T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PREEKLAMPSİLİ HASTALARIN PLASENTA, PLASENTAL YATAK VE KORDON DOKULARINDAKİ miRNA'LARIN İFADE ANALİZİ

Tahaberk ATEŞOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

Danışman

Prof. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK

Ocak, 2024

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PREEKLAMPSİLİ HASTALARIN PLASENTA, PLASENTAL YATAK VE KORDON DOKULARINDAKİ ÇEŞİTLİ miRNA'LARIN İFADE ANALİZİ

Tahaberk ATEŞOĞLU tarafından hazırlanan tez çalışması **31.01.2023** tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Doç. Dr. Hilal AY, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Günay YETİK ANACAK, Üye
Acıbadem Üniversitesi _____

Danışmanım Prof. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK sorumluluğunda tarafımca hazırlanan "PREEKLAMPSİLİ HASTALARIN PLASENTA, PLASENTAL YATAK ve KORDON DOKULARINDAKİ miRNA'LARIN İFADE ANALİZİ" başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Tahaberk ATEŞOĞLU

İmza

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim sürecimde, Yıldız Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümünde, yapıcı ve anlayışlı kişiliği ile öne çıkan, rehberliğinden büyük ölçüde faydalandığım, değerli hocam Prof. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK'e içten saygılarımı sunar, bana sağladığı destek için kendisine olan minnettarlığımı ifade ederek teşekkürlerimi sunarım.

Bilimsel anlamda yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım doktora öğrencisi Sabina NEZİRİ'ye ve yüksek lisans öğrencisi Vildan SARAÇ'a teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde yanımda olan, destek veren, fedakarlıkta bulunan ve zorlukları birlikte aştığımız sevgili babam İzzet ATEŞOĞLU'na ve sevgili annem Sevcan ATEŞOĞLU'na sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, minnettarlık duygularımı ifade ederim. Onlar, hayatımda sadece ebeveynlerim olmanın ötesinde; beni ahlaki değerlerle, edep, saygı ve sevgiyle donatarak yetiştiren özel kişilerdir. Ne zaman zorluklarla karşılaşsam, bana dik durmayı öğretmiş, güçlü olmamı sağlamışlardır. Bu samimi duygularla, hayatımın her anında yanımda oldukları için teşekkür ederim

Tahaberk ATEŞOĞLU

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR iii
SİMGE LİSTESİ v
KISALTMA LİSTESİ vi
ŞEKİL LİSTESİ viii
TABLO LİSTESİ ix
ÖZET x
ABSTRACT xii
1 GİRİŞ 1
1.1 Preeklampsi 1
1.2 Preeklampsinin Patofizyolojisi ve Genetik Temeli 10
1.3 MikroRNA'lar 14
1.4 Preeklampsi ve miRNA 18
2 22
MATERYAL METOD 22
2.1 Materyaller 22
2.2 Metod 22
3 BULGULAR 26
3.1 Real-Time PCR Analizleri 26
3.2 Plasenta dokularında hsa-miR-183 ve hsa-miR-325 İfadesi 27
3.3 Preeklamptik Kordon ve Plasental Yatak Doku Örneklerinde hsa-miR-325 ifadesi 29
3.4 Preeklamptik Anne Adaylarından Toplanan Plasental Yatak hsa-miR-101-3p ifadesi 30
3.5 Preeklamptik Anne Adaylarında Plasenta Örneklerinde hsa-miR-224 ifadesi 30
3.6 Preeklamptik Anne Adaylarının Plasenta Örneklerinde Yapılan Analizlerde hsa-miR-101-3p İfadesi 31
3.7 Plasenta dokularında bir hipoksemiR olan hsa-miR-210 ifadesi 32
4 SONUÇ 34
KAYNAKÇA 41
A EKLER 55
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR 59

SİMGE LİSTESİ

α	Alfa
β	Beta
Δ	Delta
O_2	Dioksit
Γ	Gamma
g	Gram
CO_2	Karbondioksit
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
ng	Nanogram
°C	Santigrat Derece

KISALTMA LİSTESİ

ADAR	Adenozin Deaminaz
AGO	Argonaute
AID	Aktivasyonla İndüklenen Deaminaz
AMPK	AMP - Aktive Olan Protein Kinaz
APOBEC	Apolipoprotein B Düzenleyici Katalitik Polipeptitler
BRD4	Bromodomain İçeren Protein 4
C14MC	Kromozom 14 miRNA Kümesi
C19MC	Kromozom 19 miRNA Kümesi
COX-2	Prostaglandin-Endoperoksit Sentaz-2
CS	Carnegie Aşamaları
DGCR8	DiGeorge Sendromu Kritik Bölge Geni 8
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DSC	Desidual Stromal Hücre
ExM	Ekstraembriyonik Mezoderm
FOXP1	Çatal Uçlu Kutu Protein 1
HIF-1	Hipoksi ile İndüklenebilir Faktör 1
IgG	Immunoglobulin G
miRNA	MikroRNA
mRNA	Mesajcı RNA
mTOR	Rapamisin Protein Kompleksinin Memeli Hedefi
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NF-κB	Nükleer Faktör-κB
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PIGF	Plasental Büyüme Faktörü
RISC	RNA Kaynaklı Susturma Kompleksi

RNA	Ribonükleik Asit
ROS	Reaktif Oksijen Türevleri
sFlt-1	Çözünebilir fms Benzeri Tirozin Kinaz 1
SNP	Tek Nükleotit Polimorfizmi
TE	Trofektoderm
TRBP	Trans-Aktivasyon Respons RNA-Binding Protein
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VEGFR-1	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü 1
VEGFR-2	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü Reseptörü 2

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1 Zigot oluşumundan blastosist evresine kadar geçen aşamalar. **2**

Şekil 1.2 İnsan embriyosunun çeşitli CS'daki embriyo gelişimi **4**

Şekil 1.3 Gebeliğin ilk üç haftasında plasentanın gelişimi..... **8**

Şekil 1.4 HIF-1 düzenlemesinin şematik diyagramı **13**

Şekil 1.5 Metazoan miRNA'ların bazı örnekleri..... **15**

Şekil 1.6 Hayvan ve bitkilerde miRNA'ların olgunlaşma ve mRNA hedefleme süreci **16**

Şekil 1.7 RNA editing sisteminin gösterimi..... **18**

Şekil 1.8 hsa-miR-325'in X kromozomu üzerindeki lokusu kırmızı olarak gösterilmiştir **20**

Şekil 1.9 HMGB1 ve NF-κB arasındaki ilişkinin bir diyagramı..... **21**

Şekil 3.1 Housekeeping olarak kullanılan U6 küçük nüklear RNA'ların amplikasyonlarının spesifite ve homojenliğinin tayini amaçlı yapılan Erime Eğrisi analizlerinin bir görüntüsü **26**

Şekil 3.2 Plasentada hsa-miR-183 ifadesinin kat farkı grafiği. **27**

Şekil 3.3 Plasentada hsa-miR-325 ifadesinin $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerlerinin karşılaştırılması **27**

Şekil 3.4 hsa-miR-325 için Erime Eğrisi analiz sonuçları..... **28**

Şekil 3.5 hsa-miR-183'ün Erime Eğrisi analizinin sonuçları..... **28**

Şekil 3.6 Kordon dokularında hsa-miR-325 için kat farkı grafiği..... **29**

Şekil 3.7 Plasental yatak dokularında hsa-miR-325'in kat farkı grafiği **29**

Şekil 3.8 Plasental yatak dokularında hsa-miR-101-3p kat farkı grafiği. **30**

Şekil 3.9 hsa-miR-224 ifadesindeki kat farkını göstermekte olan sütun grafiği **31**

Şekil 3.10 hsa-miR-224 için erime eğrisi analiz sonuçları..... **31**

Şekil 3.11 Plansenta dokularında hsa-miR-101-3p'nin kontrol grubuna göre kat farkının grafiği **32**

Şekil 3.12 Plasenta dokularında hsa-miR-101-3p için erime eğrisi analiz grafiği **32**

Şekil 3.13 hsa-miR-210 ifadesindeki gen anlatım kat değişimi grafiği **33**

Şekil 3.14 hsa-miR-210 için erime eğrisi analizi **33**

Şekil 4.1 hsa-miR-183 ifadesinin artmasının preeklampsi yoluna etkisi **35**

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.1 Gebelik sürecindeki üç trimester sürecindeki olaylar. **5**

Tablo 2.1 Hedef miRNA dizilerine ait primerler. **23**

Tablo A.1 Kullanılan cihazların bilgileri..... **55**

Tablo A.2 Kullanılan kimyasal sarflar ve kitler **55**

Tablo A.3 Preeklampsi 1 anne adayının kontrol gruplarına göre plasenta miRNA ifade profili..... **56**

Tablo A.4 Preeklampsi 2 anne adayının kontrol gruplarına göre plasenta miRNA ifade profili..... **56**

Tablo A.5 Preeklampsi 3 anne adayının kontrol gruplarına göre plasenta miRNA ifade profili..... **57**

Tablo A.6 Preeklampsi 1 anne adayı için kontrol gruplarına göre plasental yatak miRNA ifade profili **57**

Tablo A.7 Preeklampsi 2 anne adayı için kontrol gruplarına kıyasla plasental yatak miRNA ifade profili **57**

Tablo A.8 Preeklampsi 3 anne adayı için kontrol gruplarına kıyasla plasental yatak miRNA ifade profili **58**

Tablo A.9 Preeklampsi 1 anne adayı için kontrol gruplarına kıyasla kordon miRNA ifade profili **58**

Tablo A.10 Preeklampsi 2 anne adayı için kontrol gruplarına kıyasla kordon miRNA ifade profili **58**

Tablo A.11 Preeklampsi 3 anne adayı için kontrol gruplarına kıyasla kordon miRNA ifade profili **58**

ÖZET

Preeklampsili Hastaların Plasenta, Plasental Yatak ve Kordon Dokularındaki miRNA'ların İfade Analizi

Tahaberk ATEŞOĞLU

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Moleküler Biyoloji ve Genetik Programı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK

Preeklampsi, hipertansif bir gebelik komplikasyonudur. Bu komplikasyon annenin ve fetüsün/bebeğin kaybına sebep olabilen önemli bir hastalıktır. Preeklampsi hipertansif gebelik bozuklukları arasında Türkiye'de ilk sırada dünyada ise üçüncü sırada yer almaktadır. Bu hastalığın kesin bir tedavisi bulunmamaktadır ve tek kesin tedavisi gebeliğin sonlandırılması olmaktadır. Ancak, bu soruna yönelik etkili terapötik müdahaleler geliştirebilmek için hastalığın temel mekanizmalarının anlaşılması gerekmektedir. Aynı zamanda bu temel mekanizmaların anlaşılması, hastalığın etiyolojisini belirleyerek önleyici stratejilerin geliştirilmesini kolaylaştırabilir. Temel verilere göre, anjiyogenez, hücre farklılaşması ve hücre mobilitesindeki anormallikler, plasenta oluşumunu normal süreçten sapmış bir şekilde etkileyerek hastalık belirtilerini tetiklemektedir. Literatür bilgisi, hücre biyolojisi ve diğer biyolojik disiplinler ışığında, hücresel mobilite, hücre metabolizması ve hücre farklılaşmasında rol oynayan miRNA'ların, preeklampsi patogenezinde önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir. miRNA'lar, protein kodlamayan ancak gen ifadesini mRNA düzeyinde düzenleyen kritik düzenleyici

RNA molekülleridir. Bu miRNA'ların ifade düzeyindeki değişiklikler, hücre içindeki mRNA-protein translasyon mekanizmalarını düzenleyerek hücresel davranışı modüle edebilir.

Tüm bunların ışığında, bu araştırma, çeşitli miRNA ifadesindeki değişikliklerin preeklampsi hastalığının temel mekanizmalarında önemli bir rol oynayabileceği hipotezi üzerine kurulmuştur. Çalışmanın odak noktası, hücre metabolizması, hücre mobilitesi ve anjiyogenezi etkileyen yollar üzerinde düzenleyici etki gösteren miRNA'larının seçilmesi ve bu miRNA'ların ifade düzeylerinin değerlendirilmesidir. Sağlıklı ve preeklamptik anne adaylarından alınan plasenta, kordon ve plasenta yatağı örnekleri üzerinde, Real-Time PCR analizleri hedef miRNA (hsa-miR-183, hsa-miR-325, hsa-miR-101-3p, hsa-miR-224 ve hsa-miR-210) ifadesindeki değişikliklerin belirlenmesi amacıyla bu tez çalışmasına temel oluşturmuştur. Bu bağlamda, miRNA profillerinin incelenmesi, preeklampsi patogenezinin daha iyi anlaşılmasına ve etkili terapötik ajanların geliştirilmesine katkı sağlamayı amaçlamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Preeklampsi, miRNA, Real-Time, PCR, Plasenta

ABSTRACT

Expression Analysis of miRNAs in the Placenta, Placental Bed and Umbilical Cord Tissues of Patients With Preeclampsia

Tahaberk ATEŞOĞLU

Department of Molecular Biology and Genetics

Master of Science

Supervisor: Prof. Dr. Nehir ÖZDEMİR ÖZGENTÜRK

Preeclampsia represents a hypertensive complication within the gestational period, posing a consequential risk to both maternal and fetal/infant well-being. It stands atop the hierarchy of hypertensive pregnancy disorders in Turkey and ranks third globally. Presently, there exists no definitive therapeutic approach for this affliction, with termination of pregnancy being the sole conclusive intervention. However, elucidation of the fundamental mechanistic underpinnings is imperative for the formulation of efficacious therapeutic modalities. Concurrently, such understanding holds promise for the delineation of etiological factors, facilitating the development of preventive strategies.

Foundational data suggests that aberrations in angiogenesis, cell differentiation, and cell mobility disturb the normative course of placental formation, precipitating the symptomatic manifestation of the disease. Drawing upon the amalgamated knowledge from cellular biology and allied biological disciplines, microRNAs (miRNAs) emerge as pivotal regulatory entities anticipated to wield substantive influence in the pathogenesis of preeclampsia. miRNAs, non-coding RNA molecules, orchestrate gene expression at the mRNA level, exerting regulatory control sans protein encoding. Alterations in the expression levels of these miRNAs

can intricately modulate cellular behavior via the regulation of mRNA-protein translation mechanisms intracellularly.

Within this purview, this investigation is grounded in the hypothesis that nuanced alterations in diverse miRNA expressions significantly underpin the fundamental mechanistic landscape of preeclampsia. The study focalizes on the judicious selection of miRNAs governing pathways germane to cell metabolism, cell mobility, and angiogenesis, with a concomitant evaluation of their expression profiles. Real-Time PCR analyses, conducted on samples derived from the placentas, cords, and placental beds of both healthy and preeclamptic cohorts, form the foundational basis of this scholarly inquiry, seeking to delineate shifts in target miRNA (hsa-miR-183, hsa-miR-325, hsa-miR-101-3p, hsa-miR-224 ve hsa-miR-210) expression. In this comprehensive framework, the scrutiny of miRNA profiles aspires to contribute substantively to an enhanced comprehension of preeclampsia's pathogenesis and facilitate the development of efficacious therapeutic modalities.

Keywords: Preeclampsia, miRNA, Real-Time, PCR, Placenta

1
GİRİŞ

1.1 Preeklampsi

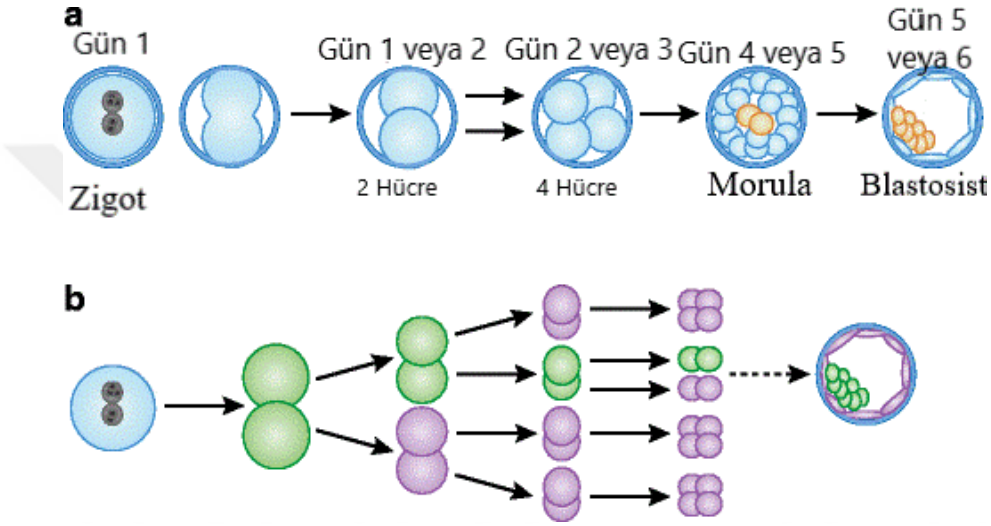
Gebelik, normal fizyolojik olaylardan meydana gelen üreme sürecinin bir parçasıdır. Bu süreçte gelişen birçok komplikasyonlara zamanında ve gerekli müdahalenin gerçekleşememesi sebebiyle anne veya bebekler kaybedilebilmektedir. Bu komplikasyonlardan biri olan olan preeklampsi, hipertansif gebelik bozukluklarından biridir. Preeklampsi, önemli ve kompleks bir hastalık olarak karşımıza çıkmaktadır.

TÜİK verilerine göre hipertansif gebelik hastalıklarına bağlı anne ölümlerinin en büyük sebebi preeklamsidir (TÜİK, 2019). Bu komplikasyon, dünyada anne ölümleri arasında ilk üç nedenden biri olarak yer tutmaktadır ve tüm gebelerin %5-%7'sini etkilemektedir (Gracia, 2009; Abalos ve ark., 2013). Anne ölümlerinin yanı sıra her sene 500.000 fetal ölümden sorumluyken 500.000'den fazla erken doğumla da olumsuz etkisini göstermektedir (Rana ve ark., 2019; Dimitriadis ve ark., 2023). Tedavi seçenekleri incelendiğinde ise plasentayı anneden uzaklaştırmak tek kesin seçenek olarak gözükmektedir. Plasentayı anneden uzaklaştırmak gebeliği sonlandırmak veya erken doğum anlamına geleceğinden bu bir tedavi sayılamayacaktır. Hastalığın gelişimi tam olarak aydınlatılamamıştır ancak hücre farklılaşması ve plasenta oluşumunda meydana gelen çeşitli kusurlardan ortaya çıktığı düşünülmektedir (WHO, 1988; Ananth ve ark., 2013; Dimitriadis ve ark., 2023).

1.1.1 Gebelik

Gebelik, fertilize edilmiş yumurtanın implantasyonu sonrasında başlayan ve intrauterin gelişimin meydana geldiği bir süreci ifade etmektedir. Bu süreç, doğal veya yardımcı üreme teknolojileri aracılığıyla gerçekleşebilmektedir ve uterus içinde embriyonun gelişimini kapsamaktadır (Pascual ZN ve Langaker MD, 2023). Gebelik, genellikle kendiliğinden oluşan bir durum olmakla birlikte, medikal müdahalelerle başlatılabilir veya sonlandırılabilir. Embriyogenez, döllenmiş yumurtanın embriyona dönüşümünü kapsayan kompleks bir biyolojik süreçtir (A. Lee ve Kiessling, 2017). Bu süreç, hücresel bölünme, farklılaşma ve organogenez

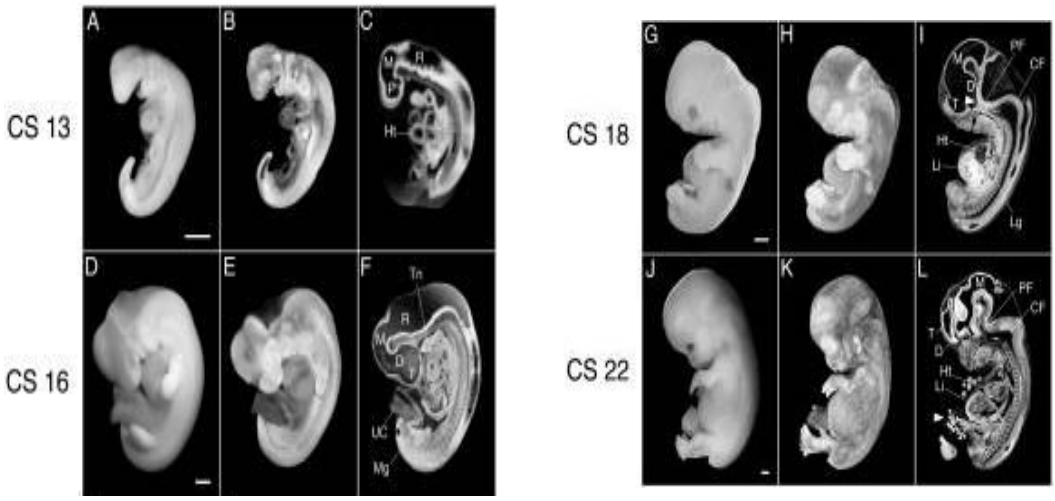
aşamalarını içermektedir. Embriyoya dönüşen blastosist, endometriyal tabakaya başarıyla implantasyon yaparak gebeliğin başlangıcını işaret etmektedir (Şekil 1.1). Bu aşama, intrauterin gelişimin devamı için kritik bir öneme sahiptir ve implantasyon, uterusun iç tabakasına embriyonun başarılı yerleşimi anlamına gelmektedir. Annede meydana gelen birkaç hormonal ve fizyolojik değişiklik sonrası blastosist embriyoya dönüşmektedir. İmplantasyondan 8-10 hafta kadar sonra embriyo artık fetüs olarak isimlendirilmektedir (A. Lee ve Kiessling, 2017; Donovan MF ve Cascella M, 2023; Pascual ZN ve Langaker MD, 2023).



Şekil 1.1 Zigot oluşumundan blastosist evresine kadar geçen aşamalar. A. Birinci gün döllenme ile oluşan zigot bir dizi bölünme geçirerek 4 veya 5. gün 8-16 hücreli morula formuna ulaşmaktadır. Blastosist formunun içinde kalacak hücrelerin (embriyoblast, iç hücre kitlesi) kökeni olan iki hücre merkezde konumlanmaktadır. Blastosist evresinde dışarıda kalan hücreler ise plasentayı oluşturacak olan trofoblasta bağlanmaktadırlar. B. Erken gelişimde teorik anöploidi (A. Lee ve Kiessling, 2017)

Gebelik süresi, yaklaşık 38 hafta olarak bilinmektedir; ancak hesaplamalar genellikle son adet tarihinden itibaren yapıldığından dolayı süre genellikle 40 hafta (280 gün) olarak kabul edilmektedir (Kushtagi, 2006). Gebelik süreci, genellikle üç trimestere ayrılmaktadır (Tablo 1.1) (Sawin ve Morgan, 1996). Birinci trimester sürecinin sonunda, fetüsün tüm vücut sistemleri oluşmuş olabilmektedir; ancak bu aşamada, fetüs henüz anneden bağımsız bir şekilde dış ortamda yaşamını sürdüremez. Bu dönem, embriyonun en savunmasız ve kritik evresini içermektedir (Yamada ve ark., 2010). Embriyolojik süreçler incelendiğinde, gebeliğin 3. ila 8.

haftaları arasındaki dönem organogenezin gerçekleştiği evreler olarak tanımlanmaktadır. Bu süre zarfında, embriyo ve fetüsün temel vücut organları ve sistemleri oluşmaya başlamaktadır. (Şekil 1.2) (Yamada ve ark., 2010; Donovan MF ve Cascella M, 2023). Çalışmamızın konusu olan preeklampsi gibi hastalık ve komplikasyonlar genellikle üçüncü trimester döneminde saptanabilir bir hal almaktadır (Burton ve ark., 2019; Turco ve ark., 2019). Bunların yanı sıra bebeğin neredeyse tüm organ yapılarının belirgin şekilde oluşmuş olması bu dönemde ortaya çıkan komplikasyonların hasarlarını kalıcı hale getirmektedir. Gebeliği üç trimester sürecine bölerek izlemenin yanında, embriyonik gelişimi daha ayrıntılı değerlendirmek amacıyla kullanılan bir sınıflandırma olan ve 23 aşamadan oluşan Carnegie aşamaları (CS) olarak belirli evreler belirlenmiştir (Hill, 2023). Bu aşamalar, embriyonik gelişimin hassas aşamalarını daha spesifik bir şekilde tanımlamak için kullanılmaktadır. CS 1, döllenmiş yumurtanın bölünmesini ve zigotun hücre kümesini oluşturduğu zamanı temsil etmektedir. Bu aşamadan itibaren embriyonik gelişim belirli evrelerde sınıflandırılmaya devam etmektedir. Yetişkin vücudundaki tanımlanabilir yapıların %90'ından fazlası CS23'e kadar ortaya çıkmaktadır (Yamada ve ark., 2010). Bir diğer süreç olan organogenez incelendiğinde, üçüncü hafta sürecinde ektoderm, mezoderm, endoderm olarak isimlendirilen üç farklı hücre katmanı oluşmaktadır (Rehman B ve Muzio MR, 2023). Bu süreç gastrulasyon olarak adlandırılmaktadır (Solnica-Krezel ve Sepich, 2012). Endoderm tabaka, solunum ve gastrointestinal sistemin yanında timüs ve mesaneyi oluşturan hücreler grubudur (Pascual ZN ve Langaker MD, 2023). Mezoderm tabaka, dolaşım ve lenf sisteminin yanı sıra kemik, kaslar ve birçok iç organı oluşturmak üzere farklılaşmaktadır (Zorn ve Wells, 2009). Ektoderm tabaka ise deri, duyu organlarının bir kısmı ve sinir sistemi oluşumunun kökenini oluşturan hücreler topluluğudur (Hickling ve ark., 2015; Donovan MF ve Cascella M, 2023). Organogenez sırasında ilk oluşan sistem, kardiyovasküler sistemdir ve kalbin daha 4. hafta sonunda dört odacığı oluşmuş olmaktadır (Donovan MF ve Cascella M, 2023). Akciğer gelişimi ise doğuma kadar devam eden psödoglandüler aşamayı, epitel ve düz kas hücresi farklılaşmasını içeren bir süreçtir (Schittny, 2017). Pankreas endoderm kökenlidir ve gelişimi için 7. hafta oldukça kritiktir. Endodermal kökenli olan karaciğer ise 3. hafta ortaya çıkmaktadır fakat 5.-10. haftalar arasında hızlı bir büyüme göstermektedir (Giancotti ve ark., 2019; Donovan MF ve Cascella M, 2023).



Şekil 1.2 İnsan embriyosunun çeşitli CS'daki embriyo gelişimi (Yamada ve ark., 2010)

Tüm memelilerde, nörülasyon, ektoderm içindeki nöral plakanın uyarılmasıyla gerçekleşmektedir (Silbereis ve ark., 2016). Bunu CS8'e karşılık gelen nöral oluğun ortaya çıkışı takip etmektedir (O'Rahilly R ve Muller F, 2006). Daha sonra ise nöral tüp, CS11 ve CS12'de oluşmaktadır (Silbereis ve ark., 2016). Nöral tüp beynin üç ana kısmına (prosensefalon, mezensefalon ve rombensefalon) dönüşecek şekilde farklılaşmaktadır (O'Rahilly R ve Muller F, 2006; Yamada ve ark., 2010). Daha sonra bu üç ana kesecik alt bölümlere gelişmektedir ve süreç geçtikçe hızlıca büyümeye devam etmektedir. Miyelin kılıfların oluşması, glial hücrelerin üretilmesi ise büyük ölçüde doğumdan sonra gerçekleşmektedir ve gelişmeye devam etmektedir (Miller ve ark., 2012; Silbereis ve ark., 2016).

Tablo 1.1 Gebelik sürecindeki üç trimester sürecindeki olaylar

Süreçler	Denk Geldiği Zaman Aralığı	Gerçekleşen Durumlar
Birinci Trimester	0-12. hafta	Amniyotik kese, plasenta ve kordon bağı oluşmaktadır. İlk 8 hafta sonunda sinir, dolaşım, boşaltım, sindirim organları gelişmeye ve çalışmaya devam etmektedir. 9-12. hafta aralıklarında ise tırnaklar belirginleşir ve göz kapakları oluşmaktadır. Ayrıca larenks oluşmaya başlamaktadır.
İkinci Trimester	13-27. hafta	Fetus sesleri duyabilecek şekilde gelişimine devam etmektedir. Belirli uyaranlara tepki verebilmektedir. Emme refleksini geliştirmektedir. Beyin 20. haftadan itibaren en büyük gelişim sürecine başlamaktadır. Bu sebeple kritik bir dönemdir.
Üçüncü Trimester	28.hafta-Doğum	Fetüs baş parmağını emebilir şekilde gelişmektedir. Beyin, akciğer ve böbrek olgunlaşma süreçlerine devam etmektedir.

Gebelik doğal bir şekilde ilerlediğinde doğum ile son bulmaktadır. Doğumun nasıl başladığına dair iki ana fikir bulunmaktadır. Bunlardan birisi, progesterondaki gerileme sonucunda rahim duvarlarındaki mekanik gerilmenin tetiklendiği fikridir. Bir diğer fikir ise, prostaglandinler gibi inflamatuar faktörlerin uterus kasılmalarını başlatmada vazgeçilmez olduğunu ileri sürmektedir. Oksitosin ise doğum sırasında kasılmaların devam etmesini tetiklemektedir (Arrowsmith ve Wray, 2014; Pascual ZN ve Langaker MD, 2023).

1.1.1 Plasenta ve Plasental Yatak

İnsan fetüsü, anne rahminde bulunduğu sürece plasentaya bağımlıdır ve plasentasız hayatta kalamaz. Hatta plasenta bazı topluluklarca kutsal olarak görülmüştür. Halen devam eden bir gelenek olarak bile plasentanın gömülmesi ve doğan bireyin geleceğini etkileyeceği inancı mevcuttur. Anne-fetüs arasındaki eşsiz bağ olan plasentanın sağlıklı gelişimi, normal bir gebelik süreci için şarttır (Burton ve Fowden, 2015). Plansenta anneden kaynaklanan sinyallere ve fetüsten gelen talep yolaklarına göre düzenlemeler yapmaktadır. Bu şekilde anne kaynaklarını tamamen tüketmeden, fetüse gerekli ve yeterli düzeyde desteği sağlamaktadır (Burton ve Fowden, 2012). Bu şekilde plansenta, hamilelik süresince, annenin fizyolojik adaptasyonundan, gelişmekte olan embriyonun immünolojik kabulüne, beslenmesine ve desteklenmesine kadar çok sayıda görevi yerine getirmektedir (Knöfler ve ark., 2019). Plasenta, zigottan oluştuğundan dolayı zigot veya fetus ile aynı genetik yapıya sahiptir (Burton ve Fowden, 2015). Bu ekstraembriyonik membranın büyük kısmını meydana getirecek olan hücreler, trofektodermden farklılaşan trofoblastlardır. Plasenta oluşumunda yer alan diğer bir hücre topluluğu ise ekstra embriyonik mezoderm tabakasıdır (Burton ve ark., 2006; Burton ve Fowden, 2015). Bu kısım, damar ağının ve Hofbauer hücrelerinin köken aldığı stromal çekirdeği oluşturmaktadır (Reyes ve Golos, 2018; Davies ve Perri, 2022).

Plasentanın yüzeyi incelendiğinde, fetusa dönük olan ve göbek kordonunun bağlı olduğu karyonik plaka ve annenin endometriyumuna bitişik olan bazal plakadır. Bu plakaların arasında villöz boşluk yer almaktadır. Villöz boşlukta yer alan açıklıklardan geçen anne kanı, rahim damarlarının açıklıklarına boşalıp, plasentadan çıkmadan önce villöz boşlukta süzülmektedir (Burton ve Fowden, 2012; Knöfler ve ark., 2019; Davies ve Perri, 2022).

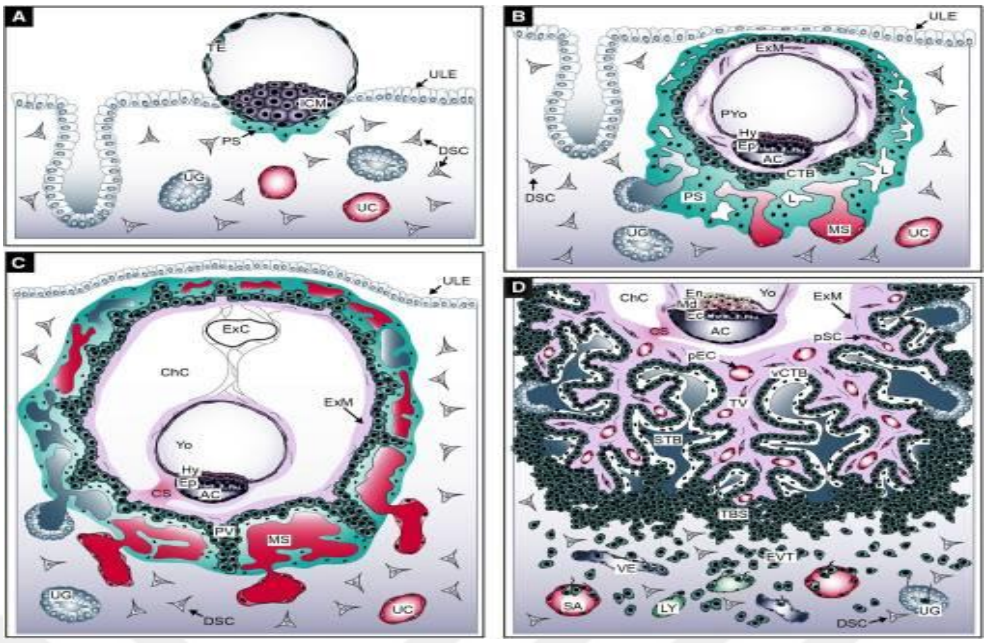
Plasental yatak plasentanın uterusa bağlandığı alanı tanımlamaktadır. Bu bölgenin olması gerektiği şekilde damarlanması, plasentanın ve fetüsün beslenmesi açısından kritiktir. Bu aşamada meydana gelen olumsuzluklar, preeklampsi gibi vaskülarizasyon kaynaklı problemlerin tetiklenmesinde rol oynayabilecektir. Annenin kan temini, yaklaşık 100 utero-plasental spiral arter tarafından sağlanır ve bu arterlerin dış çapları 200 ila 500 mikron arasında değişir. Utero-plasental spiral arterlerin miyometriyal segmentindeki fizyolojik değişikliklerdeki kusurlar,

özellikle hipertansif hastalıkla ilişkili preeklampside, proksimal segmentlerinde aterosklerozun varlığı, obstrüktif vasküler patolojinin bir nedenidir (Labarrere ve ark., 2017; Brosens ve ark., 2019).

Diğer yandan, iç miyometrium ve bazal desiduayı besleyen bazal arterler, fizyolojik değişimden etkilenmez ve kas-elastik yapılarını korurlar. Bu arterlerin dış çapları 120 mikrondan küçük olarak tanınabilir. Akut ateroz, çeşitli obstetrik durumlarla ilişkilendirilen plasenta yatağının içinde ve dışında bazal ve spiral arterlerde meydana gelen spesifik olmayan vasküler lezyonları ifade eder (Labarrere ve ark., 2017; Brosens ve ark., 2019; Harris ve ark., 2019).

1.1.1.1 Plasentanın Oluşumu ve Gelişimi

Daha önceden bahsedildiği gibi, plasentanın büyük kısmını meydana getirecek olan hücreler trofektodermden farklılaşmaktadır. Bu trofektoderm ise insan blastosistinin dış katmanını oluşturmaktadır ve döllenmeden yaklaşık olarak 4-5 gün sonra gelişmektedir (Şekil 1.3). Trofekteoderm, embriyoblastı dışarıdan ayırmaktadır ve sonrasında embriyoya uygun büyüme alanı oluşturmaktadır (Knöfler ve ark., 2019). 6. ve 7. günler civarında plasental gelişim başlamaktadır ve 8. gün sonunda trofektodermdeki kök hücreler farklılaşmaktadırlar. Bu farklılaşma sonunda oluşan hücrelerden biri olan çok hücreli ilkel sinsityum, ilk invaziv plasental hücre tipini temsil etmektedir (Gamage ve ark., 2016; Boss ve ark., 2018). Bu sırada embriyoblast, eş zamanlı olarak embriyo ve ilkel yolk kesesini oluşturan çift katmanlı bir epitel yapısını almaktadır. 10.gün plasental villusun gelişimi ve morfogenezi başlamaktadır. Hamileliğin 4. haftasında plasental damar sistemi ile fetüsün damar sistemi birleşmektedir (Knöfler ve ark., 2019).



Şekil 1.3 Gebeliğin ilk üç haftasında plasentanın gelişimi. **A**. İnsan blastosisti. İç hücre kitlesi ve çevresinde trofektoderm şekillenmiştir. **B**. İlk plasental yapılar. **C**. Primer vilus ve yolk kesesinin oluşumu. **D.** Üçüncü vilus ve embriyonik germ yapılarının gelişimi. DSC: Desidual Stromal Hücre, ExM: Ekstraembriyonik mesoderm, EVT: Ekstravillöz embriyoblast, ICM: İç hücre kitlesi (Embriyoblast), PS: Primitif Sinsityum TE: Trofektoderm, UC: Uterus kılcalları, UG: Uterus bezi, ULE: Uterus lumen epiteli, Yo: Yolk Kesesi (Knöfler ve ark., 2019)

Erken insan plasentası, ilk trimesterin sonuna doğru histotrofik beslenmeden hemotrofik beslenmeye geçişle oksijen geriliminde üç kat bir artış yaşamaktadır (Davies ve Perri, 2022). Ekstravillöz trofoblast hücreleri vasküler yeniden yapılanmaya eşlik etmektedirler ve annenin immün sistem hücreleri ile birlikte spiral arterlere doğru anne desiduasını istilaya başlamaktadırlar. Bu istila neticesinde spiral arter dönüşümüne öncelik etmektedir (Pijnenborg ve ark., 1980). Bu spiral arter yapılanmasının dengeli ve normal sürdürülememesi başta preeklampsi olmak üzere abort ve fetal büyüme sorunlarının ortaya çıkmasında en kritik etkendir (Brosens ve ark., 2019). Neticede ilk 3 ay anneden eritrosit akışı engellendiği için düşük bir oksijen gerilimi mevcuttur. Bu düşük oksijen gerilimi oldukça önemlidir çünkü organogenez sürecinde kök hücreleri serbest oksijen radikallerinden (ROS) korumaktadır. Fakat kritik olan bu dönemde hipoksi olmadığıdır, sadece düşük oksijen seviyeleri korunmaktadır (Davies ve Perri, 2022).

Plasenta gelişimine ve trofoblast kök hücrelerine etki eden transkripsiyon faktörleri hakkındaki bilgiler oldukça yetersiz kalmaktadır. Bilgimizin büyük kısmı insan ve fare trofoblastları arasındaki karşılaştırmalı analizlerden gelmektedir (Haider ve ark., 2018; Turco ve ark., 2018; Sheridan ve ark., 2021). 10-12. haftalarda trofoblastlar kümelerinin oluşturduğu kısıtlama ortadan kalkmaya başlamaktadır ve annenin kanı uterin spiral arterlerden, plasental intervillöz boşluğa iletilmektedir. Böylece artık hemotrofik beslenme dönemine geçilmektedir (Allerkamp ve ark., 2021; Davies ve Perri, 2022).

1.1.2.2 Plasental Taşınım

İnsan plasentası, 1350-5200 daltonluk çözünürleri serbestçe geçirmektedir (Willis ve ark., 1986; Thornburg ve ark., 1988). Sağlam plasental membran boyunca madde girişi veya çıkışı difüzyon, taşıma kanalları veya endositoz/eksozitoz süreçleriyle olabilmektedir. Solunum gazları gibi küçük hidrofobikler, plazma zarı boyunca difüzyona uğramaktadırlar. Bunların akışları membrana spesifik değişkenlerden çok konsantrasyona bağlıdır. Konsantrasyon gradyanı, anneye ait faktörlerle ve çevresel etkenlerle belirlenmektedir fakat ana etken kan akış hızıdır. Bu tür moleküllerin transportuna 'flow-limited' denilmektedir. Bunlara karşın, glikoz gibi hidrofilik moleküllerin konsantrasyon gradyanları daha sabittir ve bu sebeple yüzey alanı ve kalınlık gibi membrana spesifik parametreler daha önemli bir duruma gelmektedir. Glikoz aynı zamanda, plasentada, GLUT taşıyıcı ailesi olarak isimlendirilen bir protein grubu tarafından da taşınmaktadır. Amino asitler ise konsantrasyon gradientinin tersi yönde taşınması gerekebileceğinden aktif taşıma ile taşınabilmektedir. Tüm bu tarz taşıyıcı proteinlerin miktarı kısmen hormanal olarak kontrol edilmektedir. Örnek olarak, leptin, glukoz ve amino asit taşıyıcılarının ifadesini arttırmaktadır. Endositoz, insan plasentasında oldukça aktif bir süreçtir. Çeşitli proteinlerin yanı sıra immunoglobulin G (IgG) endositoz yoluyla plasentadan geçmektedir (Atkinson DE ve ark., 2006;Burton ve Fowden, 2015; Davies ve Perri, 2022).

1.1.2.3 Plasental Metabolizma

Plasenta, kendisine ve fetüse, besin ile oksijen sağlamak amacıyla annede birçok fizyolojik ve kimyasal süreci düzenlemektedir. En kritik düzenlemelere bakıldığında kan akış hızının ve annenin iştahının regülasyonudur. Diğer bir yandan

ise plasenta fetüse gelen oksijenin %40'ını tüketmektedir (Carter, 2000). Plasentanın bu potansiyel olumsuz etkilerini sınırlandırmak için özellikle anneden fetüse madde geçişi olan kılcal damar kısımlarında mitokondri ve endoplazmik retikulum bulunmamaktadır. Bu organeller fetal kılcal damarlardan daha uzak kısımlara yerleştirilmektedirler (Burton ve Fowden, 2015).

Plasentada glikoliz yolağı incelendiğinde, ortamda yeterli oksijen bulunmasına karşın glikozun bir kısmının sitrik asit döngüsü yoluyla CO_2'e dönüştürülmesi yerine %22'sinin laktik asite dönüştürüldüğü gözlenmektedir (Schneider, 2000). Bu durum, laktatı substrat olarak kullanamayan plasentanın, kullanabilen fetüs için kaynak ayırdığı anlamına geldiği düşünülmektedir. Ayrıca insan plasentasında poliol yolakları oldukça aktiftir ve ortamda yüksek miktarda sorbitol, mannitol, inositol ve ribitol bulunmaktadır (Jauniaux ve ark., 2005). Poliol yolları, pentoz fosfat yolu ile yakından ilişkilidir. Pentoz fosfat yolu ile indirgenmiş olan glutatyon yenilenmektedir ve antioksidan savunmanın düzgün çalışması sağlanmaktadır (Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat (NADPH) üretimi ile). Plasentada Warburg metabolizması kullanımı, oksijen tüketimini büyük ölçüde azaltmaktadır (Burton ve Fowden, 2015).

1.2 Preeklampsinin Patofizyolojisi ve Genetik Temeli

Preeklampsi, dünyada anne ölümleri arasında ilk üç nedenden biri olan ve tüm gebelerin %5-%7'sini etkileyen bir komplikasyondur (Ananth ve ark., 2013). Anne ölümlerinin yanı sıra her sene 500.000 fetal ölümden sorumluyken 500.000'den fazla erken doğumla olumsuz etkisini göstermektedir (Rana ve ark., 2019; Dimitriadis ve ark., 2023). Preeklampsi eş zamanlı hipertansiyon ve proteinürinin *de novo* gelişimi ile karakterize edilen bir hastalıktır (WHO, 2016). Bu komplikasyonun patogenizi halen net olarak aydınlatılamamıştır fakat hastalığın plasentada meydana gelen anjiyogenez, hücre farklılaşması ve dolayısıyla hücre metabolizması ile ilişkili süreçlerde meydana gelen kusurlardan kaynaklı olduğu açığa çıkmaya başlamıştır. Annenin immün sistemi de aynı şekilde trofoblastlara adapte olamadığı durumlarda trofoblast perfüzyonunda ve homeostazisinde sorunlar meydana gelecektir ve hipoksi ortaya çıkmış olacaktır (Ramos ve ark., 2017).

Preeklampsi, gebeliğin 20. haftasından sonra fark edilmektedir ve gelişmesindeki ilk faktör sitotrofoblast hücreleri ile endometriyal bezlerin aktivitesi arasındaki dengenin bozulması sonucu yanlış implantasyondur (Burton ve ark., 2019; Turco ve ark., 2019; Y. Wang ve ark., 2022). Döllenmeden sonraki 3. haftanın sonunda trofoblast hücrelerinin oluşturduğu katı kabuk, embriyoyu artan oksijen seviyelerinin ve ksenobiyotiklerin organogenezi bozabilecek olumsuz etkilerine karşı korumaktadır (Jaszczuk ve ark., 2022a). Öte yandan, endometriyal bezlerin salgılarında bulunan büyüme faktörleri trofoblastların gelişimini uyarmaktadır ve desidua ile endometriyal bezler arasında bir tür diyalog ortaya çıkar. Bu diyalogdaki bozulmalardan kaynaklı başta preeklampsi olmak üzere birçok gebelik hastalığı ortaya çıkabilmektedir (Turco ve ark., 2018; Jaszczuk ve ark., 2022).

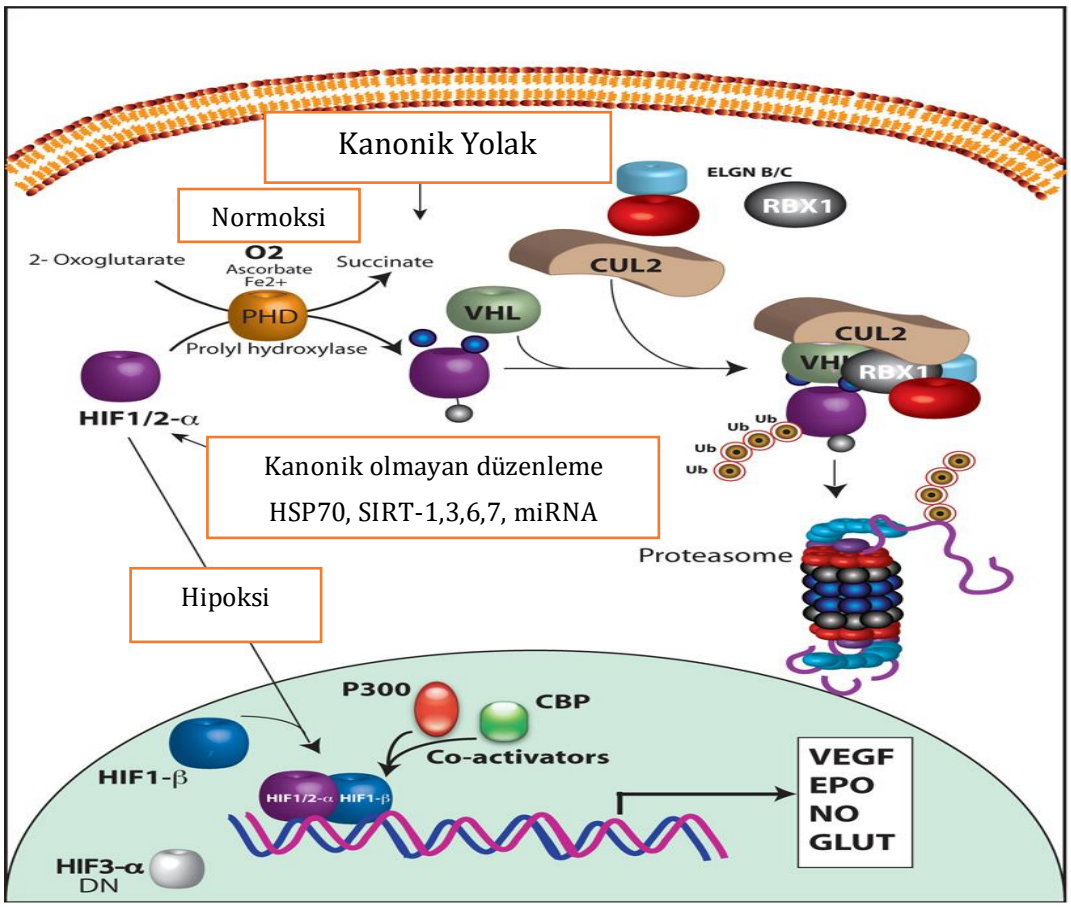
Preeklampsi, annede ilerleyici çoklu organ yetmezliği potansiyeli olan kronik bir komplikasyon olarak yorumlanmaktadır. Böbrekler, proteinüri ve glomerüler filtrasyonun bozulması ile kendini gösteren glomerüler endoteliyoz ve fokal sklerozdan müzdariptir. Karaciğerde iskemi meydana gelmektedir ve transaminaz düzeyleri yükselmektedir (Vikse ve ark., 2008; Ramos ve ark., 2017).

Preeklampsi esasında ikiye ayrılmaktadır: Plasentadaki kusurlardan köken alan erken preeklampsi ve plasentanın yaşlanması ve annedeki metabolik veya kardiyovasküler hastalıklara yatkınlık dolayısıyla ortaya çıkan geç preeklampsi (Christiansen ve ark., 2022). Hücre farklılaşması ve metabolizmasında ortaya çıkan çeşitli sorunlardan dolayı ortamda oksidatif stresin artması endotelyal nitrik asit sentazın fonksiyonunu bozmaktadır (Baker ve ark., 1995). Bu bozulma preeklampsinin temel nedenlerinden birisi olarak değerlendirilmektedir. Oluşan hipoksi durumu ve immün reaksiyonlara ek olarak meydana gelen reaktif oksijen türevleri apoptoz sürecini hızlandıracaktır (Burton ve ark., 2019). Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ve VEGF ailesinin bir üyesi olan plasental büyüme faktörü (PIGF) gibi pro-anjiyogenik faktörlere karşın antianjiyogenik faktörler lehine gelişen dengesizlik endotel disfonksiyonuna ve sınırlı plasental vaskülarizasyona sebep olmaktadır (Gustavo ve Karumanchi, 2010; Ramos ve ark., 2017). Bunun sonucunda homeostazi bozulmakta ve immün yanıt ortaya çıkmaktadır, neticesinde klinik semptomlar gözlenmeye başlanmaktadır. Farklı çalışmalarda, preeklampsili kadınların serumlarında antioksidan seviyelerinin oldukça düşük olduğu gösterilmiştir (Gupta ve ark., 2009 Ozturk ve ark., 2011).

Diğer yolaklar ve proteinler incelendiğinde göze çarpan bir diğer etken G protein sinyal yollarıdır. Bu proteinler kan basıncının düzenlenmesinde rol almaktadırlar. Bu protein α, β ve γ olmak üzere üç farklı alt birimden oluşmaktadır ve α alt birimi aktif iş yapan kısımdır (Gupta ve ark., 2009 Schwindinger ve ark., 2012). G protein α-14, hipertansiyon ve tümör vaskülarizasyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Zou ve ark., 2019). Preeklampside G protein γ-7 susturulmasının rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi (mTOR) sinyal yolağını aktive ettiği gösterilmiştir (Lai ve Ding, 2019). Farklı bir çalışma ise çatal uçlu kutu protein 1 (FOXP1)'in tükenmesinin, G protein γ-7'nin ekspresyonunu regüle ettiği gözlenmiştir (Sheng ve ark., 2019). FOXP1, embriyonik nöral kök hücrelerde önemli ölçüde yüksek eksprese edilmektedir (Braccioli ve ark., 2017; Lai ve Yu, 2021).

Yapılan farklı bir çalışmada dolaşımda çözünebilir fms benzeri tirozin kinaz 1 (sFlt-1) konsantrasyonundaki belirgin artış ve PIGF ile VEGF seviyelerindeki düşüş anjiyogenik proteinlerin, preeklampsideki önemini tekrar vurgulamaktadır (Levine ve ark., 2004; Oliveira ve Karumanchi, 2010). VEGF reseptörü Flt1'in transmembran ve sitoplazmik alanlardan yoksun bir ek varyantı olan sFlt1, güçlü bir VEGF ve PIGF antagonistidir (Tomimatsu ve ark., 2019). Preeklampsili hastalarda sFlt1/PIGF oranı önemli ölçüde artmaktadır (Kusanovic ve ark., 2009; Phipps ve ark., 2019). Bu olay anjiyogenezi inhibe edeceğinden veya yavaşlatacağından plasental hipoksi, oksidatif stres ve endotel duyarlılığı kaçınılmaz olacaktır. VEGF-A, anjiyogenezi düzenleyen ve endotel hücre proliferasyonunu tetikleyen en kritik büyüme faktörlerinden biridir. Diğer tüm proteinler VEGF-A ile ilişkilidir. VEGF-A transkripsiyonunu güçlendiren hipoksi ile indüklenebilir faktör (HIF-1) transkripsiyonel kompleksidir (Şekil 1.4) (Mutharasan ve ark., 2011). Bir heterodimer olan HIF-1'in hipoksiye yanıt veren alt birimi HIF-1α'dır ve β alt birimi ise yapısal nükleer proteinlerdir (Anton ve ark., 2013). HIF-1, VEGF-A geninin hipoksi yanıt elemanlarına bağlanmaktadır ve bir kompleks oluşturmaktadır (Wang ve ark., 1995). Normoksi koşullarda HIF-1α hızla denatüre edilir ve kompleks oluşamaz(Huang ve ark., 1998). VEGF-A hipoksi koşullarında hızla yukarı regüle edilirken PIGF ifadesi hipoksiden etkilenmez (Ahmed ve ark., 2000). VEGF reseptörü 1 (VEGFR-1) ve VEGF reseptörü 2 (VEGFR-2), VEGF-A ve PIGF için iki ana reseptördür (Vries ve ark., 1992; Ferrara

ve Davis-Smyth, 1997). VEGFR-1'in düzenleyici rolü VEGF bağlama aktivitesine bağlıdır. Bu reseptörün tirozin kinaz alanı, endotelyal hücre göçünün inhibisyonunda rol oynamaktadır (Gille H. ve ark., 2000). Preeklampsili hastalarda VEGFR-1 ekspresyonunun önemli ölçüde düştüğü gözlenmiştir (Tsatsaris ve ark., 2003).



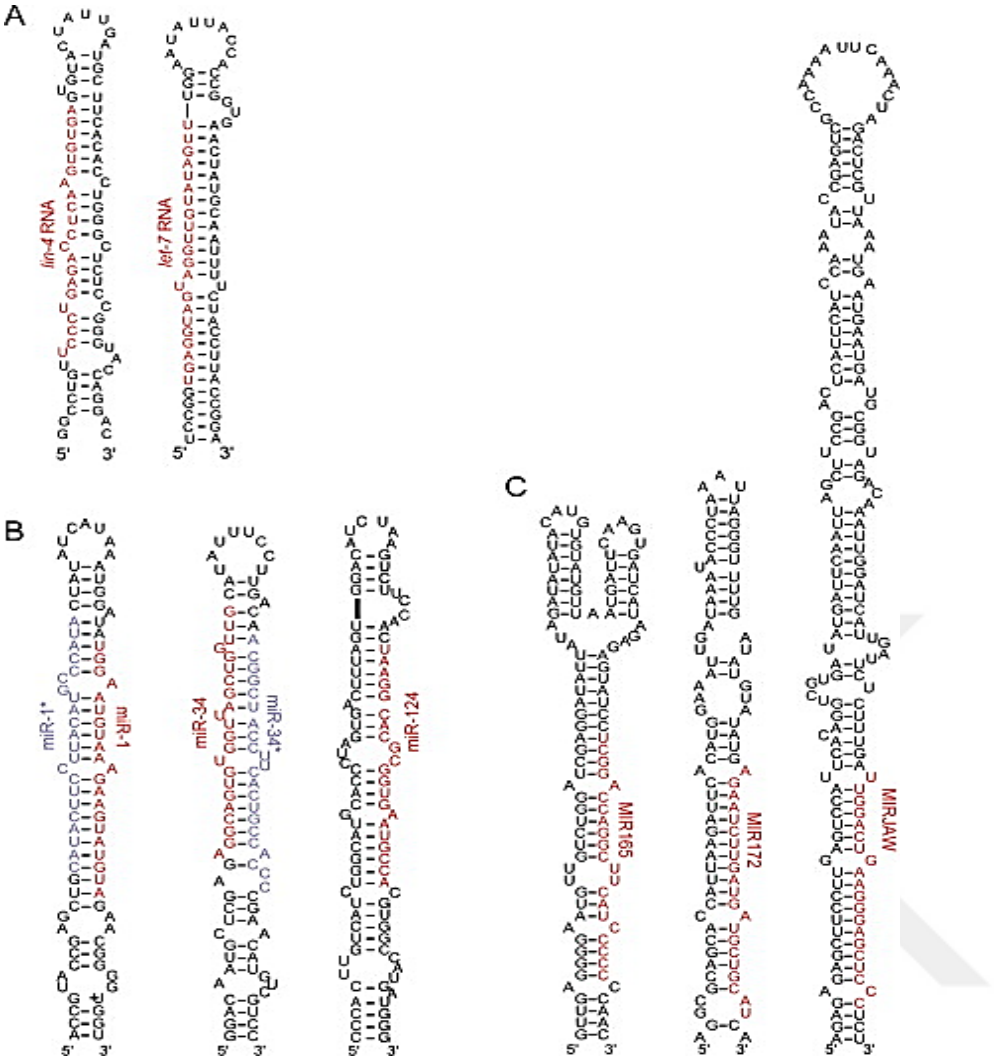
Şekil 1.4 HIF-1 düzenlemesinin şematik diyagramı. Normokside, HIF-1α, prolil-4-hidroksilazlar (PHD) tarafından modifiye edilmektedir. PHD enzimleri, oksijeni kofaktör olarak kullanıp Fe^{2+} ve oksoglutarat bağımlı dioksijenazlardır. PHD2, gelişimsel anjiyogenezin düzenlenmesinde kilit bir rol oynamaktadır ve silinmesi anjiyogenezi artırabilmektedir. HIF-1α'daki prolin kalıntılarının hidroksilasyonu, tümör baskılayıcı protein olan VHL tarafından tanınmaktadır. Daha sonra, ubikuitin ligazlarının katılımı ile HIF-1α proteasomal bozunur. HIF-2α da benzer bir mekanizma ile düzenlenmektedir. HIF-1α'nın kanonik olmayan düzenlemesi, şaperon aracılı sekestrasyon, NFκB'ye bağımlı sinyalleme ve mikroRNA ağını içermektedir (Ramakrishnan ve ark., 2014)

AMP - Aktive olan protein kinaz (AMPK), ökaryotlarda korunan katalitik bir α alt birimi ve düzenleyici β, γ alt birimlerinden oluşan bir heterotrimerik serin/treonin kinazdır (Hawley ve ark., 1995; Steinberg ve Kemp, 2009; Hardie ve ark., 2012). Glikoz ve lipit metabolizması, protein sentezi, otofaji, nitrik oksit sentezi ve anjiyogenez gibi birçok süreçte önemli rol oynamaktadır (Trewin ve ark., 2018). AMPK'nın plasental farklılaşmaya ve fetal büyümeye katkı sağladığı gösterilmiştir. AMPK yetersizliği, hatalı implantasyona sebep olmaktadır ve bu anjiyogenik dengesizlik nedenidir (Banek ve ark., 2013). AMPK aktivatörleri preeklamptik semptomları iyileştirmektedir, bu da AMPK'nın preeklampsinin potansiyel terapötik hedefi olduğunu göstermektedir (Kumagai ve ark., 2018). Bahsedilen tüm proteinlerin ifadesi küçük RNA molekülleri tarafından transkripsiyonel evrede düzenlenmektedir (Bartel, 2004). Bu sebeple burada meydana gelen regülasyon yakından incelenmelidir.

1.3 MikroRNA'lar

MikroRNA'lar (miRNA), protein kodlamayan ancak gen ifadesini mRNA düzeyinde düzenleyen kritik düzenleyici RNA molekülleridir (Şekil 1.5) (Bartel, 2004). Bu miRNA'ların ifade düzeyindeki değişiklikler, hücre içindeki mRNA-protein translasyon mekanizmalarını düzenleyerek hücresel davranışı modüle edebilir.

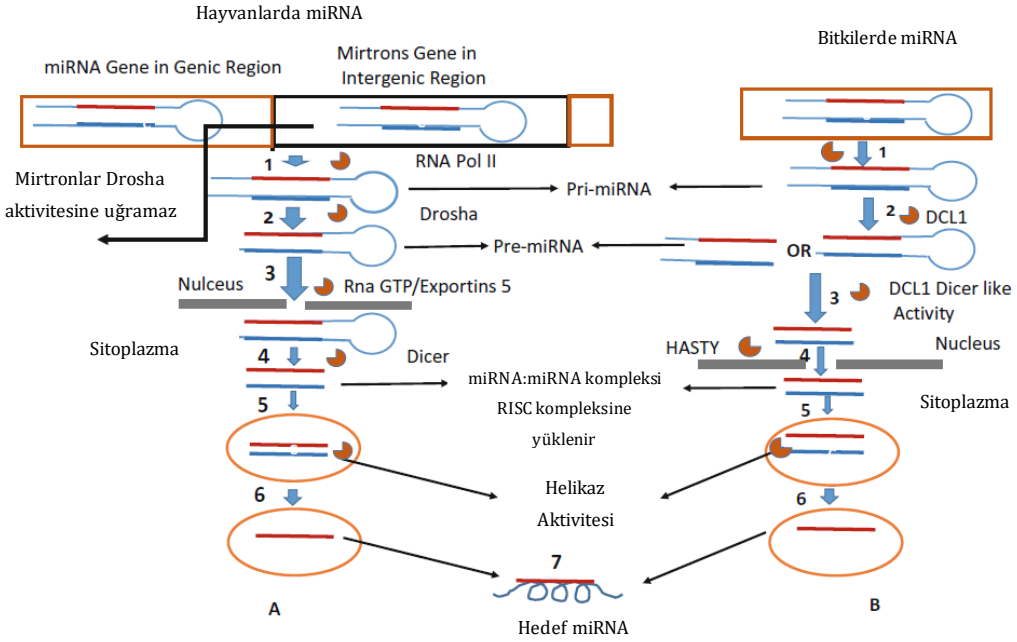
1993'te C. elegans üzerinde yapılan bir çalışmada, embriyonik gelişimin uygun zamanlama ile ilerlemesi lin-4 isimli bir protein kodlamayan genin işlevinin gerekli olduğu gösterilmiştir (Lee ve ark., 1993). Aynı çalışmada, lin-14 isimli proteini ifade eden gen bölgesinin 3'UTR bölgesine antisens olduğu keşfedilmiş ve mesajcı RNA (mRNA) seviyelerinde gözle görülür bir değişiklik olmadan protein miktarının önemli derecede azaldığı gözlenmiştir. lin-4 artık miRNA olarak isimlendirilen ribonükleik asit (RNA) grubunun kurucu üyesi olarak sınıflandırılmaktadır. Bu keşifler, çeşitli organizmalarda farklı miRNA'ların keşfiyle sonuçlanmaya başlamıştır. miRNA'lar, genetik materyalden doğrudan ifade edilen küçük RNA parçacıklarıdır (Bartel, 2004). Bu parçacıklar, sadece genetik ifadelerle sınırlı kalmayıp aynı zamanda intronlardan da türetilebilmektedir (Aravin ve ark., 2003; Lagos-Quintana ve ark., 2003).



Şekil 1.5 Metazoan miRNA'ların bazı örnekleri. Olgun miRNA'ları (kırmızı) ve yan diziyi içeren tahmini kök döngüler gösterilmiştir. miRNA'lar (mavi), deneysel olarak tanımlandıkları durumlarda da gösterilmiştir (Bartel, 2004)

Olgun miRNA, iki aşama sonucunda meydana gelmektedir: nükleer ve sitoplazmik bölünme. Nükleer aşamada miRNA'lar, kendi promotörleri veya diğer genlerin promotörleri aracılığıyla pri-miRNA olarak adlandırılan uzun bir dizi olarak transkribe edilir (Lee Y. ve ark., 2002). miRNA'nın büyük çoğunluğunun transkripsiyonu için RNA polimeraz II'nin sorumlu olduğu düşünülmektedir (Ohler ve ark., 2004; Ramchandran ve Raghavan, 2017). İntronlarda bulunan miRNA'lar ise mirtron olarak adlandırılır ve mirtronlar Drosha tarafından yapılan muameleyi atlamaktadırlar (Şekil 1.6) (Okamura ve ark., 2007; Ruby ve ark., 2007).

Pri-miRNA'nın bölünmesi, Drosha endonükleaz III tarafından gerçekleştirilmektedir (Lee ve ark., 2003). Bu enzim, sekonder forma geçmiş olan miRNA'nın her iki karşılıklı zincirini stem-loop bölgesine yakın bir konumdan kesmektedir (Basyuk ve ark., 2003). Burada oluşan RNA molekülü pre-miRNA olarak isimlendirilmektedir. RNaz III endonükleaz Drosha, Pasha olarak da bilinen çift sarmallı RNA bağlayıcı protein DiGeorge sendromu kritik bölge geni 8 (DGCR8) aracılığıyla çalışmaktadır. Pre-miRNA, 5' fosfat ve 3' ucunda 2 nükleotit çıkıntısı ile kademeli bir kesime sahiptir (Bartel, 2004; Prochazka ve ark., 2010).

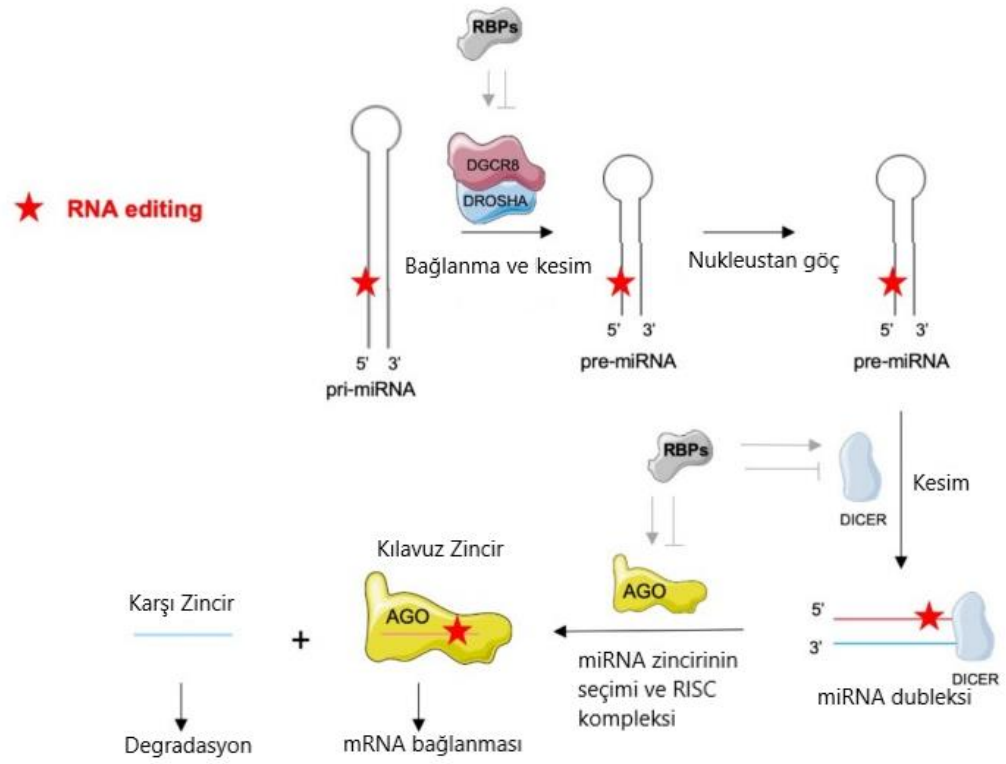


Şekil 1.6 Hayvan ve bitkilerde miRNA'ların olgunlaşma ve mRNA hedefleme süreci (Vishnoi ve Rani, 2017)

Sitoplazmadaki miRNA olgunlaşması, Dicer enzimi tarafından gerçekleştirilmektedir (Y. Lee ve ark., 2003). Dicer enzimi, kesim bölgesini, stem-loop bölgesinin helikal kıvrımından tanımaktadır. Dicer, helikaz, bir PAZ alanı, çift sarmalı tanıyan RNA bağlama domaini ve bir RNA III domaini varlığıyla karakterize edilmektedir (Vishnoi ve Rani, 2017). PAZ domaini 3′ sarkıntısını tanımaktadır (Lingel ve ark., 2003; MacRae ve Doudna, 2007). Buradan gelen miRNA, RNA kaynaklı susturma kompleksinin (RISC) bir parçası olarak çalışacaktır (Schwarz ve ark., 2002). RISC'nin katalitik bir bileşeni olan AGO proteini, miRNA'nın alınmasına ve Dicer'ın miRNA'dan ayrılmasına yardımcı olmaktadır ve hatta, bazı durumlarda, endonükleaz aktivitesine sahip olan AGO2, hangi miRNA zincirinin olgun olarak kabul edileceğine karar verilmesine yardımcı

olmak amacıyla 3’ ucu parçalamaktadır (Sanghvi ve Steel, 2011; Vishnoi ve Rani, 2017). Özetle, pri-miRNA, DROSHA ve DGCR8 enzimlerini içeren bir kompleks tarafından pre-miRNA’ya dönüştürülmektedir. Yeni oluşan pre-miRNA’lar DICER enziminin yanında Trans-aktivasyon respons RNA-binding protein (TRBP) gibi kofaktörler tarafından muamele edilmek üzere sitoplazmaya gönderilmektedir (Y. Lee ve ark., 2006; Ma ve ark., 2008). Olgun miRNA çift zinciri işlendikten sonra RISC ve seçilmiş olan zincir, AGO proteinine bağlanmaktadır ve mRNA’yı hedeflemektedir (Vishnoi ve Rani, 2017).

miRNA’ların düzenlenmelerine bakıldığında oldukça geniş bir pencere karşımıza çıkmaktadır. Bu düzenlemelerin başında RNA editing yer almaktadır (Şekil 1.7). RNA editing, genomda değişiklik meydana gelmeden, RNA üzerinde değişiklik meydana gelmesi olarak ifade edilebilmektedir (Sousa ve ark., 2019). Burada en önemli proteinlerden birisi olan RNA üzerinde etkili olan adenozin deaminazlar (ADAR) adenozinin inosine dönüştürülmesini tetiklemektedirler (Yang ve ark., 2006). Memelilerde ADAR kodlayan 3 farklı gen tanımlanmıştır (Melcher T. ve ark., 1996; Yang ve ark., 2006). ADAR1, hücre tiplerine göre her yerde farklı ifade edilirken ADAR2, ADAR1’in az ifade edildiği hücre tiplerinde ve beyinde yüksek anlatıma sahiptir(Sousa ve ark., 2019; Xu ve Öhman, 2019). ADAR3’ün ise katalitik aktivitesi yoktur ve üretimi testisler ile beyine özgüdür (Melcher ve ark., 1996; Sousa ve ark., 2019). ADAR’lar embriyogenez sırasında gereklidir ve yokluğunda embriyogenez gerçekleşemez (Hartner ve ark., 2004; Hartner ve ark., 2009). ADAR proteinleri, pre-miRNA, pre-miRNA ve miRNA çift zinciri üzerinde de düzenleme yapabilmektedir. Ayrıca bu proteinler DICER ile etkileşime girerek miRNA’yı düzenlemektedir. miRNA düzenlemesine katılan bir diğer protein ailesi Aktivasyonla indüklenen deaminaz/Apolipoprotein B düzenleyici katalitik polipeptitler (AID/APOBEC) içeren komplekstir (Rosenberg ve ark., 2011; Salter ve ark., 2016). Bu düzenleme genellikle AU zengin bölgelerde görülmektedir ve sitidinden uridine dönüşümü katalizlemektedir (Blanc ve Davidson, 2010). RNA editing dışında tek nükleotit polimorfizmi (SNP) ve epigenetik düzenlemeler miRNA aktivitesini düzenleyen diğer mekanizmalardır (Sousa ve ark., 2019).



Şekil 1.7 RNA editing sisteminin gösterimi. Kırmızı yıldız olarak gösterilen bir düzenleme, DROSHA-DGCR8 enzim kompleksinin veya DICER enziminin aktivitesini regüle ederek AGO proteinine bağlanmayı değiştirmektedir. Bu şekilde miRNA olgunlaşması ve aktivitesi düzenlemiş olmaktadır (Sousa ve ark., 2019)

1.4 Preeklampsi ve miRNA

Literatür incelendiğinde, plasentaya özgü salgılanan eksozomların düzenleyici T hücrelerinin farklılaşmasını başlattığı ve nükleer faktör-κB (NF-κB) yolağını baskıladığı ortaya çıkmıştır (Matsubara ve ark., 2021). Bu bağlamda, miRNA'ların geniş bir yelpazede etki gösterebildiği açıkça gösterilmiştir.

Plasental miRNA'ların detaylı bir analizi, özellikle imprinted-genlerin rolüne odaklanılmalıdır. Bu genler, özellikle kritik gelişim aşamalarında aktif hale gelmektedir (Ogoyama ve ark., 2022). Kromozom 19 miRNA kümesi (C19MC), Chr19q13 bölgesinden babadan alınan alelde bulunmaktadır (Morales-Prieto ve ark., 2013). Bu bölge, insan genomundaki en geniş miRNA kümesini temsil ederek 59 olgun ve 46 pre-miRNA ifade eden bir konum içermektedir (Ouyang ve ark.,

2014; Fóthi ve ark., 2021). C19MC, neredeyse sadece plasentada ifade edilen bir bölge olarak öne çıkmaktadır (Luo ve ark., 2009). C19MC kümesinin anlatımı, gebeliğin 5. haftasından başlayarak üçüncü trimester boyunca plasental trofoblastlarda gözlenmektedir (Ogoyama ve ark., 2022). Bu bölge, metilasyon yoluyla kontrol edilen CpG açısından zengin bir promotör bölgesine sahiptir (Flor ve ark., 2012). Diğer bir imprinted-gen bölgesi olan kromozom 14 miRNA kümesi (C14MC), 52 miRNA genini içermektedir (Morales-Prieto ve ark., 2012; Morales-Prieto ve ark., 2013). Bu bölge, plasenta ve epitel dokularda ifade edilmektedir. C14MC'nin ifadesi birinci trimesterde zirve yaparken süreç ilerledikçe azalmaktadır (Gonzalez ve ark., 2021; Ogoyama ve ark., 2022).

Bozulmuş miRNA ifadeleri, farklı hücresel yolakları etkileyerek, doğal düzenlemelerden saparak evrilen bir sürecin başlangıcına neden olmaktadır. Preeklampsi durumunda, bazı miRNA'ların anormal ekspresyonları literatürde yer bulmuştur. Hücre içinde gen düzenlemesinde yüksek düzeyde regülatör etki gösteren miRNA'ların ifadelerindeki değişiklikler beklenen bir durumdur. Detaylı incelendiğinde, bazı miRNA'ların hipoksi koşullarında arttığı gözlemlenmektedir. Bu miRNA'lar, hipoksemiR'ler olarak bilinmesiyle beraber normal ve transforme olmuş hücrelerde ifade edilmektedir (Nakayama, 2009; Y. Zhang ve ark., 2012). Özellikle miR-210, hipoksemiR ailesinde önemli bir konumda bulunur ve hücre proliferasyonunu, anjiyogenezin durmasını, mitokondriyal solunumu engellemeyi ve DNA onarımını düzenlemeyi içeren çeşitli rolleri vardır (Fasanaro ve ark., 2009; Jaszczuk ve ark., 2022). Hipoksi durumunda, HIF'ler nükleusa giderek anjiyogenez ve eritropoezde rol oynayan genleri aktive etmektedir (Anton ve ark., 2013). miR-210 seviyeleri hem HIF'e bağımlı hem de HIF'den bağımsız olarak düzenlenebilir (Mutharasan ve ark., 2011; Jaszczuk ve ark., 2022b).

Diğer bir ilginç miRNA olan miR-183, FOXP1 ve G protein γ-7'nin ifadesi ile sıkı bir ilişki içerisindedir (W. Lai ve Yu, 2021). Bu proteinler mTOR ile etkileşimde bulunur ve mTOR, AMPK ile yakından bağlantılıdır (Jo ve ark., 2019). Ayrıca AMPK, hipoksi tarafından tetiklenebilen bir proteindir (Salminen ve ark., 2016). mir-183, bu kompleks yapıdaki düzenlemelerde önemli bir rol oynayabilmektedir. Ayrıca FOXP1, VEGF ile yakından çalışarak anjiyogenezi düzenlemektedir ve artan FOXP1 ekspresyonu VEGF üzerinden anjiyogenezi arttırmaktadır. Bu sebeple artmış hsa-miR-183 ifadesi anjiyogenezi azaltacaktır. hsa-miR-183

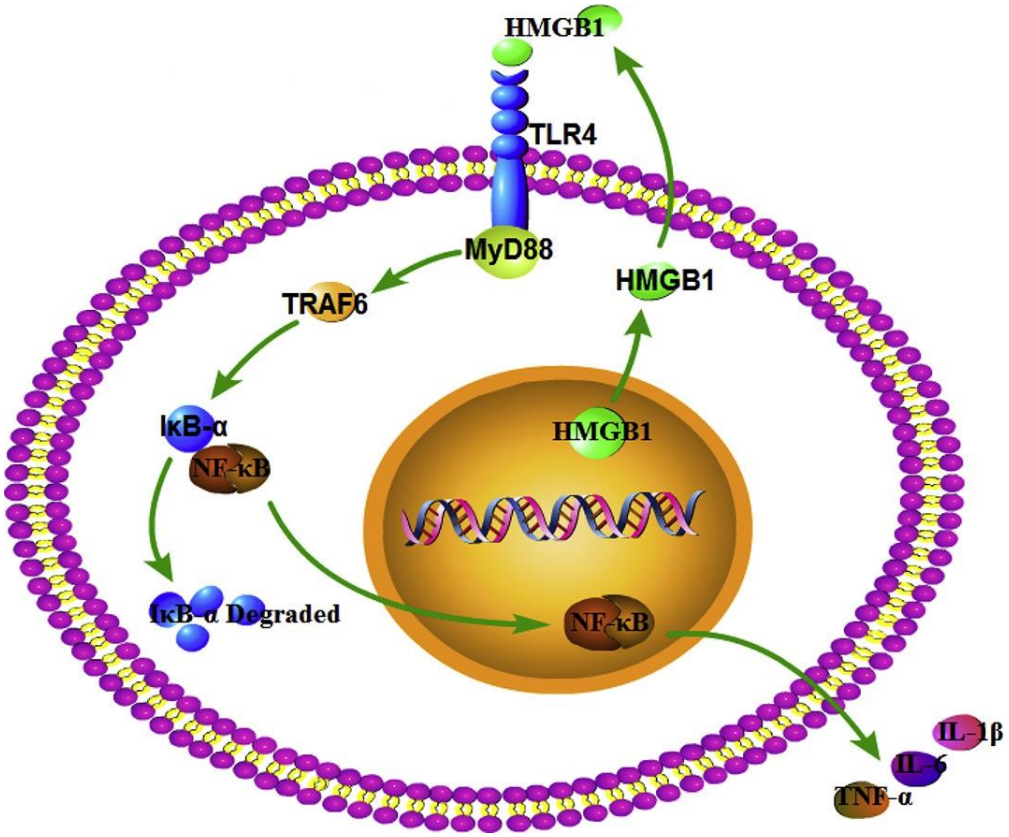
ifadesinin kontrolü beta-catenin ve p53 üzerinden sağlanmaktadır. Bu miRNA'nın promotör bölgesinde p53 binding domain bölgesi mevcuttur. miR-101 incelendiğinde, bu miRNA'nın bromodomain içeren protein 4'ün (BRD4) regülasyonunda rol oynadığı görülmektedir (Cui ve ark., 2020). BRD4, NF-κB ile etkileşime girerek transkripsiyonel aktivitesini modüle edebilmektedir (Zou ve ark., 2014). NF-κB, inflamasyon ve immün yanıt ile yakından ilişkilidir ve bu yolaktaki inaktivasyon, preeklampsi hastalığında hücresel hasarın temel sebeplerinden biri olabilecektir (Jimi ve ark., 2019). Bugüne kadar, miR-101'in anjiyogenezdeki rolü konusundaki bulgular çelişkilidir. VEGF, anjiyogenez için en önemli faktörlerden biridir (Mutharasan ve ark., 2011). miR-101, özellikle VEGF'in transkripsiyon sonrası düzenlenmesi üzerinden anjiyogenezin kilit düzenleyicisi olarak tanınır (Hu ve ark., 2022). Ayrıca, VEGF mRNA'sı, kolanjiyokarsinom hücrelerinde miR-101'in belirlenen hedeflerinden biridir (J. Zhang ve ark., 2013). miR-101, anjiyogenezi inhibe eden VEGF'in 3′-UTR'sini veya prostaglandin-endoperoksit sentaz-2 (COX-2) mRNA'yı doğrudan hedefleyerek VEGF veya COX-2 ekspresyonunu inhibe edebilir (Zhang ve ark., 2013). COX-2 hem dioksijenaz hem de peroksidaz olarak aktivite gösteren önemli bir enzimdir (Liu ve ark., 2018). Bir diğer miRNA olan hsa-miR-325, X kromozomunda bulunur ve ROS stresi, anjiyogenez, HIF proteini regülasyonu gibi birçok yolakta aktivite göstermektedir (Şekil 1.8) (Lázár ve ark., 2012). Bu nedenle, hsa-miR-325'in, özellikle küçük hücreli olmayan akciğer kanseri ve karaciğer kanseri gibi hastalıklarda incelenmeye değer bir hedef olduğu düşünülmektedir (Yao ve ark., 2015; Li ve ark., 2021).

HMGB1'in parçalanması, mide kanseri hücrelerinin gelişimini ve yayılmasını, hücre kültürü deneylerinde ve canlı organizma koşullarında etkisiz hale getirmektedir (Huang ve ark., 2023). Bu durum, NF-κB yolu aracılığıyla gerçekleşmektedir (Şekil 1.9) (Yao ve ark., 2015). Ayrıca HMGB1 hücre içinde p53 ile yakından ilişkili olarak çalışmaktadır. HMGB1 nakavt embriyonik hücrelerde p53 ifadesinin arttığı gösterilmiştir (Livesey ve ark., 2012).



Şekil 1.8 hsa-miR-325'in X kromozomu üzerindeki lokusu kırmızı olarak gösterilmiştir (Stelzer ve ark., 2016)

Bu durumda birçok miRNA, hücre içindeki kritik proteinlerin ifadesini etkilemektedir. Ayrıca, bu miRNA'lardan herhangi birinin ifadesindeki bozulma, ardı ardına sıralanan bir dizi olayı tetiklemekte ve bu durum, preeklampsi içindeki rollerinin detaylı bir şekilde aydınlatılmasını gerektirmektedir.



Şekil 1.9 HMGB1 ve NF-κB arasındaki ilişkinin bir diyagramı. Hücreler tarafından salınan HMBG1 TLR4 tarafından salınarak NF-κB'nin nukleusa göç etmesini teşvik etmektedir. NF-κB ise bir dizi immün ve inflamatuar reaksiyona etki eden moleküllerin sentezini tetiklemektedir

2
MATERYAL METOD

2.1 Materyaller

Bu tez çalışmasında kullanılan cihazlar, kimyasal sarflar, kitler ve donanımlara eklerdeki tablolarda yer verilmiştir.

2.2 Metod

2.2.1 Örneklerin Toplanması

Bu tezin çalışılmasında 3 preeklamptik anne adayına ait plasenta, kordon ve plasenta yatağına ait dokular kullanılmıştır. Kontrol grubu olarak aynı dokular sağlıklı annelerden temin edilmiştir. Bu dokular İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi-Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı içerisinde Prof. Dr. Rıza MADAZLI ve ekip arkadaşları tarafından toplanmıştır. Tüm anne adayları 27-40. gebelik haftasında bulunmaktadır. Dokular doğum sırasında ve punch biyopsi yöntemi ile toplanmıştır. Örnekler uzun süreli saklama ve miRNA analizleri için sıvı azotta saklanmıştır.

Bu tez çalışması, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 20830 numaralı etik kurulunun izni ile yürütülmüştür.

2.2.2 Genlerin Belirlenmesi ve Primer Dizaynı

Bu çalışma çerçevesinde, literatürde yapılan taramalar ve Yıldız Teknik Üniversitesi Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümünde gerçekleştirilen önceki bir araştırmanın miR-seq verilerinin analizi temel alınmıştır. Analiz sonucunda belirlenen beş miRNA dizisi ile housekeeping olarak kullanılan U6 küçük nüklear RNA dizileri belirlenmiş ve bu hedeflenen miRNA'ları spesifik olarak hedefleyen primer diziler Tablo 2'de detaylı bir şekilde sunulmuştur.

Literatür taramaları, seçilen miRNA'ların biyolojik veya patolojik bağlamda potansiyel öneme sahip olduğunu göstermiştir. Bu nedenle, bu miRNA'ların

karakterizasyonunun daha iyi yapılması, hücresel düzeydeki işlevlerinin anlaşılması ve moleküler mekanizmaların araştırılması için önemli bir adımdır.

Tablo 2.1 Hedef miRNA dizilerine ait primerler

miRNA	Primer
U6	Kit içeriğinden tedarik edildi.
hsa-miR-210-3p	Forward: 5'-CTGTGCGTGTGACAGCG-3' (Nashtahosseini ve ark. 2021)
hsa-miR-101-3p	Forward: 5'-GCGTACAGTACTGTGATAA -3'
hsa-miR-224	Forward: 5' -GCTCAAGTCACTAGTGGTTC-3'
hsa-miR-183	Forward: 5'-GCTATGGCACTGGTAGAATT-3'
hsa-miR-325	Forward: 5'-GTCCTAGTAGGTGTCCAGT-3'

Primerler, üretici tarafından liyofilize edilmiş halde temin edilmiş ve 200 µM konsantrasyonuna getirilmek üzere nükleaz içermeyen su ile çözülmüştür. Daha sonra, primerlerin kullanımı için 10 µM'lik bir alt stok hazırlanarak işleme devam edilmiştir. Oluşturulan primer stokları, -20 °C derecede uygun koşullarda saklanmıştır.

Liyofilizasyon, primerlerin uzun süreli depolama süreçlerinde stabilite ve bütünlüklerini korumak için tercih edilen bir yöntemdir. Primerlerin çözücü ile çözülmesi, hızlı ve hassas bir şekilde kullanılmalarını sağlamış ve çeşitli deneyler için uygun konsantrasyonların elde edilmesine olanak tanımıştır. Elde edilen 10 µM'lik alt stoklar, moleküler biyoloji deneylerinde tekrarlı kullanım için bir depolama çözümü sunmaktadır. Stokların -20 °C derecede saklanması, primerlerin uzun süreli depolama sırasında aktivitelerinin ve performanslarının korunmasına yönelik alınan bir önlemdir.

2.2.3 Total RNA İzolasyonu

Bu çalışmada, total RNA izolasyonu "Nucleogene Total RNA Isolation" kiti kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İzole edilen RNA örnekleri, uzun vadeli depolama için -80 °C derecede muhafaza edilmiştir. Tüm deneysel işlemler, sonuçların güvenilirliğini artırmak amacıyla üç tekrarlı olarak yürütülmüştür. Üç tekrarlı deney tasarımı, elde edilen sonuçların tekrarlanabilirliğini değerlendirme ve istatistiksel güvenilirliği artırma amacını taşımaktadır. Bu, deneysel varyasyonu kontrol altında tutma ve elde edilen verilerin daha genel geçerliliğini sağlama adına önemli bir stratejidir.

2.2.4 RNA Miktar ve Saflık Tayini

Elde edilen tüm izole RNA örnekleri NanoDrop spektrofotometre (Thermo Scientific One/OneC Microvolume UV-Vis) kullanılarak saflık ve miktar analizlerine tabii tutulmuştur. İzole edilen kite ait elution buffer kullanılarak blank ölçümleri yapılmıştır ve RNA izolatlarından 1 µL alınarak cihazın hedef noktasına bırakılmıştır. Örneklerin saflık ve miktar tayinleri matematiksel veri olarak alınmıştır. Uygun görülmeyen RNA'lardan tekrar izolasyona gidilerek süreç tekrarlanmıştır.

2.2.5 miRNA cDNA Sentezi

Bu araştırmada, miRNA-cDNA sentezi için "Takara Mir-X^{TM} miRNA First-Strand Synthesis" kiti tercih edilmiş ve başlangıç materyali olan miRNA'nın cDNA'ya ters transkripsiyonu gerçekleştirilmiştir. Bu süreçte, miRNA'nın bütünlüğünü koruma amacıyla tüm aşamalar soğuk plaka üzerinde yürütülmüştür, zira düşük sıcaklık, nükleik asitlerin olası degredasyonunu minimize etme açısından kritik bir parametredir. Soğuk plaka üzerinde gerçekleştirilen hızlı işlemler, RNA'nın degredasyonunu en aza indirerek moleküler bütünlüğünü korumayı amaçlamış ve bu da elde edilen cDNA'nın güvenilirliğini artırmıştır.

Başlangıç miRNA'nın konsantrasyonu 500 ng/µl olarak belirlenmiş ve bu konsantrasyonda cDNA sentezi uygulanmıştır. Bu seviye, hedeflenen miktarda cDNA elde etmek için optimizasyonu sağlamıştır. Sentez işlemi sırasında, pipetleme ve karıştırma gibi adımlar özenle ve hızlı bir şekilde gerçekleştirilmiştir, bu da materyalin potansiyel degredasyonunu en aza indirmek için alınan bir önlemdir.

2.2.6 Real-Time PCR ve Erime Eğrisi

Bu araştırmada, Real-Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) kullanılmıştır (Mullis, 1990). Bu analiz için Thermo StepOnePlus cihazı ve "Takara TB Green qRT-PCR" kiti kullanılmıştır. Elde edilen cDNA örnekleri, 50 ng/µL konsantrasyona seyreltilmiştir. Real-Time PCR süreci, optimal bir konsantrasyon olan 8 ng/µL üzerinden gerçekleştirilmiştir.

cDNA örneklerinin 50 ng/µL seyreltilmesi, belirli bir konsantrasyon aralığında PCR reaksiyonlarının optimal performansını sağlamak amacıyla titiz bir şekilde belirlenmiştir. Elde edilen 8 ng/µL konsantrasyonu, deneylerin güvenilirliğini ve spesifikliğini artırmak için önceden optimize edilmiş bir değerdir.

Bu analitik süreç, miRNA ekspresyonunun belirlenmesi veya diğer genetik analizlerde hedeflenen genlerin hassas bir şekilde ölçülmesi için kullanılan standart bir metodolojiyi yansıtmaktadır.

Erime Eğrisi analizi, gerçekleştirilen amplifikasyonun doğruluğunu ve anlamlılığını değerlendirmek amacıyla titizlikle uygulanmıştır. Bu analiz yöntemi, amplifikasyonun spesifik ve homojen olduğunu doğrulamak için kullanılmıştır. Kontaminasyonların veya yan ürünlerin tespiti için Erime Eğrisi analizi, belirgin düşük tepe sıcaklıkları, tepe noktasında sağa veya sola kaymalar ile farklı şekil değişiklikleri gibi karakteristik özellikleri göz önüne sermektedir. Bu adımlar, elde edilen verilerin güvenilirliğini ve sonuçların bilimsel geçerliliğini sağlamak amacıyla ayrıntılı bir kalite kontrolü olarak her Real-Time PCR tekrarının son aşamasında gerçekleştirilmiştir. Tüm analizler 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

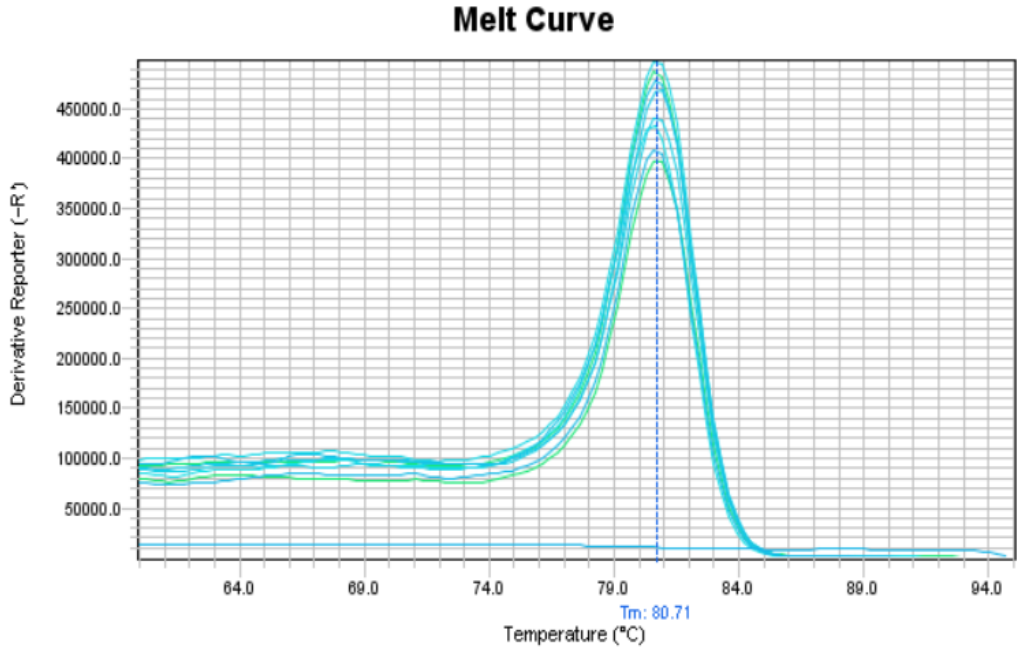
2.2.7 İstatistiksel Analiz

Real-Time PCR sonuçlarının detaylı bir analizi için $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi benimsenmiştir (Livak ve Schmittgen, 2001; Pfaffl, 2001). Bu yöntem, elde edilen sonuçların yorumlanmasını amaçlamaktadır. Ayrıca sonuçların anlamlılığının tayini amacıyla $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerinin logaritması alınmıştır. Ct ortalamalarının hesaplanmasında geometrik ortalamaya başvurulmuştur. Ayrıca, elde edilen verilerin güvenilirliğini ve anlamlılığını belirlemek amacıyla standart sapma ve varyasyon katsayısı hesaplanmıştır.

3
BULGULAR

3.1 Real-Time PCR Analizleri

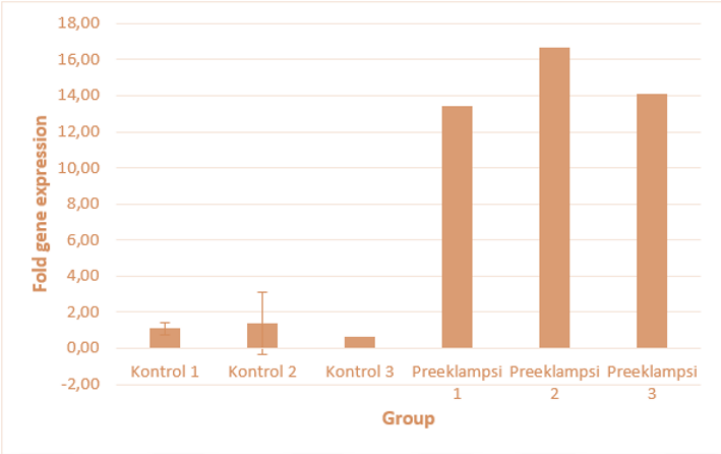
Bu tez çalışmasında 3 sağlıklı ve 3 preeklamptik anne adaylarından toplanmış olan plasenta dokularından hsa-miR-183, hsa-miR-325, hsa-miR-224, hsa-miR-101-3p ve hsa-miR-210 ifadesindeki değişim incelenmiştir. Ayrıca 3 sağlıklı ve 3 preeklamptik anne adayından toplanan kordon ve plasental yatak doku örneklerinden hsa-miR-325 ve hsa-miR-101-3p ifadesindeki değişimin değerlendirilmesi amacıyla Real-Time PCR analizine gidilmiştir. Sonuçların normalizasyonu amacıyla housekeeping gen olarak U6 küçük nüklear RNA tercih edilmiştir ve Erime Eğrisi analizi ile homojenlik tayini yapılmıştır (Şekil 3.1). $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metodu kullanılarak sonuçlar yorumlanmıştır. Tüm $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerleri eklerde yer alan tablolarda verilmiştir.



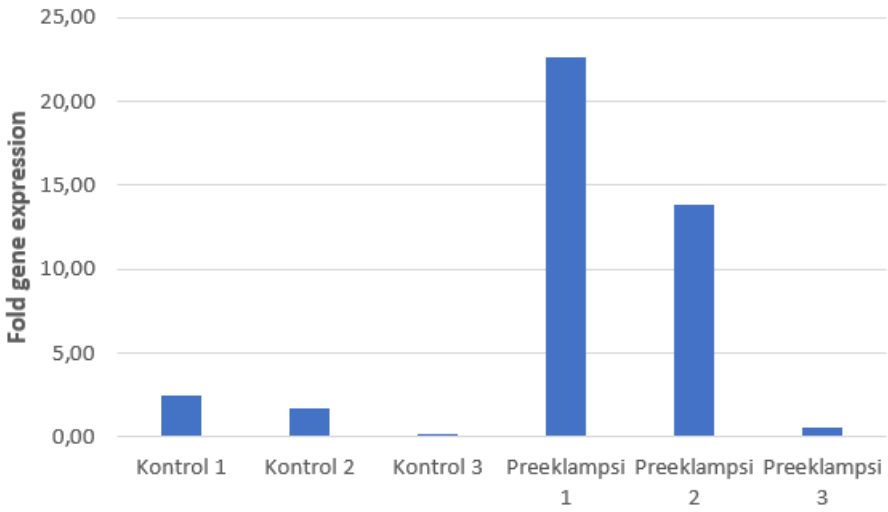
Şekil 3.1 Housekeeping olarak kullanılan U6 küçük nüklear RNA'ların amplikasyonlarının spesifite ve homojenliğinin tayini amaçlı yapılan Erime Eğrisi analizlerinin bir görüntüsü

3.2 Plasenta dokularında hsa-miR-183 ve hsa-miR-325 İfadesi

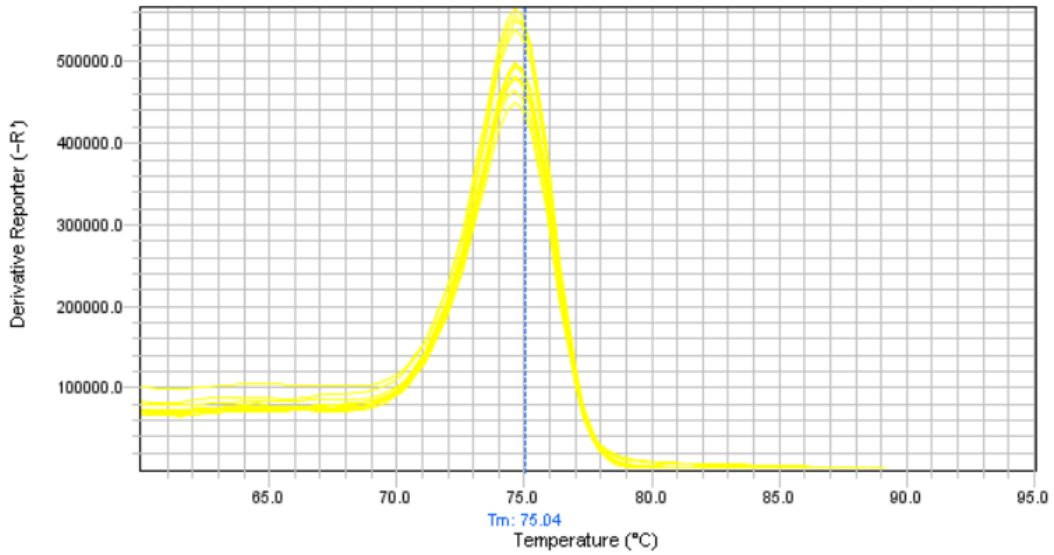
Yapılan Real-Time PCR analizi ve hesaplamalar sonucunda hsa-miR-183, hsa-miR-325 ifadesinde belirgin bir artış gözlemlenmiştir. Bu bağlamda, hsa-miR-183 ve hsa-miR-325'in preeklamptik durumdaki bireylerde sağlıklı bireylere kıyasla anlamlı bir şekilde yüksek ifade edildiği tespit edilmiştir. Analiz sonuçları şekil 3.2 ve şekil 3.3'de sunulmuştur. Homojenlik tayini açısından Erime Eğrisi analizleri hsa-miR-183 için şekil 3.4 ve hsa-miR-325 için şekil 3.5'de sunulmuştur.



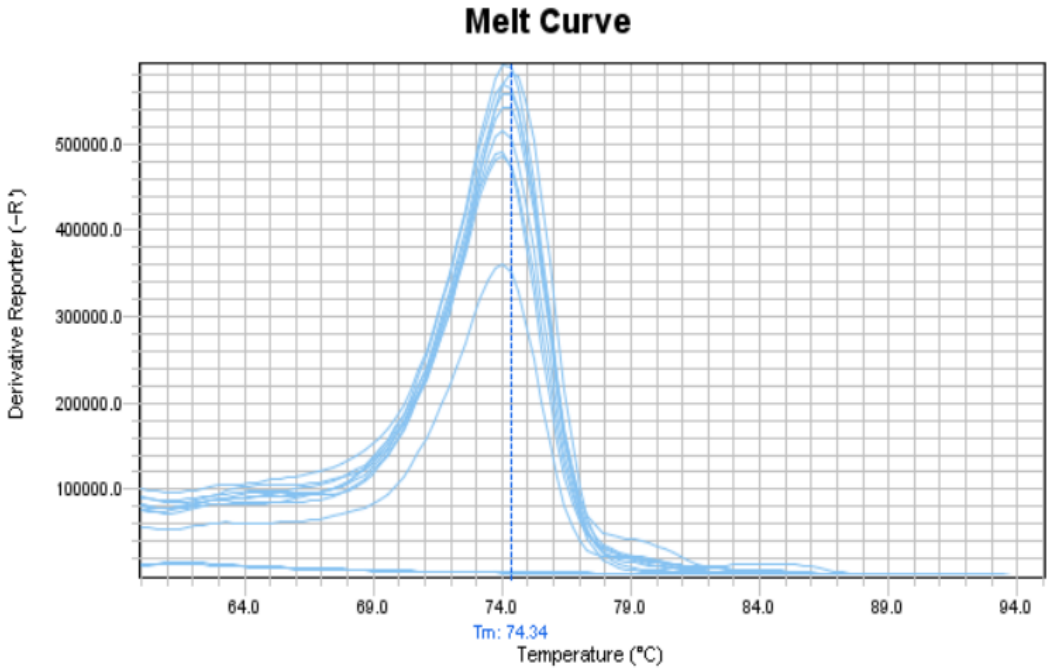
Şekil 3.2 Plasentada hsa-miR-183 ifadesinin kat farkı grafiği. Preeklamptik bireylerde artmış hsa-miR-183 ifadesi gözlenmiştir



Şekil 3.3 Plasentada hsa-miR-325 ifadesinin $2^{-\Delta\Delta Ct}$ değerlerinin karşılaştırılması. Preeklamptik bireylerde artmış hsa-miR-325 ifadesi gözlenmiştir (preeklampsi 3 plasenta dokusu hariç)



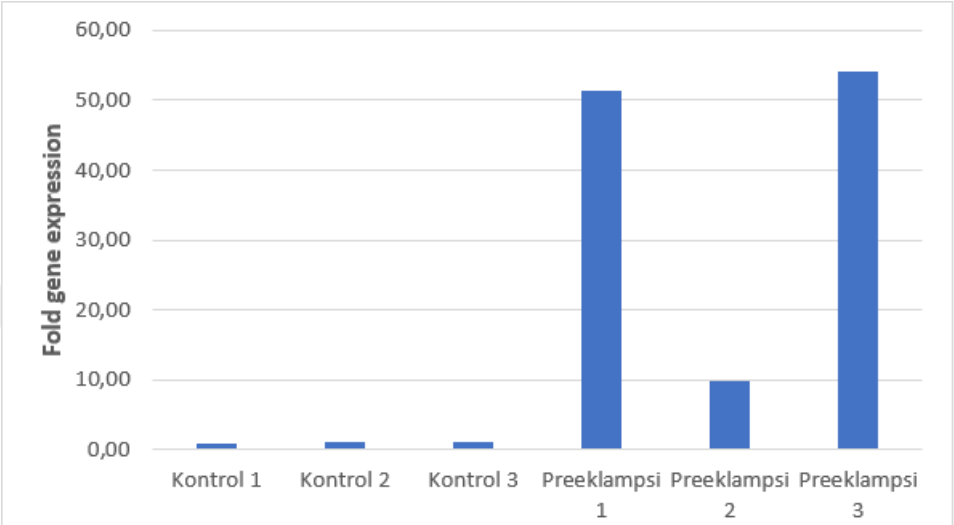
Şekil 3.4 hsa-miR-325 için Erime Eğrisi analiz sonuçları



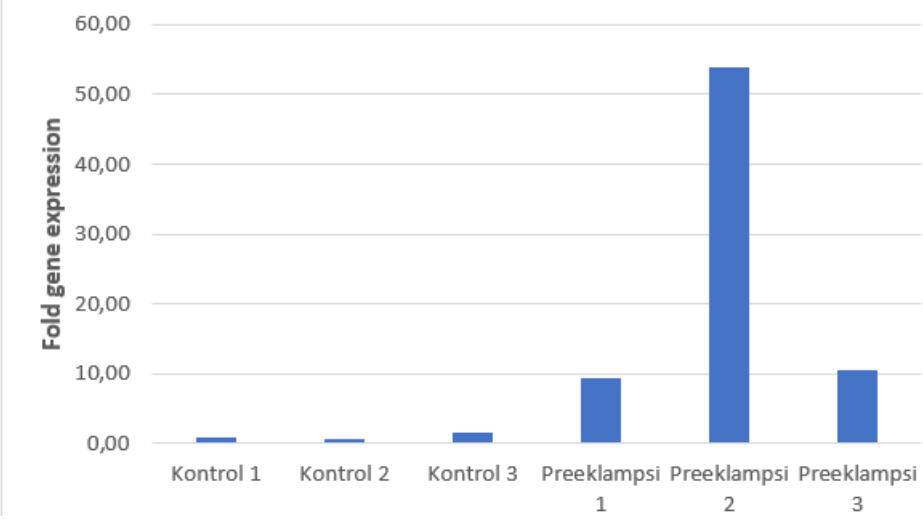
Şekil 3.5 hsa-miR-183'ün Erime Eğrisi analizinin sonuçları

3.3 Preeklamptik Kordon ve Plasental Yatak Doku Örneklerinde hsa-miR-325 ifadesi

Yapılan Real-Time PCR analizlerinde plasental yatak ve kordon dokularında artmış hsa-miR-325 ifadesi gözlenmiştir. Kordon dokuları için kat farkı grafiği şekil 3.6 ve plasental yatak için kat farkı grafiği şekil 3.7'de gösterilmiştir.



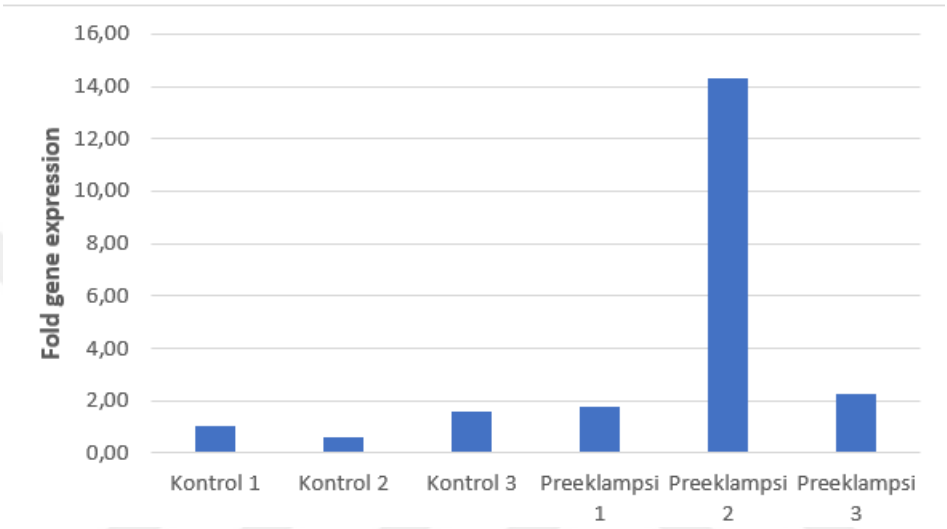
Şekil 3.6 Kordon dokularında hsa-miR-325 için kat farkı grafiği



Şekil 3.7 Plasental yatak dokularında hsa-miR-325'in kat farkı grafiği

3.4 Preeklamptik Anne Adaylarından Toplanan Plasental Yatak hsa-miR-101-3p ifadesi

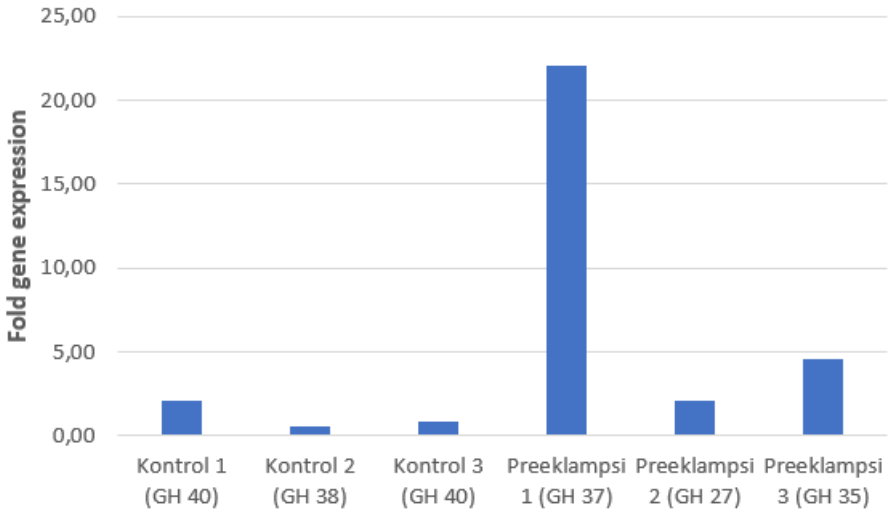
Yapılan analizlerde Preeklampsi 2 bireyinin plasental yatak dokusu haricinde diğer dokularda anlatım farkı birbirleri ile yakın gözlenmiştir. Preeklampsi 2 anne adayında anlamlı bir ifade artışı söz konusudur. Kat farkı grafiği şekil 3.8'te gösterilmiştir.



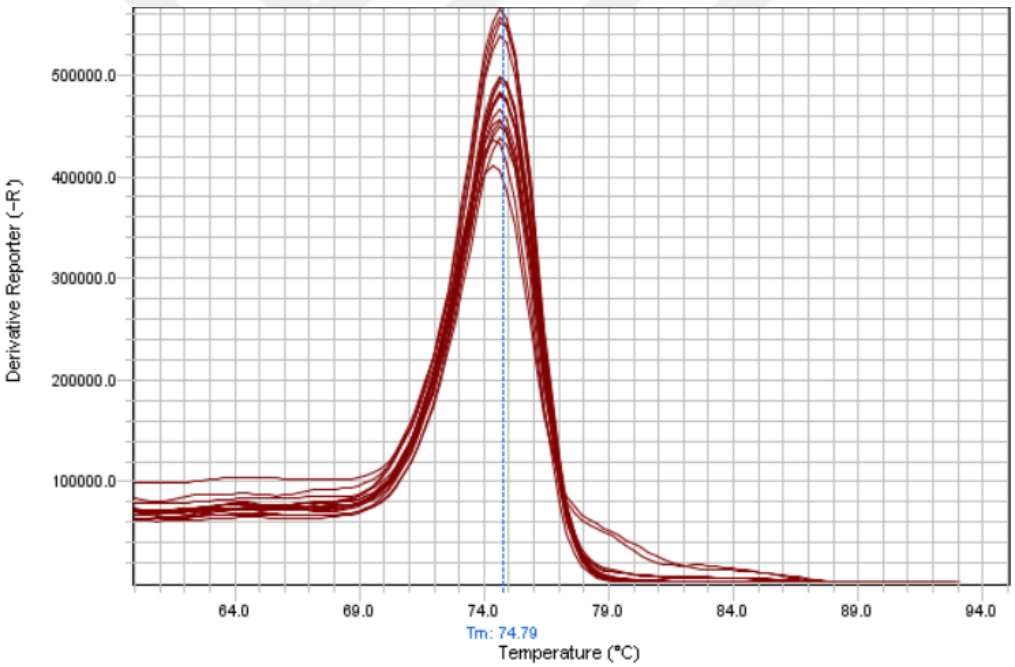
Şekil 3.8 Plasental yatak dokularında hsa-miR-101-3p kat farkı grafiği

3.5 Preeklamptik Anne Adaylarında Plasenta Örneklerinde hsa-miR-224 ifadesi

Real-Time PCR sonuçları incelendiğinde preeklampsi 2 bireyi haricinde preeklamptik bireylerde ifade artışı gözlenmiştir. hsa-miR-224 ifade artışı 27.haftada gebeliği sonlanan birey haricinde diğer bireylerde anlamlı bir şekilde yüksektir. Sonuçların kat farkı grafiği şekil 3.9 ve erime eğrisi analizi şekil 3.10'da gösterilmiştir.



Şekil 3.9 hsa-miR-224 ifadesindeki kat farkını göstermekte olan sütun grafiği. Gebelik haftaları incelendiğinde, gebelik süresi uzadıkça hsa-miR-224 ifadesinin arttığı gözlenmektedir

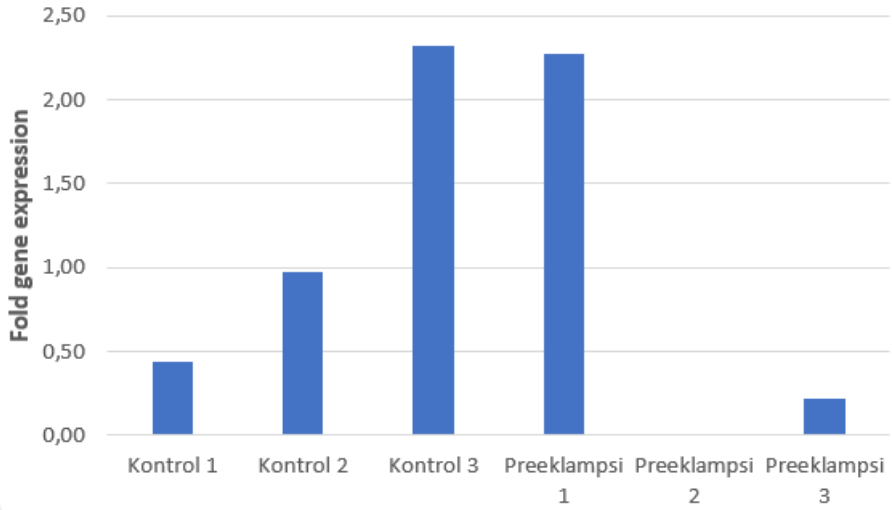


Şekil 3.10 hsa-miR-224 için erime eğrisi analiz sonuçları

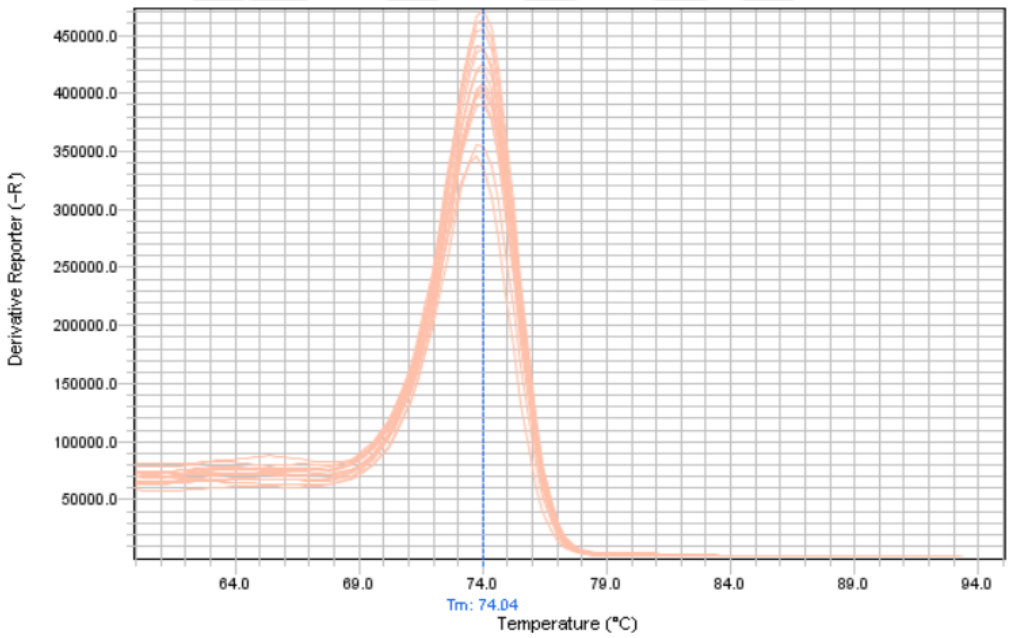
3.6 Preeklamptik Anne Adaylarının Plasenta Örneklerinde Yapılan Analizlerde hsa-miR-101-3p İfadesi

Daha önce bahsedilen örneklerde yapılan Real-Time PCR analizinde preeklamptik bireylerde, sağlıklı bireylere göre hsa-miR-101-3p ifadesinde anlamlı bir şekilde

yorumlanabilir farklılık gözlenememiştir. Veriler şekil 3.11 ve şekil 3.12'de gösterilmiştir.



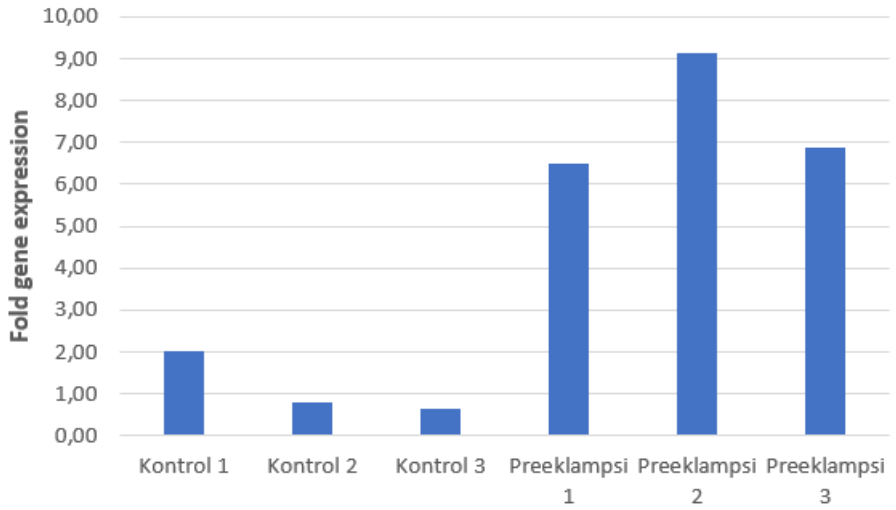
Şekil 3.11 Plansenta dokularında hsa-miR-101-3p'nin kontrol grubuna göre kat farkının grafiği



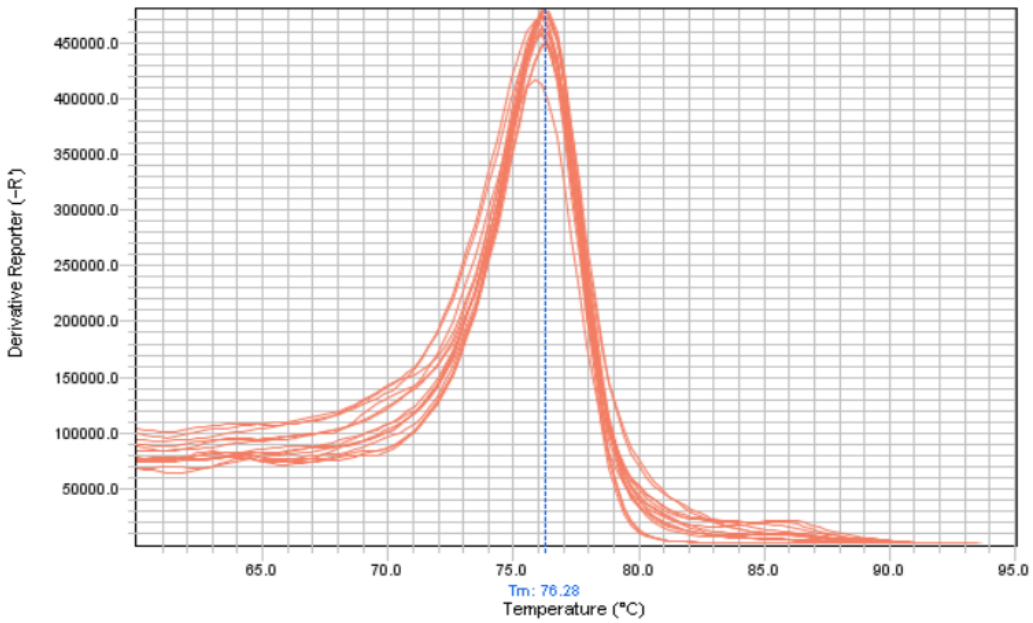
Şekil 3.12 Plasenta dokularında hsa-miR-101-3p için erime eğrisi analiz grafiği

3.7 Plasenta dokularında bir hipoksemiR olan hsa-miR-210 ifadesi

Yapılan tekrarlı Real-Time PCR analizlerinde hsa-miR-210 ifadesinin eldeki tüm preeklamptik plasenta dokularında arttığı gözlenmiştir. Elde edilen analiz sonuçları şekil 3.13'de ve şekil 3.14'te sunulmuştur.



Şekil 3.13 hsa-miR-210 ifadesindeki gen anlatım kat değişimi grafiği



Şekil 3.14 hsa-miR-210 için erime eğrisi analizi

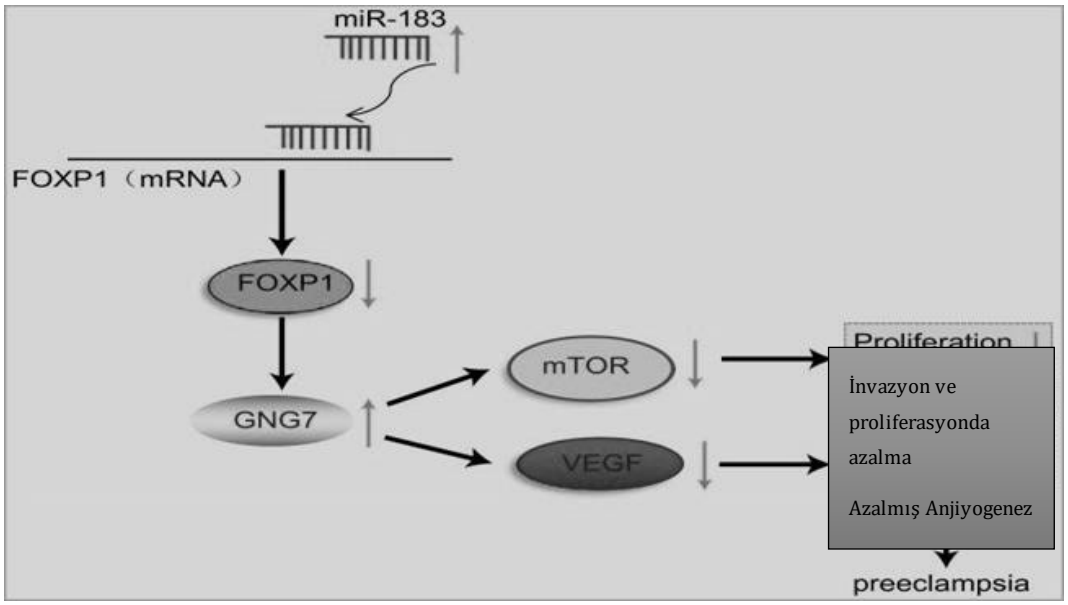
4
SONUÇ

Preeklampsi, hipertansiyon ile seyreden bir gebelik komplikasyonudur (WHO, 2016). Bu komplikasyon, anne ve bebek kayıplarına neden olmanın yanı sıra bir dizi kalıcı hasara yol açabilir (Ramos ve ark., 2017). Preeklampsiye yönelik birçok tedavi yöntemi uygulanmış olmasına rağmen, gebeliğin sonlandırılması bu sorunu çözmek için tek kesin yoldur (Dimitriadis ve ark., 2023). Preeklampsi; akut böbrek hasarı, pulmoner ödem, beyin hasarı gibi birçok yan komplikasyon etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır (Ramos ve ark., 2017; Bisson ve ark., 2023).

Terapi yöntemleri incelendiğinde 34 gebelik haftasından daha küçük anne adayları için betametazon, parenteral magnezyum sülfat tedavisi ile aspirin desteğini içermektedir (Rana ve ark., 2019; American College, 2013). Fetüsün ve plasentanın doğurtulması tek çözüm olarak devam etmektedir (Dimitriadis ve ark., 2023). Bunun dışında çeşitli küçük moleküller gebeliğin hipertansif bozukluklarının tedavisinde kullanılmıştır. Yüksek riskli anne adaylarında 150 mg aspirin tedavisi etkili olmuştur (Rolnik ve ark., 2017). Daha önce bahsedildiği gibi hastalık mekanizmasında yer alan nitrik oksit hedef alındığında plasenta iskemisinin azaldığı gösterilmiştir. Ancak bunların hiçbirisi kesin bir terapi yöntemi olarak karşımıza çıkmamaktadır. Bir başka terapi etkeni olan sildenafil ise 11 yenidoğanın akciğer hastalığına bağlı olarak ölmesi üzerine çalışmalar durdurulmuştur (Sharp ve ark., 2018). Preeklampsi için umut verici diğer tedavi yöntemleri arasında, rekombinant insan PIGF ve RNA müdahale teknolojileri bulunmaktadır. VEGFR1/Flt1'e özgü bir ligand olan rekombinant insan PIGF, VEGFR2 ile ilişkili vasküler geçirgenlik ve ödem gibi ek yan etkiler olmadan dolaşımdaki fazla sFLT1'i temizleme potansiyeline sahiptir (Makris ve ark., 2016). Babun ve kemirgen çalışmaları, kan basıncını, proteinüriyi ve sFLT1 mRNA'sını düşüren umut verici sonuçlar elde etmiştir (Spradley ve ark., 2016; Rana ve ark., 2019). Bununla birlikte, toplam vücut sFLT1'inin sadece küçük bir yüzdesinin dolaşımda bulunduğu ve bu nedenle ligand etkileşimine uygun olduğu göz önüne alındığında, tedavinin sınırlı olabileceği düşünülmektedir (Levine ve ark., 2004; Rana ve ark., 2019). Ayrıca bu tarz tedavilerin maliyetleri ve yan etkileri de göz önünde bulundurulmalıdır. Bu sebeple kesin terapi yöntemlerinin geliştirilmesi bir

zaruriyet olarak karşımızda durmaktadır. Kesin bir terapi yönteminin geliştirilmesi için ise hastalığın altında yatan moleküler mekanizmalar anlaşılmalıdır ki bu tez çalışması bu aşamaya katkı sağlamak amacıyla tasarlanmıştır.

3 sağlıklı ve 3 preeklamptik anne adayının plasentalarında yapılan Real-Time PCR analizinde hsa-mir-183 ifadesinde belirgin bir artış gözlenmiştir. Literatür bilgileri incelendiğinde 2021 yılında Lai ve ark. yapmış olduğu çalışmada artan hsa-miR-183 ifadesinin trofoblast anlatımını bozduğunu göstermiştir (Lai ve Yu, 2021). Bir başka çalışma ise bu miRNA'nın preeklampsi patogenezi ile yakından ilişkili olabileceğini göstermiştir (Suo ve ark., 2020). Bu artış incelendiğinde temel moleküler mekanizmaya dönmek mantıklı olacaktır. hsa-miR-183'ün ana hedefi FOXP1'dir (W. Lai ve Yu, 2021). FOXP1'in ifadesinin azalmasından sorumlu olan bu miRNA, GNG7 ifadesini arttırmaktadır (Sheng ve ark., 2019). GNG7 gen susturma işleminin, mTOR sinyal yolunun aktivasyonu yoluyla preeklampsili sıçanlarda plasental sitotrofoblastların çoğalmasını ve farklılaşmasını arttırdığına dair kanıt sağlamıştır (Lai ve Ding, 2019). FOXP1'in ifadesinin azalması bu şekilde mTOR sinyal yolağını baskılamaktadır ve anjiyogenez ile hücre proliferasyonu azalmaktadır (Xiang ve ark., 2019). Akt yolağının baskılanması ile preeklampsi belirtileri daha da sivrilmektedir. hsa-miR-183 ifadesindeki artış, GNG7 ifadesindeki artışın ve dolayısıyla mTOR sinyal yolağının baskılanmasının sebebini açıklamaktadır.



Şekil 4.1 hsa-miR-183 ifadesinin artmasının preeklampsi yoluna etkisi (Lai ve Yu, 2021)

Bu tez araştırmasına konu olan hsa-miR-325 ifadesinde, preeklamptik anne adaylarının plasenta dokusunda sağlıklı bireylerin plasenta dokusuna göre anlamlı bir artış gözlenmiştir. İncelendiğinde hsa-miR-325'in ana hedefinin yüksek hareketli grup proteini 1 (HMGB1) isimli protein olduğu görülmektedir (Yao ve ark., 2015). HMGB1, hücrede farklı işlevlere sahip nükleer bir proteindir; kanserin ilerlemesinde, anjiyogenezde, invazyonda ve metastaz gelişiminde rolü vardır (Bianchi ve Agresti, 2005). Bu rolleri kendisini preeklampsi çalışmaları için hedef haline getirmelidir. Bu proteinin aşırı ekspresyonu hücre metastazında kritik bir rol oynamaktadır (Li ve ark., 2021; Z. Huang ve ark., 2023). Çalışmamızda yer alan hsa-miR-325 bu proteinin translasyonunu engelleyerek ifadesini azaltmaktadır. Literatür tarandığında, HMGB1'in yıkılması, in vitro ve in vivo olarak NF-κB yolağı üzerinden hücre istilasını inhibe etmektedir (Bianchi ve Agresti, 2005). hsa-miR-325, bu proteinin yıkımı yoluyla hücre göçünü, invazyonunu ve anjiyogenezin doğal seyrini bozabileceği düşünülmektedir (Lázár ve ark., 2012; Yao ve ark., 2015). Bu bağlamda, öne çıkan önemli bir nokta hsa-miR-325'in mobilite üzerindeki rolüdür. Bu miRNA'nın ifadesinin gebeliğin erken evrelerinde, özellikle plasenta oluşumu veya implantasyon sürecinde değişmesi, hastalığın invazyon ve mobilite süreçlerini etkileyebilir. Bu durum, hastalığın genel seyrini etkileyebilecek bir önem taşıyor olabilir. Bu sebeple hsa-miR-325'in ifade farkının hangi noktada başladığı oldukça kritiktir. Bu miRNA ile başlayan süreç diğer tüm farklılıkları zincirleme şekilde tetikleyebilecektir. Ayrıca HMGB1'in yüksek ifadesinin preeklampside patojenik bir rol oynadığı bilinmektedir (Pradervand, 2014). Bu çalışma sonucunda hsa-miR-325, burada, HMGB1 ifadesini azaltarak olumlu bir iş yapıyormuş gibi gözükse de anlatımı çok büyük ölçüde arttığında protein ifadesini olması gerekenin altına çektiği düşünülmekteyiz. Ayrıca HMBG1'in anjiyogenezi VEGF ile beraber düzenlediği gösterilmiştir (Biscetti, 2017). VEGF ve PIGF gibi faktörler ile sFLT1 gibi anti-anjiyogenik faktörlerin oranlarındaki değişimden bahsetmiştik. Burada meydana gelen değişiklik anjiyogenezi durdurmaktadır ve dolayısıyla vaskülerizasyonda problemler meydana gelmektedir. Anti-anjiyogenik faktörler lehine olan bu değişimin temelinde HMGB1'in rol aldığını düşünmekteyiz. HMGB1 konsantrasyonundaki değişiklikler bu yönden incelenmelidir. Aslında burada ortaya çıkan bir başka durum HMGB1'in ifadesinin kontrolünün kritik olduğudur. HMGB1 aynı zamanda bir sitokin görevi görmektedir ve inflamasyonu tetiklemektedir (Scaffidi ve ark. 2002). Ortamda

hipoksik bir durum oluştuğunda bu protein hücre dışına salınmaktadır ve bir dizi immün reaksiyonu tetiklemektedir. Çeşitli araştırmalar HMGB1 ifadesini incelediklerinde çelişkili sonuçlar ortaya koymuşlardır (Wang ve ark., 2011; Naruse ve ark., 2012; Pradervand ve ark. 2014). Biz bu proteini hedefleyen miRNA olan hsa-miR-325'e döndüğümüzde çelişki burada da devam etmektedir. Çünkü preeklamptik bireylerin birinde miRNA ifadesi diğerlerine oranla kısmen düşük kalırken diğer 2 preeklamptik bireyde anlatım çok yüksektir. Aslında sonuçların çelişkili çıkmasındaki sebebin hsa-miR-325 anlatımındaki çelişki olabileceği düşünülmelidir. hsa-miR-325 ifadesinin gebelik haftasındaki anlatımını kıyaslamak mantıklı olacaktır. Bu çalışma düzeyinde elde edebileceğimiz yorum, 27. gebelik haftasındaki bireyin (Preeklampsi 3) anlatımının diğer preeklamptik bireylere göre az olması sebebiyle, preeklampsi belirtilerini daha şiddetli bir hale getirdiği ve gebeliğin erkenden sonlanmasına sebep olduğudur. Ancak bu yorumu kesin olarak yapabilmek için, daha ileri çalışmalarla, aynı gebelik haftasındaki bireylerin hsa-miR-325 ve HMGB1 protein ifadeleri karşılaştırılmalıdır. Ayrıca hsa-miR-325 ifadesindeki değişikliği tetikleyen sebep ortaya çıkarılmalıdır ki kesin mekanizma açıklanabilsin. Bir başka etken ise preeklampsinin sebebidir. Preeklampsi immün sistem reaksiyonundan kaynaklanıyorsa ve diğerlerinde sebep genetik veya farklı bir sebep ise burada bir ayrım ortaya çıkmaktadır. Bu sebeple birden fazla faktör değerlendirilerek hsa-miR-325 ifadesi değerlendirilmelidir. Çünkü bilinmelidir ki hsa-miR-325, HMGB1 ve NF-κB üzerinden immün sistem reaksiyonlarını, hipoksi tepkisini ve dolayısıyla anjiyogenezi, hücre invazyonunu düzenlemektedir (Bianchi ve Agresti, 2005). Bunların tamamı preeklampsi için araştırılan hedef unsurlardır. Bu sebeple aydınlatılması gereken en kritik miRNA'lardan birisi hsa-miR-325'tir.

hsa-miR-210 hipoksemiR olarak gruplandırılan miRNA'lar arasında yer almaktadır (Nakayama, 2009; Y. Zhang ve ark., 2012). Bu miRNA üzerinde meydana gelen ifade farklılıkları anjiyogenez mekanizmasını HIF proteini regülasyonu ile yönlendirmektedir (Jaszczuk ve ark., 2022). hsa-miR-210 HIF proteini oluşumunu baskılayacaktır, aynı zamanda mitokondriyal solunum ve DNA onarımı gibi mekanizmaların tetiklenmesine yol açarak hücre mobilitesini ve invazyonunu olumsuz yönde etkilecektir. Daha önce bahsedildiği gibi plasenta için hücrelerin doğru mobilitesi ve normal invazyon yeteneği vazgeçilmezdir. Burada meydana gelen bir kusur, anormal plasenta oluşumunu ve bozulmuş vaskülerizasyonu

tetikleyerek preeklampsiye giden süreci başlatacaktır. Nihayetinde preeklampsinin anormal plasenta oluşumu ve bunun neticesinde sitotrofoblast hücreleri ile endometriyal bezlerin aktivitesi arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıktığı bilimektedir (Burton ve ark., 2019;Turco ve ark., 2019; Y. Wang ve ark., 2022).

hsa-miR-224, Glisin N -metiltransferaz enziminin ana düzenleyicisidir (Hung ve ark., 2018). Bu miRNA aynı zamanda önemli bir onkomiR'dir (Ladeiro, 2018). Çalışmalar miR-224'ün hücrelerin hem proliferasyonunu hem de apoptotik potansiyelini etkilediğini göstermektedir. Tek bir miRNA'nın, hücre proliferasyonu ve apoptoz gibi karşıt aktiviteleri kontrol etmek için farklı ilgisiz hedef genleri düzenleyebileceği öne sürülmüştür (Sassen ve ark., 2008). miR-224 bu nedenle böyle bir miRNA'yı temsil edebileceği düşünülmektedir. Burada bahsedildiği gibi hsa-miR-224 aynı zamanda apoptoz inhibitörü 5'i hedeflemektedir (Wang ve ark., 2008). Glisin N-metiltransferaz homosistein yolunun dönmesini sağlayan kritik bir enzimdir (Connor ve ark., 2021). Buradaki eksiklik hücrelerin ROS dirençlerini azaltacaktır ve S-adenozil-metiyonin yolağının devam etmesini engelleyecektir. Bu çalışmalarda gösterilen düşük S-adenozil-metiyonin seviyelerini açıklayacaktır (Heil ve ark., 2019). Ayrıca PIGF üzerinde gösterilen hipometilasyonun kökeni buraya dayanıyor olabilecektir (Heil ve ark., 2019). Çünkü metilasyonun temeli homosistein yoluna dayanmaktadır. Burada meydana gelen kusurlar DNA metilasyonunu etkileyecektir (Kaczor, 2015). Fakat böyle bir durumda metilasyon hatalarının genomun diğer kesimlerinde de gözlenmesi gerekmektedir. Preeklampside DNA metilasyonlarını inceleyen literatür bilgisi kısıtlıdır ve daha ileri araştırmalara ihtiyaç vardır. Ancak metiyonin yolağındaki bozulmanın belli genler üzerinde hipometilasyon veya hipermetilasyon sebebi olduğu gösterilmiştir . Bu yolak aynı zamanda poliamin sentezinde rol oynamaktadır (Sanderson ve ark., 2019). Spermin, spermidine ve putresin bu yol ile ortaya çıkan poliaminlerdir. Poliaminler DNA, RNA ve proteinleri bağlayan hayatta kalma ve proliferasyonda rol oynayan kritik moleküllerdir (Minois ve ark., 2011). Diğer bir yandan nitrik asit sentazın aktivitesinin bozulmasının preeklampsinin temel etkenlerinden biri olduğundan daha önce bahsettik. Aslında bu bozulmanın sebebinin ROS olduğu bilindiğinde göre hsa-miR-224 ifadesindeki değişimin metiyonin ve homosistein yolağını bozması neticesinde ROS miktarının baskılanamayacak hal almasıdır. Bir

başka taraftan bu miRNA'nın ifadesini gebelik haftasına uyumlu dağıldığını gösterdik. Gebelik haftası ilerledikçe artan hsa-miR-224 ifadesinin üçüncü trimester sürecinde belli bir miktar artması ve doğuma kadar bu artışın devam etmesi literatür bilgisinde yer almaktadır (Kotlabova ve ark., 2010). Ancak veriler yakından incelendiğinde preeklamptik anne adaylarından 27.gebelik haftasındaki preeklamptik bireyin hsa-miR-224 ifadesi, 40.gebelik haftasındaki sağlıklı bireyden daha yüksek görülmektedir. Bu miRNA'nın ifadesindeki doğal olmayan artış hücrelerin ROS direncini kırmaktadır ve aynı zamanda DNA metilasyon sürecini bozmaktadır. Bu miRNA'nın anlatımının neden bozulduğu detaylıca araştırılmalıdır.

Preeklampsi 2'ye ayrı bir paragraf açmak şarttır. Çünkü kendisinin miRNA ifadesi yalnızca sağlıklı bireylerle kıyaslandığında farklı değildir. Aynı zamanda çalışmaya dahil olan diğer preeklamptik bireylerle karşılaştırıldığında yine farklıdır. Özellikle fetüs ile aynı genetik yapıya sahip olan kordon ve plasenta dokularında ifadenin sağlıklı bireylere biraz daha yakın olduğu ortaya çıkarken anne ile aynı genetiğe sahip olan plasental yataktaki miRNA ifadeleri kıyaslandığında tüm bireylerden daha farklı bir miRNA ifade havuzu ortaya çıktığı görülmektedir. Aslında literatür bilgileri incelendiğinde preeklampsinin anne, fetüs ve baba genetiğinden kaynaklanabileceği gibi annenin immün reddi tarafından ortaya çıkabileceği ortaya konmuştur (Robertson ve ark, 2003). Tabii ki bu immün tepki minimum düzeyde olmasına karşın salgılanan pre-inflamasyon molekülleri ortamdaki homeostaziyi bozmaktadır. hsa-miR-325'in ana hedefi olan HMGB1'in bir sitokin olduğundan bahsetmiştik. Bu da ortamda bir immün sistem kaynaklı değişiklik olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca babanın spermine ve salgılanan sıvılarına daha az immün reaksiyon veren annelerin preeklampsi riskinin daha düşük olduğu gözlenmiştir (Robertson ve ark., 2003). Bu sebeple preeklampsi yalnızca genetik veya anne kaynaklı bir sorun değildir. İmmün sistemi, baba genetiğini ve dolayısıyla fetüs genetiğini yakından ilgilendiren bir sorundur. Bu konuda ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Özetle, hsa-miR-325 üzerinden kontrol edilen HMGB1, VEGF üzerinden anjiyogenezi düzenlemektedir (Biscetti, 2017). Ayrıca artmış olan HMGB1 ifadesi hücre invazyonunu tetiklediğinden ve hücre iletişiminde rol aldığından söz etmiştik. Ayrıca hsa-miR-183'ün FOXP1 üzerinden anjiyogenezi düzenlediği ve

FOXP1'in VEGF ile iletişim kurduğu bilinmektedir. HMGB1 hücre içinde p53 ile iletişim halindedir (Livesey ve ark, 2012). hsa-miR-183 ifadesindeki artışın potansiyel bir nedeni, hsa-miR-325 ifadesindeki artışla ilişkilendirilen azalmış HMGB1 protein miktarının, serbest p53 oranında artışa neden olması olabilir. Bu sebeple aradaki bağ çok iyi aydınlatılmalıdır. Teoride bakıldığında hastalığın bahsedilen temel mekanizması bu iki miRNA üzerinden geçmektedir. Ayrıca nitrik asit sentazdaki bozulmalar, poliamin müdahalesinin preeklampsi riskini olumlu yönde etkilemesi (Gong, 2018), ROS stresi, hipoksi gibi durumlar hsa-miR-224 ifadesinin artması sonunda meydana gelen metiyonin-homosistein-glutatyon yolağındaki bozulmayla açıklanabilir. Bu üç miRNA'nın etkileri sonucunda ortaya çıkan durumlar bir hipoksemiR olan hsa-miR-210'un ifadesinin artmasını açıklamaktadır. Bu sebeple hsa-miR-224, hsa-miR-325 ve hsa-miR-183 arasındaki hücre içi iletişim ileri çalışmalar ile aydınlatılmadır.

Tüm bilgilerin ve verilerin ışığında, miRNA ifadesindeki değişikliklerin hücre içindeki düzeni kökten değiştirdiği açıktır. Bu ifade değişiklikleri, hücre içindeki hedef proteinlerin mRNA'larından çevrimini baskılayarak sinyal yolaklarını düzenlemektedir. Bu nedenle, hücre invazyon ve proliferasyon yeteneği, mobilitesi, farklılaşması ve metabolizması yönlendirilmektedir. Bu miRNA'ların ifadesindeki değişikliklerin neden kaynaklandığını anlamak için, bahsedilen ve ifade değişiklikleri saptanan miRNA'ların ifade farklılıklarının sebebi bir sonraki çalışmaların ana odağı olmalıdır. Sadece miRNA'ların anlatımındaki değişiklikleri değil, asıl olarak bu miRNA'ların anlatımlarını etkileyebilecek faktörler gözden geçirilmelidir. Bilinmelidir ki hücre içindeki miRNA konsantrasyonları kendi kendine bu kadar kolay değişmeyecektir. Genetik ve çevresel faktörler, bu miRNA anlatımındaki değişikliklerin sebeplerini anlamak ve hastalığın oluşumunu baskılamak açısından detaylı bir şekilde incelenmelidir. Çünkü elde edilen sonuçlar ve literatür bilgisi, bu miRNA'lardaki değişikliklerin normal veya ihtiyaç duyulan protein düzeyini bozduğunu göstermektedir. Ayrıca hastalıkta önemli bir etken olarak gözüken ve bizimde bunu öne sürdüğümüz ve literatürde tartışılan immün sistem rolü daha detaylı bir şekilde araştırılmalıdır ve aydınlatılmalıdır. Daha etkili bir önlem ve terapötik ajan geliştirmek için bu noktaya odaklanmanın faydalı olacağı düşünülmektedir ve önerilmektedir.

KAYNAKÇA

Abalos, E., Cuesta, C., Grosso, A. L., Chou, D., & Say, L. (2013). Global and regional estimates of preeclampsia and eclampsia: A systematic review. *European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology* (C. 170, Sayı 1, ss. 1-7). Elsevier Ireland Ltd. https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2013.05.005

Melcher T., Maas S., Herb A., Sprengel R., Seeburg P., & Higuchi M. (1996). A mammalian RNA editing enzyme. *NATURE, 379*.

Ahmed, A., Dunk, C., Ahmad, S., & Khaliq, A. (2000). Regulation of placental vascular endothelial growth factor (VEGF) and placenta growth factor (PIGF) and soluble Flt-1 by oxygen - A review. *Placenta*, *21*(SUPPL.1). https://doi.org/10.1053/plac.1999.0524

Allerkamp, H. H., Clark, A. R., Lee, T. C., Morgan, T. K., Burton, G. J., & James, J. L. (2021). Something old, something new: Digital quantification of uterine vascular remodelling and trophoblast plugging in historical collections provides new insight into adaptation of the utero-placental circulation. *Human Reproduction*, *36*(3), 571-586. https://doi.org/10.1093/humrep/deaa303

Ananth, C. V., Keyes, K. M., & Wapner, R. J. (2013). Pre-eclampsia rates in the United States, 1980-2010: Age-period-cohort analysis. *BMJ (Online)*, *347*. https://doi.org/10.1136/bmj.f6564

Anton, L., Olarerin-George, A. O., Schwartz, N., Srinivas, S., Bastek, J., Hogenesch, J. B., & Elovitz, M. A. (2013). MiR-210 inhibits trophoblast invasion and is a serum biomarker for preeclampsia. *American Journal of Pathology*, *183*(5), 1437-1445. https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.07.021

Aravin, A. A., Lagos-Quintana, M., Yalcin, A., Zavolan, M., Marks, D., Snyder, B., Gaasterland, T., Meyer, J., & Tuschl, T. (2003). The small RNA profile during Drosophila melanogaster development. *Developmental Cell*, *5*(2), 337-350. https://doi.org/10.1016/S1534-5807(03)00228-4

Arrowsmith, S., & Wray, S. (2014). Oxytocin: Its mechanism of action and receptor signalling in the myometrium. *Journal of Neuroendocrinology* (C. 26, 6, ss. 356-369). Blackwell Publishing Ltd. https://doi.org/10.1111/jne.12154

Atkinson DE, Boyd RDH, & Sibley CP. (2006). Placental transfer. Neill JD (Ed.), *In Knobil and Neill's physiology of reproduction* (C. 1, ss. 2787-2846).

Baker, P. N., Davidge, S. T., & Roberts, J. M. (1995). Plasma from women with preeclampsia increases endothelial cell nitric oxide production. *Hypertension*, *2*(26), 244-248.

Banek, C. T., Bauer, A. J., Needham, K. M., Dreyer, H. C., & Gilbert, J. S. (2013). AICAR administration ameliorates hypertension and angiogenic imbalance in a model of preeclampsia in the rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, *304*, 1159-1165. https://doi.org/10.1152/ajpheart.00903.2012.-Previous

Bartel, D. P. (2004). Review MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function ulation of hematopoietic lineage differentiation in mam-mals (Chen et al., 2004), and control of leaf and flower development in plants (Aukerman and Sakai, 2003. *Cell* (C. 116).

Basyuk, E., Suavet, F., Doglio, A., Bordonné, R., & Bertrand, E. (2003). Human let-7 stem-loop precursors harbor features of RNase III cleavage products. *Nucleic Acids Research*, *31*(22), 6593-6597. https://doi.org/10.1093/nar/gkg855

Bianchi, M. E., & Agresti, A. (2005). HMG proteins: Dynamic players in gene regulation and differentiation. *Current Opinion in Genetics and Development* (C. 15, Sayı 5 SPEC. ISS., ss. 496-506). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.gde.2005.08.007

Biscetti, F., Flex, A., Alivernini, S., Tolusso, B., Gremese, E., & Ferraccioli, G. (2017). The Role of High-Mobility Group Box-1 and Its Crosstalk with Microbiome in Rheumatoid Arthritis. Mediators of inflammation, 2017, 5230374. https://doi.org/10.1155/2017/5230374

Bisson, C., Dautel, S., Patel, E., Suresh, S., Dauer, P., & Rana, S. (2023). Preeclampsia pathophysiology and adverse outcomes during pregnancy and postpartum. *Frontiers in Medicine* (C. 10). Frontiers Media SA. https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1144170

Blanc, V., & Davidson, N. O. (2010). APOBEC-1-mediated RNA editing. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*, *2*(5), 594-602. https://doi.org/10.1002/wsbm.82

Boss, A. L., Chamley, L. W., & James, J. L. (2018). Placental formation in early pregnancy: How is the centre of the placenta made? *Human Reproduction Update*, *24*(6), 750-760. https://doi.org/10.1093/humupd/dmy030

Braccioli, L., Vervoort, S. J., Adolfs, Y., Heijnen, C. J., Basak, O., Pasterkamp, R. J., Nijboer, C. H., & Coffer, P. J. (2017). FOXP1 Promotes Embryonic Neural Stem Cell Differentiation by Repressing Jagged1 Expression. *Stem Cell Reports*, *9*(5), 1530-1545. https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2017.10.012

Brosens, I., Puttemans, P., & Benagiano, G. (2019). Placental bed research: I. The placental bed: from spiral arteries remodeling to the great obstetrical syndromes. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *221*(5), 437-456. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.05.044

Burton, G. J., & Fowden, A. L. (2012). Review: The placenta and developmental programming: Balancing fetal nutrient demands with maternal resource allocation. *Placenta*, *33*(SUPPL.). https://doi.org/10.1016/j.placenta.2011.11.013

Burton, G. J., & Fowden, A. L. (2015). The placenta: A multifaceted, transient organ. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* (C. 370, Sayı 1663). Royal Society of London. https://doi.org/10.1098/rstb.2014.0066

Burton, G. J., Redman, C. W., Roberts, J. M., & Moffett, A. (2019). Pre-eclampsia: pathophysiology and clinical implications. *The BMJ* (C. 366). BMJ Publishing Group. https://doi.org/10.1136/bmj.l2381

Burton GJ, Kaufmann P, & Huppertz B. (2006). Anatomy and genesis of the placenta. Neill JD (Ed.), *Anatomy and genesis of the placenta* (3. bs, ss. 189-243). The Netherlands: Academic Press.

Carter, A. M. (2000). Placental oxygen consumption. Part I: In vivo studies - A review. *Placenta*, *21*(SUPPL.1). https://doi.org/10.1053/plac.1999.0513

Christiansen, C. H., Høgh, S., Rode, L., Schroll, J. B., Hegaard, H. K., & Wolf, H. T. (2022). Multivitamin use and risk of preeclampsia: A systematic review and meta-analysis. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica* (C. 101, Sayı 10, ss. 1038-1047). John Wiley and Sons Inc. https://doi.org/10.1111/aogs.14356

Cindrova-Davies, T., & Sferruzzi-Perri, A. N. (2022). Human placental development and function. *Seminars in Cell and Developmental Biology* (C. 131, ss. 66-77). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2022.03.039

Connor R. Quinn, Mario C. Rico, Carmen Merali, Salim Merali (2021). Role of glycine-N-methyl transferase in human and murine nonalcoholic steatohepatitis. bioRxiv 2021.12.03.470998; https://doi.org/10.1101/2021.12.03.470998

Cui, J., Chen, X., Lin, S., Li, L., Fan, J., Hou, H., & Li, P. (2020). MiR-101-containing extracellular vesicles bind to BRD4 and enhance proliferation and migration of trophoblasts in preeclampsia. *Stem Cell Research and Therapy*, *11*(1). https://doi.org/10.1186/s13287-020-01720-9

de Sousa, M. C., Gjorgjieva, M., Dolicka, D., Sobolewski, C., & Foti, M. (2019). Deciphering miRNAs' action through miRNA editing. *International Journal of Molecular Sciences* (C. 20, Sayı 24). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ijms20246249

Dimitriadis, E., Rolnik, D. L., Zhou, W., Estrada-Gutierrez, G., Koga, K., Francisco, R. P. V., Whitehead, C., Hyett, J., da Silva Costa, F., Nicolaides, K., & Menkhorst, E. (2023). Pre-eclampsia. *Nature Reviews Disease Primers*, *9*(1). https://doi.org/10.1038/s41572-023-00417-6

Donovan MF, & Cascella M. (2023). Embryology. *Embryology*.

Fasanaro, P., Greco, S., Lorenzi, M., Pescatori, M., Brioschi, M., Kulshreshtha, R., Banfi, C., Stubbs, A., Calin, G. A., Ivan, M., Capogrossi, M. C., & Martelli, F. (2009). An integrated approach for experimental target identification of hypoxia-induced miR-210. *Journal of Biological Chemistry*, *284*(50), 35134-35143. https://doi.org/10.1074/jbc.M109.052779

Ferrara, N., & Davis-Smyth, T. (1997). *The Biology of Vascular Endothelial Growth Factor*.

Flor, I., Neumann, A., Freter, C., Helmke, B. M., Langenbuch, M., Rippe, V., & Bullerdiek, J. (2012). Abundant expression and hemimethylation of C19MC in cell cultures from placenta-derived stromal cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *422*(3), 411-416. https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2012.05.004

Fóthi, Á., Biró, O., Erdei, Z., Apáti, Á., & Orbán, T. I. (2021). Tissue-specific and transcription-dependent mechanisms regulate primary microRNA processing efficiency of the human chromosome 19 MicroRNA cluster. *RNA Biology*, *18*(8), 1170-1180. https://doi.org/10.1080/15476286.2020.1836457

Gamage, T. K. J. B., Chamley, L. W., & James, J. L. (2016). Stem cell insights into human trophoblast lineage differentiation. *Human Reproduction Update*, *23*(1), 77-103. https://doi.org/10.1093/humupd/dmw026

Giancotti, A., Monti, M., Nevi, L., Safarikia, S., D'Ambrosio, V., Brunelli, R., Pajno, C., Corno, S., Di Donato, V., Musella, A., Chiappetta, M. F., Bosco, D., Panici, P. B., Alvaro, D., & Cardinale, V. (2019). Functions and the emerging role of the foetal liver into regenerative medicine. *Cells* (C. 8, Sayı 8). MDPI. https://doi.org/10.3390/cells8080914

Gille H., Kowalski J., Yu L., Chen H., Pisabarro M.T., Davis-Smyth T., & Ferrara N. (2000). A repressor sequence in the juxtamembrane domain of Flt-1 (VEGFR-1) constitutively inhibits vascular endothelial growth factor-dependent phosphatidylinositol 3′-kinase activation and endothelial cell migration. *EMBO*, *19*, 4064-4073.

Gong, S., Sovio, U., Aye, I. L., Gaccioli, F., Dopierala, J., Johnson, M. D., Wood, A. M., Cook, E., Jenkins, B. J., Koulman, A., Casero, R. A., Jr, Constância, M., Charnock-Jones, D. S., & Smith, G. C. (2018). Placental polyamine metabolism differs by fetal sex, fetal growth restriction, and preeclampsia. JCI insight, 3(13), e120723. https://doi.org/10.1172/jci.insight.120723

Gonzalez, T. L., Eisman, L. E., Joshi, N. V., Flowers, A. E., Wu, D., Wang, Y., Santiskulvong, C., Tang, J., Buttle, R. A., Sauro, E., Clark, E. L., Dipentino, R., Jefferies, C. A., Chan, J. L., Lin, Y., Zhu, Y., Afshar, Y., Tseng, H. R., Taylor, K., … Pisarska, M. D. (2021). High-throughput miRNA sequencing of the human placenta: expression throughout gestation. *Epigenomics*, *13*(13), 995-1012. https://doi.org/10.2217/epi-2021-0055

Gupta, S., Aziz, N., Sekhon, L., Agarwal, R., Mansour, G., Li, J., & Agarwal, A. (2009). *Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Preeclampsia A Systematic Review*. www.cochrane.org

Gustavo de oLiveira, L., & Karumanchi, ananth. (2010). *Pré-eclâmpsia: estresse oxidativo, inflamação e disfunção endotelial Preeclampsia: oxidative stress, inflammation and endothelial dysfunction*.

Haider, S., Meinhardt, G., Saleh, L., Kunihs, V., Gamperl, M., Kaindl, U., Ellinger, A., Burkard, T. R., Fiala, C., Pollheimer, J., Mendjan, S., Latos, P. A., & Knöfler, M. (2018). Self-Renewing Trophoblast Organoids Recapitulate the Developmental Program of the Early Human Placenta. *Stem Cell Reports*, *11*(2), 537-551. https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2018.07.004

Hardie, D. G., Ross, F. A., & Hawley, S. A. (2012). AMPK: A nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* (C. 13, Sayı 4, ss. 251-262). https://doi.org/10.1038/nrm3311

Harris, L. K., Benagiano, M., D'Elios, M. M., Brosens, I., & Benagiano, G. (2019). Placental bed research: II. Functional and immunological investigations of the placental bed. American journal of obstetrics and gynecology, 221(5), 457–469. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2019.07.010

Hartner, J. C., Schmittwolf, C., Kispert, A., Müller, A. M., Higuchi, M., & Seeburg, P. H. (2004). Liver Disintegration in the Mouse Embryo Caused by Deficiency in the RNA-editing Enzyme ADAR1. *Journal of Biological Chemistry*, *279*(6), 4894-4902. https://doi.org/10.1074/jbc.M311347200

Hartner, J. C., Walkley, C. R., Lu, J., & Orkin, S. H. (2009). ADAR1 is essential for the maintenance of hematopoiesis and suppression of interferon signaling. *Nature Immunology*, *10*(1), 109-115. https://doi.org/10.1038/ni.1680

Hawley, S. A., Davison, M., Woods, A., Davies, S. P., Beri, R. K., Carling, D., & Grahame Hardie, D. (1995). Characterization of the AMP-activated Protein Kinase Kinase from Rat Liver and Identification of Threonine 172 as the Major Site at Which It Phosphorylates AMP-activated Protein Kinase*. *J. Biol. Chem* (C. 270).

Heil, S. G., Herzog, E. M., Griffioen, P. H., van Zelst, B., Willemsen, S. P., de Rijke, Y. B., Steegers-Theunissen, R. P. M., & Steegers, E. A. P. (2019). Lower S-adenosylmethionine levels and DNA hypomethylation of placental growth factor (PlGF) in placental tissue of early-onset preeclampsia-complicated pregnancies. PloS one, 14(12), e0226969. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0226969

Hickling, D. R., Sun, T.-T., & Wu, X.-R. (2015). Anatomy and Physiology of the Urinary Tract: Relation to Host Defense and Microbial Infection. *Microbiology Spectrum*, *3*(4). https://doi.org/10.1128/microbiolspec.uti-0016-2012

Hill, M. A. (2023, Aralık 31). *Embryology Carnegie Stages*.

Hu, Q., Li, Y., Chen, H., Liao, H., He, Y., & Zheng, Q. (2022). CCDC88A Post-Transcriptionally Regulates VEGF via miR-101 and Subsequently Regulates Hepatocellular Carcinoma. *Frontiers in Immunology*, *13*. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.859331

Huang, L. E., Gu, J., Schau, M., & Franklin Bunn, H. (1998). Regulation of hypoxia-inducible factor 1 is mediated by an O 2-dependent degradation domain via the ubiquitin-proteasome pathway. *Biochemistry* (C. 95). www.pnas.org.

Huang, Z., Luo, Y., Chen, C., Zhou, C., Su, Z., Cai, C., Li, X., & Wu, W. (2023). miR-325-3p Reduces Proliferation and Promotes Apoptosis of Gastric Cancer Cells by Inhibiting Human Antigen R. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, *2023*. https://doi.org/10.1155/2023/6882851

Hung, J. H., Li, C. H., Yeh, C. H., Huang, P. C., Fang, C. C., Chen, Y. F., Lee, K. J., Chou, C. H., Cheng, H. Y., Huang, H. D., Chen, M., Tsai, T. F., Lin, A. M., Yen, C. H., Tsou, A. P., Tyan, Y. C., & Chen, Y. A. (2018). MicroRNA-224 down-regulates Glycine N-methyltransferase gene expression in Hepatocellular Carcinoma. Scientific reports, 8(1), 12284. https://doi.org/10.1038/s41598-018-30682-5

American College. (2013). Hypertension in Pregnancy. *Obstet Gynecol*, *122*(15), 1122-1131. https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000437382.03963.88

Jaszczuk, I., Koczkodaj, D., Kondracka, A., Kwaśniewska, A., Winkler, I., & Filip, A. (2022a). The role of miRNA-210 in pre-eclampsia development. *Annals of Medicine* (C. 54, Sayı 1, ss. 1350-1356). Taylor and Francis Ltd. https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2071459

Jaszczuk, I., Koczkodaj, D., Kondracka, A., Kwaśniewska, A., Winkler, I., & Filip, A. (2022b). The role of miRNA-210 in pre-eclampsia development. *Annals of*

Medicine (C. 54, Sayı 1, ss. 1350-1356). Taylor and Francis Ltd. https://doi.org/10.1080/07853890.2022.2071459

Jauniaux, E., Hempstock, J., Teng, C., Battaglia, F. C., & Burton, G. J. (2005). Polyol concentrations in the fluid compartments of the human conceptus during the first trimester of pregnancy: Maintenance of redox potential in a low oxygen environment. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *90*(2), 1171-1175. https://doi.org/10.1210/jc.2004-1513

Jimi, E., Takakura, N., Hiura, F., Nakamura, I., & Hirata-Tsuchiya, S. (2019). The role of NF-κB in physiological bone development and inflammatory bone diseases: Is NF-κB inhibition "killing two birds with one stone"? *Cells* (C. 8, Sayı 12). MDPI. https://doi.org/10.3390/cells8121636

Jo, E. K., Silwal, P., & Yuk, J. M. (2019). AMPK-targeted effector networks in mycobacterial infection. *Frontiers in Microbiology* (C. 10, Sayı MAR). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00520

Kaczor Tina (2015). The role of Methionine in cancer growth and control.

Knöfler, M., Haider, S., Saleh, L., Pollheimer, J., Gamage, T. K. J. B., & James, J. (2019). Human placenta and trophoblast development: key molecular mechanisms and model systems. *Cellular and Molecular Life Sciences* (C. 76, Sayı 18, ss. 3479-3496). Birkhauser Verlag AG. https://doi.org/10.1007/s00018-019-03104-6

Kumagai, A., Itakura, A., Koya, D., & Kanasaki, K. (2018). AMP-activated protein (AMPK) in pathophysiology of pregnancy complications. *International Journal of Molecular Sciences* (C. 19, Sayı 10). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ijms19103076

Kusanovic, J. P., Romero, R., Chaiworapongsa, T., Erez, O., Mittal, P., Vaisbuch, E., Mazaki-Tovi, S., Gotsch, F., Edwin, S. S., Gomez, R., Yeo, L., Conde-Agudelo, A., & Hassan, S. S. (2009). A prospective cohort study of the value of maternal plasma concentrations of angiogenic and anti-angiogenic factors in early pregnancy and midtrimester in the identification of patients destined to develop preeclampsia Prediction of preeclampsia J. P. Kusanovic et al. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, *22*(11), 1021-1038. https://doi.org/10.3109/14767050902994754

Kushtagi, P. (2006). A re-look at the duration of human pregnancy. *Singapore Med J* (C. 47, Sayı 12).

Labarrere, C. A., DiCarlo, H. L., Bammerlin, E., Hardin, J. W., Kim, Y. M., Chaemsaithong, P., Haas, D. M., Kassab, G. S., & Romero, R. (2017). Failure of physiologic transformation of spiral arteries, endothelial and trophoblast cell activation, and acute atherosis in the basal plate of the placenta. American journal of obstetrics and gynecology, 216(3), 287.e1–287.e16. https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.12.029

Ladeiro Y, et al. MicroRNA profiling in hepatocellular tumors is associated with clinical features and oncogene/tumor suppressor gene mutations. Hepatology. 2008;47:1955–1963. doi: 10.1002/hep.22256.

Lagos-Quintana, M., Rauhut, R., Meyer, J., Borkhardt, A., & Tuschl, T. (2003). New microRNAs from mouse and human. *RNA*, *9*(2), 175-179. https://doi.org/10.1261/rna.2146903

Lai, W. S., & Ding, Y. L. (2019). GNG7 silencing promotes the proliferation and differentiation of placental cytotrophoblasts in preeclampsia rats through activation of the mTOR signaling pathway. *International Journal of Molecular Medicine*, *43*(5), 1939-1950. https://doi.org/10.3892/ijmm.2019.4129

Lai, W., & Yu, L. (2021). Elevated MicroRNA 183 Impairs Trophoblast Migration and Invasiveness by Downregulating FOXP1 Expression and Elevating GNG7 Expression during Preeclampsia. *Molecular and Cellular Biology*, *41*(1). https://doi.org/10.1128/mcb.00236-20

Lázár, L., Nagy, B., Molvarec, A., Szarka, A., & Rigó, J. (2012). Role of hsa-miR-325 in the etiopathology of preeclampsia. *Molecular Medicine Reports*, *6*(3), 597-600. https://doi.org/10.3892/mmr.2012.954

Lee, A., & Kiessling, A. A. (2017). Early human embryos are naturally aneuploid—can that be corrected? *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* (C. 34, Sayı 1, ss. 15-21). Springer New York LLC. https://doi.org/10.1007/s10815-016-0845-7

Lee, R. C., Feinbaum, R. L., & Ambrost, V. (1993). The C. elegans Heterochronic Gene lin-4 Encodes Small RNAs with Antisense Complementarity to &II-14. *Cell* (C. 75).

Lee, Y., Ahn, C., Han, J., Choi, H., Kim, J., Yim, J., Lee, J., Provost, P., Rå Dmark, O., Kim, S., & Kim, V. N. (2003). *The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing*. www.nature.com/nature

Lee, Y., Hur, I., Park, S. Y., Kim, Y. K., Mi, R. S., & Kim, V. N. (2006). The role of PACT in the RNA silencing pathway. *EMBO Journal*, *25*(3), 522-532. https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600942

Lee Y., Jeon K., Lee J., Kim S., & Kim V. (2002). MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *EMBO*, *21*(17), 4663-4670. https://doi.org/10.1093/emboj/cdf476

Levine, R. J., Maynard, S. E., Qian, C., Lim, K.-H., England, L. J., Yu, K. F., Schisterman, E. F., Thadhani, R., Sachs, B. P., Epstein, F. H., Sibai, B. M., Sukhatme, V. P., Ananth Karumanchi, S., Rjl, M., K-hl, G., & contributed, K. (2004). Circulating Angiogenic Factors and the Risk of Preeclampsia. *N Engl J Med* (C. 12). www.nejm.org

Li, L., Ji, Y., Chen, Y. C., & Zhen, Z. J. (2021). MiR-325-3p mediate the CXCL17/CXCR8 axis to regulate angiogenesis in hepatocellular carcinoma. *Cytokine*, *141*. https://doi.org/10.1016/j.cyto.2021.155436

Lingel, A., Simon, B., Izaurralde, E., & Sattler, M. (2003). *Structure and nucleic-acid binding of the Drosophila Argonaute 2 PAZ domain*. www.nature.com/nature

Liu, Y., Li, H., Zhao, C., & Jia, H. (2018). MicroRNA-101 inhibits angiogenesis via COX-2 in endometrial carcinoma. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *448*(1-2), 61-69. https://doi.org/10.1007/s11010-018-3313-0

Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2-ΔΔCT method. *Methods*, *25*(4), 402-408. https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262

Livesey, K. M., Kang, R., Vernon, P., Buchser, W., Loughran, P., Watkins, S. C., Zhang, L., Manfredi, J. J., Zeh, H. J., 3rd, Li, L., Lotze, M. T., & Tang, D. (2012). p53/HMGB1 complexes regulate autophagy and apoptosis. Cancer research, 72(8), 1996–2005. https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-2291

Luo, S. S., Ishibashi, O., Ishikawa, G., Ishikawa, T., Katayama, A., Mishima, T., Takizawa, T., Shigihara, T., Goto, T., Izumi, A., Ohkuchi, A., Matsubara, S., Takeshita, T., & Takizawa, T. (2009). Human villous trophoblasts express and secrete placenta-specific microRNAs into maternal circulation via exosomes. *Biology of Reproduction*, *81*(4), 717-729. https://doi.org/10.1095/biolreprod.108.075481

Ma, E., MacRae, I. J., Kirsch, J. F., & Doudna, J. A. (2008). Autoinhibition of Human Dicer by Its Internal Helicase Domain. *Journal of Molecular Biology*, *380*(1), 237-243. https://doi.org/10.1016/j.jmb.2008.05.005

MacRae, I. J., & Doudna, J. A. (2007). Ribonuclease revisited: structural insights into ribonuclease III family enzymes. *Current Opinion in Structural Biology* (C. 17, Sayı 1, ss. 138-145). https://doi.org/10.1016/j.sbi.2006.12.002

Makris, A., Yeung, K. R., Lim, S. M., Sunderland, N., Heffernan, S., Thompson, J. F., Iliopoulos, J., Killingsworth, M. C., Yong, J., Xu, B., Ogle, R. F., Thadhani, R., Karumanchi, S. A., & Hennessy, A. (2016). Placental growth factor reduces blood pressure in a uteroplacental ischemia model of preeclampsia in nonhuman primates. *Hypertension*, *67*(6), 1263-1272. https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.116.07286

Matsubara, K., Matsubara, Y., Uchikura, Y., & Sugiyama, T. (2021). Pathophysiology of preeclampsia: The role of exosomes. *International Journal of Molecular Sciences* (C. 22, Sayı 5, ss. 1-14). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ijms22052572

Melcher, T., Maas, S., Herb, A., Sprengel, R., Higuchi, M., & Seeburg, P. H. (1996). RED2, a brain-specific member of the RNA-specific adenosine deaminase family. *Journal of Biological Chemistry*, *271*(50), 31795-31798. https://doi.org/10.1074/jbc.271.50.31795

Miller, D. J., Duka, T., Stimpson, C. D., Schapiro, S. J., Baze, W. B., McArthur, M. J., Fobbs, A. J., Sousa, A. M. M., Šestan, N., Wildman, D. E., Lipovich, L., Kuzawa, C. W., Hof, P. R., & Sherwood, C. C. (2012). Prolonged myelination in human neocortical evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *109*(41), 16480-16485. https://doi.org/10.1073/pnas.1117943109

Morales-Prieto, D. M., Chaiwangyen, W., Ospina-Prieto, S., Schneider, U., Herrmann, J., Gruhn, B., & Markert, U. R. (2012). MicroRNA expression profiles of trophoblastic cells. *Placenta*, *33*(9), 725-734. https://doi.org/10.1016/j.placenta.2012.05.009

Morales-Prieto, D. M., Ospina-Prieto, S., Chaiwangyen, W., Schoenleben, M., & Markert, U. R. (2013). Pregnancy-associated miRNA-clusters. *Journal of*

Reproductive Immunology, *97*(1), 51-61. https://doi.org/10.1016/j.jri.2012.11.001

Mullis, K. B. (1990). *The Unusual Origin of the Polymerase Chain Reaction*.

Mutharasan, R. K., Nagpal, V., Ichikawa, Y., & Ardehali, H. (2011). microRNA-210 is upregulated in hypoxic cardiomyocytes through Akt-and p53-dependent pathways and exerts cytoprotective effects. *Am J Physiol Heart Circ Physiol, 301*. https://doi.org/10.1152/ajpheart.01080.2010.-microRNA-210

Nakayama, K. (2009). Cellular signal transduction of the hypoxia response. *Journal of Biochemistry* (C. 146, Sayı 6, ss. 757-765). https://doi.org/10.1093/jb/mvp167

Nashtahosseini, Z., Aghamaali, M. R., Sadeghi, F., Heydari, N., & Parsian, H. (2021). Circulating status of microRNAs 660-5p and 210-3p in breast cancer patients. The journal of gene medicine, 23(4), e3320. https://doi.org/10.1002/jgm.3320

Ogoyama, M., Takahashi, H., Suzuki, H., Ohkuchi, A., Fujiwara, H., & Takizawa, T. (2022). Non-Coding RNAs and Prediction of Preeclampsia in the First Trimester of Pregnancy. *Cells* (C. 11, Sayı 15). MDPI. https://doi.org/10.3390/cells11152428

Ohler, U., Yekta, S., Lim, L. P., Bartel, D. P., & Burge, C. B. (2004). Patterns of flanking sequence conservation and a characteristic upstream motif for microRNA gene identification. *RNA*, *10*(9), 1309-1322. https://doi.org/10.1261/rna.5206304

Okamura, K., Hagen, J. W., Duan, H., Tyler, D. M., & Lai, E. C. (2007). The Mirtron Pathway Generates microRNA-Class Regulatory RNAs in Drosophila. *Cell*, *130*(1), 89-100. https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.06.028

O'Rahilly R, & Muller F. (2006). The Embryonic Human Brain: An Atlas of Developmental Stages. *The Embryonic Human Brain: An Atlas of Developmental Stages* (3. bs). Wiley-Liss.

Ouyang, Y., Mouillet, J. F., Coyne, C. B., & Sadovsky, Y. (2014). Review: Placenta-specific microRNAs in exosomes - Good things come in nano-packages. *Placenta* (C. 35, Sayı SUPPL). https://doi.org/10.1016/j.placenta.2013.11.002

Ozturk, E., Balat, O., Acílmís, Y. G., Ozcan, C., Pence, S., & Erel, Ö. (2011). Measurement of the placental total antioxidant status in preeclamptic women using a novel automated method. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Research*, *37*(4), 337-342. https://doi.org/10.1111/j.1447-0756.2010.01346.x

Pascual ZN, & Langaker MD. (2023). Pregnancy. *Physiology, Pregnancy*.

Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Research* (C. 29, Sayı 9).

Phipps, E. A., Thadhani, R., Benzing, T., & Karumanchi, S. A. (2019). Pre-eclampsia: pathogenesis, novel diagnostics and therapies. *Nature Reviews Nephrology* (C. 15, Sayı 5, ss. 275-289). Nature Publishing Group. https://doi.org/10.1038/s41581-019-0119-6

Pijnenborg, R., Dixon, G., Robertson, W. B., & Brosens, I. (1980). Trophoblastic Invasion of Human Decidua From 8 to 18 Weeks of Pregnancy. *Placenta* (C. 1).

Pradervand, P. A., Clerc, S., Frantz, J., Rotaru, C., Bardy, D., Waeber, B., Liaudet, L., Vial, Y., & Feihl, F. (2014). High mobility group box 1 protein (HMGB-1): a pathogenic role in preeclampsia?. Placenta, 35(9), 784–786. https://doi.org/10.1016/j.placenta.2014.06.370

Ramakrishnan, S., Anand, V., & Roy, S. (2014). Vascular endothelial growth factor signaling in hypoxia and inflammation. *Journal of Neuroimmune Pharmacology* (C. 9, Sayı 2, ss. 142-160). Springer New York LLC. https://doi.org/10.1007/s11481-014-9531-7

Ramchandran, R., & Chaluvally-Raghavan, P. (2017). miRNA-mediated RNA activation in mammalian cells. *Advances in Experimental Medicine and Biology* (C. 983, ss. 81-89). Springer New York LLC. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4310-9_6

Ramos, J. G. L., Sass, N., & Costa, S. H. M. (2017). Pré-eclâmpsia. *Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetricia* (C. 39, Sayı 9, ss. 496-512). Federacao Brasileira das Sociedades de Ginecologia e Obstetricia. https://doi.org/10.1055/s-0037-1604471

Rana, S., Lemoine, E., Granger, J., & Karumanchi, S. A. (2019). Preeclampsia: Pathophysiology, Challenges, and Perspectives. *Circulation Research*, *124*(7), 1094-1112. https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.313276

Rehman B, & Muzio MR. (2023). Embryology 2. *Embryology*.

Reyes, L., & Golos, T. G. (2018). Hofbauer cells: Their role in healthy and complicated pregnancy. *Frontiers in Immunology* (C. 9, Sayı NOV). Frontiers Media S.A. https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02628

Robertson, S. A., Bromfield, J. J., & Tremellen, K. P. (2003). Seminal 'priming' for protection from pre-eclampsia-a unifying hypothesis. Journal of reproductive immunology, 59(2), 253–265. https://doi.org/10.1016/s0165-0378(03)00052-4

Rolnik, D. L., Wright, D., Poon, L. C., O'Gorman, N., Syngelaki, A., de Paco Matallana, C., Akolekar, R., Cicero, S., Janga, D., Singh, M., Molina, F. S., Persico, N., Jani, J. C., Plasencia, W., Papaioannou, G., Tenenbaum-Gavish, K., Meiri, H., Gizurarson, S., Maclagan, K., & Nicolaides, K. H. (2017). Aspirin versus Placebo in Pregnancies at High Risk for Preterm Preeclampsia. *New England Journal of Medicine*, *377*(7), 613-622. https://doi.org/10.1056/nejmoa1704559

Rosenberg, B. R., Hamilton, C. E., Mwangi, M. M., Dewell, S., & Papavasiliou, F. N. (2011). Transcriptome-wide sequencing reveals numerous APOBEC1 mRNA-editing targets in transcript 3′ UTRs. *Nature Structural and Molecular Biology*, *18*(2), 230-238. https://doi.org/10.1038/nsmb.1975

Ruby, J. G., Jan, C. H., & Bartel, D. P. (2007). Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature* (C. 448, Sayı 7149). http://www.targetscan.org

Salminen, A., Kaarniranta, K., & Kauppinen, A. (2016). AMPK and HIF signaling pathways regulate both longevity and cancer growth: the good news and the bad news about survival mechanisms. *Biogerontology* (C. 17, Sayı 4, ss. 655-680). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/s10522-016-9655-7

Salter, J. D., Bennett, R. P., & Smith, H. C. (2016). The APOBEC Protein Family: United by Structure, Divergent in Function. *Trends in Biochemical Sciences* (C. 41, Sayı 7, ss. 578-594). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.tibs.2016.05.001

Sanghvi, V. R., & Steel, L. F. (2011). The Cellular TAR RNA Binding Protein, TRBP, Promotes HIV-1 Replication Primarily by Inhibiting the Activation of Double-Stranded RNA-Dependent Kinase PKR. *Journal of Virology*, *85*(23), 12614-12621. https://doi.org/10.1128/jvi.05240-11

Sassen, S., Miska, E. A., & Caldas, C. (2008). MicroRNA: implications for cancer. Virchows Archiv : an international journal of pathology, 452(1), 1–10. https://doi.org/10.1007/s00428-007-0532-2

Sawin, S. W., & Morgan, M. A. (1996). Dating of pregnancy by trimesters: a review and reappraisal. *Obstetrical & gynecological survey*, *51*(4), 261-264.

Schittny, J. C. (2017). Development of the lung. *Cell and Tissue Research* (C. 367, Sayı 3, ss. 427-444). Springer Verlag. https://doi.org/10.1007/s00441-016-2545-0

Schneider, H. (2000). Placental oxygen consumption. Part II: In vitro studies - A review. *Placenta*, *21*(SUPPL.1). https://doi.org/10.1053/plac.1999.0512

Schwarz, D. S., Rgy Hutvá, G., Haley, B., & Zamore, P. D. (2002). Evidence that siRNAs Function as Guides, Not Primers, in the Drosophila and Human RNAi Pathways may recruit the dsRNA to Dicer or stabilize the siRNA products (Tabara et al How siRNAs. *Molecular Cell* (C. 10).

Schwindinger, W. F., Mirshahi, U. L., Baylor, K. A., Sheridan, K. M., Stauffer, A. M., Usefof, S., Stecker, M. M., Mirshahi, T., & Robishaw, J. D. (2012). Synergistic roles for G-protein γ 3and γ 7 subtypes in seizure susceptibility as revealed in double knock-out mice. *Journal of Biological Chemistry*, *287*(10), 7121-7133. https://doi.org/10.1074/jbc.M111.308395

Sharp, A., Cornforth, C., Jackson, R., Harrold, J., Turner, M. A., Kenny, L. C., Baker, P. N., Johnstone, E. D., Khalil, A., von Dadelszen, P., Papageorghiou, A. T., Alfirevic, Z., Agarwal, U., Willis, E., Mammarella, S., Masson, G., Aquilina, J., Greco, E., Higgins, S., … Bugg, G. (2018). Maternal sildenafil for severe fetal growth restriction (STRIDER): a multicentre, randomised, placebo-controlled, double-blind trial. *The Lancet Child and Adolescent Health*, *2*(2), 93. https://doi.org/10.1016/S2352-4642(17)30173-6

Sheng, H., Li, X., & Xu, Y. (2019). Knockdown of FOXP1 promotes the development of lung adenocarcinoma. *Cancer Biology and Therapy*, *20*(4), 537-545. https://doi.org/10.1080/15384047.2018.1537999

Sheridan, M. A., Zhao, X., Fernando, R. C., Gardner, L., Perez-Garcia, V., Li, Q., Marsh, S. G. E., Hamilton, R., Moffett, A., & Turco, M. Y. (2021). Characterization of primary models of human trophoblast. *Development (Cambridge)*, *148*(21). https://doi.org/10.1242/dev.199749

Silbereis, J. C., Pochareddy, S., Zhu, Y., Li, M., & Sestan, N. (2016). The Cellular and Molecular Landscapes of the Developing Human Central Nervous System. *Neuron* (C. 89, Sayı 2, s. 248). Cell Press. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.12.008

Slezak-Prochazka, I., Selvi, D., Kroesen, B. J., & Van Den Berg, A. (2010). MicroRNAs, macrocontrol: Regulation of miRNA processing. *RNA* (C. 16, Sayı 6, ss. 1087-1095). https://doi.org/10.1261/rna.1804410

Solnica-Krezel, L., & Sepich, D. S. (2012). Gastrulation: Making and shaping germ layers. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* (C. 28, ss. 687-717). https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154043

Spradley, F. T., Tan, A. Y., Joo, W. S., Daniels, G., Kussie, P., Karumanchi, S. A., & Granger, J. P. (2016). Placental growth factor administration abolishes placental ischemia-induced hypertension. *Hypertension*, *67*(4), 740-747. https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06783

Steinberg, G. R., & Kemp, B. E. (2009). AMPK in health and disease. *Physiological Reviews* (C. 89, Sayı 3, ss. 1025-1078). https://doi.org/10.1152/physrev.00011.2008

Stelzer, G., Rosen, N., Plaschkes, I., Zimmerman, S., Twik, M., Fishilevich, S., Stein, T. I., Nudel, R., Lieder, I., Mazor, Y., Kaplan, S., Dahary, D., Warshawsky, D., Guan-Golan, Y., Kohn, A., Rappaport, N., Safran, M., Lancet, D., & Kohn A. (2016). The GeneCards Suite: From Gene Data Mining to Disease Genome Sequence Analyses. *Current protocols in bioinformatics*, *54*, 1.30.1-1.30.33. https://doi.org/10.1002/cpbi.5

Suo, M., Sun, Y., Yang, H., Ji, J., He, Y., Dong, L., Wang, Y., Zhang, Y., Zhang, Y., & Hao, M. (2020). MiR-183-5p suppressed the invasion and migration of HTR-8/SVneo trophoblast cells partly via targeting MMP-9 in preeclampsia. *Bioscience Reports*, *40*(6). https://doi.org/10.1042/BSR20192575

Thornburg, K. L., Burry, K. J., Adams, A. K., Kirk, E. P., & Faber, J. J. (1988). *Permeability of placenta to inulin*.

Tomimatsu, T., Mimura, K., Matsuzaki, S., Endo, M., Kumasawa, K., & Kimura, T. (2019). Preeclampsia: Maternal systemic vascular disorder caused by generalized endothelial dysfunction due to placental antiangiogenic factors. *International Journal of Molecular Sciences* (C. 20, Sayı 17). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/ijms20174246

Trewin, A. J., Berry, B. J., & Wojtovich, A. P. (2018). Exercise and mitochondrial dynamics: Keeping in shape with ROS and AMPK. *Antioxidants* (C. 7, Sayı 1). MDPI. https://doi.org/10.3390/antiox7010007

Tsatsaris, V., Goffin, F., Munaut, C., Brichant, J. F., Pignon, M. R., Noel, A., Schaaps, J. P., Cabrol, D., Frankenne, F., & Foidart, J. M. (2003). Overexpression of the Soluble Vascular Endothelial Growth Factor Receptor in Preeclamptic Patients: Pathophysiological Consequences. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, *88*(11), 5555-5563. https://doi.org/10.1210/jc.2003-030528

Turco, M. Y., Gardner, L., Kay, R. G., Hamilton, R. S., Prater, M., Hollinshead, M., Mcwhinnie, A., Esposito, L., Fernando, R., Skelton, H., Reimann, F.,

Gribble, F., Sharkey, A., Marsh, S. G. E., O'rahilly, S., Hemberger, M., Burton, G. J., & Moffett, A. (2019). *Trophoblast organoids as a model for maternal-fetal interactions during human placentation*. https://doi.org/10.6019/PXD009118

Turco, M. Y., Gardner, L., Kay, R. G., Hamilton, R. S., Prater, M., Hollinshead, M. S., McWhinnie, A., Esposito, L., Fernando, R., Skelton, H., Reimann, F., Gribble, F. M., Sharkey, A., Marsh, S. G. E., O'rahilly, S., Hemberger, M., Burton, G. J., & Moffett, A. (2018). Trophoblast organoids as a model for maternal–fetal interactions during human placentation. *Nature*, *564*(7735), 263-281. https://doi.org/10.1038/s41586-018-0753-3

TÜİK. (2019). *TÜRKİYE ANNE ÖLÜMLERİ RAPORU*.

Vigil-De Gracia, P. (2009). Maternal deaths due to eclampsia and HELLP syndrome. *International Journal of Gynecology and Obstetrics* (C. 104, Sayı 2, ss. 90-94). John Wiley and Sons Ltd. https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2008.09.014

Vikse B.E., Irgens M.L, Leivestad T., Skjærven R., & Iversen B.M. (2008). *Preeclampsia and End-Stage Renal Disease*. www.nejm.org

Vishnoi, A., & Rani, S. (2017). MiRNA biogenesis and regulation of diseases: An overview. *Methods in Molecular Biology* (C. 1509, ss. 1-10). Humana Press Inc. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6524-3_1

Vries C., JAIME A. ESCOBEDO, HiKARu UENO, KEriH HOUCK, NAPOLEONE FERRARA, & LEWIS T. WILLIAMS. (1992). *Thefms-Like Tyrosine Kinase, a Receptor for Vascular Endothelial Growth Factor*. *4*(18).

Wang, G. L., Jiang, B.-H., Rue, E. A., & Semenza, G. L. (1995). Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular 02 tension (dioxin receptor/erythropoietin/hypoxia/transcription). *Genetics* (C. 92).

Wang, Y., Lee, A. T., Ma, J. Z., Wang, J., Ren, J., Yang, Y., Tantoso, E., Li, K. B., Ooi, L. L., Tan, P., & Lee, C. G. (2008). Profiling microRNA expression in hepatocellular carcinoma reveals microRNA-224 up-regulation and apoptosis inhibitor-5 as a microRNA-224-specific target. The Journal of biological chemistry, 283(19), 13205–13215. https://doi.org/10.1074/jbc.M707629200

Wang, Y., Li, B., & Zhao, Y. (2022). Inflammation in Preeclampsia: Genetic Biomarkers, Mechanisms, and Therapeutic Strategies. *Frontiers in Immunology*, *13*. https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.883404

WHO. (1988). *Geographic variation in the incidence of hypertension. 1n pregnancy*.

WHO. (2016). *World Health Organization International Classification of Diseases and Related Health Problems*.

Willis, D. M., Patrick, J. O., Job Faber, J., & Thornburg, K. L. (1986). *Diffusion permeability of cyanocobalamin in human placenta*. www.physiology.org/journal/ajpregu

Xiang, H., Xue, W., Wu, X., Zheng, J., Ding, C., Li, Y., & Dou, M. (2019). FOXP1 inhibits high glucose-induced ECM accumulation and oxidative stress in

mesangial cells. *Chemico-Biological Interactions*, *313*. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.108818

Xu, L. Di, & Öhman, M. (2019). ADAR1 editing and its role in cancer. *Genes* (C. 10, Sayı 1). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/genes10010012

Yamada, S., Samtani, R. R., Lee, E. S., Lockett, E., Uwabe, C., Shiota, K., Anderson, S. A., & Lo, C. W. (2010). Developmental atlas of the early first trimester human embryo. *Developmental Dynamics*, *239*(6), 1585-1595. https://doi.org/10.1002/dvdy.22316

Yang, W., Chendrimada, T. P., Wang, Q., Higuchi, M., Seeburg, P. H., Shiekhattar, R., & Nishikura, K. (2006). Modulation of microRNA processing and expression through RNA editing by ADAR deaminases. *Nature Structural and Molecular Biology*, *13*(1), 13-21. https://doi.org/10.1038/nsmb1041

Yao, S., Zhao, T., & Jin, H. (2015). Expression of MicroRNA-325-3p and its potential functions by targeting HMGB1 in non-small cell lung cancer. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *70*(C), 72-79. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.01.013

Zhang, J., Han, C., Zhu, H., Song, K., & Wu, T. (2013). MiR-101 inhibits cholangiocarcinoma angiogenesis through targeting vascular endothelial growth factor (VEGF). *American Journal of Pathology*, *182*(5), 1629-1639. https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2013.01.045

Zhang, Y., Fei, M., Xue, G., Zhou, Q., Jia, Y., Li, L., Xin, H., & Sun, S. (2012). Elevated levels of hypoxia-inducible microRNA-210 in pre-eclampsia: New insights into molecular mechanisms for the disease. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *16*(2), 249-259. https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2011.01291.x

Zorn, A. M., & Wells, J. M. (2009). Vertebrate endoderm development and organ formation. *Annual Review of Cell and Developmental Biology* (C. 25, ss. 221-251). https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.042308.113344

Zou, Q. yun, Zhao, Y. jie, Zhou, C., Liu, A. xia, Zhong, X. qi, Yan, Q., Li, Y., Yi, F. xian, Bird, I. M., & Zheng, J. (2019). G Protein α Subunit 14 Mediates Fibroblast Growth Factor 2-Induced Cellular Responses in Human Endothelial Cells. *Journal of Cellular Physiology*, *234*(7), 10184-10195. https://doi.org/10.1002/jcp.27688

Zou, Z., Huang, B., Wu, X., Zhang, H., Qi, J., Bradner, J., Nair, S., & Chen, L. F. (2014). Brd4 maintains constitutively active NF-κB in cancer cells by binding to acetylated RelA. *Oncogene*, *33*(18), 2395-2404. https://doi.org/10.1038/onc.2013.179

A

EKLER

Tablo A.1 Kullanılan cihazların bilgileri

Kullanılan Cihaz	**Marka**	**Model**	**Seri No**
NanoDrop	ThermoFisher	705	9271-319
Otoklav	Hirayama	HV-50L	1411115016
Santrifüj	Hettich	Werk Nr.	0006531-02-00
Termal Döngü Bloğu	ThermoFisher Applied Biosystem	StepOnePlus™	2720013660

Tablo A.2. Kullanılan kimyasal sarflar ve kitler

Kullanılan Kit veya Kimyasal	**Marka**	**Lot Numarası**	**Son Kullanma Tarihi**
DEPC	Biobasic	Q3201201	2026
Ethanol	Isolab	LR0093302ANQ	08.2025
miRNA-cDNA kit	Takara	2210680A	30.11.2025
qPCR kit	Takara TB Green	210857A	11.01.2026
Total RNA Extraction Kit	Nucleogene	NG20200603	05.07.2024

Tablo A.3 Preeklampsi 1 anne adayının kontrol gruplarına göre plasenta miRNA ifade profili

miRNA	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	**miRNA İfade Seviyesi**
hsa-miR-183	13,21	Yüksek
hsa-miR-325	22,63	Yüksek
hsa-miR-224	22,16	Yüksek
hsa-miR-101-3p	2,27	Yüksek
hsa-miR-210	6,50	Yüksek

Tablo A.4 Preeklampsi 2 anne adayının kontrol gruplarına göre plasenta miRNA ifade profili

miRNA	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	**miRNA İfade Seviyesi**
hsa-miR-183	16,60	Yüksek
hsa-miR-325	13,83	Yüksek
hsa-miR-224	1,92	Yüksek
hsa-miR-101-3p	~0,00	Düşük
hsa-miR-210	9,13	Yüksek

Tablo A.5 Preeklampsi 3 anne adayının kontrol gruplarına göre plasenta miRNA ifade profili

miRNA	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	**miRNA İfade Seviyesi**
hsa-miR-183	14,96	Yüksek
hsa-miR-325	0,53	Düşük
hsa-miR-224	4,64	Düşük
hsa-miR-101-3p	0,22	Düşük
hsa-miR-210	6,87	Yüksek

Tablo A.6 Preeklampsi 1 anne adayı için kontrol gruplarına göre plasental yatak miRNA ifade profili

miRNA	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	**miRNA İfade Seviyesi**
hsa-miR-325	9,32	Yüksek
hsa-miR-101-3p	1,78	Yüksek

Tablo A.7 Preeklampsi 2 anne adayı için kontrol gruplarına kıyasla plasental yatak miRNA ifade profili

miRNA	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	**miRNA İfade Seviyesi**
hsa-miR-325	53,82	Yüksek
hsa-miR-101-3p	14,32	Yüksek

Tablo A.8 Preeklampsi 3 anne adayı için kontrol gruplarına kıyasla plasental yatak miRNA ifade profili

miRNA	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	**miRNA İfade Seviyesi**
hsa-miR-325	10,56	Yüksek
hsa-miR-101-3p	2,28	Yüksek

Tablo A.9 Preeklampsi 1 anne adayı için kontrol gruplarına kıyasla kordon miRNA ifade profili

miRNA	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	**miRNA İfade Seviyesi**
hsa-miR-325	51,27	Yüksek

Tablo A.10 Preeklampsi 2 anne adayı için kontrol gruplarına kıyasla kordon miRNA ifade profili

miRNA	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	**miRNA İfade Seviyesi**
hsa-miR-325	9,92	Yüksek

Tablo A.11 Preeklampsi 3 anne adayı için kontrol gruplarına kıyasla kordon miRNA ifade profili

miRNA	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	**miRNA İfade Seviyesi**
hsa-miR-325	54,19	Yüksek

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. Tahaberk Ateşoğlu, Nehir Özdemir Özgentürk, Sabina Neziri, Zehra Ömeroğlu Ulu (2023). Evaluation of hsa-miR-183 Expression by Real-Time PCR in Preeclampsia / Preeklampside hsa-miR-183 Ekspresyonunun Gerçek Zamanlı PCR ile Değerlendirilmesi. 12. Uluslararası Akademik Araştırma Kongresi Sempozyum Özet Kitapçığı, 176-177