anjiyotensin II (ATII) konsantrasyonlarında oluşan yanıtlar üzerine etkileri	56
4.26.	Nebivololün izole uterus arterinin artan endotelin-1 (ET-1) konsantrasyonlarında oluşan yanıtlar üzerine etkileri	59
4.27.	Nebivololün izole uterus arterinin artan prostaglandin $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) konsantrasyonlarında oluşan yanıtlar üzerine etkileri	60
4.28.	Nebivololün izole uterus arterinde endotel-bağımlı asetilkolin (ACh) gevşemeleri üzerine etkileri	62
4.29.	Nebivololün izole uterus arterinde L-NG-Nitroarjinin metil ester (L-NAME, 10^{-4} M) varlığında endotel-bağımlı asetilkolin (ACh) gevşemeleri üzerine etkileri	63

TABLOLAR

4.1.	Kontrol ve suramin verilen gebe ve gebe olmayan sıçanlarda 20 gün içinde oluşan ağırlık değişimi	24
4.2.	Kontrol ve suramin verilen gebe sıçanlarda doğum başına düşen ortalama fetüs sayısı ile fetüs ve plasenta ağırlıkları	27
4.3.	Kontrol gebe ve suramin verilen gebe sıçanların izole uterus arterinde bazı kasıcı ajanların hesaplanan pD_2 ve E_{maks} değerleri	33
4.4.	Kontrol gebe ve suramin verilen gebe sıçanların izole uterus arterinde asetilkolin ve sodyum nitroprusiyat için hesaplanan pD_2 ve E_{maks} değerleri	36
4.5.	Nebivololün gebe sıçanlarda gebelik süresince oluşan ağırlık değişimi üzerine etkisi	40
4.6.	Nebivololün gebe sıçanlarda doğum başına düşen ortalama fetüs sayısı ile fetüs ve plasenta ağırlıkları üzerine etkileri	43
4.7.	Nebivololün izole uterus arterlerinde çeşitli kasıcı ajanların pD_2 ve E_{maks} değerleri	57
4.8.	Nebivololün gebe sıçanların izole uterus arterinde asetilkolin ve sodyum nitroprusiyat için hesaplanan pD_2 ve E_{maks} değerlerine etkileri	61

1. GİRİŞ

Preeklampsia gebelik dönemine özgü hipertansiyon, proteinüri, plasental yetmezlik ve fetüste gelişme geriliği ile seyreden bir hastalıktır. Hastalığın sıklığı son 15 yılda Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde her 1000 doğumda 10-15 kat artmıştır ve dünya genelinde perinatal morbidite ve mortaliteye en sık yol açan hastalık olmuştur [1, 2]. Yapılan araştırmalarda hastalıkla ilgili anormal trofoblast invazyonu [3], yaygın vazospazm varlığı [4], endotel hücre hasarı [5], anjiyotensin II ve diğer vazokonstriktörlere karşı artmış pressör cevap varlığı [5], gevşetici rolü olan prostaglandinlerin azalıp kasıcı rolü olanların artması [6], damar gevşetici özelliği olan ve endoteli koruyan nitrik oksit (NO) sentezinin azalması [7, 8], endotelin-1 (ET-1) seviyelerinin artması [9], anjiyojenik faktörlerin fonksiyonunu azaltan maddelerin artmasına bağlı olarak plasentada yeni damar oluşumunun (anjiyojenez) azalması gösterilmiştir [10]. Preeklampsia ancak doğum ile sonlandırılmaktadır. Ancak preeklampside seyreden yüksek kan basıncının azaltılması için antihipertansif tedavi uygulanmaktadır. Bunun için α -metil dopa, β -blokörler (labetolol ve atenolol), kalsiyum kanal blokörleri (nifedipin ve isradipin) ve şiddetli hipertansiyonda hidralazin kullanılmaktadır [11].

Hipokrat'tan bu yana bilinen preeklampsinin üzerinde çok çalışılmasına rağmen patogenezi henüz açıklanamamıştır. Preeklampsia hakkında edinilen bilgiler hastalardan alınan serum örneklerinin incelenmesi ve doğum sonrası alınan plasentaların ve uterus biyopsilerinin incelenmesiyle oluşmuştur. Patogenezi ve tedaviyi aydınlatmak için deney hayvanlarında preeklampsia modeli oluşturulmaya çalışılmaktadır. Bu amaçla kullanılan maddelerden biri suramindir. Suramin, vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), plasental büyüme faktörü (PIGF) ve fibroblast büyüme faktörünü (FGF) inhibe ederek etki göstermektedir [12]. Böylece gebe sıçanlarda, plasentada artmış olan büyüme faktörlerini inhibe ederek anjiyojenezi ve plasantasyonu engeller [13]. Yetersiz plasantasyon sonucunda açığa çıkan birtakım mediyatörler plasental iskemi [13] ve neticesinde endotelyal disfonksiyona [14] neden olmaktadır. Suramin ile sıçanlarda oluşturulan

preeklampsi-benzeri sendromda, gebeliğin 20. gününde, kan basıncında yükselme, proteinüri, plasental ve renal perfüzyonda azalma, serum ET-1 seviyelerinde artma saptanmıştır [13, 14]. Ayrıca preeklampsi-benzeri sendromlu sıçanlardan doğan canlı yavru sıçan sayısı ve yavru sıçanların ağırlığı kontrole göre belirgin derecede azalmış, plasenta ağırlıkları düşük bulunmuştur. İncelenen plasentalarda fetal ve maternal gaz ve metabolit alışverişinin olduğu mezometrial üçgen denilen bölgenin alanının azaldığı ve bu bölgede damar oluşumunun kontrole göre azalmış olduğu gösterilmiştir [15].

Günümüzde hipertansiyon ve sol ventriküler yetmezliği tedavisinde kullanılan nebivolol; lipofilik, intrinsik semptomimetik aktivitesi olmayan, üçüncü jenerasyon bir β -blokör olup β_1 reseptörlere yüksek afiniteye sahip bir ilaçtır. İskemi-reperfüzyon modellerinde yapılan çalışmalarda kullanılan nebivololün endotel disfonksiyonunu azalttığı gösterilmiştir [16, 17]. Aynı zamanda NO üzerinden damar gevşetici özelliği bulunan nebivololün [18], preeklampsi modelinde sıçan aortasında gösterilen [14] ancak uterus arterinde ilk kez bu çalışmada incelenecek olan endotel disfonksiyonu üzerine olan olumlu etkilerinin hastalık için yeni bir tedavi olasılığı oluşturabilecektir.

1.1 Hipotez

Suramin ile oluşturulan preeklampsi-benzeri sendromda gelişen uterus arteri disfonksiyonu üzerine nebivololün düzeltici etkileri vardır.

1.2 Amaç

Tezin amacı öncelikle suraminin sıçanlarda preeklampsi-benzeri sendrom oluşturup oluşturmadığının araştırılması, daha sonra oluşturulan bu modelde nebivolol tedavisinin uterus arteri üzerine olan fonksiyonel ve yapısal etkilerinin incelenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Preeklampsia tanımı ve etyolojisi

Sadece gebelikte görülen preeklampsia, hipertansiyon ve proteinüriyle karakterize multisistemik bir hastalıktır. ABD’de gebeliklerin yaklaşık %5’inde preeklampsia görülmektedir [1]. ABD’de gebelikte rapor edilen risk faktörleri arasında ilk sıradadır [2]. Annede eklampsia, böbrek yetmezliği, pulmoner ödem, inme ve ölüm, bebekte ise gelişme geriliği, ölüm, prematür doğum ve bunun getirdiği komplikasyonlar görülmektedir. Preeklampsia, bir uçta asemptomatik hipertansiyon ve proteinüri diğer uçta çoklu organ yetmezliği ile seyreden geniş spektruma sahip bir hastalıktır [19].

Bu hastalık, gebeliğe spesifik sendrom veya gebelik toksemisi olarak da adlandırılır. Gebeliğin 20. haftasından sonra kan basıncında yükselme görülür. Gebelikte görülen diğer hipertansif hastalıklardan proteinüri (24 saatlik idrar tetkikinde protein atılımının 300 mg/gün’ün üzerinde olması) görülmesi ile ayrılır. Hastalık şiddetlendikçe diğer organların hasarına bağlı olarak belirtiler ortaya çıkmaktadır. Hepatosellüler nekrozda iskemiye bağlı olarak sağ üst kadranda ağrısı olur. Aşırı vazospazmin neden olduğu mikroanjiyopatik hemoliz sonucu trombosit aktivasyonu ve agresyonu, dolayısıyla trombositopeni görülür. Aşırı artmış hemolizde veya çok şiddetli preeklampside, hemoglobinemi, hemoglobinüri ya da hiperbilirubinemi görülebilir.

Hastalık 150 yıldır bilinmesine rağmen etiyolojisi pek aydınlatılamamıştır. Demografik verilere göre, koryonik villi ile ilk kez karşılaşan, ikiz gebelik ya da *mol hidatiform* gibi koryonik villiye fazladan maruz kalan, altta yatan bir vasküler hastalığa sahip olan, gebeliğinde hipertansiyon gelişmeye genetik olarak yatkın olan kadınlarda hastalık daha sık görülmektedir [20]. Fetüs olmamasına rağmen molar gebeliklerde şiddetli preeklampsia görülmesi problemin plasenta kökenli olduğunu düşündürmektedir [21].

2.2 Preeklampsi patogenezi

2.2.1. Yetersiz plasenta oluşumu

Plasenta gelişmekte olan fetüsü uterusu bağlayarak fetüsün beslenmesi için gerekli besinlerin sağlanması, fetüsün atıklarının temizlenmesi ve gerekli gaz değişiminin yapılması açısından önemli bir organdır. Plasentada fetüsün ihtiyaçlarını karşılamak için yoğun bir şekilde yeni damar oluşumu gerçekleşmektedir. Bu olayda göç eden trofoblastlar görev almaktadır.

İmplantasyonla beraber başlayan trofoblast invazyonu katı bir biçimde düzenlenen bir olaydır [22]. Endovasküler sitotrofoblastlar (EVT) desidua ve yüzeysel miyometriumdaki distal spiral arterleri lümenal taraftan başlayarak endotel ve vasküler düz kas hücrelerinin apoptozuna yol açarlar ve bu hücrelerin yerine yerleşirler [23]. Endotel ve vasküler düz kas hücrelerinin yerini EVT'lerin almasıyla spiral arterler disorganize düşük dirençli damarlara dönüşürler [24-26]. Böylece maternal dolaşımdaki vazomotor değişikliklere cevapsız damarlar oluşur. Plasental damar yatağının otoregölasyonunun olmaması plasentaya gelen kan akımının fetüsün ihtiyaçlarına göre şekillenmesini kolaylaştırır [27, 28].

Preeklampsinin plasental bir durum olduğu düşünölmektedir [29]. Plasenta incelemeleri preeklampside plasentalarda yaygın infarkt alanlarının olduğunu göstermiştir [30]. Bu durum utero-plasental kan akımının yetersiz olmasına bağlı olarak plasental hipoksinin artmasını düşöndürmektedir [30]. Ayrıca preeklampside EVT'lerin spiral arter invazyonu anatomik olarak sık kalır ve EVT'ler miyometrial arterlere kadar ilerleyemezler, sadece desidua arterleri çevrelerler [31]. Yapılan çalışmalarda gestasyonun 6-8. haftalarından itibaren spiral arterlerin trofoblastlarla invazyonunun bozulmuş olduğu gösterilmiştir [32]. Trofoblastlar ile ilgili anomalinin daha da erken bir dönemde gerçekleştiği düşünölmektedir [33, 34]. Spiral arterlerin anormal trofoblastik invazyonunun derecesi ile hastalık şiddeti arasında bir korelasyon olduğu gösterilmiştir [3, 35].

Anormal plasentasyonun azalmış plasental perfüzyon ile sonuçlandığı ve preeklampsii gelişiminin en erken basamağı olduğu düşünülmektedir [36, 37]. Uteroplasental implantasyon bölgesinden alınan arterlerde endotelial hasar, damar duvarında sıvı birikimi, miyointimal hücrelerin proliferasyonu ve medial nekroz görülmüştür [32, 38]. Miyointimal hücreler arasında lipid yüklü makrofajların olduğu gösterilmiş ve ateroskleroz gelişen damarlardaki azalmış kan akımının preeklampsii patofizyolojisinde rol oynadığı düşünülmüştür [39, 40]. Spiral arterlerde subendotelial lipid yüklü makrofaj birikimi aterosklerozun erken özelliklerindendir [41].

2.2.2. Endotel disfonksiyonu

Vazospazm

Vazospazm kavramı ilk olarak 1918'de Volkard tarafından tırnak yataklarındaki ve oküler fundustaki küçük damar kasılmalarının görülmesiyle ortaya konmuştur [42]. Visser ve diğerleri tarafından pulmoner arterde Swan-Ganz kateteri ile yapılan ölçümlerde preeklampsili hastalarda sistemik vasküler direnç artmış ancak kardiyak output normal gebelere göre düşük olarak bulunmuştur [43]. Vazospazm endotel hasarına yol açarak damar yatağının yapısını ve dokulara olan kan dolaşımını bozarak preeklampsinin son organ bozukluklarına yol açmaktadır [4].

Endotel Hücre Aktivasyonu

Son dekatlarda preeklampsii patogeneğinde endotel hücre aktivasyonu önemli bir yer tuttuğu gösterilmiştir. Endotel hücre aktivasyonunun preeklampsinin erken dönemlerinde geliştiği düşünülmektedir. Son yıllarda popülerleşen “iki evre modeli”ne göre preeklampside plasentadan salıverilen faktör ya da faktörler sistemik dolaşıma geçip yaygın inflamasyona yol açmakta ve endoteli haraplamaktadır [1]. Haraplanan endotel, normal gebelikte artan nitrik oksit (NO), endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör (EDHF), prostasiklin gibi gevşetici maddeleri daha az sentezleyip pıhtılaşmaya meyil oluşturmaktadır [1]. Preeklampside endotel aktivasyonunu gösteren von Willebrand faktörü [44], selüler fibronektin [45, 46], trombomodulin [47], endotelin-1 (ET-1) seviyeleri [48] ve vasküler hücre

adezyon molekülü-1 (VCAM-1) gibi hücre adezyonundan sorumlu maddeler [49] dolaşımda artmış olarak bulunmuştur. Endotel hasarını gösteren mitojenik büyüme faktörleri semptomlar başlamadan önce preeklampside yüksek seviyelerde bulunmuştur [50]. Preeklampsili hastaların serumunun hücre kültüründeki endotel hücrelerine sitotoksik etki yapması [51], ayrıca preeklampsisi gelişen hastalardan alınan plazmanın *in vitro* deneylerde normal insan uterus arterlerinin gevşeme yanıtlarını azaltması preeklampsinin erken döneminde endotel hasarının geliştiğini göstermektedir [52].

Artmış pressör cevap

Gerek insanlarda gerekse diğer memelilerde gebelikte anjiyotensin II (AT-II) seviyeleri hem maternal hem de fetal kanda artar [53]. Ancak bu artış plasental kan akımını artırma yönündedir [53]. AT-II seviyeleri normal gebelikte 2,7 katına kadar artmış fakat AT-II infüzyonuna olan vazokonstriksiyon yanıtı azalmıştır [20]. AT-II infüzyonuna normal gebeler refrakter yanıt verirken preeklampitik gebelerde kan basıncı artışı gerçekleşir [20]. Bazı araştırmacılar tarafından AT-II'ye karşı gelişen azalmış sensitivite, gebelikte anjiyotensin-2 reseptörlerinin (AT₂R) anjiyotensin-1 reseptörlerine (AT₁R) göre daha fazla eksprese olması ve dolayısıyla AT-II'nin vazodilatasyon yapıcı etkisinin hakim olmasıyla açıklanmaktadır [54, 55]. Ancak, yapılan başka bir çalışmada insan plasentasında AT₁R'lerin çoğunlukta olduğu saptanmıştır [56]. AT-II'ye bağlı gevşeme yanıtlarının AT₁R üzerinden NO ve PGI₂ salıverilmesine bağlı olabileceği düşünülmüştür [56]. Normal gebelikte vazopressör maddelere karşı kasılma yanıtı azalmıştır. Preeklampside bu adaptasyon bozulmuştur ve AT-II sensitivitesi artmıştır [57].

Nitrik Oksit

Endotel hücrelerinde esansiyel olmayan bir amino asit olan L-arjininden nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından sentezlenen gevşetici bir maddedir. Gebe olmayan bireylerde endotelden sentezlenen NO, kardiyovasküler sistemde vazodilatasyon yapar. Ayrıca trombosit ve lökositlerin vasküler endotele yapışmasını önler. Gebelikte NO fizyolojik

vazodilatasyon yapan en önemli mediatörlerden biri olup gebelik sırasında kardiyovasküler sistemin gebeliğe adaptasyonunu sağlar [58, 59]. Spiral arterlerin anormal ya da yetersiz trofoblast invazyonu uteroplental NO saliverilmesini azaltmakta, trombosit adezyonunu ve tromboksan A₂ (TXA₂) saliverilmesini artırmaktadır [60]. Sıçanlarda da geç gebelikte uterus arterinde NO-bağımlı gevşeme yanıtlarının arttığı gösterilmiştir [58, 59]. Preeklampitik gebelerde normal gebelerin tersine NOS ekspresyonu ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) miktarı azalmıştır [61].

Gebe sıçanlara, endotelde NO sentezlenmesinden sorumlu NOS enzimini bloke eden N^w-Nitro-L-Arginine metil esterinin (L-NAME) verilmesi preeklampsi benzeri bir durum oluşturmakta, bu durum L-arjinin tedavisiyle gerilemektedir [62, 63]. Ancak NO'nun insanlarda destekleyici özelliği kanıtlanmamıştır. Asimetrik dimetil arjinin seviyelerinin artmış olduğu gösterilmesine [64, 65] rağmen bulgular tutarlı değildir. Ayrıca insanlarda gebelikte L-arjinin takviyesi preeklampsi oluşumunu engellememiştir [66, 67].

Prostasiklin (PGI₂) ve EDHF

Preeklampside fosfolipaz A₂ tarafından prostasiklin üretimi azalır [68]. Prostasiklin antiagregan ve vazodilatör bir bileşik olup NO-bağımsız mekanizma ile gevşemeye yol açar [68]. Normal gebelikte PGI₂ metabolitlerinin idrarda atılımı özellikle son trimesterde artarken, preeklampside metabolitler azalmıştır [69, 70].

NO ve PGI₂ ile beraber endotel-bağımlı gevşemelerde EDHF'nin de rolü olduğu düşünülmektedir [68]. EDHF'nin normal gebelikte üretimi artmış olarak bulunmuştur ve preeklampside fonksiyonunun azaldığı düşünülmektedir [71]. Gebe sıçanlarda da izole uterus arterinden saliverildiği gösterilmiştir [72].

Endotelin-1

ET-1 endotelden saliverilen potent vazokonstriktör bir madde olup parakrin yolla vasküler düz kas hücrelerinde etki göstermektedir. ET-1 düzeyleri preeklampside normal gebelere göre artmıştır ve hastalığın

şiddetine göre daha da artmaktadır [48]. Aynı şekilde değişik preeklampsi hayvan modellerinde de ET-1 seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir [73, 74].

2.2.3. Anjiyojenik faktörler

Gebelikte anjiyojenez artmış olduğu için anjiyojenezi indükleyen VEGF ve PlGF gibi faktörler de artmıştır. VEGF ilk trimestırda plasentada villöz trofoblastlarda, gebeliğin ilerleyen dönemlerinde ise ekstravillöz trofoblast ve makrofajlarda eksprese edilmektedir [75].

Preeklampside VEGF'nin endojen inhibitörü olan ve serumda çözünmüş halde bulunan Fms benzeri tirozin kinaz 1 (sFlt-1) seviyeleri de artmıştır [68]. Preeklampside anjiyojenez bozulmaktadır [76]. VEGF önemli bir anjiyojenetik faktördür. VEGF arterlerde endotel hücreleri için hayli mitojendir. Endotel hücresinin apoptozunu önler, hücre proliferasyonunu, migrasyonunu ve integrasyonunu sağlar ve anjiyojenezi hızlandıran bazı maddelerin ekspresyonunu artırır [22].

sFlt-1, transmembranal ve sitoplazmik bölgeleri bulunmayan, kanda dolaşabilen, membrana bağlı Flt'nin işlevini azaltan ve onun regülasyonunu azaltan bir proteindir. VEGF'nin işlevi sFlt-1 ya da diğer antikorlarla azaltılınca renal vasküler hasar oluşur. VEGF'ye karşı antikor kullanan kanser hastalarında hipertansiyon ve proteinüri görülmektedir [22].

Çözünür endoglin (s-Eng) sFlt-1 gibi preeklampside artan, eNOS aktivasyonunu ve endotel aracılı gevşemeleri önleyen bir moleküldür. S-Eng'nin insan umbilikal veni endotel hücre kültüründe anjiyojenezde önemli rol oynayan transforme edici büyüme faktörü ve VEGF'yi inhibe ettiği gösterilmiştir [77, 78].

2.2.4 Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Sistemi (RAAS) Aktivasyonu

RAAS hem normal gebelikte hem de preeklampsi patogeneğinde önemli rol oynamaktadır. Gebelikte böbrek dışında RAAS aktivitesi olan en önemli organ plasentadır [79]. RAAS'nin tüm bileşenlerinin plasentada eksprese olduğu gösterilmiştir [80]. Normal gebelikte kanda RAAS komponentlerinin (renin, anjiyotensinojen, AT-II ve aldosteron) düzeylerinin

yükselmesine rağmen AT-II'nin kasıcı etkilerine karşı direnç gelişmektedir [64]. Benzer bir bulgu AT-II zerki yapılan gebe sıçanlarda da gösterilmiştir [81]. AT-II zerki gebe sıçanlarda renal plazma akımı, glomerüler filtrasyon hızı ve idrar akımını değiştirmemiştir [81]. AT-II'nin gevşetici etkilerinden NO'nun sorumlu olduğu düşünülmektedir. Hem AT-II hem de NO süperoksit oluşumunu uyarmaktadır [82]. Gebe sıçanlara L-NAME verilmesi AT-II'nin normal yanıtlarını değiştirmemiştir [81].

Preeklampside ise serumda renin, AT-I ve aldosteron seviyeleri düşük [83] ancak desidua ise 2-3 kat fazla bulunmuştur [84]. AT-II oluşumundan sorumlu kimaz enziminin plasentada ekspresyonu ve serumdaki seviyeleri yüksek bulunmuştur [85, 86]. Preeklampsili hastalarda AT-II infüzyonuna karşı artmış vazokonstriktör yanıt gelişmektedir [87, 88]. Bu artmış kasıcı yanıttan tromboksan A₂ sentezinin artması, sodyum pompasını inhibe eden steroidlerin artışı, AT ve bradikinin-2 reseptörlerinin heterodimerizasyonu ve anjiyotensin-1 (AT₁) reseptörünü uyaran otoantikorların varlığı gibi birçok mekanizma sorumlu tutulmuştur.

İlk kez Wallukat tarafından anjiyotensin-1 reseptörüne karşı agonist etki gösteren otoantikorun (AT₁-AA) preeklampside arttığı gösterilmiştir [89]. Bu antikorun AT-II'ye olan artmış kasıcı yanıttan AT₁ reseptörünü uyarmasının sorumlu olduğu düşünülmektedir. Gebe farelere preeklampsili hastalardan izole edilen AT₁-AA'nın verilmesi preeklampsisi benzeri bir durum oluşturmaktadır [90]. Çalışmada AT₁-AA verilen farelerde kan basınçlarında, idrar protein atılımında ve serum s-Flt-1, s-Eng ve tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) düzeylerinde artma görülmüştür [90].

RAAS'yi ilgilendiren bir başka çalışmada ise insan renin genini aşırı eksprese eden erkek farelerle insan anjiyotensinojen genini aşırı eksprese eden dişi fareler çiftleştirilmiş, dişi farelerin gebeliklerinde şiddetli hipertansiyon, proteinüri ve plasental bozukluklar meydana gelmiştir [91].

2.2.5. Sistemik İnflamasyon

Normal gebelikte özellikle 3. trimestırda gebe olmayanlara göre inflamasyon belirteçlerinde yükseklik saptanmıştır [42]. Preeklampside bu

inflamasyonun şiddeti artmıştır [42, 92]. İncelenen periferik yaymalarda normal gebelere oranlandığında granülosit, lenfosit ve monositlerin artmış olduğu [29, 93], TNF- α ve interlekin-6 (IL-6) düzeylerinin yüksek olduğu [93] gösterilmiştir. Sistemik inflamasyon hem endotel aktivasyonun bir sonucu hem de endoteli aktive eden bir olaydır [42]. Aktive olan endotel, inflamatuvar lökositleri uyarıp ekstravasküler dokulara göçüne yardımcı olurken, aktive lökositler de endoteli uyarmaktadır [42]. Benzer şekilde inflamasyonda koagülasyon kaskadı da harekete geçmektedir [42]. Preeklampsilerin %10'unda hemoliz, yüksek karaciğer enzimleri ve düşük trombosit düzeyleri görülen HELLP sendromunda yaygın intravasküler koagülasyon görülmektedir [94].

2.3. Preeklampsia modelleri

İnsanda preeklampsia ile ilgili bilgiler preeklampşik gebelerden alınan serum örneklerinden ve doğum sonrası alınan plasentalardan elde edilmiştir. Ancak bu bilgiler hastalığın kökeni ile ilgili olarak yeterli bilgi vermemektedir. İnsanda ve bazı primatlarda görülen preeklampsinin etiyoloji ve patogenezi açıklamaya yardımcı olması açısından çeşitli hayvan modelleri oluşturulmaya çalışılmaktadır.

İnsan ve rodent plasentaları arasında benzerlikler ve farklılıklar bulunmaktadır. Plasantasyonu belirleyen genler her iki türde de benzerlikler göstermektedir ancak yapısal olarak farklılıklar bulunmaktadır. Rodentlerde maternal dolaşımdan fetal dolaşımı ayıran üç trofoblast tabakası bulunmaktadır, yani hemotrikoryaldir. Desidualizasyon implantasyondan sonra olmakta, plasentanın gebelikteki son şeklini alması ise orta gestasyonu bulmaktadır. Trofoblastik invazyon gebeliğin 15-18. günleri arasında olmaktadır. Dolayısıyla trofoblastik invazyon miyometriyuma kadar ilerlemez ve sığ kalır. Ayrıca endovasküler invazyon limitlidir [95, 96].

İnsanda desidualizasyon implantasyondan önce olmakta, miyometriyumu implantasyona uygun bir şekle getirmektedir. Placenta hemomonokoryal yapıdadır ve gebeliğin 21. gününde uygun hale gelmektedir [95, 96]. Her ne kadar optimal benzerlik olmasa da fare ve sıçanlarda birçok

preeklampsia modeli oluşturulmuştur. Rodentlerde yapılan çalışmalarda özellikle endotelial disfonksiyon konusundaki bulgular insandaki bulgularla korelasyon göstermektedir.

Hayvan modellerinden en eskisi azaltılmış uteroplasental perfüzyon basıncı (*Reduced uterine perfusion pressure*, RUPP) modelidir. İlk kez köpeklerde gösterilmiş olup maymun, koyun, tavşan ve sıçan gibi bir çok tür de çalışmalarda kullanılmaktadır [97]. RUPP yapılan sıçanlarda kan basıncında artma, proteinüride artma, vasküler yanıtlarda artış ve gevşemelerde azalma [98, 99], serum TNF- α [100], IL-6 [100] ve sFlt-1 [101] düzeylerinde artma gösterilmiştir.

Roberts ve diğerlerinin preeklampsinin endotel hücre disfonksiyonu sonucunda oluştuğunu bildirmesi üzerine endotelde NO sentezinden sorumlu NOS enzimini bloke eden L-NAME'nin hayvanlara verilmesi suretiyle preeklampsia-benzeri sendrom oluşturulmuştur [102]. Bu modelde incelenen izole uterus arterinde fenilefrin ile olan yanıtlar artmıştır [103].

İnsan serumunda yapılan çalışmalarda preeklampside anjiyotensin-1 reseptörüne karşı oluşmuş otoantikor (AA₁-AA)un artışı gösterilmiştir [89]. Bu bulgu üzerine preeklampsi hastalardan izole edilen AA₁-AA farelere enjekte edilmiş ve farelerde kan basıncı artışı, proteinüri, yavru farelerde gelişme geriliği ve böbrekte glomerüler endoteliyozis lezyonunun oluştuğu saptanmıştır [104]. Benzer şekilde sFlt-1 ya da s-Eng enjeksiyonları ile gerçekleştirilen modellerde de preeklampsia-benzeri sendrom görülmüştür [76, 78].

2.3.1. Suramin ile Oluşturulan Preeklampsia-Benzeri Sendrom

Bir polisulfone naftilüre bileşiği olan suramin, onkoserkozis ve tripanozoma gibi hastalıkların tedavisinde kullanılan ve yarılanma ömrü uzun olan bir antiparazitik ilaçtır [14]. Suramin, rodentlerde VEGF, PlGF ve FGF'yi inhibe ederek etki göstermektedir [13]. Gebe sıçanlarda, bu özelliği ile plasentada artmış olan büyüme faktörlerini azaltarak anjiyogenez ve plasenta oluşumu inhibe etmektedir [13]. Defektif plasenta oluşumu, birtakım mediyatörlerin açığa çıkmasına, plasental iskemi [13] ve neticesinde

endotelyal disfonksiyona [14] neden olmaktadır. Sprague-Dawley sıçanlarda yapılan çalışmalarda gebeliğin 10. gününde suramin düşük doz (60mg/kg, i.p.) ve yüksek doz (100mg/kg, i.p.) tek enjeksiyon şeklinde verilmiş, yüksek doz verilen grupta 20. günde kan basıncında yükselme, plasental ve renal perfüzyonda azalma ve serum ET-1 seviyelerinde artma saptanmıştır [13]. Wistar sıçanlarda suramin ile yapılan bir başka çalışmada, 100mg/kg suramin 10. ve 11. günde olmak üzere 2 doz şeklinde verilmiş ve belirgin kan basıncı artışı ve proteinüri olduğu gözlenmiştir [14]. Bu çalışmada torasik aorta halkalarında FE kasılma yanıtlarında artma ve asetilkolin (ACh)-aracılı endotele-bağımlı gevşemelerde azalma tespit edilmiştir. Her iki çalışmada da suramin verilen grupta doğan canlı yavru sıçan sayısı ve yavru sıçanların ağırlığı kontrole göre belirgin derecede azalmış, plaseenta ağırlığı düşük bulunmuştur. Suramin ile yapılan bir başka çalışmada plasentalar patolojik olarak incelenmiş, sıçan plasentasında fetal ve maternal gaz ve metabolit alışverişinin olduğu mezometrial üçgen denilen bölgenin alanının azaldığı ve bu bölgede damar oluşumunun kontrole göre azalmış olduğu, serum renin seviyelerinin yükseldiği, sFlt-1'in ise azaldığı gösterilmiştir [15].

Suramin ile uyarılan preeklampsi-benzeri sendrom insanda preeklampsi patogenezinde gösterilen mekanizmaları içeren en ideal modellerden biridir. Modelde oluşturulan plasental yetmezlik oksidatif stres yaratarak izoprostan seviyelerinde artmaya, endotel disfonksiyonuna, renin düzeylerini artırarak RAAS aktivasyonuna yol açmaktadır. Bu nedenlerden dolayı çalışmada bu model kullanılmıştır.

2.4. Nebivolol ve Gebelikte Kullanımı

Günümüzde hipertansiyon ve sol ventriküler yetmezlik tedavisinde kullanılan nebivolol, lipofilik, intrinsik semptomimetik aktivitesi olmayan, üçüncü jenerasyon bir β -blokör olup β_1 reseptörlere yüksek afiniteye sahip bir ilaçtır. Ayrıca NO üzerinden damar gevşetici özelliği bulunmaktadır [18]. İki enantiomerin, D-nebivolol (+SRRR nebivolol) ve L-nebivolol (–RSSS nebivolol) karışımı şeklinde kullanılmaktadır.

İlk kez Gao ve diğeri tarafından nebivololün köpek koroner arterinde L-NAME ile bloke olan gevşemelere yol açtığı ve bu gevşemenin daha çok L-enantiomeri üzerinden olduğu gösterilmiştir [105]. Gevşemenin endotel hasarı yapıldığında ve L-NAME varlığında azalması onun endotel kökenli olduğunu düşündürmektedir. Damar ve kalp dokularında nebivololün verilmesiyle NO çıkışı floresans yöntemler ile görüntülenmiştir. NO-bağımlı gevşeme her iki enantiomer tarafından gerçekleştirilebilir [106] ancak D-nebivolol antihipertansif etki açısından [107], L-nebivolol ise NO üretimi açısından diğeri enantiomerine göre daha potettir [108, 109].

İnsan koroner arterlerinde ve sıçanlarda yapılan çalışmalarda nebivololün NO salıverdirici etkisini [105, 110] β_3 reseptörlerini uyararak yaptığı [111, 112], sonucundaki gevşemenin bir kısmını da östrojen reseptörleri üzerinden gerçekleştirdiği düşünölmektedir [113, 114]. Ayrıca nebivololün sıçan aortasında α -adrenerjik reseptörleri bloke ettiğı de gösterilmiştir [106]. Yaptığımız ön çalışmalarda nebivololün sıçan uterus arterinde α -adrenerjik reseptörleri bloke ederek damarı gevşettiğı gösterilmiştir [115]. Uterus arterindeki bu etkisine mevcut literatürde rastlanmamıştır.

NO peroksinitrite dönüştürölerek metabolize edilmektedir. Oksidatif strete paradoksik bir şekilde NO üretimi artmıştır [116]. Endotel hücre kültüründe nebivololün süperoksit seviyelerini azalttığı [117], birçok iskemi-reperfüzyon modelinde atenolole karşı bu üstünlüğü gösterilmiştir [118].

İskemi-reperfüzyon modellerinde yapılan çalışmalarda 1 mg/kg dozunda parenteral verilen nebivololün endotel disfonksiyonunu azalttığı gösterilmiştir [16, 17]. Dolayısıyla araştırmada kullanılacak nebivolol dozu 1mg/kg olarak seçilmiştir. Nebivololün 5 mg/kg ve üzerindeki dozlarda gebe sıçanlarda gelişme geriliğı yaptığı gösterildiğı için nebivolol dozu düşük tutulmuştur [119].

Birçok çalışmada nebivololün böbrek fonksiyonları üzerine düzeltici etkileri gösterilmiştir. Nebivolol NO üretimini artırarak ve renal perfüzyon basıncını azaltarak glomerüler filtrasyon hızını ve renal plazma akımını artırır

[116]. Bu mekanizmayla nebivololün nefropati modellerinde proteinüri ve tübüler nekrozu azalttığı gösterilmiştir [116].

400 primigravid gebede yapılan bir çalışmada 24 tanesinde kardiyak output normal gebeliklerde olduğu gibi artmasına rağmen periferik vasküler dirençte herhangi bir azalmanın olmadığı, gebeliğin ilerlemesiyle kardiyak outputun belirgin bir şekilde düştüğü ve vasküler direncin daha da arttığı gösterilmiştir [120]. Bu bulgu preeklampside β -blokör ilaçların kullanımının yararlı olabileceğini düşündürmektedir [121, 122]. Ancak β -blokörlerin fetüste gelişme geriliği yapması gebelikte kullanımını sınırlandırmaktadır [121, 122].

Labetolol ve atenololün preeklampsisi tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir [11, 121]. Konvansiyonel tedavilerde kullanılmakta olan atenololün, iskemi-reperfüzyon modellerinde, nebivolol ile karşılaştırıldığında, NO-bağımlı gevşetici özelliğinin olmadığı gösterilmiştir [123].

Suramin ile indüklenen preeklampsisi-benzeri sendromda önceki çalışmalarda renal perfüzyon basıncında azalma ve oksidatif strese artma [13] gösterilmiştir. Bu araştırmada nebivololün koruyucu ve endotel disfonksiyonunda düzeltici etkilerinin olabileceği düşünülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Genel Protokol

Bu araştırmanın yapılabilmesi için gerekli izin, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'nun 17.09.2009 tarihli toplantısı ve 2009/39 dosya kayıt numarası ile alındı. Çalışmalarda 12-16 haftalık, 180-230 g ağırlığında ve daha önce gebe kalmamış dişi Wistar Albino sıçanlar kullanıldı. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma ve Yetiştirme Ünitesi'nden sağlanan hayvanlar Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı hayvan barınağına getirildikten sonra, deneylere başlamadan en az bir hafta boyunca hiçbir işlem uygulanmaksızın barındırıldılar. Sıçanlara oda sıcaklığında ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüleri bulunan standart bir ortam sağlandı. Hayvan bakımı süresince su ve gıda alımı serbest bırakıldı.

3.2 Gruplar

Çalışmanın amacına uygun olarak araştırma iki bölümde yapılmıştır. İlk kısımda modelin uygulanabilirliği araştırıldı. Bunun için gebe ve gebe olmayan sıçanlarda suraminin etkileri ile uterus arterinin fonksiyonel ve yapısal değişiklikleri incelendi. İkinci kısımda ise gebe sıçanlarda oluşturulan bu modelde görülen değişiklikler üzerine nebivolol tedavisinin etkileri karşılaştırıldı. Tüm gruplarda erkek sıçanlarla çiftleştirildikten sonra vajinal yaymada spermatazoa görülen sıçanlar gebe kabul edilerek çalışmaya alındı.

İlk kısımda modelin uygunluğunu incelemek için dört grup oluşturuldu:

Kontrol Gebe Sıçanlar (KG): Gebe sıçanlara gebeliğin 10. ve 11. günlerinde 1 ml/kg/gün olacak şekilde serum fizyolojik (SF) intraperitoneal (i.p.) yoldan verildi.

Suramin Enjekte Edilen Gebe Sıçanlar (SG): Gebe sıçanlara gebeliğin 10. ve 11. günlerinde 100 mg/ml olarak hazırlanan suramin 100 mg/kg/gün olacak şekilde i.p. yoldan verildi.

Gebe Olmayan Kontrol Sıçanlar (K): Herhangi bir çiftleştirme yapılmadan takip edilen sıçanların 10. ve 11. günlerinde 1 ml/kg/gün olacak şekilde SF i.p. yoldan verildi.

Gebe Olmayan Suramin Enjekte Edilen Sıçanlar (S): Herhangi bir çiftleştirme yapılmadan takip edilen sıçanların 10. ve 11. günlerinde 100 mg/ml olarak hazırlanan suramin 100 mg/kg/gün olacak şekilde i.p. yoldan verildi.

İkinci kısımda ise sadece gebe sıçanlar kullanılarak nebivolol tedavisinin etkilerini göstermek amacıyla 4 grup oluşturuldu:

Kontrol Gebe Sıçanlar (T-KG): Gebeliğin 10. ve 11. günlerinde 1 ml/kg/gün olacak şekilde SF i.p. yoldan verildi. Gebeliğin 10. gününden sonuna kadar ayrıca 4 ml/kg/gün olacak şekilde enseden subkütan (s.c.) SF enjekte edildi.

Suramin Enjekte Edilen Gebe Sıçanlar (T-SG): Gebeliğin 10. ve 11. günlerinde 100 mg/ml olarak hazırlanan suramin 100 mg/kg/gün olacak şekilde i.p. yoldan verildi. Gebeliğin 10. gününden sonuna kadar enseden 4 ml/kg/gün s.c. SF enjekte edildi.

Nebivolol ile Tedavi Edilen Suraminli Gebeler (T-NS): Gebeliğin 10. ve 11. günlerinde 100 mg/ml olarak hazırlanan suramin 100 mg/kg/gün olacak şekilde i.p. yoldan verildi. Gebeliğin 10. gününden sonuna kadar 1 mg/4 ml olarak hazırlanan nebivolol enseden 1 mg/kg/gün s.c. olarak enjekte edildi.

Nebivolol ile Tedavi Edilen Gebeler (T-NG): Gebeliğin 10. ve 11. günlerinde 1 ml/kg olacak şekilde SF i.p. yoldan verildi. Gebeliğin 10. gününden sonuna kadar 1 mg/4 ml olarak hazırlanan nebivolol enseden 1 mg/kg/gün s.c. olarak enjekte edildi.

3.3. Sıçanlarda Gebelik Tayini

Dişi sıçanlar, erişkin erkek sıçanlarla 16-24 saat boyunca aynı kafese konularak çiftleşmeleri sağlandı. Sonraki gün dişi sıçanların vajenleri 50 µl SF ile yıkandı. Yıkama sonrasında alınan sıvı örnekten yapılan yaymada ışık

mikroskobunda spermatozoa (Şekil 3.1) arandı. Yaymasında sperm görülen sıçanlar gebe olarak kabul edildi.



Şekil 3.1. Işık mikroskobunda incelenen vajinal yaymada x100'lük büyütmede görülen sıçan spermatozoaları

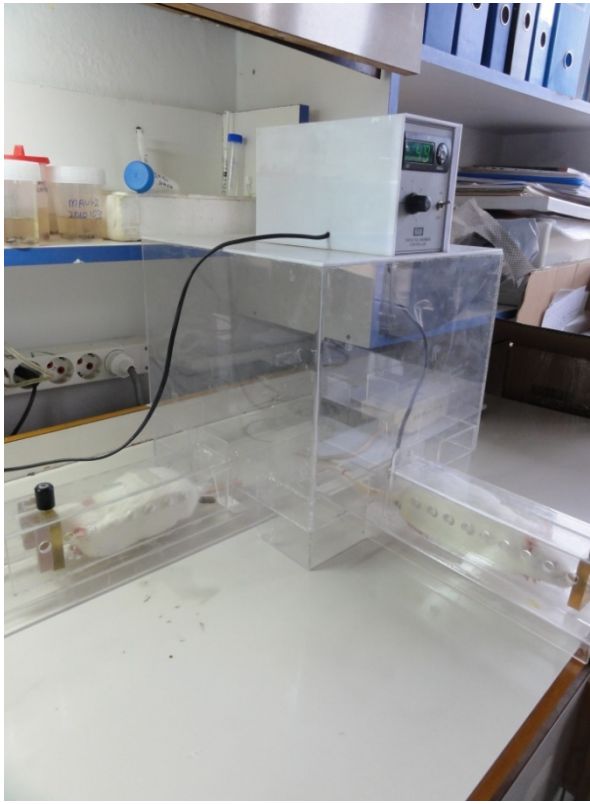
3.4. Sıçanlarda ağırlık takibi

Sıçanlar gebe kalmadan önceki gün, gebeliğin ilk günü ile onuncu gün ve sonrasındaki her gün sabah tartıldı. Yirminci gün ve ilk gün arasındaki tartı farkı ağırlık değişimi olarak ifade edildi.

3.5. Sistolik Kan Basıncı Ölçülmesi

Sıçanların *in vivo* sistolik kan basınçları invaziv olmayan tail-cuff kan basıncı ölçüm sistemiyle (Staulting, Türkiye) her gün 08.00-10.00 saatleri arasında takip edildi. Veriler Biopac MP150 veri kazanım ünitesi (Biopac Systems, ABD) ile bilgisayar ortamında kaydedildi. Hayvanlar gebe bırakılmadan önce en az 1 gün alıştırma döneminden geçti. Kan basıncı ölçümünden önce kısıtlayıcı içine konulan sıçanların kuyrukları 15-20 dakika

boyunca TWC02 kuyruk ısıtıcısı (Commat, Türkiye) kullanılarak 39°C hava ile ısıtıldı. Kuyruk arterinin atımları hareket sensörü (Commat, Türkiye) ile kaydedildi. Kuyruğun proksimal kısmına geçirilen manşon nabız atımı kayboluncaya kadar şişirildi ve sabit hızda 10 saniyelik bir süreçte gevşetildi. Nabız atımının ilk görüldüğü andaki kan basıncı değeri sistolik kan basıncı değeri olarak kabul edildi. Ardarda yapılan en az 3 ölçümün ortalamaları alınarak değerlendirildi.



Şekil 3.2. Kuyruk ısıtıcıyla kuyrukları ısıtılan kısıtlayıcı içindeki sıçanlar

3.6. Gebeliğin Sonlandırılması ve Preeklampsi ile İlgili Parametrelerin Değerlendirilmesi

Gebeliğin 20. gününde tüm sıçanlardan idrar örneği alınarak idrar çubuğu (Ultimed, Almanya) aracılığıyla protein düzeyleri semi-kantitatif olarak değerlendirildi. Çubukta görülen renk değişimine göre protein düzeyleri 5

farklı aralıkta derecelendirildi (0: <30 mg/dl; 1: 30-100 mg/dl; 2: 100-300 mg/dl; 3: 300-2000 mg/dl; 4: >2000 mg/dl). Çalışmanın ilk kısmında kontrol gebe sıçanlarda da spot idrarda proteinüri görülmesi üzerine ikinci kısımda gebeliğin ilk ve son günlerinde alınan idrar örneklerinin farkı hesaplanarak protein farkı olarak ifade edildi.

Daha sonra sıçanlara 1,5 g/kg üretan anestezisi i.p. olarak uygulandı. Anestezî derinliği parmak kısırtma yanıtları alınarak değerlendirildi. Sıçanların karınları sagittal kesi ile açıldı. Uterus, içindeki plasenta ve fetüsler ile birlikte petri kutusuna alındı. Uterus açılarak plasenta ve fetüsler ayrıldı ve hepsi ayrı ayrı tartıldı.

Sol böbreklerin etrafındaki yağ doku temizlenip kapsülü sıyrıldıktan sonra tartıldı ve patolojik incelemeler için %10'luk formaldehit içine konularak bekletildi. Sol böbrek ağırlığı vücut ağırlığına oranlanarak standardize böbrek oranı hesaplandı (Formül 3.1).

$$\text{Standardize böbrek oranı} = \frac{\text{Böbrek ağırlığı (g)}}{\text{Vücut ağırlığı (g)}} \times 100 \quad 3.1$$

3.7. Uterus Arterinde Fonksiyonel Çalışmalar

Uterus arterinin bir kısmı, uterus etrafındaki yağ doku ile birlikte içinde soğuk fizyolojik tuz solüsyonu (FTS; NaCl, 118 mM, KCl, 4.6 mM, CaCl₂, 1,25 mM, MgSO₄, 1,2 mM, NaHCO₃, 25 mM, KH₂PO₄, 1,2 mM, EDTA, 0,025 mM ve glukoz, 10 mM) bulunan ayrı bir petri kabına alındı. Mikroskop altında uterus arterleri etrafındaki yağ doku temizlenerek izole edildi ve ikişer mm'lik 4 segmente ayrıldı. Her bir damar segmenti içinden 40 µm çaplı bir adet çelik tel geçirilerek 5 ml'lik miyograf (Danish Myograph M610, Danimarka) banyosuna yerleştirildi. Damar çelik tellerle *force transducer* tarafındaki vidalarla sabitlendikten sonra bir başka 40 µm çapındaki çelik tel damarların lümeninin içinden geçirilerek birbirine paralel olacak şekilde mikrometre tarafındaki vidalarla sabitlendi [124]. Preperatlar tüm deney boyunca 37°C'de

%95 O₂ ve %5 CO₂ içeren gaz karışımı ile gazlandırıldı. 15 dk sonra mikrometre kullanılarak arter segmentlerine artan gerimler verildi ve DMT normalizasyon programı (Danish Myograph, Danimarka) aracılığı ile preparatlar normalize edildi. Normalize edilen preparatlar yıkanarak 30 dk süreyle dengelenmeye bırakıldı. İzometrik arter yanıtları veri kazanım ünitesi (PowerLab/4SP) aracılığı ile mN/mm olarak kaydedildi.

Uterus arter segmentlerde öncelikle 100 mM KCl içeren FTS (NaCl, 22,6 mM, KCl, 100 mM, CaCl₂, 1,25 mM, MgSO₄, 1,2 mM, NaHCO₃, 25 mM, KH₂PO₄, 1,2 mM, EDTA, 0,025 mM ve glukoz, 10 mM) ile kasılma yanıtları alındı. Preparatların iki defa yıkanarak 30 dk beklenmesinin ardından sırasıyla fenilefrin (FE, 10⁻⁸-3x10⁻⁵ M), serotonin (5-HT, 10⁻⁸-3x10⁻⁵ M), anjiyotensin-II (AT-II, 10⁻¹⁰-10⁻⁷ M), prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}, 10⁻⁹-10⁻⁵ M) ve endotelin-1 (ET-1, 10⁻¹⁰-10⁻⁷ M) olmak üzere her bir segmentte farklı kasıcılarla konsantrasyon-cevap eğrileri alındı. Her bir preparat 4 defa yıkandıktan sonra tüm segmentlerde submaksimum FE ön kasılması (maksimum fenilefrin kasılmasının %60-80'i) oluşturularak kasılma cevapları platoya eriştikten sonra asetilkolin (ACh, 10⁻⁸-3x10⁻⁵ M) ve sodyum nitroprusiyat (SNP, 10⁻⁹-3x10⁻⁵ M) gevşemeleri alındı. ACh ile alınan gevşeme yanıtları preparatlar 10⁻⁴ M L-NG-Nitroarjinin metil ester (L-NAME) ile 30 dk inkübe edildikten sonra tekrarlandı.

3.8. Böbreklerin Patolojik Olarak İncelenmesi

Sol böbrekler %10'luk formalin ile en az 24 saat fikse edildi. Örnekler böbrek hilusundan sagittal olarak ikiye bölünerek kasetlere yerleştirildi ve kasetler takip işleminden geçirilip sonra parafin bloklama yapıldı. Bu bloklardan alınan 4-5 µm'lik kesitler hematoksilin/eozin ile boyandı. Tüm değerlendirmeler değerlendiren kişi kör olacak şekilde ışık mikroskopunda yapıldı. Böbrek kesitlerinde yapılan incelemelerde hasarın şiddetine göre skorlama yapıp preparatlar semi-kantitatif olarak değerlendirildi. Skorlamada 4 grup oluşturuldu: 0: Normal görünüm, 1: Fokal tübüler nekroz 2: Böbrek dokusunun yarısına kadar tübüler hasar, 3: Böbrek dokusunun tümünde tübüler hasar.

3.9. Elektron Mikroskopisi

Çalışmanın ikinci kısmında uterus arterinin endotelini yapısal olarak incelemek amacıyla izole uterus arterinin bir kısmı elektron mikroskopisi için ayrıldı. Alınan doku örnekleri % 2,5'lik gluteraldehit çözeltisi içinde 24-48 saat süre ile fikse edildi. Daha sonra örnekler pH'si 7,4 olan Sorenson's Phosphate Buffer (SPB) tampon çözeltisi ile yıkandı ve daha sonra örnekler %1'lik osmium tetroksit çözeltisi ile post-fiksasyon işlemi uygulandı. Bu işlemi takiben örnekler tekrar SPB tampon çözeltisi ile yıkanarak dehidratasyon aşamasına kadar gelindi. Dehidratasyon işlemi düşükten yükseğe doğru değişen alkol konsantrasyonlarında (% 25, % 50, % 75 ve saf alkol) gerçekleştirildi ve daha sonra örnekler iki kez propilen oksit ile yıkanarak gömme işlemi hazırlık aşamalarına başlandı. Gömme işlemine hazırlık işleminin ilk aşamasında 1/1 oranında propilen oksit ve epoksi rezin gömme materyali karıştırılarak örnekler bu karışımın içerisinde 1 saat süreyle bekletildi ve 1 saatin sonunda bu karışımın üzerine aynı miktarda epoksi rezin gömme materyali ilave edilerek karışımın oranı 1/3'e çıkarıldı. Bu işlemi takiben örnekler 1 gece boyunca rotatorda bekletildi ve gömme işlemine hazırlık aşaması bu şekilde sonlandı. Bunu takiben epoksi rezin gömme materyaline plastik kapsüller kullanılarak gömülen örnekler 48 saat süre ile 60 derece sıcaklıktaki etüvde bekletildi. 48 saatin sonunda örnekler etüvden alındı ve ultramikrotom cihazı (LKB Nova, İsveç) ile örneklerin yarı ince kesitleri alındı. 2 mikrometre kalınlıkta olan bu kesitler metilen mavisi ile boyandı ve ışık mikroskop altında incelenerek ince kesit alınacak sahaların tespit edilmesi sağlandı. İnce kesit alınacak sahalar doku yüzeyinin trimlenmesi ile transmisyon elektron mikroskopik kesit alınabilecek doku yüzeyi büyüklüğü elde edildi. Bunu takiben, örneklerin yaklaşık 60 nanometre kalınlıkta olan ince kesitleri aynı ultramikrotom ile alındı. Alınan ince kesitler üranil asetat ve kurşun sitrat boyaları ile çift kontrastlama yöntemiyle boyandıktan sonra transmisyon elektron mikroskop (Jeol JEM 1200 EX, Japonya) ile incelendi ve fotoğrafları alındı.

3.10. Kullanılan İlaçlar

Bu çalışmada asetilkolin hidroklorür (Sigma Chemical Co., A.B.D.), fenilefrin hidroklorür (Sigma), endotelin-1 (Sigma), prostaglandin F_{2α} (Sigma), serotonin (Sigma), anjiyotensin-II (Ciba-Geigy, İsviçre), sodyum nitroprusiyat (Merck, Almanya), L-NG-Nitroarjinin metil ester hidroklorür (Sigma), üretan (Syntetic, Danimarka) suramin sodyum tuzu (Sigma) ve rasemik nebivolol (Berlin Chemie-Menarini, İtalya) kullanılmıştır. Üretan %25 stok solüsyon olarak hazırlandı. Suramin ve nebivolol salinde diğer tüm ilaçlar distile suda çözülerek uygulandı.

3.11. Verilerin Analizi

Tüm veriler aritmetik ortalama $\pm$ ortalamanın standart hatası olarak ifade edildi.

Verilerin analizi için GraphPad Prism 5 programı kullanıldı. Tüm konsantrasyon-cevap eğrileri *curve fit* yapılarak değerlendirildikten sonra istatistiksel analizleri uygulandı.

İlk kısımda 2 gebe grubu olduğu için gebelikte ağırlık değişimi, plasenta ve fetüslerin sayı ve ağırlıklarının karşılaştırılmasında Student's *t*-test kullanıldı

İkinci kısımda ağırlık değişimi, plasenta ile fetüslerin sayı ve ağırlıkları ve rezorbe fetüs sayısı 4 grup arasındaki farklılığı değerlendirmek için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve gerektiğinde *post hoc* Bonferroni testi uygulandı. Kan basıncı değişimleri tekrarlayan ölçümlerde iki yönlü ANOVA ile değerlendirildi ve gerektiğinde *post hoc* Bonferroni testi uygulandı. Çalışmada elde edilen semi-kantitatif sonuçlarda ilk çalışmada idrarda protein düzeylerinin karşılaştırılması için Mann-Whitney U, ikinci çalışmada idrar protein düzeyleri ve böbrek hasarı değerlendirmesi için Kruskal-Wallis testi ve sonrasında ikili karşılaştırma için Mann-Whitney U testi uygulandı.

Potasyum kasılmaları tek yönlü ANOVA ve gerektiğinde *post hoc* Bonferroni testi ile değerlendirildi. İzometrik kasılma cevapları 100 mM KCl kasılmalarının yüzdesi olarak ifade edildi. Gevşeme yanıtları ise

submaksimum FE kasılmasının yüzde gevşemesi olarak ifade edildi. Konsantrasyon-cevap eğrileri arasındaki farklılığı değerlendirmek için iki yönlü ANOVA kullanıldı. E_{maks} ve pD_2 değerleri program tarafından hesaplandı ve tek yönlü ANOVA ve sonrasında *post hoc* Bonferroni testi ile değerlendirildi. Tüm değerlendirmelerde P değerinin 0,05'den küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Suramin ile Preeklampsi-Benzeri Sendrom Oluşumunun Gösterilmesi

4.1.1. Suramin Verilen Sıçanlarda Gebelik Sırasında Gözlenen Fizyolojik Değişiklikler:

Sıçanların gebelikten önceki ağırlıkları karşılaştırıldığında her iki grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 4.1). Gebelik sırasında kontrol sıçanlar $79,8 \pm 7,0$ g (% $38,9 \pm 13,0$) kilo aldılar. Suramin verilenlerde ise bu kilo alımı $27,0 \pm 11,6$ g (% $24,5 \pm 7,8$) olarak tespit edildi ve istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha düşük bulundu (Tablo 4.1). Gebe olmayan sıçanlarda suramin verilmesi vücut ağırlığında anlamlı bir değişiklik oluşturmadı (Tablo 4.1).

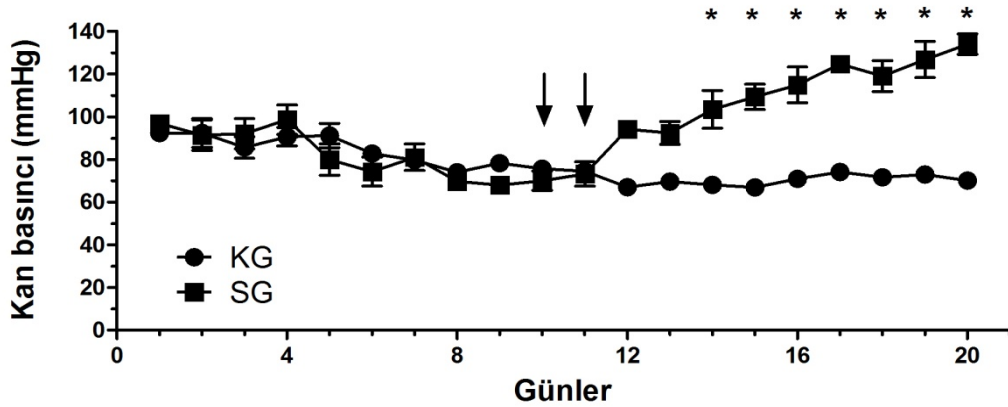
Tablo 4.1. Kontrol ve suramin verilen gebe ve gebe olmayan sıçanlarda 20 gün içinde oluşan ağırlık değişimi.

	Başlangıç ağırlığı (g)	Ortalama ağırlık değişimi (g)	Yüzde ağırlık değişimi (%)
K	$218,5 \pm 4,5$	$+17,5 \pm 1,7^{\dagger}$	$+8,1 \pm 0,9^{\dagger}$
S	$206,7 \pm 7,2$	$+11,8 \pm 2,8^{\dagger}$	$+5,8 \pm 1,4^{\dagger}$
KG	$218,1 \pm 2,5$	$+79,8 \pm 7,0^*$	$+38,9 \pm 13,0^*$
SG	$207,1 \pm 4,9$	$+27,0 \pm 11,6^{\dagger}$	$+24,5 \pm 7,8^{\dagger}$

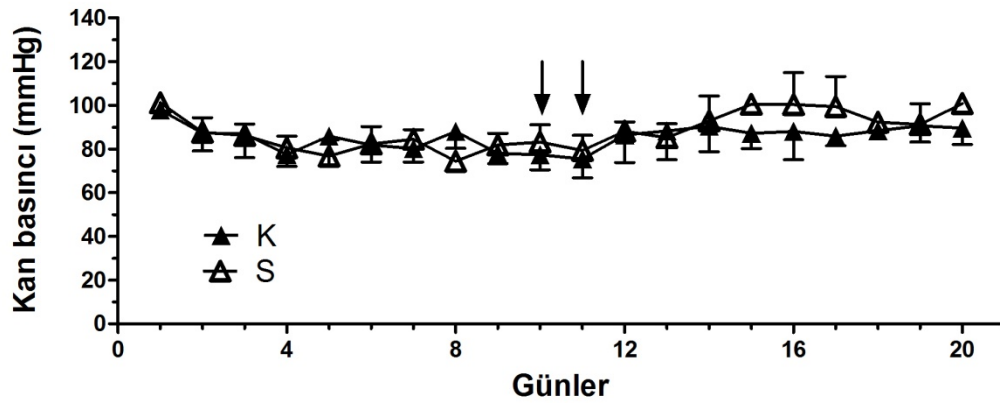
K: Kontrol, S: Suramin, KG: Kontrol gebe, SG: Suramin gebe. * $P < 0,05$, K'ye göre, $^{\dagger}P < 0,05$, KG'ye göre, n=4-7.

Gebelikten önceki sistolik kan basınçları KG 'nin $92,4 \pm 1,7$, SG'nin $96,9 \pm 2,1$, K'nin $94,5 \pm 5,2$ ve S'nin $101,1 \pm 7,0$ olarak saptandı. Gruplar arasında başlangıç kan basıncı değerleri açısından anlamlı fark yoktu.

Kontrol gebe grubunda gebeliğin ilerlemesi ile kan basınçlarında yavaş gelişen bir azalma gözlemlendi. Bu azalma gebeliğin 14. gününden itibaren istatistiksel olarak anlamlı bulundu ve gebelik boyunca devam etti (Şekil 4.1). Gebeliğin 10. ve 11. günlerinde suramin verilen hayvanlarda, kan basıncında başlangıç değerlerine göre % 44 oranında bir artış meydana geldi ve bu artış 14. günden sonra KG'ye göre anlamlı bulundu (Şekil 4.1). Gebe olmayan gruplarda (SF veya suramin verilen) ise 20 gün boyunca kan basınçlarında belirgin bir değişiklik görülmedi (Şekil 4.2).



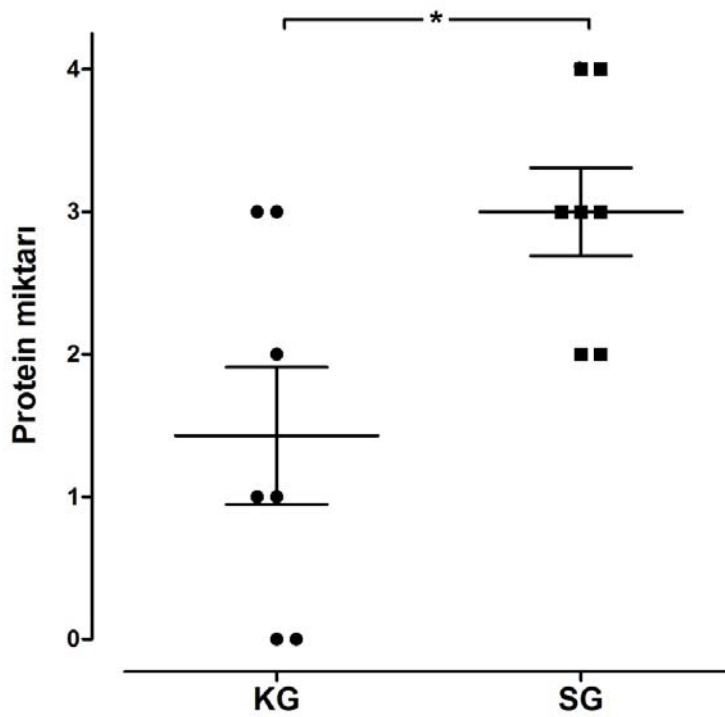
Şekil 4.1. Suramin verilen (SG) ve kontrol (KG) gebe sıçanlarda gebelik süresi boyunca sistolik kan basıncında meydana gelen değişiklikler. Her iki grupta da gebeliğin 10. gününe kadar kan basıncında yavaş gelişen bir azalma gözlemlendi. KG'de bu azalma devam ederken, SG'de suramin verilmesinden sonra kan basıncında artış meydana geldi. İki grup arasındaki fark 14. gün ve sonrasında anlamlı olarak bulundu. Oklar suramin ya da serum fizyolojik verilen günleri göstermektedir. * $P < 0,05$ KG'ye göre, $n=7$.



Şekil 4.2. Suramin verilen (S) ve kontrol (K) gebe olmayan sıçanlarda 20 gün boyunca sistolik kan basıncında meydana gelen değişiklikler. Her iki grupta da 20 günlük takip süresi boyunca kan basıncında değişiklik görülmedi. Oklar suramin ya da serum fizyolojik verilen günleri göstermektedir, n=4-6.

Gebeliğin sonunda (20. Gün) idrarda protein düzeyleri değerlendirildiğinde kontrol grubunda medyan 1 birim (yaklaşık 50 mg/dl), suramin verilenlerde ise 3 birim (yaklaşık 300 mg/dl) protein tespit edildi (Şekil 4.3).

Suramin verilen gebe sıçanlarda gebelik başına düşen plasenta ve fetüs sayılarında ve ağırlıklarında azalma saptandı (Tablo 4.2). KG'de ortalama plasenta ve fetüs ağırlıkları sırasıyla $0,49 \pm 0,01$ g ve $2,30 \pm 0,05$ g iken SG'de plasenta ve fetüs ağırlıkları sırasıyla $0,42 \pm 0,01$ ve $2,1 \pm 0,08$ g olarak bulundu ve KG'ye göre anlamlı olarak azaldı (Tablo 4.2).

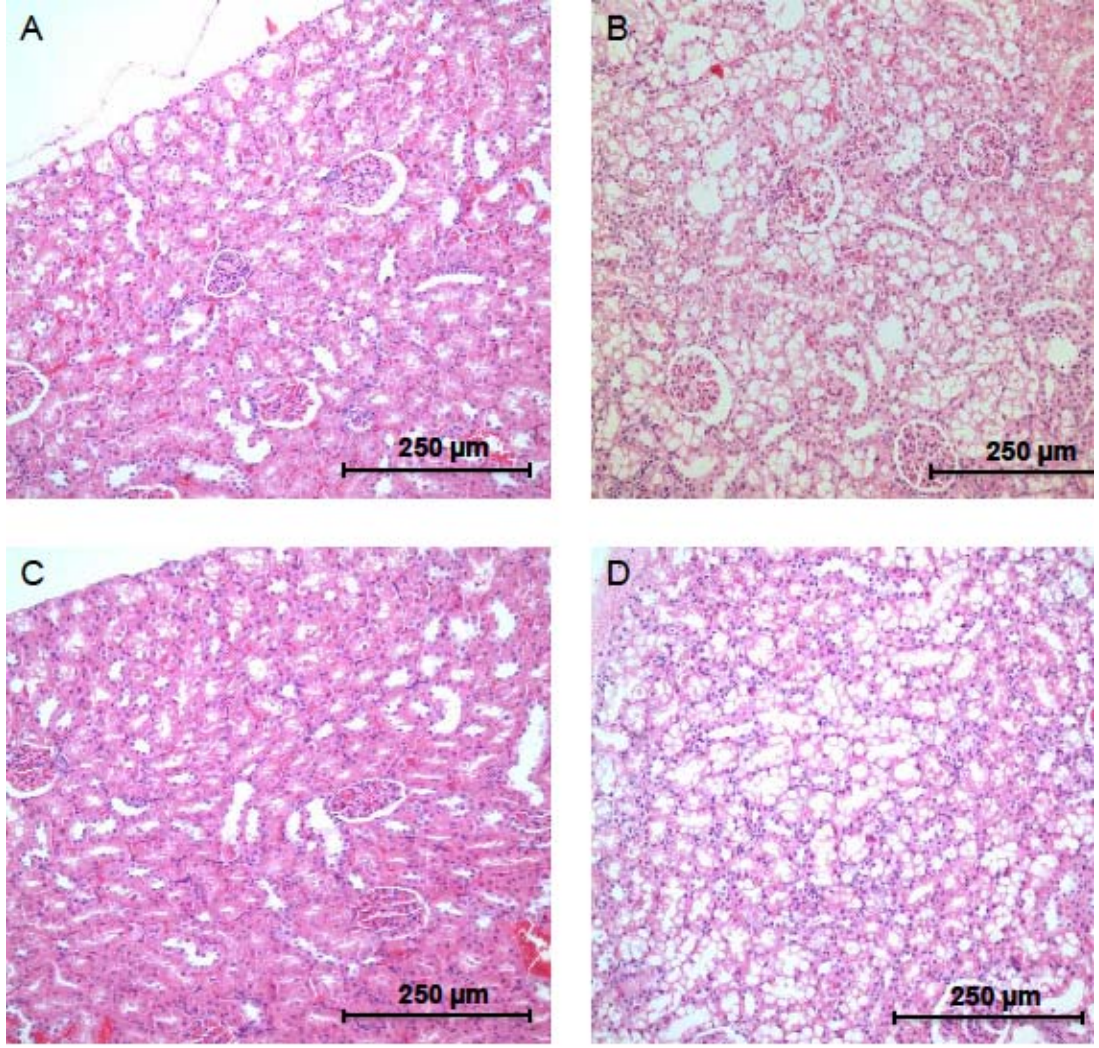


Şekil 4.3. Kontrol (KG) ve suramin verilen (SG) gebe sıçanlarda idrarda protein düzeyleri. Gebeliğin 20. gününde İdrar çubuklarıyla renk değişimi ile semi-kantitatif olarak değerlendirilen protein atılımı SG’de KG’ye göre anlamlı bir şekilde arttı. Çubukta görülen renk değişimine göre protein düzeyleri 5 farklı aralıkta derecelendirildi (0: <30 mg/dl; 1: 30-100 mg/dl; 2: 100-300 mg/dl; 3: 300-2000 mg/dl; 4: >2000 mg/dl). * $P < 0,05$ KG’ye göre, $n=7$.

Tablo 4.2. Kontrol ve suramin verilen gebe sıçanlarda doğum başına düşen ortalama fetüs sayısı ile fetüs ve plasenta ağırlıkları.

	Doğum başına düşen fetüs sayısı	Ortalama Plasenta ağırlığı (g)	Ortalama Fetüs ağırlığı (g)
KG	13,6 ± 0,6	0,49 ± 0,01	2,3 ± 0,05
SG	10,6 ± 1,2*	0,42 ± 0,01*	2,1 ± 0,08*

KG: Kontrol gebe, SG: Suramin gebe. * $P < 0,05$ KG’ye göre, $n=7$.



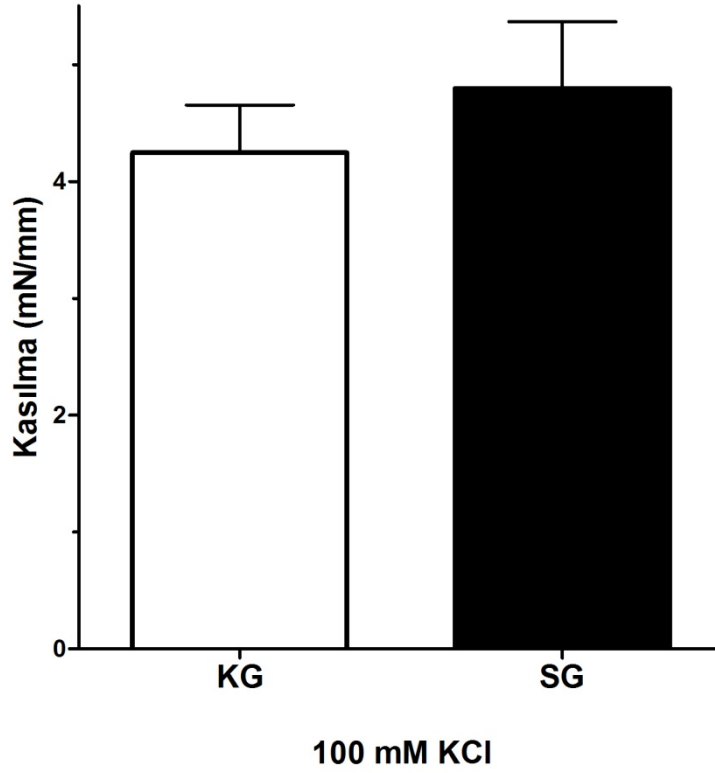
Şekil 4.4. Kontrol ve suramin verilen gebe ve gebe olmayan sıçanların hemotoksilen/eozin boyası ile boyanmış böbrek kesitlerinin mikroskopik görüntüleri. A: Gebe olmayan kontrol sıçan. B: Gebe olmayan suramin verilen sıçan. C: Kontrol gebe. D: Suramin verilen gebe. A ve C'de böbreklerde patolojik bir bulgu saptanmamıştır. Suramin verilen B ve D gruplarında ise yaygın şiddetli tübüler nekroz görülmektedir.

4.1.2. Suramin Verilen Sıçanlarda Histopatolojik Değişiklikler

Suramin ile indüklenen preeklampsi-benzeri sendromda hastalığın böbreklere olan etkisini incelemek amacıyla eksize edilen sol böbreklerden hazırlanan H&E ile boyanan kesitlerde kontrol gruplarda herhangi bir değişiklik görülmedi. Ancak suramin verilen hem gebe hem de gebe olmayan sıçanlarda akut tübüler nekroz geliştiği tespit edildi (Şekil 4.4). Özellikle proksimal tübüllerde yaygın ve şiddetli makrovakuolar dejenerasyon, bazı tübüllerde epitel hücrelerinde sitoplazmik parçalanma, karyoliz ve deskuamasyon görüldü.

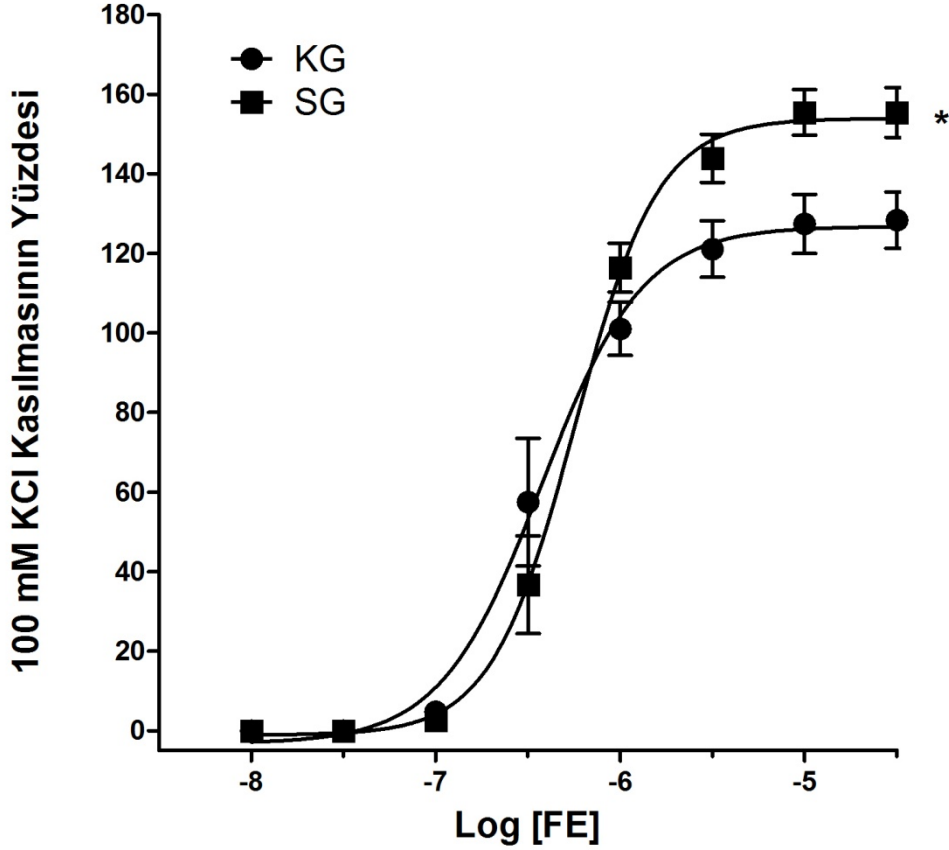
4.1.3. Suramin Verilen Sıçanlarda İzole Uterus Arterindeki Fonksiyonel Değişiklikler

Uterus arter segmentleri normalize edilerek yarım saat dinlendiriliktan sonra 100 mM KCl'ye olan yanıtları alındı. Gebe sıçanlarda her iki grup arasında kasılma yanıtları açısından fark görülmedi (Şekil 4.5). Gebe olmayan sıçanlarda bu kasılmalar gebelere göre daha az görüldü (Şekil 4.5). Kasılmalar arasındaki bu farktan dolayı sadece gebe sıçanların arter cevapları değerlendirildi.



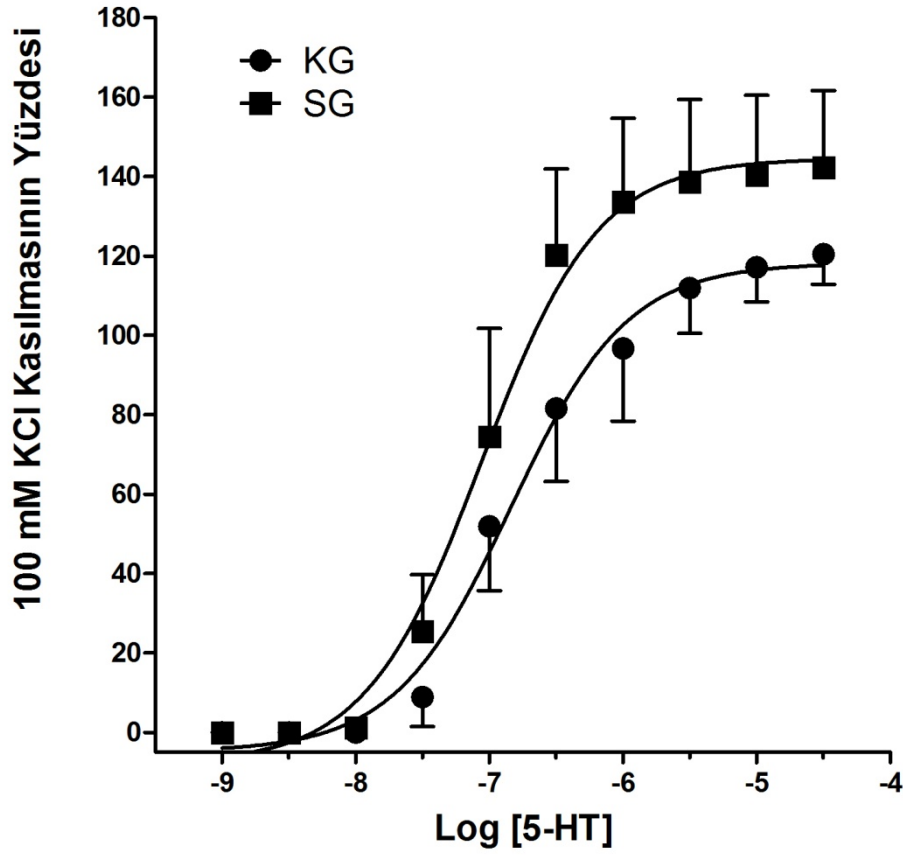
Şekil 4.5. Sıçanların izole uterus arter segmentlerinde 100 mM KCl uygulanması sonrasında elde edilen kasılma yanıtları. Kontrol gebe (KG) ve suramin verilen gebe (SG) sıçanların cevapları arasında fark görülmedi. KG: Kontrol gebe, SG: Suramin gebe, n=7.

İzole sıçan uterus arter segmentlerine FE (10^{-8} - 3×10^{-5} M) uygulanması sonrasında segmentlerde yavaş gelişen, 1-2 dk içinde plato yapan, platoya ulaştığında tonusunu kaybetmeyen ve yıkandığında normal bazal gerimine dönebilen bir kasılma yanıtı oluştu. FE kasılmaları açısından pD_2 değerleri KG ve SG için sırasıyla $6,42 \pm 0,06$ ve $6,24 \pm 0,04$ ve E_{maks} değerleri sırasıyla $126,7 \pm 4,6$ ve $153,9 \pm 3,5$ olarak bulundu (Tablo 4.3). Bu kasılmalar suramin verilen gebe grupta kontrol gebe gruba göre anlamlı olarak arttı (Şekil 4.6, Tablo 4.3). Gruplar arasında pD_2 değerleri açısından bir fark gözlenmezken SG'nin E_{maks} değeri KG'ye göre anlamlı olarak arttı.



Şekil 4.6. Kontrol (KG) ve suramin verilen (SG) gebe sıçanlarda izole uterus arterinde artan konsantrasyonlarda fenilefrin (FE) kasılmaları. Yanıtlar 100 mM KCl kasılmasının yüzde kasılması şeklinde ifade edilmiştir. SG’de kasılmalar anlamlı olarak arttı. * $P < 0,05$ KG’ye göre, $n=7$.

İzole sıçan uterus arter segmentlerine 5-HT (10^{-8} - 3×10^{-5} M) uygulanması sonrasında segmentlerde 1 dk içinde plato yapan, platoya ulaştığında tonusunu kaybetmeyen ve yıkandığında normal bazal gerimine dönebilen bir kasılma yanıtı oluştu. 5-HT kasılmaları açısından pD_2 değerleri KG ve SG için sırasıyla $6,84 \pm 0,14$ ve $7,06 \pm 0,18$ ve E_{maks} değerleri sırasıyla $118,2 \pm 6,3$ ve $144,5 \pm 9,1$ olarak bulundu (Tablo 4.3). Bu kasılmalar açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Şekil 4.7, Tablo 4.3). Ancak E_{maks} değerleri açısından SG’de KG’ye göre bir artış gözlemlendi.



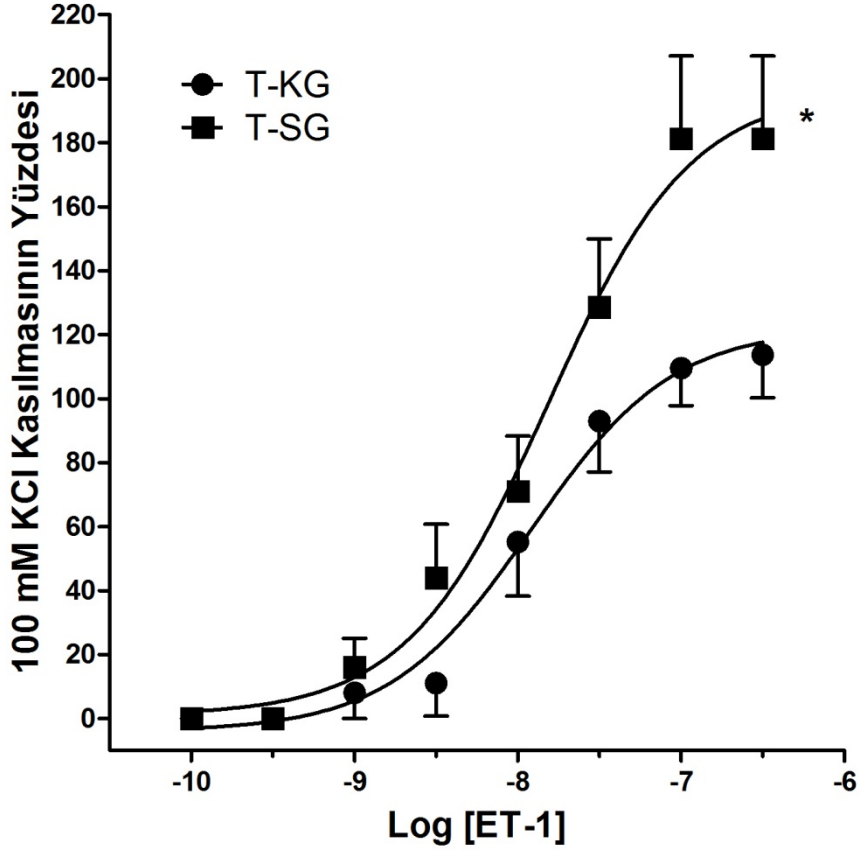
Şekil 4.7. Kontrol (KG) ve suramin verilen (SG) gebe sıçanlarda izole uterus arterinde serotonin (5-HT) kasılmaları. Yanıtlar 100 mM KCl kasılmasının yüzde kasılması şeklinde ifade edilmiştir. Bu kasılmalar açısından gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi, n=7.

Tablo 4.3. Kontrol gebe ve suramin verilen gebe sıçanların izole uterus arterinde kasıcı ajanların hesaplanan pD_2 ve E_{maks} değerleri.

	KG		SG	
	pD_2	E_{maks} (%)	pD_2	E_{maks} (%)
FE	$6,42 \pm 0,06$	$126,7 \pm 4,6$	$6,24 \pm 0,04$	$153,9 \pm 3,5^*$
5-HT	$6,84 \pm 0,14$	$118,2 \pm 6,3$	$7,06 \pm 0,18$	$144,5 \pm 9,1^*$
ET-1	$7,96 \pm 0,12$	$122,3 \pm 8,9$	$7,81 \pm 0,26$	$186,4 \pm 25,0^*$
PGF_{2α}	$6,91 \pm 0,13$	$96,6 \pm 5,6$	$6,79 \pm 0,18$	$157,9 \pm 12,6^*$

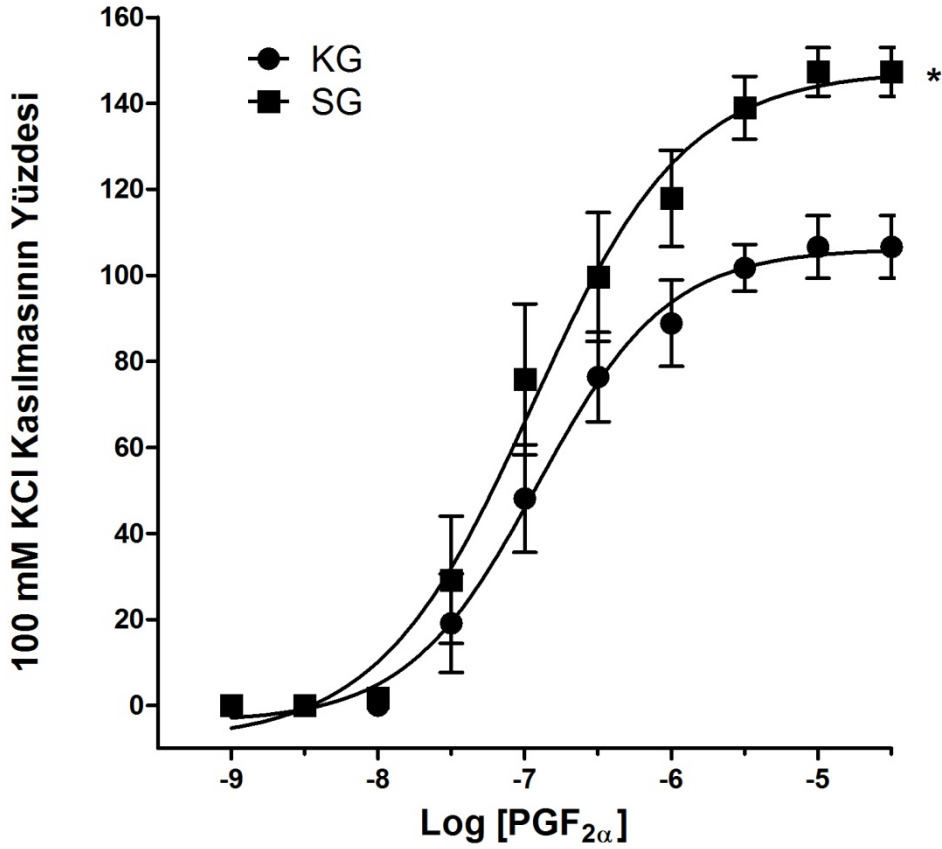
E_{maks} : % 100 mM KCl kasılmasına göre maksimum kasılma, pD_2 : Maksimum kasılmanın %50'sini oluşturan agonist konsantrasyonunun negatif logaritmasını ifade etmektedir. KG: Kontrol gebe, SG: Suramin gebe, FE: Fenilefrin, 5-HT: Serotonin, ET-1: Endotelin-1, PGF_{2α}: Prostaglandin F_{2α}.
* $P < 0,05$ KG'ye göre, $n=7$.

İzole sıçan uterus arter segmentlerine ET-1 (10^{-10} - 10^{-7} M) uygulanması segmentlerde çok yavaş gelişen, 5-10 dk'da plato yapan, platoya ulaştığında tonusunu kaybetmeyen ve yıkandığında normal bazal gerimine dönmeyen bir kasılma yanıtı oluşturdu. ET-1 kasılmaları açısından pD_2 değerleri KG ve SG için sırasıyla $7,96 \pm 0,12$ ve $7,81 \pm 0,26$ ve E_{maks} değerleri sırasıyla $122,3 \pm 8,9$ ve $186,4 \pm 25,0$ olarak bulundu (Tablo 4.3). Bu kasılmalar suramin verilen gebe grupta kontrol gebe gruba göre anlamlı olarak arttı (Şekil 4.8, Tablo 4.3). Bununla birlikte SG'nin E_{maks} değeri KG'ye göre anlamlı olarak arttı.



Şekil 4.8. Kontrol (KG) ve suramin verilen (SG) gebe sıçanlarda izole uterus arterinde endotelin-1 (ET-1) kasılmaları. Yanıtlar 100 mM KCl kasılmasının yüzde kasılması şeklinde ifade edilmiştir. SG’de kasılmalar anlamlı olarak arttı. * $P < 0,05$ KG’ye göre, $n=7$.

İzole sıçan uterus arter segmentlerine $\text{PGF}_{2\alpha}$ (10^{-9} - 10^{-5} M) uygulanması segmentlerde yavaş oluşan, 3-4 dk içinde zirve yapıp gevşeyen ve yıkandığında normal bazal gerimine dönebilen bir kasılma yanıtı oluşturdu. $\text{PGF}_{2\alpha}$ kasılmaları açısından pD_2 değerleri KG ve SG için sırasıyla $6,91 \pm 0,13$ ve $6,79 \pm 0,18$ ve E_{maks} değerleri sırasıyla $96,6 \pm 5,6$ ve $157,9 \pm 12,6$ olarak tespit edildi (Tablo 4.3). Bu kasılmalar suramin verilen gebelerde kontrol gebelere göre anlamlı olarak arttı (Şekil 4.9, Tablo 4.3). Ayrıca SG’nin E_{maks} değeri KG’ye göre anlamlı olarak arttı.



Şekil 4.9. Kontrol (KG) ve suramin verilen (SG) gebe sıçanlarda izole uterus arterinde prostaglandin- $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) kasılmaları. Artan $PGF_{2\alpha}$ konsantrasyonlarına alınan kasılma yanıtları 100 mM KCl kasılmasına oranlanarak yüzde kasılma şeklinde ifade edilmiştir. SG’de kasılmalar anlamlı olarak arttı. * $P < 0,05$ KG’ye göre, $n=7$.

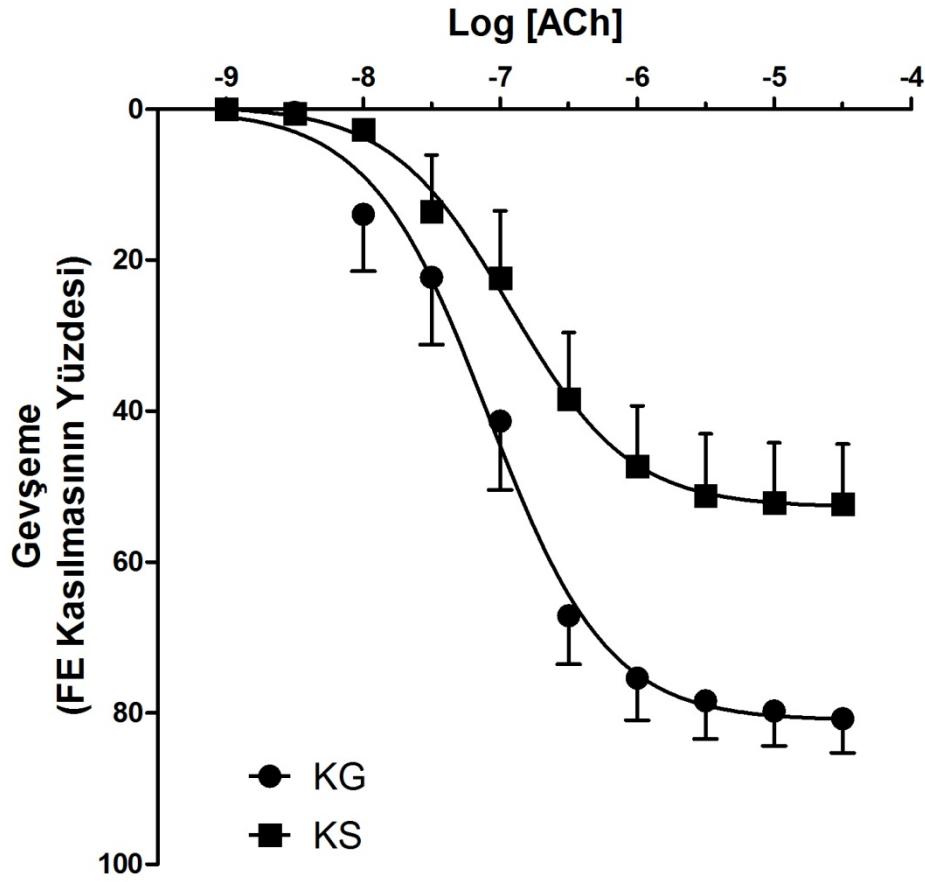
Submaksimum FE (10^{-7} - 5×10^{-7} M) ile oluşan kasılma platoya eriştiğinde artan konsantrasyonlarda ACh (10^{-8} - 3×10^{-5} M) verilerek endotele bağımlı gevşeme yanıtları incelendi. ACh gevşemeleri açısından pD_2 değerleri KG ve SG için sırasıyla $6,80 \pm 0,14$ ve $6,75 \pm 0,22$ ve E_{maks} değerleri ise sırasıyla $81,6 \pm 4,0$ ve $61,5 \pm 4,8$ olarak tespit edildi (Tablo 4.4). Bu gevşeme cevapları suramin verilen gebe sıçanlarda anlamlı olarak azaldı (Şekil 4.10). Bununla birlikte pD_2 değerleri açısından gruplar arasında bir fark görülmezken SG’de E_{maks} değerleri KG’ye göre anlamlı olarak azaldı.

Ayrıca tüm gruplarda FE (10^{-7} - 5×10^{-7} M) önkasılmasından sonra düz kası direkt gevşeten bir madde olan SNP (10^{-9} - 3×10^{-5} M) ile endotelden bağımsız gevşeme yanıtları incelendi. SNP gevşemeleri açısından pD_2 değerleri KG ve SG için sırasıyla $7,32 \pm 0,12$ ve $7,55 \pm 0,17$ ve E_{maks} değerleri sırasıyla $90,4 \pm 3,6$ ve $82,1 \pm 4,1$ olarak hesaplandı (Tablo 4.4) ve gruplar arasında bir fark görülmedi (Şekil 4.11, 4.4).

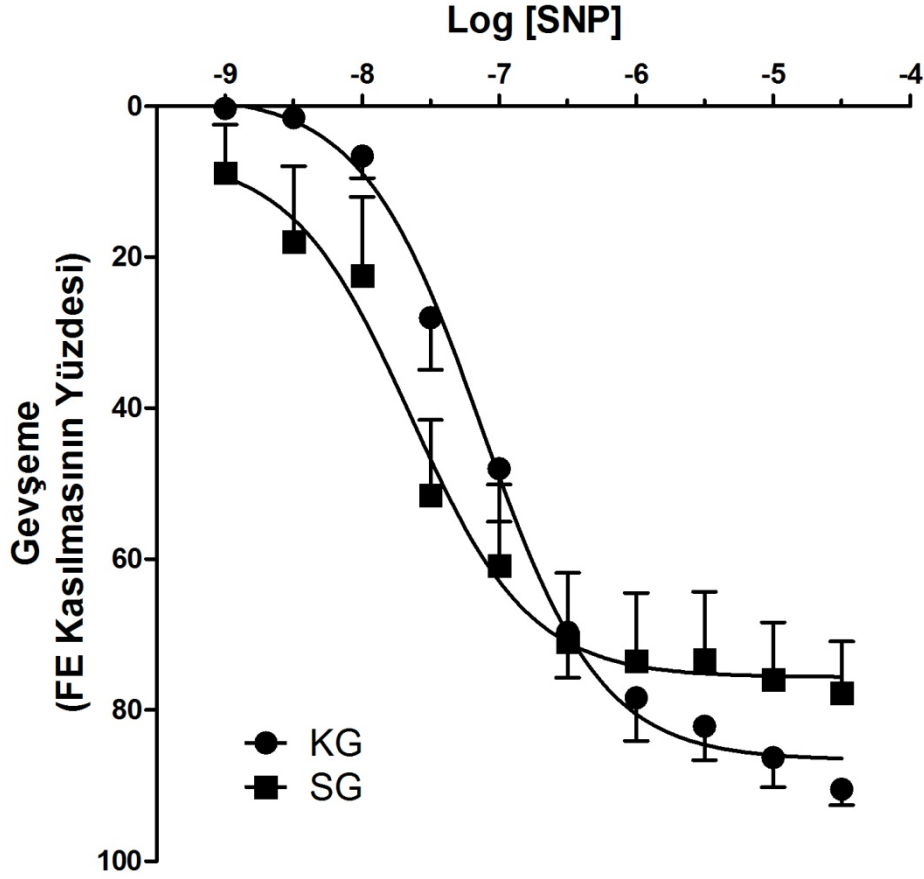
Tablo 4.4. Kontrol gebe ve suramin verilen gebe sıçanların izole uterus arterinde asetilkolin ve sodyum nitroprusiyat için hesaplanan pD_2 ve E_{maks} değerleri

	KG		SG	
	pD_2	E_{maks} (%)	pD_2	E_{maks} (%)
ACh	$6,80 \pm 0,14$	$81,6 \pm 4,0$	$6,75 \pm 0,22$	$61,5 \pm 4,8^*$
ACh+L-NAME	$6,60 \pm 0,28$	$36,1 \pm 4,1^\dagger$	$6,20 \pm 0,28$	$31,5 \pm 4,1^\dagger$
SNP	$7,32 \pm 0,12$	$90,4 \pm 3,6$	$7,55 \pm 0,17$	$82,1 \pm 4,1$

E_{maks} : % Submaksimum fenilefrin kasılmasına göre maksimum gevşeme, pD_2 : Maksimum gevşemenin %50'sini oluşturan agonist konsantrasyonunun negatif logaritmasını ifade etmektedir. KG: Kontrol gebe, SG: Suramin gebe, ACh: Asetilkolin, L-NAME: N^ω -Nitro-L-Arginine metil ester, SNP: sodyum nitroprusiyat. $^*P < 0,05$ KG'ye göre, $^\dagger P < 0,05$ ACh'ye göre, n=5-7.



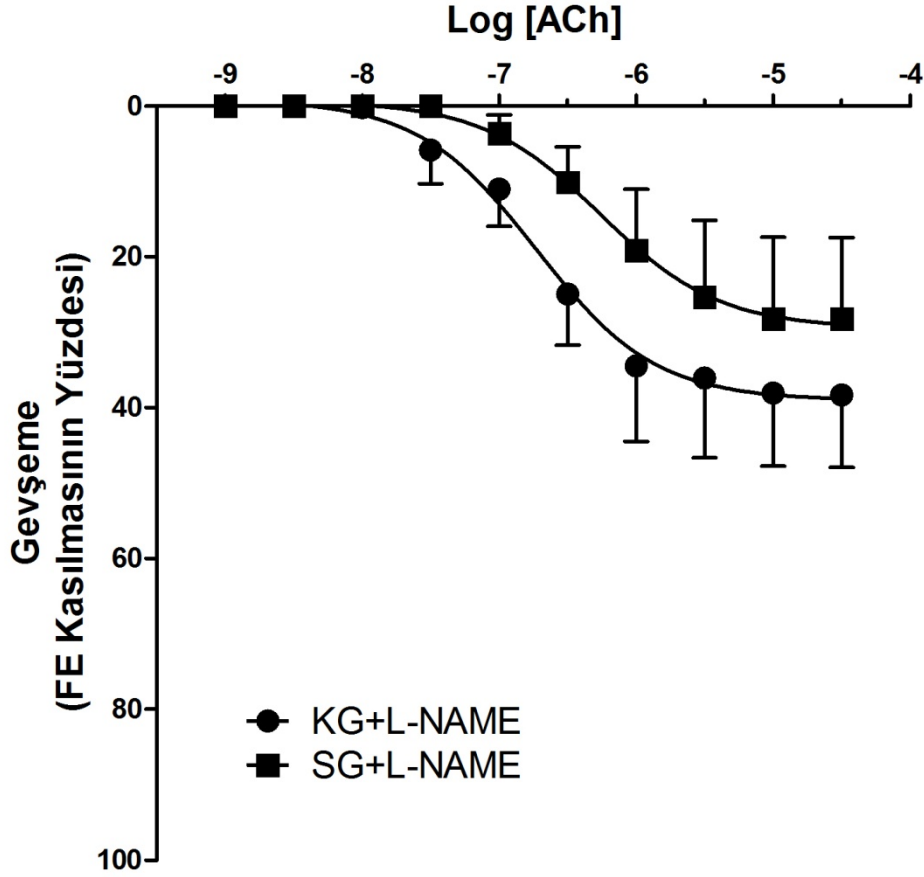
Şekil 4.10. Kontrol (KG) ve suramin verilen (SG) gebe sıçanların izole uterus arterinde asetilkolin (ACh) gevşemeleri. Gevşemeler submaksimum fenilefrin (10^{-7} - 5×10^{-7} M) kasılmasının yüzde gevşemesi olarak ifade edilmiştir. SG’de anlamlı bir şekilde ACh gevşemelerinde azalma gerçekleşti. KG: Kontrol gebe, SG: Suramin gebe. * $P < 0,05$, KG’ye göre, $n=7$.



Şekil 4.11. Kontrol (KG) ve suramin verilen (SG) gebe sıçanların izole uterus arterinde sodyum nitroprusiyat (SNP) gevşemeleri. Gevşemeler submaksimum fenilefrin (10^{-7} - 5×10^{-7} M) kasılmasının yüzde gevşemesi olarak ifade edilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gerçekleşmedi. KG: Kontrol gebe, SG: Suramin gebe, n=5-6.

Uterus arterinde ACh ile oluşan gevşemelerin NO ile ilişkisini incelemek amacıyla NO sentezini engelleyen L-NAME (10^{-4} M) varlığında gevşeme cevapları tekrarlandı. L-NAME tüm gruplarda ACh gevşemelerini anlamlı olarak azalttı ve her iki gebe grubun gevşemeleri arasındaki farklılığı ortadan kaldırdı (Şekil 4.12 ve Tablo 4.4). L-NAME varlığında ACh gevşemeleri açısından pD_2 değerleri KG ve SG için sırasıyla $6,60 \pm 0,28$ ve $6,20 \pm 0,28$ ve E_{maks} değerleri sırasıyla $36,1 \pm 4,1$ ve $31,5 \pm 4,1$ olarak bulundu ve gruplar arasında bir farklılık bulunmadı (Tablo 4.4). Bununla

birlikte her iki grubun E_{maks} değerleri ortamda L-NAME bulunmadan alınan ACh gevşemelerine göre anlamlı olarak azaldı (Tablo 4.4)



Şekil 4.12. Kontrol (KG) ve suramin verilen (SG) gebe sıçanlarda izole uterus arterinde L-NAME (10^{-4} M) varlığında alınan asetilkolin (ACh) gevşemeleri. Gevşemeler submaksimum fenilefrin (FE, 10^{-7} - 5×10^{-7} M) kasılmasının yüzde gevşemesi olarak ifade edilmiştir. L-NAME tüm gruplarda ACh gevşemelerini anlamlı olarak azalttı ve her iki gebe grubun gevşemeleri arasındaki farklılığı ortadan kaldırdı. * $P < 0,05$ KG'ye göre, $^{\dagger}P < 0,05$ SG'ye göre, $n=5-6$.

4.2 Suraminin Oluşturduğu Preeklampsi-Benzeri Sendromda Oluşan Değişiklikler Üzerine Nebivololün Etkileri

4.2.1. Nebivololün Preeklampsi-Benzeri Sendromda Gözlenen Fizyolojik Değişiklikler Üzerine Etkileri

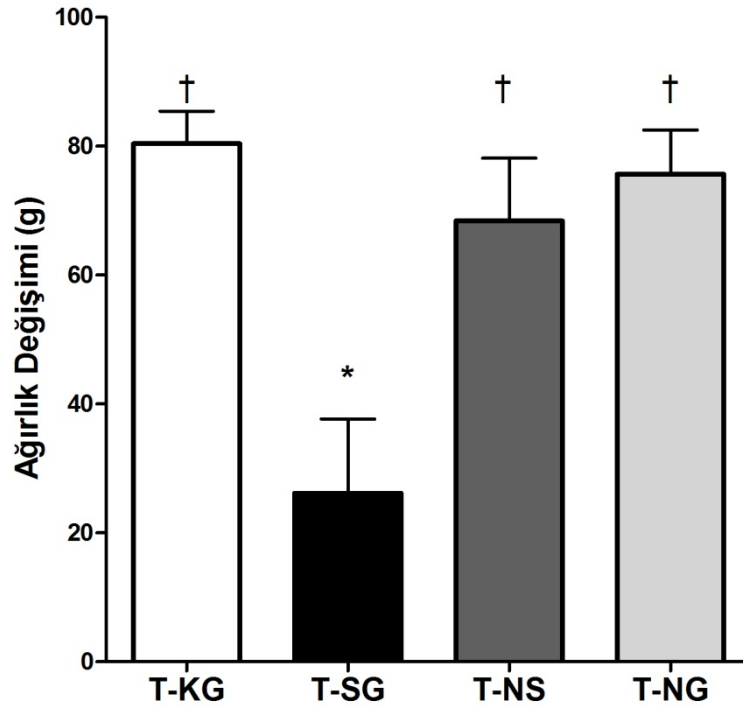
Preeklampsi-benzeri sendromda, nebivololün etkilerini incelemek için 4 tedavi grubu oluşturuldu: Kontrol gebe (T-KG), suramin gebe (T-SG), nebivolol suramin (T-NS) ve nebivolol gebe (T-NG). Her grup için n sayısı 8 olarak belirlendi. Takip sırasında ölen ya da doğuran hayvanlar çalışma dışı bırakıldı.

Tüm sıçanların 20 gün boyunca kan basınçları ve ağırlıkları takip edildi. Sıçanların gebelikten önceki ağırlıkları karşılaştırıldığında her dört grup arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 4.5, Şekil 4.13). Ağırlık değişimi T-KG'de $80,0 \pm 5,1$ g (% $37,1 \pm 3,7$), T-SG'de $26,1 \pm 11,5$ g (% $11,7 \pm 5,2$), T-NS'de $68,4 \pm 9,8$ g (% $31,1 \pm 4,6$) ve T-NG'de $75,6 \pm 6,9$ g (% $33,6 \pm 5,0$) olarak hesaplandı. T-SG'de oluşan düşük kilo alımı ve bu parametrenin nebivolol ile geri çevrilmesi istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 4.5, Şekil 4.13). T-NG'de T-KG'ye göre meydana gelen azalma anlamlı değildi (Tablo 4.5, Şekil 4.13).

Tablo 4.5. Nebivololün gebe sıçanlarda gebelik süresince oluşan ağırlık değişimi üzerine etkisi.

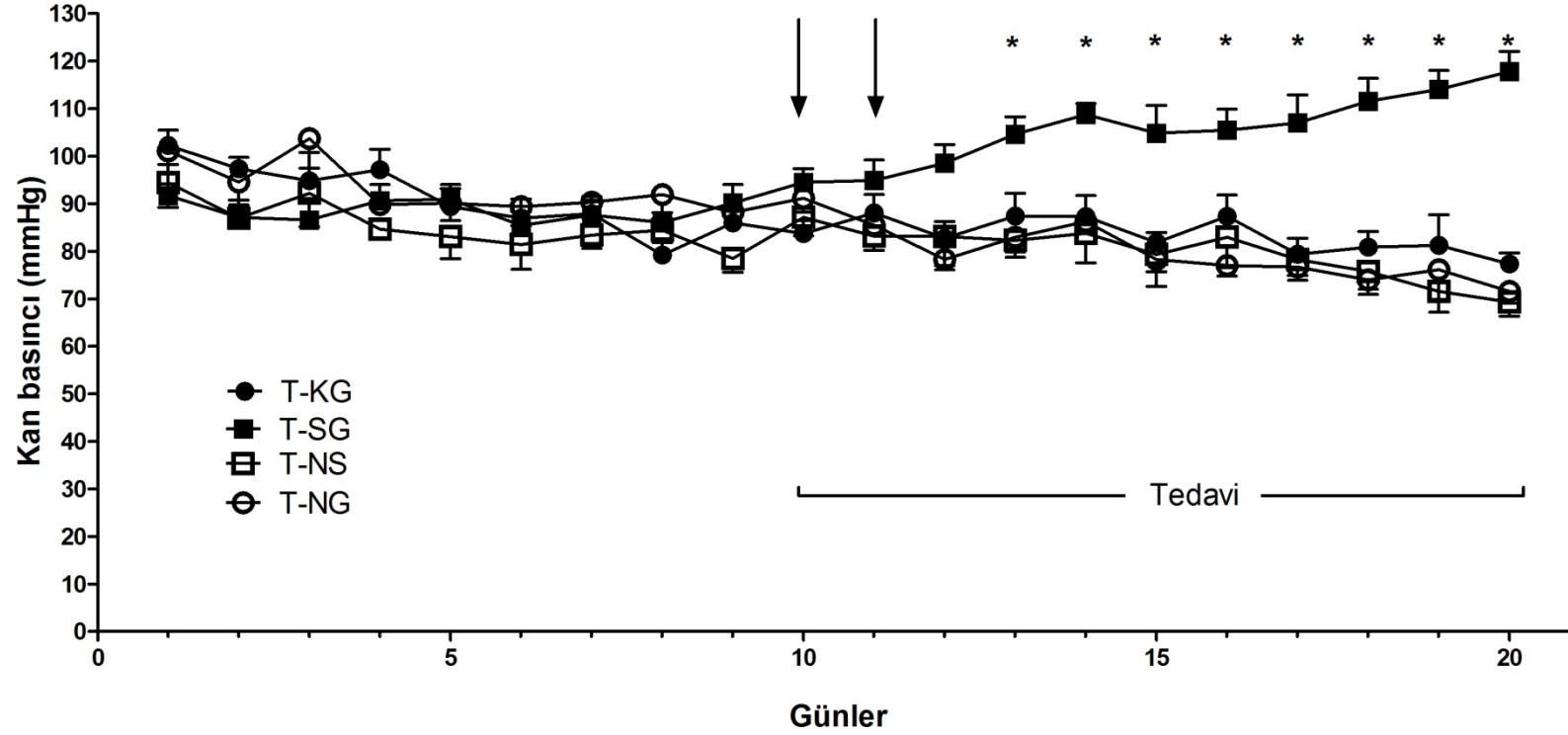
	Başlangıç ağırlığı (g)	Ortalama ağırlık değişimi (g)	Yüzde ağırlık değişimi (%)
T-KG	$220,0 \pm 6,4$	$+80,0 \pm 5,1^{\dagger}$	$37,1 \pm 3,7^{\dagger}$
T-SG	$222,1 \pm 5,7$	$+26,1 \pm 11,5^*$	$11,7 \pm 5,2^*$
T-NS	$222,1 \pm 7,6$	$+68,4 \pm 9,8^{\dagger}$	$31,0 \pm 4,6^{\dagger}$
T-NG	$230,2 \pm 6,2$	$+75,6 \pm 6,9^{\dagger}$	$33,6 \pm 5,0^{\dagger}$

T-KG: Kontrol gebe, T-SG: Suramin gebe, T-NS: Nebivolol suramin, T-NG: Nebivolol gebe. * $P < 0,05$ T-KG'ye göre, $^{\dagger}P < 0,05$ T-SG'ye göre, n=6-8.



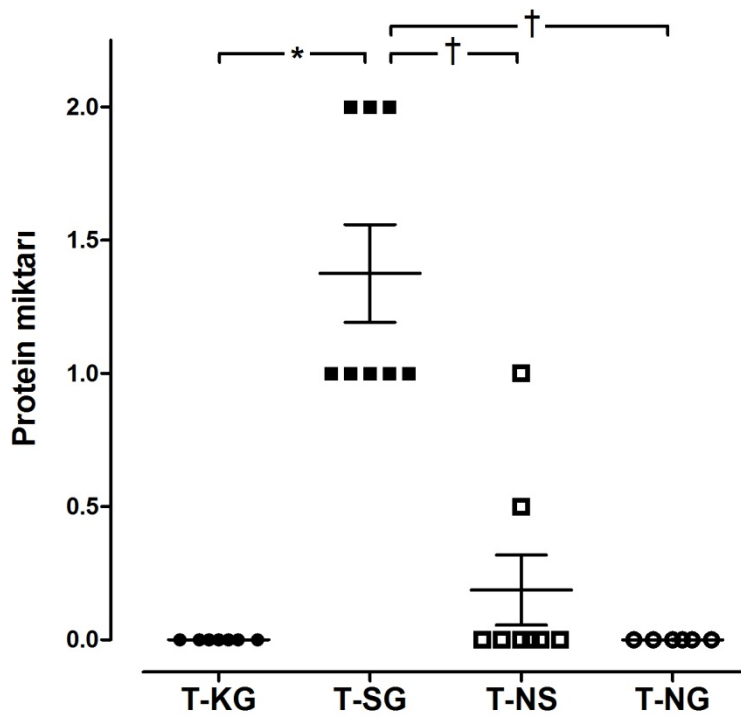
Şekil 4.13. Nebivololün gebelikte meydana gelen ağırlık değişimleri üzerine etkisi. T-SG'deki ağırlık değişimi diğer gruplara göre anlamlı olarak daha düşük bulundu. Nebivolol tedavisi ile bu durum düzeldi. T-KG: Kontrol gebe, T-SG: Suramin gebe, T-NS: Nebivolol suramin, T-NG: Nebivolol gebe. * $P < 0,05$ T-KG'ye göre, † $P < 0,05$ T-SG'ye göre, $n=6-8$.

Gebelikten önceki sistolik kan basınçları T-KG 'nin $102,3 \pm 3,2$ mmHg, T-SG'nin $91,7 \pm 6,6$ mmHg, T-NS'nin $94,5 \pm 5,2$ mmHg ve T-NG'nin $101,1 \pm 7,0$ mmHg olarak bulundu. Gebelikten önceki kan basınçları açısından değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Gebeliğin ilerlemesi ile kan basınçlarında T-SG grubu dışında yavaş gelişen bir azalma gözlemlendi. Bu azalma T-KG'de % 31, T-NG'de % 34 ve T-NS'de % 31 oranında bulundu. T-SG'de ise 10. güne kadar azalma devam etti, gebeliğin 10. ve 11. günlerinde suramin verilmesiyle kan basıncında giderek artan ve 13. günden sonra anlamlı olan bir yükselme meydana geldi. Bu yükselme başlangıç değerine göre % 10 olarak tespit edildi (Şekil 4.14). Nebivolol tedavisi ile bu artış engellendi (Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Nebivololün gebe sıçanlarda gebelik süresi boyunca sistolik kan basıncında meydana gelen değişiklikler üzerine etkisi. Kontrol gebe (T-KG), neбиволol suramin (T-NS) ve neбиволol gebe (T-NG)'de gebelikte kan basıncında yavaş gelişen bir azalma saptandı. Suramin gebe (T-SG)'de suramin verilmesini takiben kan basıncında yükselme gözlemlendi. Oklar suramin ya da serum fizyolojik verilen günleri göstermektedir.* $P < 0,05$ T-KG'ye göre, $n = 6-8$.

Gebeliğin sonunda (20. Gün) idrarda protein düzeyleri değerlendirildiğinde suramin verilmeyen gruplarda (T-KG ve T-NG) proteinüri görülmezken, T-SG'de medyan 1 birim (yaklaşık 30-100 mg/dl) protein saptandı (Şekil 4.15). Nebivolol tedavisi suramin ile preeklampsi-benzeri sendrom oluşturulan hayvanlarda idrarda protein atılımını azalttı (Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Nebivololün idrarda protein düzeylerine etkisi. Gebeliğin yirminci gününde alınan idrar örneklerinde gebeliğin ilk gününe göre kontrol gebe (T-KG) ve nebivolol gebe (T-NG)'de idrarda protein artışı saptanmazken suramin gebe (T-SG)'de idrarda protein atılımı artmıştır. Nebivolol tedavisi (T-NS) idrarda artmış olan protein atılımını azaltmaktadır. Çubukta görülen renk değişimine göre protein düzeyleri 5 farklı aralıkta derecelendirildi (0: <30 mg/dl; 1: 30-100 mg/dl; 2: 100-300 mg/dl; 3: 300-2000 mg/dl; 4: >2000 mg/dl). * $P < 0,05$ T-KG'ye göre, $^{\dagger}P < 0,05$ T-SG'ye göre, $n=6-8$.

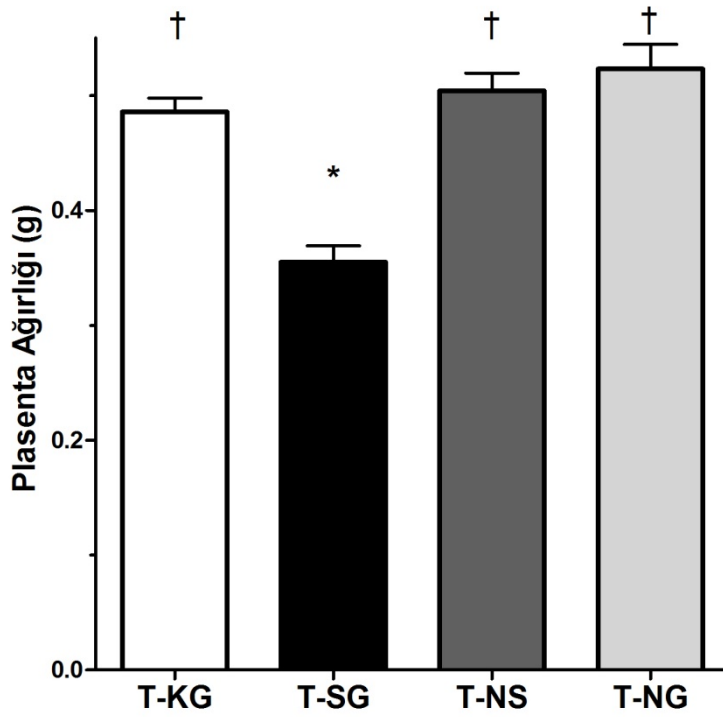
Gebe sıçanlara suramin verilmesi ile gebelik başına düşen plasenta ve fetüs sayılarında ve ağırlıklarında azalma saptandı (Şekil 4.16, 4.17, 4.18, Tablo 4.6), bu azalma nebivolol ile kontrol değerlere yükseldi (Şekil 4.16, 4.17, 4.18).

Suramin verilen grupta (T-SG) gebelik başına $3,6 \pm 1,6$ olmak üzere fetüslerde rezorpsiyon gözlemlendi. Nebivolol tedavisi verilen grupta ise bu durum azaldı ancak anlamlı değildi (T-NS, $1,6 \pm 1,1$ /gebelik). Kontrol sıçanlarda (T-KG) gebelik sırasında fetüs rezorpsiyonu gözlenmezken T-NG'de hafif düzeyde görüldü ($0,17 \pm 0,1$ /gebelik).

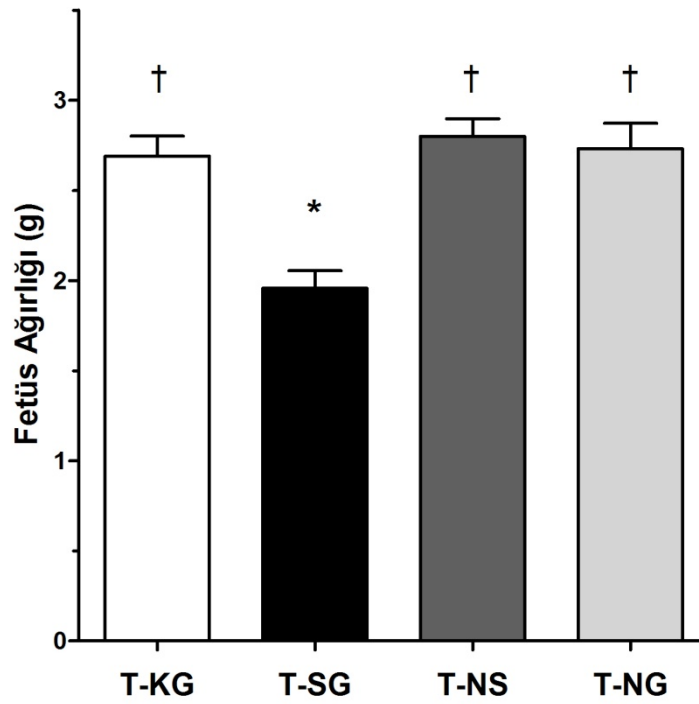
Tablo 4.6. Nebivololün gebe sıçanlarda doğum başına düşen ortalama fetüs sayısı ile fetüs ve plasenta ağırlıkları üzerine etkileri.

	Doğum başına düşen fetüs sayısı	Ortalama Plasenta ağırlığı (g)	Ortalama Fetüs ağırlığı (g)
T-KG	$13,0 \pm 1,1$	$0,49 \pm 0,01$	$2,69 \pm 0,4^{\dagger}$
T-SG	$7,3 \pm 1,8^*$	$0,36 \pm 0,01^*$	$2,0 \pm 0,1^*$
T-NS	$11,0 \pm 1,4$	$0,50 \pm 0,01$	$2,8 \pm 0,1^{\dagger}$
T-NG	$8,8 \pm 1,9$	$0,52 \pm 0,01$	$2,7 \pm 0,1^{\dagger}$

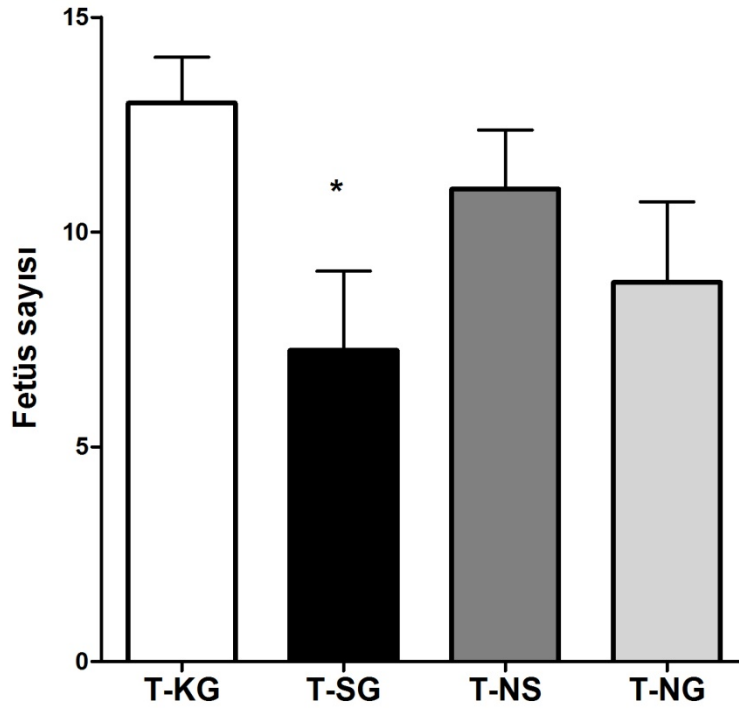
T-KG: Kontrol gebe, T-SG: Suramin gebe, T-NS: Nebivolol suramin, T-NG: Nebivolol gebe. $^*P<0,05$ T-KG'ye göre, $^{\dagger}P<0,05$ T-SG'ye göre, n=6-8.



Şekil 4.16. Nebivololün gebelik başına düşen ortalama plasenta ağırlıkları üzerine etkisi. Ortalama plasenta ağırlığı suramin gebe (T-SG)'de azalmış, nebivolol suramin (T-NS)'de normale dönmüştür. T-KG: Kontrol gebe, T-NG: Nebivolol gebe. * $P < 0,05$ T-KG'ye göre, † $P < 0,05$ T-SG'ye göre, $n=6-8$.

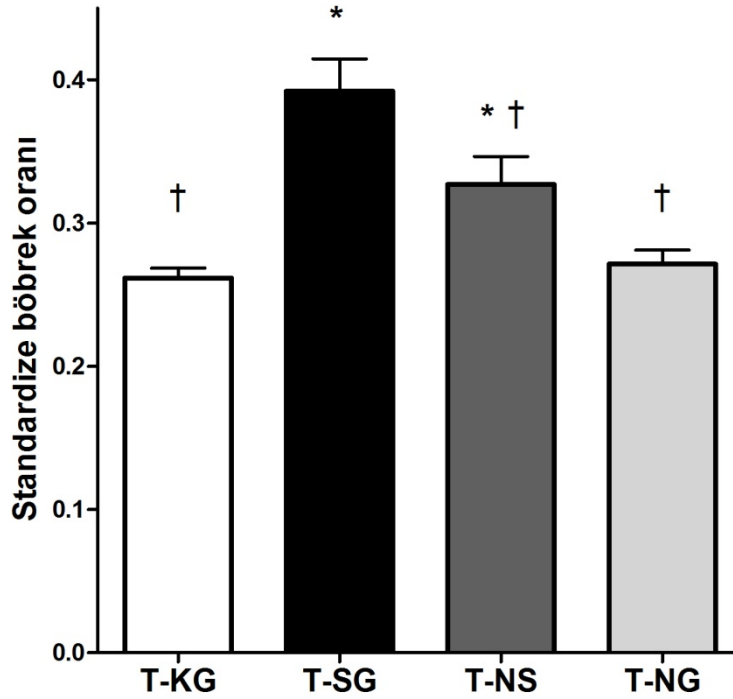


Şekil 4.17. Nebivololün doğum başına düşen ortalama fetüs ağırlıkları üzerine etkileri. Ortalama fetüs ağırlığı suramin gebe (T-SG)'de azalmış, nebivolol suramin (NS)'de kontrol düzeylerine dönmüştür. T-KG: Kontrol gebe, T-NG: Nebivolol gebe. * $P < 0,05$ T-KG'ye göre, † $P < 0,05$ T-SG'ye göre, $n=6-8$.



Şekil 4.18. Nebivololün doğum başına düşen ortalama fetüs sayısı üzerine etkileri. Ortalama fetüs sayısı suramin gebe (T-SG)'de azalmış, olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildir. T-KG: Kontrol gebe, T-NS: Nebivolol suramin, T-NG: Nebivolol gebe. * $P < 0,05$, $n = 6-8$.

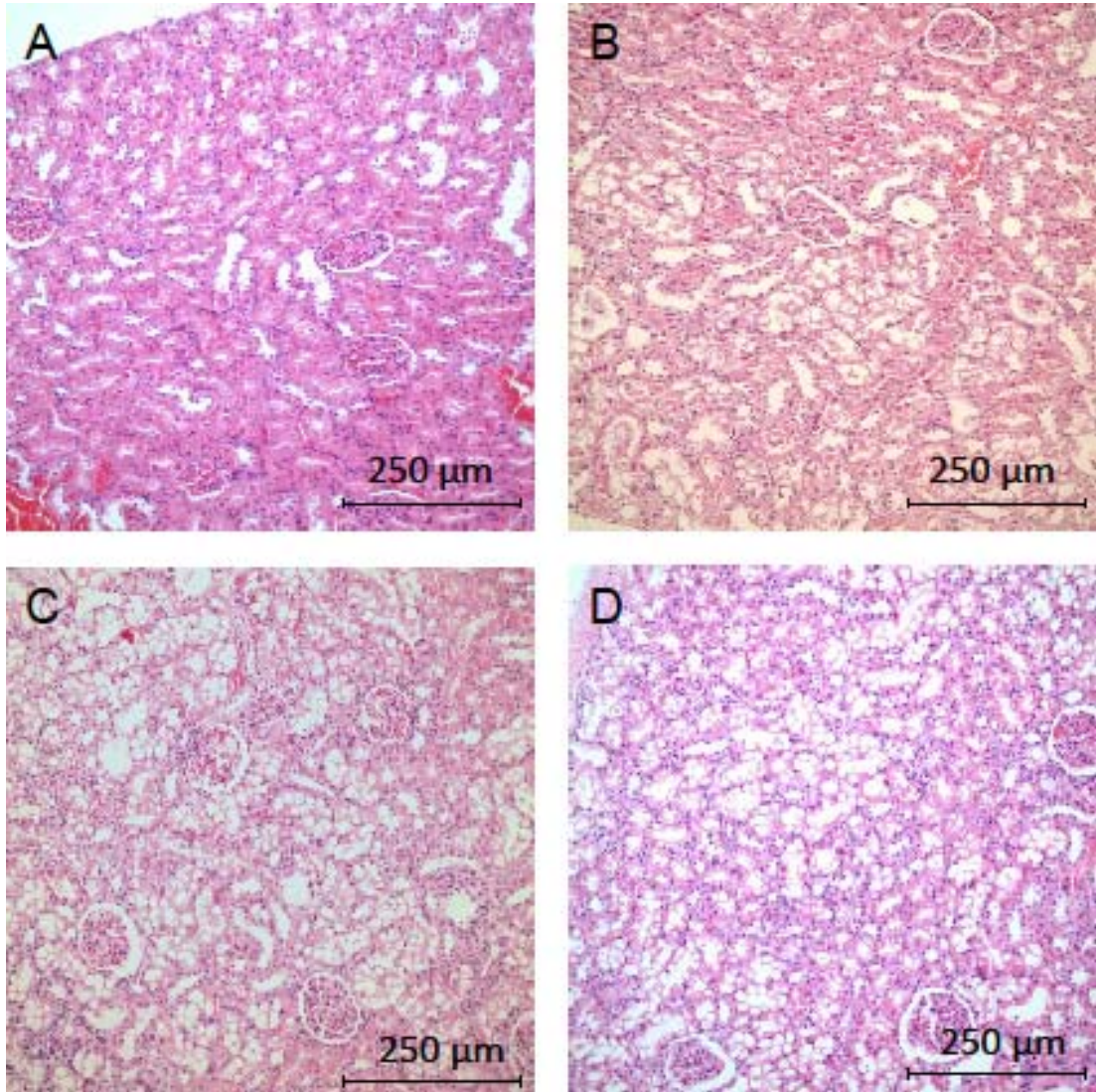
Ortalama böbrek ağırlıkları suramin verilmesi sonucunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artarken, nebivolol tedavisi bu artış üzerine bir etki göstermedi (T-KG, $0,71 \pm 0,09$ g, T-SG, $0,96 \pm 0,04$ g, T-NS, $0,93 \pm 0,02$ g ve T-NG, $0,83 \pm 0,09$ g). Grupların standardize böbrek oranları değerlendirildiğinde ise suramin verilen gebelerde kontrole göre anlamlı bir artış gözlenirken nebivolol tedavisi ile bu oranda anlamlı bir azalma görüldü, ancak kontrol değerlere düşürmedi (Şekil 4.19). T-NG değeri kontrolle benzer bulundu (Şekil 4.19).



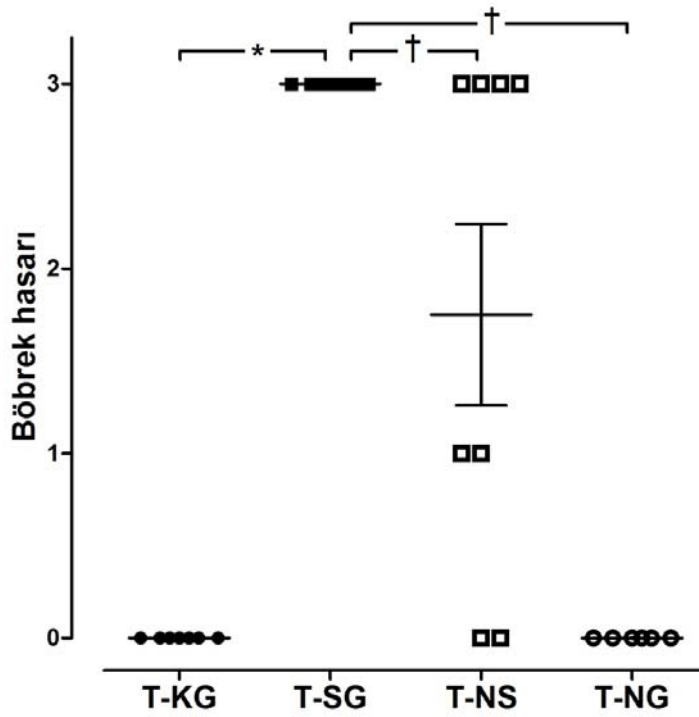
Şekil 4.19. Nebivololün standardize böbrek oranı üzerine etkisi. Vücut ağırlığına oranlanmış böbrek ağırlığını ifade eden standardize böbrek oranı suramin gebe (T-SG)'de kontrol gebe (T-KG)'ye göre artmış, nebivolol suramin (T-NS)'de T-SG'ye göre bu artış daha az olmaktadır. T-NG: Nebivolol gebe. * $P < 0,05$ T-KG'ye göre, † $P < 0,05$ T-SG'ye göre, $n=6-8$.

4.2.2. Nebivololün Preeklampsi-Benzeri Sendromda Histopatolojik Değişiklikler Üzerine Etkileri

Patolojik olarak incelenen böbrek kesitlerinde T-SG'de tüm kesitlerde şiddetli akut tübüler nekroz ile uyumlu görünüm gözlemlendi. T-NS'de 8 kesitin 4'ünde akut tübüler nekroz bulgusunun devam ettiği, 2'sinde fokal bir kaç alan hariç böbrek dokusunun normal olduğu, 2'sinde ise tamamen iyileşmiş böbrek dokusu görüldü. T-KG ve T-NG'de tamamiyle normal böbrek görünümü mevcuttu.

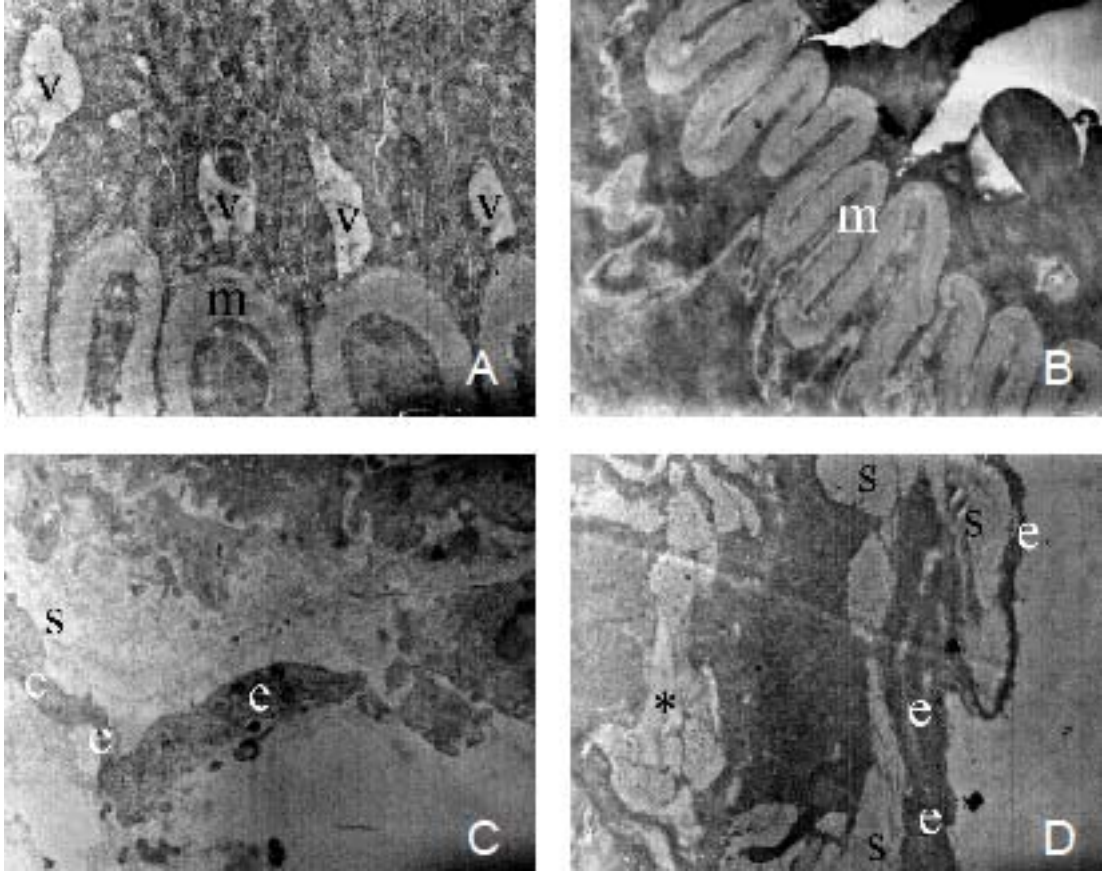


Şekil 4.20. Sıçanların böbreklerinden hazırlanan kesitlerin ışık mikroskobunda görülen tübüler hasar ve semi-kantitatif değerlendirilmesi için yapılan skora örneği. Skor 0: Normal (A), Skor 1: Fokal tübüler nekroz (B), Skor 2: Böbrek dokusunun yarısında tübüler hasar (C) ve Skor 3: Böbrek dokusunun tümünde tübüler hasar (D).



Şekil 4.21. Sıçan böbrek dokusunda mikroskopik açıdan semi-kantitatif skorlanarak elde edilen tübüler hasar üzerine preeklampsi-benzeri sendromun ve bu sendromda kronik nebivolol tedavisinin etkileri. T-KG: Kontrol gebe, T-SG: Suramin gebe, T-NS: Nebivolol suramin, T-NG: Nebivolol gebe * $P < 0,05$ KG'ye göre, † $P < 0,05$ T-SG'ye göre n=6-8.

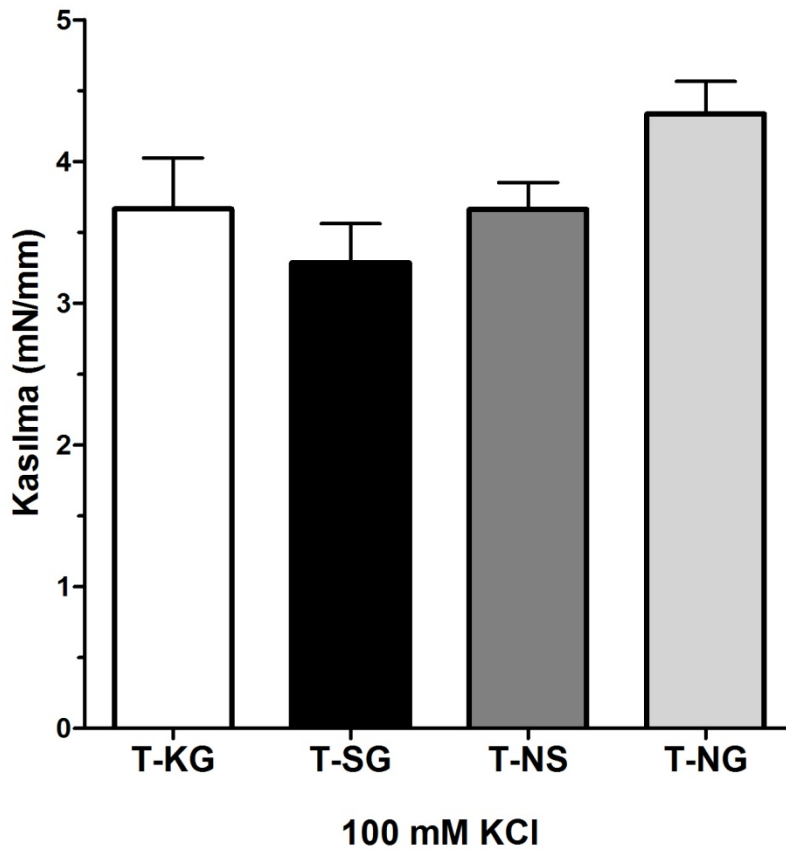
Alınan uterus arteri örneklerinin transmisyon elektron mikroskop ile yapılan ultrastrüktürel incelemelerinde endotel hücrelerinde tüm gruplarda endotel bütünlüğünün korunduğu ancak T-NS ve T-NG gruplarında endotelde yer yer incelmeler olduğu görüldü. Subendotelyal tabakada T-KG'de vakuoller, T-NS ve T-NG'de yoğun ödem tespit edildi. *Membrana elastica internada* T-KS'de çok şiddetli T-KG'de orta şiddette ve T-NS ve T-NG'de hafif şiddette vazospazm saptandı. *Tunica mediadaki* düz kaslarda T-KG'de orta derecede, T-NS ve T-NG'de ise yoğun derecede intrasellüler ve intersellüler ödem tespit edildi. *Tunica adventisyada* yer alan kollajen lifler, fibroblastlar ve diğer bağ doku elemanları ultrastrüktürel olarak tüm gruplarda normal idi (Şekil 4.22).



Şekil.4.22. Uterus arterinin transmisyon elektron mikroskopisi ile ultrastrüktürel incelenmesi. Tüm gruplarda endotel bütünlüğü korunmuştur. *Membrana elastica internada* A. Kontrol gebe (T-KG)'de orta şiddette, B. Suramin gebe (TKG)'de çok şiddetli ve C. Nebivolol suramin (T-NS) ile D. Nebivolol gebe (T-NG)'de hafif şiddette vazospazm saptanmıştır. T-NS ve T-NG'de endotelin yer yer incelendiği görülmüştür. e: Endotel hücresi, m: *Membrana elastica interna*, s: Subendotelyal ödem, v: Hücre içi vakuol, *: Hücreler arası ödem. Fotoğraflar orijinal büyütmeX6000 büyüklüğünde çekilmiştir.

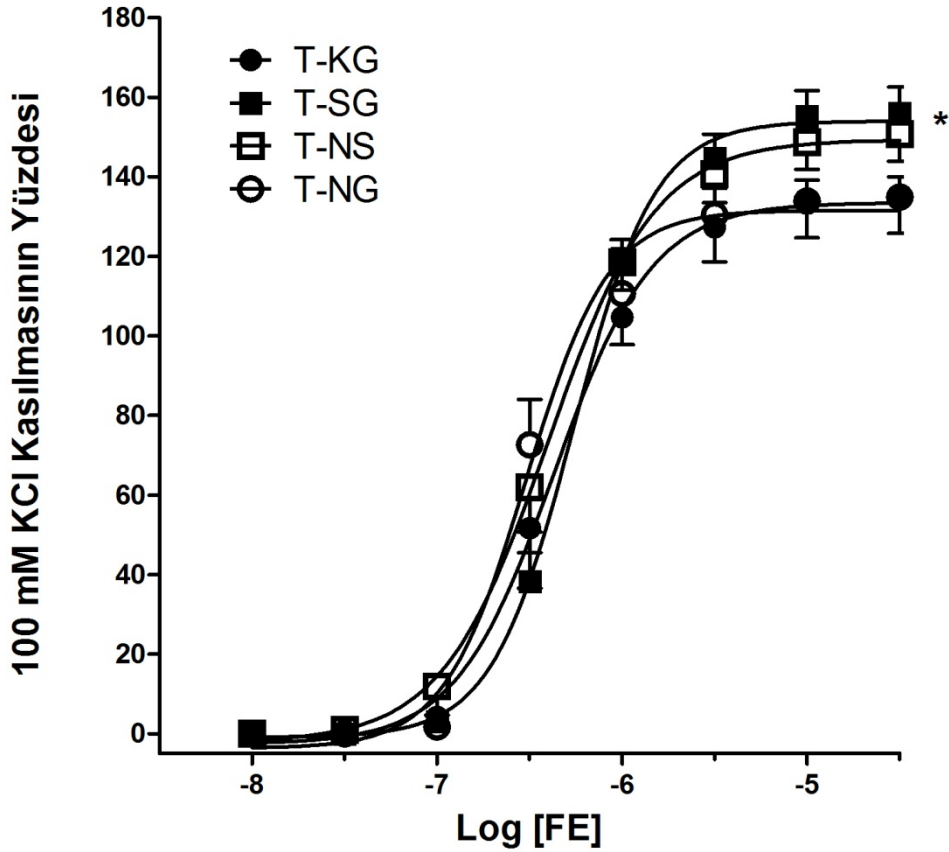
4.2.3. Nebivololün Preeklampsi-Benzeri Sendromda İzole Uterus Arterindeki Fonksiyonel Değişiklikler Üzerine Etkileri

İzole uterus arter yanıtlarını standardize etmek amacıyla preparatlar yarım saat dinlendirildikten sonra 100 mM KCl ile kastırıldı. Gruplar arasında 100 mM KCl kasılmaları açısından fark bulunmadı (Şekil 4.23). Tüm deneylerde kullanılan kasıcı ajanların yanıtları 100 mM KCl kasılmasının yüzdesi olarak ifade edildi.



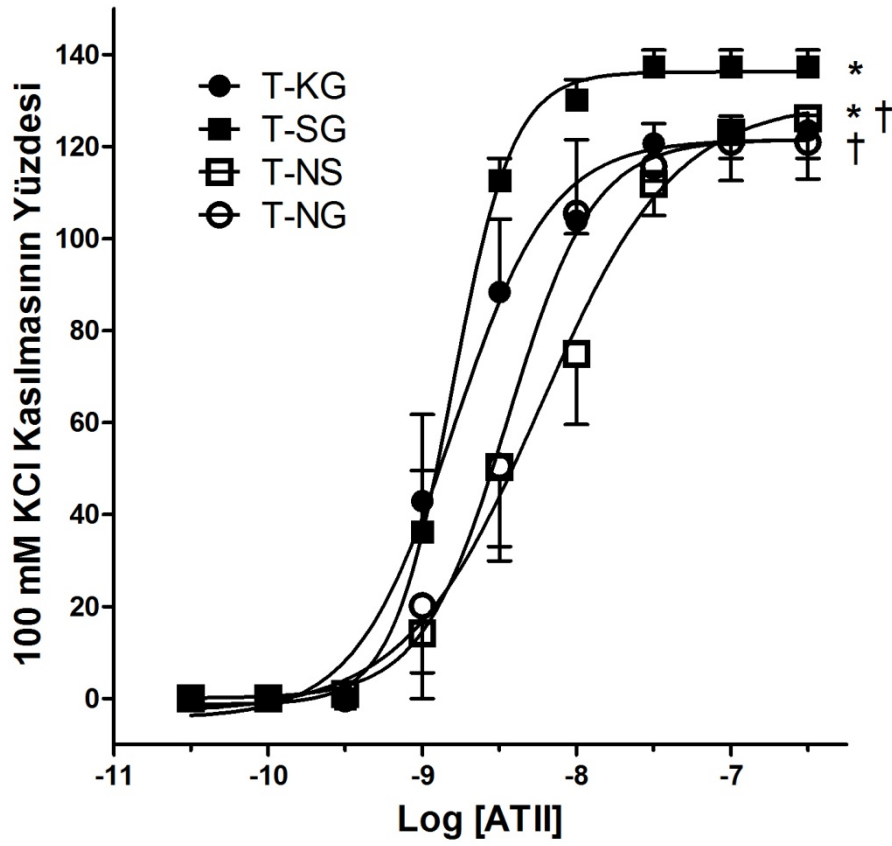
Şekil 4.23. İzole uterus arterinde 100 mM KCl yanıtları. 100 mM KCl ile olan kasılmalar açısından gruplar arasında bir fark görülmemiştir. T-KG: Kontrol gebe, T-SG: Suramin gebe, T-NS: Nebivolol suramin, T-NG: Nebivolol gebe, n=6-8.

Dinlenme halindeki uterus arter segmentlerine artan konsantrasyonlarda FE (10^{-8} - 3×10^{-5} M) uygulanmıştır. FE ile maksimum kasılmalar (E_{maks}) T-KG'de $133,50 \pm 5,74$, T-SG'de $154,00 \pm 3,85$, T-NS'de $149,30 \pm 6,21$ ve T-NG'de $131,60 \pm 4,48$ olarak bulundu (Tablo 4.7), pD_2 değerleri sırasıyla $6,4 \pm 0,1$, $6,3 \pm 0,04$, $6,4 \pm 0,1$ ve $6,5 \pm 0,04$, olarak hesaplandı ve gruplar arasında bir fark görülmedi (Tablo 4.7). FE kasılmaları ve E_{maks} değerleri T-SG ve T-NS'de T-KG ve T-NG'ye göre anlamlı olarak arttı (Şekil 4.24, Tablo 4.5).



Şekil 4.24. Nebivololün izole uterus arterinin artan fenilefrin (FE) konsantrasyonlarında oluşan yanıtlar üzerine etkileri. Suramin verilen gruplarda kasılmalar daha yüksektir. T-KG: Kontrol gebe, T-SG: Suramin gebe, T-NS: Nebivolol suramin, T-NG: Nebivolol gebe. * $P < 0,05$ T-KG'ye göre, $n=6-8$.

Dinlenme halindeki uterus arter segmentlerine artan konsantrasyonlarda AT-II (10^{-11} - 3×10^{-7} M) uygulanarak kasılmalar elde edildi. AT-II kasılmaları 100 mM KCl kasılmasının yüzdesi olarak ifade edildi. AT-II ile maksimum kasılmalar (E_{maks}) T-KG'de $121,5 \pm 7,96$, T-SG'de $136,30 \pm 3,28$, T-NS'de $129,90 \pm 8,04$ ve T-NG'de $121,60 \pm 5,29$ olarak bulundu ve gruplar arasında bir anlamlılık görülmedi (Tablo 4.7). pD_2 değerleri ise sırasıyla $8,8 \pm 0,1$, $8,2 \pm 0,04$, $8,5 \pm 0,1$ ve $8,8 \pm 0,1$, olarak hesaplandı ve suramin verilen her iki grupta da kontrole göre anlamlı bir azalma görülürken bu durum nebivolol tedavisi sonrasında anlamlı olarak artmasına rağmen kontrol değerlerine ulaşamadı (Tablo 4.7). AT-II kasılmaları suramin verilen her iki grupta da kontrole göre anlamlı olarak artarken nebivolol tedavisi sonrasında anlamlı bir azalmaya rağmen kontrol değerlerine ulaşamadı (Şekil 4.25).



Şekil 4.25. Nebivololün izole uterus arterinin artan anjiyotensin II (AT-II) konsantrasyonlarında oluşan yanıtlar üzerine etkileri. Suramin gebe (T-SG) ve nebivolol suramin (T-NS)'de kasılmalar anlamlı bir şekilde artmış ve nebivolol tedavisi bu kasılmaları azaltmıştır. T-KG: Kontrol gebe, T-NG: Nebivolol gebe. * $P < 0,05$ T-KG'ye göre, † $P < 0,05$ T-SG'ye göre, $n = 6-8$.

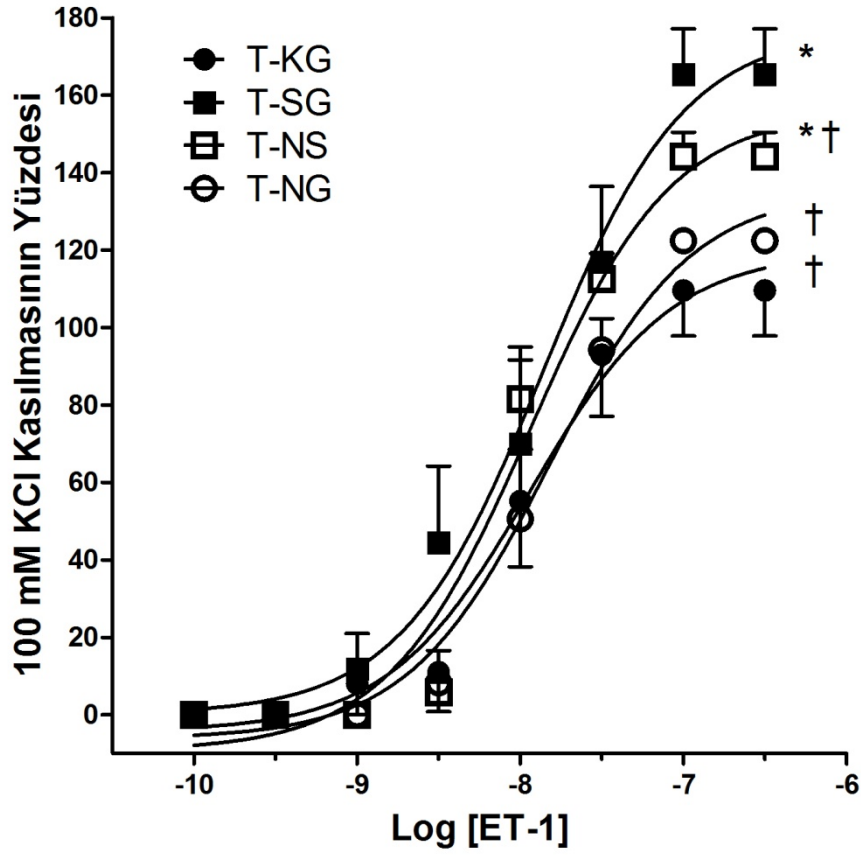
Tablo 4.7. Nebivololün izole uterus arterinde kasıcı ajanların pD_2 ve maksimum kasılmaları (E_{maks}) üzerine etkileri.

		T-KG	T-SG	T-NS	T-NG
FE	pD_2	$6,4 \pm 0,1$	$6,3 \pm 0,04$	$6,4 \pm 0,1$	$6,5 \pm 0,04$
	E_{maks} (%)	$133,5 \pm 5,7$	$154,0 \pm 3,9^*$	$149,3 \pm 6,2^*$	$131,6 \pm 4,5$
AT-II	pD_2	$8,8 \pm 0,1^\dagger$	$8,2 \pm 0,04^*$	$8,5 \pm 0,1^* \dagger$	$8,8 \pm 0,1^\dagger$
	E_{maks} (%)	$121,5 \pm 8,0$	$136,3 \pm 3,3$	$129,9 \pm 8,0$	$121,6 \pm 5,3$
ET-1	pD_2	$7,9 \pm 0,2$	$7,8 \pm 0,2$	$7,9 \pm 0,1$	$7,9 \pm 0,1$
	E_{maks} (%)	$119,70 \pm 9,6$	$177,2 \pm 12,8^*$	$156,2 \pm 6,2^*$	$135,6 \pm 7,3$
PGF_{2α}	pD_2	$7,4 \pm 0,8$	$7,8 \pm 1,5$	$7,4 \pm 1,0$	$7,5 \pm 0,6$
	E_{maks} (%)	$115,8 \pm 7,4$	$157,6 \pm 19,7^*$	$149,4 \pm 18,9^*$	$118,4 \pm 7,5$

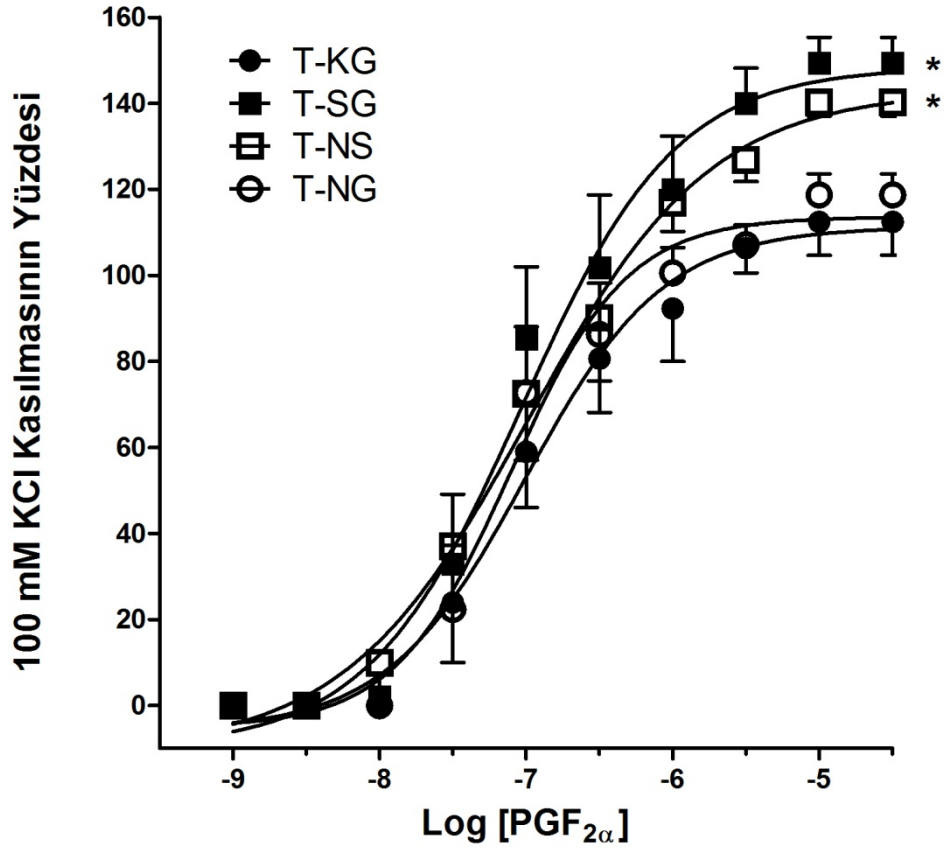
E_{maks} : % 100 mM KCl kasılmasına göre maksimum kasılma, pD_2 : Maksimum kasılmanın %50'sini oluşturan agonist konsantrasyonunun negatif logaritmasını ifade etmektedir. T-KG: Kontrol gebe, T-SG: Suramin gebe, T-NS: Nebivolol suramin, T-NG: Nebivolol gebe, FE: Fenilefrin, AT-II: Anjiyotensin II, ET-1: Endotelin-1, PGF_{2α}: Prostaglandin F_{2α}. * $P < 0,05$ T-KG'ye göre, $^\dagger P < 0,05$ T-SG'ye göre, n=6-8.

Dinlenme halindeki uterus arter segmentlerine artan konsantrasyonlarda ET-1 (10^{-11} - 3×10^{-7} M) uygulandı. ET-1 ile maksimum kasılmalar (E_{maks}) T-KG'de $119,70 \pm 9,6$, T-NG'de $135,6 \pm 7,3$, T-SG'de $177,2 \pm 12,8$ ve T-NS'de $156,2 \pm 6,2$ olarak bulundu ve suramin verilen gruplarda kontrole göre anlamlı bir artış gözlemlendi (Tablo 4.7). pD_2 değerleri ise sırasıyla $7,9 \pm 0,2$, $7,8 \pm 0,2$, $7,9 \pm 0,1$ ve $7,9 \pm 0,1$ olarak hesaplandı ve gruplar arasında bir anlamlılık görülmedi (Tablo 4.7). ET-1 kasılmalarında suramin verilen gebelerde kontrole göre anlamlı bir artış gözlenirken nebivolol tedavisi bu artışı anlamlı olarak azalttı (Şekil 4.26).

Dinlenme halindeki uterus arter segmentlerine artan konsantrasyonlarda $PGF_{2\alpha}$ (10^{-9} - 3×10^{-5} M) uygulandı. $PGF_{2\alpha}$ ile maksimum kasılmalar (E_{maks}) T-KG'de $115,8 \pm 7,4$, T-SG'de $157,6 \pm 19,7$, T-NS'de $149,4 \pm 18,9$ ve T-NG'de $118,4 \pm 7,5$ olarak bulundu ve suramin gruplarında kontrole göre anlamlı bir artış görüldü (Tablo 4.7). pD_2 değerleri sırasıyla $7,4 \pm 0,8$, $7,8 \pm 1,5$, $7,4 \pm 1,0$ ve $7,5 \pm 0,6$ olarak hesaplandı ve gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 4.7). Suramin verilen gruplarda kasılmalar kontrole göre anlamlı olarak arttı (Şekil 4.26).



Şekil 4.26. Nebivololün izole uterus arterinin artan endotelin-1 (ET-1) konsantrasyonlarında oluşan yanıtlar üzerine etkileri. Suramin gebe (T-SG)'de ET-1 kasılmaları kontrole (T-KG) göre arttı. T-NS: Nebivolol suramin, T-NG: Nebivolol gebe. * $P < 0,05$ T-KG'ye göre, $^{\dagger}P < 0,05$ T-SG'ye göre, $n=6-8$.



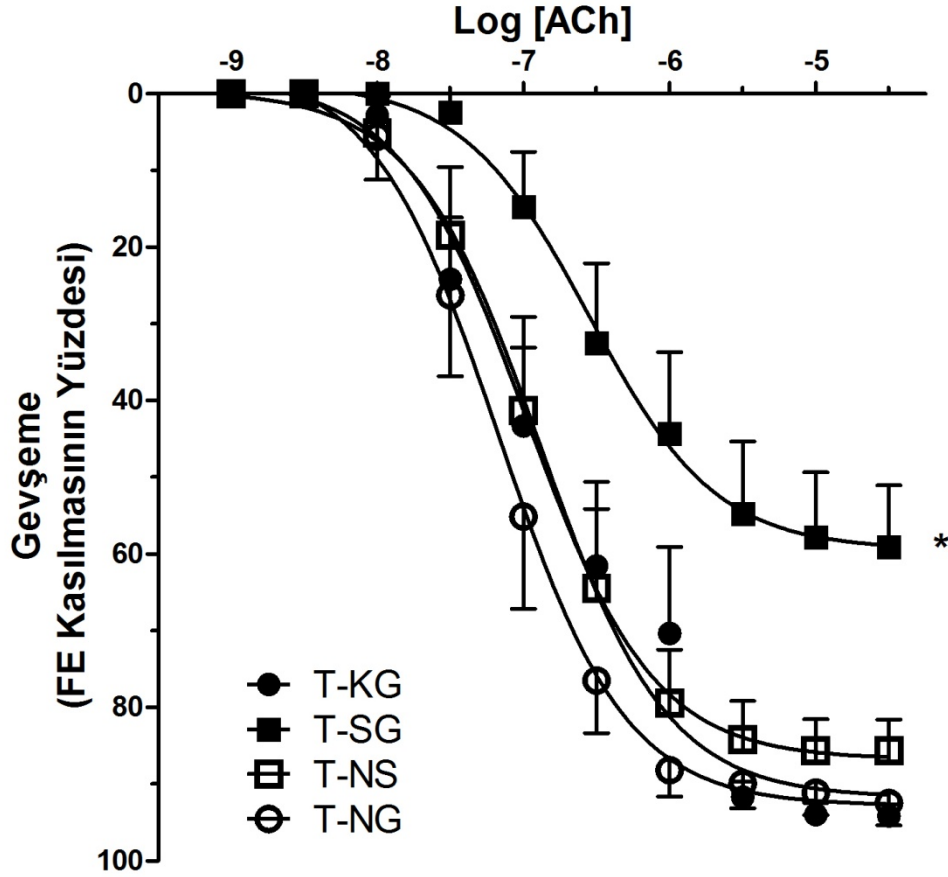
Şekil 4.27. Nebivololün izole uterus arterinin artan prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) konsantrasyonlarında oluşan yanıtlar üzerine etkileri. Suramin verilen gruptaki kasılmalar kontrole göre anlamlı olarak arttı. T-KG: Kontrol gebe, T-SG: Suramin gebe, T-NS: Nebivolol suramin, T-NG: Nebivolol gebe. **P*<0,05 T-KG'ye göre, n=6-8.

Submaksimum FE (10^{-7} - 5×10^{-7} M) kasılması platoya eriştiğinde artan konsantrasyonlarda ACh verildi. Gevşemeler FE kasılmasına oranlanarak yüzde gevşeme olarak ifade edildi. T-SG gevşemeleri T-KG'ye göre anlamlı olarak azaldı (Şekil 4.28). Nebivolol tedavisi bu azalmayı düzeltti (Şekil 4.28). ACh gevşemeleri açısından pD_2 değerleri T-KG için $6,84 \pm 0,16$, T-SG için $6,59 \pm 0,23$, T-NS için $6,99 \pm 0,17$ ve T-NG için $7,24 \pm 0,16$ ve E_{maks} değerleri sırasıyla $92,3 \pm 4,3$; $59,2 \pm 4,9$; $86,7 \pm 4,1$ ve $92,4 \pm 3,4$ olarak hesaplandı (Tablo 4.8). pD_2 değerleri gruplar arasında bir farklılık göstermezken E_{maks} değerleri açısından T-SG'de T-KG'ye göre anlamlı bir azalma görüldü ve bu durum nebivolol tedavisi ile kontrol değerlerine geri döndü (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Nebivololün gebe sıçanların izole uterus arterinde asetilkolin ve sodyum nitroprusiyat için hesaplanan pD_2 ve E_{maks} değerlerine etkileri.

	ACh		ACh+L-NAME	
	pD_2	$E_{maks} (\%)$	pD_2	$E_{maks} (\%)$
T-KG	$6,84 \pm 0,16$	$92,3 \pm 4,3^{\#}$	$6,81 \pm 0,46$	$24,6 \pm 3,7^{\dagger}$
T-SG	$6,59 \pm 0,23$	$59,2 \pm 4,9^*$	$6,52 \pm 0,36$	$31,1 \pm 4,2^{\dagger}$
T-NS	$6,99 \pm 0,17$	$86,7 \pm 4,1^{\#}$	$6,51 \pm 0,40$	$46,2 \pm 6,3^{\dagger}$
T-NG	$7,24 \pm 0,16$	$92,4 \pm 3,4^{\#}$	$6,76 \pm 0,29$	$28,2 \pm 2,7^{\dagger}$

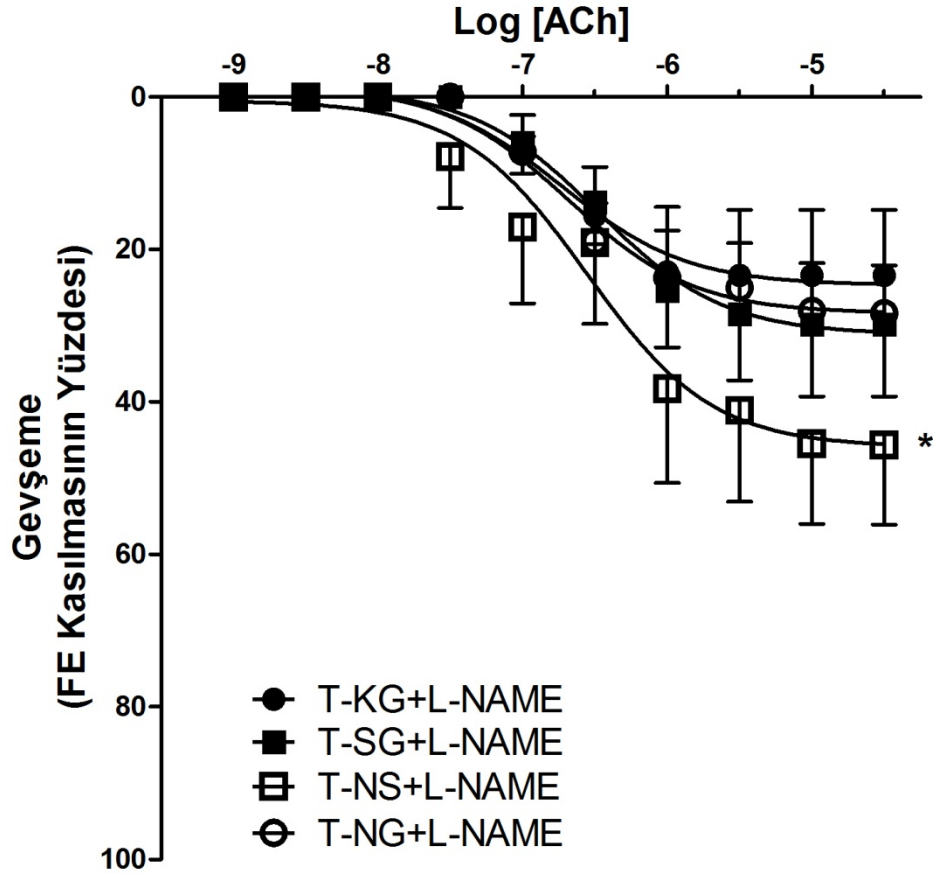
E_{maks} : % Submaksimum fenilefrin kasılmasına göre maksimum gevşeme, pD_2 : Maksimum gevşemenin %50'sini oluşturan agonist konsantrasyonunun negatif logaritmasını ifade etmektedir. T-KG: Kontrol gebe, T-SG: Suramin gebe, T-NS: Nebivolol suramin, T-NG: Nebivolol gebe, ACh: Asetilkolin, L-NAME: N^{ω} -Nitro-L-Arginine metil ester, SNP: Sodyum nitroprusiyat. $*P < 0,05$ KG'ye göre, $^{\dagger}P < 0,05$ ACh'ye göre, $^{\#}P < 0,05$ SG'ye göre, $n=6-8$.



Şekil 4.28. Nebivololün izole uterus arterinde endotel-bağımlı asetilkolin (ACh) gevşemeleri üzerine etkileri. Submaksimum fenilefrin (FE, 10^{-7} - 5×10^{-7} M) kasılması sonrasındaki ACh gevşemeleri. Suramin gebe (T-SG)'de gevşemeler kontrole (T-KG) göre anlamlı olarak azaldı. Nebivolol tedavisi (T-NS) ile neбиволol suramin (T-NS)'de bu azalma kontrol değerlerine geri döndü. ACh: Asetilkolin, * $P < 0,05$ T-KG'ye göre, $n = 6-8$

Submaksimum FE (10^{-7} - 5×10^{-7} M) kasılması sonrasında L-NAME (10^{-4} M) varlığında artan konsantrasyonlarda ACh verildi. Gevşemeler FE kasılmasına oranlanarak yüzde gevşeme olarak ifade edildi. L-NAME (10^{-4} M) tüm gruplarda endotele-bağımlı ACh gevşemelerini inhibe etti (Şekil 4.29). L-NAME varlığında ACh gevşemeleri açısından pD_2 değerleri T-KG için $6,81 \pm 0,46$, T-SG için $6,52 \pm 0,36$, T-NS için $6,51 \pm 0,40$ ve T-NG için $6,76 \pm 0,29$ olarak bulundu ve gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi. E_{maks} değerleri sırasıyla $24,6 \pm 3,7$; $31,1 \pm 4,2$; $46,2 \pm 6,3$ ve $28,2 \pm 2,7$ olarak hesaplandı

ve gruplar arasında bir anlamlılık bulunmadı (Tablo 4.8). Bununla birlikte tüm gruplardaki E_{maks} değerleri ortamda L-NAME olmadan alınan ACh gevşemeleri değerlerine göre anlamlı olarak azaldı (Tablo 4.8).



Şekil 4.29. Nebivololün izole uterus arterinde L-NAME (10^{-4} M) varlığında endotel-bağımlı asetilkolin (ACh) gevşemeleri üzerine etkileri. Gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi. T-KG: Kontrol gebe, T-SG: Suramin gebe, T-NS: Nebivolol suramin, T-NG: Nebivolol gebe, n=6-8.

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada sıçanlarda suramin ile preeklampsi-benzeri sendrom olduğu yapısal ve fonksiyonel olarak ortaya konuldu. Oluşturulan bu modelde ilk defa olarak uterus arterinde endotel disfonksiyonu ve böbreklerde akut tübüler nekroz geliştiği gösterildi. Ayrıca bu çalışmada nebivolol tedavisinin preeklampsi-benzeri sendromda bozulan tüm parametreleri normal değerlere döndürdüğü ve endotel disfonksiyonu ile böbrekteki patolojik değişiklikleri düzelttiği gösterildi.

Preeklampsi, nedeni bilinmeyen ve üzerinde birçok çalışma yapılan bir hastalıktır. Redman ve diğerlerinin önerdiği “iki evre” modeline göre gebeliğin başlangıcından itibaren plasenta oluşumunda bir defekt vardır [1]. Bu defekt fetüsün büyümesiyle plasental yetersizliğe yol açmaktadır. Annenin sahip olduğu psikolojik, genetik, çevresel bir takım özellikler plasental yetersizliğin sistemik inflamasyona dönüşmesinde rol oynamaktadır [1]. “İki evre” modeline en çok uyan hayvan modeli suraminin indüklediği preeklampsi-benzeri sendromdur. Bu modelde yapılan çalışmalarda, sistemik inflamasyon, defektif plasantasyon ve endotel disfonksiyonu ile uyumlu bulgular gösterilmiştir [13-15]. Suramin anjiyojenik faktörleri inhibe etmek suretiyle gebelikte hızlanmış olan anjiyojenezi durdurmaktadır [13]. Böylece defektif oluşan plasenta, fetüsü yeteri kadar besleyememekte ve fetüste gelişme geriliği görülmektedir [15]. Aynı zamanda sistemik inflamasyon tetiklenip endotel disfonksiyonu ortaya çıkmaktadır [14]. Plasentada defektif damar oluşumu hem inflamasyona yol açar hem de normal çalışan endotel oluşmadığı için endotel disfonksiyonu görülür [22]. Ancak hastalığın ilerlemesinden sadece plasentadaki patolojik değişiklikler sorumlu tutulamaz. Patogeneze sorumlu tutulan tüm olaylar birbirlerini etkileyebilmektedir.

Son yıllarda anjiyojenez blokajıyla ilgili sunulan modellerden sFlt-1 veya sEng enjeksiyonunun da preeklampsi-benzeri sendroma yol açtığı bildirilmiştir. Ancak sFlt-1 ya da sEng gibi moleküller var olan bir sorunun son uçlarıdır [97]. Yani hastalığın kökenine inmemektedir. Benzer bir şekilde 90’lı yıllarda preeklampsili hastalarda çeşitli arterlerde yapılan incelemelerde

endotel disfonksiyonu görülmesi üzerine öne sürülen L-NAME ile indüklenen preeklampsi-benzeri sendromda da sorunun kökenine dair bulgulara ulaşmak zor olmaktadır. Dolayısıyla bu çalışmada kullanılan preeklampsi modelinin son zamanlarda açıklanan patofizyolojiye daha uygun bir model olabileceği düşünüldü.

Bu çalışmada öncelikle suramin ile preeklampsi-benzeri sendromun oluşup oluşmadığı incelendi. Bunun için gebe ve gebe olmayan dişi sıçanlar kullanıldı. Gebe sıçanlarda suramin enjeksiyonu; azalmış kilo alımı, kan basıncında yükselme, fetüs sayı ve ağırlığında azalma ve proteinüride artma meydana getirdi. Bu çalışmada elde edilen bulgular bu model ile gerçekleştirilen diğer çalışmalarda elde edilen bulgularla uyumludur [13-15].

Suramin verilen sıçanlarda gebeliğin ilerlemesiyle kan basınçlarında artış saptandı. Kan basıncı ölçümü sırasında sıçanların kısıtlayıcı içine konmaları sıçanlar için ciddi bir stres faktörü olarak kabul edilmektedir. Ancak bu yöntemle elde edilen kan basıncı ölçümlerinin telemetrik sistem ölçümleriyle benzer olduğu gösterilmiştir [125]. Sıçanlarda suramin ile preeklampsi-benzeri sendrom oluşturulan Carlström ve diğerlerinin yaptığı benzer çalışmada telemetrik kan basıncı ölçümleri çalışmamızla uyumlu olarak bulunmuştur [15].

Preeklampsiyi gebeliğin diğer hipertansif hastalıklarından ayıran en önemli özellik idrarda protein atılımının artmasıdır. Preeklampside proteinüri, hastalıkta görülen yaygın endotel disfonksiyonun böbrek damarlarını tutması sonucunda glomerüler geçirgenliğin artmasına bağlıdır. Ayrıca preeklampside şiddetli vakalarda ATN de görülmektedir. Bu çalışmada oluşturulan preeklampsi modelinde de idrarda protein atılımının literatürle uyumlu olarak arttığı gösterilmiştir. Bu bulgu böbrek tutulumunu işaret etmektedir. Bununla birlikte bu çalışmada böbrekte yapılan histopatolojik incelemelerde teknik olarak glomerüler endotelyozis değerlendirilememiş, ancak böbrekte yaygın tübüler nekroz gözlemlenmiştir. Bu bulgu suraminin indüklediği preeklampsi-benzeri sendromda ilk kez saptanmıştır. ATN, suraminin yan etkisi olabileceği gibi preeklampsinin bir bulgusu olarak da

yorumlanabilir. Bu çalışmada gebe olmayan sıçanlarda da bu durumun görülmesi tübüler nekrozun suraminin yan etkisi sonucunda oluştuğunu düşündürmektedir.

Preeklampside görülen plasental yetmezlik neticesinde fetüste gelişme geriliği görülmektedir. Çalışmamızda suramin zerki ile preeklampsi-benzeri sendrom gelişen sıçanların hem gebelik başına düşen ortalama fetüs sayıları azalmış hem de yavruların ağırlıkları düşük bulunmuştur. Yapılan diğer çalışmalarla uyumlu olarak suraminle yapılan preeklampsi-benzeri sendromda rezorbe fetüs sayısı artmıştır. Bu da plasental beslenmenin yetersizliğini göstermektedir [13-15].

Fizyolojik koşullarda endotelin sentezlediği NO, hasar durumlarında koruyucu etki göstermektedir. NO sadece düz kas hücresindeki vazospazmı önlemekle kalmayıp, agregasyonu ve inflamasyonda lökosit göçünü de engellemektedir [116]. Ancak, endotel disfonksiyonunda endotelden NO ve diğer gevşetici faktörlerin salıverilmesi bozulduğu için bu koruyucu özelliği kaybolmaktadır. Hipertansiyon, diyabet, hiperkolesterolemi gibi endotel disfonksiyonu oluşan durumlarda arterlerde farklı kasıcı ajanlara verilen yanıtlar artmış, ACh'nin uyardığı endotel-bağımlı gevşemeler ise azalmıştır [116].

Bu modelde yapılan bir araştırmada, torasik aortada FE ile kasılma yanıtlarında artma, ACh ve bradikinin ile endotel-bağımlı gevşemelerde azalma olduğu, azalan bu gevşemelerde NO ve diğer endotel-kökenli gevşetici faktörlerin yetersizliğinin sebep olduğu gösterilmiştir [14]. Bu modelde izole uterus arter yanıtları ilk kez bu çalışmada değerlendirilmiştir. İzole arter yanıtlarında endotel disfonksiyonu ile uyumlu bulgular elde edildi. FE, AT-II, ET-1 ve PGF_{2α} ile olan kasılma yanıtları arttı, buna karşılık ACh'nin uyardığı endotel-bağımlı gevşeme yanıtları azaldı. L-NAME varlığında ACh yanıtları tekrarlandığında ise tüm gevşemelerde azalma meydana geldi, ancak gruplar arasında farklılık saptanmadı. L-NAME varlığında gevşemelerin tamamen yok olmaması bu arterde NO dışında endotel-bağımlı diğer gevşetici faktörlerin varlığını ve bu faktörler açısından gruplar arasında

bir değişiklik olmadığını ifade etmektedir. L-NAME varlığında bu gevşemeler arasındaki farkın ortadan kalkması bu modeldeki uterus arterinde görülen azalmış ACh gevşemelerinden sadece NO komponentinin sorumlu olduğunu göstermektedir.

Preeklampsi NO gibi gevşetici faktörlerin azaldığı, ET-1, AT-II, FE ve TXA₂ gibi vazokonstriktör maddelerin arttığı endotel hücre bozukluğu ile giden bir hastalıktır [50]. Çalışmamızda da ET-1, PGF_{2α}, FE ve ATII'ye artmış arter kasılma yanıtları elde edildi. Bu bulgular preeklampside insanda izole uterus arterinde yapılan çalışmalarla uyumlu bulunmuştur [19, 50].

Gebe sıçanların uterus arterinde gruplar arasında K⁺ kasılmaları açısından fark olmaması vasküler düz kas kitlesinin tüm gruplarda benzer olduğunu göstermektedir. Ancak gebe olmayan sıçanlardaki düşük K⁺ kasılmaları arterin düz kas kitlesinin gebelikte çok daha fazla geliştiğini literatür ile uyumlu olarak göstermektedir [126]. Preeklampsi-benzeri sendromda izole arter yanıtlarında birçok kasıcı ile olan yanıtlar artmıştır. E_{maks} SG'de tüm kasıcılar için artmış olmasına rağmen pD₂ değerleri açısından FE, ET-1 ve PGF_{2α}'da fark bulunmamıştır. Bu da reseptör yoğunluğunun gruplar arasında benzer olduğunu ancak reseptör sonrası olaylardan kaynaklandığını düşündürmektedir.

AT-II'nin pD₂ değerlerinin farklı olması AT-II'nin reseptör yoğunluğunda bir değişme olabileceğini düşündürmektedir. Normal gebelikte koyun uterus arterinde AT₁ ekspresyonu artmaktadır [127], koyunlara 24 saat boyunca AT-II infüzyonu yapılması sonucunda uterus arterinde AT-II'ye artmış cevap oluştuğu ve bu cevabın AT₂ reseptörlerinin azalması nedeniyle olduğu gösterilmiştir [128]. Bu modelde suramin verilen gebe sıçanlarda renin artışı gösterilmiştir [15]. Renin seviyelerindeki artış AT-II düzeylerini artırmış bu değişiklik de AT reseptörlerinin yoğunluğunu değiştirmiş olabilir.

Çalışmada preeklampsi-benzeri sendromun sıçanlarda oluştuğunu gösterdikten sonra nebivololün bu hastalık üzerinde fonksiyonel ve yapısal etkileri incelendi. Preeklampsi-benzeri sendromda artan kan basıncı değerleri nebivolol tedavisiyle normal değerlere geriledi. İnsanda nebivololün gebelikte

kullanımı ile ilgili bir çalışma literatürde bildirilmemiştir. Erkeklerde ve gebe olmayan kadınlarda yapılan çalışmalarda nebivololün endotel koruyucu özelliği vurgulanmıştır. Örneğin, 5 yıldan uzun süreli esansiyel hipertansiyon tanısı olan hastalarda 8 haftalık [129] ve koroner arter hastalığı olan hastalarda 4 haftalık [130] nebivolol veya atenolol tedavisi sonrasında her iki ilacı alan hastaların da kan basınçlarının benzer bir şekilde azaldığı ancak önkol akım-uyarılmış gevşemeler karşılaştırıldığında nebivololün ACh-uyarılmış gevşemeleri artırdığı saptanmıştır. Nebivolol β -blokör etkisiyle atenolole benzer şekilde kan basıncında azalma sağlamaktadır. Ancak atenolole ek olarak NO salıverici etkisiyle hipertansiyonun yol açtığı endotel disfonksiyonu üzerine de olumlu etki yapmaktadır. Çalışmamızda nebivololün hem kan basıncını düşürmesi hem de uterus arteri endotel disfonksiyonunu düzeltmesi, bu özelliği sebebiyle oluşmuş olabilir.

Nebivolol preeklampsi-benzeri sendrom oluşturulmuş sıçanlarda azalan kilo kaybını, plasenta ve fetüs sayısı ve ağırlığını normal değerlere geri çevirdi. Genel olarak β -blokör ilaçların utero-plasental kan akımını azaltmak suretiyle fetüste gelişme geriliği yaptığı bilinmektedir. Nebivolol uygulanan sıçanlarda 5 mg/kg ve üzerindeki dozlarda bu etki görülmektedir [119]. Ancak çalışmamızda kullanılan nebivolol dozunda bu etki görülmemiştir. İnsanda gebelikte hipertansiyon tedavisi için kullanılan diğer β -blokör ilaçlarla yapılan çalışmalarda 50-200 mg oral atenolol dozlarının bebeklerde belirgin gelişme geriliğine neden olduğu gösterilmiştir [121, 122]. Atenolol ile tedavi edilmeyen hipertansif gebelerin çocuklarında da gelişme geriliği olması bu etkiye β -blokör tedavisinden ziyade hipertansiyonun neden olduğunu düşündürmektedir [121].

Nebivolol hem idrarda atılan protein miktarlarını anlamlı bir şekilde azaltmış hem de böbrekte görülen ATN'yi kısmen iyileştirmiştir. Aynı şekilde preeklampsi-benzeri sendromda standardize böbrek oranı artmışken nebivolol bu oranı azaltmış, ancak kontrol değerlere indirememiştir. Bu bulgu da patolojik olarak böbreklerin kısmi iyileşmesi bulgusuyla uyumludur. Toprak ve diğerleri radyoopak madde ile sıçanlarda nefropati oluşturup, oluşan tübüler nekrozu ve proteinürinin nebivolol tedavisiyle düzeldiğini

göstermişlerdir [131]. Nebivololün β -blokör etkisiyle renin saliverilmesini azalttığı, NO saliverici etkisiyle renal plazma akımını arttırdığı ve antioksidan etkisiyle böbrekte oluşan bu patolojiyi düzelttiği düşünülmektedir [116].

Preeklampsi-benzeri sendromda gelişen endotel disfonksiyonu üzerine nebivololün olumlu etkileri bulunmaktadır. Preeklampsi-benzeri sendromda tüm kasıcılarla alınan yanıtlarda anlamlı bir artış olmuş, nebivolol tedavisi bunların bir kısmını azaltmıştır. ET-1 preeklampside seviyesinin arttığı gösterilmiş potent vazoaaktif bir maddedir [50]. İnsanlarda benign olaylardan dolayı histerektomi olan normotensif bireylerin uterus arterlerinde yapılan incelemelerde ET-1'in pD_2 değeri 7,6 olarak bulunmuştur [132]. Bu çalışmada ise sıçan uterus arteri için pD_2 değeri 7,9 olarak saptanmıştır. Aynı çalışmada günümüzde preeklampsi tedavisinde kullanılan ilaçların ET-1 kasılması üzerindeki etkileri incelenmiştir. Buna göre 10 dakikalık EGTA, nifedipin ve nikardipin inkübasyonu sonrasında elde edilen ET-1 kasılmalarında anlamlı bir düşüş olduğu oysa hidralazin, labetolol ve α -metil dopanın böyle bir etkisinin olmadığı gösterilmiştir [132]. Ancak bizim çalışmamızda nebivolol ET-1 kasılmalarını normal bir düzeye düşürememiş fakat anlamlı bir şekilde azaltmıştır.

Nebivololün benzer bir etkisi AT-II kasılmalarında gösterilmiştir. Çalışmamızda AT-II için pD_2 değeri anlamlı bir şekilde azalırken nebivolol bu değeri anlamlı olarak yükseltmiştir. pD_2 değerinin değişmesi hücre üzerinde reseptör yoğunluğunun değişmesi olarak yorumlanmaktadır. Nebivolol birçok yoldan bu etkiyi oluşturmuş olabilir. Bu modelde başka bir çalışmada renin seviyelerinin yükseldiği gösterilmiştir [15]. Artan renin seviyeleri dolaşımdaki AT-II miktarını yükseltir. Yüksek AT-II seviyelerinin kendi reseptörlerinin yoğunluğunu değiştirerek kasılma yanıtını artırdığı gösterilmiştir. Dolayısıyla nebivolol β_1 reseptör blokajıyla renin saliverilmesi azaltıp dolaşımdaki AT-II seviyelerini azaltarak bu duruma neden olmuş olabilir. Ayrıca bazı preeklampsi-benzeri sendrom oluşturulan modellerde AT₁-AA seviyelerinin arttığı gösterilmiştir. Çalışmamızda bu özellik incelenmemiştir fakat bu modelde de bu molekülün artışı söz konusu olabilir. Nebivolol tedavisiyle bu molekülün kandaki miktarı değişmiş olabilir.

Uterus arterinin transmisyon elektron mikroskopisi ile incelenmesi gruplar arasında endotel hasarı açısından fark göstermedi ancak *membrana elastica internadaki* vazospazm fonksiyonel yanıtlarla uyumluydu. Bu bulgu preeklampsili hastalardan alınan radial uterus arteri örneklerinde belirgin arteriyopati bulunmaması ile de paralellik göstermektedir [133]. Çalışmamızdaki uterus arteri cevapları ile birlikte elektron mikroskopisi sonuçları beraber değerlendirildiğinde, görülen endotel disfonksiyonunun yapısal bir nedenden kaynaklanmadığı sonucu ortaya çıkmaktadır.

Uterus arterinde gelişen artmış kontraktıl cevaplar endotel aktivitesindeki eksiklikten kaynaklanıyor olabilir. Preeklampsisi sırasında arterde fonksiyon bozukluğu gelişmesi bilinen ve beklenen bir durumdur [50]. ACh-aracılı gevşeme cevaplarının azalması ile ilgili iki farklı mekanizma düşünülebilir. Bunlardan ilki NO salıverilmesi ve/veya üretiminin azalmasına bağlı olarak azalan NO-aracılı vazodilatasyondur. Bir diğeri ise oksidatif degradasyona bağlı olarak NO'nun inaktivasyonu sonucunda gelişen mekanizmadır. Bu durum preeklampside farklı çalışmalarda da belirtilmiştir [58]. Bu yüzden preeklampside meydana gelen oksidatif stres gelişen endotel disfonksiyonu ile birlikte artmış kasılma cevaplarından sorumlu olabilirler.

Nebivolol tedavisi ile uterus arterinde farklı kasıcı ajanlara karşı artmış E_{maks} değerlerinde bir değişiklik olmamasına rağmen azalmış endotel-bağımlı gevşeme cevaplarının tamamen geri dönmesi NO-aracılı cevaplarda bir düzelme meydana geldiğini ancak kasılma cevaplarını artıran diğeri sebeplerin tam olarak ortadan kalkmadığını göstermektedir. Böyle bir durumda ilk akla gelecek oksidatif hasardır. Nebivolol NO salıverici etkisi ile azalan NO-aracılı gevşeme cevaplarını tam olarak düzeltmiş, ancak bu modelde gelişen oksidatif hasar üzerine çok etkili olamamış olabilir. Bu modelde suramin verilmesi sonrasında gelişen bir hipertansiyon modeli oluşturulmuştur. Tedavi süresi boyunca kan basınçlarının normal değerlere dönmüş olması, artmış arter kasılma cevaplarının da normal değerlere dönmesi gerektiğini düşündürmektedir. Ancak suraminin bu süre boyunca vücutta bulunması farklı mekanizmaların devam ettiğini, nebivolol tedavisinin bu durumu düzeltemediğini ve sonucunda artmış kasılma cevaplarına etkisiz

kaldığını düşündürebilir. Bu durum Turgut ve diğerlerinin suramin ile oluşturulmuş preeklampsi-benzeri sendromda sildenafil tedavisi sonrasında aorttaki FE kasılmalarının kontrol değerlere dönmemesi ile uyumludur [14]. Bu durum ayrıca çalışmamızda elde edilen elektron mikroskopisi sonuçları ile de paralellik göstermektedir.

Nebivololün oksidatif streste NO biyoyaralanımını artırarak diğer β_1 -blokörlere göre üstünlüğü birçok çalışmada gösterilmiştir. Esansiyel hipertansiyonu olan hastalardan hazırlanan hücre kültüründe nebivolol tedavisi atenolole göre reaktif oksijen radikallerinin düzeylerini azaltmıştır [134]. Ayrıca nebivololün *in vitro* şartlarda domuz siliyer arterinde 10^{-5} M konsantrasyonda hidroksil radikalının oluşturduğu kasılmaları azalttığı gösterilmiştir [135]. Nebivololün β_1 -blokör özelliğine ek olarak bulunan NO biyoyaralanımını artırma özelliği vasküler yanıtları da etkilemektedir.

Sonuç olarak bu çalışma nebivolol tedavisinin sıçanlarda suramin ile oluşturulan preeklampsi-benzeri sendromda fonksiyonel ve yapısal açıdan düzelme sağladığını ortaya koymuştur. Nebivololün β -blokör etkisinin yanısıra NO salıverici etkisi de preeklampside bozulan NO-aracılı yanıtların düzeltilmesine ek bir katkı sağlayabilir. Bu özelliklerinden dolayı nebivolol preeklampsi tedavisinde yeni bir alternatif olarak değerlendirilebilir.

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1. Gebe sıçanlara suramin verilmesi ile preeklampsi-benzeri sendrom oluşmaktadır.
2. Oluşan preklampsi-benzeri sendromda uterus arterinde endotel disfonksiyonu gelişmektedir.
3. Nebivololün preeklampsi-benzeri sendromda gerek sistemik gerekse de uterus arterinde gelişen endotel disfonksiyonu açısından düzeltici etkileri vardır.
4. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar nebivololün, günümüzde bilinen endikasyonu dışında yeni bir kullanım alanının bulunması için yapılmakta olan ve yapılacak çalışmalara ışık tutabilir.
5. Araştırma biyokimyasal ve moleküler çalışmalarla desteklenebilir.

7. KAYNAKLAR

1. Redman, C.W. and I.L. Sargent, *Latest advances in understanding preeclampsia*. Science, 2005. **308**(5728): p. 1592-4.
2. Martin, J.A., et al., *Births: final data for 2004*. Natl Vital Stat Rep, 2006. **55**(1): p. 1-101.
3. Madazli, R., et al., *Correlation between placental bed biopsy findings, vascular cell adhesion molecule and fibronectin levels in pre-eclampsia*. BJOG, 2000. **107**(4): p. 514-8.
4. Suzuki, Y., et al., *Ultrastructural changes in omental resistance artery in women with preeclampsia*. Am J Obstet Gynecol, 2003. **189**(1): p. 216-21.
5. Gant, N.F., et al., *A clinical test useful for predicting the development of acute hypertension in pregnancy*. Am J Obstet Gynecol, 1974. **120**(1): p. 1-7.
6. Chavarria, M.E., et al., *Prostacyclin/thromboxane early changes in pregnancies that are complicated by preeclampsia*. Am J Obstet Gynecol, 2003. **188**(4): p. 986-92.
7. McLaughlin, M.K. and K.P. Conrad, *Nitric oxide biosynthesis during pregnancy: implications for circulatory changes*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 1995. **22**(2): p. 164-71.
8. Roberts, J.M., R.N. Taylor, and A. Goldfien, *Clinical and biochemical evidence of endothelial cell dysfunction in the pregnancy syndrome preeclampsia*. Am J Hypertens, 1991. **4**(8): p. 700-8.
9. Ajne, G., et al., *Endothelin converting enzyme (ECE) activity in normal pregnancy and preeclampsia*. Hypertens Pregnancy, 2003. **22**(3): p. 215-24.
10. Maynard, S., F.H. Epstein, and S.A. Karumanchi, *Preeclampsia and angiogenic imbalance*. Annu Rev Med, 2008. **59**: p. 61-78.
11. Montan, S., *Drugs used in hypertensive diseases in pregnancy*. Curr Opin Obstet Gynecol, 2004. **16**(2): p. 111-5.

12. Bocci, G., et al., *Inhibitory effect of suramin in rat models of angiogenesis in vitro and in vivo*. Cancer Chemother Pharmacol, 1999. **43**(3): p. 205-12.
13. Nash, P., et al., *Placental dysfunction in Suramin-treated rats--a new model for pre-eclampsia*. Placenta, 2005. **26**(5): p. 410-8.
14. Turgut, N.H., et al., *The effect of sildenafil on the altered thoracic aorta smooth muscle responses in rat pre-eclampsia model*. Eur J Pharmacol, 2008. **589**(1-3): p. 180-7.
15. Carlstrom, M., et al., *Angiogenesis inhibition causes hypertension and placental dysfunction in a rat model of preeclampsia*. J Hypertens, 2009. **27**(4): p. 829-37.
16. Soydan, G., E.G. Cekic, and M. Tuncer, *Nebivolol has Protective Effect Against Endothelial and Ileal Dysfunction due to I/R*. J Surg Res, 2009.
17. Sacco, G., et al., *Involvement of nitric oxide in both central and peripheral haemodynamic effect of D/L-nebivolol and its enantiomers in rats*. Eur J Pharmacol, 2005. **511**(2-3): p. 167-74.
18. Ignarro, L.J., et al., *Nebivolol: a selective beta(1)-adrenergic receptor antagonist that relaxes vascular smooth muscle by nitric oxide- and cyclic GMP-dependent mechanisms*. Nitric Oxide, 2002. **7**(2): p. 75-82.
19. Poston, L., *Endothelial dysfunction in pre-eclampsia*. Pharmacol Rep, 2006. **58 Suppl**: p. 69-74.
20. Cunningham, F.G., Leveno, K. J., Bloom, S. L., Hauth, J. C., Rouse, D. J., Spong, C. Y. and others, *Williams Obstetrics in Twenty-Third Edition*, F.G. Cunningham, Leveno, K. J., Bloom, S. L., Hauth, J. C., Rouse, D. J., Spong, C. Y. , Editor. 2010, The McGraw-Hill Companies.
21. Lim, K.H., et al., *Human cytotrophoblast differentiation/invasion is abnormal in pre-eclampsia*. Am J Pathol, 1997. **151**(6): p. 1809-18.
22. Plaisier, M., *Decidualisation and angiogenesis*. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2010.

23. Whitley, G.S. and J.E. Cartwright, *Cellular and molecular regulation of spiral artery remodelling: lessons from the cardiovascular field*. Placenta, 2010. **31**(6): p. 465-74.
24. Kam, E.P., et al., *The role of trophoblast in the physiological change in decidual spiral arteries*. Hum Reprod, 1999. **14**(8): p. 2131-8.
25. Craven, C.M., T. Morgan, and K. Ward, *Decidual spiral artery remodelling begins before cellular interaction with cytotrophoblasts*. Placenta, 1998. **19**(4): p. 241-52.
26. Pijnenborg, R., *The origin and future of placental bed research*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 1998. **81**(2): p. 185-90.
27. Brosens, I., W.B. Robertson, and H.G. Dixon, *The physiological response of the vessels of the placental bed to normal pregnancy*. J Pathol Bacteriol, 1967. **93**(2): p. 569-79.
28. Greiss, F.C., Jr., S.G. Anderson, and J.G. Still, *Uterine pressure-flow relationships during early gestation*. Am J Obstet Gynecol, 1976. **126**(7): p. 799-808.
29. Redman, C.W., *Current topic: pre-eclampsia and the placenta*. Placenta, 1991. **12**(4): p. 301-8.
30. Brosens, I.A., W.B. Robertson, and H.G. Dixon, *The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia*. Obstet Gynecol Annu, 1972. **1**: p. 177-91.
31. Li, H., et al., *Increased uterine artery vascular impedance is related to adverse outcome of pregnancy but is present in only one-third of late third-trimester pre-eclamptic women*. Ultrasound Obstet Gynecol, 2005. **25**(5): p. 459-63.
32. Khong, T.Y., et al., *Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by pre-eclampsia and by small-for-gestational age infants*. Br J Obstet Gynaecol, 1986. **93**(10): p. 1049-59.
33. Huppertz, B., *Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis*. Hypertension, 2008. **51**(4): p. 970-5.

34. Huppertz, B. and M. Borges, *Placenta trophoblast fusion*. Methods Mol Biol, 2008. **475**: p. 135-47.
35. Zhang, Z., Y. Lin, and H. Tan, *[Histochemical localization of nitric oxide synthase in the human placenta]*. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi, 1997. **32**(11): p. 662-5.
36. Hafner, E., et al., *First trimester placental and myometrial blood perfusion measured by 3D power Doppler in normal and unfavourable outcome pregnancies*. Placenta, 2010. **31**(9): p. 756-63.
37. Kaar, K., et al., *Intervillous blood flow in normal and complicated late pregnancy measured by means of an intravenous ¹³³Xe method*. Acta Obstet Gynecol Scand, 1980. **59**(1): p. 7-10.
38. De Wolf, F., I. Brosens, and M. Renaer, *Fetal growth retardation and the maternal arterial supply of the human placenta in the absence of sustained hypertension*. Br J Obstet Gynaecol, 1980. **87**(8): p. 678-85.
39. Lain, K.Y. and J.M. Roberts, *Contemporary concepts of the pathogenesis and management of preeclampsia*. JAMA, 2002. **287**(24): p. 3183-6.
40. Roberts, J.M. and K.Y. Lain, *Recent Insights into the pathogenesis of pre-eclampsia*. Placenta, 2002. **23**(5): p. 359-72.
41. Lusis, A.J., *Atherosclerosis*. Nature, 2000. **407**(6801): p. 233-41.
42. Redman, C.W. and I.L. Sargent, *Pre-eclampsia, the placenta and the maternal systemic inflammatory response--a review*. Placenta, 2003. **24 Suppl A**: p. S21-7.
43. Visser, W. and H.C. Wallenburg, *Central hemodynamic observations in untreated preeclamptic patients*. Hypertension, 1991. **17**(6 Pt 2): p. 1072-7.
44. Calvin, S., et al., *Factor VIII: von Willebrand factor patterns in the plasma of patients with pre-eclampsia*. Am J Perinatol, 1988. **5**(1): p. 29-32.
45. Friedman, S.A., et al., *Plasma cellular fibronectin as a measure of endothelial involvement in preeclampsia and intrauterine growth retardation*. Am J Obstet Gynecol, 1994. **170**(3): p. 838-41.

46. Halligan, A., et al., *Haemostatic, fibrinolytic and endothelial variables in normal pregnancies and pre-eclampsia*. Br J Obstet Gynaecol, 1994. **101**(6): p. 488-92.
47. Boffa, M.C., et al., *Predictive value of plasma thrombomodulin in preeclampsia and gestational hypertension*. Thromb Haemost, 1998. **79**(6): p. 1092-5.
48. Schiff, E., et al., *Immunoreactive circulating endothelin-1 in normal and hypertensive pregnancies*. Am J Obstet Gynecol, 1992. **166**(2): p. 624-8.
49. Higgins, J.R., et al., *Circulating vascular cell adhesion molecule-1 in pre-eclampsia, gestational hypertension, and normal pregnancy: evidence of selective dysregulation of vascular cell adhesion molecule-1 homeostasis in pre-eclampsia*. Am J Obstet Gynecol, 1998. **179**(2): p. 464-9.
50. Khalil, R.A. and J.P. Granger, *Vascular mechanisms of increased arterial pressure in preeclampsia: lessons from animal models*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2002. **283**(1): p. R29-45.
51. Rodgers, G.M., R.N. Taylor, and J.M. Roberts, *Preeclampsia is associated with a serum factor cytotoxic to human endothelial cells*. Am J Obstet Gynecol, 1988. **159**(4): p. 908-14.
52. Hayman, R., et al., *Plasma from women with pre-eclampsia induces an in vitro alteration in the endothelium-dependent behaviour of myometrial resistance arteries*. BJOG, 2000. **107**(1): p. 108-15.
53. Magness, R.R., et al., *Angiotensin II metabolic clearance rate and pressor responses in nonpregnant and pregnant women*. Am J Obstet Gynecol, 1994. **171**(3): p. 668-79.
54. Baker, P.N., F. Broughton Pipkin, and E.M. Symonds, *Platelet angiotensin II binding sites in normotensive and hypertensive women*. Br J Obstet Gynaecol, 1991. **98**(5): p. 436-40.
55. Baker, P.N., F. Broughton Pipkin, and E.M. Symonds, *Platelet angiotensin II binding and plasma renin concentration, plasma renin*

- substrate and plasma angiotensin II in human pregnancy.* Clin Sci (Lond), 1990. **79**(4): p. 403-8.
56. Cooper, A.C., et al., *The localization and expression of the renin-angiotensin system in the human placenta throughout pregnancy.* Placenta, 1999. **20**(5-6): p. 467-74.
 57. Gant, N.F., et al., *A study of angiotensin II pressor response throughout primigravid pregnancy.* J Clin Invest, 1973. **52**(11): p. 2682-9.
 58. Morris, N.H., B.M. Eaton, and G. Dekker, *Nitric oxide, the endothelium, pregnancy and pre-eclampsia.* Br J Obstet Gynaecol, 1996. **103**(1): p. 4-15.
 59. Teran, E., et al., *NO in early pregnancy and development of preeclampsia.* Hypertension, 2006. **47**(4): p. e17.
 60. de Jong, C.L., G.A. Dekker, and B.M. Sibai, *The renin-angiotensin-aldosterone system in preeclampsia. A review.* Clin Perinatol, 1991. **18**(4): p. 683-711.
 61. Conrad, K.P., L.J. Kerchner, and M.D. Mosher, *Plasma and 24-h NO(x) and cGMP during normal pregnancy and preeclampsia in women on a reduced NO(x) diet.* Am J Physiol, 1999. **277**(1 Pt 2): p. F48-57.
 62. Danielson, L.A. and K.P. Conrad, *Acute blockade of nitric oxide synthase inhibits renal vasodilation and hyperfiltration during pregnancy in chronically instrumented conscious rats.* J Clin Invest, 1995. **96**(1): p. 482-90.
 63. Helmbrecht, G.D., et al., *L-arginine reverses the adverse pregnancy changes induced by nitric oxide synthase inhibition in the rat.* Am J Obstet Gynecol, 1996. **175**(4 Pt 1): p. 800-5.
 64. Holden, D.P., et al., *Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine, a natural inhibitor of nitric oxide synthase, in normal pregnancy and preeclampsia.* Am J Obstet Gynecol, 1998. **178**(3): p. 551-6.

65. Pettersson, A., T. Hedner, and I. Milsom, *Increased circulating concentrations of asymmetric dimethyl arginine (ADMA), an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis, in preeclampsia*. Acta Obstet Gynecol Scand, 1998. **77**(8): p. 808-13.
66. Hladunewich, M.A., et al., *Effect of L-arginine therapy on the glomerular injury of preeclampsia: a randomized controlled trial*. Obstet Gynecol, 2006. **107**(4): p. 886-95.
67. Ekerhovd, E., *Dietary supplementation with L-arginine in women with preeclampsia*. Acta Obstet Gynecol Scand, 2004. **83**(9): p. 871; author reply 872.
68. Stennett, A.K. and R.A. Khalil, *Neurovascular mechanisms of hypertension in pregnancy*. Curr Neurovasc Res, 2006. **3**(2): p. 131-48.
69. de Groot, C.J., et al., *Plasma from preeclamptic women increases human endothelial cell prostacyclin production without changes in cellular enzyme activity or mass*. Am J Obstet Gynecol, 1995. **172**(3): p. 976-85.
70. Mills, J.L., et al., *Prostacyclin and thromboxane changes predating clinical onset of preeclampsia: a multicenter prospective study*. JAMA, 1999. **282**(4): p. 356-62.
71. Kenny, L.C., et al., *Differential mechanisms of endothelium-dependent vasodilator responses in human myometrial small arteries in normal pregnancy and pre-eclampsia*. Clin Sci (Lond), 2002. **103**(1): p. 67-73.
72. Fulep, E.E., et al., *The role of endothelium-derived hyperpolarizing factor in the regulation of the uterine circulation in pregnant rats*. Am J Obstet Gynecol, 2001. **185**(3): p. 638-42.
73. Edwards, D.L., et al., *Long-term nitric oxide blockade in the pregnant rat: effects on blood pressure and plasma levels of endothelin-1*. Am J Obstet Gynecol, 1996. **175**(2): p. 484-8.
74. LaMarca, B.B., et al., *Role of endothelin in mediating tumor necrosis factor-induced hypertension in pregnant rats*. Hypertension, 2005. **46**(1): p. 82-6.

75. Sharkey, A.M., et al., *Expression of mRNA for vascular endothelial growth factor in human placenta*. J Reprod Fertil, 1993. **99**(2): p. 609-15.
76. Maynard, S.E., 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): p. 649-58.
77. Caniggia, I., et al., *Endoglin regulates trophoblast differentiation along the invasive pathway in human placental villous explants*. Endocrinology, 1997. **138**(11): p. 4977-88.
78. Venkatesha, S., et al., *Soluble endoglin contributes to the pathogenesis of preeclampsia*. Nat Med, 2006. **12**(6): p. 642-9.
79. Hodari, A.A., R. Smeby, and F.M. Bumpus, *A renin-like substance in the human placenta*. Obstet Gynecol, 1967. **29**(3): p. 313-7.
80. Li, X., et al., *Cellular localization of AT1 receptor mRNA and protein in normal placenta and its reduced expression in intrauterine growth restriction. Angiotensin II stimulates the release of vasorelaxants*. J Clin Invest, 1998. **101**(2): p. 442-54.
81. Novak, J., et al., *Reduced sensitivity of the renal circulation to angiotensin II in pregnant rats*. Hypertension, 1997. **30**(3 Pt 2): p. 580-4.
82. Pueyo, M.E., et al., *Angiotensin II stimulates the production of NO and peroxynitrite in endothelial cells*. Am J Physiol, 1998. **274**(1 Pt 1): p. C214-20.
83. Merrill, D.C., et al., *Angiotensin-(1-7) in normal and preeclamptic pregnancy*. Endocrine, 2002. **18**(3): p. 239-45.
84. Shah, D.M., et al., *Reproductive tissue renin gene expression in preeclampsia*. Hypertens Pregnancy, 2000. **19**(3): p. 341-51.
85. Wang, Y., et al., *Increased chymotrypsin-like protease (chymase) expression and activity in placentas from women with preeclampsia*. Placenta, 2007. **28**(4): p. 263-9.

86. Wang, Y., et al., *Elevated plasma chymotrypsin-like protease (chymase) activity in women with preeclampsia*. Hypertens Pregnancy, 2010. **29**(3): p. 253-61.
87. Laskowska, M., et al., *Evaluation of the renin-angiotensin-aldosterone system in pregnancy complicated by preeclampsia with and without intrauterine growth retardation*. Ann Univ Mariae Curie Sklodowska Med, 2004. **59**(2): p. 451-6.
88. Irani, R.A. and Y. Xia, *The functional role of the renin-angiotensin system in pregnancy and preeclampsia*. Placenta, 2008. **29**(9): p. 763-71.
89. Wallukat, G., et al., *Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin AT1 receptor*. J Clin Invest, 1999. **103**(7): p. 945-52.
90. Zhou, C.C., et al., *Autoantibody from women with preeclampsia induces soluble Fms-like tyrosine kinase-1 production via angiotensin type 1 receptor and calcineurin/nuclear factor of activated T-cells signaling*. Hypertension, 2008. **51**(4): p. 1010-9.
91. Takimoto, E., et al., *Hypertension induced in pregnant mice by placental renin and maternal angiotensinogen*. Science, 1996. **274**(5289): p. 995-8.
92. Sacks, G.P., et al., *Normal pregnancy and preeclampsia both produce inflammatory changes in peripheral blood leukocytes akin to those of sepsis*. Am J Obstet Gynecol, 1998. **179**(1): p. 80-6.
93. Vince, G.S., et al., *Interleukin-6, tumour necrosis factor and soluble tumour necrosis factor receptors in women with pre-eclampsia*. Br J Obstet Gynaecol, 1995. **102**(1): p. 20-5.
94. Sibai, B.M., et al., *Maternal morbidity and mortality in 442 pregnancies with hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets (HELLP syndrome)*. Am J Obstet Gynecol, 1993. **169**(4): p. 1000-6.
95. Carter, A.M., *Animal models of human placentation--a review*. Placenta, 2007. **28 Suppl A**: p. S41-7.

96. Malassine, A., J.L. Frendo, and D. Evain-Brion, *A comparison of placental development and endocrine functions between the human and mouse model*. Hum Reprod Update, 2003. **9**(6): p. 531-9.
97. Sunderland, N., A. Hennessy, and A. Makris, *Animal models of pre-eclampsia*. Am J Reprod Immunol, 2010.
98. Crews, J.K., et al., *Decreased endothelium-dependent vascular relaxation during reduction of uterine perfusion pressure in pregnant rat*. Hypertension, 2000. **35**(1 Pt 2): p. 367-72.
99. Alexander, B.T., et al., *Reduced uterine perfusion pressure during pregnancy in the rat is associated with increases in arterial pressure and changes in renal nitric oxide*. Hypertension, 2001. **37**(4): p. 1191-5.
100. LaMarca, B.B., et al., *Hypertension produced by reductions in uterine perfusion in the pregnant rat: role of tumor necrosis factor-alpha*. Hypertension, 2005. **46**(4): p. 1022-5.
101. Gilbert, J.S., S.A. Babcock, and J.P. Granger, *Hypertension produced by reduced uterine perfusion in pregnant rats is associated with increased soluble fms-like tyrosine kinase-1 expression*. Hypertension, 2007. **50**(6): p. 1142-7.
102. Buhimschi, I., et al., *Pre-eclampsia-like conditions produced by nitric oxide inhibition: effects of L-arginine, D-arginine and steroid hormones*. Hum Reprod, 1995. **10**(10): p. 2723-30.
103. Khalil, R.A., et al., *Enhanced vascular reactivity during inhibition of nitric oxide synthesis in pregnant rats*. Hypertension, 1998. **31**(5): p. 1065-9.
104. Zhou, C.C., et al., *Angiotensin receptor agonistic autoantibodies induce pre-eclampsia in pregnant mice*. Nat Med, 2008. **14**(8): p. 855-62.
105. Gao, Y.S., et al., *Nebivolol induces endothelium-dependent relaxations of canine coronary arteries*. J Cardiovasc Pharmacol, 1991. **17**(6): p. 964-9.

106. Tran Quang, T., et al., *Investigation of the different adrenoceptor targets of nebivolol enantiomers in rat thoracic aorta*. Br J Pharmacol, 2009. **156**(4): p. 601-8.
107. Pauwels, P.J., P. Van Gompel, and J.E. Leysen, *Human beta 1- and beta 2-adrenergic receptor binding and mediated accumulation of cAMP in transfected Chinese hamster ovary cells. Profile of nebivolol and known beta-adrenergic blockers*. Biochem Pharmacol, 1991. **42**(9): p. 1683-9.
108. Mason, R.P., et al., *Effect of nebivolol on endothelial nitric oxide and peroxynitrite release in hypertensive animals: Role of antioxidant activity*. J Cardiovasc Pharmacol, 2006. **48**(1): p. 862-9.
109. Evangelista, S., et al., *Effect of DL-nebivolol, its enantiomers and metabolites on the intracellular production of superoxide and nitric oxide in human endothelial cells*. Pharmacol Res, 2007. **55**(4): p. 303-9.
110. Maffei, A., et al., *Characterization of nitric oxide release by nebivolol and its metabolites*. Am J Hypertens, 2006. **19**(6): p. 579-86.
111. de Groot, A.A., et al., *Involvement of the beta3 adrenoceptor in nebivolol-induced vasorelaxation in the rat aorta*. J Cardiovasc Pharmacol, 2003. **42**(2): p. 232-6.
112. Dessy, C., et al., *Endothelial beta3-adrenoreceptors mediate nitric oxide-dependent vasorelaxation of coronary microvessels in response to the third-generation beta-blocker nebivolol*. Circulation, 2005. **112**(8): p. 1198-205.
113. Garban, H.J., G.M. Buga, and L.J. Ignarro, *Estrogen receptor-mediated vascular responsiveness to nebivolol: a novel endothelium-related mechanism of therapeutic vasorelaxation*. J Cardiovasc Pharmacol, 2004. **43**(5): p. 638-44.
114. Ladage, D., et al., *Mechanisms underlying nebivolol-induced endothelial nitric oxide synthase activation in human umbilical vein endothelial cells*. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2006. **33**(8): p. 720-4.

115. Güler, S., Çekiç, E.G., Tuncer, M., *Poster: Sıçan uterus arterinde nebivololün alfa adrenerjik reseptör bloke edici etkisi*. Türk Farmakoloji Derneği 20. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Kongre Programı ve Bildiri Özet Kitabı, 2009: p. 268.
116. Maffei, A. and G. Lembo, *Nitric oxide mechanisms of nebivolol*. Ther Adv Cardiovasc Dis, 2009. **3**(4): p. 317-27.
117. Cominacini, L., et al., *Nebivolol and its 4-keto derivative increase nitric oxide in endothelial cells by reducing its oxidative inactivation*. J Am Coll Cardiol, 2003. **42**(10): p. 1838-44.
118. Pires, M.J., et al., *Long-term nebivolol administration reduces renal fibrosis and prevents endothelial dysfunction in rats with hypertension induced by renal mass reduction*. J Hypertens, 2007. **25**(12): p. 2486-96.
119. Department of Veterans Affairs, U.S., *National PBM Drug Monograph Nebivolol*. VHA Pharmacy Benefits Management Services and the Medical Advisory Panel, 2008.
120. Bosio, P.M., et al., *Maternal central hemodynamics in hypertensive disorders of pregnancy*. Obstet Gynecol, 1999. **94**(6): p. 978-84.
121. Easterling, T.R., et al., *Treatment of hypertension in pregnancy: effect of atenolol on maternal disease, preterm delivery, and fetal growth*. Obstet Gynecol, 2001. **98**(3): p. 427-33.
122. Easterling, T.R., et al., *Prevention of preeclampsia: a randomized trial of atenolol in hyperdynamic patients before onset of hypertension*. Obstet Gynecol, 1999. **93**(5 Pt 1): p. 725-33.
123. Toblli, J., et al., *Cardiovascular protective effects of nebivolol in Zucker diabetic fatty rats*. J Hypertens, 2010. **28**(5): p. 1007-19.
124. Mulvany, M.J. and W. Halpern, *Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats*. Circ Res, 1977. **41**(1): p. 19-26.
125. Krege, J.H., et al., *A noninvasive computerized tail-cuff system for measuring blood pressure in mice*. Hypertension, 1995. **25**(5): p. 1111-5.

126. Tong, C. and J.C. Eisenach, *The vascular mechanism of ephedrine's beneficial effect on uterine perfusion during pregnancy*. Anesthesiology, 1992. **76**(5): p. 792-8.
127. Bird, I.M., et al., *Pregnancy induces an increase in angiotensin II type-1 receptor expression in uterine but not systemic artery endothelium*. Endocrinology, 1997. **138**(1): p. 490-8.
128. McMullen, J.R., et al., *Interactions between AT1 and AT2 receptors in uterine arteries from pregnant ewes*. Eur J Pharmacol, 1999. **378**(2): p. 195-202.
129. Tzemos, N., P.O. Lim, and T.M. MacDonald, *Nebivolol reverses endothelial dysfunction in essential hypertension: a randomized, double-blind, crossover study*. Circulation, 2001. **104**(5): p. 511-4.
130. Lekakis, J.P., et al., *Effect of nebivolol and atenolol on brachial artery flow-mediated vasodilation in patients with coronary artery disease*. Cardiovasc Drugs Ther, 2005. **19**(4): p. 277-81.
131. Toprak, O., et al., *Preventive effect of nebivolol on contrast-induced nephropathy in rats*. Nephrol Dial Transplant, 2008. **23**(3): p. 853-9.
132. Dechanet, C., et al., *Endothelin-dependent vasoconstriction in human uterine artery: application to preeclampsia*. PLoS One, 2011. **6**(1): p. e16540.
133. Ong, S.S., et al., *Remodeling of myometrial radial arteries in preeclampsia*. Am J Obstet Gynecol, 2005. **192**(2): p. 572-9.
134. Fratta Pasini, A., et al., *Nebivolol decreases oxidative stress in essential hypertensive patients and increases nitric oxide by reducing its oxidative inactivation*. J Hypertens, 2005. **23**(3): p. 589-96.
135. Wagenfeld, L., et al., *Protective effects of nebivolol on oxygen free radical-induced vasoconstrictions in vitro*. Med Sci Monit, 2008. **14**(6): p. BR109-112.

EKLER

EK 1: Hayvan Deneyleri Etik Kurul Onayı



HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ

DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU

Hacettepe 06100, ANKARA

18 Eylül 2009

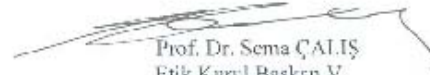
Sayı : B.50.2.HAC.0.01.00.05/ 56

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	: 17.09.2009 (PERŞEMBE)
TOPLANTI SAYISI	: 2009/8
DOSYA KAYIT NUMARASI	: 2009/39
KARAR NUMARASI	: 2009/39-7
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ	: Prof. Dr. Meral Tuncer
HAYVAN DENEYLERİNDEN SORUMLU ARAŞTIRMACI	: Dr. Şahile Güler, Dr. E. Güvenç Çekiç
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	:
ONAYLANAN HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI	: 72 adet dişi wistar sıçan
ONAY GEÇERLİLİK SÜRESİ	: 12 ay

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof. Dr. Meral Tuncer'in araştırma yürütücüsü olduğu 2009/39 kayıt numaralı "*Suomin ile Preeklamsi Oluşturulan Sıçanlarda Nebivololün Uterin Arter Cevapları Üzerine Etkisi*" isimli çalışma Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesi'ne göre uygun bulunarak oy birliği ile onaylanmasına karar verilmiştir.

Sorumlu araştırmacı deneylere başlangıç tarihini Etik Kurulu bildirmekle yükümlüdür


Prof. Dr. Sema ÇALIŞ
Etik Kurul Başkanı V.

EK 2: Bu konu hakkında yayınlamış bildiriler

Endothelial Dysfunction in Uterine Artery in Suramin-induced Preeclampsia-like Syndrome in Rats, **Güler S.**, Çekiç E.G., Soydan G., Baydar D.E., Tuncer M., 16th World Congress on Basic and Clinical Pharmacology, Copenhagen-Denmark, 17-23 July 2010, kongre kitabı sayfa 262 (Poster Sunumu, poster no: 2866), Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 107 (s1):312-313, July 2010

LASSBio-881 is an orally effective antinociceptive compound that binds to CB1 receptors and is active mainly in the neurogenic component of pain models. However, due to its chemical characteristics, we investigated whether LASSBio-881 had also effects on TRPV1 channels. CB1- and TRPV1-expressing *Xenopus* oocytes were used to evaluate effects on both receptors. *In vivo* effects were evaluated in capsaicin-induced acute and inflammatory changes in nociception as well as in a partial sciatic ligation model. LASSBio-881 inhibited capsaicin-elicited TRPV1 currents with an IC₅₀ of 14 μ M and inhibited proton-gated currents by 70% at 20 μ M. Preliminary experiments indicate that this compound acts as an inverse agonist at CB1 receptors as well. Locally applied LASSBio-881 decreased time spent in capsaicin-elicited nocifensive behaviour by 30%, and given orally it reduced in about 50% measures of two models of inflammatory thermal hypernociception. In addition, LASSBio-881, at 300 μ mol/kg/day p.o., decreased the paw withdrawal responses to thermal stimuli of animals with sciatic neuropathy 7–11 days after nerve ligation. At this dose, hyperthermia was not observed within 4 hours following administration. LASSBio-881 is a TRPV1 antagonist that apparently competes with capsaicin. Accordingly, LASSBio-881 inhibited nociception in models of acute, inflammatory and neuropathic pain presumed to involve TRPV1 signalling. These *in vivo* actions were not hindered by hyperthermia, a common side effect of other TRPV1 antagonists. We propose that the antinociceptive properties of LASSBio-881 are due to TRPV1 antagonism and not CB1 agonism, although other molecular interactions may contribute to the effects of this multi-target drug candidate.

Paper No.: 2884

FOCUSED CONFERENCE GROUP: P14 - ADDICTION AND DOPING: NEUROBIOLOGICAL AND CLINICAL.
ENHANCEMENT OF CLONIDINE-INDUCED ANALGESIA BY SULFISOXAZOLE IN MICE

Anil Gulati(1), G Matwyslyn(1), M Boxwalla(2), B Puppala(2), S Andurkar(1)

(1) Midwestern University, Chicago College of Pharmacy, Downers Grove, IL, USA

(2) Advocate Lutheran General Children's Hospital, Park Ridge, IL, USA

Clonidine, an α_2 -adrenergic agonist, produces significant analgesia and potentiates morphine analgesia. ETA receptor antagonists also potentiate the antinociceptive response to morphine. An interaction between clonidine and ET in the cardiovascular effects involving sympathetic nervous system has been reported, but it is not known whether ETA receptor antagonist will affect clonidine analgesia. This study examined the influence of sulfisoxazole (ETA receptor antagonist) on clonidine analgesia. Male Swiss Webster mice were used to determine antinociceptive response of drugs by measuring tail flick latency. The effect of clonidine (0.3, 1.0 and 3.0 mg/kg, i.p.) alone or in combination with sulfisoxazole (25, 75 and 225 mg/kg, p.o.) on analgesia and body temperature was determined. Clonidine produced a dose-dependent analgesia and hypothermia. Sulfisoxazole (25, 75 and 225 mg/kg) when administered with clonidine (0.3 mg/kg) significantly potentiated (31% increase in AUC) the analgesic effect of clonidine. Yohimbine (α_2 -adrenergic receptor antagonist) did not affect analgesic effect of clonidine plus sulfisoxazole. Idazoxan (11-imidazoline and α_2 -adrenergic receptor antagonist) reduced (47% decrease in AUC) the analgesic effect of clonidine plus sulfisoxazole. Treatment with naloxone reduced (46% decrease in AUC) the analgesic effect of clonidine plus sulfisoxazole. These results indicate that sulfisoxazole, an ETA receptor antagonist, potentiates the analgesic effect of clonidine, which could be mediated through 11-imidazoline receptors and opioid receptors. Combined administration of non-opioids clonidine and sulfisoxazole produces marked antinociception suggesting that this therapeutic strategy might provide an alternative in pain management.

Paper No.: 3295

FOCUSED CONFERENCE GROUP: P16 - NATURAL PRODUCTS: PAST AND FUTURE?
ENZYMATIC INHIBITION, ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MEDICINAL PLANT EXTRACTS: POTENTIAL APPLICATION IN THE MANAGEMENT OF TYPE 2 DIABETES

Vandana Gulati, I Harding, E Palombo

Swinburne University of Technology, Faculty of Life and Social Sciences, Melbourne, Victoria, Australia

Type 2 diabetes can be managed by reducing postprandial hyperglycemia using oral medications which inhibit digestive enzymes involved in carbohydrate metabolism. Two such enzymes of significance are α -amylase and α -glucosidase. Plants are one of the richest sources of natural compounds which may provide the basis of such inhibitory medication. This study investigated the inhibitory effects of thirty ethanolic plant extracts on α -amylase and α -glucosidase. In addition, DPPH free radical scavenging effect and total phenolic and flavonoid content were determined. The percentage enzyme inhibition was calculated with respect to negative control (ethanol). Santalum spicatum (120 mg/ml) and Acacia ligulata (75 mg/ml) showed 100% inhibition of α -amylase. The same extracts showed α -glucosidase inhibition in the range of 62.5 $\pm$ 2.5% at a concentration of 1.56 μ g/ml. The DPPH scavenging effect was found to be 86 $\pm$ 2% at 100 μ g/ml for the majority of the plant extracts tested. The total phenolic and flavonoid content was found to correlate with plants showing good α -amylase and α -glucosidase inhibition, and DPPH scavenging effect. The same plant extracts also showed good antibacterial activity against Gram positive and Gram negative bacteria. The extracts (or phytochemicals within extracts) may be developed into useful alternative oral therapies for the management of Type 2 diabetes. The above extracts will be screened for Angiotensin converting enzyme (ACE)-inhibitory activity to determine whether they can be used to manage hypertension related to type 2 diabetes.

Paper No.: 2866

FOCUSED CONFERENCE GROUP: P15 - ENDOTHELIUM IN HEALTH AND DISEASE
ENDOTHELIAL DYSFUNCTION OF UTERINE ARTERY IN SURAMIN-INDUCED PREECLAMPSIA-LIKE SYNDROME IN RATS

Sebile Güler(1), EG Cekiç(1), G Soydan(1), D Ertoyl Boydar(2), M Tuncer(1)

(1) Hacettepe University, Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, Ankara, Turkey

(2) Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Pathology, Ankara, Turkey

Since the pathogenesis of preeclampsia is not yet fully explained, animal models are employed to find a solution. Among these models, suramin-induced preeclampsia-like syndrome is the most recent one. Endothelial dysfunction of rat aorta has been shown in this model. The aim of the study is to investigate whether suramin-induced preeclampsia-like syndrome induces endothelial dysfunction in uterine artery which is important to supply blood to placenta and fetus. Pregnant Wistar rats were used. On the 10th and 11th day of pregnancy totally 200 mg/kg suramin or saline were given. Blood pressure and weight gain were measured till 20th day of pregnancy in which rats were sacrificed. Left kidneys were removed for pathological examination. Urine protein levels were determined by sticks. Uterine arteries were isolated and placed on wire myograph to evaluate pharmacological responses to endothelin-1, prostaglandin F₂ α , acetylcholine and sodium nitroprusside. Blood pressures significantly increased in suramin-treated group. The number of the fetuses, weight of the placentas and fetuses were decreased. Although urine sticks did not show significant differences for proteinuria, pathological examination

of the kidneys revealed severe tubular injury in suramin-treated group. Proximal tubules in the renal cortex showed diffuse macrovacuolar degeneration. Endothelin-1 and prostaglandin F_{2α} contractions of uterine artery were increased and acetylcholine relaxations were decreased in the suramin-treated group, while sodium nitroprusside relaxations did not change. These results indicate that suramin induced preeclampsia-like syndrome and caused endothelial dysfunction in uterine artery.

Paper No.: 2752

FOCUSED CONFERENCE GROUP:

P04 - PHARMACOEPIDEMIOLOGY, CURRENT CONTROVERSIES AND OPPORTUNITIES ADMINISTRATIVE COMPLEXITIES FOR A EUROPEAN OBSERVATIONAL STUDY

Sinem Ezgi Gulmez(1), S Lignot-Maleyran(1), S Micon(1), F Hamoud(1), C De Vries(2), M Sturkenboom(3), P Blin(1), N Moore(1)

(1) University Victor Segalen, Department of Pharmacology, Bordeaux, France

(2) University of Bath, Department of Pharmacology and Pharmacy, Bath, UK

(3) Erasmus University Medical Centre, Department of Epidemiology & Biostatistics, Rotterdam, The Netherlands

The development of pharmacoepidemiology in Europe, strongly supported by the EMEA, will need to rely much on multinational retrospective studies. Pharmacoepidemiology studies are non-interventional and therefore they do not fall under the clinical trials directive (2001/20/EC). Based on the 1995 Data Protection Directive (95/46/EC), accessing these data should require only an authorisation by the relevant Data Protection Committees and therefore one might expect similar procedures for study approval across European countries. Experience from a simple retrospective multinational study across 7 countries shows that this is not the case. In two countries, a single opinion from a single Data Protection Committee was enough. In three, there is a single multicentre Committee, but some hospitals insist on approval by local Ethics Committees (EC). In the rest, there is either no central Committee, or the advice of the central Committee comes after that of local EC. The information requested by the different Committees varies even within the same country. Some Committees give their advice for free, others charge after having given the advice, and some require payment even before considering the project. This degree of complexity and disharmony, and resulting cost, is not required by the European Directive. It might be argued that a single opinion should be enough to cover all of Europe. Regulators will need to be aware that these time-consuming, expensive and useless complexities must be factored in when estimating the time needed to do a study, and the cost of the study.

Paper No.: 2753

FOCUSED CONFERENCE GROUP: P04 - PHARMACOEPIDEMIOLOGY, CURRENT CONTROVERSIES AND OPPORTUNITIES SALOME: A PILOT STUDY TO TEST CAUSALITY ASSESSMENT OF DRUG-EXPOSED ACUTE LIVER FAILURE CASES USING DIFFERENT SCALES

Sinem Ezgi Gulmez(1), GP Pageaux(2), D Larrey(2), S Lignot-Maleyran(1), F Hamoud(1), S Micon(1), R Lassalle(1), J Jové(1), F Bissoli(3), Y Horsmans(4), J Bernuau(5), B Stricker(6), D Thorburn(7), P Blin(1), N Moore(1), on behalf of SALOME team

(1) University Victor Segalen, Department of Pharmacology, Bordeaux, France

(2) CHU Montpellier, Hôpital Saint-Eloi, Department of Hepatogastroenterology, Montpellier, France

(3) Clinica San Gaudenzio, Department of Internal Medicine and Cardiology, Novara, Italy

(4) Université Catholique de Louvain, Department of Gastroenterology,

Brussels, Belgium

(5) APHP, Hôpital Beaujon, Fédération d'Hépatogastroentérologie, Clichy, France

(6) Erasmus University Medical Centre, Department of Epidemiology & Biostatistics, Rotterdam, The Netherlands

(7) Royal Free Hampstead NHS Trust, Liver Transplantation & Hepatobiliary Unit, London, UK

SALOME is a pilot study of the Study of Acute Liver Transplant, retrospectively evaluating cases of acute liver failure (ALF) patients exposed to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). The objective is to define the level of drug name blinding for causality assessment, and the causality scale to be used. Thirty randomly selected drug-exposed ALF cases in France were submitted to 7 members of the Case Adjudication Committee (CAC) for causality assessment. Individually they were asked to define what they considered as the index-date, then to determine causality of the drugs to which the patient was exposed 30 days prior to index-date. Members used 3 different causality scales (WHO, RUCAM, Venulet). Each case was sequentially assessed 3 times with increasing levels of detail: Assessment-1: Drug names blinded as A, B, C; doses "therapeutic", "overdose", "not known"; Assessment-2: Information from assessment-1 + drug class; Assessment-3: Information from assessment-2 + full drug data including the names except for NSAIDs (kept blinded as "NSAID"). Subsequently, a consensus meeting of the CAC was held. All members defined the index-date as the date of first symptoms of liver disease. Overall, there were 429 assessments: WHO scale was completed for 97.4% of these; RUCAM for 32.6%, and Venulet for 96.3% (but only the causality decision part). As the level of drug information increased, the certainty of causality assessment increased. The CAC agreed to use Assessment-3 and the WHO scale of causality, which may be the most appropriate scale for such retrospective studies of drug-exposed cases.

Paper No.: 2667

FOCUSED CONFERENCE GROUP: P19 - GENERAL SESSION - ONCOLOGY

HGF/c-MET OVEREXPRESSIONS, BUT NOT MET MUTATION, CORRELATES WITH PROGRESSION OF NON-SMALL CELL CARCINOMAS

Mukaddes Gumustekin(1), A Kargi(2), G Bulut(3), A Gözükızıl(3), C Ulukus(2), I Öztop(4), N Atabey(3)

(1) Dokuz Eylül University School of Medicine, Department of Pharmacology, İzmir, Turkey

(2) Dokuz Eylül University School of Medicine, Department of Pathology, İzmir, Turkey

(3) Dokuz Eylül University School of Medicine Department of Medical Biology and Genetics, İzmir, Turkey

(4) Dokuz Eylül University School of Medicine Department of Medical Oncology, İzmir, Turkey

HGF/c-Met pathway is potential therapeutic target for cancer treatment. Overexpression of HGF and c-Met have been shown in non-small-cell lung cancer (NSCLC). However, their role in tumor progression is not clearly defined. The aim of this study is to determine the role of HGF/c-Met pathway and its association with invasion related markers and clinicopathologic parameters in NSCLC. Immunohistochemical analysis was performed on 63 paraffin-embedded NSCLC tumor sections which were provided from Pathology archives of Dokuz Eylül University. The expressions of invasion related markers such as MMP-2, MMP-9, TIMP-1, TIMP-3 and RhoA were also examined. DNA sequencing for Met mutations in both nonkinase and tyrosine kinase (TK) domain was performed. Overexpression ratio of c-Met was higher than those HGF. Co-expression of HGF/c-Met was significantly associated with lymph node invasion and TIMP-3 and RhoA overexpressions. There were positive correlation between TIMP-3 overexpression and advanced stage and negative correlation between RhoA overexpression and survival. A single nucleotide polymorphism (SNP) in sema domain and two SNPs in TK domain of c-Met were found. There was no statistically significant correlation between the presence of c-Met alterations and clinicopathologic parameters except shorter survival time in cases with two SNPs in TK

EK 3: Dr. Sebile GÜLER'in diğer yayın ve bildirileri

Yayınlar:

Concomitant trastuzumab with thoracic radiotherapy: a morphological and functional study, Yavas G., Yildiz F., **Guler S.**, Sargon M.F., Yildiz D., Yolcu T., Tuncer M., Akyol F.H., Ann Oncol. (yayımlanmak üzere kabul edildi, doi:10.1093/annonc/mdq590)

Bildiriler:

Ulusal:

1. Mediastinal Radyoterapi ile Eşzamanlı Trastuzumab Kullanımının Wistar Albino Türü Sıçanlarda Vasküler Hasara Etkisi, Yavaş G.A., Yıldız F., **Güler S.**, Sargon M., Yıldız D., Yolcu T., Tuncer M., Akyol F., 9. Ulusal Radyasyon Onkolojisi Kongresi, Girne-KKTC, 21-25 Nisan 2010 (Kongre Düzenleme Kurulu En İyi Sözlü Bildiri Ödülü)

2. Mediastinal Radyoterapi ile Eşzamanlı Trastuzumab Kullanımının Wistar Albino Türü Sıçanlarda Vasküler Hasara Etkisi, Yavaş G.A., Yıldız F., **Güler S.**, Sargon M., Yıldız D., Yolcu T., Tuncer M., Akyol F., 4.Ulusal Akciğer Kanseri Kongresi, Belek-Antalya, 10-14 Kasım 2010 (Sözlü Bildiri İkincilik Ödülü)

3. Sıçan Uterus Arterinde Nebivololün alfa-adrenerjik reseptör bloke edici etkisi, **Güler S.**, Çekiç E.G., Tuncer M., 20. Ulusal Farmakoloji Kongresi, Antalya, 3-7 Kasım 2009 kongre kitabı sayfa 268 (Poster Sunumu, poster no:087)

4. Bir Sağlık Ocağı'na 3,4, 10 Aralık 2007 Tarihlerinde Yapılan Başvurularda ÜSYE Tanısı Alan Hastalara Uygulanan Tedavi Ve Hastaların Tedaviye Uyumu, Yıldız A. N., Ertürk E., Gazel E., **Güler S.**, Temel F., 12. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi, 21-25 Ekim 2008, Ankara, kongre kitabı sayfa:398 (Poster bildirisi)

5. Sol-Sağ Asimetrisi, **Güler S.**, Sekkin M., Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi 1. Ulusal Öğrenci Kongresi, Kasım 2005, Gaziantep (Sözlü Bildiri)

6. Hızlandırılmış Ruhsatlandırma ve Hastaların Umutları, Karaca M. O., Mocan M. T., **Güler S.**, Batur A., 1. Tıpta İnsan Bilimleri Kongresi, Nisan 2005, Ankara, Kongre kitabı sayfa: 22 (Sözlü bildiri)