



T.C.

KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**PREEKLAMPSİNİN SAPTANMASINDA PLASENTAL LÖKOSİT
İNHİBE EDİCİ FAKTÖR (LIF) İLE VASKÜLER ENDOTELYAL
BÜYÜME FAKTÖRÜ (VEGF) SEVİYELERİNİN VE BUNLARIN
KOMBİNE KULLANIMININ ETKİNLİĞİ**

UZMANLIK TEZİ

Arş. Gör. Dr. Ekin ASANOĞLU EKİCİ

TRABZON - 2023



T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**PREEKLAMPSİNİN SAPTANMASINDA PLASENTAL LÖKOSİT
İNHİBE EDİCİ FAKTÖR (LIF) İLE VASKÜLER ENDOTELYAL
BÜYÜME FAKTÖRÜ (VEGF) SEVİYELERİNİN VE BUNLARIN
KOMBİNE KULLANIMININ ETKİNLİĞİ**

UZMANLIK TEZİ

Arş. Gör. Dr. Ekin ASANOĞLU EKİCİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Armağan OSMANAĞAOĞLU

TRABZON - 2023

ÖNSÖZ

Çalışmanın her aşamasında verdiği önemli katkılar ve uzmanlık eğitimimdeki emekleri için saygıdeğer tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet Armağan OSMANAĞAOĞLU'na teşekkürü bir borç bilirim.

Uzmanlık eğitimim boyunca bana her konuda destek olan, bilgi ve tecrübeleriyle bu süreci başarılı bir şekilde tamamlamama yardımcı olan, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalının çok değerli hocaları; Prof. Dr. Emine Seda GÜVENDAĞ GÜVEN'e, Prof. Dr. Süleyman GÜVEN'e, Prof. Dr. Turhan ARAN'a, Prof. Dr. Cavit KART'a, Doç. Dr. Gülseren DİNÇ'e, Doç. Dr. Ömer DEMİR'e ve Dr. Öğr. Üyesi Bakiye AKBAŞ'a teşekkürlerimi sunarım.

Araştırma sürecimde bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Mustafa Emre ERCİN'e teşekkür ederim ve Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalının tüm çalışanlarına da yardımları için teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalıştığım, aynı zorlu yolu beraber yürüdüğümüz tüm hekim arkadaşlarıma, yoldaşlarıma teşekkür ederim. Ayrıca kliniğimizin çalışan hemşire, ebe, teknisyen ve personellerine de bu uzun süreci daha güzel ve kolay hale getirdikleri için teşekkürlerimi sunarım.

Tez hazırlama sürecimde yardımlarıyla bana büyük yol katettiren kıymetli ablam Dr. Öğr. Üyesi Özgen GÖNENÇ ÇEKİÇ'e ve arkadaşlıklarıyla bana iyi ki dedirten güzel dostlarıma çok teşekkür ederim.

Son olarak tüm hayatım boyunca olduğu gibi bu dönemde de beni sevgi ve şefkatle saran, bana güç veren ve desteklerini hep arkamda hissettiren çok kıymetli aileme şükranlarımı sunarım. Özellikle sevgili eşim Op. Dr. Semih EKİCİ'ye yalnızca hayatımda değil, hem asistanlık hem de tez sürecimin her anında emek ve sabırla yanımda olduğu için ve minik Defneciğime tüm bu zorlu zamanlarda bana bir nefes olduğu için minnettarım.

Dr. Ekin ASANOĞLU EKİCİ

ÖZET

Preeklampsinin Saptanmasında Plasental Lökosit İnhibe Edici Faktör (LIF) ile Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) Seviyelerinin ve Bunların Kombine Kullanımının Etkinliği

Amaç: Gebelikte hipertansif bozuklukların en önemlilerinden biri preeklampsidir. Preeklampsisi gibi multisistemik, multifaktöriyel, yüksek morbiditesi olan ve mortal seyredabilen bir klinik tablonun tanı almadan önce tespit edilebilmesi önemlidir. Preeklampsisi öngörüsü için günümüzde altın standart bir tarama testi yoktur. Bu araştırmada preeklampsisi gelişimini öngörmede LIF ve VEGF moleküllerinin kullanım etkinliğini belirlemeyi amaçladık.

Gereç yöntem: Bu prospektif kohort çalışmasında 2020 ile 2022 yılları arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı gebe polikliniğinde takip edilen 40 preeklampsisi, 20 preeklampsisi olmayan toplam 60 gebe çalışmaya dâhil edildi. Preeklampsisi grubu şiddetli özellik gösteren ve göstermeyen, erken ve geç başlangıçlı olmak üzere dört alt gruba ayrıldı. Olguların plasental doku örnekleri incelendi. Sitotrofoblast, sinsityotrofoblast, desidual, villöz stromal ve villöz kapiller hücrelerde immunohistokimyasal boyama ile LIF ve VEGF'in sitoplazmik düzeyleri belirlendi ve H skoru ile hesaplandı. İstatistiksel karşılaştırma, ANOVA ve lojistik regresyon analizleri ile yapıldı. Sensitivite, spesifite, pozitif ve negatif prediktif değerler ROC analizi ile belirlendi.

Bulgular: Preeklampsisi grubunda LIF ve VEGF düzeyleri açısından kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılıklar saptandı. Sitotrofoblast ve sinsityotrofoblastların LIF düzeyi preeklampsisi grubunda daha yüksek saptandı. VEGF düzeyleri ise sitotrofoblast, sinsityotrofoblast ve villöz stromal hücrelerde preeklampsisi grubunda kontrol grubuna göre yüksek saptandı. Erken ve geç başlangıçlı preeklampsisi kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılık saptanmadı. LIF sinsityotrofoblast ve VEGF sinsityotrofoblast düzeyleri birlikte değerlendirildiğinde preeklampsisi öngörüsü için sensitivitenin %77.5, spesifitenin %95, pozitif prediktif değerin (PPV) %96.9 ve negatif prediktif değerin (NPV) %67.9 olduğu saptandı. LIF sitotrofoblast ve VEGF sitotrofoblast düzeyleri birlikte değerlendirildiğinde ise sensitivite %82.5, spesifite %100, pozitif prediktif değer (PPV) %100.0 ve negatif prediktif değer (NPV) %74.1 olarak saptandı. Çok değişkenli lojistik regresyon analizinde yaş veya BMI sabit alınarak, LIF sinsityotrofoblast ve VEGF sinsityotrofoblast tek başına veya birlikte değerlendirildiğinde, LIF sinsityotrofoblast ve VEGF sinsityotrofoblastın preeklampsiyi öngörmede bağımsız belirleyici faktörler olduğu görülmüştür.

Sonuç: Preeklampside plasental dokularda LIF ve VEGF düzeyleri artar. Erken başlangıçlı preeklampside sitotrofoblastlar ile geç başlangıçlı preeklampside sinsityotrofoblastlarda LIF ve VEGF düzeyleri daha fazladır. Preeklampsinin şiddeti ile LIF düzeyleri pozitif korelasyon gösterir. LIF ve VEGF'in preeklampsiyi öngörmede tek başına ve birlikte biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Gebelik, LIF, VEGF, plasenta, preeklampsisi, hipertansiyon

SUMMARY

The Diagnostic Value of Placental Leukemia Inhibitory Factor (LIF) and Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Levels and Their Combined Use in the Prediction of Preeclampsia

Subject: Preeclampsia is one of the most important hypertensive disorders during pregnancy. It is important to detect a multisystemic, multifactorial, high-morbidity, and potentially fatal clinical condition such as preeclampsia before it is diagnosis. Currently, there is no gold standard screening test for the prediction of preeclampsia. In the present study, we aimed to determine the effectiveness of using LIF and VEGF molecules in predicting the development of preeclampsia.

Materials and methods: In this prospective cohort study, a total of 60 pregnant women, 40 with preeclampsia and 20 without preeclampsia, who were followed up in the pregnancy outpatient clinic of Karadeniz Technical University, Department of Gynecology and Obstetrics, between 2020 and 2022, were included. The preeclampsia group was divided into four subgroups: severe or non-severe, early and late-onset. Placental tissue samples of the cases were examined. Cytoplasmic levels of LIF and VEGF were determined by immunohistochemical staining in cytotrophoblast, syncytiotrophoblast, decidua, villous stromal, and villous capillary cells and were calculated by H score. Statistical comparison was performed by ANOVA and logistic regression analyses. Sensitivity, specificity, and positive - negative predictive values were determined by ROC analysis. A multivariate logistic regression analysis was used.

Results: Statistically significant differences were found in LIF and VEGF levels in the preeclampsia group compared to the control group. LIF levels of cytotrophoblast and syncytiotrophoblast were higher in the preeclampsia group. VEGF levels were higher in cytotrophoblasts, syncytiotrophoblasts and villous stromal cells in the preeclampsia group compared to the control group. No statistically significance found when early and late-onset preeclampsia compared among themselves. When LIF syncytiotrophoblast and VEGF syncytiotrophoblast levels were evaluated together, the sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) for the prediction of preeclampsia were 77.5%, 95%, 96.9% and 67.9%, respectively. When LIF cytotrophoblast and VEGF cytotrophoblast levels were evaluated together, sensitivity was found to be 82.5%, specificity 100%, positive predictive value (PPV) 100.0%, and negative predictive value (NPV) 74.1%. By taking the age or BMI as constants in multivariate logistic regression analysis, it was observed that LIF syncytiotrophoblast and VEGF syncytiotrophoblast are independent determining factors in predicting preeclampsia when LIF syncytiotrophoblast and VEGF syncytiotrophoblast are assessed alone or together.

Conclusion: LIF and VEGF levels are increased in placental tissues in preeclampsia. LIF and VEGF levels are higher in cytotrophoblasts in early-onset preeclampsia and in syncytiotrophoblasts in late-onset preeclampsia. LIF levels are positively correlated with the severity of preeclampsia. We suggest that LIF and VEGF can be used alone or in combination as biomarkers for the prediction of preeclampsia.

Keywords: Leukemia Inhibitory Factor (LIF), Preeclampsia, Pregnancy, Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	i
ÖZET.....	ii
SUMMARY	iii
İÇİNDEKİLER	iv
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	v
TABLOLAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
GRAFİKLER DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Preeklampsisi ve Tanı Kriterleri	4
2.2. Gebelikte Hipertansif Hastalıklar	7
2.3. Preeklampsisi İnsidansı	21
2.4. Preeklampsisi Risk Faktörleri	22
2.5. Preeklampsisi Etiyolojisi	25
2.6. Preeklampsisi Patofizyolojisi	31
2.7. Klinik Bulgularda Endotelyal Disfonksiyonun Rolü	39
2.8. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)	40
2.9. Preeklampside VEGF	42
2.10. Plazma lökosit inhibe edici faktör (LIF)	44
2.11. VEGF ve LIF için Preeklampsisi ile İlgili Ortak Noktalar	47
3. GEREÇ VE YÖNTEM	49
4. BULGULAR.....	61
5. TARTIŞMA	74
6. SONUÇ.....	79
7. KAYNAKLAR	80

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

ACOG: American College of Obstetricians and Gynecologists, Amerikan Jinekoloji ve Obstetri Derneği

LIF: Lökosit inhibitör faktörü

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

JAK: Janus kinaz

SFlt-1: Soluble Fms Like Tyrosinekinase-1, (Çözülebilir fms benzeri tirozin kinaz-1)

STAT: Sinyal Transdüserleri ve Transkripsiyon Aktivatörleri

eNOS: Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz

RhoA: Ras Homolog Protein A

IL: İnterlökin

ACC: American College of Cardiology, Amerikan Kardiyoloji Koleji

AHA: American Heart Association, Amerikan Kalp Derneği

IUGR: İntrauterin büyüme kısıtlılığı

HELLP: Haemolysis, Elevated Liver enzymes, Low Platelet (hemoliz, yüksek karaciğer enzimleri, düşük trombosit)

LDH: Laktat dehidrogenaz

AST: Aspartat aminotransferaz

ALT: Alanin aminotransferaz

FLT1: Fms Like Tyrosinekinase-1, (FMS benzeri tirozin kinaz-1)

SARS-CoV: Severe Akute Respiratory Syndrome Corona Virus (Şiddetli akut solunum sendromu korona virüsü)

COVID-19: Corona Virus Disease 2019 (2019 Korona virüs hastalığı)

BMI: Body Mass Index (Vücut kitle indeksi)

APS: Antiphospholipid Syndrome

SLE: Sistemik Lupus Eritematozus

HLA: Human leukocyte antigen, (İnsan lökosit antijen)

RNA: Ribonükleik asit

NK: Natural Killer

CD94: C tipi lektin reseptör ailesi üyesi

KIR: Killer Immunoglobulin-like Receptors (Öldürücü Immünglobulin benzeri reseptör)

ILT: Immunoglobulin-like Transcript (İmmünglobulin benzeri transkript)

PAI 1: Plazminojen Aktivatör İnhibitör 1

DNA: Deoksiribonükleik asit

PLGF: Plasental büyüme faktörü

MAPK: Mitogen activated protein kinase (Mitojenle aktive olan protein kinaz)

PI3K: Phosphatidylinositol-3-kinase (Fosfatidilinositol-3-kinaz)

MMP-14: Matriks metalloproteinaz-14

SOCS-3: Suppressor of cytokine signaling 3 (Sitokin sinyalleici baskılayıcısı)

AKT: AKT Serin/Threonin Kinaz 3

HIF-1a: Hypoxia inducible factor 1 alpha (Hipoksi ile indüklenebilir faktör 1 alfa)

VKİ: Vücut Kitle İndeksi

PPV: Pozitif Prediktif Değer

NPV: Negatif Prediktif Değer

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1: Preeklampsia tanı kriterleri

Tablo 2: Şiddetli özellikler gösteren preeklampsia tanı kriterleri

Tablo 3: Gebeliğin hipertansif bozuklukları için tanımlar

Tablo 4: Gebelerde görülen hipertansif bozuklukların karşılaştırılması

Tablo 5: Preeklampsia gelişme riskini artıran faktörler

Tablo 6: Preeklampsia risk faktörlerinin rölatif risk değerleri

Tablo 7: Preeklampsia ve kontrol grupları arasında demografik ve klinik parametrelerin karşılaştırılması

Tablo 8: Şiddetli preeklampsia, şiddetli özellik göstermeyen preeklampsia ve kontrol gruplarının LIF ve VEGF açısından karşılaştırılması

Tablo 9: Erken başlangıçlı ve geç başlangıçlı preeklampsinin şiddet özelliklerine göre alt gruplarının, kontrol grubu ile LIF ve VEGF açısından karşılaştırılması

Tablo 10: LIF ve VEGF'in plasental dokulardaki düzeylerinin hastaların klinik ve ultrasonografik özellikleriyle korelasyonu

Tablo 11: LIF-DE (11 H Skoru), LIF-SİN (27 H Skoru), LIF-SİT (22 H Skoru), LIF-VİST (9 H Skoru) ve LIF-VİKA (5.5 H Skoru) seviyelerinin tek parametre olarak kullanıldığında preeklampsia tayinindeki sensitivite, spesifisite, pozitif ve negatif belirleyici değerleri

Tablo 12: VEGF-DE (77 H Skoru), VEGF-SİN (78.5 H Skoru), VEGF-SİT (98.5 H Skoru), VEGF-VİST (62.5 H Skoru) ve VEGF-VİKA (97.5 H Skoru) seviyelerinin tek parametre olarak kullanıldığında preeklampsia tayinindeki sensitivite, spesifisite, pozitif ve negatif belirleyici değerleri

Tablo 13: LIF-SİN (27 H Skoru) ile VEGF-SİN (78.5 H Skoru) ve LIF-SİT (22 H Skoru) ile VEGF-SİT (98.5 H Skoru) seviyeleri birlikte kullanıldığında preeklampsia tayinindeki sensitivite, spesifisite, pozitif ve negatif belirleyici değerleri

Tablo 14: LIF-DE (11 H Skoru), LIF-VIST (5.5 H Skoru), VEGF-DE (77 H Skoru) ve VEGF-VIST (62.5 H Skoru) olan olgularda yapılan çoklu lojistik regresyon analizi

Tablo 15: LIF-DE (11 H Skoru), LIF-VIST (5.5 H Skoru), VEGF-DE (77 H Skoru) ve VEGF-VIST (62.5 H Skoru) olan olgularda yapılan çoklu lojistik regresyon analizi

Tablo 16: LIF-DE (11 H Skoru), LIF-VIST (5.5 H Skoru), LIF-VIKA (5.5 H Skoru), VEGF-DE (77 H Skoru), VEGF-VIST (62.5 H Skoru) ve VEGF-VIKA (105 H Skoru) olan olgularda yapılan çoklu lojistik regresyon analizi.



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Hipertansif gebe ve/veya doğum sonrası kadının tanısal değerlendirmesi-1

Şekil 2: Hipertansif gebe ve/veya doğum sonrası kadının tanısal değerlendirmesi-2

Şekil 3: Erken ve geç başlangıçlı preeklampsinin gelişim aşamaları

Şekil 4: Preeklampsisi etiyolojisi

Şekil 5: Uterin arterin myometrium ve endometriumda uzanımı

Şekil 6: Gebe olmayanlar, normal gebeler ve preeklampside spiral arterler

Şekil 7: VEGF çeşitleri ve reseptörlerinin şematik çizimi

Şekil 8: Anjiogenezin bozulması sonucu oluşan preeklampsisi ve VEGF mekanizması

Şekil 9: Plazma lökosit inhibe edici faktörün moleküler düzeyde etki mekanizması

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1: Preeklampsi öngörüsünde plasental hücrelerde LIF için ROC Eğrisi

Grafik 2: Preeklampsi öngörüsünde plasental hücrelerde VEGF için ROC Eğrisi



RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: Plasentanın histopatolojik görüntüsü

Resim 2: Preeklampsisi olmayan miad gebelik plasentasının (kontrol grubu) histopatolojik görüntüsü

Resim 3: Preeklampsili miad gebelik plasentasının (preeklampsi grubu) histopatolojik görüntüsü

Resim 4: VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak boyanma izlenmeyen koryonik villuslar

Resim 5: VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak hafif (+1) boyanma izlenen koryonik villuslar

Resim 6: VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak orta (+2) boyanma izlenen koryonik villuslar

Resim 7: VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak güçlü (+3) boyanma izlenen koryonik villuslar

Resim 8: VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak boyanma izlenmeyen desidual hücreler

Resim 9: VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak hafif (+1) boyanma izlenen desidual hücreler

Resim 10: VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak orta (+2) boyanma izlenen desidual hücreler

Resim 11: VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak güçlü (+3) boyanma izlenen desidual hücreler

Resim 12: VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak plasental hücrelerin boyanma düzeyleri

1. GİRİŞ

Gebelikte gelişen hipertansiyon, sistolik kan basıncının ≥ 140 mmHg olması ve/veya diyastolik kan basıncının ise ≥ 90 mmHg olması ile tanı alır. Gebelikte meydana gelen hipertansif bozuklukların en önemlisi preeklampsidir (1, 2). Preeklampsisi, geçmişinde tansiyonu normal olan bir hastada gebeliğinin 20. haftası sonrasında yeni başlayan tansiyon yüksekliği ve idrarda proteinüri veya yeni başlayan tansiyon yüksekliği ile proteinüri olsun veya olmasın end-organ disfonksiyonu olarak tanımlanmaktadır (3-5). Yeni başlayan hipertansiyona ek olarak tabloya belirgin end-organ disfonksiyonunun spesifik belirti veya semptomları eşlik ediyorsa, proteinüri olmadan da preeklampsisi tanısı konulmaktadır (5).

Preeklampsisi tüm gebeliklerin %2-7'sinde görülür ve sıklığı ilk gebeliği olan kadınlarda birden fazla gebelik geçirmiş kadınlara göre daha yüksektir (6, 7). Preeklampsisi gebeliklerin %4.6'sını komplike eder (8). Amerika Birleşik Devletleri insidansı ise %5 civarındadır (9). American College of Obstetricians and Gynecology, Amerikan Jinekoloji ve Obstetrik Derneği (ACOG)'un raporunda vurgulandığı gibi, preeklampsisi yılda 50.000 ila 60.000 anne ölümünden sorumludur (10).

Türkiye'de preeklampsisi prevelansı ile ilgili çalışmalar az ve yetersiz olmakla birlikte, preeklampsisi anne ölümlerinin yaklaşık %20'sini oluşturmaktadır. 32. gebelik haftasından önce başlayan (özellikle de 28. haftasından önce görülen) preeklampside (erken başlangıçlı preeklampsisi), anne mortalitesi yüksek olduğundan sıkı, iyi takip ve bakım önem arz etmektedir (11). Ülkeler arasındaki insidans varyasyonları, en azından kısmen, popülasyondaki anne yaşı dağılımındaki ve nullipar gebe hastaların oranındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır (12). Preeklampsisi insidansı, muhtemelen bu hastalığın risk faktörlerinin popülasyon düzeyindeki artışıyla ilişkili olarak artmaktadır (13).

Preeklampsisi gelişiminin patofizyolojisinde kabul edilen en önemli başlangıç olayı, sitotrofoblastların spiral arterlere doğru göç ve invazyonunun yetersizliğinden kaynaklanan uygunsuz vasküler yeniden şekillenme ve bunun sonucunda oluşan plasental hipoperfüzyondur (14). Plasental hipoksi ve iskemi, maternal vasküler endotel disfonksiyonu ile ilişkili faktörlerin salınmasına yol açarak daha ileri hale

gelir. Bu durumda hipoperfüzyon, anormal plasenta gelişiminin nedeni olduğu gibi sonucu da olmaktadır (14-17). Ayrıca diyabet ve obezite gibi önceden var olan durumlar iskemik plasentadan salınan faktörlerin artışına sebep olur. Bunlara ek olarak, preeklampside, immün hücrelerde ve enflamatuvar sitokinlerde artıştan endotel disfonksiyonu sorumludur (18, 19). Daha da önemlisi, endotelin-1, anti-anjiyojenik faktörlerden çözülebilir fms benzeri tirozin kinaz-1 (sFlt-1) gibi anjiyotensin II tip I reseptörüne yönelik agonistik otoantikorlar ve azalmış nitrik oksit (NO) gibi ayırt edici özelliklerin preeklampsisi gelişiminde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (20-22). Tüm bu patofizyolojik süreç maternal - fetal risk faktörlerini de plana dahil ederek hastalığın gelişimine katkıda bulunur. Preeklampside nulliparite, diyabet, çoğul gebelik, preeklampsili gebelik öyküsü, fetal hidrops, molar gebelik, eklampsisi öyküsü kanıt düzeyi güçlü risk faktörleridir (23).

Preeklampsisi gibi multisistemik, multifaktöriyel, yüksek morbiditesi olan mortal seyredebilen bir hastalığın tanı almadan önce tespit edilebilmesi önemlidir. Erken tanı testlerinin; basit, tekrarlanabilir, yüksek duyarlılık ve yüksek pozitif prediktif değere sahip olması ve gebelikte kolayca uygulanabilen, girişimsel olmayan testler olması istenir. Ancak patofizyolojisi yeterince aydınlatılamayan preeklampsisi için, günümüzde, belirtilen kriterleri tam olarak karşılayabilen, güvenilir şekilde tanı koyacak geçerli ve maliyet etkin bir tarama testi bulunamamıştır (24-26).

Lökosit inhibitör faktörü (LIF), IL-6 (interlökin) süper ailesine ait olan bir salgı glikoproteinidir. LIF çeşitli sinyal yolları aracılığıyla hücre düzenlemesi, inhibisyon, proliferasyon, farklılaşma ve hayatta kalma ile ilgili fonksiyonları olan bir glikoproteindir. Ayrıca LIF fetal gelişimde, uterusu embriyo implantasyonunda, kanserin progresyonunda, nöronal gelişimin canlılığında ve enflamatuvar süreçlerde çeşitli işlevlere sahiptir (27, 28). LIF'in gebelik ve fetal gelişim sürecindeki bilinen rolüne rağmen, preeklampsisi patogenezi üzerindeki etkileri hakkında az sayıda çalışma yapılmıştır.

Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), güçlü bir anjiyojenik aktiviteye sahip endotelyal, hücreye özgü bir büyüme faktörüdür. VEGF bir homodimer glikoproteindir (29, 30). Tümörlerde VEGF, dokuların en nekrotik ve iskemik bölgelerine lokalize olmuştur, bu da lokal hipoksinin VEGF üretiminin güçlü bir indükleyicisi olduğunu düşündürmektedir. (31, 32). VEGF geni hipoksiye yanıt

veriyor gibi görünmektedir (33). VEGF insan plasentasında eksprese edilir (34). Damar geçirgenliğini indükler ve pıhtılaşmayı destekler (35, 36).

LIF ve VEGF, Transkripsiyon Aktivatörleri (STAT'ler) ve Janus kinaz (JAK)/Sinyal Transdüserleri yolu aracılığıyla etki ederek apoptoz inhibisyonu yoluyla trofoblastların invazyonunu ve farklılaşmasını etkiler (37). STAT3 ve STAT5, hücre döngüsü boyunca büyümeyi aktive eder ve hücre apoptozunu önler (38). IL-6 sitokin ailesinin bir üyesi olan LIF, STAT3 aracılığıyla sinyal verir. VEGF, antiapoptotik sinyalleşme için STAT3 ve STAT5'i kullanır (39, 40). VEGF, STAT'ları VEGF reseptörü-2 aracılığıyla aktive eder (41). Bağımsız çalışmalarda, LIF ve VEGF'nin ekspresyonu hem insan sitotrofoblast hücrelerinde hem de in vitro farklılaşmış sinsityotrofoblast hücrelerinde doğrulanmıştır (39, 42). Preeklampsi ile ilgili literatüre bakıldığında, VEGF ve LIF'i içeren çalışmalar daha çok moleküler ve trofoblast hücre kültürü çalışmaları olup hastalar üzerinde klinik araştırmaya rastlanmamıştır (43, 44).

Bu çalışmada öncelikli hedef sağlıklı gebeliklerden farklı olarak preeklampsi gelişimini öngörmede VEGF ve LIF moleküllerinin kullanım etkinliğini belirlemek ve bu etkinliğin preeklampsi alt gruplarındaki değişimini saptamaktır. Ayrıca preeklampsi gelişimini saptamada VEGF ve LIF moleküllerinin kombine olarak kullanımının etkinliğini belirlemek de amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Preeklampsi ve Tanı Kriterleri

Preeklampsi, hamilelikte 20. gebelik haftasından sonra yeni başlayan yüksek tansiyon ve proteinüri veya yeni başlayan yüksek tansiyon ve proteinüri olmadan tek başına önemli end-organ disfonksiyonu ile karakterize multisistemik progresif bir hastalıktır (45). Gebelikte etiyojisi açısından anlaşılması zor bir hastalık olan preeklampsi, "teorilerin hastalığı" olarak tanınmıştır (46). Bu durum, birden fazla ve bazen örtüşen patolojik süreçlerin, bunların klinik olarak tanınmasına yol açan ortak bir yolu harekete geçirdiği "büyük obstetrik sendromlardan" biridir. Preeklampsiyi ortaya çıkaran etmenler göz önüne alındığında, preeklampsi endotel hücre aktivasyonu, intravasküler enflamasyon ve sinsityotrofoblast stresinden oluşur (46). Preeklampsi tanısı geleneksel olarak hipertansiyon ve proteinürinin saptanmasına dayanıyordu, ancak ACOG 2019 kılavuzunda preeklampsinin tanı kriterleri açıklanırken, multisistemik tutulum varlığında preeklampsi tanısının proteinüri olmadan da koyulabileceği öne sürülmüştür (45).

Fetal (plasental) ve maternal damar fonksiyon bozukluğundan kaynaklanan preeklampsi, doğum sonrasında değişen bir süre zarfında düzelir. Hastaların %90 civarında geç preterm (≥ 34 ila < 37 hafta), term veya postpartum dönemde ortaya çıkıp iyi maternal, fetal ve yenidoğan sonuçlarına sahip olsa da, anne ve bebek morbidite ve mortalite bakımından yüksek riskli olarak değerlendirilir. Hastaların geri kalan %10'unda ise preterm doğum (34 hafta altında) gerçekleşir. Bu durum termde doğum yapan preeklampsili gebelerden daha yüksek maternal ve fetal komplikasyon riski ile ilişkilidir. Neonatal riskler erken doğumun getirdiği risklerdir. Uzun süreli takip edilen preeklampsili gebelerde kalp-damar ve böbrek hastalıkları gelişme riski artar (47).

Preeklampsinin tanısı, hipertansiyon ve Tablo 1'deki durumlardan herhangi biri veya birkaçının varlığında konulur. Gebelerde yüksek tansiyon, sistolik kan basıncının 140 mmHg'ye eşit veya ondan yüksek ve/veya diyastolik kan basıncının

90 mmHg'ye eşit veya ondan yüksek olması olarak tanımlanırken, şiddetli hipertansiyonda, sistolik kan basıncının 160 mmHg'den yüksek ve/veya diyastolik kan basıncının 110 mmHg'den yüksek olması şeklinde tanımlanır (45). Amerikan Kardiyoloji Koleji (ACC) ile Amerikan Kalp Derneği (AHA), normal hastalarda hipertansiyon tanısı için daha düşük tansiyon değerlerini (örneğin; sistolik kan basıncı ≥ 130 mmHg veya diyastolik kan basıncı ≥ 80 mmHg) onaylamaktadır. Bazı yazarlar ise bu tansiyon değerlerinin gebe hastalar için de uygun olduğunu ileri sürmüştür (1). Ancak bu durum hastanede gereksiz yatış ve erken doğum oranlarını artıracığından uygun bulunmamıştır (45).

Tablo 1. Preeklampsi Tanı Kriterleri (ACOG) (45)

Önceden normotansif olan bir olgunun 20. gebelik haftasından sonra en az 4 saat arayla 2 kez ölçülen sistolik kan basıncının ≥ 140 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncının ≥ 90 mmHg olması ve aşağıdakilerden 1 veya daha fazlasının eşlik etmesi*:

- Proteinüri
24 saatlik idrar örneğinde proteinüri ≥ 0.3 g
Spot idrarda protein/kreatinin oranı ≥ 0.3 (mg/mg) (30 mg/mmol)
Kantitatif bir ölçüm yoksa dipstick test $\geq 2+$
- Trombosit sayısı $< 100.000/\text{MikroL}$ (μL)
- Serum kreatinin > 1.1 mg/dL (97.2 Mikromol/L [$\mu\text{mol/L}$]) veya böbrek hastalığı yokluğunda kreatinin konsantrasyonunun iki katına çıkması
- Karaciğer transaminaz yüksekliği (normal konsantrasyonların üst sınırının en az iki katı)
- Akciğer ödemi
- Alternatif tanımlarla açıklanamayan ve olağan analjezik dozlarına yanıt vermeyen yeni başlayan ve sürekli baş ağrısı **
- Görsel semptomlar (bulanık görme, yanıp sönen ışıklar veya kıvılcımlar, skotomlar)

* Sistolik kan basıncı ≥ 160 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncı ≥ 110 mmHg ise dakikalar içinde doğrulama yeterlidir.

** Analjeziye yanıt, preeklampsi olasılığını dışlamaz.

Preeklampsili gebeler hastalığın şiddetine göre ikiye ayrılır. 2013 yılında ACOG, "şiddetli preeklampsi" terimini "şiddetli özelliklere sahip preeklampsi" terimiyle değiştirmiştir (3). Preeklampsili bir hastada aşağıda Tablo 2 de listelenen özelliklerden herhangi biri mevcut olduğunda "şiddetli özelliklere sahip preeklampsi" tanımı kullanılır (3). Bu kriterlerin bulunmadığı olgularda ise şiddetli özellik göstermeyen (hafif) preeklampsi tanımı kullanılır (3).

Tablo 2. Şiddetli Özellikler Gösteren Preeklampsi Tanı Kriterleri* (45)
1-Şiddetli kan basıncı yüksekliği:
Hasta yatak istirahatindeyken en az 4 saat arayla 2 kez sistolik kan basıncı ≥ 160 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncı ≥ 110 mmHg ölçülmesi
2-Santral sinir sistemi disfonksiyonu:
Yeni başlayan serebral veya görsel semptom; ▪ Fotopsi, skotom, kortikal körlük, retinal vazospazm ▪ Asetaminofen ile analjezik tedaviye rağmen devam eden ve ilerleyen ve alternatif tanımlarla açıklanamayan şiddetli baş ağrısı
3-Hepatik anormallik:
Başka bir tanı ile açıklanamayan ve üst sınırın 2 katı veya daha fazla serum transaminaz konsantrasyonu veya ilaca yanıt vermeyen ve alternatif bir tanı ile açıklanamayan ciddi, kalıcı sağ üst kadranda veya epigastrik bölge ağrısı ile karakterize karaciğer fonksiyon bozukluğu
4-Trombositopeni:
Trombosit sayısının $100.000 \mu\text{L}$ altında olması
5-Renal anormallik:
Böbrek yetmezliği (serum kreatinin $>1.1 \text{ mg/dL}$ [$97.2 \mu\text{mol/L}$] veya başka böbrek hastalığı yokluğunda serum kreatinin konsantrasyonunun iki katına çıkması)
6-Akciğer ödemi

*Preeklampsili hastada bu kriterlerden biri veya birkaçının olması şiddetli özellik gösteren preeklampsi tanısı koydurur.

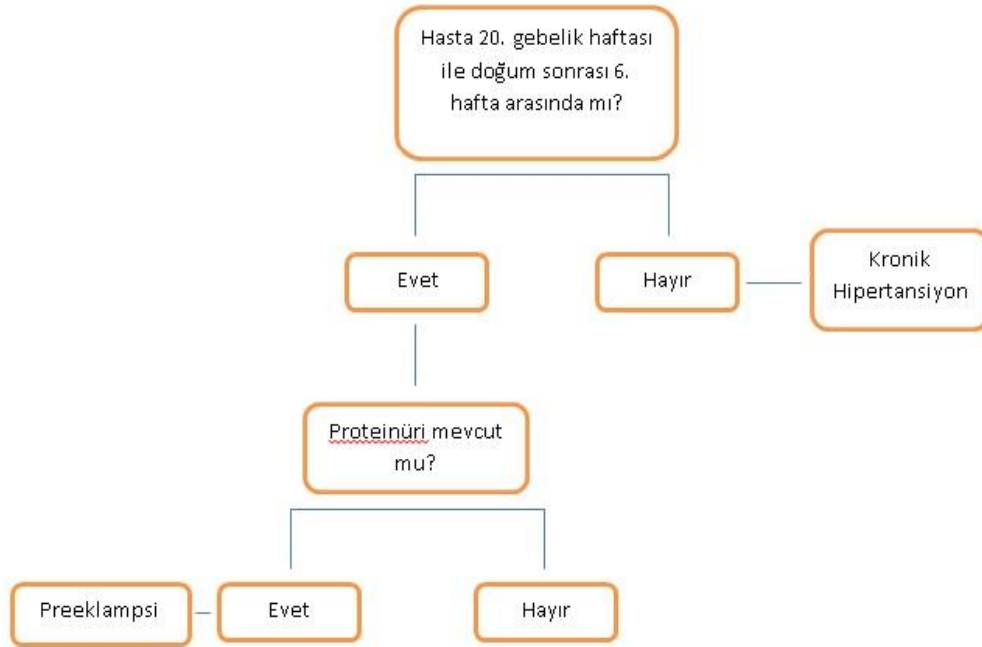
Şiddetli hastalık spektrumu için bu eşikler yaygın olarak kullanılmakla beraber uzman görüşüne ve klinik deneyime dayalı olarak da sınıflandırılma yapılabilmektedir (3). Şiddetli özelliklere sahip preeklampside beklenen maternal risk; kötüleşen maternal endotel disfonksiyonunun ve organların devam eden hipoperfüzyonunun beyin, karaciğer, böbrekler, hematolojik ve vasküler sistemler ve plasentada ciddi end-organ hasarı potansiyeline sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Fetal riskler arasında, ilerleyici intrauterin büyüme kısıtlılığı (IUGR), plasenta dekolmanı veya uteroplental yetmezlik nedeniyle fetal ölüm yer alır. Bu nedenle şiddetli özellik gösteren preeklampsili hastaların çoğu, maternal ve fetal komplikasyonları önlemek için hemen doğurtulur (3, 45). Hastalık ilerleyici olduğundan ve eklampsiyi önlemek için magnezyum sülfat dışında progresyonu durduracak daha etkin bir tıbbi tedavi bulunmadığından doğum her zaman annenin yararınadır. Bununla birlikte fetüs açısından düşünüldüğünde erken doğumun yenidoğanın yararına olmayabileceği bilinmektedir. Şiddetli özellik göstermeyen preeklampside fetal akciğer maturitesini artırmak ve böylece neonatal morbidite ve mortaliteyi azaltmak için doğumun geciktirilmesi belirli koşullar altında düşünülebilir (3).

Preeklampsi, kronik hipertansiyonu olan bir kadında ortaya çıktığında süperempoze preeklampsiden bahsedilir. Bu durum, gebelik öncesinde kronik hipertansiyonu olan bir olguda gebeliğinin yirminci haftasından sonra kötüleşen hipertansif tablo veya dirençli hipertansiyon (özellikle akut olarak), yeni proteinüri başlangıcı veya geçmiş proteinüriye göre proteinüri miktarında ani bir artış ve/veya önemli yeni ortaya çıkan end organ hasarı ile karakterizedir (45).

2.2. Gebelikte Hipertansif Hastalıklar:

Gebeliğin erken döneminde kan basıncının düşmesi, beklenen fizyolojik bir olaydır. Bu nedenle, kronik hipertansiyonu olan kadınlar erken gebelik haftası muayenelerinde normotansif iken gebeliğin ilerleyen dönemlerinde, kan basınçları gebelik öncesi değerlerine döndüğünde, belgelenmiş gebelik öncesi yüksek kan basıncı ölçümleri yoksa preeklampsi veya gebelik hipertansiyonu geliştiriyor gibi görünebilir (45, 48).

Gebelikte tansiyon yüksekliği saptandığında ilk sorgulanması gereken gebeliğin haftasıdır. Tansiyon yüksekliğinin 20. gebelik haftası ile doğum sonrası 6. hafta arasında gelişmesi bazı hipertansif hastalıklar (gestasyonel hipertansiyon, preeklampsi) için anlamlı iken, 20. gebelik haftası öncesinde gelişmesi de diğer hipertansif gebelik hastalıklarını (kronik hipertansiyon, süperempoze preeklampsi) düşündürür. Ardından idrarla protein kaybı olup olmadığı sorgulanır. Proteinüri olması hastalık spektrumunu değiştirmektedir. Tüm bu tanı algoritmaları aşağıdaki şekillerde gösterilmektedir (Şekil 1 ve Şekil 2) (48).

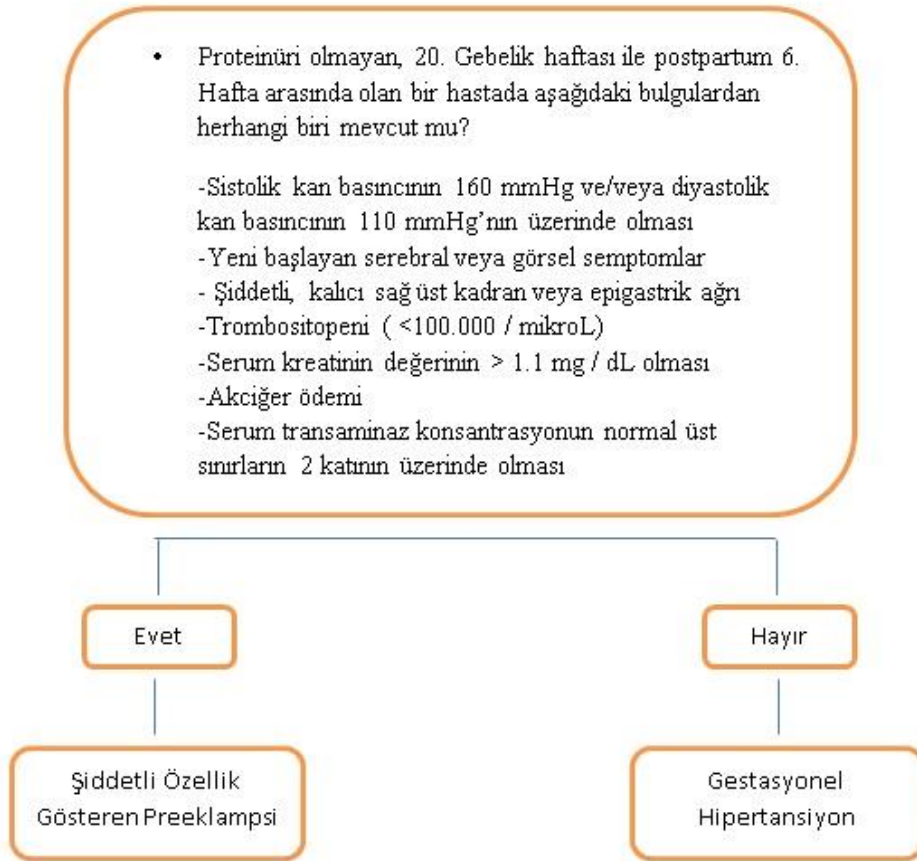


Şekil 1. Hipertansif gebe ve/veya doğum sonrası kadının tanısal değerlendirmesi-1

Tansiyon yüksekliği olan bir hasta 20. gebelik haftası ile postpartum 6. hafta arasında değil ise muhtemel tanı kronik hipertansiyondur. Kronik hipertansiyon tanısı olan bir gebede ek olarak yeni başlangıçlı proteinüri olması veya proteinüri miktarında ani bir artış olması kronik hipertansiyon zemininde gelişen süperempoze preeklampsi muhtemel tanısını düşündürür. Aynı zamanda stabil seyreden kan basıncı değerlerinin antihipertansif tedaviye rağmen ani ve dirençli artışlarının olması, trombositopeni gelişmesi ($<100.000 \mu\text{L}$) veya karaciğer transaminazlarında

yükselme olması (normal üst sınırların 2 katının üzerine çıkması) da süperempoze preeklampsi tanısı koydurabilmektedir (48).

Tansiyon yüksekliği 20. gebelik haftası ile postpartum 6. hafta arasında ortaya çıkıyorsa tanı için ek bulgulara bakılır. Proteinüri varlığı eski tanımlamalara göre preeklampsi tanısı için olmazsa olmaz iken yeni tanı kriterlerine göre varlığı preeklampsi tanısı koydurmakla birlikte, yokluğu tanıyı dışlamamaktadır. 20. gebelik haftası ile postpartum 6. hafta arasında tansiyon yüksekliği olan bir hastada proteinüri varlığında muhtemel tanı preeklampsidir (48).



Şekil 2. Hipertansif gebe ve/veya doğum sonrası kadının tanısall değerlendirilmesi-2

Şekil 2’de görüldüğü gibi, 20. gebelik haftası ile postpartum 6. hafta arasında tansiyon yüksekliği olan, proteinüri olmayan ve şiddetli özellik gösteren preeklampsi

semptomları olmayan hastalarda muhtemel tanı gestasyonel hipertansiyondur. Tansiyon yüksekliği varlığında, proteinüri olsun veya olmasın şiddetli özellik gösteren preeklampsi semptomlarının varlığı şiddetli özellik gösteren preeklampsi tanısı koydurur (48).

Gebe kadınlarda ortaya çıkan dört ana hipertansif bozukluk vardır (Tablo 3) (45, 48, 49):

- 1-Preeklampsi ve preeklampsi ile ilgili bozukluklar: Eklampsi ve HELLP (hemoliz, yüksek karaciğer enzimleri, düşük trombosit) sendromu
- 2-Gestasyonel hipertansiyon
- 3-Kronik hipertansiyon
- 4-Kronik hipertansiyon üzerine gelişen preeklampsi (Süperempoze preeklampsi)

Tablo 3. Gebeliğin hipertansif bozuklukları için tanımlar (45, 49)

Preeklampsi	▪ Daha önce normotansif bir bireyde 20. gebelik haftasından sonra en az 4 saat arayla en az 2 kez sistolik kan basıncı ≥ 140 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncı ≥ 90 mmHg olan yeni başlangıçlı hipertansiyon veya sistolik kan basıncı ≥ 160 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncı ≥ 110 mmHg olan hipertansiyon Ve: Proteinüri (24 saatlik idrarda ≥ 300 mg veya spot idrar protein kreatinin oranı ≥ 0.3 veya idrar ölçüm çubuğu $\geq 2+$) Veya: Proteinüri yokluğunda, aşağıdakilerden herhangi birinin yeni başlangıcı ile birlikte yeni başlayan hipertansiyon: ▪ Trombositopeni (trombosit sayısı $< 100.000/\mu\text{L}$) ▪ Böbrek yetmezliği (serum kreatinin > 1.1 mg/dL [$97 \mu\text{mol/L}$] veya diğer böbrek hastalığı yokluğunda serum kreatininin iki katına çıkması) ▪ Normalin en az iki katı karaciğer transaminaz seviyeleri ile bozulmuş karaciğer fonksiyonu ▪ Akciğer ödemi ▪ Kalıcı serebral veya görsel semptomlar
--------------------	---

Şiddetli özellik gösteren preeklampsi	Preeklampsili bir hastada şu bulgulardan herhangi biri: ▪ En az 4 saat arayla 2 kez sistolik kan basıncı ≥ 160 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncı ≥ 110 mmHg ▪ Trombositopeni (trombosit sayısı $<100.000/\mu\text{L}$) ▪ Normal konsantrasyonun en az iki katı karaciğer transaminaz seviyeleri ile gösterilen bozulmuş karaciğer fonksiyonu veya ilaca yanıt vermeyen ve alternatif tanılarla açıklanamayan şiddetli, kalıcı sağ üst kadranda veya epigastrik bölge ağrısı veya her ikisi ▪ Progresif böbrek yetmezliği (serum kreatinin konsantrasyonu >1.1 mg/dL [$97 \mu\text{mol/L}$] veya başka böbrek hastalığı yokluğunda serum kreatinin konsantrasyonunun iki katına çıkması) ▪ Akciğer ödemi ▪ Kalıcı serebral veya görsel bozukluklar
Eklampsi	▪ Preeklampsili bir hastada başka nedenlere bağlanamayan jeneralize nöbet geçirme
HELLP sendromu	▪ Hemoliz, artmış transaminazlar, trombositopeni
Gestasyonel hipertansiyon	▪ Daha önce normotansif olan bir bireyde gebeliğin 20. haftasından sonra 4 saat arayla en az 2 kez sistolik kan basıncının ≥ 140 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncının ≥ 90 mmHg olması Ve: ▪ Proteinüri olmaması ▪ Preeklampsi ile ilişkili end-organ disfonksiyonuna ait belirti olmaması
Kronik hipertansiyon	▪ Gebelikten önce veya 20. gebelik haftasından önce en az iki kez saptanmış veya mevcut hipertansiyon ▪ İlk olarak gebelik sırasında teşhis edilen ve doğumdan sonra en az 12 hafta devam eden hipertansiyon da kronik hipertansiyon olarak kabul edilir.

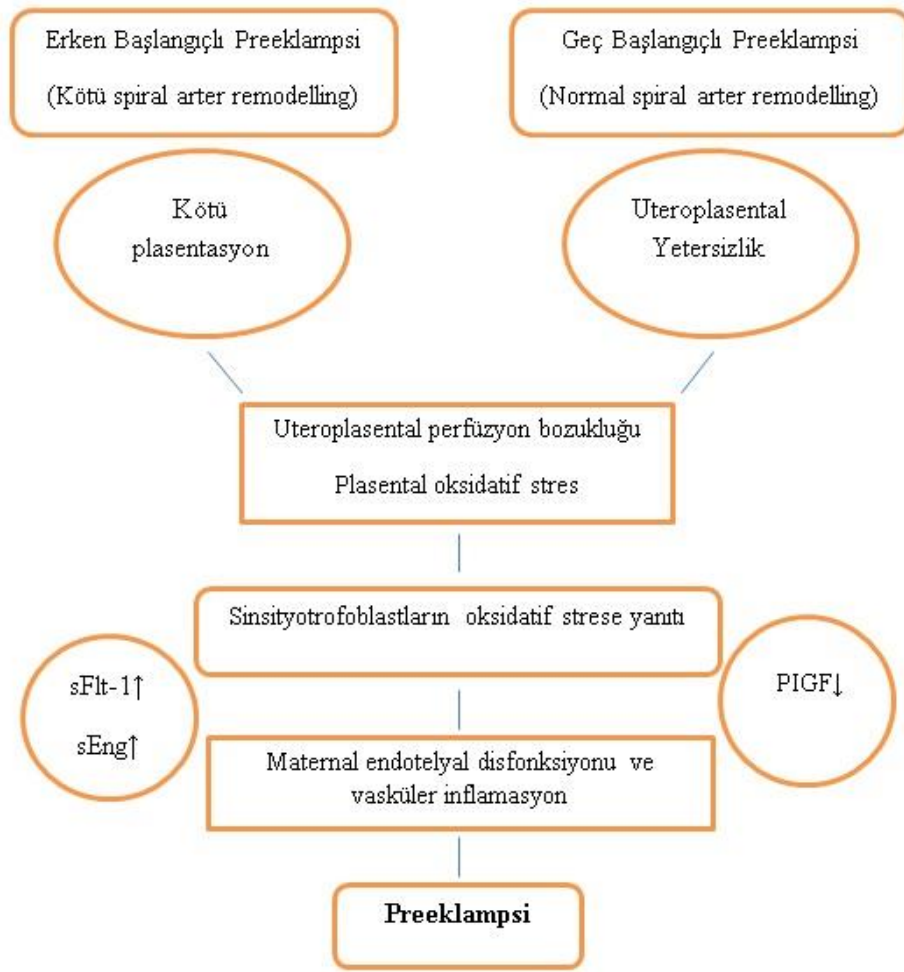
	• Kan basıncı kriterleri sistolik kan basıncı ≥ 140 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncı ≥ 90 mmHg'dir. İdeal olarak, bu teşhis en az 4 saat arayla alınan en az 2 yüksek kan basıncı ölçümüne dayanır. • Şiddetli hipertansiyon (sistolik kan basıncı ≥ 160 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncı ≥ 110 mmHg) durumunda, zamanında tedaviyi kolaylaştırmak için tanı daha kısa aralıklarla doğrulanabilir.
Süperempoze Preeklampsisi	Kronik hipertansiyonu olan bir hastada şu bulgulardan herhangi biri: ▪ Daha önce iyi kontrol edilen kan basıncında ani bir artış veya kan basıncını kontrol etmek için antihipertansif tedavinin artması ▪ Gebelikten önce veya erken gebelikte proteinürisi olduğu bilinen bir hastada proteinüride ani bir artış veya yeni ortaya çıkan proteinüri ▪ 20. gebelik haftasından sonra veya doğum sonrası preeklampsisi ile uyumlu yeni end-organ disfonksiyonu.
Şiddetli özellik gösteren süperempoze preeklampsisi	Süperempoze preeklampsisi olan bir hastada şu bulgulardan herhangi biri: ▪ Artan antihipertansif tedaviye rağmen sistolik kan basıncı ≥ 160 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncı ≥ 110 mmHg ▪ Trombositopeni (trombosit sayısı $< 100.000/\mu\text{L}$) ▪ Normal konsantrasyonun en az iki katı karaciğer transaminaz seviyeleri ile gösterilen bozulmuş karaciğer fonksiyonu veya ilaca yanıt vermeyen ve alternatif tanımlarla açıklanamayan şiddetli, kalıcı sağ üst veya epigastrik bölge ağrısı veya her ikisi ▪ Yeni başlayan veya kötüleşen böbrek yetmezliği ▪ Akciğer ödemi ▪ Kalıcı serebral veya görsel bozukluklar

2.2.1. Preeklampsi:

Daha önce normotansif bir hastada tipik olarak gebeliğin 20. haftasından sonra gelişim gösteren hipertansiyon ve proteinüri başlangıcını veya yeni hipertansiyon başlangıcı ile birlikte end-organ disfonksiyonunu (proteinüri olsun veya olmasın) ifade eder (50). Doğum sonrası 6. haftaya kadar da gelişebilir.

Preeklampsi belirtileri gebeliğin 34. haftasından önce görülürse buna erken başlangıçlı preeklampsi denir. Belirtiler gebeliğin 34. haftası veya sonrasında ortaya çıkarsa geç başlangıçlı preeklampsi olarak adlandırılır (51). Erken ve geç başlangıçlı preeklampsi, altta yatan farklı patofizyolojik durumların sonuçlarıdır. Kusurlu sinsityotrofoblast invazyonuna ve spiral arterlerin anormal yeniden şekillenmesine bağlı plasental kusurlar, erken başlangıçlı preeklampsi ile ilişkilidir. Geç başlangıçlı preeklampsi ise genellikle, erken başlangıçlı preeklampsiden daha olumlu neonatal sonuçlarla ilişkili olan maternal endotel disfonksiyonunun varlığında ortaya çıkar. Kısaca erken başlangıçlı preeklampsi plasental bir hastalık gibi görünürken, geç başlangıçlı preeklampsi tipik olarak maternal faktörlere bağlıdır (52, 53), (Şekil-3).

Preeklampsinin bu iki farklı fenotipinde tanı kriterleri aynı olmakla birlikte, erken ile geç arasında farklı maternal ve neonatal klinik ve laboratuvar sonuçları bildirilmiştir (54, 55). Erken başlangıçlı preeklampsi hem anne hem de fetüs için yüksek riskli olarak kabul edilirken, geç başlangıçlı preeklampsi daha az klinik sonuçlar göstermektedir (55). Erken ve geç başlangıçlı preeklampsinin maternal ve fetal sonuçları hala belirsizliğini korunmaktadır (56, 57).



Şekil 3. Erken ve geç başlangıçlı preeklampsinin gelişim aşamaları (58)

Preeklampsi ile ilişkili iki hastalık bu gruba girer (59, 60):

Eklampsi:

Eklampsi, preeklampsili bir hastada yeni başlayan, jeneralize, tonik-klonik nöbetlerin meydana gelmesi durumudur (61). Antenatal dönemde, intrapartum ve postpartum da meydana gelebilir. Eklampsi, preeklampsi spektrumunun şiddetli birkaç klinik tablosundan biridir (62).

Gelişmiş ülkelerde eklampsi insidansı düşüktür ve insidans, 10.000 doğumda 1.5 ila 10 vaka ile gittikçe azalmakta veya sabit kalmaktadır (63, 64). Bununla birlikte, gelişmekte olan ve gelişmemiş ülkelerde insidans daha yüksektir.

Zambiya'nın bazı bölgelerinde 10.000 doğumda 19.6 iken, Sierra Leone'de 10.000 doğumda 142'ye çıkmaktadır (65). Nöbeti önlemek için magnezyum sülfat profilaksisi almayan hastaların bir incelemesinde veriler sınırlı olsa da, şiddetli özelliklere sahip preeklampsili hastaların %2 ile 3'ünde ve şiddetli özellik göstermeyen preeklampsili hastaların ise %0 ile 0.6'sında eklampsi meydana geldiği görülmüştür (66). Eklampsi gelişiminde rol oynayan risk faktörleri preeklampsi ile ortaktır. En yüksek risk faktörü adolesan ve yirmili yaşların başında geçirilen gebeliklerdir, ancak bunun yanı sıra insidans 35 yaşından sonra da artar (65).

Eklampside gelişen nöbetlerin tam olarak sebebi henüz bilinmemekle birlikte tansiyon yüksekliğinin başrolde olduğu iki hipotez ortaya atılmıştır. İlk hipoteze göre yüksek tansiyon, beyin kan dolaşımının otoregülatuar sistemini bozup hiperperfüzyona neden olarak, damar endotelinin fonksiyonunu bozar ve vazojenik ve/veya sitotoksik ödemlere neden olur. İkinci hipotezde ise; yüksek tansiyon otoregülatuar sistemi aktive ederek serebral damarların vazokonstriksiyonuna, böylece perfüzyonun azalmasına, lokal olarak iskemiye, damar fonksiyon bozukluğuna ve vazojenik ve/veya sitotoksik ödemlere yol açar (67). Bunun yanında serebral enflamasyon da bir rol oynayabilir (68).

Eklampsinin klinik prezentasyonu ve tedavisi preeklampsi ile benzer olup tek fark nöbet sırasında hastanın stabilize edilip nöbetinin durdurulmasıdır ve ardından şiddetli özellik gösteren preeklampsi gibi tedavi edilir (62).

HELLP Sendromu:

HELLP sendromu; kanda hemoliz, karaciğerde yükselen enzimler ve trombosit seviyelerinde düşme kombinasyonu ile tanı konan preeklampsinin multisistemik bir varyasyonudur (59). HELLP sendromu, preeklampsinin klinik olarak daha şiddetli alt gruplarından biridir. Bu nedenle artmış maternal morbidite ve ölüm oranları ile bağdaştırılmaktadır (69).

Farklı tanı ölçütleri önerilmiş olsa da (70), birçok klinisyen tanı koymak için aşağıdaki kriterleri kullanır (71):

- 1- Laktat dehidrogenaz (LDH) değeri 600 IU/L veya üzerine çıkması ile hemolizi gösterir,

- 2- Aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT) normal değerlerinin üst sınırının iki katından fazla artması, karaciğer enzimlerinin artmasını gösterir
- 3- Trombosit sayısının 100.000 μ L'den daha az olması trombosit bozukluğunu gösterir.

HELLP sendromu gebeliğin çoğunlukla son trimester durumu olmasına rağmen, olguların %30'unda doğum sonrasında progrese olur. Bununla birlikte, HELLP sendromu, ani ve tipik olmayan bir başlangıçla ortaya çıkabilir ve olguların %15'inde yüksek tansiyon veya proteinüri görülmeyebilir (70). HELLP sendromu gelişen olguların klinik başvuru semptomlarına bakıldığında, vakaların %90'ında sağ üst kadranda ağrısı ve yaygın halsizlik saptanır. Olguların %50'sinde ise bulantı ve kusma mevcuttur (71, 72). Önceki gebelikte geçirilmiş preeklampsi veya HELLP sendromu en önemli risk faktörüdür. HELLP sendromu preeklampsinin bir varyantı olmasına rağmen risk faktörleri arasında nulliparite artmış risk faktörü değildir (73).

2.2.2. Gestasyonel hipertansiyon:

Tansiyonu gebelik öncesinde normal olan bir kadında, yirminci gebelik haftası sonrasında dört saat aralıkla en az iki kez sistolik kan basıncının 140 mm Hg ve/veya daha fazla veya diyastolik kan basıncının 90 mm Hg ve/veya daha fazla olması veya her ikisinin birden olması gestasyonel hipertansiyon olarak tanımlanmaktadır (49).

Gestasyonel hipertansiyon, sistolik kan basıncı 160 mm Hg veya diyastolik kan basıncı 110 mm Hg veya her iki değere birden ulaştığında hastalık artık şiddetli özellik gösteren olarak kabul edilir. Bazen, özellikle şiddetli yüksek tansiyon ile karşılaşıldığında, antihipertansif tedaviyi kolaylaştırmak için tanının zamanında, dört saatten daha kısa bir sürede hatta dakikalar içinde netleştirilmesi gerekir (74). Gestasyonel yüksek tansiyon, yirminci gebelik haftasından sonra proteinüri gelişmeden ortaya çıkan hipertansiyon ya da ciddi özellikler göstermeyen hipertansiyon olarak karşımıza çıkmakla birlikte postpartum dönemde kan basıncının normale dönmesi de tanıyı doğrular (49). Gestasyonel hipertansiyonun bu tanısı,

sistematik bir teşhisten çok bir isimlendirme uygulamasıdır. Çünkü gestasyonel hipertansiyonun ve şiddetli özellik göstermeyen preeklampsinin tedavisi birçok açıdan benzerdir. Gestasyonel hipertansiyonu olan kadınlarda sonuçlar genellikle iyi olmakla birlikte gestasyonel hipertansiyonun doğası gereği preeklampsiden daha az endişe verici olduğu fikri yanlıştır. Çünkü gestasyonel hipertansiyon da olumsuz gebelik sonuçlarıyla ilişkilidir (75) ve preeklampsiden ayrı bir durumu temsil etmeyebilir (76). Gestasyonel hipertansiyonu olan kadınların yarısında takiplerde preeklampsi tanısıyla uyumlu proteinüri veya end organ disfonksiyonu gelişir. Hastalığın preeklampsiye ilerlemesi daha çok 32. gebelik haftasından önce gerçekleşmektedir (77, 78). Araştırmacılar, proteinürik olmayan hipertansiyonu olan kadınlarda proteinürik preeklampsiye kıyasla daha yüksek perinatal ölüm oranı bildirmiş (70) olsalar da, 1.348 hipertansif gebe hastadan oluşan bir kohortta, proteinürisi olan kadınların daha sık şiddetli hipertansiyon tablosuna ilerlediği ve daha yüksek erken doğum ve perinatal ölüm oranlarına sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca, idrarda proteinürisi olmayan olgularda trombosit düşüklüğü veya karaciğer fonksiyon bozukluğu (ALT, AST yüksekliği) hep daha fazla saptanmıştır (75). Şiddetli yüksek tansiyon ile gelen gestasyonel hipertansiyonlu olgular, şiddetli özellik gösteren preeklampsili olgularla benzer yaklaşımla yönetilmesi önemlidir. Gestasyonel hipertansiyon ile preeklampsi olguları, kronik hipertansiyon gibi uzun vadede kalp-damar hastalıkları açısından yüksek riskli olarak değerlendirilir (79).

2.2.3. Kronik hipertansiyon:

Gebe hastalarda, kronik hipertansiyon (önceden var olan hipertansiyon olarak da adlandırılır), gebelik öncesi var olduğu bilinen veya ilk olarak gebeliğin 20. haftasından önce fark edilen hipertansiyon olarak tanımlanır. Gestasyonel hipertansiyon ile komplike olan önceki gebeliği olan hastalarda, doğumdan 12 hafta veya daha uzun süre sonra devam eden hipertansiyon da kronik hipertansiyon olarak sınıflandırılmaktadır (80).

Kronik hipertansiyonu olan hastaların çoğu, uygun gebelik yönetimi ile azaltılabilen çeşitli olumsuz maternal ve fetal/neonatal sonuçlar açısından risk altındadır (79-81).

Maternal sonuçlar (79);

- Şiddetli hipertansiyon
- Süperempoze preeklampsi
- Plasenta dekolmanı
- Sezaryen doğum
- Postpartum kanama
- Böbrek yetmezliği
- İnme
- Miyokardiyal enfarktüs
- Akciğer ödemi
- Ölüm

Fetal sonuçlar (81);

- Fetal büyüme kısıtlılığı/gebelik yaşına göre küçük bebek
- Preterm doğum
- Konjenital anomaliler
- Ölü doğum
- Neonatal ölüm

Kronik hipertansiyon ve kardiyovasküler hastalık, maternal ve fetal/neonatal morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenleri arasındadır. Kronik hipertansiyonu olan gebelerin %13 ila 40'ında gelişen süperempoze preeklampsi, olumsuz sonuç riskini artırır (82, 83).

2.2.4. Kronik hipertansiyon üzerine gelişen preeklampsi (Süperempoze preeklampsi):

Daha önce kronik hipertansiyon tanısı almış bir hastada preeklampsi ortaya çıkması süperempoze preeklampsi olarak kabul edilir. Bununla birlikte, süperempoze preeklampsiyi, kan basıncı ve proteinürinin üçüncü üçaydaki fizyolojik artışlarından ayırmak zor olabilir (84).

Süperempoze preeklampsi, aşağıdakilerden herhangi birinin varlığında tanı almaktadır (85, 86);

- Daha önce iyi kontrol edilen kan basıncında ani bir artış veya kan basıncını kontrol etmek için antihipertansif ilaçların hızlı bir şekilde artırılması ihtiyacı

- Gebelik öncesi veya erken gebelik proteinürisi olmayan hastada yeni proteinüri başlangıcı veya mevcut proteinüride ani artış (86).

Preeklampsinin aşağıdaki ciddi özelliklerinden herhangi birinin varlığı, şiddetli özelliklere sahip süperempoze preeklampsisi tanısını destekler (87):

- Artan antihipertansif tedaviye rağmen ciddi şekilde yükselen kan basıncı.
- Trombositopeni (trombosit sayısı $<100.000/\mu\text{L}$).
- Yükselmiş transaminazlar (belirli bir laboratuvar için normal konsantrasyonun üst sınırının iki katı) veya ilaca yanıt vermeyen ve alternatif tanımlarla açıklanamayan şiddetli, kalıcı sağ üst kadranda veya epigastrik bölge ağrısı veya her ikisi.
- Yeni başlayan veya kötüleşen böbrek yetmezliği.
- Pulmoner ödem.
- Kalıcı serebral veya görsel bozukluklar.

Şiddetli özelliklerin yokluğunda, süperempoze preeklampsinin tanısında belirsizlik olabilir. Hastalığın ilerlemesi riski nedeniyle olumsuz sonuçlar göz önüne alındığında, teşhisten şüphelenildiğinde aceleci davranmak gerekir (85, 87).

Süperempoze preeklampsili hastalar tanı aldıklarında başlangıçta yatarak takip edilmelidirler. Şiddetli özellikler yoksa, hastanın kliniği stabil seyrederse, şiddetli özellik gösteren preeklampsisi bulguları yoksa ve hasta kendi kendine izleme ve sık klinik kontrole uyum ve erişim sağlayabiliyorsa ayaktan izlem düşünülebilir. Bir süre yatarak izlemden sonra ayaktan takip, ağır özellikleri olmayan süperempoze preeklampsili hastalar için makul bir seçenek olabilirken, şiddetli özellikleri olanlar doğuma kadar hastanede takip edilir (84).

Preeklampsili hastalarda olduğu gibi, 34. gebelik haftası öncesi bir kür antenatal kortikosteroid uygulanması ve şiddetli hipertansiyonu olan hastalarda antihipertansif tedavi uygulanması önemlidir (48). Süperempoze preeklampsisi ile seyreden gebeliklerde doğum için zamanlama ve endikasyonlar, gestasyonel yaş, hastalık şiddeti, hastalığın ilerlemesi ve devam eden maternal ve fetal iyilik değerlendirmesinin sonuçlarına dayanır. Gebeliğin devamına yönelik herhangi bir tutumda, potansiyel neonatal faydalar ile gebeliğin devamının anneye vereceği zarar arasında iyi bir değerlendirme yapılması gerekir (1).

Bazı retrospektif çalışmalarda, 34. gebelik haftası öncesinde şiddetli özelliklere sahip süperempoze preeklampsisi görülen hastaların, doğurtulması ile yakın izleme devam edilmesi arasında sonuçların benzer olduğunu bildirilmektedir (88, 89). Bu çalışmalar küçük ve çalışma tasarımları bakımından sınırlı olsalar da, yönetimde benzer bir yaklaşımın kabul edilebilir olduğunu öne sürmektedir (80).

Süperempoze preeklampsili hastalarda eklampsisi sıklığı iyi tanımlanmamıştır ancak gözlemsel ve retrospektif çalışmalarda insidans %2.4'e kadar çıkmaktadır (88, 90). Şiddetli özelliklere sahip preeklampsili hastalara nöbet profilaksisi için peripartum magnezyum sülfat verilmesi önerilmektedir (80). Nöbetlerin önlenmesi veya fetal/neonatal nöroproteksiyon için magnezyum sülfat tedavisi verilen, özellikle de kronik böbrek hastalığı olan hastalarda, magnezyum toksisitesinin önlenmesi ve erken tanınması için hastanın yakın takibi önemlidir.

Süperempoze preeklampside intrapartum ve postpartum sıvı yönetimi özellikle önemlidir. Preeklampside meydana gelen artmış vasküler geçirgenlik, özellikle fazla miktarda sıvı tedavisi uygulanan hastalarda pulmoner ödeme neden olabilir (50, 85).

Gebelikte ortaya çıkan hipertansif hastalıkların birbirlerinden farkları Tablo 4'te gösterilmektedir.

Tablo 4. Gebelerde görülen hipertansif bozuklukların karşılaştırılması				
	Gebelik öncesi tansiyon	Gebelikte HT (%)	Proteinüri	Trombositopeni ve/veya artan transaminazlar
Preeklampsisi	Normal	100	Genellikle mevcut	Preeklampsinin hastalık spektrumunun şiddetli ucunda olup olmadığına bağlı olarak değişken
HELLP	Normal	82 - 88	Genellikle mevcut	100%

Gestasyonel hipertansiyon	Normal	100	Hayır	Hayır
Kronik hipertansiyon	Yüksek	100	Değişken	Hayır
Süperempoze preeklampsi	Yüksek	100	Genellikle mevcut	Preeklampsinin hastalık spektrumunun şiddetli ucunda olup olmadığına bağlı değişken

2.3. Preeklampsi İnsidansı

Dünya genelinde preeklampsi gebeliklerin %4.6'sını etkilemektedir (8). Ülkelere bakıldığında insidans Amerika Birleşik Devletleri'nde yaklaşık %5'tir (91). Bangladeş'te ise preeklampsinin genel prevalansı %14.4'tür. (92). Türkiye'de yapılan çalışmalarda preeklampsi insidansı bölgelere göre değişmekle birlikte bir sistematik derleme verileri ülkemizde preeklampsi insidansını %15.6 olarak bildirmiştir (93). Ülkeler arasındaki insidans varyasyonları, popülasyondaki anne yaşı dağılımındaki ve nullipar gebe hastaların oranındaki farklılıkları yansıtmaktadır (12).

İsveç ve Çin'i karşılaştıran bir çalışmada preeklampsinin klinik prezentasyonu ve risk faktörleri ile etkilenen gebeliklerin sonuçlarıyla ilgili olarak ülkeler arasındaki çeşitli farklılıklar belirlenmiştir. Gestasyonel hipertansif bozuklukların genel prevalansı her iki ülkede de yaklaşık %4'tür. İki popülasyonda da bilinen risk faktörleri ile ilişkilerde önemli farklılıklar vardır. İsveç'te anne yaşı ve obezite preeklampsi ile daha hafif bir ilişkiye sahipken, Çin'de obezite 4 ila 5 kat daha fazla artmış risk ile ilişkilidir. Ayrıca nulliparite her iki popülasyonda da bir risk faktörüdür (94).

Geç başlangıçlı preeklampsi, erken başlangıçlı preeklampside daha yaygın görülmektedir. Yapılan bir çalışmada geç başlangıçlı preeklampsi %2.7 görülmekteyken erken başlangıçlı preeklampsi %0.3 görülmektedir (95).

2.4. Preeklampsi Risk Faktörleri

Preeklampsi gelişimi için risk faktörleri kapsamlı bir şekilde değerlendirildiğinde başlıca risk faktörleri; preeklampsi öyküsü, kronik hipertansiyon, pregestasyonel diabetes mellitus, antifosfolipid sendromu ve obezite öyküsünü içerir (Tablo 5) (96). Diğer risk faktörleri arasında ileri anne yaşı, nulliparite, kronik böbrek hastalığı öyküsü ve yardımcı üreme teknolojilerinin kullanımı yer alır. Nispeten nadir görülen risk faktörleri, ailede preeklampsi öyküsü ve trizomi 13 fetüslü gebeliktir (97, 98).

Preeklampsiye genetik duyarlılık kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (99, 100). 2017 de 4380 preeklampsili gebe ve yenidoğanların genomik incelenmesinde, FMS benzeri tirozin kinaz 1 (FLT-1) protein ürünü, preeklampside iyi bilinen bir patogenetik faktör olarak bulunmuştur (101). FLT-1 geninin rs4769613 alleli, geç başlangıçlı preeklampside daha yüksek bir sıklığa sahiptir. Etkisini yalnızca fetal genomda gösterir. Bununla birlikte, maternal genetik yatkınlık da preeklampsi gelişiminde bir rol oynayabilir. Çok ırklı bir maternal preeklampsi genom çalışmasında, kan basıncı düzenlemesinde yer alan PLEKHGI proteininin intronik bir bölgesi olan rs9478812'de genom çapında bir duyarlılık olduğu keşfedilmiştir. (102).

Tablo 5. Preeklampsi gelişme riskini artıran faktörler (96)

Nulliparite
Önceki gebelikte preeklampsi
Yaş : <18 veya >40
Ailede preeklampsi öyküsü
Kronik hipertansiyon
Kronik böbrek hastalığı

Otoimmün hastalık (antifosfolipid sendromu, sistemik lupus eritematozus vb)
Vasküler hastalık
Diabetes mellitus (gebelik öncesi ve gebelikte)
Çoğul gebelik
Obezite
İrk veya etnik grup
Hidrops fetalis
Kontrollsüz hipertiroidizm
Adölesan gebelik
Önceki gebelikte fetal büyüme kısıtlılığı, dekolman plasenta veya fetal ölüm
Önceki gebelik normotansif ise uzamış gebelik aralığı; önceki gebelik preeklampsi ise, gebelikler arası aralığın kısa olması nüks riskini artırır
Erkek partnerle ilgili faktörler (yeni erkek partner, sınırlı sperm maruziyeti [örneğin, daha önce bariyer kontrasepsiyon kullanımı])
İn vitro fertilizasyon
Uyku solunum bozuklukları
Kanda yüksek kurşun seviyesi
Posttravmatik stres bozukluğu

Asyalı kadınlar ile Hispanik kadınların preeklampsi riski beyaz kadınlara göre daha düşük ve siyah kadınlara göre ise çok daha düşüktür (103, 104).

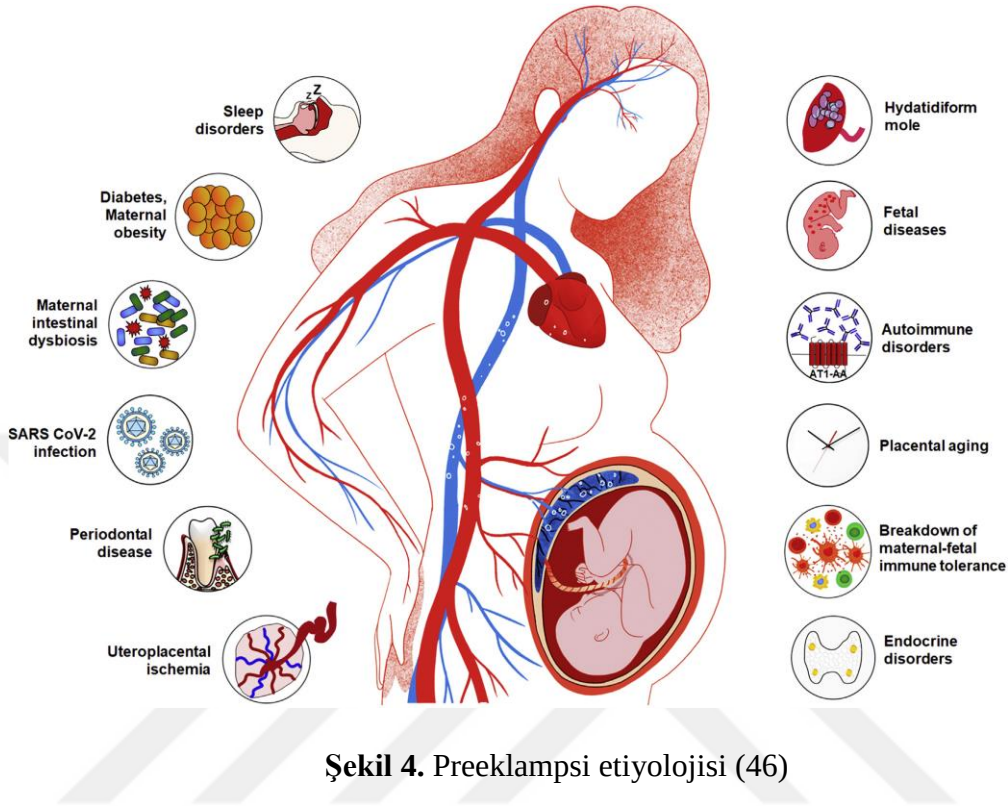
Ray ve arkadaşlarının yaptığı bir metaanalizde preeklampsi için risk faktörlerinden geçirilmiş preeklampsi, hastalık riskini 8.4 kat, kronik hipertansiyon 5.1 kat, pregestasyonel diyabet 3.7 kat artırmaktadır (Tablo 6), (105).

Tablo 6. Preeklampsi risk faktörlerinin rölatif risk değerleri (105)

Major Risk Faktörleri	Rölatif risk
Geçirilmiş preeklampsi	(RR, 8.4; %95 GA, 7.1–9.9)
Kronik hipertansiyon	(RR, 5.1; %95 GA, 4.0–6.5)
Pregestasyonel diabetes mellitus	(RR, 3.7; %95 GA, 3.1–4.3)
Çoğul gebelik	(RR, 2.9; %95 GA, 2.6–3.1)
Gebelik VKİ >30	(RR, 2.8; %95 GA, 2.6–3.1)
Antifosfolipid sendromu	(RR, 2.8; %95 GA, 1.8–4.3)
Diğer risk faktörleri	
Sistemik lupus eritematozus	(RR, 2.5; %95 GA, 1.0–6.3)
Ölü doğum öyküsü	(RR, 2.4; %95 GA, 1.7–3.4)
Gebelik VKİ >25	(RR, 2.1; %95 GA, 2.0–2.2)
Nulliparite	(RR, 2.1; %95 GA, 1.9–2.4)
Plasenta dekolmanı öyküsü	(RR, 2.0; %95 GA, 1.4–2.7)
Yardımcı üreme tekniği	(RR, 1.8; %95 GA, 1.6–2.1)
Kronik böbrek hastalığı	(RR, 1.8; %95 GA, 1.5–2.1)
İleri anne yaşı >35	(RR, 1.2; %95 GA, 1.1–1.3)
Genetik yatkınlık	
Nadir risk faktörleri	
Ailede preeklampsi öyküsü	
Trizomi 13 fetüs	

VKİ: Vücut Kitle İndeksi

2.5. Preeklampsi Etiyolojisi



Şekil 4. Preeklampsi etiyolojisi (46)

2.5.1. Uteroplacental iskemi

Preeklampsi etiyolojisinde yer alan major hastalık mekanizması uteroplacental perfüzyon yetersizliğine bağlı iskemidir. James Young, 1914'te uterin kan akımına müdahale sonucu plasentanın kan akımını bozmanın plasental enfarktüsle yol açacağını ve bunun da maternal dolaşıma toksin salarak eklampsiye neden olacağını öne sürdü (106). Bu teori, eklampsili hastalarda plasental enfarktüslerin gözlemlenmesine dayanıyordu. Kobay hayvanlarda otolize insan plasenta özütlerinin subkutan enjeksiyonlarının, ölen kadınlarda gözlemlenenlere benzer şekilde konvülsiyonlara, hepatik fokal nekroza ve böbrek lezyonlarına yol açtığını gösteren çalışmalar da bu teoriyi destekliyordu (106).

Günümüzde preeklampsi etiyolojisinde, sitotrofoblast hücrelerin spiral arterlerin desidual kısmına uzandığı ancak miyometrial segmente nüfuz edemediği bilinmektedir (107, 108). Spiral arterler, muskuloelastik duvarın fibrinoid materyalle yer değiştirmesiyle oluşturulan büyük, kıvrımlı vasküler kanallara dönüşemezler;

bunun yerine damarlar dar kalarak plasental hipoperfüzyona ve nispeten hipoksik trofoblast dokusuna neden olur. Derin plasentasyondaki bu kusur, ikinci trimester fetal ölüm, dekolman plasenta, IUGR olan veya olmayan preeklampsi, maternal hipertansiyon olmadan intrauterin büyüme kısıtlılığı, erken doğum ve erken membran rüptürü dahil olmak üzere çok sayıda olumsuz gebelik sonucunun gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (109).

2.5.2. Maternal enfeksiyon

Maternal enfeksiyon, 20. yüzyılın başından beri preeklampsi ve eklampsinin etiyolojisinde suçlanmıştır. Albert eklampsiden sorumlu "toksinlerin", bakterilerin eyleminin ("gizli bir mikrobik endometrit") uterin kavitede neden olduğu nekrotize değişikliklerin ürünü olduğunu ileri sürmüştür. Nitekim "Bacillus eclampsiae" mikroorganizmasının bu tabloya neden olduğu ileri sürülmüştür (110, 111).

Preeklampsi ve eklampsi enfektif, bulaşıcı bir hastalığın tipik özelliklerini (örneğin ateş) göstermediği için bu görüş kabul görmemekle birlikte, mikroorganizmaların preeklampsi oluşumunda rol oynayabileceği fikri son zamanlarda preeklampsi ile periodontal hastalık, üriner sistem enfeksiyonu, SARS-CoV arasındaki ilişkiye yönelik araştırmalar temelinde yeniden ön plana çıkmaktadır (46).

Periodontal hastalık:

Periodontal hastalıkla ilgili çalışmalarda mikroorganizmalar ve preeklampsi arasındaki ilişkiyi destekleyen bir bulgu olarak, bu hastalıkların preeklampsi gelişme riskini artırdığı saptanmıştır. Periodontal hastalık; ağız boşluğunda bakteriler tarafından başlatılan immunolojik disfonksiyonun neden olduğu enflamatuvar durumdur (112). Periodontal boşluktaki bakteriler, ağız içi işlemler sırasında veya ciddi hastalık sırasında salınarak, kardiyovasküler sistemdeki vasküler bölgeler başta olmak üzere sistemik bir enflamatuvar yanıtı yol açarak hasara neden olabilir (113). Bu bulgular integrin B6 baskılanmış bir fare modelinde, periodontal hastalık ve polimikrobiyal enfeksiyonla gösterilmiştir (114). Preeklampside periodontal hastalığın etiyolojik rolü, periodontal hastalıkta aynı anjiogenetik mekanizmalara bağlı gelişen sistemik enflamatuvar süreçlere dayanır.

Üriner sistem enfeksiyonu:

Maternal üriner sistemin mikrobiyal kolonizasyonu ile preeklampsi arasındaki ilişkiyi değerlendiren bir sistematik incelemede, üriner enfeksiyonların preeklampsi ile ilişkili olduğu görülmüştür (115). Bununla birlikte, piyelonefrit, alt üriner sistem enfeksiyonları ve asemptomatik bakteriüri gibi çeşitli üriner sistem enfeksiyonları değişen spektrumlarla preeklampsi ile ilgili olabilir (116). Hastalıklara spesifik alt grup analizi yapıldığında, preeklampsi ile ilişkinin kanıtının zayıfladığı görülmüştür (117).

Diğer enfeksiyonlar ve hayvan deneyleri:

Sıtma (118), sitomegalovirüs (CMV) (119) ve insan immün yetmezlik virüsü (HIV) (120) ile preeklampsinin ilişkili olduğu bildirilmiştir. Enfeksiyon ile sistemik enflamasyon ve preeklampsi arasında nedensel bir ilişkiyi destekleyen deneysel gözlemler, gebeliğin 14. gününde gebe ratlara düşük doz endotoksin uygulanmasının yüksek kan basıncı, proteinüri, düşük trombosit sayısı ve glomerüler fibrinojen birikintileri ile sonuçlandığını göstermiştir (121). Bakteriyel endotoksin, sistemik bir enflamatuvar yanıtı indükleyerek doku faktörünün salınması yoluyla trombini aktive eder. Bu mekanizmalar preeklampsinin patogeneğinde rol oynamaktadır (121).

SARS COV 2 enfeksiyonu:

COVID-19 pandemisinin ilk zamanlarında, gebe olmayan hastalardan oluşan bir alt grupta hipertansiyon (122), proteinüri (123), trombositopeni (124) ve yüksek karaciğer enzimleri (125) geliştiği fark edildi (126). Bunlar preeklampsi ve HELLP sendromunun komponentleridir. Yakın zamanda yapılan bir meta-analizde, gebelik sırasında SARS-CoV-2 enfeksiyonunun, preeklampsi, şiddetli özelliklere sahip preeklampsi, eklampsi, HELLP sendromu gelişme ihtimalinde önemli bir artışla ilişkili olduğu gösterilmiştir (127).

Maternal bağırsak disbiyozu:

Bağırsak mikrobiyotası, konakçının beslenmesinde, enerjinin toplanmasında ve potansiyel patojenlere karşı bağışıklık yanıtında önemli bir rol oynar (128, 129). Normal gebelik, fetüsün ve plasantanın büyümesini ve gelişimini desteklemek için

enerji dağıtımının (toplama, depolama ve harcama) büyük ölçüde yeniden düzenlenmesine ihtiyaç duyduğu bir durumu temsil eder. Gebeliğin son üç ayında bağırsak mikrobiyotası üzerine yapılan çalışmalarda, Proteobacteria ve Actinobacteria'da genel bir artışın yanı sıra mikrobiyal zenginlikte bir azalma olduğu saptanmıştır (130). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada gebelik sırasında maternal bağırsak ortamının, yavruların sempatik sinir sistemi gelişimi ve metabolik programlanmasına önemli bir katkı sağladığı görülmüştür. Aynı çalışmada üçüncü üç ayda normal bir gebeliği olan kadınlardan alınan mikrobiyotaya açısından fakir bağırsak içeriği farelere uygulandığında, bağırsak mikrobiyotasının proenflamatuvar etkilerine atfedilen kilo alımı ve insülin direncinin arttığı gözlemlenmiştir. (130, 131).

2.5.3. Gestasyonel diyabet, maternal obezite ve metabolik sendrom

Gestasyonel diyabet, yapılan araştırmalarda preeklampsi için bağımsız bir risk faktörü olarak görülmüştür (132). Toplam 647.392 gebede yapılan bir retrospektif çalışmada, gestasyonel diyabeti olan kadınlarda preeklampsi riski artmış şekilde bulunmuştur (133). Aynı şekilde önceden var olan diyabet preeklampsi gelişimi üzerine etkili bir risk faktörüdür.

Diabetes mellitus'un erken başlangıçlı preeklampside çok geç başlangıçlı preeklampsi ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu bilinmektedir (132). Hiperglisemi ve Olumsuz Gebelik Sonucu Çalışması Ortak Araştırma Grubu, maternal hiperglisemi derecesi ile preeklampsi arasında önemli bir pozitif ilişki bildirmiştir. Glukoz konsantrasyonlarındaki her bir standart sapma artışı için olasılık oranı (açlık, 75 mg glukoz tolerans testinden 1 saat ve 2 saat sonra) 1.21 ile 1.28 arasında değişmektedir (134).

Vücut kitle indeksinin (VKİ) 30.0 kg/m² üzerinde olması olarak tanımlanan obezite, preeklampsi için en güçlü etiyolojik faktördür (135, 136).

Metabolik sendrom; santral obezite, insülin direnci, aterojenik dislipidemi ve hipertansiyon dahil olmak üzere bir dizi metabolik anormallik anlamına gelir (137, 138). Bu sendrom, preeklampsinin özelliklerinden olan sistemik enflamasyon, oksidatif stres ve endotel disfonksiyonu ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (139, 140).

212.463 kadının retrospektif bir kohort çalışmasında, gebelikten önce metabolik sendrom varlığının artmış preeklampsi riski ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (141).

2.5.4. Uyku hastalıkları

Uykuda solunum bozukluğu, obstrüktif uyku apnesini kapsayan bir terimdir. Horlama, periyodik hipoksi atakları, santral apne ve uyku hipopnesi gebelik sırasında preeklampsi için bir risk faktörüdür. Toplam 58.123.250 gebeyi içeren bir meta analiz, gebelik sırasında anne uyku bozukluklarının artmış preeklampsi riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir (142). Bunlar arasında subjektif uykuda solunum bozukluğu, obstrüktif uyku apnesi ve huzursuz bacak sendromu yer alır (142).

Horlama, uyku sırasında üst solunum yolu daraldığında türbülanslı akıştan kaynaklanan solunum yapılarının titreşimi olarak tanımlanır (143). Gebe kadınlarda gebe olmayan kadınlara göre daha yaygındır (144).

2.5.5. Molar gebelik

Koryonik villusun trofoblastik ve hidropik değişikliklerinin anormal proliferasyonu ile karakterize gestasyonel trofoblastik bir hastalık olan mol hidatidiform, 20. gebelik haftasından önce ortaya çıkan preeklampsi (145) ile ilişkilidir (146, 147). Mol hidatidiformu olan hastalarda preeklampsi sıklığı %27 ile %40 arasında değişmektedir ve ikinci üçüye kadar tedavi edilmemiş hastalarda risk daha yüksektir (147, 148).

2.5.6. Fetal hastalıklar

Preeklampsi gelişimi ile ilişkili spesifik fetal hastalıklar üç tanedir.

(1) Ballantyne veya ayna (mirror) sendromu (149, 150),

(2) Trizomi 13 veya triploidi (151)

(3) Çoğul gebeliklerin komplikasyonları (örn. ikizden ikize transfüzyon sendromu veya selektif fetal büyüme kısıtlılığı) (152).

Ballantyne veya ayna sendromu anne, fetus ve plasentanın eş zamanlı üçlü ödemidir (153, 154). Bu sendrom rhesus izoimmünizasyonunda (153), sitomegalovirüste (155), parvovirüs B19 enfeksiyonunda (156), Epstein

anomalisinde (157) ve fetal supraventriküler taşikardide (158) gözlenmiştir. Bu gebelerde proteinüri, hipertansiyon ve preeklampsî gelişebilir (157).

2.5.7. Otoimmün mekanizmalar

Preeklampsî geleneksel olarak bir otoimmün bozukluk olarak kabul edilmez. Bununla birlikte, sistemik lupus eritematozus (SLE) veya antifosfolipid sendromu (APS) gibi sistemik otoimmün hastalıkları olan hastaların preeklampsî gelişme riski yüksektir (159). Benzer şekilde, birkaç çalışmada, glikoprotein-I gibi spesifik anti-beta2 otoantikorları, antikardiyolipin antikorları veya lupus antikoagülanın preeklampsî ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (160, 161).

Preeklampsinin patogeneğinde başka bir otoimmün mekanizma rolünün de, anjiyotensin II reseptörüne karşı antikorlarla olabileceği bilinmektedir (161).

2.5.8. Plasental yaşlanma

Hücrelerin ve organizmaların sınırlı bir yaşam süresi vardır. Kültürdeki insan hücreleri, bölünmeyi durdurmadan önce sınırlı sayıda (Hayflick limiti) çoğalma geçirebilir (mitoz) ve ardından programlı hücre ölümü veya apoptoz olur (162). Plasentanın da önceden belirlenmiş bir ömrü olduğu düşünülür ve yaş ilerledikçe plaseenta hücrelerinin fonksiyonel kapasitesi azalır.

Plasenta yaşlanması onlarca yıldır tanımlanmıştır (163). Plasentanın erken yaşlanması, örneğin preeklampsî (164), fetal büyüme geriliği (165), fetal ölüm (166), ve erken doğum (167) gibi obstetrik sonuçlar için bir hastalık mekanizması olarak gösterilmiştir.

2.5.9. Maternal-fetal immün toleransın bozulması

Viviparite, farklı genetik yapıları sahip iki bireyin (anne ve fetus) bir arada var olması durumudur. Plasenta ve fetus, biyolojide en başarılı nakil olarak görülür (anne ve babanın katkılarından dolayı genellikle semiallograft olarak anılır) ve bu durumun immün toleransından sorumlu mekanizmalar onlarca yıldır araştırma konusu olmuştur (168, 169). Plasenta ve fetusun adaptif bağışıklık sistemi immün hafıza ve özgüllük üzerine kuruludur (170). Preeklampsinin patogeneğinde bağışıklık sisteminin rolü olduğu görüşü, ilk gebeliği olanlarda ve birden fazla gebeliği olmuş

olanlarda farklı baba söz konusu olduğunda hastalığın daha yaygın olmasından dolayı öne sürülmüştür (171, 172).

2.5.10. Endokrin hastalıklar

Hiperparatroidizm, Cushing sendromu, aldosteronizm, feokromasitoma ve paraganglioma preeklampsi ile ilişkili endokrinolojik hastalıklardır. Ancak bu ilişkinin nedenselliğini destekleyen kanıtlar güçlü değildir (173-175).

2.6. Preeklampsi Patofizyolojisi

Preeklampsinin patofizyolojisine bakıldığında hem anne kaynaklı hem de fetal/plasental faktörler kaynaklı bozukluklar saptanır (46). Hamileliğin erken dönemlerinde plasentanın damar gelişimindeki problemler göreceli olarak plasental yetersiz perfüzyon/hipoksi/iskemi olarak gelişebilir ve bu durum daha sonraları anne dolaşımına antianjiyojenik faktörlerin salınmasına yol açarak, annenin sistemik damar endotel fonksiyonunu etkiler ve değiştirir. Hipertansiyon ile hastalığın diğer belirtilerine (pulmoner, renal, hematolojik, kardiyak, nörolojik ve hepatik disfonksiyon) neden olur (55). Bununla birlikte, normal olmayan plasental gelişimin tetikleyicisi ve bunu takip eden olaylar silsilesi net olarak hala bilinmemektedir (96).

Plasentanın anormal gelişimi

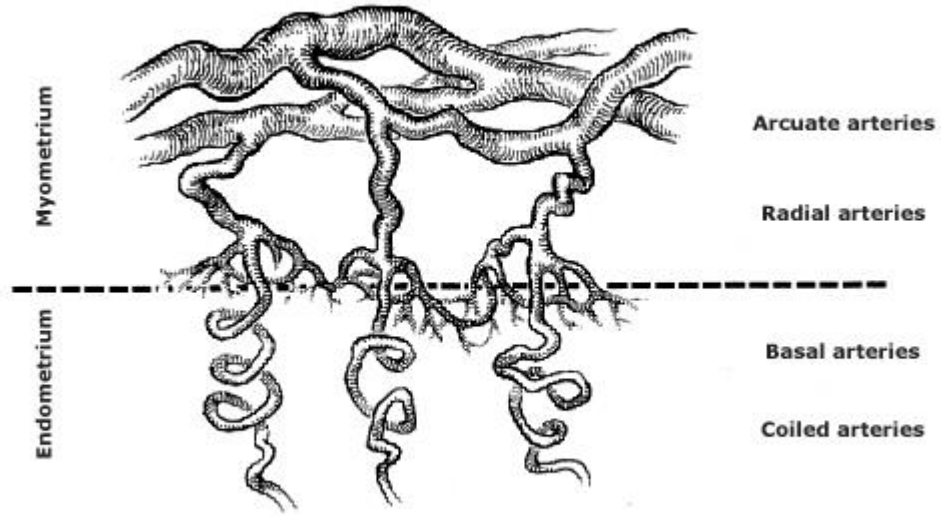
Özellikle erken başlangıçlı preeklampsinin patofizyolojisinde plasentanın kritik rolü vardır. Bu kapsamda bilinmesi gerekenler;

- Preeklampsi gelişimi için plasenta dokusu gereklidir (fetüs olması şart değil) (176, 177).
- Preeklampsi her zaman plasentanın doğumundan sonraki günler içinde iyileşir.

Preeklampside bazen doğumdan sonraki 6 ila 8 haftaya kadar hipertansiyon ortaya çıkabilir. Plasentanın doğumundan sonra preeklampsi ortaya çıkmasındaki faktörler belirsizdir. Bununla birlikte doğum sonrası preeklampsi gelişimi, antianjiyojenik faktörlerin gecikmiş klirensi, doğum sonrası kompleman sistemi

aktivasyonu ve/veya ekstrasellüler sıvının intravasküler alana hareketi ile açıklanabilir (178, 179).

Günümüzde normal gebeliği olan olgular ile preeklampsili olguların gebeliğin farklı uçaylarındaki plasantasyon gelişim evrelerinin incelenmesi, normal plasenta morfolojisinin ve uteroplazental dolaşımdaki preeklampsisi ile ilgili olması muhtemel patolojik değişikliklerin anlaşılmasına olanak sağlamıştır. İki birbiri ile ilişkili fakat ayrı süreç olan; spiral arter yeniden şekillenmesi ve trofoblast invazyonundaki hataların, gebeliğin hipertansif bozuklukları ile fetal gelişme geriliğinin sebebi olduğu görüşü kabul görmektedir. Bu süreçler, bozulmuş plasantasyon ve plasental iskemi ile sistemik endotelyal disfonksiyona yol açan primer olaylardır. Böylece kanda çözünebilir faktörlerin plasental salınımına yol açarak preeklampsisi fenotipi ortaya çıkar (180, 181).



Şekil 5. Uterin arterin myometrium ve endometriumda uzanımı

Spiral arterlerin anormal yeniden şekillenmesi:

Normalde plasentanın büyüyen sitotrofoblast hücreleri, gelişmekte olan fetüse/plasentaya kan sağlayabilmek adına hem endoteli hem de uterin arterin terminal dalları olan maternal spiral arterlerin oldukça kaslı olan tunika media tabakasını invaze etmek için desidua ve miyometriyumun bir kısmından göç eder.

(Şekil 5). Bunların sonucunda, mevcut damarlar küçük müsküler arteriyollerden, düşük dirençli yüksek kapasitanslı damarlara dönüşürler ve böylece uterusun diğerk bölgeleri düşünüldüğünde plasenta dolaşımını büyük ölçüde kolaylaştırır (182). Spiral arterlerin revaskülarizasyonu hamileliğın ilk ayının sonlarında (12-14) başlar ve onsekiz ile yirminci gebelik haftaları arasında son bulur. Ancak spiral arterlerde trofoblastların invazyonunun gebeliğın hangi haftasında durduğ tam olarak net değildir.

Preeklampside, spiral arterlerin desidual kısmına sitotrofoblast hücreleri geder ve bu hücreler miyometriyal kısma invaze olamazlar (107). Spiral arterler bu durumda; muskuloelastik katmanın fibrinoid materyalle yer değıştirmesiyle oluşturulan büyük, kıvrımlı vasküler kanallara dönüşemezler. Böylece bu damarlar dar kalarak plasental hipoperfüzyona ve nispeten hipoksik trofoblast dokusuna neden olur (Şekil 5 ve Şekil 6). Derin plasentasyondaki bu kusur büyüme kısıtlaması olan veya olmayan preeklampsili gebelerde birçok olumsuz gebelik sonucunun gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (109).

Bazı gebeliklerde uteroplasental dolaşımın gelişimindeki normal olaylar dizisinin neden oluşamadığı bilinmemektedir. Çevresel, vasküler, genetik ve immünolojik faktörlerin hepsinin bir rol oynadığı düşünülmektedir (183).

Trofoblast hatalı farklılaşması:

Spiral arterlerin kusurlu trofoblast invazyonu preeklampsisi gelişiminde sorumlu olan mekanizmalardan biridir (184). Trofoblastların farklılaşarak endotele invaze olması sırasında, hücre dışı matriks molekülleri, sitokinler, sınıf Ib majör histokompatibilite kompleksi molekülü HLA-G, metalloproteinazlar ve adezyon molekülleri de dahil olmak üzere pek çok farklı molekl sınıflarının salgılanmasındaki değışiklikler gerçekleşir (185, 186). Normal gebeliklerde; farklılaşma sırasında, invaziv trofoblastlar, adezyon molekülü ekspresyonunu epitel hücrelerinin karakteristiğinden (integrin alfa6/beta1, alfaV/beta5 ve E-kadherin) endotel hcrelerinininkine (integrin alfa1/beta1, alfaV/beta3 ve VE-kadherin) değıştirir. Tüm bu sürece psödo-vaskülogenez denir (182). Preeklampsili kadınlardan

elde edilen trofoblastlarda, adezyon molekülü ekspresyonu veya psödo-vask  logenezde artış görülmez.

Şiddetli preeklampsili kadınlardan alınan insan trofoblastlarını kullanan transkriptomik ve kültür çalışmaları, semaforin 3B'nin, vasküler endotelyal büyüme faktörü sinyalinin inhibe ederek bozulmuş trofoblast farklılaşmasına ve invazyonuna katkıda bulunan bir aday protein olabileceğini öne sürmüştür (187). Bir lazer mikrodiseksiyon yaklaşımı, şiddetli preeklampside çeşitli trofoblast alt popülasyonları tarafından diferansiyel olarak eksprese edilen yeni haberci RNA'ların ve kodlamayan RNA'ların tanımlanmasını sağlamıştır (188). Yapılan bir sinsityotrofoblast gen ontolojisi analizi, bağışıklık fonksiyonlarının, morfogenezin, taşınımın ve vasküler endotelyal büyüme faktörü ve progesterona verilen yanıtların düzensizliğini vurgulamaktadır (46).

Plasental hipoperfüzyon, hipoksi, iskemi

Trofoblastların kan damarlarına yetersiz invazyonu dokuda perfüzyon eksikliklerine yol açar. Bu nedenle anormal plasenta gelişiminin nedeni ve sonucu hipoperfüzyon olarak görünmektedir. Yetersiz plasental perfüzyon, anormal plasental gelişim ve preeklampsisi arasında ilişki güçlüdür. Preeklampsisi modeli geliştirilen hayvan deneylerinde, uteroplasental kan akımının mekanik olarak azaltılması preeklampsisi gelişimini sağlamıştır (189, 190). Hipertansiyon, böbrek hastalığı, edinilmiş ve kalıtsal trombofililer, diyabet ve SLE gibi vasküler yetmezlikle alakalı hastalıklar anormal plasantasyon ve preeklampsisi riskini artırır (191). Buna karşılık plasental kan akımını artırmadan plasental kütle yi artıran obstetrik durumlar (  rn. hidatiform mol, ikiz ve     z gebelik, hidrops fetalis, diabetes mellitus) göreceli iskemi ile sonuçlanır ve preeklampsisi ile ilişkilidir (191). Ayrıca preeklampsisi özellikle 3100 metreden yüksek rakımlarda yaşayan kadınlarda daha fazla görülür (192).

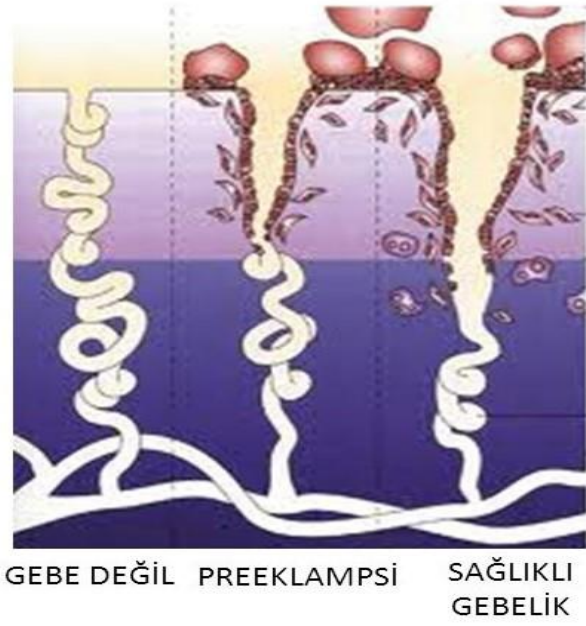
Perfüzyonun azalması plasentanın anormal gelişiminin bir sonucudur. Hipoperfüzyon, anormal uterin vasküler yapı, artan gebelik yaşıyla fetüs/plasentaya giden kan akışındaki normal artışı karşılayamadığı için gebelik

ilerlemesi ile daha da belirgin bir hale gelir (193, 194). Geç plasental değişiklikler arasında; arteriyol duvarındaki lipid yüklü hücreler (ateroz), arteriyollerin sklerotik daralması, fibrinoid nekroz, tromboz ve plasental enfarktüs plasental iskemi olarak değerlendirilir (193, 195). Bu lezyonların tm preeklampsi hastalarında aynı şekilde bulunmamakla birlikte, hastalığın erken başlangıcı ve şiddeti ile bu lezyonların yaygınlığı arasında bağlantı vardır (196).

Hipoperfüzyon sonucunda oluşan hipoksi ve iskemi, preeklampsinin patogenezinde kritik bileşenlerdir. Gebelik ilerledikçe, plasentadan üretilen çeşitli faktörlerin anne kan dolaşımına salınarak vasküler endotel büyümesini düzenleyen antianjiyogenik faktörlerin salınımını uyarması muhtemeldir. Bu faktörler yaygın maternal vasküler enflamasyon, endotel disfonksiyonu ve vasküler yaralanmaya yol aarak hipertansiyon, proteinüri ve preeklampsinin diğer klinik belirtilerine yol açar (197, 198).

Desidual patoloji

Başarısız olan desidualizasyonun bazı hastalarda yetersiz sitotrofoblast invazyonuna neden olabileceği bazı çalışmalarda ileri sürülmüştür (199). Koryonik villus örneklerinde yapılan mikroarray çalışmalarda desidualizasyonun bozulduğuna dair kanıtlar bulunmuştur (200). Preeklampsili kadınlardan alınan desidual hücre örneklerinde sFlt-1'in aşırı eksprese edildiği belirlenmiştir. Bu şekilde, implantasyon periyodu sırasında, sFlt-1 gibi antianjiyogenik özelliklere sahip bir tirozin kinaz proteininin yetersiz baskılanmasının, sinsityotrofoblastların derine inemeyen implantasyonuna neden olabileceği söylenebilir (201). Preeklamptik gebeliklerde trofoblastların yeterince invaze olamaması, dolayısıyla maternal-fetal kan dolaşımının sağlıklı gebeliğe göre daha zayıf olması önemli bir etiyopatolojik değişikliktir (şekil 6).



Şekil 6. Gebe olmayanlar, normal gebeler ve preeklampside spiral arterler

İmmünolojik faktörler

Preeklampsia etiyopatolojisinde anormal plasental gelişime neden olan immünolojik faktörlere odaklanma, önceden paternal/fetal antijenlere maruz kalmanın preeklampsiaye karşı koruma sağladığı fikrinden köken alır (202-204). Bazı çalışmalarda, nullipar kadınlar ile gebelikler arasında eş değiştiren, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu yoluyla gebe kalan, bariyer kontrasepsiyon kullanan, gebelik aralıkları uzun olan kadınların paternal antijenlere daha az maruz kaldığı bilinmektedir. Bu hastalarda preeklampsia gelişim riski daha fazladır. Bunun yanı sıra bazı metaanalizler, diğer yardımcı üreme teknikleriyle gebe kalan kadınlara göre oosit donasyonu ile gebeliği oluşan olguların, en az iki kat daha fazla preeklampsia geçirme riskine sahip olduğu ve doğal yolla gebeliği oluşan olgulara göre ise dört kat daha fazla preeklampsia oranına sahip olduğunu bildirmiştir. Tüm bu durumlar maternal - fetal immünolojik intoleransın preeklampsinin etiyopatogenezinde etkili olduğunu düşündürmektedir (205, 206).

Preeklampitik gebelerde transplantasyon reddinde gözlemlenenlere benzer şekilde immünolojik reaksiyonlar gözlenmiştir (207). Ekstravillöz trofoblast hücreler, HLA-C, HLA-E ve HLA-G gibi HLA Sınıf I antijenlerinin alışılmadık bir kombinasyonunu ihtiva eder. Sınıf I antijenlerini saptayabilen çeşitli reseptörleri

(CD94, KIR ve ILT) içeren doğal öldürücü (NK) hücreler, ekstrasvillöz trofoblast hücreler ile yakın bir ilişki içinde maternal desiduaya geçer (208). Preeklampside, anne ve baba genleri arasındaki karmaşanın; artan NK hücre aktivitesi, azalan reguler T hücreleri (Treg) ve diğer immünolojik faktörler yoluyla anormal plasental implantasyonu indüklediği öngörülmektedir (209). .

Bir başka immünolojik değerlendirmede preeklampsili hastalar, anjiyotensin-1 reseptörüne karşı artmış agonistik antikör seviyelerine sahiptir. Bu antikör, hücre içi serbest kalsiyumu mobilize edebilir ve artmış plazminojen aktivatör inhibitörü-1 üretiminden ve preeklampside görülen yetersiz trofoblast invazyonundan sorumlu olabilir. Ayrıca anjiyotensin AT-1 reseptör antikoru, sFlt-1 sekresyonunu da uyarır (210-212).

Genetik faktörler

Çoğu preeklampsisi vakası sporadik olmasına rağmen, bazı genetik durumların hastalığın ortaya çıkmasını kolaylaştırdığına inanılmaktadır (213-215). Preeklampsinin genetik kökeni bazı durumlarda ön plana çıkarılır.

1. Aile geçmişinde preeklampsisi hikayesi olan nullipar kadınlarda (örn., preeklampsisi geçirmiş kız kardeş veya anne), böyle bir öyküsü olmayan nullipar kadınlardan iki ile beş kat daha fazla hastalık riski vardır (213-215). Preeklampsinin gelişimine annenin katkısı kısmen belirlenmiş genlerle açıklanabilir (216).
2. Önceki gebeliklerinde preeklampsisi geçirmiş gebelerde preeklampsisi riski yedi kat daha fazladır (103).
3. Preeklampsisi ile komplike olmuş bir gebelikten doğan erkeklerin eşlerinde, bu öyküye sahip olmayan erkeklerin eşlerine göre preeklampsisi gelişme riski daha yüksektir (215, 217).
4. Önceki partnerinde preeklampsisi olan bir erkekte hamile kalan bir kadında, önceki partnerinde normal gebelik olan bir erkekte gebe kalan bir kadına göre preeklampsisi görülme riski daha yüksektir (214).

13. kromozom üzerinde, sFlt-1 ve FLT-1 genleri bulunur. Trizomi 13 gibi bu kromozomun fazladan bir kopyasına sahip olan fetüsler, bu gen ürünlerinden olması gereğinden daha fazlasını üretmektedir. Bu nedenle trizomi 13'lü fetüs taşıyan

annelerde, diğer trizomiler ve normal gebe olgularla karşılaştırıldığında preeklampsi görülme riski büyük ölçüde artmıştır (218).

12q23'teki uzun kodlanamayan RNA'daki değişiklikler, HELLP sendromuna yol açabilecek genetik değişiklikler olarak bilinmektedir (219). PAI-1 4G/5G polimorfizmi (resesif model) bir meta-analizde preeklampsi riski açısından yüksek riskli gen bölgesi olarak gösterilmiştir (206).

Çevresel ve maternal faktörler

Preeklampsi gelişimi açısından, diyetçe fakir kalsiyum alımı olan kadınlar, vücut kitle indeksi artmış kadınlar ile yardımcı üreme teknikleriyle gebe kalan kadınlarda artmış risk mevcuttur.

Preeklampsi gibi sistemik bir hastalıkta; değişen miktarda kalsiyum düzenleyici hormonların, bağışıklık veya damarsal etkileri ile patogeneizde düşük kalsiyum alımının preeklampsi için bir risk faktörü olarak değerlendirilebileceği varsayılmaktadır (220).

Yüksek vücut kitle indeksi ile preeklampsi gelişme riski arasında artış yönüyle doğrusal bir ilişki olduğu kanıtlanmıştır (221). Bir çalışmada VKİ 25 ila 30 kg/m² olan kadınlarda preeklampsi gelişme riski 1.65 iken VKİ ≥ 40 kg/m² olan kadınlarda bu risk 6.04'e yükselmektedir. Obezite, plasental anjiyojenik faktörlerle sinerji oluşturabilen kronik enflamasyonu ve endotelial disfonksiyonunu oluşturarak preeklampsinin mikroanjyopatik özelliklerini uyarır ve böylece hastalığa olan duyarlılığı artırır (222).

İn vitro fertilizasyon sonrası gebelikler spontan gebeliklerle karşılaştırıldığında, preeklampsi ve intrauterin büyüme kısıtlılığı dahil olmak üzere olumsuz gebelik sonuçları açısından daha yüksek riske sahiptir (223). Bununla birlikte oosit donasyonu gebeliklerinde ise risk daha da fazladır (224).

Enflamasyon

Annenin kan dolaşımdaki sinsityotrofoblast hücre kalıntılarının, özellikle maternal enflamasyona yol açtığı ve patogeneizde maternal sendromun bazı özelliklerini desteklediği bulunmuştur (225). Annenin kan dolaşımına salınan plasental cell-free DNA, sistemik enflamatuvar yanıtını yönlendirerek preeklampsi

gelişimine neden olabilir (226). Normal miad gebeliklerde görülen maternal enflamasyon belirtileri preeklampside daha fazladır. Maternal enfeksiyon ayrıca sistemik bir enflamatuvar yanıtı da indükleyebilir. Maternal enfeksiyon ile preeklampsisi ilişkisini değerlendiren bir meta-analizde, idrar yolu enfeksiyonu ile periodontal hastalığı olan gebe olgularda preeklampsisi görülme riskinin yüksek olduğu belirtilmiştir (227).

Anjiyotensin 2 duyarlılığı artışı

Preeklampside anjiyotensin II'ye duyarlılık artmıştır ve bu durum preeklampitik hastalarda bradikinin (B2) reseptör artışına neden olur (228). B2 reseptörlerinin artışı anjiyotensin II tip I reseptörleri ile heterodimerizasyonuna yol açar ve bu AT1/B2 heterodimeri in vitro olarak anjiyotensin II'ye yanıtı artırır (229). AT-1 reseptörünün endojen ligandı Anjiyotensin II'dir. Bundan dolayı bu reseptörün oto-antikörler tarafından artan aktivasyonu, preeklampside gözlenen hipertansiyon ve vasküler hasarı indükleyebilir (230).

Kompleman aktivasyonu

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, kompleman disregülasyonu veya aktivasyonunun preeklampsinin patogeneğinde aktif rol oynayabileceği ifade edilmektedir (231). Otoimmün hastalıkları (SLE ve APA) olan gebelerde preeklampsisi daha yaygındır (232). Bu hastalıklarda plasentada klasik kompleman yolunun aktivasyonu bilinmektedir (233). Bir çalışmada HELLP sendromunda alternatif kompleman yolundaki germ hattı mutasyonları bildirilmiştir (234).

2.7. Klinik Bulgularda Endotelial Disfonksiyonun Rolü

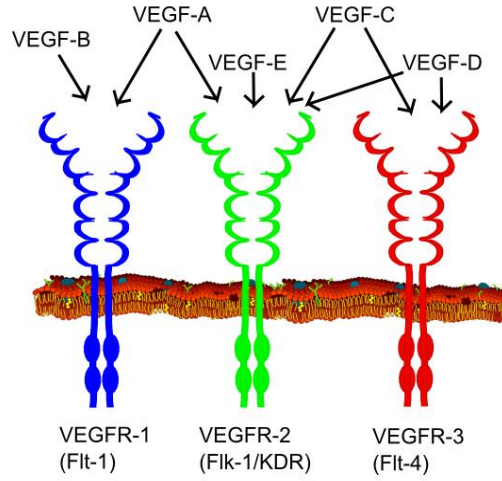
Preeklampsinin tüm klinik özellikleri incelendiğinde fenotipik dışı vurum endotel disfonksiyonuna karşı organizmanın verdiği klinik yanıtlar olarak değerlendirilir (235, 236). Preeklampside hipertansiyon, vasküler tonusun bozulmuş endotelial kontrolünden kaynaklanmaktadır. Yine proteinüri ve ödem artmış vasküler geçirgenlikten kaynaklanır. Koagülopati de prokoagülanların anormal endotelial ekspresyonunun sonucunda ortaya çıkar. Preeklampside görülen baş

ağrısı, görsel semptomlar, epigastrik ağrı, nöbetler ve intrauterin büyüme kısıtlılığı hedef organların (beyin, karaciğer, böbrek ve plasenta gibi) damarlarındaki endotel disfonksiyonu sonucu gelişen belirtilerdir (237).

Preeklampitik kadınlarda endotel disfonksiyonu laboratuvar bulguları ile de kanıtlanabilir. Plazmada fibronektin, faktör VIII antijeni ve trombomodulin konsantrasyonlarında artış görülür (238, 239). Bozulmuş vazodilatasyon (240) ve bozulmuş asetilkolin aracılı vazorelaksasyon (241) mevcuttur. Endotel kaynaklı vazodilatörlerin (nitrik oksit ve prostasiklin gibi) üretiminde azalma ve vazokonstriktörlerin (tromboksanlar ve endotelinler gibi) ekspresyonunda artış, anjiyotensin II'ye karşı artmış vasküler reaktivite (228) endotel disfonksiyonunu destekler. Preeklampitik kadınlardan alınan serumun, bazı in vitro çalışmalarda kordon kanı endotel hücre kültürü çalışmalarında endotel aktivasyonuna neden olduğu görülmüştür (242). Bozulmuş endotel fonksiyonu, preeklampitik bir gebelikten üç yıl sonra brakial arter akım aracılı dilatasyon ile gösterilebilir (243).

2.8. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

Anjiyogenezde en etkili büyüme faktörü, vasküler endotelyal büyüme faktörüdür (VEGF) (244). VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, orf virüsü VEGF (VEGF-E) ve plasental büyüme faktörünü (PLGF) anjiyogenezde etkili olan VEGF aile üyeleridir (244).



Şekil 7. VEGF çeşitleri ve reseptörlerinin şematik çizimi (245)

VEGF-A, etiyopatolojisinde anjiogenezis düşünülen çalışmalarda en çok çalışılan VEGF ailesi üyesidir. VEGF-A bir dizi farklı hücre tipi tarafından üretilir (örneğin, çeşitli epitel soyları, enflamatuvar ve hematopoietik hücreler, endotel hücrelerinin kendileri). Ayrıca vasküler endotel hücreleri üzerinde seçici olarak etkilidir ve hem in vitro hem in vivo anjiyogenezi uyarma yeteneğine sahiptir. Bu nedenle, vasküler endotel hücrelerin uyarılmasında, korunmasında ve büyümesinde aktif rol alır. Hem normal hem de anormal anjiyogenez ile ilişkisi nedeniyle VEGF-A, hem proanjiyojenik hem de antianjiyojenik tedavide etkili olabileceğinden konu ile ilgili çalışmalara spesifiktir (246).

VEGF-A;

1. Vasküler endotel mitozu uyarır,
2. Endotel hücresinin hayatta kalmasına yardım eder,
3. Vasküler permeabilitenin kontrolünde vazodilatasyon sağlayarak, histaminden 50.000 kat daha fazla damar dışına sıvı geçişini provake edebilir (247). VEGF-A bu etkiyi, küçük venüllerin ve kılcal damarların endoteliumunun Src kinaza bağlı bir mekanizma yoluyla fenestrasyon oluşturması yoluyla sağlar (248).
4. Doku plazminojen aktivatörü, ürokinaz plazminojen aktivatörü, kollajenazlar ve matris metaloproteinazların sentezlenmesini artırarak endotelial hücre

migrasyonu için gerekli olan ekstrasellüler matriksin bozulmasını sağlar (249, 250).

5. Erken gebelikte iki VEGF allelinden birinin eksik olduğu mutasyonların öldürücü olduğu görülmüştür. Anjiyogenez ve kan damarı oluşumu bozulur, bu da birkaç gelişimsel anomaliye yol açar (251).

VEGF aile üyelerinden VEGF-A'nın yanı sıra VEGF-B, C, D ve PLGF'nin lenfanjiyogenez, metabolizma, kemik oluşumu, hematopoez ve patolojik anjiyogenez de içine alan ancak bunlarla sınırlı olmamak üzere çeşitli süreçler üzerinde iyi bilinen etkileri vardır (252, 253).

2.9. Preeklampside VEGF

Memelilerde gelişim aşamasında, fetüsün oksijen ve besin ihtiyacını karşılama amacıyla gelişmiş bir damar yapısının kurulması için doğru bir anjiyogenez gerekir. Embriyogenez ile birlikte tomurcuklanmakta olan plasenta kaynaklı pek çok çeşit proanjiyojenik (VEGF, PLGF) ve antianjiyojenik faktörler (sFlt-1) salgılanır. Tüm bu faktörler arasında ortaya çıkan denge plasantanın normal gelişimi için çok önemlidir. Özellikle antianjiyojenik faktörlerin artan üretimi bu düzeni bozarak ortaya endotel disfonksiyonunu çıkarır ve bu durum preeklampsisi gelişimine yol açar (220).

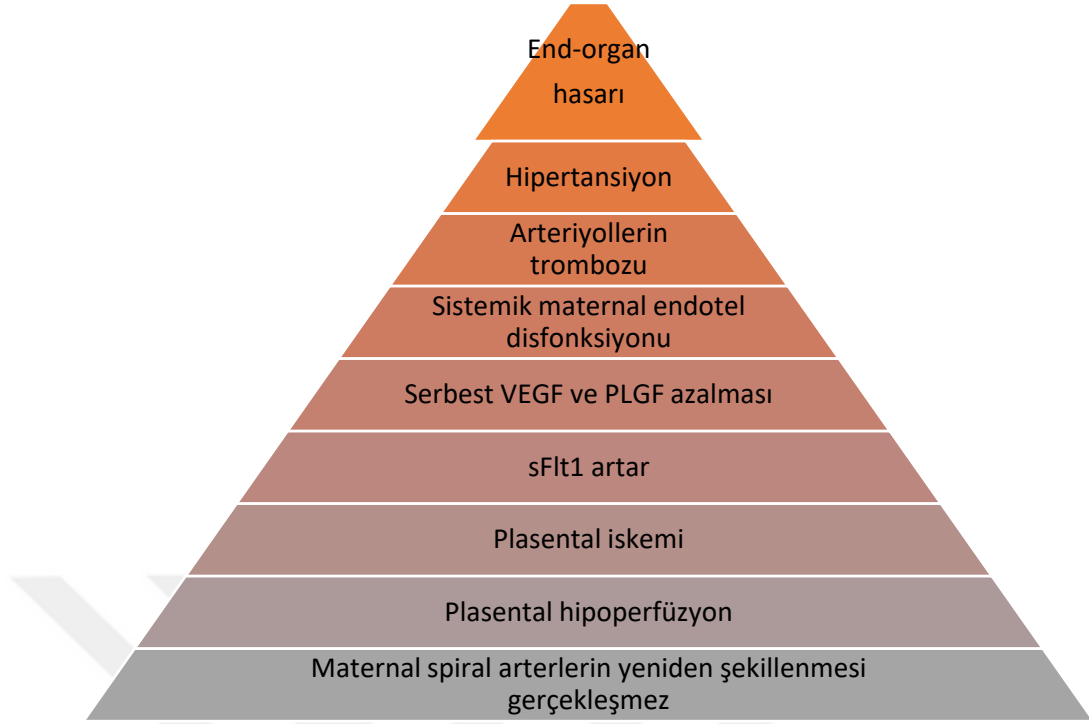
VEGF, damar büyümesi ve gelişimini uyarmada en önemli role sahip, endotel hücrelerine spesifik bir mitojendir. Çözünür fms benzeri tirozin kinaz 1 (sFLT-1), VEGF'in naturel oluşan, dolaşımdaki bir antagonistidir (254). Vasküler endotel hücre yüzeyinde selektif olarak eksprese edilen bu iki yüksek afiniteli reseptör tirozin kinaz, reseptörler VEGFR-1 ve VEGFR-2 ile etkileşim gösterir. VEGFR-1'in iki izoformu vardır: transmembranöz izoform ve çözünür izoform. Plasental büyüme faktörü (PLGF), çoğunlukla plasentadan üretilen, VEGF ailesinde yer alan başka bir üyesidir. Plasental büyüme faktörü VEGFR-1 reseptörüne bağlanır (255).

Dolaşımda VEGF ve PLGF'nin proanjiyojenik biyolojik aktivitesini onlara bağlanarak ve bu moleküllerin endojen reseptörleri ile etkileşimlerini önleyerek

antagonize eden sFlt-1, antianjiyogenik etkinlik sergiler. Plasentada artan sFlt-1 ekspresyonunun preeklampsinin patogeneğinde merkezi bir rol oynadığı görülmektedir (256-258). Gebe sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, sFlt-1 uygulaması sonrasında, ratlarda albüminüri, hipertansiyon ve böbreklerde glomerüler endotelyosiz meydana gelmiştir. Bir başka çalışmada ise fare plasentalarında sFlt-1'in transgenik aşırı ekspresyonu, maternal hipertansiyon ve proteinürinin eşlik ettiği bozulmuş spiral arter yeniden düzenlenmesine ve intrauterin büyüme kısıtlamasına neden olmuştur (259).

İn vitro olarak, preeklampitik doku kültürlerinde sFlt-1'in dokudan uzaklaştırılması ile endotel fonksiyonunun ve anjiyogenezin normal seviyelere geri geldiği saptanmıştır. Ardından VEGF ve PLGF'ün eksojen uygulaması, fazla sFlt-1 tarafından indüklenen antianjiyogenik durumu proanjiyogenesiz yönüne doğru çevirir. Gebe farelerde sFlt-1'in fazla olması, vasküler endotelial nitrik oksit sentaz aktivitesini engelleyerek anjiyotensin II duyarlılığını dolayısıyla hipertansiyonu indükler (260).

Preeklampitik kadınlarda dolaşımdaki sFlt-1 seviyeleri normal tansiyonu olan gebelere nazaran daha fazladır, VEGF ve PLGF ise daha azdır. Bazı araştırmalarda preeklampsisi gelişmeden önce serumda PLGF ve VEGF düzeylerinde ciddi düşüşler olduğu belirtilerek preeklampsiyi öngörmede kullanılabileceği ifade edilmiştir (258, 261). Gebelikte serum sFlt-1 ile VEGF ve PLGF'yi ölçmek için yapılan bir vaka-kontrol çalışmasında, sFlt-1'deki değişikliklerin takip edilmesiyle preeklampsisi gelişiminin öngörülebildiği bulunmuştur (258). Normotansif ve hipertansif gebeler arasında klinik hastalığın başlamasından beş hafta önce serum sFlt-1 konsantrasyonunda anlamlı bir fark saptanmıştır (258). Başka bir çalışmada, sVEGFR-1 düzeyleri, şiddetli veya erken (<34 hafta) preeklampsisi olan kadınlarda, hafif veya geç preeklampsisi olanlara göre daha yüksek ve sVEGFR-1 konsantrasyonunun, preeklampsisi hastalığının şiddetini yansıtmakta olduğu görülmüştür (262). Ayrıca aynı çalışmada, preeklampsiyi öngörme açısından anlamlı olacak şekilde, sVEGFR-1 seviyeleri, preeklampsisi olacak hastalarda, klinik hastalığın başlangıcından iki ila beş hafta önce, normotansif kadınlara göre daha yüksek bulunmuştur (262).



Şekil 8. Anjiogenezin bozulması sonucu oluşan preeklampsi ve VEGF mekanizması

2.10. Plazma lökosit inhibe edici faktör (LIF)

Plazma lökosit inhibe edici faktör, 180 amino asit içeren bir heterodimer ve monomerik glikoprotein olup glikolizasyon ile değiştirilir (263). LIF interlökin 6 sınıfına ait bir sitokin olup farklılaşmayı inhibe ederek hücre büyümesini etkiler. LIF seviyelerinin azalması ile hücreler farklılaşır. Plazma lökosit inhibe edici faktör, adını miyeloid lösemik hücrelerin terminal farklılaşmasını tetikleme ve böylece büyümelerinin devam etmesini inhibe etme yeteneğinden alır (28).

LIF reseptörü (LIFR), LIFR- β ve glikoprotein 130 olmak üzere iki transmembran proteininden oluşur. Bu reseptör uterus, merkezi sinir sistemi, hematopoietik sistem, karaciğer, böbrek, kemik ve vasküler endotel dokuları gibi çeşitli dokularda bulunur. Plazma lökosit inhibe edici faktör, JAK/STAT, MAPK, PI3K sinyal yolları aracılığıyla kendi reseptörüne bağlandıktan sonra biyolojik etkinliklerini gösterir (264). Bu sitokin başlangıçta miyeloid lösemi hücreleri için bir inhibitör faktör olarak tanımlanmıştır (265).

Plazma lökosit inhibe edici faktör ile ilgili çeşitli çalışmalar, LIF'in uterusu embriyo implantasyonu sürecinde de etkili olduğunu göstermiştir. LIF geni susturulmuş farelerde blastosistin uterusu implantasyon işlemi gerçekleşmez (266). Ayrıca infertil kadınlarda endometriumda üretilen LIF miktarı fertil kadınlara oranla daha düşüktür (267). Tüm bu kanıtlar, plazma lökosit inhibe edici faktörün embriyo implantasyonunun birçok aşamasında işlevi olduğunu göstermektedir. Plazma lökosit inhibe edici faktör, epitel büyüme faktörünün sentezini artırarak implantasyon genlerinin ekspresyonunu başlatır, böylece endometriyal implantasyon süreci için gerekli hazırlıkların yapılmasını sağlar. Ayrıca, erken gebelik sırasında LIF, immunolojik hücrelerin uterusu implantasyon bölgesine çağrılmasını etkileyerek immün yanıtların düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (268, 269).

Kan damarlarının iç duvarı, endotel hücrelerinden oluşan vasküler endotel tarafından kaplanmıştır. Vasküler endotel, kanın içeriğini düz kas dokusundan ve damar duvarlarındaki kollajenden mekanik olarak ayırır (270). Diyabet, kardiyovasküler hastalık, şiddetli viral enfeksiyonlar, kronik böbrek yetmezliği ve kanser metastazı gibi birçok hastalığın patogeneğinde endotel disfonksiyonu bulunmaktadır (271).

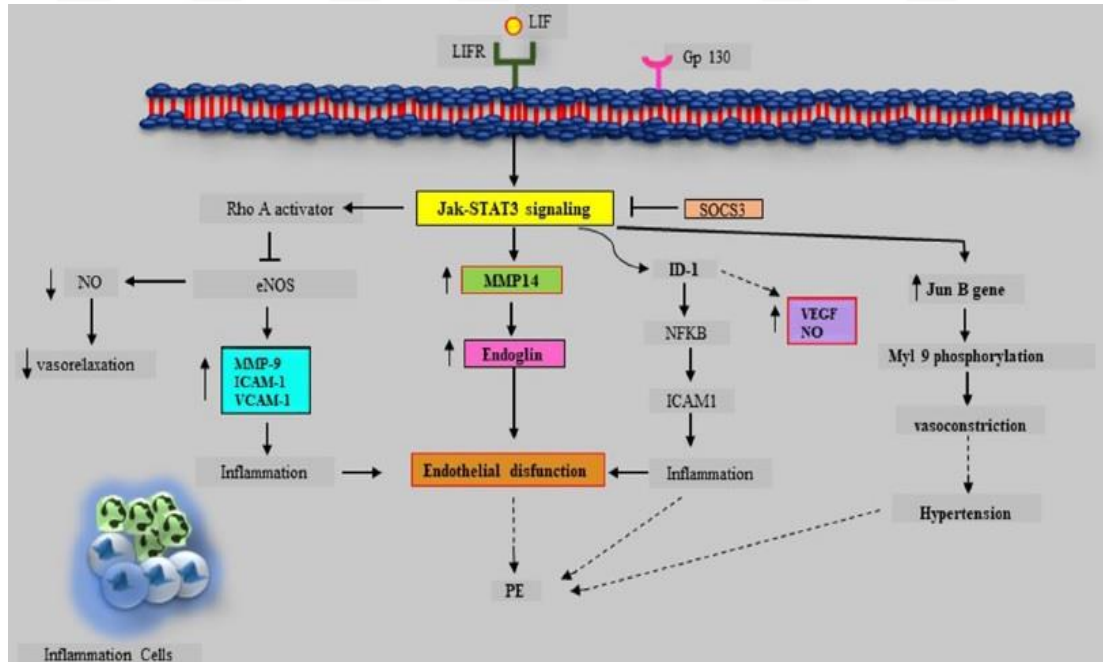
Preeklampsinin ana özelliği, fetal kaynaklı faktörlere bağlı olarak maternal endotele verilen hasar olarak kabul edilmektedir (272). Endotel hücreleri normalde nitrik oksit (NO), endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör ve prostasiklin gibi vazodilatör faktörlerin ve tromboksan A2, endothelin-1 gibi vazokonstriktör faktörlerin sentezi yoluyla damar tonusunun düzenlemesini sağlar (273).

Preeklampsili gebeliklerde LIF reseptörü düzeylerinde bir artış olduğu bilinmektedir. Geçmiş çalışmalara göre, LIF'in JAK/STAT3 sinyal yolu ve MMP-14'ün (Matriks metalloproteinaz-14) ekspresyonunda artış yoluyla LIF reseptörüne bağlanması, endoglin (antianjiyojenik) salınımını artırır. MMP-14'ün görevi; hücre dışı matrikste jelatin, fibronektin ve laminin dahil olmak üzere proteinlerin parçalanmasıdır. Artan MMP-14 ekspresyonuna bağlı olarak artan endoglin seviyeleri, vasküler endotel hücrelerinin disfonksiyonunda rol oynamaktadır (274, 275).

JAK/STAT yolu, plazma lökosit inhibe edici faktör tarafından aktive edilen yollardan biridir (276). Bu yolda SOCS-3, enflamasyonu engelleyici olarak etki eder ve 130 gp ve JAK'a bağlanarak JAK/STAT3 yolunun aktivasyonunu engeller (277). STAT3'ün sürekli fosforilasyonu, endotel hücrelerinin yüzeyinde ICAM-1 (hücre içi adezyon molekülü) ve VCAM-1 (vasküler hücre adezyon molekülü) anormal ekspresyonuna, lökosit uyarılmasına ve enflamasyonun indüklenmesine yol açar (278).

JAK/STAT3 yolunun aktivasyonu ile aktive olan Rho A, eNOS inhibisyonu yaparak NO ekspresyonunu azaltır. Bu şekilde vazorelaksasyon azalır (Şekil 9).

LIF tarafından aktive edilen başka bir yol ise, hücrenin hayatta kalması ve angiogeneze dâhil olmak üzere çeşitli işlemlerde yer alan PI3K/AKT yoludur. LIF'in LIFR'ye MAPK yoluyla bağlanması dolaylı olarak JAK/STAT ve PI3K/AKT yollarını aktive eder (28, 279). Hipoksi ile PI3K/AKT yolu aktivasyonu, HIF-1α'nın (hipoksi ile indüklenebilir faktör 1-alfa) ekspresyonunda artış yoluyla endotel hücrelerinde VEGF ve nitrik oksit ekspresyonunu da artırır. Böylece vasküler geçirgenliği ve anjiyogenezi düzenler (28), (Şekil 9).



Şekil 9. Plazma lökosit inhibe edici faktörün moleküler düzeyde etki mekanizması
(280)

Preeklampside VEGF gibi anjiyojenik faktörler ve nitrik oksit gibi damar genişletici faktörler endotel disfonksiyonuna bağlı olarak azalmaktadır. PI3K/AKT yolunun aktivasyonu ise bu faktörlerin salınımını artırır (280). Endotel hücrelerindeki NF- κ B (nükleer faktör kappa b) yolu, endotel hücrelerinin yüzeyinde E-selektin, ICAM-1 ve VCAM-1 gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırarak enflamasyonun artırılmasına katkıda bulunur. Böylece plazma lökosit inhibe edici faktör, PI3K/AKT yolu ile NF- κ B yolunu aktive ederek enflamasyon ve endotel disfonksiyonuna neden olur (281).

Preeklampsili kadınlarda SOCS3'ün azalması, artan ICAM-1 ve VCAM-1 ekspresyonu, artmış enflamatuvar sitokinler, endotel hücrelerinde artan nötrofiller hastalıkta gelişen maternal endotel disfonksiyonu ile sonuçlanır. Tüm bu süreçler maternal dokularda preeklampsinin neden olduğu sistemik bir enflamatuvar yanıt meydana getirir ve bu da endotel disfonksiyonuna yol açar (282-284). Literatür incelendiğinde bir çalışmada, preeklampsili gebelerin kan dolaşımındaki enflamatuvar sitokinler, kemokinler, adezyon molekülleri ve SOCS3 ile ortalama kan basıncı arasında sıkı bir ilişki olduğu ileri sürülmüştür (285).

2.11. VEGF ve LIF için Preeklampsii ile İlgili Ortak Noktalar

Vasküler endotelial büyüme faktörü ile plazma lökosit inhibe edici faktör, JAK/STAT yolu aracılığıyla etki ederek apoptoz inhibisyonu yapar, dolayısıyla trofoblast invazyonunu ve farklılaşmasını etkiler (37).

İnterlökin sitokin ailesinin bir üyesi olan LIF, STAT3 aracılığıyla sinyal gönderir. VEGF de, antiapoptotik etkileşim için STAT3 ve STAT5'i kullanır (39, 40). VEGF, STAT'ları VEGF reseptörü-2 aracılığıyla aktive eder (41). Son zamanlarda VEGF/JAK2/STAT5 sinyal ekseninin hücre hipoksisine direnç göstermede etkili olabileceği belirtilmiştir (40). Geçmiş çalışmalarda, hem insan sitotrofoblast hücrelerinde hem de in vitro diferansiyel sinsityotrofoblast hücrelerinde LIF ve VEGF ekspresyonu doğrulanmıştır (39, 42).

Endotel hücrelerde JAK/STAT3, MAPK ve PI3K/AKT yolaklarını aktive etmedeki rolü göz önüne alındığında, LIF'in preeklampside endotel disfonksiyonunu ve enflamatuvar yanıtları artırıcı rol oynayabileceği belirtilmiştir (286).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Tasarımı

Bu prospektif kohort çalışmasında, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı gebe polikliniğinde takip edilen 100 gebe kadın çalışmaya dâhil edildi.

Çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Destek fonu tarafından TTU-2020-8523 proje kodu ile desteklendi. Çalışmaya başlanmadan önce Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan 24.01.2020 tarihinde 2019/304 karar no ile etik kurul onayı alındı.

Çalışmadaki tüm kişilere bilgilendirilmiş ve aydınlatılmış onam formu okutuldu ve imzalatıldı.

3.2. Hasta Seçimi

Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında 2020-2022 yılları arasında toplam 100 hastadan 80 tanesi kliniğimizde doğumunu gerçekleştirdi, geri kalan 20 hasta mevcut kriterleri (4 hasta HELLP sendromu, 9 hasta süperempoze preeklampsi, 4 hasta doğum öncesi erken membran rüptürü ve 3 hasta ise doğum sonrası çalışmadan çekilme kararı alması nedeniyle) karşılayamadıkları için çalışma dışında bırakıldı. Çalışmaya katılan ve doğum yapan 60 hasta, takiplerinde preeklampsi geçiren 40 gebe araştırma grubu ve preeklampsi hastalarından sonraki komorbiditesi olmayan, takiplerinde sağlıklı olarak doğum yapan 20 gebe ise kontrol grubu olmak üzere iki gruba ayrıldı.

Araştırmaya katılan olguların gravida, parite, abortus, yaşayan çocuk sayısı, gebelik haftası ve yaşı gibi tanımlayıcı demografik verileri ile sistemik hastalık özellikleri kaydedildi. Tüm olguların, boy ve kilo ölçümleri kullanılarak vücut kitle indeksi (VKİ) saptandı.

Preeklampsia kriterleri:

Şiddetli özellikler göstermeyen preeklampsia;

Yirminci gebelik haftası öncesinde normotansif olan gebelerde, yirminci gebelik haftası sonrasında ortaya çıkan, dört saat ara ile en az iki kez ölçümde sistolik kan basıncının ≥ 140 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncının ≥ 90 mmHg olması ve bununla birlikte proteinüri olması veya idrarda protein yüksekliği olmayanlarda da end organ hasarının olması şeklinde tanımlandı. Proteinürinin saptanması için yirmidört saatlik idrarda 300 mg/dL üzerinde proteinüri saptanması, spot idrarda protein/kreatinin oranı 0.3'ten fazla olması veya rastgele alınan bir idrar örneğinde proteinin 30 mg/dl (+1 dipstick) olması tanı kriterleri olarak kullanıldı (1).

Şiddetli özellikler gösteren preeklampsia; Yirminci gebelik haftası öncesinde normotansif olan gebelerde yirminci gebelik haftası sonrasında sistolik kan basıncının ≥ 160 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncının ≥ 110 mmHg olması ve proteinüri (end organ hasarıyla beraber veya tek başına) olması veya sistolik kan basıncının ≥ 140 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncının ≥ 90 mmHg (proteinüri ile beraber veya proteinürisiz) ve end organ fonksiyon bozukluğu belirtileri ve semptomlarından biri veya daha fazlasının birlikte görülmesi şeklinde tanımlandı.

Bu semptomlar;

1. yeni başlangıçlı nörolojik semptomlar (analjeziklerle geçmeyen baş ağrısı) ve
2. görme bozukluğu (fotofobi, skotom),
3. persistan sağ üst kadranda veya epigastrik bölge ağrısı,
4. karaciğer transaminazlarının normalin iki katının üzerine çıkması,
5. trombositopeni (trombosit $< 100.000/\mu\text{L}$),
6. progresif renal fonksiyon bozukluğu (serum kreatinin > 1.1 mg/dL),
7. pulmoner ödem gelişmesidir (1).

Erken başlangıçlı preeklampsia: Erken başlangıçlı preeklampsia grubuna otuz dördüncü gebelik haftası ve öncesinde tanımlanmış preeklampsia hastaları dahil edildi.

Geç başlangıçlı preeklampsi: Geç başlangıçlı preeklampsi grubuna otuz dördüncü gebelik haftasından sonra tanımlanmış preeklampsi hastaları dahil edildi.

Çalışma grubunda bulunan 40 preeklampsi tanısı alan olgu, şiddetli özellikler göstermeyen preeklampsi (n=33), şiddetli özellikler gösteren preeklampsi (n=7), erken başlangıçlı preeklampsi (≤ 34 hafta) (n=22) ve geç başlangıçlı preeklampsi (> 34 hafta) (n=18) olarak alt gruplara ayrıldı. Bu araştırma grubu hastaları seçilirken aşağıdaki kriterler göz önünde bulunduruldu.

Çalışma grubuna; gebelik öncesi hipertansiyon, diabetes mellitus, metabolik sendrom, böbrek veya karaciğer fonksiyon bozukluğu, membran rüptürü, enfeksiyon, kardiyovasküler hastalık, kortikosteroid kullanımı, çoğul gebelik, sigara içme öyküsü olanlar, malign hastalıkları olanlar dahil edilmedi.

3.3. Histopatolojik İnceleme

Histopatolojik olarak değerlendirme yapmak için preeklampsi olan olgular ile sağlıklı kontrol grubu olguların doğum sırasında alınan plasental doku örnekleri patoloji bölümüne gönderilerek %10'luk formaldehit içerisinde 48 saat fikse edilmiştir. Makroskopik değerlendirme yapıldıktan sonra doku parçaları dereceli alkol serilerinden geçirilerek şeffaflaştırılmıştır. Dokuların parafin blokları hazırlandıktan sonra, bloklardan tam otomatik mikrotom ile 5 mikrometre kalınlığında kesitler alınmıştır. Ardından kesitler deparafinizasyon işlemine tabi tutulmuş ve ardından hematoksilin-eozin ile boyanmıştır.

Plasental dokuların histopatolojik incelenmesinde en dışta sinsityotrofoblastlar görülmektedir. Daha iç tabakada sitotrofoblastlar yer almakta, trofoblastik tabakanın iç kısmında ise villöz stromal doku izlenmektedir. En iç bölgede de villöz kapiller hücreler bulunmaktadır (Resim 1). Bu hücrelerin patolojik ayırt edici özellikleri şu şekildedir:

Sinsityotrofoblast hücreler: Tüm villus yüzeyini kaplayan, çok çekirdekli, hücresel membran bölmeleri olmayan bir hücre tabakasıdır. Sinsisyotrofoblast tabakası, hücresel bölünmeden ziyade hücresel füzyonla oluşur ve süreklilik

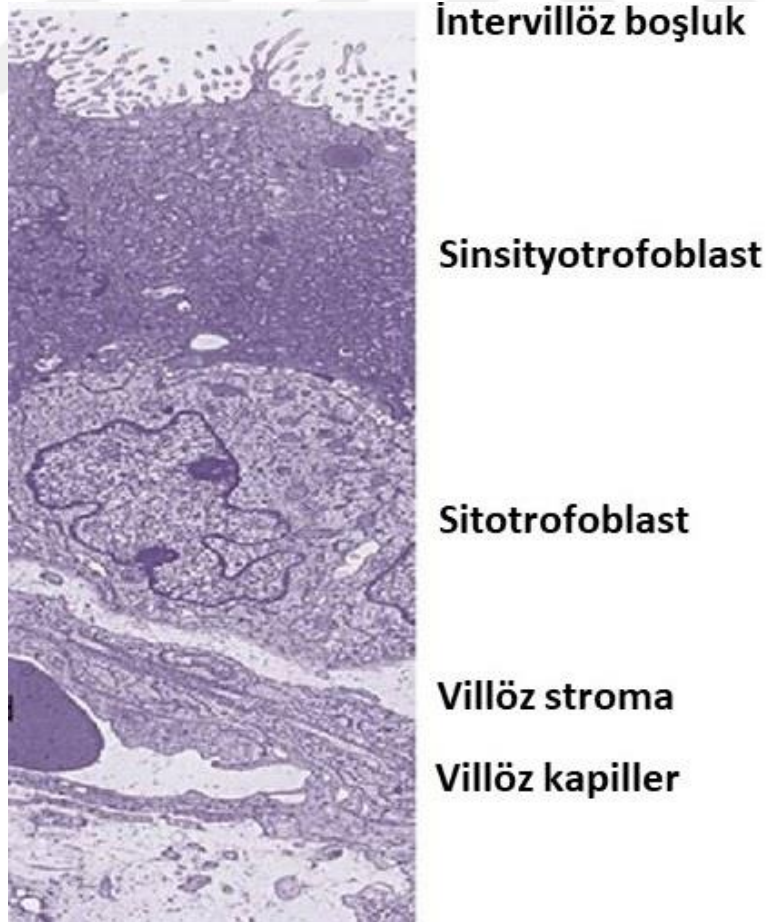
gösteren aselüler bir yapıdır. Bu yapıyı oluşturan hücrelerin sınırları belirgin değildir.

Sitotrofoblast hücreler: Ökromatik, büyük ve oval bir çekirdek içerirler. Sinsityotrofoblastlara göre açık sitoplazmalı ve çok az boya almalarına karşın birbirleriyle füzyon yaparlar.

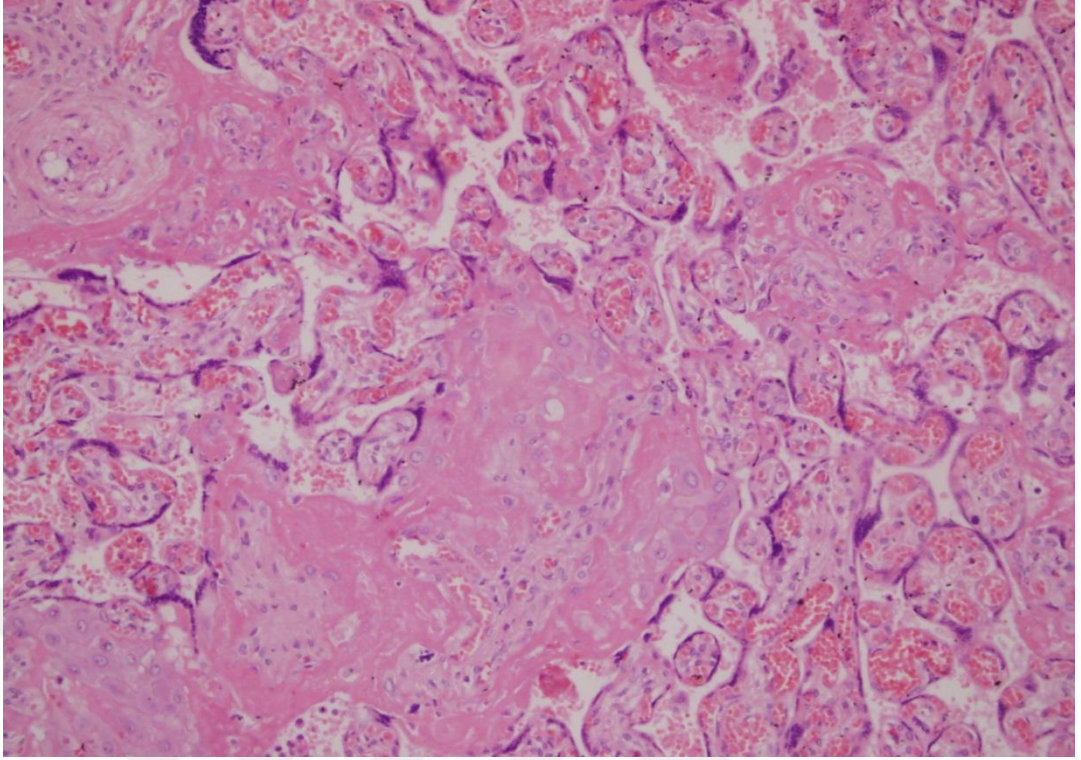
Villöz stromal hücreler: Plasentanın yaşına ve villusun tipine göre farklı stromal hücreler tanımlanmıştır. Bunlar; mezenkim hücreleri, retikulum hücreleri, fibroblastlar, miyofibroblastlar, mast hücreleri ve plazma hücreleridir.

Villöz kapiller hücreler: Stromal yapı içinde içerisinde eritrosit görülmesiyle ayırt edilen endotel hücreleridir.

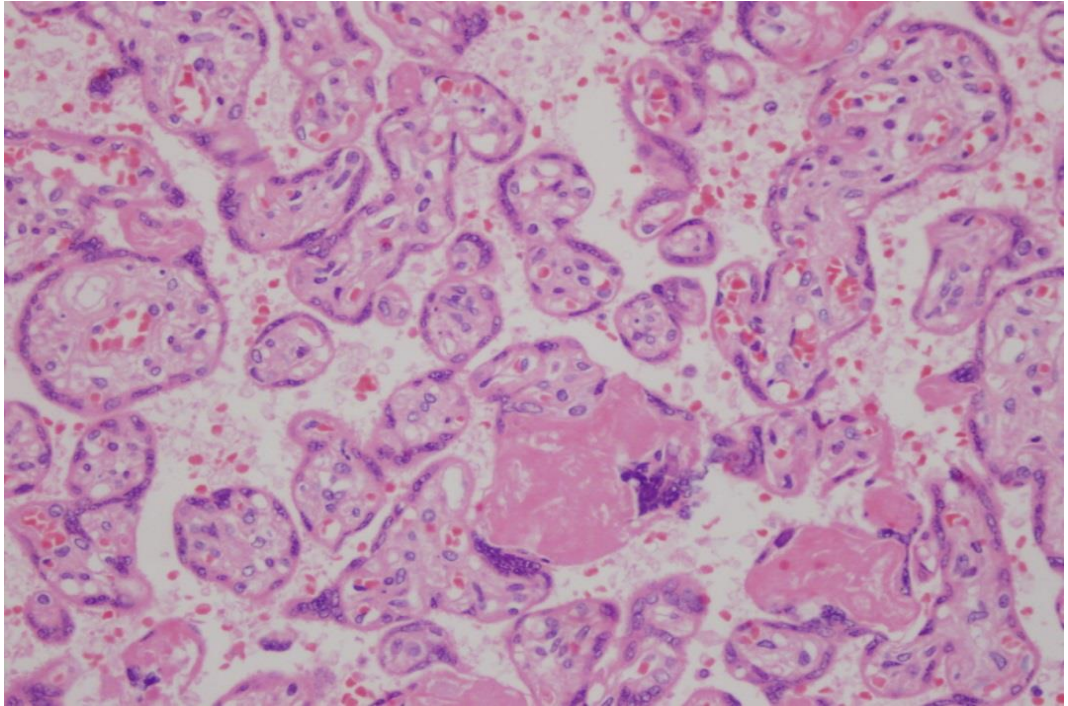
Desidua hücreleri: Stromasında büyük poligonal hücreler olması karakteristik özelliğidir. Bu hücreler epitele benzeyen büyümüş endometrial stromal hücrelerdir.



Resim 1. Plasentanın histopatolojik görüntüsü (286)



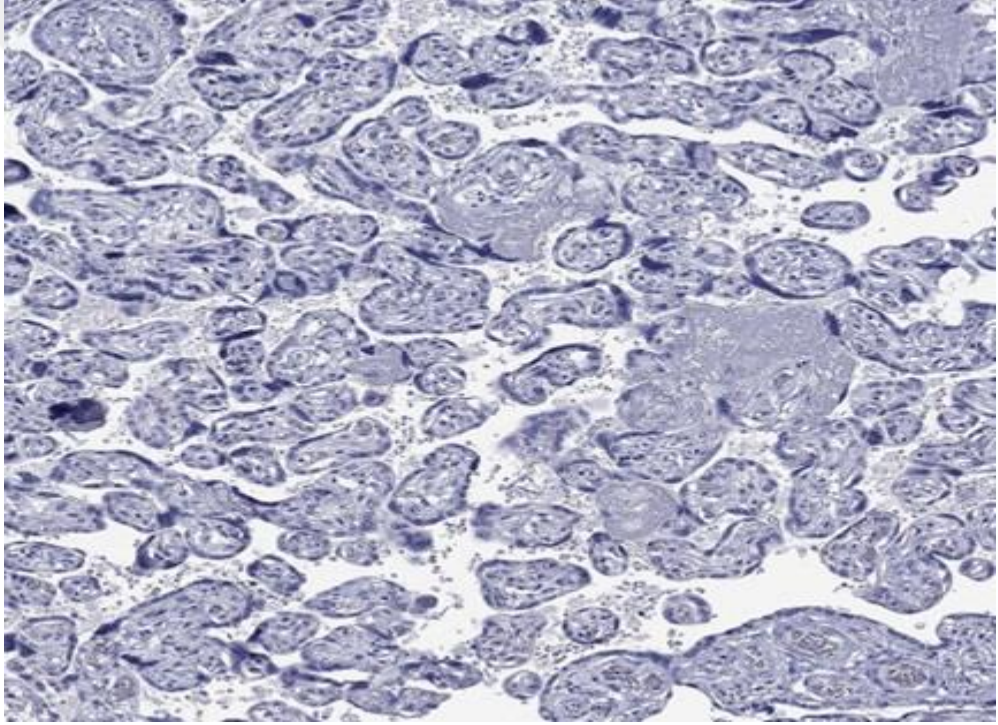
Resim 2. Preeklampsisi olmayan miad gebelik plasentasının (kontrol grubu) histopatolojik görüntüsü



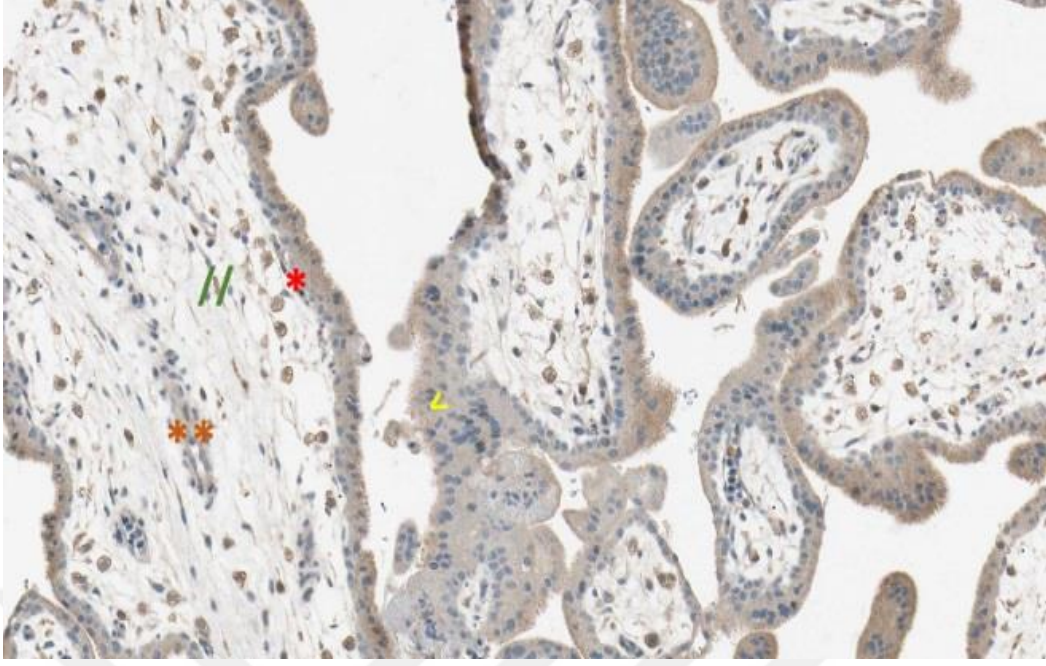
Resim 3: Preeklampsili miad gebelik plasentasının (preeklampsisi grubu) histopatolojik görüntüsü

3.4. İmmünohistokimyasal İnceleme

Ventana BenchMark ULTRA otomatik boyama cihazı (Ventana Medical Systems, Inc.) kullanılarak arşiv olgularına ait kesitlere immünohistokimyasal çalışmalar yapıldı. Bu çalışmada, doku bloklarından 4 mikrometre kalınlığında kesitler, polilizin ile kaplanmış lama alındı. Ardından deparafinize edildi ve sonra immünohistokimyasal boyama basamaklarına geçildi. Çalışmada yer alan 60 gebenin plasenta örnekleri ayrı olarak hem LIF kiti ile hem de VEGF kiti ile immünohistokimyasal olarak boyanarak 120 adet kesit elde edildi.



Resim 4. VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak boyanma izlenmeyen koryonik villuslar



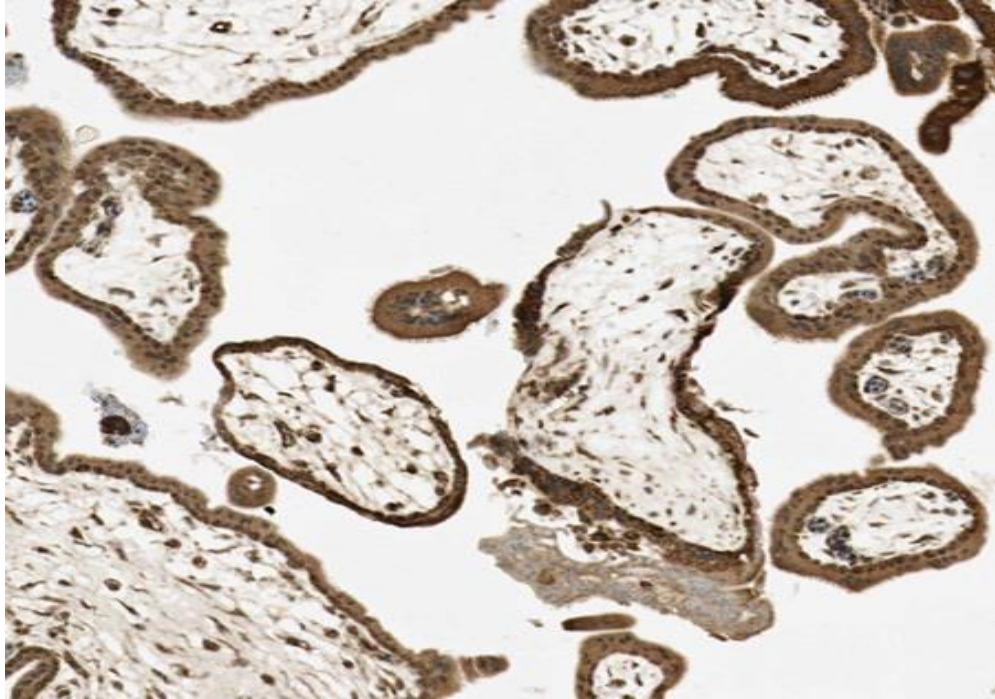
Resim 5. VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak hafif (+1) boyanma izlenen koryonik villuslar

* Sitotrofoblast

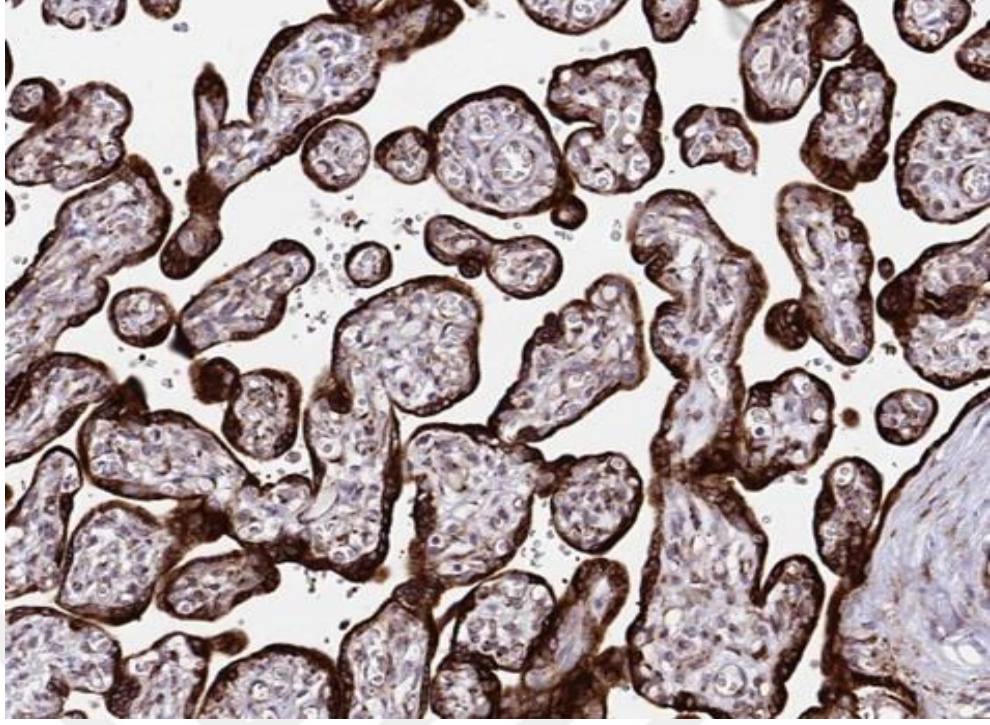
// Villöz stromal hücreler

** Villöz kapiller hücreler

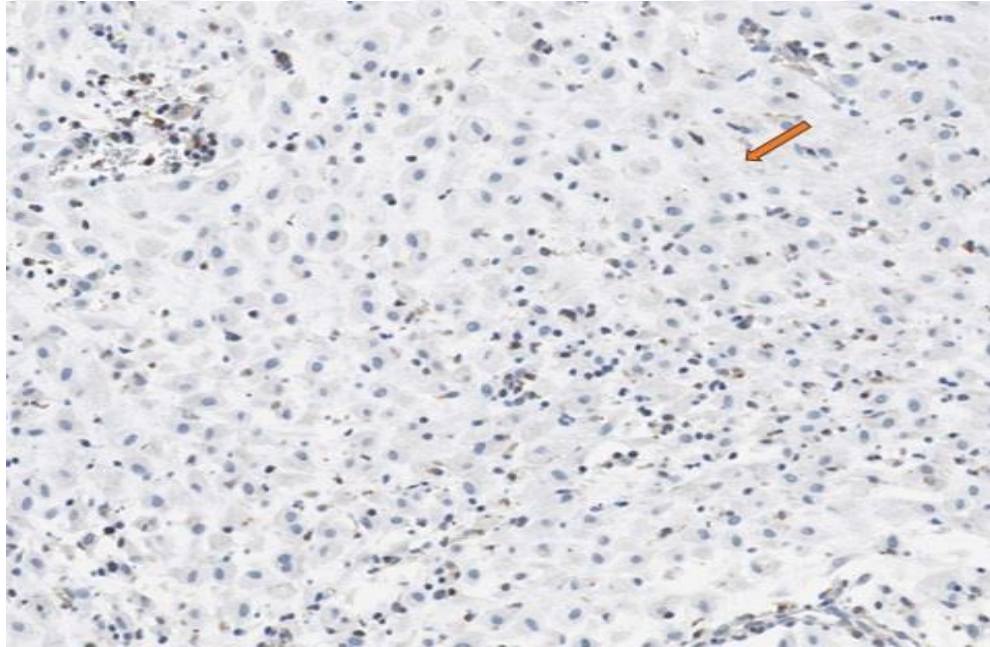
< Sinsityotrofoblast



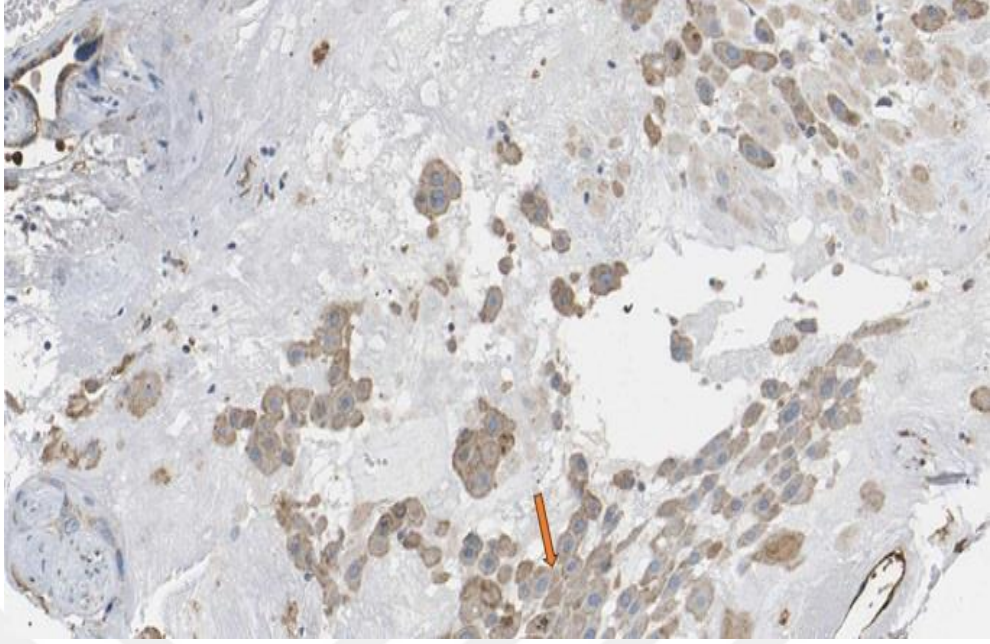
Resim 6. VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak orta (+2) boyanma izlenen koryonik villuslar



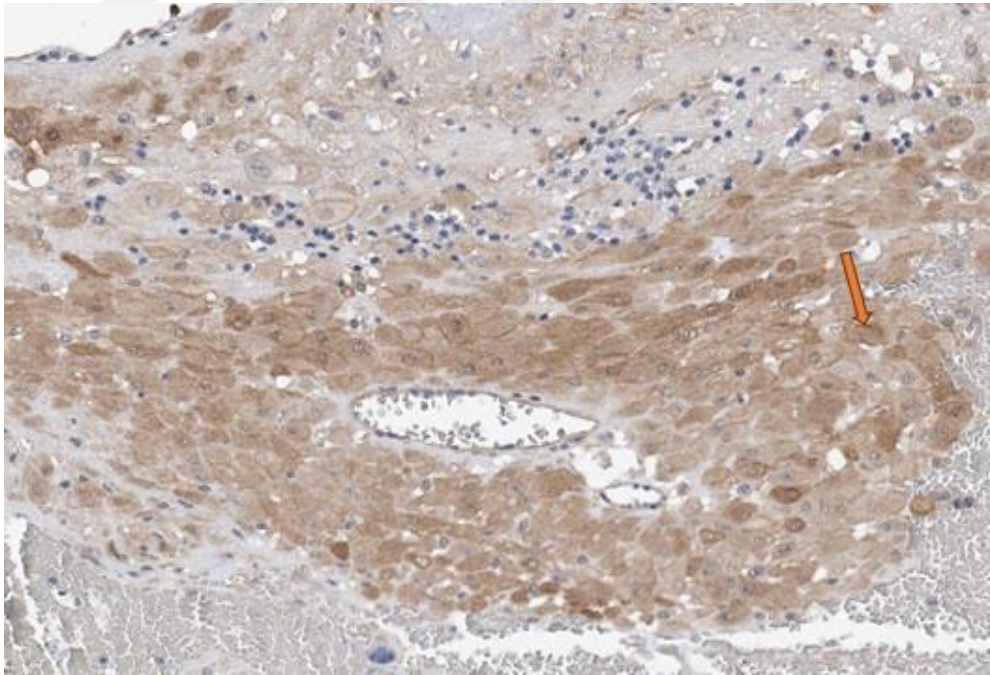
Resim 7. VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak güçlü (+3) boyanma izlenen koryonik villuslar



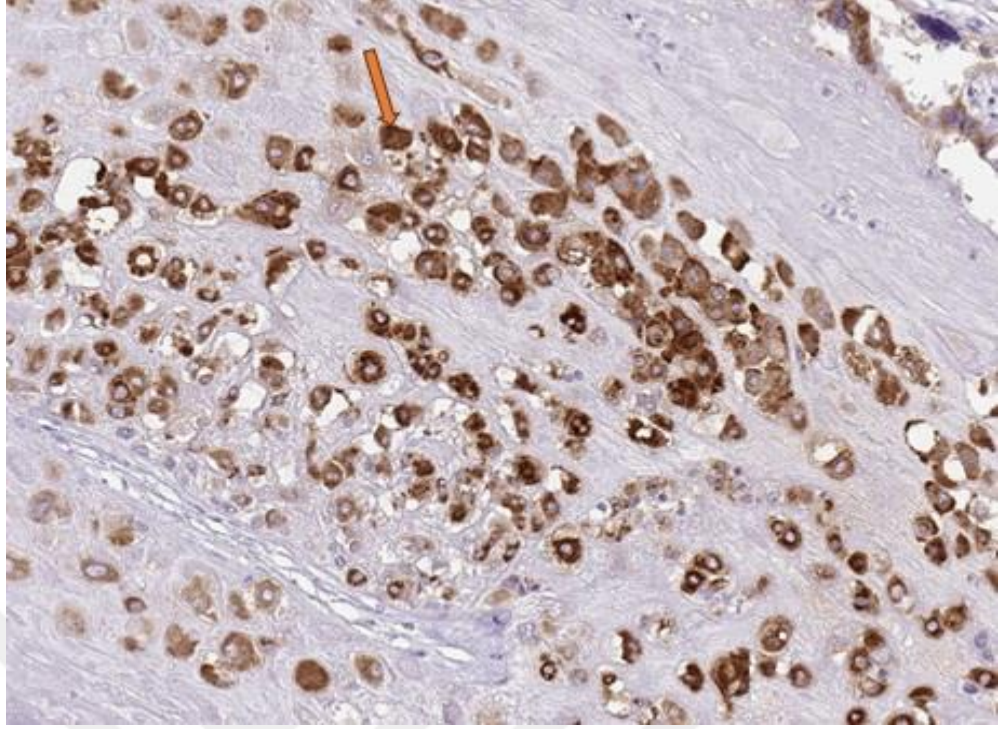
Resim 8. VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak boyanma izlenmeyen desidual hücreler



Resim 9. VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak hafif (+1) boyanma izlenen desidual hücreler



Resim 10. VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak orta (+2) boyanma izlenen desidual hücreler



Resim 11. VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak orta (+2) boyanma izlenen desidual hücreler

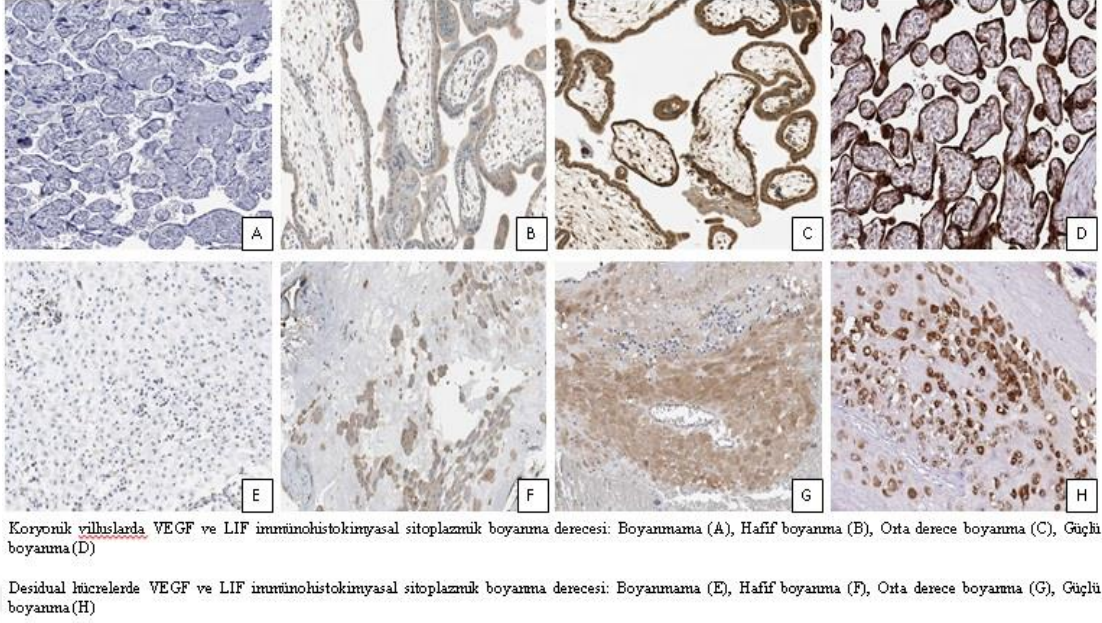
3.5. İmmünohistokimyasal Değerlendirme

İmmünohistokimyasal antikorlarla (LIF, VEGF ayrı ayrı) boyalı kesitler, ışık mikroskopunda (Olympus BX51) değerlendirildi.

Desidual hücreler, sinsityotrofoblastlar, sitotrofoblastlar, villöz stromal hücreler ve villöz kapillerler sitoplazmik boyanma yönünden incelendi.

5 adet 40'lık büyük büyütme alanındaki sitoplazmik boyanma yüzdesi ve boyanma yoğunluğu H skoru kullanılarak semikantitatif olarak değerlendirildi. H skorun hesaplanması için $H \text{ skor} = \sum (P_i \times i)$ denklemini kullanan MS Excel macro dosyası oluşturuldu (287).

P_i boyanan hücrelerin yüzdesini gösteren katsayıyı ve i ise boyanma yoğunluğunu (3+ (Güçlü), 2+ (Orta), 1+ (Zayıf), 0 (Boyanma yok)) ifade etmektedir. Eksternal pozitif kontrol olarak kolon adenokarsinomu kullanıldı.



Resim 12. VEGF ve LIF ile immünohistokimyasal olarak plasental hücrelerin boyanma düzeyleri

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analiz değerlendirmede IBM SPSS Statistics 22.0 version kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmede verilerin normal dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile tespit edildi ve sayısal değişkenlerden normal dağılım sergileyenler ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterildi. Kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde olarak gösterildi.

Preeklampsisi grubu ile kontrol grubu arasında farklılık gösteren risk faktörlerinin tespitinde parametrik sayısal değişkenlerde Student t testi ve normal dağılım göstermeyen değişkenlerde Mann Whitney U testi kullanıldı. Preeklampsisi alt grupları ve kontrol grubu arasında farklılık gösteren risk faktörlerinin tespitinde ise normal dağılım sergileyen sayısal değişkenler ANOVA testi ve Bonferroni düzeltmesi ile ve normal dağılmayan sayısal değişkenler Kruskal Wallis-H testi ile değerlendirildi. Kategorik verilerin kıyaslanmasında Ki-Kare ve Fisher'in kesin Ki-Kare testi kullanıldı. Preeklampsisi öngörmede etkili bağımsız ön gördürücülerin tespitinde stepwise multivariable lojistik regresyon analizi kullanıldı. Preeklampsisi

öngörüsünde kullandığımız parametreler için ROC analizi yapılarak her bir parametre için sensitivite, spesifite, pozitif prediktif ve negatif prediktif değerlerinin hesaplanması için aşağıdaki formüller kullanıldı:

Sensitivite: $\text{gerçek pozitif} / \text{gerçek pozitif} + \text{yanlış negatif} \times 100$

Spesifite: $\text{gerçek negatif} / \text{gerçek negatif} + \text{yanlış pozitif} \times 100$

Pozitif prediktif değer (PPV): $\text{gerçek pozitif} / \text{gerçek pozitif} + \text{yanlış pozitif} \times 100$

Negatif prediktif değer (NPV): $\text{gerçek negatif} / \text{gerçek negatif} + \text{yanlış negatif} \times 100$

İstatistiksel anlamlılık sınırı olarak $p \leq 0.05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

Preeklampsi ve kontrol grubu arası demografik, ultrasonografik ve patolojik parametrelerin karşılaştırılması Tablo 7’de gösterilmiştir. Yaş, gravida ve parite açısından istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmemiştir ($p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$, sırasıyla). Preeklampsi grubunda VKİ ve OAB istatistiksel olarak daha yüksek saptanmıştır ($p<0.05$, $p<0.05$, sırasıyla). Uterin arter pulsatilite indeksleri açısından karşılaştırma yapıldığında preeklampsi grubu ile kontrol grubu arasında sağ uterin arter tarafında istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmiş, sol uterin arter tarafında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlenmemiştir ($p<0.05$, $p>0.05$, sırasıyla). Plasental doku LIF düzeylerinde tüm dokularda (desidual, sinsityotrofoblast, sitotrofoblast, villöz stromal, villöz kapiller) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklılık izlenmiştir ($p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, sırasıyla). Sitotrofoblast ve sinsityotrofoblastlarda LIF düzeyi preeklampsi grubunda daha yüksek iken diğer dokularda (desidual, villöz stromal, villöz kapiller) ise kontrol grubunda daha yüksek tespit edilmiştir. VEGF açısından yapılan karşılaştırmada ise desidual ve villöz kapiller dokular hariç ($p>0.05$, $p>0.05$) diğer tüm dokularda (sinsityotrofoblast, sitotrofoblast, villöz stromal) istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmiştir ($p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, sırasıyla).

Tablo 7. Preeklampsi ve kontrol grupları arasında demografik ve klinik parametrelerin karşılaştırılması

	Preeklampsi Grubu (n=40)	Kontrol Grubu (n=20)	p
Yaş (yıl)	32.6 ± 4.0	31.9 ± 5.9	>0.05*
Gravida	3.0 ± 1.6	3.3 ± 2.1	>0.05
Parite	1.4 ± 1.2	1.5 ± 1.1	>0.05
VKİ (kg/m ²)	33.0 ± 7.0	29.3 ± 2.7	<0.05
OAB (mmHg)	118.7 ± 9.3	90.7 ± 3.9	<0.05*
Sağ uterin arter pulsatilite indeksi	1.5 ± 0.7	1.0 ± 0.2	<0.05
Sol uterin arter pulsatilite indeksi	1.3 ± 0.7	1.0 ± 0.2	>0.05
LIF desidual doku sitoplazmik	5.9 ± 4.3	14.5 ± 6.8	<0.05
LIF sinsityotrofoblast sitoplazmik	69.0 ± 30.4	17.0 ± 7.9	<0.05
LIF sitotrofoblast sitoplazmik	74.1 ± 27.9	13.3 ± 5.8	<0.05
LIF villöz stromal sitoplazmik	6.9 ± 4.7	11.5 ± 5.8	<0.05
LIF villöz kapiller sitoplazmik	3.9 ± 4.0	14.2 ± 8.7	<0.05
VEGF desidual doku sitoplazmik	79.0 ± 29.2	67.4 ± 22.4	>0.05
VEGF sinsityotrofoblast sitoplazmik	126.1 ± 52.3	66.0 ± 19.4	<0.05
VEGF sitotrofoblast sitoplazmik	154.7 ± 48.4	73.2 ± 20.6	<0.05
VEGF villöz stromal sitoplazmik	126.6 ± 62.2	45.8 ± 30.3	<0.05
VEGF villöz kapiller sitoplazmik	133.3 ± 93.3	93.2 ± 25.0	>0.05
VKİ: Vücut kitle indeksi	OAB: Ortalama arteriyel basınç		
LIF: Lökosit inhibitör faktör	VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü		

*: Student-t testi ile analiz yapılmıştır.

Lökosit inhibe edici faktörü (LIF) ile vasküler endotel büyüme faktörünün (VEGF), preeklampsi açısından şiddetli ve şiddetli özellik göstermeyen alt grupların kontrol grubu ile karşılaştırılması Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. Şiddetli özellik gösteren ve göstermeyen preeklampsi ve kontrol gruplarının LIF ve VEGF açısından karşılaştırılması

		Preeklampsi Grubu									
						Kontrol Grubu (n=20)		P			
		Şiddetli özellik gösteren (n=7)		Şiddetli özellik göstermeyen (n=33)				P ₁	P ₂	P ₃	
LIF	Desidual doku	5.7 ± 5.0	6.0 ± 4.2	14.5 ± 6.8	<0.05	<0.05	<0.05				
	Sinsityotrofoblast	62.7 ± 38.8	70.3 ± 28.9	17.0 ± 7.9	<0.05	<0.05	<0.05				
	Sitotrofoblast	75.4 ± 36.9	73.9 ± 26.3	13.3 ± 5.8	<0.05	<0.05	<0.05				
	Villöz stromal	7.0 ± 1.2	6.9 ± 5.2	11.5 ± 5.8	<0.05	<0.05	<0.05				
	Villöz kapiller	4.7 ± 2.9	3.7 ± 4.2	14.2 ± 8.7	<0.05	<0.05	<0.05				
VEGF	Desidual doku	92.7 ± 34.4	76.0 ± 27.7	67.4 ± 22.4	>0.05	>0.05	>0.05				
	Sinsityotrofoblast	142.7 ± 39.9	122.6 ± 54.5	66.0 ± 19.4	<0.05	<0.05	<0.05				
	Sitotrofoblast	177.4 ± 24.0	149.9 ± 51.1	73.2 ± 20.6	<0.05	<0.05	<0.05				
	Villöz stromal	149.4 ± 82.1	121.8 ± 57.6	45.8 ± 30.3	<0.05	<0.05	<0.05				
	Villöz kapiller	138.7 ± 56.5	132.2 ± 100	93.2 ± 25.0	>0.05	>0.05	>0.05				

LIF: Lökosit inhibitör faktör

VEGF: Vasküler endotelyal büyüme faktörü

P₁: Şiddetli özellik gösteren preeklampsi grubu ile şiddetli özellik göstermeyen preeklampsi grubunun karşılaştırılması

P₂: Şiddetli özellik gösteren preeklampsi grubu ile kontrol grubunun karşılaştırılması

P₃: Şiddetli özellik göstermeyen preeklampsi grubu ile kontrol grubunun karşılaştırılması

Her biri için beş ayrı dokuda bakılan sonuçlara göre LIF için, desidual, sinsityotrofoblast, sitotrofoblast, villöz stromal, villöz kapiller sitoplazmalarda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır ($p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, sırasıyla). VEGF sonuçlarında ise üç grupta da VEGF desidual doku ve villöz kapiller dokuda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$, $p>0.05$, sırasıyla). Bununla birlikte VEGF sonuçlarında sinsityotrofoblast, sitotrofoblast ve villöz stromal dokuda preeklampsi alt grupları ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, sırasıyla).

Erken başlangıçlı preeklampsi ve geç başlangıçlı preeklampsinin şiddetli ve şiddetli özellik göstermeyen alt gruplarının kontrol grubu ile LIF ve VEGF düzeyleri açısından karşılaştırılması Tablo 9’da gösterilmiştir.

Tablo 9. Erken başlangıçlı ve geç başlangıçlı preeklampsinin şiddet özelliklerine göre alt gruplarının, kontrol grubu ile LIF ve VEGF açısından karşılaştırılması

		Preeklampsi (n=40)				<i>P</i>								
		Erken Başlangıçlı		Geç Başlangıçlı		Kontrol Grubu (n=20)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8
		Şiddetli Özellikler Gösteren (n=5)	Şiddetli Özellikler Göstermeyen (n=17)	Şiddetli Özellikler Gösteren (n=2)	Şiddetli Özellikler Göstermeyen (n=16)									
LIF	Desidual doku	4.0±2.8	5.3±4.1	10.0±8.4	6.6±4.3	14.5±6.8	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05
	Sinsityotrofoblast	46.2±27.8	73.2±32.5	104.0±33.9	67.3±25.2	17.0±7.9	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05
	Sitotrofoblast	67.4±42.0	79.5±22.0	95.5±0.7	67.8±29.7	13.3±5.8	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
	Villöz stromal	7.0±1.4	7.8±6.4	7.0±1.4	5.9±3.4	11.5±5.8	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05
	Villöz kapiller	4.4±3.0	3.8±5.2	5.5±3.5	3.5±2.9	14.2±8.7	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05
VEGF	Desidual doku	85.4±38.2	66.7±28.4	111.0±18.3	86.0±23.9	67.4±22.4	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
	Sinsityotrofoblast	146.6±47.3	123.7±47.7	133.0±18.3	121.4±62.5	66.0±19.4	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05
	Sitotrofoblast	169.4±18.2	135.5±54.4	197.5±31.8	165.3±43.9	73.2±20.6	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05
	Villöz stromal	136.4±86.7	113.5±62.8	182.0±86.2	130.5±52.1	45.8±30.3	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
	Villöz kapiller	153.4±60.7	143.1±106.0	102.0±25.4	120.6±95.2	93.2±25.0	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

- P₁: Erken başlangıçlı şiddetli preeklampsisi subgrubu ile geç başlangıçlı şiddetli preeklampsisi subgrubu karşılaştırılması
P₂: Erken başlangıçlı şiddetli özellik göstermeyen preeklampsisi subgrubu ile geç başlangıçlı şiddetli özellik göstermeyen preeklampsisi subgrubu karşılaştırılması
P₃: Erken başlangıçlı şiddetli preeklampsisi subgrubu ile geç başlangıçlı şiddetli özellik göstermeyen preeklampsisi subgrubu karşılaştırılması
P₄: Erken başlangıçlı şiddetli özellik göstermeyen preeklampsisi subgrubu ile geç başlangıçlı şiddetli preeklampsisi subgrubu karşılaştırılması
P₅: Erken başlangıçlı şiddetli preeklampsisi subgrubu ile kontrol grubu karşılaştırılması
P₆: Erken başlangıçlı şiddetli özellik göstermeyen preeklampsisi subgrubu ile kontrol grubu karşılaştırılması
P₇: Geç başlangıçlı şiddetli preeklampsisi subgrubu ile kontrol grubu karşılaştırılması
P₈: Geç başlangıçlı şiddetli özellik göstermeyen preeklampsisi subgrubu ile kontrol grubu karşılaştırılması

LIF ve VEGF düzeyleri bu beş grupta (erken şiddetli özellik gösteren, erken şiddetli özellik göstermeyen, geç şiddetli özellik gösteren, geç şiddetli özellik göstermeyen ve kontrol grubu) kendi aralarında istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Erken ve geç başlangıçlı preeklampsisi grupları şiddet açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında tüm dokularda (LIF ve VEGF desidual, sinsityotrofoblast, sitotrofoblast, villöz stromal, villöz kapiller dokular) istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$, $p>0.05$, sırasıyla). Erken başlangıçlı şiddetli preeklampsisi grubu ile kontrol grubu karşılaştırmasında LIF desidual, LIF sitotrofoblast, LIF villöz kapiler ve VEGF sinsityotrofoblast, VEGF sitotrofoblast, VEGF villöz stromal dokularda istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, sırasıyla). Erken başlangıçlı şiddetli olmayan preeklampsisi grubu ile kontrol grubu karşılaştırmasında LIF desidual, LIF sinsityotrofoblast, LIF sitotrofoblast, LIF villöz kapiler ve VEGF sinsityotrofoblast, VEGF sitotrofoblast, VEGF villöz stromal dokularda istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, sırasıyla). Geç başlangıçlı şiddetli preeklampsisi grubu ile kontrol grubu karşılaştırıldığında LIF sinsityotrofoblast, LIF sitotrofoblast ve VEGF villöz stromal dokularda istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, sırasıyla). Geç başlangıçlı şiddetli olmayan preeklampsisi grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında LIF desidual, LIF sinsityotrofoblast, LIF sitotrofoblast, LIF villöz stromal, LIF villöz kapiller ve VEGF sinsityotrofoblast, VEGF sitotrofoblast, VEGF villöz stromal dokularda istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmıştır ($p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, $p<0.05$, sırasıyla).

LIF desidual, LIF sinsityotrofoblast, LIF sitotrofoblast, LIF villöz stromal, LIF villöz kapiller ile VEGF desidual, VEGF sinsityotrofoblast, VEGF sitotrofoblast,

VEGF villöz stromal, VEGF villöz kapiller düzeylerinin ultrasonografik ve klinik bulgularla olan korelasyonu Tablo 10'da değerlendirildi.

Tablo 10. LIF ve VEGF'in plasental dokulardaki düzeylerinin hastaların klinik ve ultrasonografik özellikleriyle korelasyonu

	OAB		Sağ uterin arter PI		Sol uterin arter PI		VKİ	
	r	p	r	p	r	p	r	p
LIF								
Desidual doku	-0.546	<0.01	-0.359	<0.01	-0.246	>0.05	-0.021	>0.05
LIF								
Sinsityotrofoblast	0.679	<0.01	0.342	<0.01	0.321	<0.05	0.116	>0.05
LIF								
Sitotrofoblast	0.736	<0.01	0.270	<0.05	0.280	<0.05	0.183	>0.05
LIF								
Villöz stromal	-0.225	>0.05	0.078	>0.05	0.041	>0.05	-0.143	>0.05
LIF								
Villöz kapiller	-0.515	<0.01	-0.304	<0.05	-0.255	<0.05	-0.166	>0.05
VEGF								
Desidual doku	0.188	>0.05	-0.073	>0.05	-0.168	>0.05	0.047	>0.05
VEGF								
Sinsityotrofoblast	0.603	<0.01	0.139	>0.05	0.096	>0.05	0.228	>0.05
VEGF								
Sitotrofoblast	0.620	<0.01	0.248	>0.05	0.218	>0.05	0.329	<0.05
VEGF								
Villöz stromal	0.506	<0.01	0.003	>0.05	0.093	>0.05	0.262	<0.05
VEGF								
Villöz kapiller	0.155	>0.05	-0.097	>0.05	-0.130	>0.05	-0.120	>0.05

LIF: Lökosit inhibitör faktör

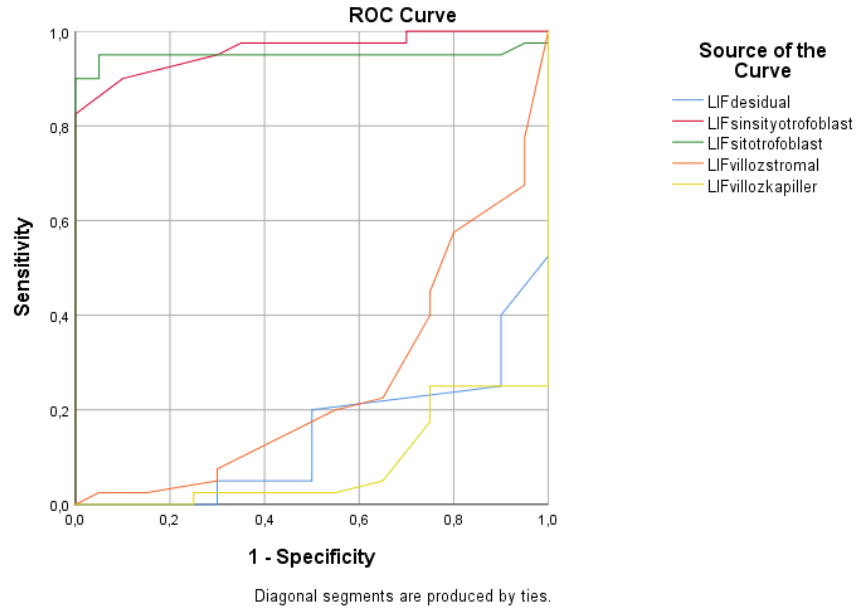
OAB: Ortalama arteriyel basınç

VKİ: Vücut kitle indeksi

VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü

PI: Pulsatilite indeksi

Desidual, sinsityotrofoblast, sitotrofoblast ve villöz kapiller LIF düzeyleri, OAB, sağ ve sol uterin arter PI değerleri ile korelasyon gösterdi ($p<0.01$, $p<0.01$, $p<0.05$, sırasıyla). Ayrıca sinsityotrofoblast, sitotrofoblast ve villöz stromal VEGF düzeyleri ile OAB arasında pozitif korelasyon olduğu görüldü ($p<0.01$). Vücut kitle indeksi ile sitotrofoblast ve villöz stromal dokuların VEGF düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı ($p<0.05$).



Grafik 1. Preeklampsi öngörüsünde plasental hücrelerde LIF için ROC Eğrisi (%95 CI)

Tablo 11. LIF-DE (11 H Skoru), LIF-SİN (27 H Skoru), LIF-SİT (22 H Skoru), LIF-VİST (5.5 H Skoru) ve LIF- VİKA (5.5 H Skoru) seviyelerinin tek parametre olarak kullanıldığında preeklampsi tayinindeki sensitivite, spesifisite, pozitif ve negatif belirleyici değerleri.

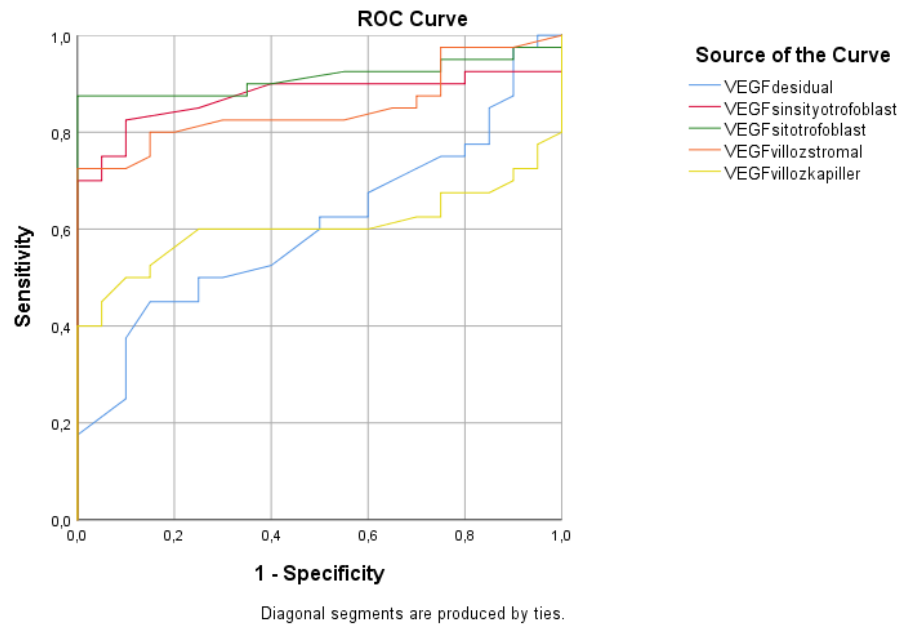
	Sensitivite (%)	Spesifite (%)	PPV (%)	NPV (%)
LIF-DE	80	50	76.2	55.6
LIF-SİN	90	90	94.7	81.8
LIF-SİT	95	95	97.4	90.5
LIF-VİST	42.5	80	80.9	41
LIF-VİKA	75	75	85.7	60

PPV: Pozitif prediktif değer
LIF: Lökosit inhibitör faktör
SİN: Sinsityotrofoblast
VİST: Villöz stromal hücre

NPV: Negatif prediktif değer
DE: Desidual hücre
SİT: Sitotrofoblast
VİKA: Villöz kapiller hücre

Çalışmamızda kullanılan moleküllerden LIF'in preeklampsi öngörüsünde performans değerlendirmeleri sonucunda, en iyi kestirimin sırasıyla LIF sinsityotrofoblast (AUC=0.961; $p<0.05$), LIF sitotrofoblast (AUC=0.949; $p<0.05$), LIF villöz stromal hücre (AUC=0.259; $p<0.05$), LIF desidual hücre (AUC=0.146; $p<0.05$), ve LIF villöz kapiller hücre (AUC=0.085; $p<0.05$) düzeyleri ile

yapılabileceği saptanmıştır. Ayrım gücü bakımından istatistiksel anlamlılık görülmüştür. Moleküllerin öngörü düzeyleri incelendiğinde cut-off değerleri 27, 22, 5.5, 11, 5.5, (sırasıyla) olarak bulunmuştur. Pozitif prediktif değerler (PPV) açısından karşılaştırıldığında en iyi kestirimin sırasıyla LIF sitotrofoblast (%97.4), LIF sinsityotrofoblast (%94.7), LIF villöz kapiller hücre (%85.7), LIF villöz stromal hücre (%80.9) ve LIF desidual hücre (%76.2) düzeyleri ile yapılacağı görülmüştür (Tablo 11).



Grafik 2. Preeklampsii öngörüsünde plasental hücrelerde VEGF için ROC Eğrisi (%95 CI)

Preeklampsii öngörüsü için çalışmamızda kullanılan moleküllerden VEGF'nin performans değerlendirmeleri sonucunda en iyi kestirimin, sırasıyla VEGF sitotrofoblast (AUC=0.913; $p<0.05$), VEGF sinsityotrofoblast (AUC=0.874; $p<0.05$), ve VEGF villöz stromal hücre (AUC=0.852; $p<0.05$) düzeyleri ile yapılabileceği saptanmıştır. Ayrım gücü bakımından istatistiksel anlamlılık görülmüştür. Moleküllerin kestirimleri incelendiğinde cut-off değerleri 98.5, 78.5, 62.5, sırasıyla olarak bulunmuştur. Pozitif prediktif değerler (PPV) açısından karşılaştırıldığında en iyi kestirimin sırasıyla VEGF sitotrofoblast (%97.2), VEGF sinsityotrofoblast

(%94.3), VEGF villöz stromal hücre (%88.9), VEGF villöz kapiller hücre (%82.8) ve VEGF desidual hücre (%72.4) düzeyleri ile yapılacağı görülmüştür (Tablo 12).

Tablo 12. VEGF-DE (77 H Skoru), VEGF-SİN (78.5 H Skoru), VEGF-SİT (98.5 H Skoru), VEGF-VİST (62.5 H Skoru) ve VEGF-VİKA (105 H Skoru) seviyelerinin tek parametre olarak kullanıldığında preeklampsisi tayinindeki sensitivite, spesifisite, pozitif ve negatif belirleyici değerleri.

	Sensitivite (%)	Spesifite (%)	PPV (%)	NPV (%)
VEGF-DE	52.5	40	72.4	38.7
VEGF-SİN	82.5	90	94.3	72
VEGF-SİT	87.5	95	97.2	79.2
VEGF-VİST	80	80	88.9	66.7
VEGF-VİKA	60	75	82.8	48.4

PPV: Pozitif prediktif değer
VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü
SİN: Sinsityotrofoblast
VİST: Villöz stromal hücre

NPV: Negatif prediktif değer
DE: Desidual hücre
SİT: Sitotrofoblast
VİKA: Villöz kapiller hücre

Çalışmamızda kullanılan moleküllerden LIF sinsityotrofoblast ve VEGF sinsityotrofoblast düzeyleri birlikte değerlendirildiğinde preeklampsisi öngörüsü için sensitivitenin %77.5, spesifitenin %95, pozitif prediktif değer (PPV) %96.9 ve negatif prediktif değer (NPV) %67.9 olduğu saptanmıştır. LIF sitotrofoblast ve VEGF sitotrofoblast düzeyleri birlikte değerlendirildiğinde ise sensitivite %82.5, spesifite %100, pozitif prediktif değer (PPV) %100.0 ve negatif prediktif değer (NPV) %74.1 olarak saptanmıştır (Tablo 13).

Tablo 13. LIF-SİN (27 H Skoru) ile VEGF-SİN (78.5 H Skoru) ve LIF-SİT (22 H Skoru) ile VEGF-SİT (98.5 H Skoru) seviyeleri birlikte kullanıldığında preeklampsisi tayinindeki sensitivite, spesifisite, pozitif ve negatif belirleyici değerleri.

	Sensitivite (%)	Spesifite (%)	PPV (%)	NPV (%)
LIF-SİN ve VEGF-SİN	77.5	95	96.9	67.9
LIF-SİT ve VEGF-SİT	82.5	100	100	74.1

VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü
LIF: Lökosit inhibitör faktör
SİN: Sinsityotrofoblast

NPV: Negatif prediktif değer
PPV: Pozitif prediktif değer
SİT: Sitotrofoblast

Tablo 14. LIF-DE (11 H Skoru), LIF-VIST (5.5 H Skoru), VEGF-DE (77 H Skoru) ve VEGF-VIST (62.5 H Skoru) olan olgularda yapılan çoklu lojistik regresyon analizi.

Değişkenler	p	RR	% 95 CI
LIF-DE	0.006	0.573	0.385-0.852*
LIF-VIST	0.227	0.899	0.756-1.069
VEGF-DE	0.526	0.986	0.943-1.031
VEGF-VIST	0.013	1.046	1.009-1.084*
VKI	0.493	1.086	0.858-1.375
*: Anlamlı RR= Relatif risk CI= Güven aralığı LIF: Lökosit inhibitör faktör VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü DE:Desidual hücre VIST: Villöz Stromal Hücre VKİ:Vücut Kitle İndeksi			

Çoklu lojistik regresyon analizinde VKI sabit alınarak LIF-desidual, LIF-villözstromal, VEGF-desidual, VEGF-villözstromal birlikte değerlendirildiğinde LIF-desidual hücre H Skorunun azalışının ve VEGF-villözstromal hücre H Skorunun artışının preeklampsinin belirlenmesinde bağımsız faktörler oldukları gözlemlendi ($p<0.01$, $p<0.05$, sırasıyla) (Tablo 14). LIF-desidual hücre H Skorunun azalışının preeklampsi üzerine 0.573 kat artırıcı, VEGF-villözstromal hücre H Skorunun artışının saptandığı olgularda ise preeklampsi üzerine 1.046 kat artırıcı olduğu saptandı (Tablo 14).

Tablo 15. LIF-DE (11 H Skoru), LIF-VIST (5.5 H Skoru), VEGF-DE (77 H Skoru) ve VEGF-VIST (62.5 H Skoru) olan olgularda yapılan çoklu lojistik regresyon analizi.

Değişkenler	p	RR	% 95 CI
LIF-DE	0.007	0.520	0.324-0.834*
LIF-VIST	0.283	0.896	0.733-1.095
VEGF-DE	0.693	0.989	0.938-1.044
VEGF-VIST	0.009	1.049	1.012-1.088*
Yaş	0.167	0.852	0.679-1.069

*: Anlamlı RR= Relatif risk CI= Güven aralığı
 LIF: Lökosit inhibitör faktör VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü
 DE:Desidal hücre VIST: Villöz Stromal Hücre

Çoklu lojistik regresyon analizinde yaş sabit alınarak LIF-desidual, LIF-villözstromal, VEGF-desidual, VEGF-villözstromal birlikte değerlendirildiğinde LIF-desidual hücre H Skorunun azalışının ve VEGF-villözstromal hücre H Skorunun artışının preeklampsinin belirlenmesinde bağımsız faktörler oldukları gözlemlendi ($p<0.01$, $p<0.01$, sırasıyla). LIF-desidual hücre H Skorunun azalışının preeklampsi üzerine 0.52 kat artırıcı, VEGF-villözstromal hücre H Skorunun artışının ise preeklampsi üzerine 1.049 kat artırıcı olduğu saptandı (Tablo 15).

Tablo 16. LIF-DE (11 H Skoru), LIF-VIST (5.5 H Skoru), LIF-VİKA (5.5 H Skoru), VEGF-DE (77 H Skoru), VEGF-VIST (62.5 H Skoru) ve VEGF-VİKA (105 H Skoru) olan olgularda yapılan çoklu lojistik regresyon analizi.

Değişkenler	p	RR	% 95 CI
LIF-DE	0.047	0.589	0.349-0.993*
LIF-VIST	0.394	0.909	0.731-1.131
LIF-VİKA	0.211	0.842	0.644-1.102
VEGF-DE	0.824	0.994	0.939-1.052
VEGF-VIST	0.055	1.051	0.999-1.107
VEGF-VİKA	0.551	1.006	0.986-1.226
VKI	0.562	1.084	0.826-1.422
*: Anlamlı RR= Relatif risk CI= Güven aralığı LIF: Lökosit inhibitör faktör VEGF: Vasküler endotelial büyüme faktörü DE:Desidal hücre VIST: Villöz Stromal Hücre VİKA: Villöz kapiller hücre VKİ: Vücut Kitle İndeksi			

Çoklu lojistik regresyon analizinde VKİ sabit alınarak LIF-desidual, LIF-villözstromal, LIF-villöz kapiller, VEGF-desidual, VEGF-villözstromal ve VEGF-villöz kapiller hücreler birlikte değerlendirildiğinde LIF-desidual hücre H Skorunun azalışının preeklampsinin belirlenmesinde bağımsız faktör olduğu gözlemlendi ($p<0.05$). LIF-desidual hücre H Skorunun azalışının preeklampsi üzerine 0.589 kat artırıcı, olduğu saptandı (Tablo 16).

5. TARTIŞMA

Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ile lökosit inhibitör faktörün (LIF) preeklampsiyi öngörmeye etkinliğini değerlendirdiğimiz bu çalışmada, erken başlangıçlı ve geç başlangıçlı preeklampside LIF düzeylerini sitotrofoblast ve sinsityotrofoblast hücrelerinde, VEGF düzeylerini ise desidual ve villöz kapiller dokular haricindeki plasental hücrelerde yüksek saptadık. LIF ve VEGF'nin birlikte değerlendirilmesi açısından literatürde ilk olma özelliği taşıyan araştırmamızda şiddetli özellik gösteren ve göstermeyen, erken ve geç başlangıçlı preeklampsi olmak üzere dört alt gruba bakıldığında, sitotrofoblastlardaki LIF düzeyi ile villöz stromal dokudaki VEGF düzeyini, kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış olarak bulduk. Böylece preeklampside LIF ve VEGF'in birlikte yükseldiğini saptadık. Klinik olarak ortalama arteriyel basınç değişiklikleri ile uterin arter pulsatilite indeksi değerlerinin de villöz stromal hücre haricinde LIF düzeyleri ile korelasyon gösterdiğini ortaya koyduk.

Araştırmamızda ortalama arteriyel basınç ve vücut kitle indeksi değerleri bakımından kontrol grubu ile preeklampsi gruplarında anlamlı derecede farklılık saptanmıştır. Bu durum literatür ile uyumlu olarak preeklampside görülen yüksek tansiyon veya bunu tetikleyen obezite gibi risk faktörleri ile ilişkilidir. Yine araştırmamızda; uterin arter pulsatilite indeksi değerlerinin preeklampsi grubunda daha yüksek olması literatür ile uyumlu olarak hastalıkta tansiyon yüksekliğinin bir göstergesidir.

LIF, interleokin 6 (IL-6) ailesindeki pleiotropik bir sitokin olup bağışıklık ve hematopoietik sistemlerdeki rolleri dışında implantasyon sırasında da kritik önemdedir (288). LIF geni açısından knock-out farelerde, embriyonun tutunması sırasında uterus epitelinde LIF ekspresyonunun bulunmamasına bağlı olarak implantasyon başarısızlığı ortaya çıkar ve bu nedenle bu fareler kısırdır (288, 289). İmplantasyon sonrası trofoblastların migrasyon ve invazyonunda hormonlar, büyüme faktörleri ve sitokinler gibi birçok molekülün rolü vardır (290, 291). Embriyo gelişiminin yanı sıra desidual ve plasental farklılaşmayı da destekleyerek gebeliğin oluşmasında önemli bir rol oynar. Hem glandüler hem de

luminal epitel hücreleri, menstrüel siklusun sekretuar/postovulatuvar fazları sırasında, uterusun implantasyona hazırlık dönüşümünü destekleyerek LIF'i eksprese eder. Ayrıca LIF, proliferasyonu, invazyonu ve farklılaşmayı etkileyerek trofoblast davranışını düzenler (292, 293). İmplantasyon başarısızlığı olan infertil kadınlarda LIF düzeylerinde düşüklük gözlemlenmiştir (294). Araştırmamızda preeklampsi grubunda trofoblastlarda LIF düzeyinde istatistiksel olarak belirgin bir artış olduğu saptanmıştır. Plasental hücrelerde desidua, villöz stromal ve villöz kapillerlerde ise kontrol grubuna göre daha az LIF ekspresyonu izlenmiştir.

LIF'in JAK/STAT yolu aracılığıyla LIF reseptörüne bağlanması, eNOS fosforilasyonunu inhibe eden RhoA'yı aktive etmektedir. Bu yolak üzerinden LIF nitrik oksit (NO) miktarının azalmasında önemli bir rol oynamaktadır (278). NO gibi vazodilatörlerin üretiminin bozulması da hipertansiyon ve preeklampsi gibi birçok hastalığın etiopatogenezinde aktif rol oynar (295).

Preeklampsi etiopatogenezinde üzerinde en çok durulan iki temel patoloji yetersiz trofoblastik invazyon ve yaygın endotel hasarıdır. Endotel hasarı daha çok villöz kapiller hücreler ile ilgili görülmekteyken, invazyon kusuru ise trofoblastik hücreler ile daha çok ilişkilidir. LIF'in trofoblast göçü ve invazyonunu teşvik ettiği çalışmalarda gösterilmiştir. Aynı zamanda LIF tarafından aktive edilen başka bir yol ise, hücrenin hayatta kalması ve angiogenez dâhil olmak üzere çeşitli işlemlerde yer alan PI3K/AKT yoludur (28, 279). Hipoksi ile PI3K/AKT yolu aktivasyonu endotel hücrelerinde VEGF ve nitrik oksit ekspresyonunu da artırır. Çalışmalarda preeklampsili gebelerin plasentalarında LIF ekspresyonunun daha fazla olduğu saptanmıştır. Çalışmamızda trofoblast hücrelerinin LIF açısından immünohistokimyasal boyanmasının desidua hücreleri ve villöz kapiller hücrelere göre daha yüksek olması, bu hücrelerde LIF'in daha çok eksprese edildiği yorumunu yaptırabilir. Bu anlamda preeklampside kronik enflamasyon ve hipoksik sürecin LIF ekspresyonunu artırdığını düşünmekteyiz. Çalışmamızda LIF'in endotelial hücrelerde trofoblastik hücrelere göre daha az eksprese edilmiş olması, trofoblastik invazyon kusuru etkisinin endotel hücre hasarı etkisinden daha fazla olduğunu düşündürebilir. Ancak bazı çalışmalarda bizim çalışmamızın sonuçlarından farklı olarak desidua hücrelerinde daha yüksek LIF ekspresyonunun tespit edildiği ifade edilmektedir (267). Önceki bazı çalışmalarla oluşan bu farklılık, plasental hücreler

arasında parakrin yolla meydana gelen moleköl aktarımı sonucu meydana gelmiş olabilir. Çalışmalarda plasentanın doğum sonrasında elde edildiğı, patolojik inceleme için hazırlanana kadar çeşitli süreler geçtiğı göz önüne alındığında, bu parakrin değişimin devam etmesi sonucu hücreler arası farklılıkların ortaya çıkabileceğı düşünölebilir. Çalışmalar arasında hücreler arası farklılıklar olsa da LIF'in preeklampsili gebelerin plasentalarında yüksek düzeyde eksprese edildiğı sonucu ortaktır. LIF, yapılacak yeni çalışmaların da katkısıyla preeklampsisi öngörüsünde bir belirteç rolü üstlenebilir.

LIF ve VEGF gebeliğı devam ettirmek için iki önemli faktördür. VEGF, gebeliğın başında trofoblastların çoğalması ve invazyonunda, plasental anjiyogenezde ve maternal-fetal dolaşımında etkin rol alan spiral arteriollerin gelişiminde önemli bir rol oynar. Preeklampside VEGF gibi anjiyojenik faktörlerin düzeyi azalır. LIF'in azalmış VEGF gen ekspresyonu üzerinde etkisi olduğuna dair kanıtlar mevcuttur (296, 297). LIF'in VEGF gen ekspresyonunun azalması üzerindeki etkisi göz önüne alındığında, LIF'in NO üretimini azaltabileceğı ve dolayısıyla vazodilatasyonu azaltabileceğı varsayılabilir. LIF'in JAK/STAT3 yoluyla LIFR'ye bağlanmasıının ardından eksprese edilen genlerden biri, DNA bağlama 1 (ID1) gen inhibitörüdür. ID1, hücre büyümesi, yaşlanma, farklılaşma ve anjiyogenez gibi çeşitli mekanizmalarda rol oynar (298). Ayrıca yakın zamanda stromal hücre desidualizasyonunda da önemli bir rol oynadığı ve preeklampsisi patogenezinde rol oynayabileceğı gösterilmiştir (299). ID1, ICAM-1 ekspresyonunu artırır ve NF-κB yolunu aktive ederek enflamasyonu indükler (300). Ayrıca VEGF'in aktivasyonuna neden olur (301). Bu nedenle LIF'in ID1 yoluyla VEGF ekspresyonunu ve NO üretimini artırabileceğı varsayılabilir. Çalışmamızda da VEGF ile LIF arasında pozitif korelasyon olması bu bilgi ile örtüşmektedir. LIF, çeşitli sinyal yolları aracılığı ile preeklampsinin ana etiyopatolojik özelliklerinden olan endotel disfonksiyonunu ve enflamatuvar süreçlerin aktivasyonunu etkiler.

Araştırmamızda preeklampsisi alt gruplarını incelediğimizde, şiddetli preeklampsisi ile şiddetli özellik göstermeyen preeklampsisi gruplarında trofoblastların tamamında LIF ve VEGF'i kontrol grubuna göre daha yüksek saptadık. Preeklampsinin etiyopatogenezinde trofoblastların migrasyonunda LIF ve VEGF gibi moleküllerin etkili olduğu önceki birçok çalışmada ortaya çıkarılmıştır.

Çalışmamızda LIF ve VEGF desidual dokularda trofoblastik hücrelere göre daha az saptandı. Bu durum trofoblastik hücrelerin oluşan hipoksik süreçten belki de daha fazla etkilendiğini düşündürülebilir.

Erken başlangıçlı preeklampsisi genellikle plasentasyon bozukluğunun bir göstergesidir. Çoğunlukla anormal uterin arter Doppler bulguları eşlik eder. İntrauterin büyüme kısıtlılığı bu grupta daha sıktır. Fetal ve maternal morbidite ve mortalite geç başlangıçlı gruba göre daha yüksektir (302). Plasental hipoksi, trofoblast yetersiz invazyonu ve aşırı sistemik vasküler enflamasyon erken başlangıçlı preeklampside ana nedenler olarak gözlenmektedir. Geç başlangıçlı preeklampsisi durumunda oksidatif stres altındaki trofoblastlardan antianjiogenik ve enflamatuvar faktörler salınarak maternal dolaşıma karışır. Bu faktörler gebede yaygın endotel hasarına ve sonucunda klinik tabloya neden olur (52, 303). Araştırmamızda preeklampsinin alt gruplarından erken ve geç başlangıçlı gruplar değerlendirildiğinde; LIF düzeylerinin özellikle trofoblastlarda kontrol grubuna göre belirgin farklılık gösterdiğini söyleyebiliriz.

Gruplar kendi içinde şiddet özelliklerine göre sınıflandırıldığında şiddetli geç başlangıçlı preeklampsisi hastalarında LIF, şiddetli olmayan geç başlangıçlı preeklampsisi grubuna göre daha yüksektir. LIF'in hipertansiyona neden olduğu bilindiğinden yüksek LIF ile şiddetli özellik gösteren preeklampsisi olgularında pozitif korelasyon olduğunu söyleyebiliriz. Yine araştırmamızda; ortalama arteriyel basınç, uterin arter pulsatilite indeksi ve vücut kitle indeksi ile LIF arasında korelasyon saptanmış olup, hipertansiyon dolayısıyla LIF'in preeklampsinin şiddeti ile de doğru orantılı olarak bir korelasyon gösterebileceğini söyleyebiliriz.

Araştırmada preeklampsisi alt gruplarına bakıldığında VEGF, erken ve geç başlangıçlı preeklampsili olgularda plasental hücreler arasında sitotrofoblastlarda en yüksek düzeyde tespit edildi.

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler ışığında hem VEGF sinsityotrofoblast, VEGF sitotrofoblast ve VEGF villöz stromal hücre düzeylerinin hem de LIF sinsityotrofoblast ve LIF sitotrofoblast hücre düzeylerinin preeklampsisi öngörüsünde anlamlı olabileceğini saptadık.

Saptanan VEGF sinsityotrofoblast %82.5, VEGF sitotrofoblast %87.5 ve LIF sinsityotrofoblast %90, LIF sitotrofoblast %95 sensitivite oranlarıyla trofoblastik hücrelerde VEGF ve LIF'in preeklampsii öngörüsünde kullanılabileceği yorumu yapılabilir. VEGF ve LIF'in trofoblastik hücre düzeylerinin desidual hücreler, villöz stromal hücre ve villöz kapiller hücre düzeylerinden daha sensitif olması, preeklampsii etiopatogenezinde üzerinde en fazla durulan trofoblast kaynaklı hipotezleri de doğrular niteliktedir.

Bu çalışmada plasental doku hücrelerinin tamamında (desidual hücre, sinsityotrofoblast, sitotrofoblast, villöz stromal hücre ve villöz kapiller hücre) bu moleküllerin çalışılması, konu hakkında daha önceden oluşturulan bilgilere yeni bakış açısı sağlamaktadır. Ayrıca preeklampsii ve alt gruplarında LIF ve VEGF'nin birlikte değerlendirildiği ilk çalışma özeliği göstermektedir. Olgu sayısının sınırlı sayıda olması araştırmanın en zayıf yanıdır. Araştırmamızın bir diğer zayıf yanı ise çalışılan moleküller için sadece plasentanın incelenmiş olması ve bu moleküllerin maternal serum seviyelerinin ölçülmemesidir. Ancak plasental değerlendirmede bulduğumuz anlamlı sonuçların gelecekte preeklampsii öngörüsü ile ilgili yapılacak yeni çalışmalar için yol gösterici olacağını düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

Preeklampside LIF sitotrofoblast, LIF sinsityotrofoblast, VEGF sitotrofoblast ve VEGF sinsityotrofoblast düzeyleri artar. Trofoblastlarda artmış LIF miktarı endotelyal hasar ile ilişkili olabilir. Erken başlangıçlı preeklampside sitotrofoblastlar ile geç başlangıçlı preeklampside sinsityotrofoblastlarda LIF ve VEGF düzeyleri daha fazladır. Preeklampsinin şiddeti ile LIF sitotrofoblast düzeyleri pozitif korelasyon gösterir. LIF ve VEGF'in preeklampsiyi öngörmede tek başına ve birlikte biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Bunun için daha fazla hasta sayısı içeren ve maternal serum LIF ve VEGF seviyelerinin de ölçüldüğü çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Sisti G, Colombi I. New blood pressure cut off for preeclampsia definition: 130/80 mmHg. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2019;240:322-4.
2. Helewa ME, Burrows RF, Smith J, Williams K, Brain P, Rabkin SW. Report of the Canadian Hypertension Society Consensus Conference: 1. Definitions, evaluation and classification of hypertensive disorders in pregnancy. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*. 1997;157(6):715-25.
3. Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. *Obstet Gynecol*. 2020;135(6):e237-e60.
4. Payne B, Magee LA, von Dadelszen P. Assessment, surveillance and prognosis in pre-eclampsia. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2011;25(4):449-62.
5. Magee LA, Pels A, Helewa M, Rey E, von Dadelszen P. Diagnosis, evaluation, and management of the hypertensive disorders of pregnancy: executive summary. *Journal of obstetrics and gynaecology Canada : JOGC = Journal d'obstetrique et gynecologie du Canada : JOGC*. 2014;36(5):416-41.
6. Hauth JC, Ewell MG, Levine RJ, Esterlitz JR, Sibai B, Curet LB, et al. Pregnancy outcomes in healthy nulliparas who developed hypertension. Calcium for Preeclampsia Prevention Study Group. *Obstet Gynecol*. 2000;95(1):24-8.
7. Knuist M, Bonsel GJ, Zondervan HA, Treffers PE. Intensification of fetal and maternal surveillance in pregnant women with hypertensive disorders. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*. 1998;61(2):127-33.
8. Abalos E, Cuesta C, Grosso AL, Chou D, Say L. Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: a systematic review. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2013;170(1):1-7.
9. Finger KR, Mabry-Hernandez I, Ngo-Metzger Q, Wolff T, Steiner CA, Elixhauser A. Delivery hospitalizations involving preeclampsia and eclampsia, 2005–2014: statistical brief# 222. 2017.
10. Hypertension in Pregnancy: Executive Summary. *Obstetrics & Gynecology*. 2013;122(5).
11. Sabbagh-Sequera M, Loidi-García JM, Romero-Vázquez GM. Care plan for women with cesarean section and pre-eclampsia. *Enfermeria Clinica*. 2014;25(1):33-9.
12. Hutcheon JA, Lisonkova S, Joseph KS. Epidemiology of pre-eclampsia and the other hypertensive disorders of pregnancy. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2011;25(4):391-403.
13. Wallis AB, Saftlas AF, Hsia J, Atrash HK. Secular trends in the rates of preeclampsia, eclampsia, and gestational hypertension, United States, 1987-2004. *American journal of hypertension*. 2008;21(5):521-6.
14. Roberts JM, Gammill HS. Preeclampsia: recent insights. *Hypertension*. 2005;46(6):1243-9.
15. Noris M, Perico N, Remuzzi G. Mechanisms of disease: pre-eclampsia. *Nature clinical practice Nephrology*. 2005;1(2):98-114.

16. Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science*. 2005;308(5728):1592-4.
17. Sankaralingam S, Arenas IA, Lalu MM, Davidge ST. Preeclampsia: current understanding of the molecular basis of vascular dysfunction. *Expert reviews in molecular medicine*. 2006;8(3):1-20.
18. Redman CW, Sargent IL. Immunology of pre-eclampsia. *American journal of reproductive immunology*. 2010;63(6):534-43.
19. Borzychowski A, Sargent I, Redman C, editors. *Inflammation and pre-eclampsia*. *Seminars in fetal and neonatal medicine*; 2006: Elsevier.
20. LaMarca BD, Ryan MJ, Gilbert JS, Murphy SR, Granger JP. Inflammatory cytokines in the pathophysiology of hypertension during preeclampsia. *Current hypertension reports*. 2007;9(6):480-5.
21. Murphy SR, LaMarca BBD, Parrish M, Cockrell K, Granger JP. Control of soluble fms-like tyrosine-1 (sFlt-1) production response to placental ischemia/hypoxia: role of tumor necrosis factor- α . *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2013;304(2):R130-R5.
22. Dechend R, Müller DN, Wallukat G, Homuth V, Krause M, Dudenhausen J, et al., editors. *AT1 receptor agonistic antibodies, hypertension, and preeclampsia*. *Seminars in nephrology*; 2004: Elsevier.
23. Ramos JGL, Sass N, Costa SHM. Preeclampsia. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetria*. 2017;39:496-512.
24. Phillips C, Boyd M. Assessment, management, and health implications of early-onset preeclampsia. *Nursing for women's health*. 2016;20(4):400-14.
25. Kolialexi A, Mavreli D, Papantoniou N. Proteomics for early prenatal screening of pregnancy complications: a 2017 perspective. *Expert Review of Proteomics*. 2017;14(2):113-5.
26. Henderson JT, Thompson JH, Burda BU, Cantor A, Beil T, Whitlock EP. Screening for preeclampsia: a systematic evidence review for the US Preventive Services Task Force. 2017.
27. Ferrara N, Houck K, Jakeman L, Leung DW. Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. *Endocrine reviews*. 1992;13(1):18-32.
28. Leung DW, Cachianes G, Kuang W-J, Goeddel DV, Ferrara N. Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*. 1989;246(4935):1306-9.
29. Brogi E, Schatteman G, Wu T, Kim EA, Varticovski L, Keyt B, et al. Hypoxia-induced paracrine regulation of vascular endothelial growth factor receptor expression. *The Journal of clinical investigation*. 1996;97(2):469-76.
30. Ferrara N. The role of vascular endothelial growth factor in pathological angiogenesis. *Breast cancer research and treatment*. 1995;36(2):127-37.
31. Shweiki D, Itin A, Soffer D, Keshet E. Vascular endothelial growth factor induced by hypoxia may mediate hypoxia-initiated angiogenesis. *Nature*. 1992;359(6398):843-5.
32. Sharkey A, Charnock-Jones D, Boock C, Brown K, Smith S. Expression of mRNA for vascular endothelial growth factor in human placenta. *Reproduction*. 1993;99(2):609-15.
33. Clauss M, Gerlach M, Gerlach H, Brett J, Wang F, Familletti P, et al. Vascular permeability factor: a tumor-derived polypeptide that induces endothelial cell and monocyte procoagulant activity, and promotes monocyte migration. *The Journal of experimental medicine*. 1990;172(6):1535-45.

34. Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science*. 1983;219(4587):983-5.
35. Ihle JN. The Stat family in cytokine signaling. *Current opinion in cell biology*. 2001;13(2):211-7.
36. Bowman T, Garcia R, Turkson J, Jove R. STATs in oncogenesis. *Oncogene*. 2000;19(21):2474-88.
37. Poehlmann TG, Fitzgerald JS, Meissner A, Wengenmayer T, Schleussner E, Friedrich K, et al. Trophoblast invasion: tuning through LIF, signalling via Stat3. *Placenta*. 2005;26:S37-S41.
38. Dudley AC, Thomas D, Best J, Jenkins A. A VEGF/JAK2/STAT5 axis may partially mediate endothelial cell tolerance to hypoxia. *Biochemical Journal*. 2005;390(2):427-36.
39. Bartoli M, Gu X, Tsai NT, Venema RC, Brooks SE, Marrero MB, et al. Vascular endothelial growth factor activates STAT proteins in aortic endothelial cells. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(43):33189-92.
40. Chung I, Yelian F, Zaher F, Gonik B, Evans M, Diamond MP, et al. Expression and regulation of vascular endothelial growth factor in a first trimester trophoblast cell line. *Placenta*. 2000;21(4):320-4.
41. Szukiewicz D, PYZLAK M, STANGRET A, BIALOSZEWSKI D, MASLINSKI S. Leukemia Inhibitory Factor (LIF) and Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) diminish intensity of apoptosis in hypoxic human trophoblast: first-trimester versus term trophoblast cultures. *Recent Advances in Clinical Medicine*, WSEAS Press. 2010:145-50.
42. Charkiewicz K, Jasinska E, Goscik J, Koc-Zorawska E, Zorawski M, Kuc P, et al. Angiogenic factor screening in women with mild preeclampsia—New and significant proteins in plasma. *Cytokine*. 2018;106:125-30.
43. Espinoza J, Vidaeff A, Pettker CM, Simhan H. Gestational hypertension and preeclampsia. *Obstetrics and Gynecology*. 2020;135(6):E237-E60.
44. Jung E, Romero R, Yeo L, Gomez-Lopez N, Chaemsaitong P, Jaovisidha A, et al. The etiology of preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2022;226(2):S844-S66.
45. August P, Sibai BM. Preeclampsia: Clinical features and diagnosis. UpToDate Accessed December. 2017;22.
46. August P, Sibai BM, Simpson LL. Hypertensive disorders in pregnancy: Approach to differential diagnosis. Uptodate; 2020.
47. Program NHBPE. Report of the national high blood pressure education program working group on high blood pressure in pregnancy. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2000;183(1):s1-s22.
48. Ramos JGL, Sass N, Costa SHM. Preeclampsia. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia/RBGO Gynecology and Obstetrics*. 2017;39(09):496-512.
49. Wisner K. Gestational hypertension and preeclampsia. *MCN: The American Journal of Maternal/Child Nursing*. 2019;44(3):170.
50. Staff AC. The two-stage placental model of preeclampsia: an update. *Journal of reproductive immunology*. 2019;134:1-10.
51. Burton GJ, Redman CW, RobertsJames M. Moffett Ashley. Pre-eclampsia: pathophysiology and clinical implications *BMJ*. 2019(366):12381.
52. Kucukbas GN, Sanhal CY, Uygur D. Plasma endocan levels in early and late-onset preeclampsia. *Fetal and Pediatric Pathology*. 2021;40(3):214-21.

53. Ni Y, Cheng W. Comparison of indications of pregnancy termination and prognosis of mothers and neonates in early-and late-onset preeclampsia. Hypertension in pregnancy. 2016;35(3):315-22.
54. Sibai B. Publications Committee, Society for Maternal-Fetal Medicine. Evaluation and management of severe pre-eclampsia. Am J Obstet Gynecol. 2011;205:191-8.
55. Churchill D, Duley L, Thornton JG, Moussa M, Ali HS, Walker KF. Interventionist versus expectant care for severe pre-eclampsia between 24 and 34 weeks' gestation. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2018(10).
56. Lees C, Visser GH, Hecher K. Placental-fetal growth restriction: Cambridge University Press; 2018.
57. Reubinoff B, Schenker J. HELLP syndrome—a syndrome of hemolysis, elevated liver enzymes and low platelet count—complicating preeclampsia-eclampsia. International Journal of Gynecology & Obstetrics. 1991;36(2):95-102.
58. Eggerman RS, Sibai BM. HELLP syndrome. Clinical obstetrics and gynecology. 1999;42(2):381-9.
59. Redman C, Jefferies M. Revised definition of pre-eclampsia. The Lancet. 1988;331(8589):809-12.
60. Norwitz ER, Hsu C-D, Repke Jt. Acute complications of preeclampsia. Clinical obstetrics and gynecology. 2002;45(2):308-29.
61. Douglas KA, Redman CW. Eclampsia in the United Kingdom. BMJ (Clinical research ed). 1994;309(6966):1395-400.
62. Schaap TP, van den Akker T, Zwart JJ, van Roosmalen J, Bloemenkamp KWM. A national surveillance approach to monitor incidence of eclampsia: The Netherlands Obstetric Surveillance System. Acta obstetrica et gynecologica Scandinavica. 2019;98(3):342-50.
63. Vousden N, Lawley E, Seed PT, Gidiri MF, Goudar S, Sandall J, et al. Incidence of eclampsia and related complications across 10 low- and middle-resource geographical regions: Secondary analysis of a cluster randomised controlled trial. PLoS medicine. 2019;16(3):e1002775.
64. Sibai BM. Magnesium sulfate prophylaxis in preeclampsia: Lessons learned from recent trials. Am J Obstet Gynecol. 2004;190(6):1520-6.
65. Marra A, Vargas M, Striano P, Del Guercio L, Buonanno P, Servillo G. Posterior reversible encephalopathy syndrome: the endothelial hypotheses. Medical hypotheses. 2014;82(5):619-22.
66. Johnson AC, Tremble SM, Chan SL, Moseley J, LaMarca B, Nagle KJ, et al. Magnesium sulfate treatment reverses seizure susceptibility and decreases neuroinflammation in a rat model of severe preeclampsia. PloS one. 2014;9(11):e113670.
67. Barton JR, Sibai BM. Diagnosis and management of hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets syndrome. Clinics in perinatology. 2004;31(4):807-33.
68. Martin Jr JN, Blake PG, Perry Jr KG, McCaul JF, Hess LW, Martin RW. The natural history of HELLP syndrome: patterns of disease progression and regression. American journal of obstetrics and gynecology. 1991;164(6):1500-13.
69. Sibai BM. The HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets): much ado about nothing? American journal of obstetrics and gynecology. 1990;162(2):311-6.
70. Tomsen TR. HELLP syndrome (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) presenting as generalized malaise. American journal of obstetrics and gynecology. 1995;172(6):1876-80.

71. Audibert F, Friedman SA, Frangieh AY, Sibai BM. Clinical utility of strict diagnostic criteria for the HELLP (hemolysis, elevated liver enzymes, and low platelets) syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 1996;175(2):460-4.
72. Bernstein PS, Martin JN, Barton JR, Shields LE, Druzin ML, Scavone BM, et al. National partnership for maternal safety: consensus bundle on severe hypertension during pregnancy and the postpartum period. *Anesthesia & Analgesia.* 2017;125(2):540-7.
73. Homer CS, Brown MA, Mangos G, Davis GK. Non-proteinuric pre-eclampsia: a novel risk indicator in women with gestational hypertension. *Journal of hypertension.* 2008;26(2):295-302.
74. Pettit F, Brown MA. The management of pre-eclampsia: what we think we know. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* 2012;160(1):6-12.
75. Sibai BM, Stella CL. Diagnosis and management of atypical preeclampsia-eclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology.* 2009;200(5):481. e1-. e7.
76. Magee L, Von Dadelszen P, Bohun C, Rey E, El-Zibdeh M, Stalker S, et al. Serious perinatal complications of non-proteinuric hypertension: an international, multicentre, retrospective cohort study. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada.* 2003;25(5):372-82.
77. Williams D, editor Long-term complications of preeclampsia. *Seminars in nephrology*; 2011: Elsevier.
78. Bramham K, Parnell B, Nelson-Piercy C, Seed PT, Poston L, Chappell LC. Chronic hypertension and pregnancy outcomes: systematic review and meta-analysis. *BMJ (Clinical research ed).* 2014;348.
79. Bateman BT, Bansil P, Hernandez-Diaz S, Mhyre JM, Callaghan WM, Kuklina EV. Prevalence, trends, and outcomes of chronic hypertension: a nationwide sample of delivery admissions. *American journal of obstetrics and gynecology.* 2012;206(2):134. e1-. e8.
80. Sibai BM, Lindheimer M, Hauth J, Caritis S, VanDorsten P, Klebanoff M, et al. Risk factors for preeclampsia, abruptio placentae, and adverse neonatal outcomes among women with chronic hypertension. *National Institute of Child Health and Human Development Network of Maternal-Fetal Medicine Units. The New England journal of medicine.* 1998;339(10):667-71.
81. Ferrer RL, Sibai BM, Mulrow CD, Chiquette E, Stevens KR, Cornell J. Management of mild chronic hypertension during pregnancy: a review. *Obstet Gynecol.* 2000;96(5 Pt 2):849-60.
82. Guedes-Martins L. Superimposed preeclampsia. *Hypertension: from basic research to clinical practice.* 2017:409-17.
83. Masuyama H, Nobumoto E, Okimoto N, Inoue S, Segawa T, Hiramatsu Y. Superimposed preeclampsia in women with chronic kidney disease. *Gynecologic and obstetric investigation.* 2012;74(4):274-81.
84. Jeyabalan A, Larkin MJC. Chronic hypertension in pregnancy: Prenatal and postpartum care.
85. Morton A, Burke M, Jarvis E, Kumar S. Changes in proteinuria and diagnosing preeclampsia in CKD pregnancy. *Pregnancy hypertension.* 2020;20:92-5.
86. Samuel A, Lin C, Parviainen K, Jeyabalan A. Expectant management of preeclampsia superimposed on chronic hypertension. *The journal of maternal-fetal & neonatal medicine : the official journal of the European Association of Perinatal Medicine, the Federation of Asia and Oceania Perinatal Societies, the International Society of Perinatal Obstet.* 2011;24(7):907-11.

87. Vigil-De Gracia P, Lasso M, Montufar-Rueda C. Perinatal outcome in women with severe chronic hypertension during the second half of pregnancy. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*. 2004;85(2):139-44.
88. Chappell LC, Enye S, Seed P, Briley AL, Poston L, Shennan AH. Adverse perinatal outcomes and risk factors for preeclampsia in women with chronic hypertension: a prospective study. *Hypertension*. 2008;51(4):1002-9.
89. Steiner CA, Weiss AJ, Barrett ML, Fingar KR, Davis PH. Trends in bilateral and unilateral mastectomies in hospital inpatient and ambulatory settings, 2005–2013: statistical brief# 201. *Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs*. 2006.
90. Mou AD, Barman Z, Hasan M, Miah R, Hafsa JM, Das Trisha A, et al. Prevalence of preeclampsia and the associated risk factors among pregnant women in Bangladesh. *Scientific Reports*. 2021;11(1):21339.
91. Abalos E, Cuesta C, Grosso AL, Chou D, Say L. Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: a systematic review. *European journal of obstetrics & gynecology and reproductive biology*. 2013;170(1):1-7.
92. Yang Y, Le Ray I, Zhu J, Zhang J, Hua J, Reilly M. Preeclampsia Prevalence, Risk Factors, and Pregnancy Outcomes in Sweden and China. *JAMA Network Open*. 2021;4(5):e218401-e.
93. Lisonkova S, Sabr Y, Mayer C, Young C, Skoll A, Joseph KS. Maternal morbidity associated with early-onset and late-onset preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2014;124(4):771-81.
94. Rana S, Lemoine E, Granger JP, Karumanchi SA. Preeclampsia: pathophysiology, challenges, and perspectives. *Circulation research*. 2019;124(7):1094-112.
95. Boyd P, Lindenbaum R, Redman C. Pre-eclampsia and trisomy 13: a possible association. *The Lancet*. 1987;330(8556):425-7.
96. Cincotta R, Brennecke S. Family history of pre-eclampsia as a predictor for pre-eclampsia in primigravidas. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 1998;60(1):23-7.
97. Maternal CSMYP. fetal genetic factors account for most of familial aggregation of preeclampsia: a population-based Swedish cohort study. *Am J Med Genet A*. 2004;130:365-71.
98. Esplin MS, Fausett MB, Fraser A, Kerber R, Mineau G, Carrillo J, et al. Paternal and maternal components of the predisposition to preeclampsia. *New England Journal of Medicine*. 2001;344(12):867-72.
99. McGinnis R, Consortium F, Steinthorsdottir V, Williams NO, Thorleifsson G, Shooter S, Hjartardottir S, Bumpstead S, Stefansdottir L, Hildyard L, et al Variants in the fetal genome near FLT1 are associated with risk of preeclampsia *Nat Genet*. 2017;49:1255-60.
100. Gray KJ, Kovacheva VP, Mirzakhani H, Bjorntjes AC, Almoguera B, DeWan AT, et al. Gene-centric analysis of preeclampsia identifies maternal association at PLEKHG1. *Hypertension*. 2018;72(2):408-16.
101. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre-eclampsia at antenatal booking: systematic review of controlled studies. *BMJ (Clinical research ed)*. 2005;330(7491):565.
102. Bartsch E, Medcalf KE, Park AL, Ray JG. Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: systematic review and meta-analysis of large cohort studies. *BMJ (Clinical research ed)*. 2016;353:i1753.

103. Todd A, Akhter N, Cairns J-M, Kasim A, Walton N, Ellison A, et al. The pain divide: a cross-sectional analysis of chronic pain prevalence, pain intensity and opioid utilisation in England. *BMJ open*. 2018;8(7):e023391.
104. Young J. The *Ætiology of Eclampsia and Albuminuria and their Relation to Accidental Hæmorrhage:(An Anatomical and Experimental Investigation.)* 1. *Proceedings of the Royal Society of medicine*. 1914;7(Obstet Gynaecol Sect):307.
105. Roberts JM, Redman CW. Pre-eclampsia: more than pregnancy-induced hypertension. *Lancet (London, England)*. 1993;341(8858):1447-51.
106. Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, McFadyen IR, van Asshe A. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. *British journal of obstetrics and gynaecology*. 1994;101(8):669-74.
107. Brosens I, Pijnenborg R, Vercruysse L, Romero R. The "Great Obstetrical Syndromes" are associated with disorders of deep placentation. *Am J Obstet Gynecol*. 2011;204(3):193-201.
108. DeLee J. Theories of eclampsia. *Am J Obstet*. 1905;51:325-30.
109. Loudon I. Some historical aspects of toxæmia of pregnancy. A review. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 1991;98(9):853-8.
110. Williams RC. Periodontal disease. *The New England journal of medicine*. 1990;322(6):373-82.
111. Sanz MJ, Alcaraz MJ. Pharmacological modulation of redox signaling pathways in disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 2020;157:1-2.
112. Velsko IM, Chukkapalli SS, Rivera-Kweh MF, Zheng D, Aukhil I, Lucas AR, et al. Periodontal pathogens invade gingiva and aortic adventitia and elicit inflammasome activation in $\alpha\beta6$ integrin-deficient mice. *Infection and immunity*. 2015;83(12):4582-93.
113. Conde-Agudelo A, Villar J, Lindheimer M. Maternal infection and risk of preeclampsia: Systematic review and metaanalysis. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2008;198(1):7-22.
114. Easter SR, Cantonwine DE, Zera CA, Lim K-H, Parry SI, McElrath TF. Urinary tract infection during pregnancy, angiogenic factor profiles, and risk of preeclampsia. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2016;214(3):387. e1-. e7.
115. Yan L, Jin Y, Hang H, Yan B. The association between urinary tract infection during pregnancy and preeclampsia: A meta-analysis. *Medicine*. 2018;97(36):e12192.
116. Sartelet H, Rogier C, Milko-Sartelet I, Angel G, Michel G. Malaria associated pre-eclampsia in Senegal. *The Lancet*. 1996;347(9008):1121.
117. Carreiras M, Montagnani S, Layrisse Z. Preeclampsia: a multifactorial disease resulting from the interaction of the feto-maternal HLA genotype and HCMV infection. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2002;48(3):176-83.
118. Mattar R, Amed AM, Lindsey PC, Sass N, Daher S. Preeclampsia and HIV infection. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2004;117(2):240-1.
119. Faas MM, Schuiling GA, Baller JFW, Visscher CA, Bakker WW. A new animal model for human preeclampsia: Ultra-lowdose endotoxin infusion in pregnant rats. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1994;171(1):158-64.
120. Somani SS, Richter F, Fuster V, De Freitas JK, Naik N, Sigel K, et al. Characterization of Patients Who Return to Hospital Following Discharge from

Hospitalization for COVID-19. *Journal of General Internal Medicine*. 2020;35(10):2838-44.

121. Nadim MK, Forni LG, Mehta RL, Connor MJ, Liu KD, Ostermann M, et al. COVID-19-associated acute kidney injury: consensus report of the 25th Acute Disease Quality Initiative (ADQI) Workgroup. *Nature Reviews Nephrology*. 2020;16(12):747-64.

122. Rahi MS, Jindal V, Reyes S-P, Gunasekaran K, Gupta R, Jaiyesimi I. Hematologic disorders associated with COVID-19: a review. *Annals of Hematology*. 2021;100(2):309-20.

123. Li J, Fan J-G. Characteristics and mechanism of liver injury in 2019 coronavirus disease. *Journal of clinical and translational hepatology*. 2020;8(1):13.

124. Saviano A, Wrensch F, Ghany MG, Baumert TF. Liver disease and coronavirus disease 2019: from pathogenesis to clinical care. *Hepatology*. 2021;74(2):1088-100.

125. Conde-Agudelo A, Romero R. SARS-CoV-2 infection during pregnancy and risk of preeclampsia: a systematic review and meta-analysis. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2022;226(1):68-89. e3.

126. Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JL. Human gut microbes associated with obesity. *Nature*. 2006;444(7122):1022-3.

127. Jia W, Li H, Zhao L, Nicholson JK. Gut microbiota: a potential new territory for drug targeting. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2008;7(2):123-9.

128. Koren O, Goodrich Julia K, Cullender Tyler C, Spor A, Laitinen K, Kling Bäckhed H, et al. Host Remodeling of the Gut Microbiome and Metabolic Changes during Pregnancy. *Cell*. 2012;150(3):470-80.

129. Kimura I, Miyamoto J, Ohue-Kitano R, Watanabe K, Yamada T, Onuki M, et al. Maternal gut microbiota in pregnancy influences offspring metabolic phenotype in mice. *Science*. 2020;367(6481):eaaw8429.

130. Lisonkova S, Joseph KS. Incidence of preeclampsia: risk factors and outcomes associated with early- versus late-onset disease. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2013;209(6):544.e1-e12.

131. Schneider S, Freerksen N, Röhrig S, Hoeft B, Maul H. Gestational diabetes and preeclampsia – Similar risk factor profiles? *Early Human Development*. 2012;88(3):179-84.

132. Group HSCR. Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome (HAPO) Study: associations with neonatal anthropometrics. *Diabetes*. 2009;58(2):453-9.

133. Sebire NJ, Jolly M, Harris JP, Wadsworth J, Joffe M, Beard RW, et al. Maternal obesity and pregnancy outcome: a study of 287 213 pregnancies in London. *International Journal of Obesity*. 2001;25(8):1175-82.

134. Chaemsaitong P, Leung TY, Sahota D, Cheng YKY, Leung WC, Lo TK, et al. Body mass index at 11–13 weeks' gestation and pregnancy complications in a Southern Chinese population: a retrospective cohort study. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2019;32(12):2056-68.

135. Hotamisligil GS. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*. 2006;444(7121):860-7.

136. Kaur J. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiology research and practice*. 2014;2014.

137. Bakker W, Eringa EC, Sipkema P, van Hinsbergh VWM. Endothelial dysfunction and diabetes: roles of hyperglycemia, impaired insulin signaling and obesity. *Cell and Tissue Research*. 2009;335(1):165-89.

138. Stekkinger E, Scholten R, Van Der Vlugt M, Van Dijk A, Janssen M, Spaanderman M. Metabolic syndrome and the risk for recurrent pre-eclampsia: a retrospective cohort study. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2013;120(8):979-86.
139. Cho GJ, Park JH, Shin S-A, Oh M-J, Seo HS. Metabolic syndrome in the non-pregnant state is associated with the development of preeclampsia. *International Journal of Cardiology*. 2016;203:982-6.
140. Lu Q, Zhang X, Wang Y, Li J, Xu Y, Song X, et al. Sleep disturbances during pregnancy and adverse maternal and fetal outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Sleep Medicine Reviews*. 2021;58:101436.
141. Dalmasso F, Prota R. Snoring: analysis, measurement, clinical implications and applications. *European Respiratory Journal*. 1996;9(1):146-59.
142. Loubé IMD, Poceta JS, Morales MC, Peacock DMM, Mitler MM. Self-reported snoring in pregnancy: association with fetal outcome. *Chest*. 1996;109(4):885-9.
143. Vassilakos P, Riotton G, Kajii T. Hydatidiform mole: two entities: A morphologic and cytogenetic study with some clinical considerations. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1977;127(2):167-70.
144. Soto-Wright V, Bernstein M, Goldstein DP, Berkowitz RS. The changing clinical presentation of complete molar pregnancy. *Obstetrics & Gynecology*. 1995;86(5):775-9.
145. Kohorn EI. Molar Pregnancy: Presentation and Diagnosis. *Clinical Obstetrics and Gynecology*. 1984;27(1).
146. Zilberman Sharon N, Maymon R, Melcer Y, Jauniaux E. Obstetric outcomes of twin pregnancies presenting with a complete hydatidiform mole and coexistent normal fetus: a systematic review and meta-analysis. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2020;127(12):1450-7.
147. John AH, Duncan A. The maternal syndrome associated with hydrops foetalis. *Obstetrical & Gynecological Survey*. 1964;19(4):637-8.
148. Gedikbasi A, Oztarhan K, Gunenc Z, Yildirim G, Arslan O, Yildirim D, et al. Preeclampsia Due to Fetal Non-immune Hydrops: Mirror Syndrome and Review of Literature. *Hypertension in Pregnancy*. 2011;30(3):322-30.
149. Dotters-Katz SK, Hardisty E, Campbell E, Vora N. Trisomy 13-confined placental mosaicism: is there an increased risk of gestational hypertensive disorders? *Prenatal diagnosis*. 2017;37(9):938.
150. Giorgione V, Bhide A, Bhate R, Reed K, Khalil A. Are Twin Pregnancies Complicated by Weight Discordance or Fetal Growth Restriction at Higher Risk of Preeclampsia? *Journal of Clinical Medicine*. 2020;9(10):3276.
151. O'driscoll D. A fluid retention syndrome associated with severe iso-immunization to the rhesus factor. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 1956;63(3):372-4.
152. Kaiser IH. Ballantyne and triple edema. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 1971;110(1):115-20.
153. Rana S, Venkatesha S, DePaepe M, Chien EK, Paglia M, Karumanchi SA. Cytomegalovirus-induced mirror syndrome associated with elevated levels of circulating antiangiogenic factors. *Obstetrics & Gynecology*. 2007;109(2 Part 2):549-52.
154. Brochot C, Collinet P, Provost N, Subtil D. Mirror syndrome due to parvovirus B19 hydrops complicated by severe maternal pulmonary effusion.

Prenatal Diagnosis: Published in Affiliation With the International Society for Prenatal Diagnosis. 2006;26(2):179-80.

155. Braun T, Brauer M, Fuchs I, Czernik C, Dudenhausen JW, Henrich W, et al. Mirror syndrome: a systematic review of fetal associated conditions, maternal presentation and perinatal outcome. *Fetal diagnosis and therapy*. 2010;27(4):191-203.

156. Sherer D, Sadovksy E, Menashe M, Mordel N, Rein A. Fetal ventricular tachycardia associated with nonimmunologic hydrops fetalis. A case report. *The Journal of Reproductive Medicine*. 1990;35(3):292-4.

157. Dong Y, Yuan F, Dai Z, Wang Z, Zhu Y, Wang B. Preeclampsia in systemic lupus erythematosus pregnancy: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Rheumatology*. 2020;39(2):319-25.

158. Saccone G, Berghella V, Maruotti GM, Ghi T, Rizzo G, Simonazzi G, et al. Antiphospholipid antibody profile based obstetric outcomes of primary antiphospholipid syndrome: the PREGNANTS study. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2017;216(5):525. e1-. e12.

159. Lee RM, Brown MA, Branch DW, Ward K, Silver RM. Anticardiolipin and anti- β 2-glycoprotein-I antibodies in preeclampsia. *Obstetrics & Gynecology*. 2003;102(2):294-300.

160. Hayflick L, Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. *Experimental Cell Research*. 1961;25(3):585-621.

161. Martin BJ, Spicer SS. Ultrastructural features of cellular maturation and aging in human trophoblast. *Journal of Ultrastructure Research*. 1973;43(1):133-49.

162. Biron-Shental T, Sukenik-Halevy R, Sharon Y, Goldberg-Bittman L, Kidron D, Fejgin MD, et al. Short telomeres may play a role in placental dysfunction in preeclampsia and intrauterine growth restriction. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2010;202(4):381.e1-.e7.

163. Sultana Z, Maiti K, Dedman L, Smith R. Is there a role for placental senescence in the genesis of obstetric complications and fetal growth restriction? *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2018;218(2, Supplement):S762-S73.

164. Maiti K, Sultana Z, Aitken RJ, Morris J, Park F, Andrew B, et al. Evidence that fetal death is associated with placental aging. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2017;217(4):441.e1-.e14.

165. Gomez-Lopez N, Romero R, Plazyo O, Schwenkel G, Garcia-Flores V, Unkel R, et al. Preterm labor in the absence of acute histologic chorioamnionitis is characterized by cellular senescence of the chorioamniotic membranes. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2017;217(5):592.e1-.e17.

166. Moffett A, Loke C. Immunology of placentation in eutherian mammals. *Nature Reviews Immunology*. 2006;6(8):584-94.

167. Rowe JH, Ertelt JM, Xin L, Way SS. Pregnancy imprints regulatory memory that sustains anergy to fetal antigen. *Nature*. 2012;490(7418):102-6.

168. Colvin RB, Smith RN. Antibody-mediated organ-allograft rejection. *Nature Reviews Immunology*. 2005;5(10):807-17.

169. Robillard P-Y, Dekker G, Chaouat G, Hulsey TC, Saftlas A. Epidemiological studies on primipaternity and immunology in preeclampsia—a statement after twelve years of workshops. *Journal of reproductive immunology*. 2011;89(2):104-17.

170. Robillard P-Y, Dekker G, Chaouat G, Elliot MG, Scioscia M. High incidence of early onset preeclampsia is probably the rule and not the exception worldwide.

20th anniversary of the reunion workshop. A summary. *Journal of Reproductive Immunology*. 2019;133:30-6.

171. Okoror CE, Enabudoso EJ, Okoror OT, Okonkwo CA. Serum calcium-magnesium ratio in women with pre-eclampsia at a tertiary hospital in Nigeria. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*. 2020;149(3):354-8.

172. Landau E, Amar L, editors. Primary aldosteronism and pregnancy. *Annales d'endocrinologie*; 2016: Elsevier.

173. Quartermaine G, Lambert K, Rees K, Seed P, Dhanjal M, Knight M, et al. Hormone-secreting adrenal tumours cause severe hypertension and high rates of poor pregnancy outcome; a UK Obstetric Surveillance System study with case control comparisons. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2018;125(6):719-27.

174. Moore-Maxwell CA, Robboy SJ. Placental site trophoblastic tumor arising from antecedent molar pregnancy. *Gynecologic oncology*. 2004;92(2):708-12.

175. Matsuo K, Kooshesh S, Dinc M, Sun CC, Kimura T, Baschat AA. Late postpartum eclampsia: report of two cases managed by uterine curettage and review of the literature. *Am J Perinatol*. 2007;24(4):257-66.

176. Goel A, Maski MR, Bajracharya S, Wenger JB, Zhang D, Salahuddin S, et al. Epidemiology and Mechanisms of De Novo and Persistent Hypertension in the Postpartum Period. *Circulation*. 2015;132(18):1726-33.

177. Ditisheim A, Sibai B, Tatevian N. Placental Findings in Postpartum Preeclampsia: A Comparative Retrospective Study. *Am J Perinatol*. 2020;37(12):1217-22.

178. Pijnenborg R, Vercruysse L, Hanssens M. The uterine spiral arteries in human pregnancy: facts and controversies. *Placenta*. 2006;27(9-10):939-58.

179. Kaufmann P, Black S, Huppertz B. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. *Biology of reproduction*. 2003;69(1):1-7.

180. Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *J Clin Invest*. 1997;99(9):2152-64.

181. Ilekis JV, Reddy UM, Roberts JM. Preeclampsia--a pressing problem: an executive summary of a National Institute of Child Health and Human Development workshop. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif)*. 2007;14(6):508-23.

182. Huppertz B. Placental origins of preeclampsia: challenging the current hypothesis. *Hypertension*. 2008;51(4):970-5.

183. Cross JC, Werb Z, Fisher SJ. Implantation and the placenta: key pieces of the development puzzle. *Science*. 1994;266(5190):1508-18.

184. Lim KH, Zhou Y, Janatpour M, McMaster M, Bass K, Chun SH, et al. Human cytotrophoblast differentiation/invasion is abnormal in pre-eclampsia. *The American journal of pathology*. 1997;151(6):1809-18.

185. Zhou Y, Gormley MJ, Hunkapiller NM, Kapidzic M, Stolyarov Y, Feng V, et al. Reversal of gene dysregulation in cultured cytotrophoblasts reveals possible causes of preeclampsia. *J Clin Invest*. 2013;123(7):2862-72.

186. Gormley M, Ona K, Kapidzic M, Garrido-Gomez T, Zdravkovic T, Fisher SJ. Preeclampsia: novel insights from global RNA profiling of trophoblast subpopulations. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;217(2):200.e1-.e17.

187. Makris A, Thornton C, Thompson J, Thomson S, Martin R, Ogle R, et al. Uteroplacental ischemia results in proteinuric hypertension and elevated sFLT-1. *Kidney international*. 2007;71(10):977-84.
188. Casper FW, Seufert RJ. Atrial natriuretic peptide (ANP) in preeclampsia-like syndrome in a rat model. *Experimental and clinical endocrinology & diabetes : official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*. 1995;103(5):292-6.
189. Dekker GA. Risk factors for preeclampsia. *Clin Obstet Gynecol*. 1999;42(3):422-35.
190. Palmer SK, Moore LG, Young D, Cregger B, Berman JC, Zamudio S. Altered blood pressure course during normal pregnancy and increased preeclampsia at high altitude (3100 meters) in Colorado. *Am J Obstet Gynecol*. 1999;180(5):1161-8.
191. Robertson WB, Brosens I, Dixon HG. The pathological response of the vessels of the placental bed to hypertensive pregnancy. *The Journal of pathology and bacteriology*. 1967;93(2):581-92.
192. Brosens IA, Robertson WB, Dixon HG. The role of the spiral arteries in the pathogenesis of preeclampsia. *Obstetrics and gynecology annual*. 1972;1:177-91.
193. Khong TY, De Wolf F, Robertson WB, Brosens I. Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by pre-eclampsia and by small-for-gestational age infants. *British journal of obstetrics and gynaecology*. 1986;93(10):1049-59.
194. Salafia CM, Pezzullo JC, Ghidini A, Lopèz-Zeno JA, Whittington SS. Clinical correlations of patterns of placental pathology in preterm pre-eclampsia. *Placenta*. 1998;19(1):67-72.
195. Wang X, Athayde N, Trudinger B. A proinflammatory cytokine response is present in the fetal placental vasculature in placental insufficiency. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;189(5):1445-51.
196. Myatt L, Webster RP. Vascular biology of preeclampsia. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2009;7(3):375-84.
197. Garrido-Gomez T, Dominguez F, Quiñonero A, Diaz-Gimeno P, Kapidzic M, Gormley M, et al. Defective decidualization during and after severe preeclampsia reveals a possible maternal contribution to the etiology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2017;114(40):E8468-e77.
198. Rabaglino MB, Conrad KP. Evidence for shared molecular pathways of dysregulated decidualization in preeclampsia and endometrial disorders revealed by microarray data integration. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2019;33(11):11682-95.
199. Sahu MB, Deepak V, Gonzales SK, Rimawi B, Watkins KK, Smith AK, et al. Decidual cells from women with preeclampsia exhibit inadequate decidualization and reduced sFlt1 suppression. *Pregnancy hypertension*. 2019;15:64-71.
200. Robillard PY, Hulsey TC, Périanin J, Janky E, Miri EH, Papiernik E. Association of pregnancy-induced hypertension with duration of sexual cohabitation before conception. *Lancet (London, England)*. 1994;344(8928):973-5.
201. Smith GN, Walker M, Tessier JL, Millar KG. Increased incidence of preeclampsia in women conceiving by intrauterine insemination with donor versus partner sperm for treatment of primary infertility. *Am J Obstet Gynecol*. 1997;177(2):455-8.

202. Saftlas AF, Rubenstein L, Prater K, Harland KK, Field E, Triche EW. Cumulative exposure to paternal seminal fluid prior to conception and subsequent risk of preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 2014;101-102:104-10.
203. Masoudian P, Nasr A, de Nanassy J, Fung-Kee-Fung K, Bainbridge SA, El Demellawy D. Oocyte donation pregnancies and the risk of preeclampsia or gestational hypertension: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2016;214(3):328-39.
204. Giannakou K, Evangelou E, Papatheodorou SI. Genetic and non-genetic risk factors for pre-eclampsia: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies. *Ultrasound in obstetrics & gynecology : the official journal of the International Society of Ultrasound in Obstetrics and Gynecology.* 2018;51(6):720-30.
205. Gleicher N. Why much of the pathophysiology of preeclampsia-eclampsia must be of an autoimmune nature. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;196(1):5.e1-7.
206. Loke YW, King A. Immunology of implantation. *Bailliere's best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology.* 2000;14(5):827-37.
207. Santner-Nanan B, Peek MJ, Khanam R, Richarts L, Zhu E, Fazekas de St Groth B, et al. Systemic increase in the ratio between Foxp3+ and IL-17-producing CD4+ T cells in healthy pregnancy but not in preeclampsia. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950).* 2009;183(11):7023-30.
208. Xia Y, Wen H, Bobst S, Day MC, Kellems RE. Maternal autoantibodies from preeclamptic patients activate angiotensin receptors on human trophoblast cells. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation.* 2003;10(2):82-93.
209. Thway TM, Shlykov SG, Day MC, Sanborn BM, Gilstrap LC, 3rd, Xia Y, et al. Antibodies from preeclamptic patients stimulate increased intracellular Ca²⁺ mobilization through angiotensin receptor activation. *Circulation.* 2004;110(12):1612-9.
210. Zhou CC, Ahmad S, Mi T, Abbasi S, Xia L, Day MC, 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):1010-9.
211. Lachmeijer AM, Dekker GA, Pals G, Aarnoudse JG, ten Kate LP, Arngrímsson R. Searching for preeclampsia genes: the current position. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology.* 2002;105(2):94-113.
212. Lie RT, Rasmussen S, Brunborg H, Gjessing HK, Lie-Nielsen E, Irgens LM. Fetal and maternal contributions to risk of pre-eclampsia: population based study. *BMJ (Clinical research ed).* 1998;316(7141):1343-7.
213. Skjaerven R, Vatten LJ, Wilcox AJ, Rønning T, Irgens LM, Lie RT. Recurrence of pre-eclampsia across generations: exploring fetal and maternal genetic components in a population based cohort. *BMJ (Clinical research ed).* 2005;331(7521):877.
214. van Dijk M, Mulders J, Poutsma A, Könst AA, Lachmeijer AM, Dekker GA, et al. Maternal segregation of the Dutch preeclampsia locus at 10q22 with a new member of the winged helix gene family. *Nature genetics.* 2005;37(5):514-9.
215. Esplin MS, Fausett MB, Fraser A, Kerber R, Mineau G, Carrillo J, et al. Paternal and maternal components of the predisposition to preeclampsia. *The New England journal of medicine.* 2001;344(12):867-72.
216. Tuohy JF, James DK. Pre-eclampsia and trisomy 13. *British journal of obstetrics and gynaecology.* 1992;99(11):891-4.

217. van Dijk M, Thulluru HK, Mulders J, Michel OJ, Poutsma A, Windhorst S, et al. HELLP babies link a novel lincRNA to the trophoblast cell cycle. *J Clin Invest.* 2012;122(11):4003-11.
218. Jim B, Karumanchi SA, editors. Preeclampsia: pathogenesis, prevention, and long-term complications. *Seminars in nephrology*; 2017: Elsevier.
219. Paré E, Parry S, McElrath TF, Pucci D, Newton A, Lim KH. Clinical risk factors for preeclampsia in the 21st century. *Obstet Gynecol.* 2014;124(4):763-70.
220. Zera CA, Seely EW, Wilkins-Haug LE, Lim KH, Parry SI, McElrath TF. The association of body mass index with serum angiogenic markers in normal and abnormal pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.* 2014;211(3):247.e1-7.
221. Johnson KM, Hacker MR, Thornton K, Young BC, Modest AM. Association between in vitro fertilization and ischemic placental disease by gestational age. *Fertil Steril.* 2020;114(3):579-86.
222. Moreno-Sepulveda J, Checa MA. Correction to: Risk of adverse perinatal outcomes after oocyte donation: a systematic review and meta-analysis. *Journal of assisted reproduction and genetics.* 2020;37(1):239.
223. Redman CW, Sargent IL. Latest advances in understanding preeclampsia. *Science.* 2005;308(5728):1592-4.
224. Hartley JD, Ferguson BJ, Moffett A. The role of shed placental DNA in the systemic inflammatory syndrome of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2015;213(3):268-77.
225. Conde-Agudelo A, Villar J, Lindheimer M. Maternal infection and risk of preeclampsia: systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198(1):7-22.
226. Granger JP, Alexander BT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of pregnancy-induced hypertension. *American journal of hypertension.* 2001;14(6 Pt 2):178s-85s.
227. AbdAlla S, Lothar H, el Massiery A, Quitterer U. Increased AT(1) receptor heterodimers in preeclampsia mediate enhanced angiotensin II responsiveness. *Nature medicine.* 2001;7(9):1003-9.
228. Zhou CC, Zhang Y, Irani RA, Zhang H, Mi T, Popek EJ, et al. Angiotensin receptor agonistic autoantibodies induce pre-eclampsia in pregnant mice. *Nature medicine.* 2008;14(8):855-62.
229. Lynch AM, Murphy JR, Byers T, Gibbs RS, Neville MC, Giclas PC, et al. Alternative complement pathway activation fragment Bb in early pregnancy as a predictor of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198(4):385.e1-9.
230. Buyon JP, Kim MY, Guerra MM, Laskin CA, Petri M, Lockshin MD, et al. Predictors of Pregnancy Outcomes in Patients With Lupus: A Cohort Study. *Ann Intern Med.* 2015;163(3):153-63.
231. Girardi G, Berman J, Redecha P, Spruce L, Thurman JM, Kraus D, et al. Complement C5a receptors and neutrophils mediate fetal injury in the antiphospholipid syndrome. *J Clin Invest.* 2003;112(11):1644-54.
232. Vaught AJ, Braunstein EM, Jasem J, Yuan X, Makhlin I, Eloundou S, et al. Germline mutations in the alternative pathway of complement predispose to HELLP syndrome. *JCI insight.* 2018;3(6).
233. Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180(2 Pt 1):499-506.

234. Roberts JM, Taylor RN, Goldfien A. Clinical and biochemical evidence of endothelial cell dysfunction in the pregnancy syndrome preeclampsia. *American journal of hypertension*. 1991;4(8):700-8.
235. Young BC, Levine RJ, Karumanchi SA. Pathogenesis of preeclampsia. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2010;5:173-92.
236. Friedman SA, Schiff E, Emeis JJ, Dekker GA, Sibai BM. Biochemical corroboration of endothelial involvement in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1995;172(1 Pt 1):202-3.
237. Taylor RN, Crombleholme WR, Friedman SA, Jones LA, Casal DC, Roberts JM. High plasma cellular fibronectin levels correlate with biochemical and clinical features of preeclampsia but cannot be attributed to hypertension alone. *Am J Obstet Gynecol*. 1991;165(4 Pt 1):895-901.
238. McCarthy AL, Woolfson RG, Raju SK, Poston L. Abnormal endothelial cell function of resistance arteries from women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 1993;168(4):1323-30.
239. Pascoal IF, Lindheimer MD, Nalbantian-Brandt C, Umans JG. Preeclampsia selectively impairs endothelium-dependent relaxation and leads to oscillatory activity in small omental arteries. *J Clin Invest*. 1998;101(2):464-70.
240. Roberts JM, Edep ME, Goldfien A, Taylor RN. Sera from preeclamptic women specifically activate human umbilical vein endothelial cells in vitro: morphological and biochemical evidence. *American journal of reproductive immunology (New York, NY : 1989)*. 1992;27(3-4):101-8.
241. Chambers JC, Fusi L, Malik IS, Haskard DO, De Swiet M, Kooner JS. Association of maternal endothelial dysfunction with preeclampsia. *Jama*. 2001;285(12):1607-12.
242. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nature medicine*. 2003;9(6):669-76.
243. Haggstrom M. Medical gallery of mikael haggstrom 2014. *WikiJournal of Medicine*. 2014;1(2):1-53.
244. Hicklin DJ, Ellis LM. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2005;23(5):1011-27.
245. Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *The American journal of pathology*. 1995;146(5):1029-39.
246. Eliceiri BP, Paul R, Schwartzberg PL, Hood JD, Leng J, Chersesh DA. Selective requirement for Src kinases during VEGF-induced angiogenesis and vascular permeability. *Molecular cell*. 1999;4(6):915-24.
247. Pepper MS, Montesano R. Proteolytic balance and capillary morphogenesis. *Cell differentiation and development : the official journal of the International Society of Developmental Biologists*. 1990;32(3):319-27.
248. Zucker S, Mirza H, Conner CE, Lorenz AF, Drews MH, Bahou WF, et al. Vascular endothelial growth factor induces tissue factor and matrix metalloproteinase production in endothelial cells: conversion of prothrombin to thrombin results in progelatinase A activation and cell proliferation. *International journal of cancer*. 1998;75(5):780-6.
249. Ferrara N, Carver-Moore K, Chen H, Dowd M, Lu L, O'Shea KS, et al. Heterozygous embryonic lethality induced by targeted inactivation of the VEGF gene. *Nature*. 1996;380(6573):439-42.

250. Carmeliet P, Jain RK. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*. 2011;473(7347):298-307.
251. Hagberg CE, Mehlem A, Falkevall A, Muhl L, Fam BC, Orsäter H, et al. Targeting VEGF-B as a novel treatment for insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 2012;490(7420):426-30.
252. Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2002;20(21):4368-80.
253. Ferrara N, Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor. *Endocr Rev*. 1997;18(1):4-25.
254. Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, et al. Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia. *J Clin Invest*. 2003;111(5):649-58.
255. Vuorela P, Helske S, Hornig C, Alitalo K, Weich H, Halmesmäki E. Amniotic fluid--soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 in preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 2000;95(3):353-7.
256. Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, et al. Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia. *The New England journal of medicine*. 2004;350(7):672-83.
257. Vogtmann R, Heupel J, Herse F, Matin M, Hagmann H, Bendix I, et al. Circulating Maternal sFLT1 (Soluble fms-Like Tyrosine Kinase-1) Is Sufficient to Impair Spiral Arterial Remodeling in a Preeclampsia Mouse Model. *Hypertension*. 2021;78(4):1067-79.
258. Tsatsaris V, Goffin F, Munaut C, Brichant JF, Pignon MR, Noel A, et al. Overexpression of the soluble vascular endothelial growth factor receptor in preeclamptic patients: pathophysiological consequences. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2003;88(11):5555-63.
259. Taylor RN, Grimwood J, Taylor RS, McMaster MT, Fisher SJ, North RA. Longitudinal serum concentrations of placental growth factor: evidence for abnormal placental angiogenesis in pathologic pregnancies. *Am J Obstet Gynecol*. 2003;188(1):177-82.
260. Chaiworapongsa T, Romero R, Espinoza J, Bujold E, Mee Kim Y, Gonçalves LF, et al. Evidence supporting a role for blockade of the vascular endothelial growth factor system in the pathophysiology of preeclampsia. *Young Investigator Award*. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;190(6):1541-7; discussion 7-50.
261. Yue X, Wu L, Hu W. The regulation of leukemia inhibitory factor. *Cancer cell & microenvironment*. 2015;2(3).
262. Nicola NA, Babon JJ. Leukemia inhibitory factor (LIF). *Cytokine & growth factor reviews*. 2015;26(5):533-44.
263. Kondera-Anasz Z, Sikora J, Mielczarek-Palacz A. Leukemia inhibitory factor: an important regulator of endometrial function. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2004;52(2):97-105.
264. Hilton DJ, Nicola NA. Kinetic analyses of the binding of leukemia inhibitory factor to receptor on cells and membranes and in detergent solution. *Journal of Biological Chemistry*. 1992;267(15):10238-47.
265. L. Stewart C. Leukaemia inhibitory factor and the regulation of pre-implantation development of the mammalian embryo. *Molecular reproduction and development*. 1994;39(2):233-8.

266. Wu M, Yin Y, Zhao M, Hu L, Chen Q. The low expression of leukemia inhibitory factor in endometrium: possible relevant to unexplained infertility with multiple implantation failures. *Cytokine*. 2013;62(2):334-9.
267. Zheng Q, Dai K, Cui X, Yu M, Yang X, Yan B, et al. Leukemia inhibitory factor promote trophoblast invasion via urokinase-type plasminogen activator receptor in preeclampsia. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2016;80:102-8.
268. Salleh N, Giribabu N. Leukemia inhibitory factor: roles in embryo implantation and in nonhormonal contraception. *The Scientific World Journal*. 2014;2014.
269. Krüger-Genge A, Blocki A, Franke R-P, Jung F. Vascular endothelial cell biology: an update. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(18):4411.
270. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, et al. The vascular endothelium and human diseases. *International journal of biological sciences*. 2013;9(10):1057.
271. Germain AM, Romanik MC, Guerra I, Solari S, Reyes MaS, Johnson RJ, et al. Endothelial dysfunction: a link among preeclampsia, recurrent pregnancy loss, and future cardiovascular events? *Hypertension*. 2007;49(1):90-5.
272. Sandoo A, Veldhuijzen van Zanten JJ, Metsios GS, Carroll D, Kitas GD. The endothelium and its role in regulating vascular tone. *The open cardiovascular medicine journal*. 2010;4(1).
273. Li H, Yao J, Chang X, Wu J, Duan T, Wang K. LIFR increases the release of soluble endoglin via the upregulation of MMP14 expression in preeclampsia. *Reproduction*. 2018;155(3):297-306.
274. Haybar H, Shahrabi S, Rezaeeyan H, Shirzad R, Saki N. Endothelial cells: from dysfunction mechanism to pharmacological effect in cardiovascular disease. *Cardiovascular Toxicology*. 2019;19:13-22.
275. Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, Hermanns HM, Müller-Newen G, Schaper F. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochemical journal*. 2003;374(1):1-20.
276. Kershaw NJ, Murphy JM, Liao NP, Varghese LN, Laktyushin A, Whitlock EL, et al. SOCS3 binds specific receptor-JAK complexes to control cytokine signaling by direct kinase inhibition. *Nature structural & molecular biology*. 2013;20(4):469-76.
277. Chen Q, Lv J, Yang W, Xu B, Wang Z, Yu Z, et al. Targeted inhibition of STAT3 as a potential treatment strategy for atherosclerosis. *Theranostics*. 2019;9(22):6424.
278. Cain RJ, Vanhaesebroeck B, Ridley AJ. The PI3K p110 α isoform regulates endothelial adherens junctions via Pyk2 and Rac1. *Journal of Cell Biology*. 2010;188(6):863-76.
279. Karar J, Maity A. PI3K/AKT/mTOR pathway in angiogenesis. *Frontiers in molecular neuroscience*. 2011;4:51.
280. Kumar S, Singhal V, Roshan R, Sharma A, Rembhotkar GW, Ghosh B. Piperine inhibits TNF- α induced adhesion of neutrophils to endothelial monolayer through suppression of NF- κ B and I κ B kinase activation. *European journal of pharmacology*. 2007;575(1-3):177-86.
281. Ozkan ZS, Simsek M, Ilhan F, Devenci D, Godekmerdan A, Sapmaz E. Plasma IL-17, IL-35, interferon- γ , SOCS3 and TGF- β levels in pregnant women with preeclampsia, and their relation with severity of disease. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2014;27(15):1513-7.

282. Shahrabi S, Rezaeeyan H, Ahmadzadeh A, Shahjahani M, Saki N. Bone marrow blood vessels: Normal and neoplastic niche. *Oncology Reviews*. 2016;10(2).
283. Wang Y, Dong Q, Gu Y, Groome LJ. Up-regulation of miR-203 expression induces endothelial inflammatory response: Potential role in preeclampsia. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2016;76(6):482-90.
284. Szarka A, Rigó J, Lázár L, Bekő G, Molvarec A. Circulating cytokines, chemokines and adhesion molecules in normal pregnancy and preeclampsia determined by multiplex suspension array. *BMC immunology*. 2010;11:1-9.
285. Abdolalian M, Ebrahimi M, Aghamirzadeh M, Eshraghi N, Moghaddasi M, Eslamnik P. The role of leukemia inhibitory factor in pathogenesis of pre-eclampsia: molecular and cell signaling approach. *Journal of Molecular Histology*. 2021;52(4):635-42.
286. Avagliano L, Massa V, Bulfamante G, editors. *Histology of Human Placenta* 2016.
287. Ercin ME, Bozdoğan Ö, Çavuşoğlu T, Bozdoğan N, Atasoy P, Koçak M. Hypoxic gene signature of primary and metastatic melanoma cell lines: Focusing on HIF-1 β and NDRG-1. *Balkan Medical Journal*. 2020;37(1):15.
288. Stewart CL, Kaspar P, Brunet LJ, Bhatt H, Gadi I, Köntgen F, et al. Blastocyst implantation depends on maternal expression of leukaemia inhibitory factor. *Nature*. 1992;359(6390):76-9.
289. Fouladi-Nashta A, Jones C, Nijjar N, Mohamet L, Smith A, Chambers I, et al. Characterization of the uterine phenotype during the peri-implantation period for LIF-null, MF1 strain mice. *Developmental biology*. 2005;281(1):1-21.
290. Emiliani S, Delbaere A, Devreker F, Englert Y. Embryo–maternal interactive factors regulating the implantation process: Implications in assisted reproductive treatment. *Reproductive biomedicine online*. 2005;10(4):527-40.
291. Dey S, Lim H, Das SK, Reese J, Paria B, Daikoku T, et al. Molecular cues to implantation. *Endocrine reviews*. 2004;25(3):341-73.
292. de Ruijter-Villani M, Deelen C, Stout T. Expression of leukaemia inhibitory factor at the conceptus–maternal interface during preimplantation development and in the endometrium during the oestrous cycle in the mare. *Reproduction, Fertility and Development*. 2016;28(10):1642-51.
293. Liang X-H, Deng W-B, Li M, Zhao Z-A, Wang T-S, Feng X-H, et al. Egr1 protein acts downstream of estrogen-leukemia inhibitory factor (LIF)-STAT3 pathway and plays a role during implantation through targeting Wnt4. *Journal of Biological Chemistry*. 2014;289(34):23534-45.
294. Cullinan EB, Abbondanzo SJ, Anderson PS, Pollard JW, Lessey BA, Stewart CL. Leukemia inhibitory factor (LIF) and LIF receptor expression in human endometrium suggests a potential autocrine/paracrine function in regulating embryo implantation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1996;93(7):3115-20.
295. Practice ACoO. Practice bulletin# 33: diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. *Obstetrics & Gynecology*. 2002;99(1):159-67.
296. Jahanbin K, Ghafourian M, Rashno M. Effect of different concentrations of leukemia inhibitory factor on gene expression of vascular endothelial growth factor-A in trophoblast tumor cell line. *International Journal of Fertility & Sterility*. 2020;14(2):116.
297. Red-Horse K, Zhou Y, Genbacev O, Prakobphol A, Foulk R, McMaster M, et al. Trophoblast differentiation during embryo implantation and formation of the maternal-fetal interface. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(6):744-54.

298. Yu H, Yue X, Zhao Y, Li X, Wu L, Zhang C, et al. LIF negatively regulates tumour-suppressor p53 through Stat3/ID1/MDM2 in colorectal cancers. *Nature communications*. 2014;5(1):5218.
299. Deepak V, Ravikumar N, Badell ML, Sidell N, Rajakumar A. Transcription factor ID1 is involved in decidualization of stromal cells: Implications in preeclampsia. *Pregnancy hypertension*. 2020;21:7-13.
300. Ling M-T, Wang X, Ouyang X-S, Xu K, Tsao S-W, Wong Y-C. Id-1 expression promotes cell survival through activation of NF- κ B signalling pathway in prostate cancer cells. *Oncogene*. 2003;22(29):4498-508.
301. Lee TK, Poon RT, Yuen AP, Ling MT, Wang XH, Wong YC, et al. Regulation of Angiogenesis by Id-1 through Hypoxia-Inducible Factor-1 α -Mediated Vascular Endothelial Growth Factor Up-regulation in Hepatocellular Carcinoma. *Clinical cancer research*. 2006;12(23):6910-9.
302. Raymond D, Peterson E. A critical review of early-onset and late-onset preeclampsia. *Obstetrical & gynecological survey*. 2011;66(8):497-506.
303. Redman C, Sargent I, Staff A. IFPA Senior Award Lecture: making sense of pre-eclampsia—two placental causes of preeclampsia? *Placenta*. 2014;35:S20-S5.