

## PREEKLAMPTİK VE NORMAL PLASENTADA ENDOTELYAL NİTRİK OKSİT SENTETAZ İMMÜNREAKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ \*

Canan MUTLU, Meral KOYUTÜRK, Vildan KARPUZ

**Background and Design.-** This study aims to determine the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) immunoreactivity of fetal and maternal placentas in preeclamptic and normal individuals and to investigate the possible relationship with the uteroplacental changes in preeclampsia.

**Material and Methods.-** In this study, placental and blood samples of 10 preeclamptic group and control group were determined according to values of blood pressure (>140/90mmHg) and presence of proteinuria in the last trimester of pregnancy. Paraffin blocks of maternal and fetal sides of preeclamptic and normal placental tissue samples were prepared. Sections stained with Hematoxylin-Eosin and histopathology changing was evaluated by light microscope. eNOS activation were examined in samples of placenta tissues by streptavidine-biotine immunohistochemical methods.

**Results.-** Systolic and diastolic blood pressure and proteinuria, which are diagnostic criteria of preeclampsia, were found increase and statistically significant in preeclamptic group comparing with the control group. Spiral arterioles and decidual histopathologic changes in the placentas of preeclamptic group were observed on light microscope. eNOS immunolocalization was observed in the villous of syncytiotrophoblastic cells by immunohistochemical examination. Immunohistochemical results were evaluated by scoring system. There was no significant difference between immunohistochemical score values of fetal and maternal tissue samples of two groups. Mean immunohistochemical score (IHS) values of maternal tissue samples in preeclamptic group were significantly higher than the control group values ( $p>0.05$ ), when fetal tissue samples were considered, score values of preeclamptic group were also higher than the control group ( $p>0.005$ ), but it was not statistically significant ( $p>0.05$ ).

**Conclusion.-** In conclusion, increase of eNOS activity in syncytiotrophoblastic cells play a role in preeclampsia related with hemo-dynamic changes in fetoplacental circulation.

Mutlu C, Koyutürk M, Karpuz V. Evaluation of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) immunoreactivity of fetal and maternal placentaa. Cerrahpaşa J Med 2005; 36: 109-115.

**P**reeklampsia, gebelikte ortaya çıkan hipertansiyona eşlik eden proteinüri ve ödem ile seyreden bir hastalıktır. Perinatal mortalite ve morbiditenin aynı zamanda da maternal mortalitenin en önemli sebeplerinden birini oluşturur.<sup>1</sup> Tüm gebeliklerin %7-10'unda görülen preeklampsinin etyolojisi ve patogenezi henüz tam olarak açıklanamamıştır.<sup>2</sup> Gebeliğin ilk trimesterinde plasentasyonla birlikte, uteroplacental yatakta değişiklikler oluşur. Sinsisyotrofoblastların uterus spiral arterlerini invazyonu sonucu uteroplacental kan akımı, düşük rezistanslı, düşük basınçlı ve yüksek akımlı hale gelir.<sup>3</sup> Gelişen vasküler endotel hasarı, trombosit adezyonuna ve koagülasyona yol açmaktadır.<sup>4,5</sup> Renal glomerül kapiller endotelindeki hasar ise proteinüriye neden olmaktadır.

Nitrik oksit (NO) L-arjinin aminoasidinden nitrik oksit sentetaz (NOS) aracılığı ile sentezlenen ve tüm memelilerde var olan biyolojik bir amindir. eNOS, NO'nun üç izoformundan biridir.<sup>6</sup> NO'nun gebeliğin major vazodilatatörü olduğu, trombosit ve lökosit agregasyonunu da inhibe ettiği bilinmektedir.<sup>7,8</sup> Normal plasenta villuslarını döşeyen sinsisyotrofoblast hücrelerinin eNOS kaynağı olduğu bildirilmiştir.<sup>9</sup> Preeklampsilerde eNOS immünreaktivitesine ilişkin çok az sayıda ve farklı sonuçlar rapor edilmiştir.<sup>10,11</sup> Plasenta fetomaternal bir organ olup, fetal kısmı koryon tabakasından, maternal kısmı ise desidua bazalisten köken alır. Plasenta fetal ve maternal yüzleri farklı kinetik özelliklerde olup eNOS immünlokalizasyon ve aktivitelerindeki olası değişiklikler ise incelenmemiştir.

\***Anahtar Kelimeler:** Nitrik oksit, plasenta, preeklampsia; **Key Words:** Nitric oxide, placenta, preeclampsia; **Alındığı Tarih:** 14 Mart 2005; Dr. Canan Mutlu: Gaziantep Üniversitesi Yusuf Şerefoğlu Sağlık Yüksek Okulu, Kilis; Uzm. Dr. Meral Koyutürk: Kadir Has Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul; Doç Dr. Vildan Karpuz: Kadir Has Üniversitesi Tıp Fakültesi, Patoloji Anabilim Dalı, İstanbul; **Yazışma Adresi (Address):** Dr. Canan Mutlu, Gaziantep Üniversitesi Yusuf Şerefoğlu Sağlık Yüksek Okulu, Kilis, Gaziantep.

Bu çalışma, vazodilatatör etkisi nedeniyle fetoplasental dolaşımın düzenlenmesinde önemli rol oynayan endotelial nitrik oksit sentezini sağlayan eNOS immünreaktivite- nin, preeklampitik ve kontrol birey plasentalarının fetal ve maternal yüzlerinde belirlenmesini ve preeklampsideki olası değişikliklerle ilişkisini incelemeyi amaçlamaktadır.

## YÖNTEM ve GEREÇLER

Bu çalışmada 10 adet preeklampitik ve 5 adet kontrol plasenta kullanıldı. Preeklampitik grubun belirlenmesinde kan basıncı ve protei- nürü değerleri esas alındı. Üç farklı ölçüm so- nucunda kan basınçları yüksek seyreden gebe- ler gözlem altına alındı. Bu ölçümlerden en az ikisinde kan basınçları yüksek (sistolik >140 mm/Hg ve/ veya diastolik >90 mm/Hg) ve pro- teinürisi (+1 pozitif veya 300mg/ 24 saat) bulu- nanların preeklampitik olduklarına karar veril- di. Çalışma grubu 36. gebelik haftası ve üstün- deki gebelerden oluşturuldu. Preeklampsi ve kontrol grupları hemoglobulin (hb), hematokrit (hct), trombosit, lökosit ve glikoz değerleri yönünden de karşılaştırıldı. Işık mikroskopik ve immünohistokimyasal çalışma için preek- lampitik ve kontrol gruplara ait maternal ve fe- tal plasenta yüzlerinden doku örnekleri alındı. Doku parçaları %10'luk formalinde fikse edil- dikten sonra, rutin işlemleri takiben parafine gömüldüler. 3-5 µm kalınlığında alınan kesitle- re, ışık mikroskopik inceleme için hematoksi- len ve eosin boyaması uygulandı. İmmünohis- tokimyasal boyama için kesitler rutin deparafi- nizasyon ve rehidratasyon işlemlerine tabi tu- tuldular. Rehidratasyon aşamasından sonra ke- sitler, membran permeabilizasyonu için %0.3' - lük Triton X-100 ile 10 dakika boyunca inkübe edildi. Bu aşamadan sonra PBS (fosfat tam- ponlu tuz çözeltisi, pH 7.4) ile yıkanan kesit- lere, sitrat tampon (pH 6) ile antijen iyileştirme uygulandı. Endojen peroksidaz aktivitesinin in- hibe edilmesi için kesitlere, PBS içerisinde ha- zırlanan %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solüsyonu 10 dakika uy- gulandı. Kesitler nonimmün serum uygulama- sını takiben, 1/100 dilüsyonda hazırlanmış eNOS primer antikor (Transduction Lab) ile + 4°C'de 18 saat inkübe edildi. Sırasıyla biyotin-

lenmiş sekonder antikor ve streptavidin-perok- sidaz enzim konjugatı 20'şer dakika boyunca uygulandı. Renk reaksiyonunu gerçekleştirmek amacıyla kesitlere aminoethylcarbozole (AEC) kromojeni uygulandı. Doku morfolojisinin in- celenebilmesi amacıyla kesitlere hematoksi- len ile zıt boyama yapıldı.

Kesitler, Olympus BX-50 ışık mikrosko- bunda incelendi. İmmünreaktivite yoğunluğu 0.5 (Çok zayıf), 1 (Zayıf), 2 (Orta dereceli), 3 (Güçlü) gruplarında yarı kantitatif olarak aynı araştırmacı tarafından değerlendirildi. İmmün- reaktif hücre yüzdesi 300-500 hücre sayılarak elde edildi. İmmünreaktif hücre yok ise skor 0, %10 pozitif hücre skor 1, %10-50 skor 2, %51- 80 skor 3, %80 ve üzeri skor 4 olarak değeri- lenildi. İHS literatüre göre immünreaktif hücre sayı skoru ile yarı kantitatif immünoreaktivite yoğunluğu değerlerinin çarpımı sonucunda el- de edildi.<sup>10</sup>

Çalışma gruplarına ait istatistiksel inceleme SPSS 9.0 analiz programı ile Mann Whitney-U testi uygulanarak değerlendirildi. p<0.05 de- ğeri istatistiksel olarak anlamlılık sınırı kabul edildi.

## BULGULAR

Preeklampitik gruba ait hastaların yaş ortala- maları 29.30±7.08, kontrol gruba ait hastaların ise 23.40±2.60 olarak saptandı. Gruplar arası yaş ortalamaları arasında istatistiksel bir farklı- lık izlenmedi (p>0.05). Preeklampitik grubun tanı almasını sağlayan parametrelerden, sisto- lik (166.0±34.70 mm/Hg) ve diastolik (103.0± 27.90 mm/Hg) kan basıncı değerlerinin, kont- rol grubun sistolik (112.0±4.47 mm/Hg) ve di- astolik (80.0±78.0 mm/Hg) değerlerine göre ist- atistiksel olarak anlamlı artış gösterdiği sap- tandı (p≤0.005). Diğer bir tanı kriteri olan idrar protein değerleri preeklampitik grupta (2.19± 1.80) kontrol grubuna (0.00±0.00) göre istatis- tiksel olarak artmış bulundu (p≤0.001). Kan sa- yımı değerlerinden olan hb, hct, lökosit, trom- bosit ve glikoz düzeyleri kıyaslandığında trom- bosit sayıları dışında preeklampitik ve kontrol gruplarına ait diğer parametreler arasında ista- tistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı

( $p>0.05$ ), (Tablo 1). Kontrol grubu plasental dokuya ait villuslarda sinsisyotrofoblastik tabaka ve vasküler yapılar normal histolojik görünümde izlendi. Preeklampside, plasenta yatağında meydana gelen değişiklikler ışık mikroskopik bulgularla desteklendi. Preeklampitik plasenta grubunun incelenmesinde desidual spiral arteriollerin lümenlerinin daraldığı ve desidual lezyonların oluştuğu görüldü. Bazal tarafta fetal kapiller trombüsleri, fibrin tortuları ve infarkt alanları gözlemlendi. Ayrıca intervillöz alanda fibrinoid birikim, sinsisyal düğümlerde ve fetal kapillerde artış gözlemlendi. Preeklampitik ve kontrol gruplarının fetal ve maternal yüzlerinden alınan plasenta dokularına ait parafin kesitlerde eNOS immünreaktivitesi, villusların sinsisyotrofoblast hücrelerinde izlendi. Villus kan damarlarını döşeyen endotelial hücrelerde ise immünreaktivite izlenmedi. eNOS immünreaktivite yoğunluğu ve reaktif hücre sayısı kontrol grubu fetal ve maternal yüz örneklerinde bireysel farklılıklar göstermekle birlikte preeklampsi grubuna göre oldukça düşük bulundu (Tablo 2). Kontrol grubu doku örneklerine ait İHS ortalama değeri fetal yüzde  $1.40\pm$

$0.54$ , maternal yüzde  $0.80\pm 0.44$  olarak bulundu (Resim 1a, 1b). Preeklampitik gruba ait fetal plasenta örneklerinde İHS ortalama değeri  $3.25\pm 2.41$ , maternal plasenta doku örneklerinde  $6.05\pm 4.53$  olarak tespit edildi (Resim 2a, 2b). Kontrol grubu maternal ve fetal plasenta İHS'ları karşılaştırıldığında maternal İHS'larının artmış olduğu ancak bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı izlendi ( $p>0.05$ ). Preeklampitik grupta da maternal ve fetal plasenta İHS'ları kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı olmayan maternal İHS skoru artışı tespit edildi ( $p>0.05$ ). Preeklampitik grupta fetal ve maternal plasenta İHS'larının birbirleriyle ilişkili olduğu, artış ve azalmaların plasental taraflar arasında zıt bir ilişki gösterdiği izlendi (Tablo 2). Preeklampitik grupta fetal plasentalara ait İHS ortalamasının kontrol gruba göre artmış olduğu ancak istatistiksel anlamlılık göstermediği saptandı ( $p>0.05$ ). Preeklampitik grup maternal plasentalarına ait İHS ortalama değerinin ise kontrol grubuna göre arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak da anlamlılık gösterdiği tespit edildi ( $p<0.005$ ).

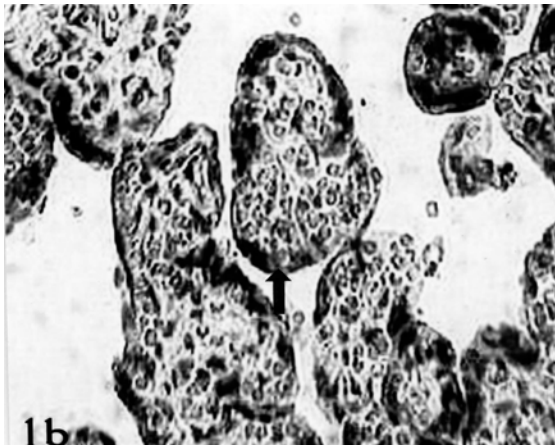
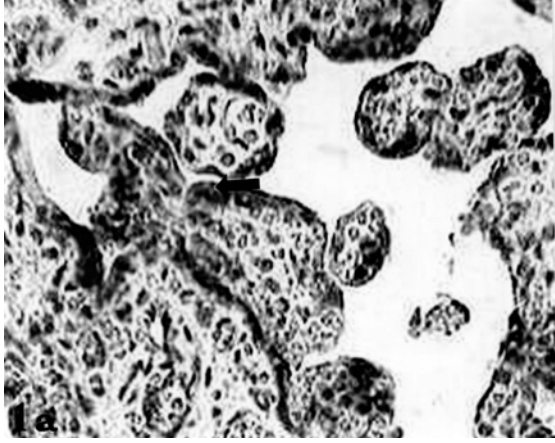
**Tablo I.** Preeklampitik ve kontrol gruplarına ait kan sayımı ve glikoz değerleri ile istatistiksel anlamlılıkları.

|                             | Preeklampitik grup (n=10) | Kontrol grup (n=5) | p     |
|-----------------------------|---------------------------|--------------------|-------|
| Trombosit ( $\text{mm}^3$ ) | 1045500 $\pm$ 1165444     | 232000 $\pm$ 43926 | 0.028 |
| Hb (gr/dl)                  | 11.16 $\pm$ 2.04          | 10.10 $\pm$ 0.80   | 0.099 |
| Hct %                       | 32.97 $\pm$ 5.01          | 30.62 $\pm$ 2.04   | 0.165 |
| Lökosit ( $\text{mm}^3$ )   | 20389 $\pm$ 22944         | 11180 $\pm$ 1755   | 0.165 |
| Glikoz (mg/dl)              | 103.3 $\pm$ 38.64         | 96.4 $\pm$ 11.05   | 0.768 |

**Tablo II.** Çalışma gruplarını oluşturan bireylere ait fetal ve maternal plasentaların eNOS immunohistokimya skor ortalamaları (İHS).

|    | Kontrol grubu<br>Fetal plasenta İHS | Kontrol grubu<br>Maternal plasenta İHS | Preeklampsi grubu<br>Fetal plasenta İHS | Preeklampsi grubu<br>Maternal plasenta İHS |
|----|-------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------|
| 1  | 0.00                                | 1.00                                   | 6.00                                    | 2.00                                       |
| 2  | 1.00                                | 2.00                                   | 6.00                                    | 1.00                                       |
| 3  | 1.00                                | 1.00                                   | 1.00                                    | 6.00                                       |
| 4  | 1.00                                | 2.00                                   | 2.00                                    | 12.00                                      |
| 5  | 1.00                                | 1.00                                   | 0.50                                    | 12.00                                      |
| 6  |                                     |                                        | 1.00                                    | 12.00                                      |
| 7  |                                     |                                        | 2.00                                    | 2.00                                       |
| 8  |                                     |                                        | 6.00                                    | 1.00                                       |
| 9  |                                     |                                        | 2.00                                    | 6.00                                       |
| 10 |                                     |                                        | 6.00                                    | 1.50                                       |

**Resim 1.** Kontrol grubun sinsisyotrofoblastlarında az sayıda ve zayıf eNOS immünreaktivitesi (↑), fetal plasenta (a) ve aynı vakanın maternal plasenta örnekleri (b). Zıt boya hematoksilen, (X400).



## TARTIŞMA

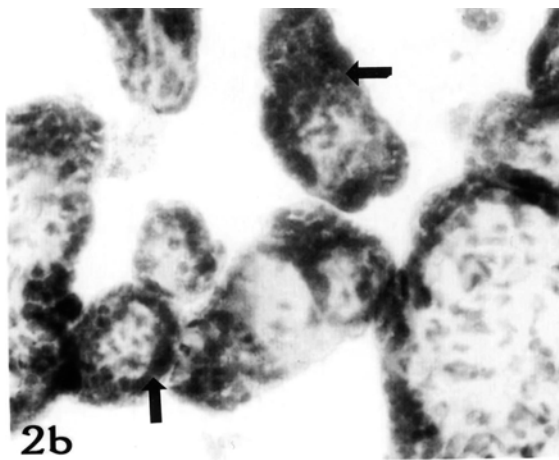
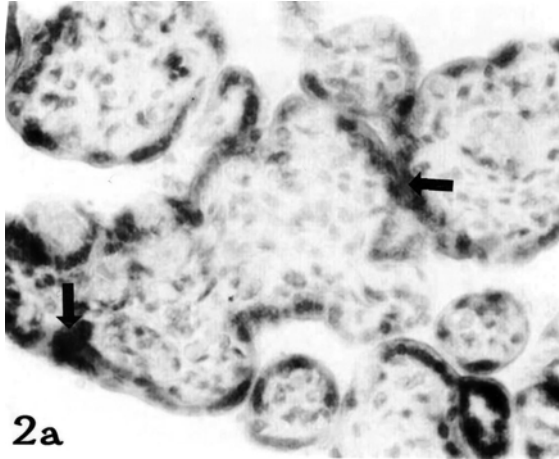
Preeklampsi, gebelikte hipertansiyona eşlik eden proteinüri ve ödem ile karakterizedir. Preeklampsinin gelişimi, vasküler yanıtta meydana gelen değişiklikler ve vazokonstriksiyon ile ilişkilendirilmiştir. Preeklampitik vazokonstriksiyon gelişiminde, spiral arterlerin trofoblastlarca yetersiz invazyonun<sup>12-14</sup>, endotel kaynaklı genişletici faktörlerin ve diğer vazodilatör maddelerin rol oynadığı bildirilmiştir.<sup>15-17</sup> Nitrik oksit, gebelikte güçlü bir vazodilatör olarak fetoplazental dolaşımın düzenlenmesinde önemli rol oynar.<sup>18</sup> Yapılan çalışmalarda insan plasental villuslarında NOS varlığı gösterilmiştir.<sup>19,20</sup> Plasental NOS'ın endotelial tipte olduğu ve sinsisyotrofoblastların plasental

eNOS'ın esas kaynağı olduğu enzimatik ve immünohistokimyasal metotlar kullanılarak gösterilmiştir.<sup>9</sup> eNOS tarafından meydana getirilen NO' in bazal vasküler tonusun sağlanması, trombosit aktivasyonunun önlenmesi ve endotele lökosit adezyonunun sınırlandırılmasında önemli rol oynadığı bildirilmiştir.<sup>9,21-24</sup> Bu bilgiler preeklampside, eNOS dağılımının ve fonksiyonlarının değişebileceğini düşündürmektedir. Biz de çalışmamızda, literatürlerle uyumlu olarak normal kontrol plasenta villuslarının sinsisyotrofoblast hücrelerinde eNOS immünreaktivitesi saptadık.<sup>10,11</sup> Preeklampitik plasentada NO üretimi ile ilgili farklı sonuçlar bildirilmiş, NO düzeylerinin değişmemiş, artmış ya da azalmış olduğu ileri sürülmüştür.<sup>10,11,23,24</sup> Preeklampitik plasentalarda eNOS immünreaktivitesini inceleyen kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur.<sup>10,11</sup> İmmünohistokimyasal tekniklerle beş preeklampitik maternal plasenta örneğinde eNOS immünreaktivitesinin incelendiği çalışmada normal ve preeklampitik gruplar arasında anlamlı bir fark olmadığı bildirilmiştir.<sup>11</sup> Matsubara ve arkadaşlarına<sup>11</sup> ait bu çalışmada, eNOS immünreaktivitesi sadece maternal plasentada ve farklı bir teknikle incelenmiştir. Oysa, çalışmamızda preeklampitik gruba ait maternal ve fetal plasenta örneklerinde ortalama İHS'nun arttığı, ancak bireyler arası farklılıklar olduğu görüldü. Ayrıca aynı bireylere ait fetal ve maternal plasenta eNOS immünreaktivitelerinin zıt bir ilişki gösterdiği gözlemlendi. Preeklampside eNOS aktivitesini immünohistokimyasal olarak inceleyen tek çalışma ise preeklampitik plasentalarda immünreaktivitenin azaldığını bildirmiştir.<sup>10</sup> Buna karşılık, çalışmamızda preeklampitik gruba ait bireylerin maternal ve fetal plasenta örneklerinin İHS'lerinde artış dikkati çekmekteydi.

Preeklampitik plasentada eNOS immünreaktivitesini inceleyen iki çalışmada farklı sonuçlar bildirmiştir, bu farklılıklar uygulanan immünohistokimyasal teknik ve kullanılan plasenta bölgelerine bağlı olabilir. NO izoformlarının immünohistokimyasal lokalizasyonunu inceleyen birkaç çalışma dışında, NO metabolit düzeylerini farklı metotlar kullanarak inceleyen araştırmalar mevcuttur. Bu çalışmalar NO düzeylerinin değişmemiş, artmış ya da azalmış

olduğunu ileri sürmektedirler.<sup>23-25</sup> Conrad ve Davis<sup>23,24</sup> enzimatik yöntemler kullanarak pre-eklamptik ve normal gebe plasental villus trofoblastlarında eNOS dağılımının karşılaştırılabileceğini göstermişlerdir. Myatt ve arkadaşları<sup>22</sup> pre-eklamptik plasentada eNOS'un daha çok bazal dağılıma sahip olduğunu, pre-eklamptik ve normal gebe plasentaları arasında sinsisyotroblast hücrelerinde anlamlı bir değişiklik göstermediğini bildirmişlerdir. Ranta ve arkadaşları<sup>25</sup> ise pre-eklampside NO düzeylerinin arttığını ve bu artışın pre-eklampside ortaya çıkan vasokonstriksiyonu kompanse etmek amaçlı olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

**Resim 2.** Pre-eklamptik gruba ait örnekte fetal plasenta (a) ve aynı vakanın maternal plasentasında (b) çok sayıda, güçlü eNOS immünreaktivitesi gösteren sinsisyotroblast hücreleri izlenmektedir. Zıt boya hematoksilen, (X400).



Çalışmamızda, pre-eklamptik grupta gözlemlediğimiz artmış maternal plasenta eNOS aktivasyonu kompanse etme amacıyla artışını desteklemektedir. Pek çok fizyolojik işlevde önemli görevler üstlenen ve önemli bir vazodilatatör olan NO'nun farklı konsantrasyonlarda koruyucu ya da toksik etki gösterdiği bildirilmiştir.<sup>17</sup> Bu veriler, pre-eklampside vazokonstriksiyonu kompanse etmek amacıyla artan eNOS aktivasyonunun toksik etki sonucunu mevcut klinik tabloyu olumsuz yönde etkilediğini düşündürmektedir. Normal plasenta sinsisyotroblastlarının ürettiği eNOS'un, villuslar arası boşluklarda trombosit ve lökositlerin villus yüzeyine yapışmasını önleyebileceği bildirilmiştir.<sup>8</sup> Pre-eklamptik plasentalarda, sinsisyotroblastlardaki ultrastrüktürel değişikliklerin varlığı, trombosit harcanmasının artması ve intravillöz aralıkta trombüs sıklığının ikiye katlanması gibi bulgular ile NO sentezinin ilişkisi gösterilmiştir.<sup>20</sup> Pitchard ve arkadaşları<sup>26</sup> pre-eklampside trombositlerin sayıca azaldığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda, pre-eklamptik grubun kan trombosit değerlerinin, kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı tespit edildi. Normal koşullarda vasküler tonus için küçük miktarlarda NO üretilir. eNOS ve nöronal NOS (nNOS) kofaktör olarak kalsiyum/kalmoduline bağımlı olup intraselüler  $Ca^{+2}$  düzeyini yükselten agonistlerle aktive edilir.  $Ca^{+2}$ 'un yükselmesi kalmodulinin NOS'a bağlanmasını uyarır ve küçük düzeylerde NO sentezlenir.<sup>6</sup> İnsan plasentalarında yapılan in-vitro çalışmalarda fetal ve maternal yüzlerde  $Ca^{+2}$  giriş ve çıkışlarının farklı kinetik özelliklerde olduğu gösterilmiştir.<sup>27</sup> eNOS,  $Ca^{+2}$  bağımlı NO izoformu olup, maternal ve fetal plasentalar arasında saptadığımız eNOS ekspresyon farklılıklarının, pre-eklampside tanımlanmamış fetomaternal  $Ca^{+2}$  kinetiği ile ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Pre-eklamptik plasentalarda eNOS immünreaktivitesi ve ilişkili mekanizmanın tam olarak açıklanabilmesi için mevcut çalışmalar yetersiz olup, yüksek vaka sayılarında, standart tekniklerle yapılacak yeni çalışmalar sonucu netlik kazanacaktır.

Sonuç olarak; çalışmamızda pre-eklamptik bireylerin maternal plasenta bölgelerinde saptanan eNOS immünreaktivite artışı, pre-e-

lampsidede meydana gelen hemodinamik değişikliklere karşı gelişen kompensasyon mekanizmalarında endotelial nitrik oksitinin etkin rol aldığını düşündürmektedir.

## ÖZET

Bu çalışmada amaç, uteroplasental değişikliklerle ilişkili olduğu düşünülen endotelial nitrik oksit sentetaz düzeylerinin (eNOS) preeklampitik ve kontrol gebelere ait fetal ve maternal yüz plasentalarında immünohistokimyasal olarak incelenmesidir. Çalışmada, 10 preeklampitik ve 5 normal kontrol grubu gebeye ait plasenta örnekleri ve kan değerleri incelendi. Son trimestir gebeliklerde proteinüri varlığı ve kan basıncı (>140/90 mm/Hg) değerlerine göre preeklampsisi ve kontrol grupları belirlendi. Preeklampitik ve normal plasenta doku örneklerinin maternal ve fetal yüzlerine ait parafin bloklar hazırlandı. Alınan kesitler Hemotoksilen-Eosin ile boyandı ve ışık mikroskopunda histopatolojik değişiklikler değerlendirildi. Plasental doku örneklerinde eNOS aktivasyonu streptavidin-biotin immünohistokimyasal yöntemi uygulanarak incelendi. Preeklampitik tanı kriterleri olan sistolik-diastolik kan basıncı ve idrarda protein değerlerinin kontrol grubu değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu bulundu. Preeklampitik grup plasentalarında, spiral arterler ve desidua aya ait histopatolojik değişiklikleri yansıtan ışık mikroskopik bulgular saptandı. İmmünohistokimyasal inceleme sonucunda eNOS immüno-lokalizasyonu villusların sinsisyotrofoblastik hücrelerinde gözlemlendi. İmmünohistokimyasal sonuçlar skorlama yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Kontrol ve preeklampitik grupların fetal ve maternal plasenta doku örneklerine ait immunohistokimyasal skor değerleri arasında bir fark izlenmedi ( $p>0.05$ ). Preeklampitik grup maternal plasenta örneklerine ait immunohistokimyasal skor ortalaması kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmış bulundu ( $p<0.005$ ). Aynı grubun fetal plasenta örneklerinde de kontrol grubuna göre artış bulundu ancak istatistiksel anlamlılık saptanmadı ( $p>0.05$ ).

Sinsisyotrofoblast hücrelerindeki eNOS aktivasyon artışının, fetoplasental dolaşımdaki hemodinamik değişikliklerle olaylanan preeklampsidede rol oynadığı sonucuna varılmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Lavery JP. The Human Placenta Clinical Perspectives. Maryland, Aspen Publication, 1987; 25.
2. Merviel P, Carbillon L, Challier JC, Rabreau M, Beaufile M and Uzan S. Pathophysiology of preeclampsia: links with implantation disorders. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2004; 115: 134.
3. Bektaş MS, Demir N, Koç A, Yüksel A. Obstetrik; maternal-fetal tıp ve perinatoloji. Medical Network Ankara, 2001; 625-645.
4. Brosens I, Robertson WB, Dixon HG: The physiological response of vessels of the placental bed to normal pregnancy. J Path Bact 1967; 93: 569-579.
5. 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 gestation age infants. Br J Obstet Gynecol 1986; 93: 1049-1059.
6. Thiemmermann C. The role of the L-arginine-nitric oxide pathway in circulatory shock. Adv Pharmacol 1994; 28: 45-79.
7. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. Pharmacol Rev 1991; 43: 109-142.
8. Myatt L, Brewer AS, Langdon G, Brockman DE. Attenuation of the vasoconstrictor effects of thromboxane and endothelin by nitric oxide in human fetal-placental circulation. Am J Obstet Gynecol 1992; 166: 224-230.
9. Zarlino TJ, Eis AL, Brockman DE, Kossens W, Myatt L. Comparative localization of endothelial and inducible nitric oxide synthase isoforms in haemochorial and epitheliochorial placentae. Placenta 1997; 18: 511-520.
10. Lee CN, Chang SW, Cho NH, Cho SH. Nitrous oxide synthase expression in placenta of preeclampsia. J Korean Med Sci 1997; 12: 532-538.
11. Matsubara S, Takizawa T, Takayama T, Izumi A, Watanabe T, Sato I. Immunoelectron microscopic localization of endothelial nitric oxide synthase in human placental terminal villous trophoblasts-normal and pre-eclamptic pregnancy. Placenta 2001; 22: 782-786.
12. Zeeman GG and Dekker GA. Pathogenesis of preeclampsia: a hypothesis. Clin Obstet and Gynecol 1992; 35: 317-337.

13. Sağol S, Özkinay E, Özşener S. Impaired antioxidant activity in women with pre-eclampsia. *Int J Gynecol Obstet* 1999; 64: 121-127.
14. Pijnenborg R, Anthony J, Davey DA, Rees A, Tiltman A, Vercruyse L, Van Assche A. Placental bed spiral arteries in the hypertensive disorders of pregnancy. *Br J Obstet Gynecol* 1991; 98: 648-655.
15. Pinto A, Sorrentino R, Sorrentino T, Miranda L, Biondi A, Martinelli P. Endothelial-derived relaxing factor released by endothelial cells of human umbilical vessels and in its impairment in pregnancy-induced hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164: 507-513.
16. Brennecke SP, Gude NM, Diliulio JL, King RG. Nitric oxide synthase activity in human placental villous tissue is reduced in pre-eclampsia. *Hypertens Preg* 1994; 13: 306-310.
17. Zöllner S, Haseloff RF, Kirilyuk IA, Blasig IE, Rubanyi GM. Nitroxides increase the detectable amount of nitric oxide released from endothelial cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 23076-23080.
18. Norman JE, Cameron IC. Nitric oxide in human uterus. *Rev Reprod* 1996; 1: 61-68.
19. Myatt L, Brockman DE, Eis ALW, Pollock JS. Immunohistochemical localization of nitric oxide synthase in the human placenta. *Placenta* 1993; 14: 487-495.
20. Eis ALW, Brockman DE, Pollock JS, Myatt L. Immunohistochemical localization of endothelial nitric oxide synthase in human villous and extravillous trophoblast populations and expression during syncytiotrophoblast formation in vitro. *Placenta* 1995; 16: 113-126.
21. Buttery LDK, McCarthy A, Springall DR, Sullivan MH, Elder MG, Michel T, Polak JM. Endothelial nitric oxide synthase in the human placenta: regional distribution and proposed regulatory role at the feto-maternal interface. *Placenta* 1994; 15: 257-265.
22. Myatt L, Eis AL, Brockman DE, Greer IA, Lyall F. Endothelial nitric oxide synthase in placental villous tissue from normal, pre-eclamptic and intrauterine growth restricted pregnancies. *Hum Reprod* 1997; 12: 167-172.
23. Conrad KP, Vill M, McGuire PG, Dail WG, Davis AK: Expression of nitric oxide synthase by syncytiotrophoblast in human placental villi. *Faseb J* 1993; 7: 1269-1276.
24. Conrad KP and Davis AK. Nitric oxide synthase activity in placenta from women with pre-eclampsia. *Placenta* 1995; 16: 691-699.
25. Ranta V, Viinikka L, Halmesmäki E, Ylikorkala O. Nitric oxide production with preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1999; 93: 442-445.
26. Pitchard JA, Pitchard SA. Standardized treatment of 154 consecutive cases of eclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1975; 123: 543-552.
27. Sweiry JH, Page KR, Dacke CG, Abramovich DR, and Yudilevich DL. Evidence of saturable uptake mechanisms at maternal and fetal sides of the perfused human placenta by rapid paired-tracer dilution: studies with calcium and choline. *J Dev Physiol* 1986; 6: 435-445.

**Teşekkür:** Bu çalışma Kadir Has Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tarafından desteklenmiştir.