

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

PREEKLAMPSİDE VE GESTASYONEL HİPERTANSİYONDA
CYP4F2, 4F3, 4A11, 2J2, 2C9, 2C19 VE SOLUBL EPOKSİT
HİDROLAZ ENZİMLERİNİN GENETİK
POLİMORFİZMLERİNİN ETKİLERİ

Dr. Mert Can ONGUN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA

2021

**T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**PREEKLAMPSİDE VE GESTASYONEL HİPERTANSİYONDA
CYP4F2, 4F3, 4A11, 2J2, 2C9, 2C19 VE SOLUBL EPOKSİT
HİDROLAZ ENZİMLERİNİN GENETİK
POLİMORFİZMLERİNİN ETKİLERİ**

Dr. Mert Can ONGUN

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Danışman Öğretim Üyesi

Prof. Dr. Melih Ö. BABAĞLU

ANKARA

2021

TEŞEKKÜR

Bilgi ve tecrübesini eğitimimin her aşamasında benimle paylaşan, tez çalışmam sırasında ve akademik gelişimimde katkılarını esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Melih Ö. BABAOĞLU'na,

Uzmanlık eğitimi sürecimde bilgi ve tecrübesinden faydalandığım başta Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Alper B. İSKİT olmak üzere Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. M. Yıldırım SARA, Doç. Dr. Güray SOYDAN ve Doç. Dr. Mert ERTUNÇ'a,

Uzmanlık eğitimim sırasında birlikte çalıştığım Farmakoloji Anabilim Dalı araştırma görevlilerine, çalışanlarına ve Dr. Öğr. Üyesi Ahmet MÜDERRİSOĞLU'na,

Hastaların çalışmaya dahil edilmesinde büyük destek ve katkı sağlayan SBÜ Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları ve Doğum Hastanesi ve SBÜ Ankara Şehir Hastanesi'nden, Prof. Dr. Dilek ŞAHİN, Prof. Dr. Aykan YÜCEL, Uzm. Dr. Nazan VANLI TONYALI'ya,

Metabolit düzeylerinin ölçümünde yardımcı olan Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Nursabah BAŞÇI AKDUMAN'a, Doç. Dr. Mustafa ÇELEBİER'e ve Arş. Gör. Ozan KAPLAN'a,

Her zaman yanımda olan Uzm. Dr. Zehra KARAMAN'a,

Beni her koşulda destekleyen, teşvik eden aileme,

En içten dileklerle teşekkür ederim.

Dr. Mert Can ONGUN

ÖZET

Ongun, Mert C. Preeklampside ve Gestasyonel Hipertansiyonda CYP4F2, 4F3, 4A11, 2J2, 2C9, 2C19 ve Solubl Epoksit Hidrolaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmlerinin Etkileri, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Ankara, 2021. Preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyon (GH) annede ve bebekte morbidite ve mortaliteye neden olan hastalıklardır. Her iki hastalığın da patofizyolojisi henüz açık olarak ortaya konamamıştır. Preeklampsi ve GH yönünden yüksek riskli hastaların erken saptanması ve yakın takibi önemlidir. Preeklampsi ve GH risk faktörleri arasında genetik faktörler önemli yer tutar. Bu hastalıklarda rol oynayan genetik polimorfizmlerin saptanması, patofizyolojinin aydınlatılmasına yardımcı olabileceği gibi erken tanı ve tedavi için yol gösterici olabilir. 20-hidroksieikosatetraenoik asit (20-HETE), trofoblast göçünün inhibisyonundan, endotel disfonksiyonu ve hipertansiyondan sorumlu olduğu düşünülen bir vazokonstriktör endojen maddedir. CYP4F2, CYP4F3 ve CYP4A11 enzimleri araşidonik asiti 20-HETE'ye metabolize eder. Epoksieikosatrienoik asitler (EET) vazodilatör ve antiinflamatuvar etkileri olan mediyatörlerdir. EET'nin oluşumundan CYP2J2, CYP2C9 ve CYP2C19 enzimleri sorumludur. EET, solubl epoksit hidrolaz enzimi ile daha az aktif olan metaboliti dihidroksieikosatrienoik asite (DHET) metabolize olur. Bu çalışmanın amacı, Türk toplumunda preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyonda *CYP4F2**3, *CYP2J2**7, *sEH rs751141*, *CYP2C19**2 ve *17, *CYP2C9**2, *3, *CYP4F3 rs3794987*, *CYP4A11 rs9333025* genetik polimorfizmlerinin etkilerinin incelenmesidir. Kontrol grubuna 155 sağlıklı gebe, çalışma grubuna 58 preeklampsi ve 110 gestasyonel hipertansiyon hastası dahil edildi. Genetik analizler polimeraz zincir reaksiyonu ve restriksiyon (RFLP) analizi yöntemi kullanılarak yapıldı. 20-HETE ve DHET düzeyleri sıvı kromatografi-kütle spektrometresi (LC-MS) kullanılarak ölçüldü. Kontrol, preeklampsi ve GH grupları arasında *CYP2J2**7, *CYP2C19**2 ve *17, *CYP4F3 rs3794987* genetik polimorfizmlerinin alel sıklıklarının dağılımında anlamlı farklılık saptandı. DHET plazma düzeyleri, preeklampsi ve GH gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü. Bu gruplarda 20-HETE düzeyleri arasında farklılık saptanmadı. Sonuçlarımız, *CYP2J2**7, *CYP2C19**2 ve *17, *CYP4F3 rs3794987* polimorfizmlerinin preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyon hastalarının tanısı tedavi ve izleminde yararlı biyobelirteçler olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Farmakogenomik, Preeklampsi, Gestasyonel Hipertansiyon, Sitokrom P450(CYP), Solubl Epoksit Hidrolaz.

Bu tez çalışması Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (TTU-2019-18400).

ABSTRACT

Ongun, Mert C. Effects of CYP4F2, 4F3, 4A11, 2J2, 2C9, 2C19 and Soluble Epoxide Hydrolase Enzyme Genetic Polymorphisms in Preeclampsia and Gestational Hypertension, Hacettepe University Faculty of Medicine, Department of Medical Pharmacology, Thesis for Specialty in Medical Pharmacology, Ankara, 2021. Preeclampsia and gestational hypertension (GH) are disorders that may cause morbidity and mortality in both mother and infant. The pathophysiologies of both disorders have not been clearly established. Early detection and close follow-up of patients with high risk for preeclampsia and GH is important. Genetic factors play a major role in development of preeclampsia and GH. Detection of genetic polymorphisms that may play role in these disorders may help clarify the pathophysiology and can be useful for early diagnosis and treatment. 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) is an endogenous vasoconstrictor substance also responsible for inhibition of trophoblast migration, endothelial dysfunction and hypertension. CYP4F2, CYP4F3 and CYP4A11 enzymes metabolize arachidonic acid to 20-HETE. Epoxyeicosatrienoic acids (EET) have vasodilator and anti-inflammatory activities. CYP2J2, CYP2C9 and CYP2C19 are responsible for the formation of EET, which are metabolized by the soluble epoxide hydrolase enzyme to the less active metabolite dihydroxyeicosatrienoic acid (DHET). The aim of this study is to investigate the functional effects of the genetic polymorphisms of *CYP4F2**3, *CYP2J2**7, *sEH rs751141*, *CYP2C19**2 and *17, *CYP2C9**2, *3, *CYP4F3 rs3794987*, *CYP4A11 rs9333025* in preeclampsia and gestational hypertension in a Turkish population. A total of 155 healthy pregnant women as the control group, 58 preeclampsia and 110 gestational hypertension patients as the study group were included. Genetic analysis was performed using the polymerase chain reaction and restriction (RFLP) analysis. 20-HETE and DHET levels were measured using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). Significant differences were found in the allele frequency distributions of *CYP2J2**7, *CYP2C19**2 and *17, *CYP4F3 rs3794987* genetic polymorphisms among control, preeclampsia and GH groups. DHET plasma levels were decreased in preeclampsia and GH groups compared to the control group; however, plasma 20-HETE levels were not changed. Our results may suggest that *CYP2J2**7, *CYP2C19**2, *17, *CYP4F3 rs3794987* genetic polymorphisms may be useful as candidate biomarkers in the diagnosis and follow-up of treatment in patients with preeclampsia and gestational hypertension.

Keywords: Pharmacogenomics, Preeclampsia, Gestational Hypertension, Cytochrome P450 (CYP), Soluble Epoxide Hydrolase.

This thesis study was supported by Hacettepe University Scientific Research Projects Unit (TTU-2019-18400)

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	iii
ŞEKİL DİZİNİ.....	v
TABLO DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Gebeliğin Hipertansif Hastalıkları.....	3
2.1.1. Gebeliğin Hipertansif Hastalıklarının Sınıflandırılması.....	3
2.1.2. Preeklampsi.....	4
2.1.3. Gestasyonel Hipertansiyon.....	4
2.1.4. Preeklampsi Risk Faktörleri.....	5
2.1.5. Preeklampsi Patofizyolojisi.....	7
2.1.6. Endotel Disfonksiyonunun Preeklampsideki Rolü.....	8
2.2. Araşidonik Asitin CYP Metabolitleri.....	10
2.2.1. Epoksieikosatrieonik Asitler (EET).....	11
2.2.2. 20-hidroksieikosatetraeonik asit (20-HETE).....	13
2.3. CYP Epoksijenaz ve CYP ω -Hidroksilaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri.....	15
2.3.1. CYP ω -hidroksilaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri.....	15
2.3.2. CYP Epoksijenaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri.....	16
2.4. Hipotez.....	22
2.5. Amaç.....	22
2.6. Hedefler.....	22

3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3.1. Çalışma Grubu.....	23
3.2. Genetik Polimorfizmlerinin Analizleri.....	24
3.2.1. Genotipleme Çalışmalarında Kullanılan Ürünler ve Araç-Gereç.....	24
3.2.2. Kan Örneklerinin Alınması.....	24
3.2.3. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu	25
3.2.4. CYP4F2, CYP4F3, CYP4A11, CYP2J2, CYP2C9, CYP2C19 ve sEH (EPHX2) Genetik Polimorfizmlerinin Genotiplenmesi.....	25
3.3. Hedeflenmemiş Metabolomik Çalışması	33
3.3.1. Örneklerin Hazırlanması	33
3.3.2. Q-TOF LC/MS Analizi.....	33
3.3.3. Q-TOF LC/MS Analizi Verilerinin İşlenmesi.....	34
3.3.4. Temel Bileşen Analizi (PCA).....	34
3.3.5. Piklerin Metabolit Veri Tabanlarında Taranması.....	36
3.4. Plazmadan 20-HETE ve DHET Düzeylerinin Ölçümü	36
3.4.1. Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	37
3.4.2. 20-HETE ve DHET Düzeylerinin Ölçümü.....	37
3.5. İstatiksel Analiz.....	40
4. BULGULAR.....	41
4.1. Gönüllülere Ait Demografik Bilgiler	41
4.2. CYP4F2, CYP4F3, CYP4A11, CYP2J2, CYP2C9, CYP2C19 ve sEH (EPHX2) Genetik Polimorfizmlerinin Alel Sıklıkları.....	41
4.3. CYP4F2, CYP4F3, CYP4A11 Genetik Polimorfizmleri ile Gebeliğin Hipertansif Hastalıkları Arasındaki İlişki.....	44
4.3.1. <i>CYP4F2</i> *3 Genetik Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları.....	44
4.3.2. <i>CYP4A11 rs9333025</i> Genetik Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları	44

4.3.3. <i>CYP4F3</i> rs3794987 Genetik Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları	45
4.4. Plazmadan 20-HETE Düzeylerinin Ölçüm Sonuçları	46
4.4.1. Kontrol ve Hasta Gruplarında CYP ω -hidroksilaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri ile Plazma 20-HETE Düzeyleri Arasındaki İlişki	46
4.4.2. Kontrol ve Hasta Gruplarında CYP ω -hidroksilaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri ile Plazma 20-HETE Düzeyleri Arasındaki İlişki	47
4.5. CYP2C19, CYP2C9, CYP2J2*7 ve sEH Genetik Polimorfizmleri ile Gebeliğin Hipertansif Hastalıkları Arasındaki İlişki	49
4.5.1. CYP2C19 Genetik Polimorfizmlerinin Genotip ve Alel Sıklıkları	49
4.5.2. <i>CYP2C9</i> Genetik Polimorfizmleri ile Gestasyonel Hipertansiyon ve Preeklampsi Arasındaki İlişki	50
4.5.3. <i>CYP2J2</i> *7 Genetik Polimorfizmi ile Gestasyonel Hipertansiyon ve Preeklampsi Arasındaki İlişki	51
4.5.4. sEH (<i>EPHX2</i>) rs751141 Genetik Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları	52
4.6. Plazmadan DHET Düzeylerinin Ölçüm Sonuçları	53
4.6.1. Preeklampsi, Gestasyonel Hipertansiyon ve Kontrol Gruplarında DHET düzeylerinin karşılaştırılması	53
4.6.2. CYP Epoksijenaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri ile Plazma DHET Düzeyleri Arasındaki İlişki	53
4.6.3. <i>CYP 2J2</i> *7 Genotip Grupları ile Plazma DHET Düzeyleri Arasındaki İlişki	55
4.6.4. sEH (<i>EPHX2</i>) rs751141 Genetik Polimorfizmi ile Plazma DHET Düzeyleri Arasındaki İlişki	56
4.7. Hedeflenmemiş Metabolomik Çalışması Sonuçları	57
4.7.1 Temel Bileşen Analizi (PCA)	57
4.7.2. Hedeflenmemiş Metabolomik Analizi Sonuçları	58
4.7. BULGULARIN ÖZETİ	62

5.TARTIŞMA	63
5.1. CYP ω -Hidroksilaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri ile Gestasyonel Hipertansiyon, Preeklampsi ve 20-HETE Düzeyleri Arasındaki İlişki.....	63
5.2. CYP Epoksijenaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri ile Preeklampsi ve Gestasyonel Hipertansiyon Arasındaki İlişki	65
5.3. Preeklampsi, Gestasyonel Hipertansiyon ve Kontrol Gruplarında DHET Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	67
5.4. CYP Epoksijenaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri ile Plazma DHET Düzeyleri Arasındaki İlişki	68
5.5. Solubl Epoksit Hidrolaz <i>rs751141</i> Genetik Polimorfizmi ile Gestasyonel Hipertansiyon, Preeklampsi ve DHET Düzeyleri Arasındaki İlişki.....	69
5.6. Hedeflenmemiş Metabolomik Çalışması	70
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	72
7.KAYNAKLAR	73

SİMGELER VE KISALTMALAR

20-HETE	20-hidroksieikosatetraenoik asit
AA	Araşidonik asit
ACOG	The American College of Obstetricians and Gynecologists
BK_{Ca}	Büyük kondüktanslı kalsiyum ile aktive olan potasyum kanalı
VKİ	Vücut kitle indeksi
COX	Siklooksijenaz
DHA	Dokosaheksaeonik asit
DHET	Dihidroksieikosatrienoik asit
EDHF	Endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör
EET	Epoksieikosatrienoik asitler
EPA	Eikosapentaeonik asit
GH	Gestasyonel hipertansiyon
IUGG	İntrauterin gelişme geriliği
KEGG	Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes
LOX	Lipooksijenaz
m/z	Kütle/yük
NF- κB	Nükleer faktör κb
Q-TOF/MS	Kuadripol uçuş zamanlı kütle spektrometresi
PIGF	Plasental büyüme faktörü

PCA	Temel bileşen analizi
PCR-RFLP	Polimeraz zincir reaksiyonu ve enzim restriksiyonu
ROS	Reaktif oksijen türleri
SBÜ	Sağlık Bilimleri Üniversitesi
sFlt-1	Solubl fms-like tyrosine kinase-1
sEH	Solubl epoksit hidrolaz
SGA	Gebelik yaşına göre küçük
TE	Tris-EDTA
tPA	Doku plazminojen aktivatörü
UPLC	Ultra performanslı sıvı kromatografisi
Ü	Ünite

ŞEKİL DİZİNİ

	Sayfa
2.1. Preeklampsi patogenezi.....	9
2.2. Araşidonik asit metabolizması.....	10
2.3. Araşidonik asitin CYP enzimleri ile metabolizması.....	11
2.4. 20-HETE ve Epoksieikosatrienonik Asitlerin Oluşumundan Sorumlu Enzimler.....	12
2.5. Araşidonik asitin CYP enzimleri ile metabolizmasındaki önemli genetik polimorfizmler	21
3.1. <i>CYP4F2</i> *3 genetik polimorfizmi analiz sonucu örneği.....	30
3.2. <i>CYP2J2</i> *7 genetik polimorfizmi analiz sonucu örneği.....	30
3.3. <i>CYP2C19</i> *2 genetik polimorfizmi analiz sonucu örneği.....	31
3.4. <i>CYP2C19</i> *17 genetik polimorfizmi analiz sonucu örneği ...	31
3.5. <i>CYP2C9</i> *3 genetik polimorfizmi analiz sonucu örneği.....	32
3.6. <i>CYP4F3 rs3794987</i> genetik polimorfizmi analiz sonucu örneği.....	32
3.7. PCA analizinde boyut azaltılmasının, temel bileşen 1 (PC1) ve temel bileşen 2 (PC2)'nin şematik gösterimi.....	35
3.8. LC-MS yöntemi ile elde edilen örnek 20-HETE ve DHET pikleri.....	38
3.9. LC-MS yöntemi ile 337 m/z ve 150 m/z, 319 m/z değerlerinde tarama sonuçları.....	39
4.1. Kontrol ve hasta gruplarında 20-HETE Düzeyleri.....	47

4.2.	Öngörülen fenotip gruplarında 20-HETE düzeyleri.....	48
4.3.	Preeklampsi, gestasyonel hipertansiyon ve kontrol Gruplarında DHET Düzeyleri.....	53
4.4.	Öngörülen fenotip gruplarında DHET düzeyleri.....	55
4.5.	<i>CYP2J2</i> *7 genotip gruplarında plazma DHET düzeyleri	56
4.6.	<i>sEH (EPHX2) rs751141</i> genotip gruplarında plazma DHET değişim oranları.....	57
4.7.	Kontrol, gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarının temel bileşen analizi (PCA) sonuçları.....	58

TABLO DİZİNİ

		Sayfa
2.1	Preeklampsi tanı kriterleri.....	4
2.2.	Preeklampsi gelişme riskini artıran klinik faktörler.....	6
2.3.	<i>CYP2J2</i> *7 Genetik polimorfizminin çeşitli toplumlardaki alel sıklıkları.....	17
2.4.	Araşidonik asitin CYP enzimleri ile metabolizmasındaki önemli polimorfizmler.....	20
3.1.	<i>CYP4F2</i> *3, <i>CYP2J2</i> *7, <i>EPHX2</i> rs751141, <i>CYP2C19</i> *2, *17, <i>CYP2C9</i> *2, *3, <i>CYP4F3</i> rs3794987, <i>CYP4A11</i> rs9333025 genetik polimorfizmleri için primerler, PCR ürünü uzunluğu, kesim enzimleri ve kesim ürünleri.....	27
3.2.	<i>CYP4F2</i> *3, <i>CYP2J2</i> *7, <i>EPHX2</i> rs751141, <i>CYP2C19</i> *2, *17, <i>CYP2C9</i> *2, *3, <i>CYP4F3</i> rs3794987, <i>CYP4A11</i> rs9333025 genetik polimorfizmleri için PCR koşulları.....	28
3.3.	<i>CYP4F2</i> *3, <i>CYP2J2</i> *7, <i>EPHX2</i> rs751141, <i>CYP2C19</i> *2, *17, <i>CYP2C9</i> *2, *3, <i>CYP4F3</i> rs3794987, <i>CYP4A11</i> rs9333025 genetik polimorfizmleri için RFLP koşulları.....	29
3.4.	Q-TOF LC/MS analizinde kullanılan gradient yöntemi.....	34
3.5.	LC/MS analizinde kullanılan gradient yöntemi.....	38
4.1.	Gönüllülere ait demografik bilgiler.....	41
4.2.	Genetik polimorfizmlerin çalışmamızdaki ve referans çalışmalardaki alel sıklıkları.....	42

4.3.	Çalışmaya dahil edilen 323 bireyin Hardy-Weinberg eşitliği analiz sonuçları.....	43
4.4.	<i>CYP4F2</i> *3 genetik polimorfizminin genotip ve alel sıklıkları.....	44
4.5.	<i>CYP4A11 rs9333025</i> genetik polimorfizminin genotip ve alel sıklıklar.....	45
4.6.	<i>CYP4F3 rs3794987</i> genetik polimorfizminin genotip ve alel sıklıkları.....	46
4.7.	CYP ω-hidroksilaz enzimleri için öngörülen fenotip grupları	48
4.8.	<i>CYP2C19</i> genetik polimorfizmlerinin genotip ve alel sıklıkları.....	49
4.9.	<i>CYP2C9</i> genetik polimorfizmlerinin genotip ve alel sıklıkları.....	50
4.10.	<i>CYP2J2</i> *7 genetik polimorfizminin genotip ve alel sıklıkları.....	51
4.11.	sEH (<i>EPHX2 rs751141</i>) genetik polimorfizmlerinin genotip ve alel sıklıkları.....	52
4.12.	CYP Epoksijenaz enzimleri için öngörülen fenotip grupları	54
4.13.	Gestasyonel hipertansiyon ve kontrol grupları arasında 5 kattan fazla değişim saptanan metabolitler.....	59
4.14.	Preeklampsi ve kontrol grupları arasında 5 kattan fazla değişim saptanan metabolitler.....	60
4.15.	Kontrol grubundan hem gestasyonel hipertansiyon grubunda hem de preeklampsi grubunda farklılaşan metabolitler.....	61

1. GİRİŞ

Gebeliğin hipertansif hastalıkları gebeliklerin % 2-8'ini etkiler, gebelikteki anne ve bebek ölümlerinin en önemli nedenlerinden biridir. Gebeliğin hipertansif hastalıkları içinde yer alan gestasyonel hipertansiyon (GH), gebeliğin 20. haftasından sonra başlayan hipertansiyon ile karakterizedir. Preeklampside ise, gebelikle ilişkili hipertansiyona proteinüri ve/veya organ disfonksiyonu eşlik etmesi tanı kriterlerindedir (1). Türkiye'de 2012-2015 yılları arasında gerçekleşen gebelikteki anne ölümlerinin %15,5 gibi büyük bir kısmını gebeliğin hipertansif hastalıkları oluşturur (2). Preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyona bağlı gelişen morbiditenin ve ölümlerin önlenmesi için erken tanı konulması, yakın izlem ve tedavi gereklidir (3). Bu hasta grubunun saptanabilmesi için yeni belirteçler geliştirilmesi annelerde ve yenidoğanlarda ölümleri ve morbiditeleri önleyebilir ve ilaçlı veya ilaçsız tedaviler geliştirilmesine yardımcı olabilir.

Preeklampsinin ve GH'nin etyopatogenezi kesin olarak bilinmemektedir. İki evre teorisine göre preeklampsi, plasental ve maternal evreler olmak üzere iki evreden oluşur. Gebelik süresince plasentanın yeterince kanlanabilmesi için uterin spiral arterlerin daha yüksek kapasitanslı, düşük rezistanslı arterlere dönüşmesi gereklidir. Bu dönüşüm trofoblastların spiral arterlere invazyonu ile gerçekleşir. Preeklampside trofoblast invazyonu azalır ve damar 'remodelling'i yetersizdir. Bu nedenle plasental hipoksi geliştiği düşünülmektedir. Plasentada oluşan oksidatif stres sonucunda maternal dolaşıma TNF- α , IL-1, IL-6, solubl fms ("feline McDonough sarcoma") -like tyrosine kinase-1 (sFlt-1), plasental büyüme faktörü (PIGF) gibi birçok mediyatör salıverilir (4). Bunun annede inflamasyon ve endotel disfonksiyonuna neden olduğu bilinmektedir (5). Endotel disfonksiyonu preeklampsinin annedeki belirtileri olan hipertansiyon, ödem, proteinüri gibi belirtilerin oluşmasına neden olur.

Araşidonik asit metaboliti olan 20-hidroksieikosatetraenoik asit (20-HETE), güçlü bir endojen vazokonstriktör maddedir. İnsan vücudunda vasküler tonus ve kan basıncının düzenlenmesinde önemli işlevi vardır. 20-HETE'nin trofoblast göçünü ve invazyonunu azalttığı gösterilmiştir (6). Bu nedenle 20-HETE'nin preeklampsinin patofizyolojisinde rolü olduğu düşünülmektedir. 20-HETE, araşidonik asitin CYP4F2, CYP4F3, CYP4A11 enzimleri ile metabolize edilmesi sonucu oluşur (7, 8).

Bir diğer araşidonik asit metaboliti olan epoksieikosatrienoik asitin (EET), vazodilatör, antiinflamatuvar ve natriüretik etkileri vardır. Bu etkileri ile preeklampsi ile gestasyonel hipertansiyonda koruyucu olabileceği ve tedavide iyi prognoza yardımcı olabileceği düşünölmektedir. EET araşidonik asitin CYP2J2, CYP2C9 ve CYP2C19 enzimleri ile metabolize edilmesi sonucu oluşur (9). EET, solubl epoksit hidrolaz (sEH) enzimi ile daha az aktif olan metaboliti dihidroksieikosatrienoik asite (DHET) metabolize olur (10).

Sözö edilen enzimlere ait genetik polimorfizmlerin fizyolojik durumlarda ve esansiyel hipertansiyon ve iskemik inme gibi kardiyovasköler hastalıklarda fonksiyonel sonuçları olduğu bilinmektedir (10, 11). Enzim ve protein aktivite değişiklikleri 20-HETE, EET ve DHET düzeylerinde kişiler arasında değişikliğe neden olabilir (10).

Bu çalışmada preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyon gelişimi ile CYP4A11, CYP4F2, CYP4F3, CYP2C9, CYP2C19, sEH enzimlerinin genetik polimorfizmleri arasındaki ilişki ve bu enzimlerin ürünleri olan metabolitlerin düzeyleri incelenecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Gebeliğin Hipertansif Hastalıkları

Gebelikte hipertansif bozukluklar, dünya çapında maternal ve perinatal ölümlerin önde gelen nedenlerinden birini oluşturur. Preeklampsinin tüm dünyada gebeliklerin % 2-8'inde görüldüğü tahmin edilmektedir (12).

Hipertansif bozukluklar Latin Amerika ve Karayipler'de anne ölümlerinin % 26'sından, Afrika ve Asya'da ise % 9'undan sorumludur (13). Gelişmekte olan ülkelerle kıyaslandığında gelişmiş ülkelerde gebelikte anne ölüm oranı çok daha düşük olmasına rağmen, bu anne ölümlerinin yine de % 16'sı hipertansif bozukluklara bağlıdır (12, 13). Ülkemizde ise 2012-2015 yılları arasında gerçekleşen gebelikteki anne ölümlerinin % 15,5'inin nedeni gebeliğin hipertansif hastalıklarıdır (2). Bu hastalık grubu Dünya genelinde gebelikteki tüm anne ölümlerinin % 14'ünün nedenidir (14). Gebeliğin hipertansif hastalıklarının sağlık sistemlerine oluşturduğu maddi yük büyük boyutlardadır. 2017 yılında yapılan bir çalışmada Amerika Birleşik Devletleri'nde doğumdan sonraki ilk 12 ay içinde preeklampsinin maliyetinin 2,18 milyar dolar olduğu bildirilmiştir (15).

Gebeliğin hipertansif hastalıkları anne ve yenidoğanda ciddi morbidite ve mortaliteye neden olur. Şiddetli hipertansiyon, annede kalp krizi, kalp yetmezliği, serebral vasküler olay ve böbrek yetmezliği riskini artırır. Fetüs ve yenidoğanda ise yetersiz plasental oksijen transferi, fetal büyüme kısıtlılığı, erken doğum, plasental dekolman, ölü doğum ve neonatal ölüm gibi komplikasyonlar açısından yüksek risk oluşturur. Bunun için risk altındaki bireylerin erken dönemde saptanması ve tedavide yakın izlem önemlidir (3).

2.1.1. Gebeliğin Hipertansif Hastalıklarının Sınıflandırılması

Gebelikte hipertansiyon, kronik esansiyel hipertansiyondan preeklampsiye kadar geniş bir spektrumda görülebilir. Spektrumun bir ucunda hastada gebelikten önce de bulunan, gebelikle birlikte alevlenmeyen ve doğumdan sonra da devam eden kronik hipertansiyon bulunurken diğer ucunda ise gebeliğin 20. haftasından sonra başlayan ve postpartum dönemde kaybolan hipertansiyon ve proteinürinin eşlik ettiği preeklampsi vardır.

2.1.2. Preeklampsi

Preeklampsi, yeni başlayan hipertansiyonla ilişkili bir gebelik hastalığıdır. 20. gebelik haftasından sonra ve gebelik sonuna yakın ortaya çıkar (17).

Hipertansiyon ve proteinüri preeklampsi tanısında klasik kriterler olarak kabul edilse de diğer bazı kriterler de önemlidir. Proteinüri olmaksızın gestasyonel hipertansiyonu olan kadınlarda, diğer organ tutulumlarından herhangi birinin varlığı ile de preeklampsi tanısı konulabilir. “The American College of Obstetricians and Gynecologists” (ACOG)’un 2020 yılında yayınladığı rehberde göre preeklampsi tanı kriterleri Tablo 2.1’de belirtilmiştir (16).

Tablo 2.1.Preeklampsi tanı kriterleri

-
- Daha önce normotansif olan bir hastada gebeliğin 20. haftasından sonra en az 4 saat arayla yapılan en az 2 ölçümde sistolik kan basıncının ≥ 140 mmHg veya diyastolik kan basıncının ≥ 90 mmHg olması ve aşağıdaki kriterlerden 1 veya daha fazlasının yeni başlamış olması
 - 24 saatlik idrar örneğinde proteinürinin $\geq 0,3$ g olması veya kantitatif bir ölçüm mevcut değilse idrarda stikle $\geq 2+$ proteinüri olması veya rastgele bir idrar örneğinde protein/kreatinin oranının ≥ 0.3 olması
 - Trombosit sayısının $< 100,000$ /mikrolitre olması
 - Serum kreatininin $> 1,1$ mg/dL (97,2 mikromol/L) olması veya başka bir böbrek hastalığının olmaması durumunda kreatinin konsantrasyonunun iki katına çıkması
 - Karaciğer transaminazlarının normalin üst sınırının en az iki katı olması
 - Pulmoner ödem
 - Başka tanılarla açıklanamayan ve normal analjezik dozlarına yanıt vermeyen yeni başlangıçlı, kalıcı baş ağrısı
 - Görme bulanıklığı veya skotom gibi görsel belirtiler
-

2.1.3. Gestasyonel Hipertansiyon (GH)

Gestasyonel hipertansiyon gebeliğin 20. haftasından önce normal kan basıncına sahip bir gebede 20. gebelik haftasından sonra 4 saat ara ile yapılan iki farklı ölçümde sistolik kan basıncının 140 mmHg ve/veya diyastolik kan basıncının 90

mmHg üzerinde ölçülmesi olarak tanımlanır (16). Gestasyonel hipertansiyon, sistolik kan basıncı 160 mmHg veya diyastolik kan basıncı 110 mmHg veya her ikisine ulaştığında şiddetli olarak kabul edilir. Bazen, özellikle şiddetli hipertansiyon vakalarında, zamanında antihipertansif tedaviyi uygulamak için tanının 4 saatten daha kısa bir sürede doğrulanması gerekebilir (17).

Gestasyonel hipertansiyon, gebelik sırasında en sık görülen hipertansiyon çeşididir ve sağlıklı nullipar kadınların yüzde 6 ila 17'sinde ve multipar kadınların yüzde 2 ila 4'ünde görülür. Gestasyonel hipertansiyon prevalansı, önceki bir gebeliğinde preeklampsi geçiren veya multifetal gebeliği olan ya da aşırı kilolu veya obez kadınlarda en yüksektir. Gestasyonel hipertansiyonun prognozu genellikle iyi olsa da bu hastalarda yakın takip gereklidir.

Gestasyonel hipertansiyon tanısı alan kadınların yüzde 10 ila 50'sinde bir ile beş hafta içinde proteinüri ve hedef organ hasarı gibi preeklampsi bulguları gelişebilir (18, 19). Preeklampside şiddetli preeklampsiye ilerleme günler içinde hatta bazen daha hızlı gerçekleşebilir. Bu nedenle her iki hasta grubunun da yakın takibi ve tedavisi önemlidir. Gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsinin benzer fenotipi olan birbirinden bağımsız hastalıklar mı yoksa gestasyonel hipertansiyonun preeklampsinin erken evresi mi olduğu açıklık kazanmamıştır (20, 21).

Bazı veriler preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyonun birbirinden bağımsız hastalıklar olduğunu düşündürmektedir (20). Epidemiyolojik çalışmalar birçok risk faktörünü paylaşmalarına karşın bu iki hastalıktaki ortak özelliklerin oranlarında farklılıklar bildirmiştir (21). Örneğin primiparite, multiple gebelik, diabetes mellitus preeklampside gestasyonel hipertansiyon için olduğundan çok daha büyük bir risk faktörleridir (22).

2.1.4. Preeklampsi Risk Faktörleri

Preeklampsi gelişimi için risk faktörleri kapsamlı olarak çalışılmıştır (Tablo 2.2). Başlıca risk faktörleri arasında preeklampsi öyküsü, kronik hipertansiyon, pregestasyonel diabetes mellitus, antifosfolipid sendromu ve obezite bulunur (23). Diğer risk faktörleri arasında ileri anne yaşı, nulliparite, kronik böbrek hastalığı

geçmiş ve yardımcı üreme tekniklerinin kullanımı yer alır. Daha nadir risk faktörleri, ailede preeklampsi öyküsü ve trizomi 13 fetüs taşıyan annedir (24, 25).

Preeklampsiye genetik yatkınlık kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Gebeliğinde preeklampsi olan annelerin kızlarında preeklampsi riskinin (% 20-% 40) daha fazla olduğu gösterilmiştir. Salonen ve diğ. (2000) yaptığı ikiz çalışmasında genetik faktörlerin preeklampsiye katkısı % 54, gestasyonel hipertansiyona katkısı ise % 24 bulunmuştur (26). Thomsen ve diğ. (2015) tarafından 493 bireyden oluşan bir Norveç preeklampsi aile kohortunda yapılan çalışmada genetik faktörlerin preeklampsiye katkısı % 60 olarak değerlendirilmiştir (27).

Tablo 2.2. Preeklampsi gelişme riskini artıran klinik faktörler

• Nulliparite	• Multifetal gebelik
• Önceki gebelikte preeklampsi geçirilmesi	• Obezite
• Gebenin >40 yaş üzeri veya <18 yaş altında olması	• Kontrol altında olmayan hipertiroidizm
• Preeklampsi aile hikayesi	• Tüp bebek
• Kronik hipertansiyon	• Hidrops fetalis
• Kronik böbrek hastalıkları	• Siyah ırk
• Otoimmün hastalık (örneğin: antifosfolipid sendromu, sistemik lupus eritematozus)	• Önceki gebelikte fetal gelişim geriliği, plasenta dekolmanı veya fetal ölüm
• Vasküler hastalık	• Obstrüktif uyku apnesi
• Diabetes mellitus (gebelik öncesi ve gestasyonel)	• Yüksek kan kurşun seviyesi

2.1.5. Preeklampsi Patofizyolojisi

1990'lı yıllarda bazı araştırmacılar tarafından preeklampsi teorilerin hastalığı "disease of theories" olarak adlandırılmıştır (28). O dönemden günümüze kadar hastalık hakkında pek çok çalışma yapılmış olmasına karşın, hastalığın patofizyolojisi halen açık olarak ortaya konamamıştır. Preeklampsi patofizyolojisi hakkında en çok kabul gören bulgular aşağıda özetlenmiştir.

Spiral arterler, uterin arterlerin plasenta ve fetüsü besleyen dallarıdır. Normal gebelikte, gelişmekte olan plasentanın sitotrofoblast hücreleri desidua ve miyometriyum boyunca göç ederek spiral arterlerin endotel ve tunika media tabakalarını invaze eder. Damar endotelinin invazyonu sonucunda bu arterlerin vazokonstriktör mediyatörlere yanıtları azalır. Bu invazyon sonucunda spiral arterler küçük musküler arteriollerden düşük rezistanslı yüksek kapasitanslı arterlere dönüşürler (29, 30). Ayrıca, damar endotelinin invazyonu sonucunda bu arterlerin vazokonstriktör moleküllere yanıtları azalır. Bu da uterusun diğer bölgelerine göre plasentanın daha yoğun kanlanmasını sağlar. Gelişim sürecinde olmaları nedeniyle yüksek oksijen ihtiyacı olan fetüs ve plasentanın beslenmesi bu şekilde sağlanır.

Preeklampside, sitotrofoblastlar spiral arterlerin desidual segmentlerini invaze edebilirken, miyometrial segmentlerinin invazyonu gerçekleşemez (31, 32). Spiral arterler, plasentanın yeterli kanlanmasını sağlayan yüksek kapasitanslı arterlere dönüşemez. Bunun sonucu olarak plasental hipoperfüzyon gelişir.

Plasental hipoperfüzyon, plasentanın yetersiz gelişimi ve preeklampsinin birbiriyle bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Preeklampsinin belirtilerinin bir kısmını başarı ile ortaya koyan hayvan modelleri uteroplazental kan akışının mekanik olarak azaltılması ile oluşturulmuştur. Bu da azalmış plasental perfüzyon ve preeklampsinin birbiri ile ilişkili olduğunu destekler (33). Ayrıca, vasküler yetmezlik ile seyreden diyabet, hipertansiyon, sistemik lupus eritematozus ve kalıtsal trombofili gibi hastalıkların preeklampsi risk faktörleri arasında olması da bu ilişkiyi destekler (34).

Gebelik ilerledikçe plasental hipoperfüzyon belirginleşir ve plasentada hipoksi ve iskemi oluşur. Plasental hipoksi sonucunda plasentada oksidatif stres artar ve maternal dolaşıma endotelial hücre fonksiyonunu etkileyen TNF- α , IL-1, IL-6, solubl fms-like tyrosine kinase-1 (sFlt-1), plasental büyüme faktörü (PIGF) gibi birçok

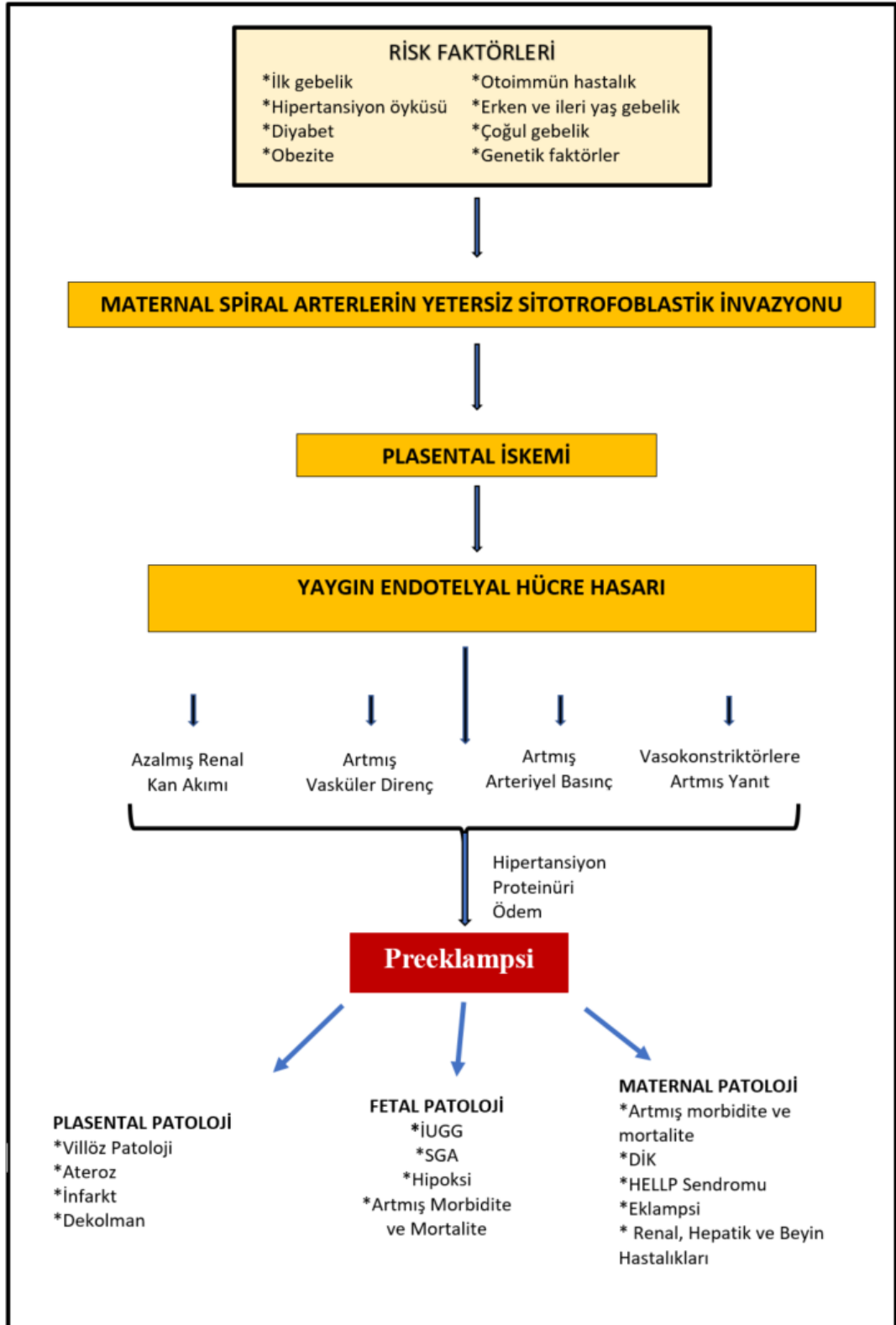
mediyatör salıverilir (4). Memeli plasentasyonu, fetüse oksijen ve besin sağlamak için uygun bir vasküler ağın kurulmasını ve kapsamlı bir anjiyogenezi gerektirir. Gelişmekte olan plasenta tarafından çeşitli proanjiyojenik (VEGF, PlGF) ve antianjiyojenik faktörler (sFlt-1) salıverilir ve bu faktörler arasındaki denge, normal plasenta gelişimi için önemlidir. Antianjiyojenik faktörlerin artan üretimi bu dengeyi bozar ve preeklampsie özgü sistemik endotel disfonksiyona neden olabilir.

2.1.6. Endotel Disfonksiyonunun Preeklampsideki Rolü

Preeklampside görülen bazı klinik belirtiler, sistemik endotelial disfonksiyon ile açıklanabilir (35). Maternal damar endoteli, preeklampsinin plasental evresinde salıverilen TNF- α , IL-1, IL-6, sFlt-1, plasental büyüme faktörü (PlGF) gibi faktörlerin hedefidir. Endotel kaynaklı vazokonstriktör ve vazodilatör moleküller, vasküler direnç ve kan basıncının düzenlenmesinde önemli rol oynar. Bu moleküllerin üretimindeki bozukluklar sonucunda damarlar vazokonstriksiyon, oksidatif stres, lökosit adezyonu ve vasküler inflamasyona duyarlı hale gelir (36).

Preeklampsie hastalarında endotel disfonksiyonu varlığını destekleyen birçok çalışma vardır. Preeklampsie hastalarında nitrik oksit ve prostasiklin gibi endotel kaynaklı vazodilatörler azalmışken, endotelin ve tromboksanlar gibi vazokonstriktör maddelerin üretimi artmıştır (37). Preeklampsie asetilkolin aracılı gevşeme yanıtları azalmıştır ve anjiyotensin 2'ye artmış vasküler yanıt vardır (38, 39). Bir çalışmada preklampsie hastalarındaki endotel disfonksiyonunun bir göstergesi olarak gebelik sırasında ve doğumun 3 yıl sonrasında yapılan brakial arter doppler ölçümlerinde gevşeme yanıtlarında azalma gösterilmiştir (40, 41).

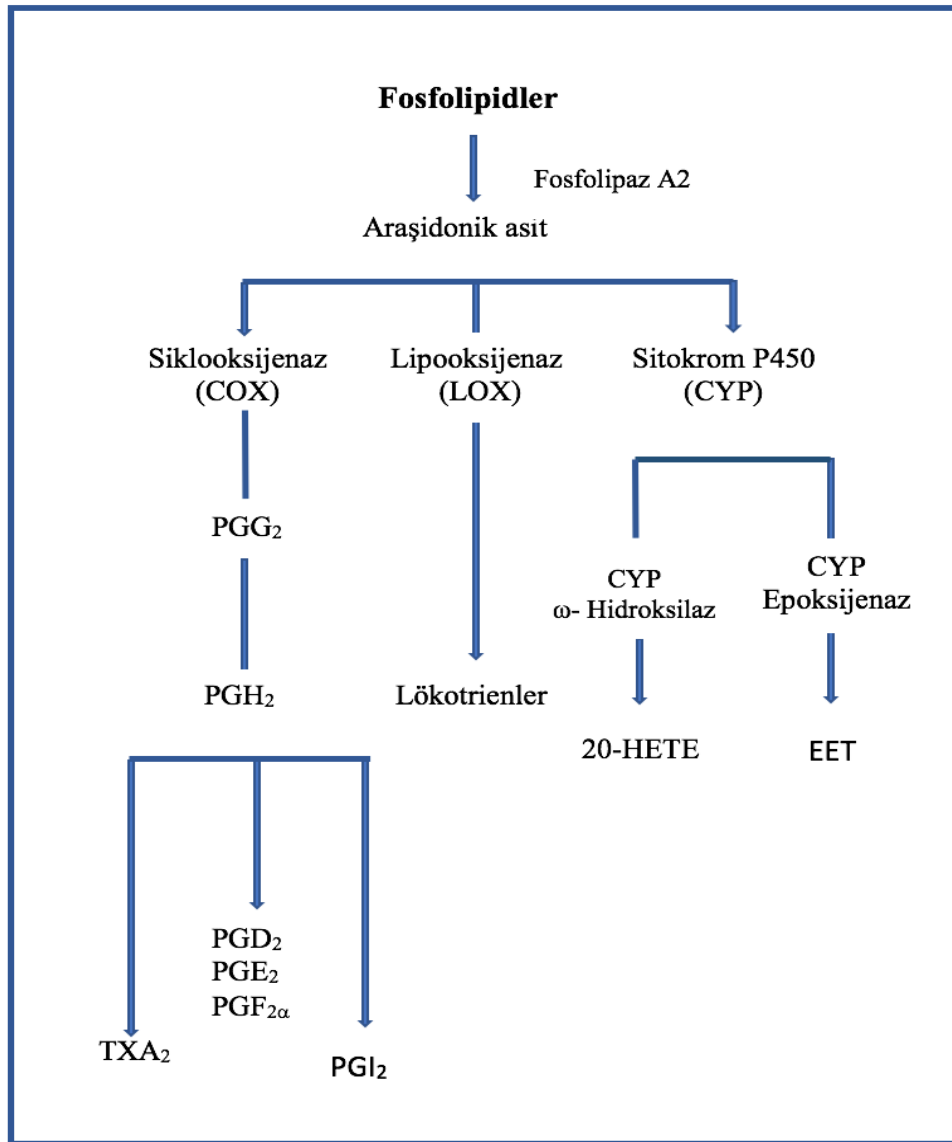
Endotel disfonksiyonu ile görülen vazokonstriksiyona yatkınlık hipertansiyona neden olur. Preeklampsie görülen hipertansiyonun en önemli nedeni endotel disfonksiyonudur (42). Endotel disfonksiyonuna bağlı olarak artan vasküler geçirgenlik proteinüri ve ödeme neden olur. Preeklampsie görülen koagülopati, prokoagülan mediyatörlerin artmış endotelial ekspresyonuna bağlı olabilir (43). Baş ağrısı, nöbetler ve görsel semptomlar, epigastrik ağrı, beyin, karaciğer, böbrek gibi hedef organların damarlarındaki endotel disfonksiyonu ile ilişkilidir (44).



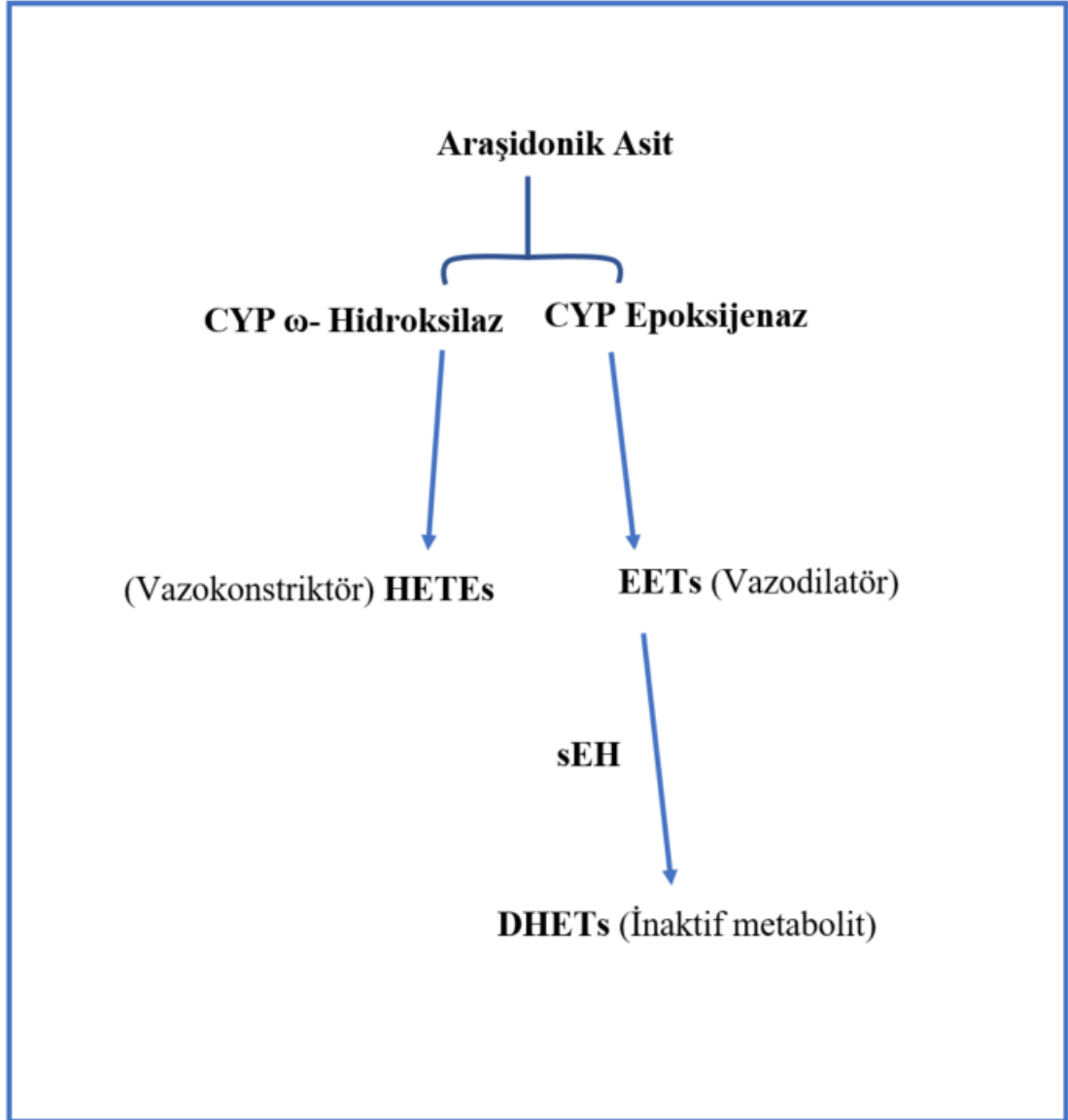
Şekil 2.1. Preeklampsi patogenezi. (45) numaralı kaynaktan değiştirilerek alınmıştır. İUGG: İntrauterin gelişme geriliği, SGA: Gebelik yaşına göre küçük

2.2. Araşidonik Asitin CYP Metabolitleri

Araşidonik asit (AA), membran fosfolipidlerinin ana bileşeni olan çoklu doymamış bir yağ asididir. AA, plazma membranından fosfolipaz A2 tarafından serbest hale getirilir. Serbest araşidonik asit siklooksijenaz (COX), lipooksijenaz (LOX) ve CYP enzimleri tarafından metabolize edilir. Lipooksijenazlar araşidonik asiti lökotrien ve lipoksinlere, siklooksijenazlar ise prostaglandin G₂ ve prostaglandin H₂ 'ye metabolize eder.



Şekil 2.2. Araşidonik asit metabolizması (11) numaralı kaynaktan değiştirilerek alınmıştır.

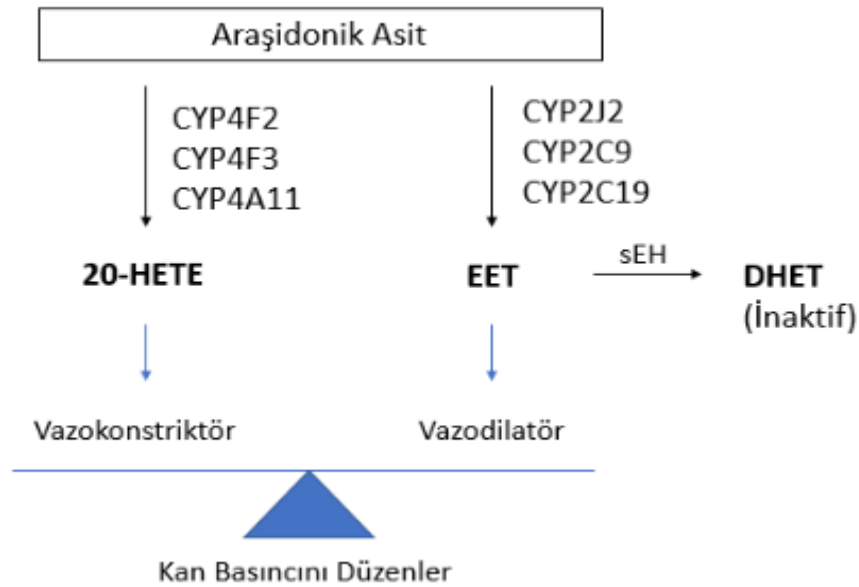


Şekil 2.3. Araşidonik asitin CYP enzimleri ile metabolizması. (11)
numaralı kaynaktan değiştirilerek alınmıştır.

2.2.1. Epoksieikosatrieonik Asitler (EET)

Araşidonik asit metabolizmasında rolü olan CYP enzimleri CYP ω -hidroksilazlar ve CYP epoksijenazlar olmak üzere ikiye ayrılırlar (Şekil 2.3). CYP epoksijenazlar, epoksieikosatrieonik asitlerin (EET) oluşumundan sorumludur. Bu yolda CYP1A, CYP1B, CYP2C ve CYP2J enzimleri rol almakla birlikte EET oluşumunda majör enzimler CYP2C ve CYP2J enzim alt aileleridir (46). CYP

epoksijenaz enzimleri 4 EET izomerinin tamamının üretiminden sorumludur. Bunlar 5,6-EET, 8,9-EET, 11,12 EET ve 14,15 EET'dir. 11,12 EET ve 14,15 EET insanda ana EET izomerleridir. 14,15-EET ve 11,12-EET Kardiyovasküler sistemde de en çok bulunan izomerlerdir (47). CYP2C9 ve CYP2J2'nin EET üretiminin yaklaşık % 70'ini 14,15 EET oluşturmaktadır(48, 49). Epoksijenaz enzimleri, endotelial ve vasküler düz kas hücrelerinde, astrositlerde ve kardiyomyositlerde lokalizedir (50-52). EET'lerin yıkımından ise solubl epoksit hidrolaz (sEH) enzimleri sorumludur. sEH enzimi EET'leri dihidroksieikosatetraonik asitlere (DHET) metabolize eder (53). DHET, EET'nin inaktife yakın metabolitidir.



Şekil 2.4. 20-HETE ve epoksieikosatrieonik asitlerin oluşumundan sorumlu enzimler.

EET'lerin; vazodilatör, antiinflamatuvar, fibrinolitik ve antiapoptotik etkileri bildirilmiştir (54-58). EET'ler; düz kas hücrelerinde bulunan büyük kondüktanslı kalsiyum ile aktive olan potasyum (BK_{Ca}) kanallarını aktive eder, hiperpolarizasyona ve damar gevşemesine neden olur (59). EET'lerin potent vazodilatör etkisi prostasiklin ve nitrik oksit biyosentezinin inhibisyonu durumunda artar (60). EET'ler; primer endotel kaynaklı hiperpolarize edici faktör (EDHF) olarak da değerlendirilmektedir (61).

Vazodilatör etkilerine ek olarak EET'nin nükleer faktör κ B (NF- κ B) ve VCAM-1 ekspresyonlarını azaltarak antiinflamatuvar etkileri de olduğu saptanmıştır (56). Ayrıca vasküler yatakta EET'lerin endotelial hücre büyümesini ve anjiyogenezi artırdığı gösterilmiştir (62). Diğer taraftan EET; vasküler düz kas hücrelerinin proliferasyonunu inhibe eder (61). EET'ler; platelet adezyonunu, agregasyonunu inhibe ederek ve doku plazminojen aktivatörünün (tPA) ekspresyonunu artırarak antitrombotik etki gösterir (62). Böbrekte ise EET'ler, Na^+/H^+ pompasını aktive ederek glomerüler filtrasyonu düzenler. Ayrıca natriürez üzerindeki etkileri ile kan basıncının uzun dönemli kontrolünde de katkısı vardır (63).

Bir çalışmada, sağlıklı gebelerde plazma DHET seviyelerinde gebe olmayan kadınlara göre artış gösterilmiştir (64). Bu durum normal gebelikte vasküler homeostazın sağlanmasında EET'nin rolü olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Başka bir çalışmada ise preeklampsi hastalarında üriner DHET atılımının azaldığı saptanmış ve bu durum hastalarda böbrek hasarında ve hipertansiyonda yetersiz renal EET üretiminin rolü olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (65). Liu ve diğ. (2019) çalışmasında serum DHET düzeylerinde azalma saptanmıştır (66). Preeklampsi hastalarından alınan plasenta ve umbilikal kordlarda yapılan bir araştırmada CYP2J2, CYP4A11 VE sEH enzimlerinin lokalizasyonu immunohistokimya yöntemi ile gösterilmiştir. EET ve DHET seviyelerinin ölçümü ile sEH enzim aktivitesinde artış yönünde bir eğilim saptanmıştır (67). Ayrıca, preeklampsi hastalarından alınan plasenta örneklerinde CYP2J2 mRNA ekspresyonunda artış, sEH mRNA ekspresyonunda ise azalma saptanmıştır (67). Bu enzimlerin önemli genetik polimorfizmlerinden CYP Epoksijenaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri başlığında bahsedilmiştir.

2.2.2. 20-hidroksieikosatetraonik asit (20-HETE)

CYP ω -hidroksilazlar olan CYP4F ve CYP4A enzim alt aileleri 20-hidroksieikosatetraonik asidin (20-HETE) oluşumundan sorumludur. İnsanlarda 20-HETE üretiminden sorumlu birkaç CYP4A, CYP4F izoenzimi vardır. Bu izoenzimler CYP4A11, CYP4F2 ve CYP4F3'tür (46, 68). İnsanlarda 20-HETE sentezinin majör enzimleri CYP4F2 ve CYP4A11'dir. CYP4F2 ve CYP4A11, karaciğerde ve böbreklerde yüksek aktivite gösterir. CYP4A11 insan plasentasında

immünohistokimya yöntemi ile gösterilmiştir (67). İnsan böbrek hücrelerinden elde edilen mikrozomlarla yapılan bir çalışmada CYP4F2'nin böbrekteki 20-HETE oluşumunun % 65'inden, CYP4A11'in ise % 32'sinden sorumlu olduğu saptanmıştır (69). Başka bir çalışmada ise karaciğer hücrelerinden elde edilen mikrozomlarda CYP4F2 antikoru 20-HETE üretimini % 90, CYP4A11 antikoru % 10 azaltmıştır (70).

20-HETE, renal, serebral, mezenterik ve iskelet kas arteriollerinde potansiyel bir vazokonstriktördür (71). 20-HETE'nin yaptığı vazokonstriksiyonun mekanizması, kalsiyumla aktive potasyum kanallarına inhibitör etkisi ile vasküler düz kas hücrelerinde intrasellüler potasyum düzeyini azaltarak voltaj kapılı kalsiyum kanallarının aktivasyonudur (72). Ayrıca, 20-HETE vasküler düz kas hücrelerinin büyümesini MAP kinaz sinyal yolağı ile düzenler (73). Ayrıca, 20-HETE'nin süper oksitlerin ve diğer reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin aktivasyonu yoluyla oksidatif stresi artırdığı da bildirilmiştir (74). 20-HETE metabolizmasındaki değişiklikler, endotelial disfonksiyonu indükleyerek arteriyel hipertansiyon gibi vasküler hastalıkların gelişimine katkıda bulunabilir (75).

20-HETE'nin faydalı etkileri de vardır. 20-HETE proksimal tübüllerde, kalın asendan Henle kulpunda ve glomerüllerde bulunur ve çeşitli iyon transporterleri üzerine etki ederek natriüreti artırır (76, 77). 20-HETE hem natriüretik hem de vazokonstriktör olduğu için kan basıncı üzerindeki etkisi hangi dokuda etkinlik gösterdiğine göre değişebilir.

Sıçanlarda yapılan preeklampsi modelinde 20-HETE inhibitörü HET0016'nın kan basıncını düşürdüğü ve fetal ölüm oranının azaldığı bildirilmiştir (78). 20-HETE'nin trofoblast invazyonunu azalttığı *in vitro* çalışmalarda gösterilmiştir (79). CYP4F ve CYP4A enzim ailesinin mRNA ekspresyonlarının preeklampside arttığı insan plasentasında yapılan bir çalışmada saptanmıştır (6). Aynı çalışmada insan plasentasında preeklampside enzim mRNA ekspresyonlarında anlamlı artış görülmekle birlikte, 20-HETE serum düzeylerinde anlamlı artış saptanmamıştır. Preeklampsi hastalarında serum 20-HETE/EET oranında ise anlamlı bir artış görülmüştür (6).

2.3. CYP Epoksijenaz ve CYP ω -Hidroksilaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri

2.3.1. CYP ω -hidroksilaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri

ω -Hidroksilaz enzimlerinden olan CYP4F2'nin *Val433Met* (*rs2108622*) genetik polimorfizmi *CYP4F2*3* olarak tanımlanmıştır (www.pharmvar.org). Bu polimorfizm mRNA transkripsiyonuna etki etmemesine rağmen protein düzeylerinde azalmaya neden olur. Bu durum protein translasyon hızında azalma veya protein degradasyon hızında artışa bağlı olabilir (80). Bir fonksiyonel *in vitro* çalışmada, insan karaciğer mikrozomlarında *CYP4F2 rs2108622 T* alelinin, 20-HETE sentezini % 50-60 oranında azalttığı gösterilmiştir (81).

Genetik polimorfizmlerin sıklığı toplumdan topluma değişir (82). Avrupa toplumlarında *CYP4F2*3* polimorfik alelinin sıklığı % 29 iken Afrikalı Amerikalılarda bu oran % 9'a kadar düşmektedir. Türk toplumunda ise sıklığı yüzde 40 olarak saptanmıştır (83). Bir meta analiz çalışmasında *CYP4F2*3* polimorfizmi hipertansiyon ile ilişkilendirilmiştir (84). Literatürde *CYP4F2*3* ve gebeliğin hipertansif hastalıklarının ilişkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

NCBI SNP veri tabanında (erişim tarihi: 01.04.2021) CYP4A11'in 120'den fazla genetik polimorfizmi bulunur. CYP4A11'in önemli varyantlarından ikisi olan *CYP4A11 rs1126742* ve *rs9333025* genetik asosiasyon çalışmalarında hipertansiyon ve iskemik inme gibi kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (11, 85, 86). *CYP4A11 rs1126742* ve *rs9333025* genetik polimorfizmleri azalmış 20-HETE düzeyleri ile ilişkili bulunmuştur (85). İskemik inme hastalarında yapılan başka bir çalışmada *CYP4F2*3* ve *CYP4A11 rs9333025* genetik polimorfizmlerinin birlikteliğinin azalmış 20-HETE düzeylerine neden olduğu saptanmıştır (86). *CYP4A11 rs9333025* polimorfik alelinin sıklığı beyaz ırkta % 9,3, Asya toplumlarında ise % 16 olarak bulunmuştur (82). Literatürde CYP4A11 genetik polimorfizmleri ile gebeliğin hipertansif hastalıklarının ilişkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Başlangıçta lökotrien B4 ω -hidroksilazlardan biri olarak tanımlanan Sitokrom CYP4F3, çeşitli endojen maddelerin ve bazı ksenobiyotiklerin metabolizmasına katılan birkaç üyeden oluşan bir CYP gen ailesine aittir. CYP4F3, Lökotrien B4 ve araşidonik asitin ω -hidroksilasyonundan ayrı olarak yağ asiti epoksitlerinin oksidasyonunda ve araşidonik asitin ω -hidroksilasyonu ile 20-HETE üretilmesinde rol alır (87, 88).

CYP4F3 rs3794987 genetik polimorfizminin polimorfik alel sıklığı beyaz ırkta % 46, Asya toplumlarında ise % 19 olarak saptanmıştır (82). En yakın CYP4F alt ailesi üyesi olan CYP4F2 aktivitesinin düzenlenmesi ve işlevi ile ilgili pek çok bilgi olmasına rağmen CYP4F3 enzimleri hakkındaki literatürde az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Son zamanlarda, CYP4F3 tek nükleotid polimorfizmleri, çölyak veya Crohn hastalıkları dahil olmak üzere birçok bozukluk ile ilişkilendirilmiştir (87, 89, 90). Bir çalışmada preeklampsi hastalarından alınan plasenta örneklerinde artmış CYP4F3 mRNA ekspresyonları saptanmıştır (6). Literatürde CYP4F3 genetik polimorfizmleri ile preeklampsinin ilişkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

2.3.2. CYP Epoksijenaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri

2.3.2.1. CYP2J2 Genetik Polimorfizmleri

CYP2J2'nin protein ve mRNA ekspresyonlarında önemli bireyler arası farklılıklar vardır (91). Bu farklılara genetik polimorfizmlerin katkısı saptanmıştır. King ve diğ. (2002) *CYP2J2* geninde 20 SNP tanımlamıştır (92). Bunlardan dördü (*Thr143Ala*, *Arg158Cys*, *Ile9Asn*, ve *Asn404Tyr*) araşidonik asit metabolizmasında azalmaya neden olur ve sırasıyla *CYP2J2*1 - 4* olarak isimlendirilmişlerdir. Ancak bu genetik polimorfizmlerin görülme sıklıkları oldukça düşüktür. Spiecker ve diğ. (2004) ilk defa promoter, ekzon 1,2,4,6 ve 3'UTR bölgesinden birçok varyant tanımlamıştır (93).

Genetik varyantlar arasında fonksiyon ve sıklık yönünden en önemlisi *CYP2J2*7 (rs890293)*'dir. Bu genetik polimorfizm, promoter bölgede C>T değişimine yol açar ve Sp1 transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesinin kaybına neden olarak Sp1'in CYP2J2 promoteriyle etkileşiminin azalmasına neden olur ve CYP2J2

ekspresyonunu azaltır (94). *CYP2J2**7 genetik polimorfizmin farklı toplumlardaki sıklıkları tablo 2.3'te belirtilmiştir. Bu polimorfizmin insandaki *in vivo* fonksiyonel önemi Spiecker ve diğ. (2004) çalışmasında gösterilmiştir. Bu çalışmada stabil EET metabolitleri olan DHET'lerin plazma konsantrasyonları, *CYP2J2**7 polimorfizmi olan kişilerde önemli ölçüde azalmıştır (93). *CYP2J2**7 genetik polimorfizminin çeşitli toplumlardaki alel sıklıkları Tablo 2.3'te belirtilmiştir.

Tablo 2.3. *CYP2J27 genetik polimorfizminin çeşitli toplumlardaki alel sıklıkları**

Toplum	T Alel Sıklığı (%)	Kaynaklar (92, 95-100)
Afrika Kökenli Amerikalı	(11,2)	King ve diğ. (2002)
Çin	(2,1)	Wu ve diğ. (2007)
Japon	(6,2)	Takeshita ve diğ. (2008)
Alman	(6,4)	Hoffman ve diğ. (2007)
İspanyol	(6,7)	Gervasini ve diğ. (2006)
Kore	(4,2)	Lee ve diğ. (2005)
Tayvan	(12,0)	Liu ve diğ. (2007)
Beyaz Irk	(8,0)	King ve diğ. (2002)

2.3.2.2. *CYP2C9* Genetik Polimorfizmleri

CYP2C9 enzimi başlıca amitriptilin, fluoksetin, losartan, fenitoin, varfarin ve birçok antiinflamatuvar ilacın hidrosilasyonundan sorumludur (101). Şu ana kadar Pharmvar'da tanımlanmış 70 adet *CYP2C9* genetik polimorfizmi bulunmaktadır. (<https://www.pharmvar.org/gene/CYP2C9> erişim tarihi: 01.04.2021). Bu polimorfizmlerden fonksiyonel açıdan en önemlileri *CYP2C9**2 ve *CYP2C9**3'tür. *CYP2C9**2 ekzon 3 üzerindedir ve *Arg144Cys* aminoasit değişikliğine yol açar. *CYP2C9**3 ise ekzon 7 üzerindedir ve *Ile359Leu* amino asit değişikliği meydana gelir. Bu polimorfizmlerden fonksiyonel açıdan en önemlileri *CYP2C9**2 ve *CYP2C9**3'tür. *CYP2C9**2 aleli Avrupa toplumlarında % 12 sıklıkta görülürken, Asya toplumlarında sıklığı binde 1'den azdır (82). Türk toplumunda ise 499 hastanın katıldığı bir

çalışmada *CYP2C9*2* alel sıklığı % 10,6, *CYP2C9*3* alel sıklığı ise % 10 olarak bildirilmiştir (102). *CYP2C9*2* alelini taşıyan bireylerde *CYP2C9* enzimin aktivitesi azalmıştır (103). *CYP2C9*3* genetik polimorfizmi ise enzim fonksiyonunun tamamen kaybolmasına neden olur. Bu iki genetik polimorfizmin ayrı ayrı veya birlikte bulunması kişide yavaş metabolizör fenotipe yol açar. *CYP2C9*1* aleli ise yabancı tip aleldir. *CYP2C9 *1/*1* genotipini taşıyan bireyler ise normal (hızlı) metabolizör olan bireyler olarak isimlendirilir. *CYP2C9* genetik polimorfizmi varfarin metabolizmasında neden olduğu bireyler arası farklılık nedeniyle yoğun olarak çalışılmıştır. Varfarine bağlı kanama komplikasyonu riskinin *CYP2C9*2* ve **3* polimorfik alelini taşıyan bireylerde arttığı bildirilmiştir (104, 105). *CYP2C9*2/*2* genotipine sahip olan insan karaciğer örneklerinde EET biyosentezinin % 34 azaldığı saptanmıştır (106). *CYP2C9*2* ve **3* genetik polimorfizmlerinin EET üretimini azaltarak, anjiyogenezi azalttığı ve tümörögenizde koruyucu rolü olduğu bildirilmiştir (107).

2.3.2.3. CYP2C19 Genetik Polimorfizmleri

CYP2C19 genetik polimorfizmi ile ilgili ilk çalışmalar debrizokin, sparteinin ve S-mefenitoin metabolizmasının bireyler arasında değişkenlik gösterdiğinin saptanmasıyla başlamıştır ve günümüze kadar yoğun olarak çalışılmaya devam edilmiştir (108-110). Şu anda Pharmvar'da tanımlanmış 38 adet *CYP2C19* genetik polimorfizmi bulunmaktadır. (<https://www.pharmvar.org/gene/CYP2C19>, erişim tarihi: 01.04.2021). Bunlardan en çok çalışılanları *CYP2C19*2*, **3* ve **17*'dir.

*CYP2C19*2* genetik polimorfizmi ekzon 15 üzerinde bulunur ve enzim aktivitesinin azalmasına neden olur (111). *CYP2C19*3* genetik polimorfizmi ise ekzon 4 üzerinde bulunur ve stop kodonu oluşmasına neden olur ve genetik polimorfizmi de enzim aktivitesinde kaybolmaya neden olur. Bu alellere sahip bireyler *CYP2C19* yavaş metabolizörü olan bireyler olarak tanımlanırlar (112). Yavaş metabolizör olan birey sıklıkları Asya toplumlarında % 23'e kadar çıkarken beyaz ırkta % 2-5 arasındadır (113). Aynacıoğlu ve diğ. (1999) çalışmasında Türk toplumunda yavaş metabolizör olan birey sıklığı % 1 olarak saptanmıştır (114). Gümüş ve diğ. (2012)'nin yaptığı çalışmada ise Türk toplumunda *CYP2C19*2* alel sıklığının % 1,2 olduğu, *CYP2C19*3* alelinin ise bulunmadığı bildirilmiştir (115). Mikrovasküler

anjina hastalarında yapılmış bir çalışmada *CYP2C19**2 ve *3 genetik polimorfik alellere sahip bireylerde DHET düzeylerinde azalma saptanmıştır (116).

Sim ve diğ. (2005)'e ait çalışmada, promoter bölgesinde $-806C>T$ ve $-3402C>T$ nükleotid değişimlerine yol açan *CYP2C19**17 genetik polimorfizmi tanımlanmıştır (117). *CYP2C19**17 aleli, gen ekspresyonunun artmasına neden olarak enzimin metabolik aktivitesini artırır. Bu alele sahip bireyler çok hızlı metabolizör fenotipe sahiptir (117). *CYP2C19**17 alel sıklığı beyaz ırkta diğer toplumlara göre daha sıktır. Türk toplumunda yapılan iki çalışmada *CYP2C19**17 alel sıklığı % 18,4 ve % 24,4 olarak saptanmıştır (115, 118).

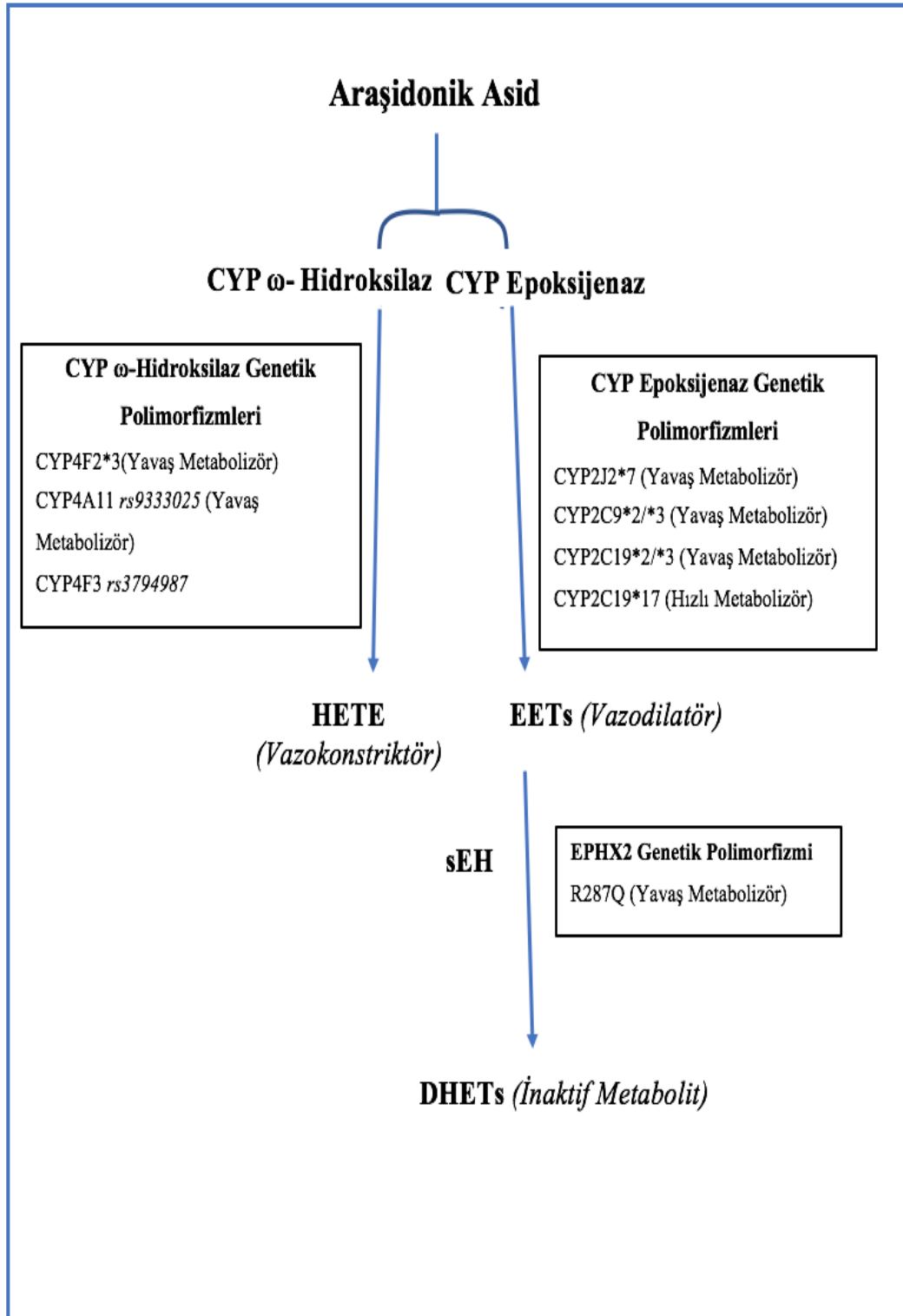
2.3.2.4. Solubl Epoksit Hidrolaz Enzimi Genetik Polimorfizmleri

CYP enzimlerine ek olarak, sEH, araşidonik asit metabolizmasında bir başka önemli enzimdir. EET'lerin DHET'lere dönüşümünde rolü vardır (119). sEH'yi kodlayan gen olan insan EPHX2 geni 45 kilobazdır ve 555 amino asidi kodlayan 19 eksondan oluşur. Solubl epoksit hidrolaz enziminin aktivitesinde bireyler arası yüksek değişkenlik bildirilmiştir (120).

Solubl epoksit hidrolaz enziminin fonksiyonunu etkileyen iki önemli genetik polimorfizmi bulunmaktadır. sEH (*EPHX2*) *rs751141* genetik polimorfizmi Arg287Glu amino asit değişikliğine yol açar. Bu polimorfizm azalmış solubl epoksit hidrolaz aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir (121). Fonksiyonel önemi olan bir başka polimorfizm ise Lys55Arg aminoasit değişikliğine yol açar. Bu genetik polimorfizm ise artmış solubl epoksit hidrolaz aktivitesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. (122). 260 hasta ile yapılan bir çalışmada sEH (*EPHX2*) *K55R* polimorfizmi preeklampsi ile ilişkili bulunmuştur (123). Literatürde *sEH* (*EPHX2*) *rs751141* genetik polimorfizminin gebeliğin hipertansif hastalıkları ile ilişkisini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Tablo 2.4. Araşidonik asitin CYP enzimleri ile metabolizmasındaki önemli genetik polimorfizmler

	Genetik Polimorfizm	Polimorfik Alel Sıklığı (%)	Nükleotid Değişimi	Fenotip Üzerine Olası Etkisi
1	<i>CYP4F2</i> *3	(40,0)	Missens C > T	Yavaş metabolizör
2	<i>CYP4A11</i> <i>rs9333025</i>	(8,6)	İntronda C > T	Yavaş metabolizör
3	<i>CYP4F3</i> <i>rs3794987</i>	(43,1)	Promoterde A > G	“Tag-SNP”
4	<i>CYP2J2</i> *7	(8,0)	Promoterde C > T	Transkripsiyonda % 50 dolayında azalma
5	<i>CYP2C19</i> *2	(10,0)	“Splice” varyantı G > A “loss of function”	Yavaş metabolizör
6	<i>CYP2C19</i> *17	(24,4)	Promoterde C > T “gain of function”	Çok hızlı metabolizör
7	<i>CYP2C9</i> *2	(10,6)	Missens C > T	Yavaş metabolizör
8	<i>CYP2C9</i> *3	(10,0)	Missens A > C “loss of function”	Yavaş metabolizör
9	<i>sEH</i> <i>rs751141</i>	(9,3)	Missens G > A	Yavaş metabolizör



Şekil 2.5. Araşidonik asitin CYP enzimleri ile metabolizmasındaki önemli genetik polimorfizmler. (11) numaralı referanstan değiştirilerek alınmıştır.

2.4. Hipotez

1. CYP4F2, CYP4F3, CYP4A11, CYP2J2, CYP2C19, CYP2C9 ve solubl epoksit hidrolaz (sEH) genetik polimorfizmleri preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyon oluşmasıyla ilişkilidir.
2. Preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyonda, CYP4F2, CYP4F3, CYP4A11, CYP2J2, CYP2C19, CYP2C9 ve solubl epoksit hidrolaz (sEH) enzimlerinin aktiviteleri ve bunun bir göstergesi olan 20-HETE ve DHET düzeyleri değişir.

2.5. Amaç

Bu tıpta uzmanlık tez çalışmasının amacı, preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyon gelişimi ile CYP4A11, CYP4F2, CYP4F3, CYP2C9, CYP2C19, sEH enzimlerinin genetik polimorfizmleri arasındaki ilişkinin incelenmesi ve farklı genotip gruplarında bu enzimlerin ürünleri olan 20-HETE, DHET düzeylerinin ölçülmesidir.

2.6. Hedefler

1. CYP4A11, CYP4F2, CYP4F3, CYP2C9, CYP2C19, sEH genetik polimorfizmlerin ülkemizdeki sıklıklarının saptanması,
2. Kontrol gebelerde ve preeklampsi, gestasyonel hipertansiyon hasta gruplarında *CYP4F2**3, *CYP2J2**7, sEH (*EPHX2*) *rs751141*, *CYP2C19**2, *17, *CYP2C9**2, *3, *CYP4F3* *rs3794987*, *CYP4A11* *rs9333025* genetik polimorfizmlerine ait alel ve genotip dağılımlarının belirlenmesi, farklı genotip gruplarında 20-HETE ve DHET düzeylerinin ölçülmesi.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu

Çalışmanın hasta ve kontrol gruplarına ait gebeler, Sağlık Bilimleri Üniversitesi (SBÜ) Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne başvuran bireyler arasından alındı. Çalışmanın hasta grubuna The American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) kriterlerine göre gestasyonel hipertansiyon tanısı konan 110 ve preeklampsi tanısı konan 58 gebe dahil edildi (1). Kontrol grubu olarak, aynı hastanede gebelik takibi yapılan, gebelikle ilişkili veya kronik hipertansiyon hastası olmayan 155 sağlıklı gebe dahil edildi.

Çalışmanın yapılması için gerekli etik kurul izni Hacettepe Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan alındı (Karar tarih ve no: 10.09.2019 - 2019/22-04, Ek-1). İdari izin Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Başhekimliği'nden (SUAM Tıpta Uzmanlık Eğitim Kurulu - karar tarihi ve no: 10.10.2019 – 15) alındı.

Hastalardan ve kontrol grubundaki gebelerden kan örnekleri alındı. Her iki gruptaki bireyler çalışmaya gebeliğin 3. trimesterinde dahil edildi. Çalışmaya katılan tüm gebeler için izlem formu dolduruldu. Bu formda katılımcıların demografik özellikleri, mevcut hastalıkları, kullanmakta oldukları ilaçlar kaydedildi. Ayrıca, rutin takibinde yapılan kan basıncı ölçümleri ve laboratuvar değerleri veri toplama formuna işlendi. Çalışmamızdaki dahil etme ve hariç tutma kriterleri aşağıda belirtilmiştir.

Kontrol grubuna dahil etme kriterleri:

1. 18-45 yaşında olan,
2. Gebeliğinin 3. trimesterinde olan,
3. Preeklampsi öyküsü olmayan,
4. Gebelik komplikasyonlarının görülmediği, sağlıklı gebeler çalışmaya kontrol grubu olarak dahil edilmiştir.

Hasta gruplarına dahil etme kriterleri:

1. 18-45 yaşında olan,
2. Gebeliğinin 3. trimesterinde olan,

3. ACOG kriterlerine göre gestasyonel hipertansiyon veya preeklampsi tanısı alan hastalar çalışmaya preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyon grupları olarak dahil edilmiştir.

Hariç tutma kriterleri şu şekildedir:

1. Kronik kalp, karaciğer ve böbrek yetmezliği olan,
2. Diabetes mellitus ve gestasyonel diabetes mellitus tanısı olan,
3. Kronik hipertansiyon tanısı olan,
4. Çoğul gebeliği olan,
5. CYP450 enzimlerinin aktivitesini inhibe ya da aktive ettiği bilinen ilaç ve maddeleri kullanan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

3.2. Genetik Polimorfizmlerinin Analizleri

3.2.1. Genotipleme Çalışmalarında Kullanılan Ürünler ve Araç-Gereç

EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden DNA, DNA izolasyon kiti Whole Blood DNA Purification Kit (Thermo Fischer Scientific, Somerset, New Jersey, ABD) kullanılarak elde edildi. PCR amplifikasyonu Bio-Rad T100 Thermal Cycler (Bio-Rad Laboratories, Taipei, Tayvan) cihazı ile gerçekleştirildi. PCR primerleri Sentebiolab'dan (Ankara, Türkiye), RFLP reaksiyonu için kullanılan kesim enzimleri New England Biolabs'dan (Ipswich, Massachusetts, ABD) alındı. Jel elektroforezi için kullanılan agaroz Hispanagar'dan (Burgos, İspanya) temin edildi. Jellerin görüntülenmesinde Kodak Gel Logic (Kodak, Rochester, New York, ABD) UV görüntüleme kabini kullanıldı.

3.2.2. Kan Örneklerinin Alınması

Gönüllülerden klinikte yapılan rutin tetkikleri için kan alınırken çalışma için de EDTA'lı tüplere ve biyokimya tüplerine kan alındı. Biyokimya tüpüne alınan örnekler 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri elde edildi. Elde edilen serum örnekleri 3 adet Eppendorf tüpüne eşit olarak paylaştırılarak metabolit analizlerinin yapılacağı zamana kadar -80°C'de saklandı. EDTA'lı kan tüplerine alınan kan örnekleri ise genotipleme çalışmalarına başlanılana kadar -20 ° C'de saklandı.

3.2.3. Kan Örneklerinden DNA İzolasyonu

Kan örneklerinden DNA izolasyonu, NucleoSpin Blood DNA izolasyon kiti kullanılarak üreticinin talimatlarına uygun şekilde gerçekleştirildi. Öncelikle, 200 µL kan örneği, 25 µL Proteinaz K ve 200 µL Buffer 3 ile karıştırılarak 70°C’de 20 dakika çalkalamalı inkübatörde bekletildi. Daha sonra, karışıma 210 µL etil alkol eklendi ve karışım filtreleme özelliği bulunan kolonlara aktarılıp santrifüj edildi. Santrifüj işlemi karışıma çeşitli tampon solüsyonları eklenerek tekrarlandı. Son aşamada, kolonlara 100 µL Tris Edta (TE) Buffer eklenerek santrifüj yapıldı ve 100 µL hacimde 4-6 µg DNA elde edildi. DNA örnekleri genotipleme analizleri yapılana kadar -20°C’de saklandı.

3.2.4. CYP4F2, CYP4F3, CYP4A11, CYP2J2, CYP2C9, CYP2C19 ve sEH (EPHX2) Genetik Polimorfizmlerinin Genotiplenmesi

Çalışmaya dahil edilen tüm gönüllülerde *CYP4F2**3, *CYP4F3* *rs3794987*, *CYP4A11* *rs9333025*, *CYP2J2**7, *CYP2C9**2, *3, *CYP2C19**2, *17, sEH (*EPHX2*) *rs751141* genotipleme deneyleri polimeraz zincir reaksiyonu ve enzim ile restriksiyon (PCR-RFLP) metodu kullanılarak gerçekleştirildi (124-128).

PCR reaksiyonlarında Tablo 3.1’de belirtilen primerler kullanıldı. Liyofilize primerler TE buffer içerisinde çözülerek 100 mM’lık stok solüsyonlar hazırlandı. Daha sonra stok primer solüsyonları Tris Edta tamponu ile dilüe edilerek 20 mM’lık primer solüsyonları elde edildi. Bu solüsyonlar deneylerde kullanılmak üzere (-20°C) de saklandı.

PCR reaksiyonunda kullanılan karışım 25 µL toplam hacim içerisinde 0,5 ünite (Ü) Taq DNA Polimeraz, 0,2 mM dNTP solüsyonu, 22,5 µL nükleaz içermeyen ultrasaf su, 0,25 µL 20 mM’lık primer oluştu. PCR reaksiyonunda Tablo 3.2’de belirtilen koşullar uygulandı. Elde edilen PCR ürünleri 10 µL etidyum bromür içeren yüzde 1’lik agaroz jele yüklendi. 120 volt geriliminde 50 dakika boyunca yürütülen jeller UV görüntüleme kabiniinde görüntülendi. PCR ürünü elde edildiği tespit edilen örnekler üzerinde RFLP reaksiyonu gerçekleştirildi.

RFLP reaksiyon hacmi 30 µL olarak belirlendi. Karışım, 16 µL su, 3 µL tampon çözeltisi ve 5-10 ünite kesim enziminden oluştu. Hazırlanan karışımlara 10 µL

PCR ürünü eklenerek inkübe edildi. Elde edilen kesim ürünleri 20 µL etidyum bromür içeren yüzde 3'lük agaroz jellere yüklendi. Jeller yürütüldükten sonra UV görüntüleme kabininde görüntülendi. Kullanılan primerler, kesim enzimleri ve kesim ürünleri Tablo 3.1.'de, RFLP yöntemlerinin detayları tablo 3.3'te belirtilmiştir. RFLP kesim sonucundaki ürünlere örnekler Şekil 3.1 – 3.6'da sunulmaktadır.

Tablo 3.1. CYP4F2*3, CYP2J2*7, EPHX2 rs751141, CYP2C19*2, *17, CYP2C9*2, *3, CYP4F3 rs3794987, CYP4A11 rs9333025 genetik polimorfizmleri için primerler, PCR ürünü uzunluğu, kesim enzimleri ve kesim ürünleri

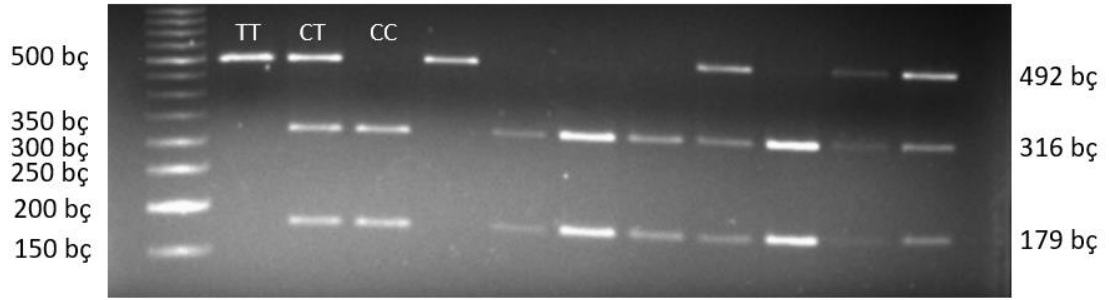
Genetik polimorfizm	PCR primerleri	PCR ürünü	Kesim enzimi	Kesim ürünleri	Alel
<i>CYP4F2*3</i>	5'-ATCAACCCGTTCCCACCT-3'	495 bç	PvuII	316+179 bç	C
	5'-ACATTGTGCTCCCAGACG-3'			495 bç	T
<i>CYP2J2*7</i>	5-CTAGCCTGGCCTTTTCTGAG-3	300 bç	AluI	300 bç	C
	5-CGTCTTTTGAGAAAGTCAGCA-3			190+110 bç	T
<i>EPHX2</i> <i>rs751141</i>	5'-GGGCTATGTTAGGCCACGAG-3'	481 bç	HPaII	222+152+57+50 bç	G
	5'-TCAGGCAGGTAGAAGGCAAG-3'			222+202+57 bç	A
<i>CYP2C19*17</i>	5'-AATAAAGATGACCTTGATCTGG-3'	504 bç	MnII	280+224 bç	C
	5'-GTCTCCTGAAGTGTCTGTAC-3'			504 bç	T
<i>CYP2C19*2</i>	5'-CAGAGCTTGGCATATTGTATC-3'	321 bç	SmaI	212+109 bç	G
	5'-GTAAACACACAAGTAGTCAATG-			321 bç	A
<i>CYP2C9*2</i>	5'-AAATGGAAGGAGATCCGGCG-3'	221 bç	AvaII	149+72 bç	C
	5'-TGAAAGATATGGCCACCCCTG-3'			221 bç	T
<i>CYP2C9*3</i>	5'-TGCACGAGGTCCAGAGATGC-3'	105 bç	NsiI	85+20 bç	A
	5'-GATACTATGAATTTGGGACTTC-3'			105 bç	C
<i>CYP4F3</i> <i>rs3794987</i>	5'-CCACCCTTCCCTTCACTCC-3'	259 bç	TaqαI	184+75 bç	A
	5'-TATAGGAGGACAGAGCGGGG-3'			259 bç	G
<i>CYP4A11</i> <i>rs9333025</i>	5'-GCCCCGATGGGTGTATTAAGG-3'	594 bç	HinFI	572+22 bç	C
	5'-TGAGTGGCGTGTGAGTGTC-3'			433+139+22 bç	T

Tablo 3.2. *CYP4F2*3*, *CYP2J2*7*, *EPHX2 rs751141*, *CYP2C19*2*, **17*, *CYP2C9*2*, **3*, *CYP4F3 rs3794987*, *CYP4A11 rs9333025* genetik polimorfizmleri için PCR koşulları

Genetik Polimorfizm	Başlangıç Denatürasyonu	Denatürasyon	Bağlanma	Uzama	Döngü Sayısı	Son Uzama
<i>CYP4F2*3</i>	95°C, 5 dk.	95°C, 20 sn.	57,5°C, 40 sn.	72°C 1 dk.	35	72°C, 5dk.
<i>CYP2J2*7</i>	95°C, 5 dk.	95°C, 20 sn.	57,5°C, 40 sn.	72°C 1 dk.	33	72°C, 5dk.
<i>EPHX2 rs751141</i>	95°C, 5 dk.	95°C, 20 sn.	62°C, 40 sn.	72°C 1 dk.	30	72°C, 5dk.
<i>CYP2C19*2</i>	95°C, 5 dk.	95°C, 20 sn.	54°C, 40 sn.	72°C 1 dk.	38	72°C, 5dk.
<i>CYP2C19*17</i>	95°C, 5 dk.	95°C, 20 sn.	52°C, 40 sn.	72°C 1 dk.	38	72°C, 5dk.
<i>CYP2C9*2</i>	95°C, 5 dk.	95°C, 20 sn.	62°C, 40 sn.	72°C 1 dk.	30	72°C, 5dk.
<i>CYP2C9*3</i>	95°C, 5 dk.	95°C, 20 sn.	64°C, 40 sn.	72°C 1 dk.	30	72°C, 5dk.
<i>CYP4F3 rs3794987</i>	95°C, 5 dk.	95°C, 20 sn.	66°C, 40 sn.	72°C 1 dk.	30	72°C, 5dk.
<i>CYP4A11 rs9333025</i>	95°C, 5 dk.	95°C, 20 sn.	64,5°C, 40 sn.	72°C 1 dk.	34	72°C, 5dk.

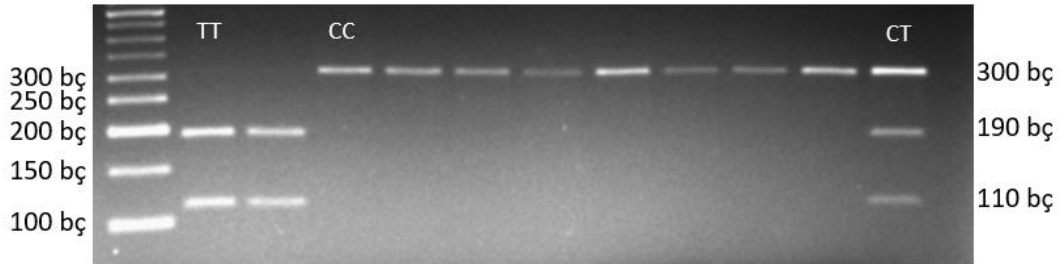
Tablo 3.3. *CYP4F2*3*, *CYP2J2*7*, *EPHX2 rs751141*, *CYP2C19*2*, **17*, *CYP2C9*2*, **3*, *CYP4F3 rs3794987*, *CYP4A11 rs9333025* genetik polimorfizmleri için RFLP koşulları

Genetik Polimorfizm	Kesim Enzimi	Kesim Enzimi Miktarı (ünite)	İnkübasyon Süresi (saat)
<i>CYP4F2*3</i>	PvuII	(10)	(2)
<i>CYP2J2*7</i>	AluI	(5)	(16)
<i>EPHX2 rs751141</i>	HpaII	(10)	(16)
<i>CYP2C19*17</i>	MnlI	(5)	(16)
<i>CYP2C19*2</i>	SmaI	(10)	(16)
<i>CYP2C9*2</i>	AvaII	(5)	(16)
<i>CYP2C9*3</i>	Nsil	(5)	(16)
<i>CYP4F3 rs3794987</i>	TaqαI	(5)	(16)
<i>CYP4A11 rs9333025</i>	HinfI	(10)	(16)

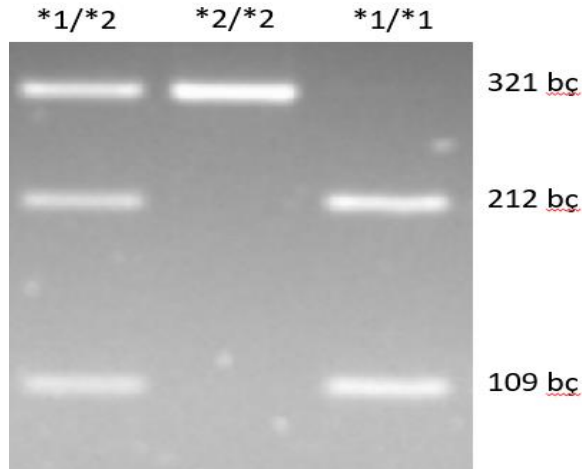


Şekil 3.1. *CYP4F2*3* genetik polimorfizmi analiz sonucu örneği.

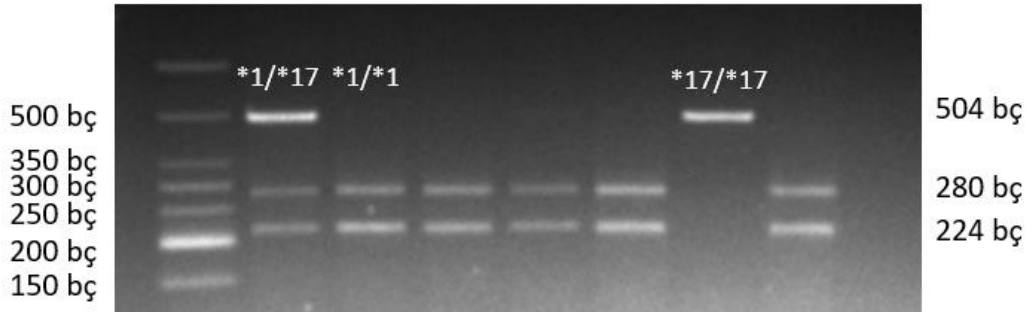
Yabanıl tip genotipe sahip bireylerin örnekleri (CC) 316 ve 179 baz çifti içeren ürünlere kesilirken polimorfik genotip (TT) ise kesime dirençliydi. Heterozigot örneklerde (CT) ise 492, 316 ve 179 baz çifti içeren üç bant görüldü.



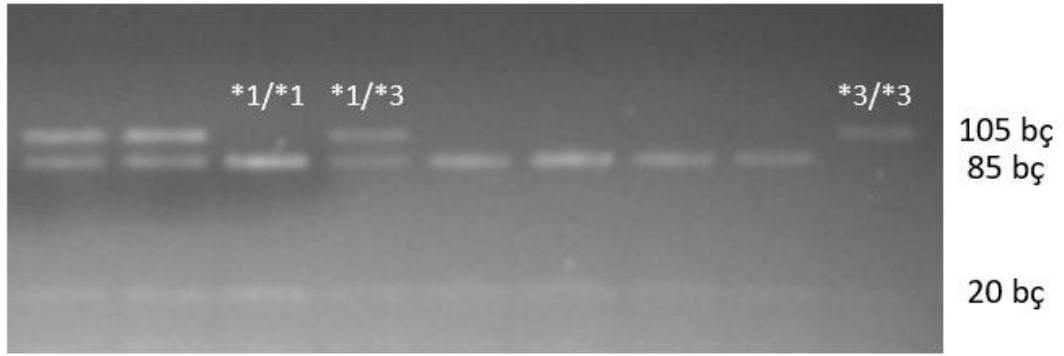
Şekil 3.2. *CYP2J2*7* genetik polimorfizmi analiz sonucu örneği. Yabanıl tip genotipe sahip bireylerin örnekleri (CC) kesime dirençliyken, polimorfik genotipe sahip bireylerin örnekleri ise (TT) ise 190 ve 110 baz çifti içeren ürünlere kesildi. Heterozigot örneklerde (CT) ise 300, 190 ve 110 baz çifti içeren üç bant görüldü.



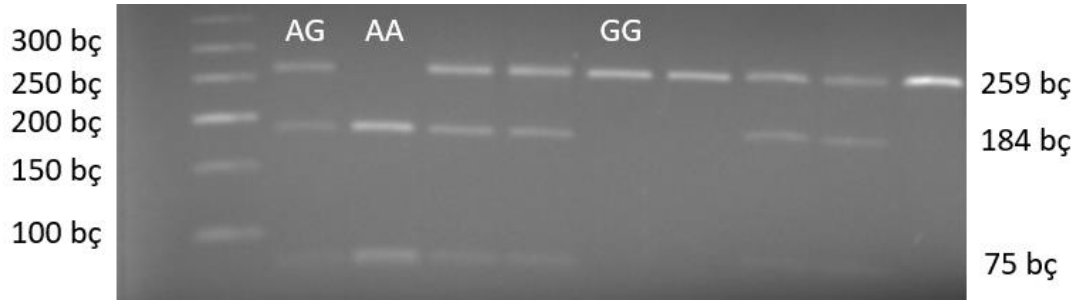
Şekil 3.3. *CYP2C19*2* genetik polimorfizmi analiz sonucu örneği. Yabanıl tip genotipe sahip bireylerin örnekleri (**1/*1*) 212 ve 109 baz çifti içeren ürünlere kesilirken polimorfik genotip (**2/*2*) ise kesime dirençliydi. Heterozigot örneklerde (**1/*2*) ise 321, 212 ve 109 baz çifti içeren üç bant görüldü.



Şekil 3.4. *CYP2C19*17* genetik polimorfizmi analiz sonucu örneği. Yabanıl tip genotipe sahip bireylerin örnekleri (**1/*1*) 280 ve 224 baz çifti içeren ürünlere kesilirken polimorfik genotip (**17/*17*) ise kesime dirençliydi. Heterozigot örneklerde (**1/*17*) ise 504, 280 ve 224 baz çifti içeren üç bant görüldü.



Şekil 3.5. CYP2C9*3 genetik polimorfizmi analiz sonucu örneği. Yabancı tip genotipe sahip bireylerin örnekleri ($*1/*1$) 85 ve 20 baz çifti içeren ürünlere kesilirken polimorfik genotip ($*3/*3$) ise kesime dirençliydi. Heterozigot örneklerde ($*1/*3$) ise 105, 85 ve 20 baz çifti içeren üç bant görüldü.



Şekil 3.6. CYP4F3 rs3794987 genetik polimorfizmi analiz sonucu örneği. Yabancı tip genotipe sahip bireylerin örnekleri (AA) 184 ve 75 baz çifti içeren ürünlere kesilirken polimorfik genotip (GG) ise kesime dirençliydi. Heterozigot örneklerde (AG) ise 259, 184 ve 75 baz çifti içeren üç bant görüldü.

3.3. Hedeflenmemiş Metabolomik Çalışması

Metabolitler, organizmada kimyasal reaksiyonların substratı olan ya da bu reaksiyonlar sonucu oluşan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Metabolom bu metabolitlerin tümüdür. Biyolojik bir örnekteki metabolitlerin kapsamlı analizine ise metabolomik denir. Metabolomik çalışmalarda elde edilen sonuçlar istatistiksel yöntemler ile değerlendirilir; hastalığın seyri veya tedavi şekli yönünden kontrol grubuyla karşılaştırılır. Böylece hasta grupları ve sağlıklı bireyler arasındaki metabolom düzeyindeki değişim ortaya konur. Gruplar arasında miktarı değişen pikler tespit edilir. Bu pikler metabolom kütüphaneleri ve veri tabanlarından yararlanılarak putatif metabolitler olarak saptanır. Bu sayede hastalık durumundan etkilenen metabolik yollar tanımlanabilir. LC-MS gibi analitik cihazlarda ve veri işlemede yaşanan teknolojik gelişmeler sonucunda hedeflenmemiş metabolomik çalışmaları yaygınlaşmaya başlamıştır (129). Çalışmamızda preeklampsi, gestasyonel hipertansiyon hastalarında ve sağlıklı gebelerde metabolomun birbirinden farklılaşp farklılaşmadığını saptayabilmek amacıyla hedeflenmemiş metabolomik çalışması yapılmıştır.

3.3.1. Örneklerin Hazırlanması

Hedeflenmemiş metabolomik çalışması için her alt çalışma grubundan 34 plazma örneğinin her birinden 100 µL alınarak örnek havuzlar ("pool") oluşturuldu. Ayrıca her alt gruptan 6 örnek tekil olarak analiz edilmek üzere rastgele seçildi. Her tekil örnekten ve her örnek havuzundan 300 µL alınıp 150 µL metanol ile karıştırılarak 3 kDa boyutunda porları olan Amicon Ultra-0,5 santrifüj filtresine eklendi. Örnekler filtre ile 10000 rpm ve +4°C sıcaklıkta 1 saat santrifüj edildi. Örneklerin toplama tüplerine biriken kısmından 200 µL alınarak vaporizatörde 6 saat uçuruldu. Daha sonra örnekler 500 µL hareketli faz eklenerek rekonstrikte edildi ve viallere aktarıldı.

3.3.2. Q-TOF LC/MS Analizi

Analizlerde, Agilent 1260 Infinity Ultra Performanslı sıvı kromatografisi (UPLC) ve Agilent 6530 Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometresi (Q-TOF/MS) cihazları kullanıldı (Şekil 3.11). Kromatografi kolonu olarak, Agilent Zorbax 1,8 µm, 50 x 2,1

mm seçildi. Mobil faz olarak 0,1 % formik asit içeren su ve asetonytril solüsyonları hazırlandı. Uygulanan gradient yöntemi Tablo 3.4'te gösterilmiştir. Tüm örnekler randomize bir sıralama ile iki tekrar olacak şekilde enjekte edildi.

Tablo 3.4. Q-TOF LC/MS analizinde kullanılan gradient yöntemi

Dakika	Asetonytril (% 0,1 Formik Asit)	Su (% 0,1 Formik Asit)
1	% 10	% 90
12	% 90	% 10
13	% 90	% 10
20	% 10	% 90
25	% 10	% 90

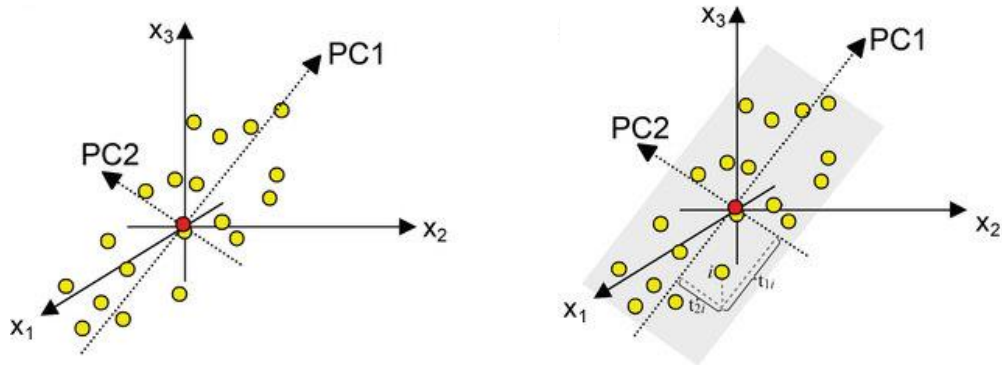
3.3.3. Q-TOF LC/MS Analizi Verilerinin İşlenmesi

Piklerin seçilmesi, gruplandırılması ve karşılaştırması XCMS – R programı kullanılarak yapıldı (130). Elde edilen ham data MS Excel'de işlendi. Dilüe edilen örneklerde dilüsyonla korele olarak şiddeti azalmayan pikler ($R < 0,9$) pik listesinden çıkarıldı. Her örneğin kendi total pik alanları kullanılarak normalizasyon işlemi yapıldı (131).

3.3.4. Temel Bileşen Analizi (PCA)

Metabolomik çalışmalarında ortaya çıkan büyük miktarlarda veri için yaygın olarak yapıldığı gibi, havuzlanmış örnekler için hedeflenmemiş metabolomik sonuçları bir temel bileşen analizi (PCA) iki boyutlu grafiğini kullanarak incelendi. Temel Bileşenler Analizi, fazla boyutlu verilerdeki genel özellikleri bularak boyut sayısının azaltılmasını, verinin sıkıştırılmasını sağlayan bir istatistiksel tekniktir. Bu yöntem, yüksek korelasyonlu değişkenleri bir araya getirerek, verilerdeki en çok

varyasyonu oluşturan “temel bileşenler” olarak adlandırılan daha az sayıda yapay değişken kümesi oluşturur.



Şekil 3.7. PCA analizinde boyut azaltılmasının, temel bileşen 1 (PC1) ve temel bileşen 2 (PC2)'nin şematik gösterimi. (132) numaralı kaynaktan değiştirilerek alınmıştır.

İlk temel bileşen, verilerdeki maksimum varyansın yönü boyunca hesaplanır. İkincisi, birincisine diktir ve ikinci büyük varyasyon kaynağını tanımlar (Şekil 3.7). İki bileşen, her bir gözlemin daha düşük boyutlu bir düzlemde yansıtılabileceği ve görselleştirilebileceği bir düzlemi tanımlar. Yeni düzlemdeki gözlemlerin PC1 ve PC2 eksenlerindeki değerlerine skor denir.

Bu bileşenler şiddeti dilüsyonla korele olarak azalan piklerin şiddetlerinin matematiksel modeller ile dönüşümü sonucu ortaya çıkan, istatistiksel olarak iki grup arasındaki farklılığın yüzde cinsinden gösterimidir. Grafik üzerindeki eliptik kümeler ise iki gruba ait numunelerin dağılımını göstermektedir. Temel bileşen analizi sonucunda farklı gruplara ait numunelerin birbirinden farklı bölgelerde kümelenmesi beklenirken, aynı grup içindeki numunelerin ise birbirine yakın noktalarda kümelenmesi beklenir. İki farklı grup birbirine yakın olarak kümeleniyorsa bu grupların metabolomik profillerinin birbirinden ayrılmadığı kabul edilir. Grupların birbirinden ayrıştığı saptandıktan sonra seçilen pikler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklı olan ve en az iki kat değişen pikler belirlenir.

3.3.5. Piklerin Metabolit Veri Tabanlarında Taranması

Kontrol grubu ile preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyon gruplarının normalize edilmiş pik alanları t testi kullanılarak istatistiksel olarak karşılaştırıldı. T testi sonucuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı olan ($p < 0,05$) ve 2 kattan fazla değişen ($FC > 2$) pikler seçildi. Bu piklerin “mass/charge” (m/z) değerlerine göre “Metaboanalyst 4.0 MS Peaks to Pathways” web tabanlı yazılımı kullanılarak HMDB ve KEGG metabolit veri bankalarında putatif moleküller olarak tarandı (133). Birden fazla metabolit aynı m/z değerine sahip olabileceği için sadece m/z değerleri bu metabolitleri tanımlamak için yeterli olmamaktadır. Saptanan metabolitlerin doğrulanması için hedeflenmiş çalışmaların yapılması gerekmektedir.

3.4. Plazmadan 20-HETE ve DHET Düzeylerinin Ölçümü

CYP4F2 ve CYP4A11 genetik polimorfizmlerinin fonksiyonunu değerlendirebilmek amacıyla 20-HETE düzeyleri ölçüldü. CYP2J2, CYP2C9, CYP2C19 ve sEH (EPHX2) genetik polimorfizmlerinin fonksiyonunu değerlendirebilmek amacıyla metabolik yolağın son ürünü olan DHET düzeyleri saptandı. Bu iki metabolitin düzeyinin ölçümünde LC-MS analiz yöntemi kullanıldı. Analiz için kullanılacak plazma örnekleri, biyokimya tüplerine alınan kanın 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmesi ile elde edildi. Örnekler analizler yapılana kadar -80°C ’de saklandı.

3.4.1. Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Standart olarak kullanılan 20-HETE ve 14,15-DHET, (Santa Cruz Biotechnology, Inc. Teksas, ABD) kullanıldı. Sıvı sıvı ekstraksiyonunda kullanılan hekzan, etilasetat ve dietilamin, hareketli fazın hazırlanmasında kullanılan asetonitril ve formik asit Sigma-Aldrich Chemi GmbH'den (Taufkirchen, Almanya) alındı. Hareketli fazın hazırlanmasında LC-MS grade saf su kullanıldı.

3.4.2. 20-HETE ve DHET Düzeylerinin Ölçümü

Örneklerin hazırlanmasında hekzan, etil asetat ve dietilamin karışımı kullanılarak sıvı-sıvı ekstraksiyon yöntemi kullanıldı (134). İnternal standart olarak parasetamol kullanıldı. Öncelikle 1 mL plazma örneğine 0,1 ppm parasetamol eklendi. Daha sonra, hekzan, etil asetat ve dietilamin karışımı örneklerle 1:1 hacimde eklenerek 7000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve süpernatant ayrıldı. Bu ekstraksiyon işlemi 3 kere tekrarlandı. Hazırlanan örnekler 8 saat azot ile uçurularak kristalize hale getirildi.

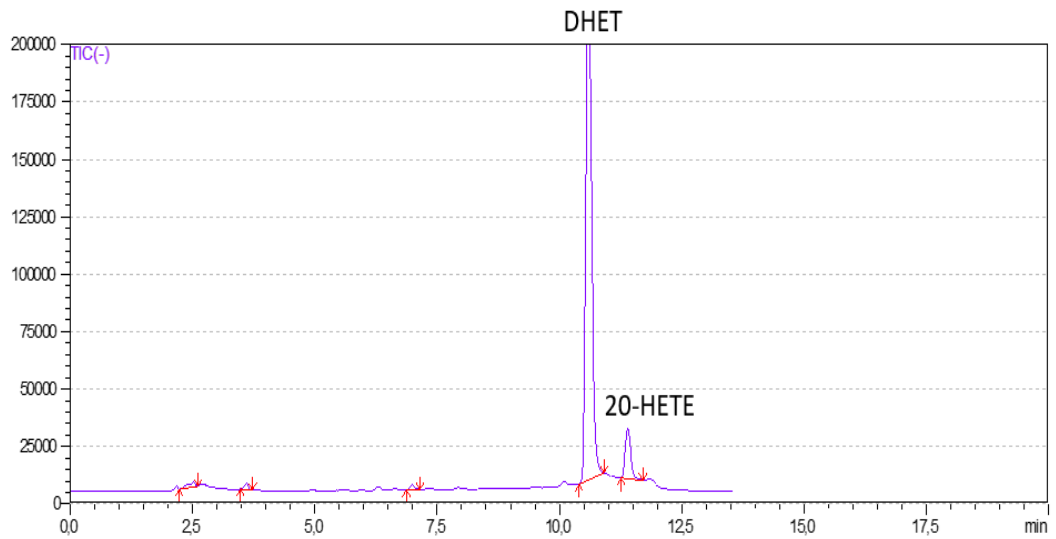
Kristalize hale gelen örnekler 100 µL % 50 metanol içinde çözüldü. Örneklerle 100 µL mobil faz eklendikten sonra örnekler LC-MS sistemine enjekte edildi. Metabolitlerin analizinde degazör, dörtlü pompa, autosampler ve kolon ısıtıcısı ısıtıcısından oluşan Shimadzu Prominence UFLC HPLC ve ona bağlı olarak çalışan Shimadzu LCMS-2020 kütle spektrometresi (Shimadzu, Tokyo, Japonya) sistemi kullanıldı.

Enjeksiyon hacmi 25 µL olarak belirlendi. LC-MS analizinde mobil faz olarak A: Su (% 0,1 formik asit) B: asetonitril (% 0,1 formik asit) karışımları gradient yöntemi ile kullanıldı. Kullanılan gradient yöntemi Tablo 3.7'de gösterilmiştir.

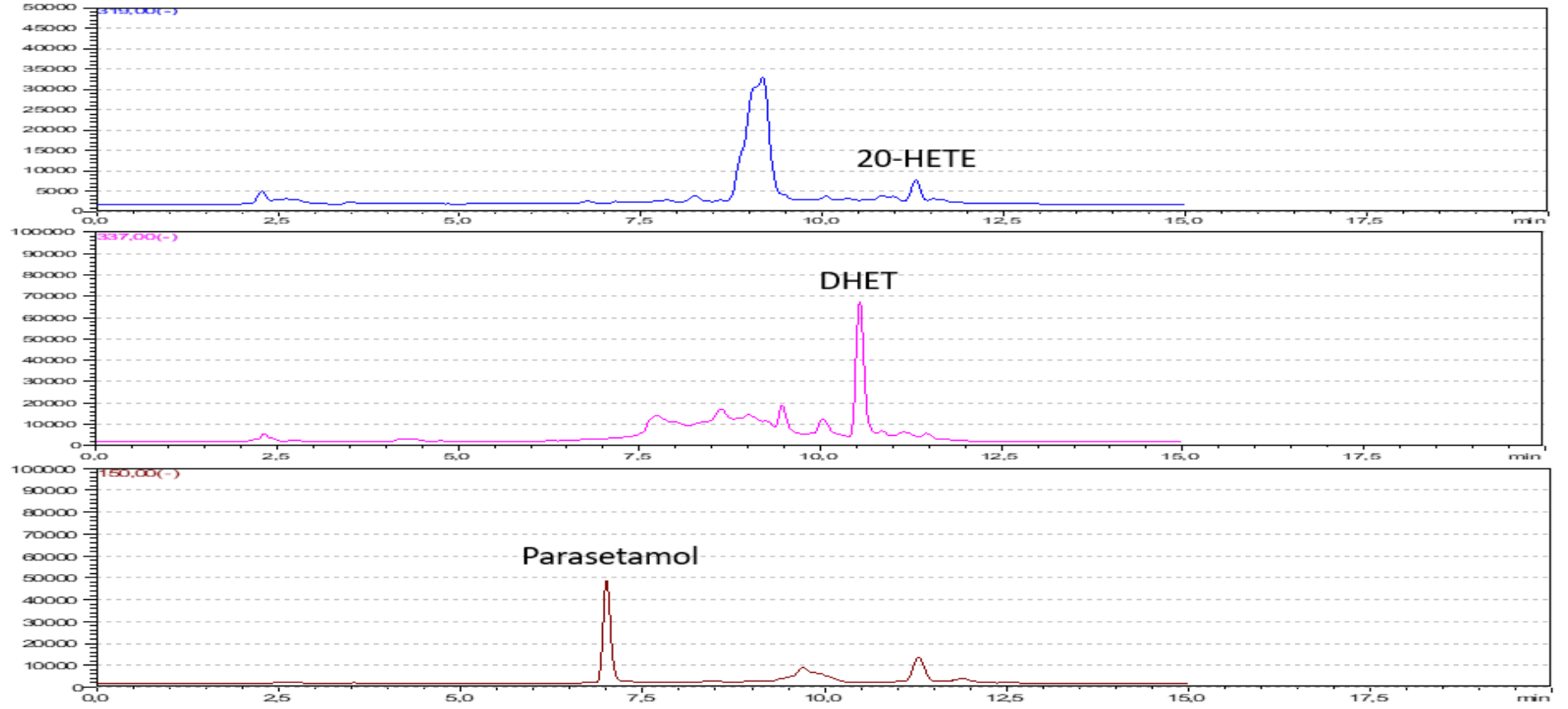
Kromatografik ayırım için X Select C18 (4,6X100 mm, 3,5 µm) kolonu kullanıldı. Akış hızı 0,35 ml/dk. olarak ayarlandı. Kolon fırını 22°C'de çalıştı. MS negatif iyon modunda çalıştırıldı. Tek iyon modunda 319 m/z, 337 m/z ve 150 m/z değerlerinde tarama yapıldı. LC-MS yöntemi ile elde edilen örnek 20-HETE ve DHET pikleri Şekil 3.5'de gösterilmektedir. Pik şiddetleri saptanarak internal standardın pik şiddetine göre normalize edildi. Elde edilen normalize değerler ve ölçümler semi kantitatif (kat- değişim) olarak değerlendirildi.

Tablo 3.5. LC/MS analizinde kullanılan gradient yöntemi

Dakika	Asetonitril (% 0,1 Formik Asit)	Su (% 0,1 Formik Asit)
0	% 65	% 35
6	% 5	% 95
7	% 5	% 95
10	% 65	% 35
15	% 65	% 35



Şekil 3.8. LC-MS yöntemi ile elde edilen örnek 20-HETE ve DHET pikleri (plazma içinde standart madde verilen)



Şekil 3.9. LC-MS yöntemi ile plazma örneğinde 319 m/z, 337 m/z ve 150 m/z, değerlerinde örnek tarama sonuçları. 20-HETE piki 319 m/z, DHET piki 337 m/z, Parasetamol piki 150 m/z, değerlerinde görülmektedir.

3.5. İstatiksel Analiz

CYP4F2, CYP4F3, CYP4A11, CYP2J2, CYP2C9, CYP2C19 ve sEH (EPHX2) genetik polimorfizmlerinin genotip ve alel sıklıklarının karşılaştırılmasında ki-kare veya Fisher'in kesin testi kullanıldı.

Demografik verilerin üç çalışma grubu arasında karşılaştırılmasında ve öngörülen fenotip grupları arasında metabolit düzeylerinin karşılaştırılmasında tek yönlü ANOVA testi kullanıldı. Tek yönlü ANOVA testi sonrası *post hoc* analizler Tukey testi ile yapıldı. İstatistiksel anlamlılık sınırı olarak *p* değerlerinin 0,05'ten küçük olması kabul edildi.

İstatistiksel analizler Graphpad Prism Versiyon 6 (Graphpad Inc. Kaliforniya, ABD) ve Microsoft Excel (Microsoft Inc. Washington, ABD) yazılımları kullanılarak yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. Gönüllülere Ait Demografik Bilgiler

Çalışmaya, 110 gestasyonel hipertansiyon, 58 preeklampsi hastası ve 155 sağlıklı gebe olmak üzere 323 gönüllü katıldı. Çalışmaya katılan bireylere ait demografik bilgiler Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Gönüllülere ait demografik bilgiler

	Gestasyonel			p değeri
	Kontrol (n=155)	Hipertansiyon (n=110)	Preeklampsi (n=58)	
Yaş	28,6±0,5	29,5±6,6	31,3±6,0	0,02
VKİ	29,4±0,3	32,1±0,6	32,1±0,7	0,0001
Gebelik Haftası	32,2±0,2	33,0±0,4	32,3±0,5	0,15

Ort±o.s.h. olarak gösterilmiştir. (Ort: ortalama, o.s.h.: ortalamanın standart hatası)

GH ve preeklampsi hastalarının ortalama yaşları ve vücut kitle indeksi (VKİ) değerleri kontrol bireylere göre daha fazladır (Tablo 4.1). Buna karşın başvuru sırasındaki gebelik haftaları benzerdir.

4.2. CYP4F2, CYP4F3, CYP4A11, CYP2J2, CYP2C9, CYP2C19 ve sEH (EPHX2) Genetik Polimorfizmlerinin Alel Sıklıkları

Çalışmaya dahil edilen 323 bireyin CYP4F2, CYP4F3, CYP4A11, CYP2J2, CYP2C9, CYP2C19 ve sEH (EPHX2) genetik polimorfizmlerinin alel sıklıkları saptandı. Bu çalışmada saptanan genetik polimorfizmlerin alel sıklıkları, literatürde Türk toplumunda sıklıkları belirlenmiş olan polimorfizmler için ilgili çalışmalarda alel sıklıkları, diğer polimorfizmleri için ise beyaz ırktaki alel sıklıkları Tablo 4.2’de karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

Tablo 4.2. Genetik polimorfizmlerin çalışmamızdaki ve referans çalışmalardaki alel sıklıkları

Enzimler	Genetik Polimorfizm	Alel	Alel Sıklığı (%)	Referans Alel Sıklığı (%)	Kaynaklar
CYP4F2	*3	<i>C</i>	(66,0)	(60,0)	Özer ve diğ. (2013) (83)
		<i>T</i>	(34,0)	(40,0)	
CYP2J2	*7	<i>C</i>	(92,7)	(92,0)	King ve diğ. (2002) (92)
		<i>T</i>	(7,3)	(8,0)	
sEH	<i>rs751141</i>	<i>G</i>	(92,7)	(90,7)	Auton ve diğ. (2015) (82)
		<i>A</i>	(7,3)	(9,3)	
CYP2C19	*1	*1 Yabanıl Tip	(62,7)	(65,6)	Göktaş ve diğ. (2015) (135)
	*2	*2, <i>G>A</i>	(14,1)	(10,0)	
	*17	*17, <i>C>T</i>	(23,2)	(24,4)	
CYP2C9	*1	*1 Yabanıl Tip	(79,4)	(79,4)	Aynacıoğlu ve diğ. (1999) (102)
	*2	*2, <i>C>T</i>	(9,3)	(10,6)	
	*3	*3, <i>A>C</i>	(11,3)	(10,0)	
CYP4F3	<i>rs3794987</i>	<i>A</i>	(56,9)	(48,7)	Costea ve diğ. (2010) (136)
		<i>G</i>	(43,1)	(52,3)	
CYP4A11	<i>rs9333025</i>	<i>C</i>	(91,2)	(91,4)	Auton ve diğ. (2015) (82)
		<i>T</i>	(8,8)	(8,6)	

Bu tez çalışmasında saptanan genotip sıklıkları *CYP4F3 rs3794987* genetik polimorfizmi haricinde Hardy-Weinberg eşitliğine uygun dağılım göstermektedir. Çalışmaya dahil edilen 323 bireyin Hardy-Weinberg eşitliği analiz sonuçları tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Çalışmaya dahil edilen 323 bireyin Hardy-Weinberg eşitliği analiz sonuçları

Enzim	Genetik Polimorfizm	Genotipler	Genotip Sıklığı		<i>p</i> ; (χ^2 ; df)
			n	(%)	
<i>CYP4F2</i>	*3	<i>CC</i>	138	(42,8)	0,541; (0,371; 2)
		<i>CT</i>	150	(46,4)	
		<i>TT</i>	35	(10,8)	
<i>CYP2J2</i>	*7	<i>CC</i>	279	(86,4)	0,287; (1,132; 2)
		<i>CT</i>	41	(12,7)	
		<i>TT</i>	3	(0,9)	
<i>sEH</i>	<i>rs751141</i>	<i>GG</i>	277	(85,8)	0,86; (0,03; 2)
		<i>GA</i>	44	(13,6)	
		<i>AA</i>	2	(0,6)	
<i>CYP2C19</i>	*2	<i>GG</i>	232	(73)	0,772; (0,083; 2)
		<i>GA</i>	80	(25,2)	
		<i>AA</i>	6	(1,8)	
<i>CYP2C19</i>	*17	<i>CC</i>	187	(58,6)	0,902; (0,015; 2)
		<i>CT</i>	114	(35,7)	
		<i>TT</i>	18	(5,6)	
<i>CYP2C9</i>	*2	<i>CC</i>	265	(82,0)	0,23; (1,411; 2)
		<i>CT</i>	57	(17,6)	
		<i>TT</i>	1	(0,3)	
<i>CYP2C9</i>	*3	<i>AA</i>	255	(78,9)	0,637; (0,221; 2)
		<i>AC</i>	63	(19,5)	
		<i>CC</i>	5	(1,6)	
<i>CYP4F3</i>	<i>rs3794987</i>	<i>AA</i>	114	(35,3)	0,038; (4,343; 2)
		<i>AG</i>	140	(43,3)	
		<i>GG</i>	69	(21,4)	
<i>CYP4A11</i>	<i>rs9333025</i>	<i>CC</i>	268	(83,0)	0,721; (0,126; 2)
		<i>CT</i>	53	(16,4)	
		<i>TT</i>	2	(0,6)	

4.3. CYP4F2, CYP4F3, CYP4A11 Genetik Polimorfizmleri ile Gebeliğin Hipertansif Hastalıkları Arasındaki İlişki

4.3.1. CYP4F2*3 Genetik Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları

Preeklampsi grubunda, TT genotip ve T alelinin sıklığı kontrol grubuna göre daha az bulundu. *CYP4F2*3* polimorfizmi sonuçları Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4. CYP4F2*3 genetik polimorfizmi için genotip ve alel sıklıkları

		Genotip / Alel Sıklıkları						<i>p</i> ; (χ^2 ;df)
		Kontrol (n=155)		Gestasyonel Hipertansiyon (n=110)		Preeklampsi (n=58)		
<i>CYP4F2*3</i>		n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Genotip	<i>CC</i>	67	(43,2)	38	(34,5)	33	(56,9)	0,06; (8,792; 4)
	<i>CT</i>	69	(44,5)	61	(55,5)	20	(34,5)	
	<i>TT</i>	19	(12,3)	11	(10,0)	5	(8,6)	
Alel	<i>C</i>	203	(65,5)	137	(62,3)	86	(74,1)	0,08; (6,224; 2)
	<i>T</i>	107	(34,5)	83	(37,7)	30	(25,9)	

Tablo 4.4'te görüldüğü gibi, *CYP4F2*3* polimorfizmi için genotip ve alel dağılımları çalışma grupları arasında benzerdi. Ancak, preeklampsi grubunda T alel sıklığında diğer gruplara göre azalma yönünde bir eğilim (trend) saptandı ($p=0,08$).

4.3.2. CYP4A11 rs9333025 Genetik Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları

CYP4A11 rs9333025 genetik polimorfizmi ile kontrol, gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarındaki genotip ve alel sıklıkları arasında ilişki saptanmadı. *CYP4A11 rs9333025* genetik analizlerinden elde edilen sonuçlar Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5. *CYP4A11 rs9333025* genetik polimorfizmi için genotip ve alel sıklıkları

		Genotip / Alel Sıklıkları						<i>p</i> ; (χ^2 ;df)
		Kontrol (n=155)		Gestasyonel Hipertansiyon (n=110)		Preeklampsi (n=58)		
<i>CYP4A11 rs9333025</i>		n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Genotip	<i>CC</i>	127	(81,9)	96	(87,3)	45	(77,6)	0,30; (4,832; 4)
	<i>CT</i>	26	(16,8)	14	(12,7)	13	(22,4)	
	<i>TT</i>	2	(1,3)	0	(0,0)	0	(0,0)	
Alel	<i>C</i>	280	(90,3)	206	(93,6)	103	(88,8)	0,25; (2,755; 2)
	<i>T</i>	30	(9,7)	14	(6,4)	13	(11,2)	

Tablo 4.5'te görüldüğü gibi, *CYP4A11 rs9333025* polimorfizmi için çalışma grupları arasında genotip ve alel dağılımlarında fark bulunmadı.

4.3.3. *CYP4F3 rs3794987* Genetik Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları

CYP4F3 rs3794987 genetik polimorfizmi ile kontrol, gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarındaki genotip sıklıkları arasında ilişki saptanmadı. *CYP4F3 rs3794987* genetik analizlerinden elde edilen sonuçlar Tablo 4.6'da gösterilmiştir.

Tablo 4.6. *CYP4F3* rs3794987 genetik polimorfizminin genotip ve alel sıklıkları

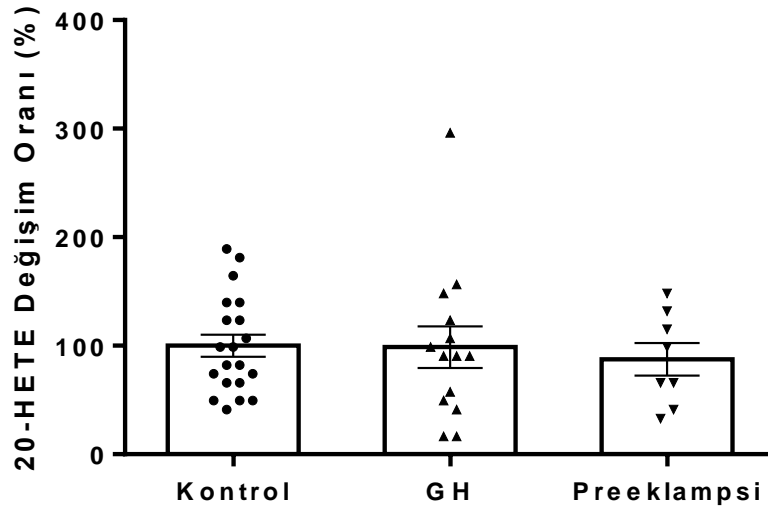
		Genotip / Alel Sıklıkları						<i>p</i> ; (χ^2 ;df)
		Kontrol (n=155)		Gestasyonel Hipertansiyon (n=110)		Preeklampsi (n=58)		
<i>CYP4F3</i> rs3794987		n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Genotip	AA	62	(40,0)	33	(30,0)	19	(32,8)	0,13; (7,032; 4)
	AG	69	(44,5)	48	(43,6)	23	(39,7)	
	GG	24	(15,5)	29	(26,4)	16	(27,5)	
Alel	A	193	(62,0)	114	(52,0)	61	(53,0)	0,03; (6,827;2)
	G	117	(38,0)	106	(48,0)	55	(47,0)	

Tablo 4.6’da görüldüğü gibi *CYP4F3* rs3794987 genetik polimorfizmi için genotip sıklıklarının dağılımında anlamlı farklılık yok iken alel sıklık dağılımında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Hem gestasyonel hipertansiyon hem de preeklampsi grubunda *CYP4F3* rs3794987 G aleli sıklığında kontrol grubuna göre artış görülmektedir.

4.4. Plazmadan 20-HETE Düzeylerinin Ölçüm Sonuçları

4.4.1. Kontrol ve Hasta Gruplarında CYP ω -hidroksilaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri ile Plazma 20-HETE Düzeyleri Arasındaki İlişki

Preeklampsi, gestasyonel hipertansiyon ve kontrol grupları arasında plazma 20-HETE düzeyleri karşılaştırıldığında farklılık saptanmadı ($p=0,68$). 20-HETE ölçüm sonuçları Şekil 4.1’de belirtilmiştir.



Şekil 4.1. Kontrol ve hasta gruplarında 20-HETE Düzeyleri.

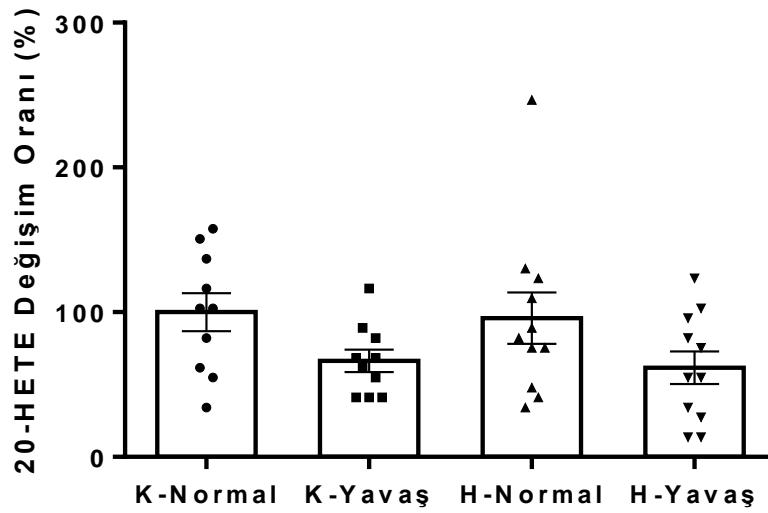
20-HETE düzeylerinin değişim oranının ortalamaları kontrol grubunda (n=20) % 100,0±10,1; gestasyonel hipertansiyon grubunda (n=14) % 98,7±19,1 preeklampsi grubunda (n=8) % 87,4±15,0 olarak saptandı. Tek yönlü ANOVA testi uygulandı. Kontrol ve hasta gruplarında 20-HETE düzeyleri benzerdi ($p=0,68$).

4.4.2. Kontrol ve Hasta Gruplarında CYP ω -hidroksilaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri ile Plazma 20-HETE Düzeyleri Arasındaki İlişki

CYP ω -hidroksilaz enzimlerinin genetik polimorfizmlerini değerlendirebilmek için bireyler, (öngörülen) fenotip gruplarına ayrılarak analiz edildi (Tablo 4.7). Kontrol grubunda yavaş metabolizör tahmini fenotipine sahip bireylerde, normal metabolizör olan bireylere göre 20-HETE değişim oranında azalma eğilimi gözlemlendi ($p=0,15$). Hasta grubunda yavaş metabolizör grubunda, normal metabolizör grubuna göre plazma 20-HETE değişim oranında azalma olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,24$, Şekil 4.2).

Tablo 4.7. CYP ω -hidroksilaz enzimleri için öngörülen fenotip grupları

Gruplar	Grup Özellikleri
Normal metabolizör	<i>CYP4F2</i> *3 ve <i>CYP4A11</i> rs9333025 genetik polimorfizmleri için homozigot yabancı tip olan bireyler
Yavaş metabolizör	<i>CYP4F2</i> *3 TT genotipine sahip bireyler ile <i>CYP4A11</i> rs9333025 CT ve <i>CYP4F2</i> *3 CT olan bireyler



Şekil 4.2. Öngörülen fenotip gruplarında 20-HETE düzeyleri. Kontrol grubunda normal metabolizör bireyler (n=10, K-normal), yavaş metabolizör olan bireyler (n=10, K-Yavaş). Hasta grubunda normal metabolizör olan bireyler (n=11, H-Normal), yavaş metabolizör olan bireyler (n=11, H-Yavaş). Tek yönlü ANOVA testi ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,10$). *Post-hoc* Tukey testinde 20-HETE düzeylerinde K-yavaş grubunda K-Normal grubuna göre azalma eğilimi saptandı ($p=0,15$).

4.5. CYP2C19, CYP2C9, CYP2J2*7 ve sEH Genetik Polimorfizmleri ile Gebeliğin Hipertansif Hastalıkları Arasındaki İlişki

4.5.1. CYP2C19 Genetik Polimorfizmlerinin Genotip ve Alel Sıklıkları

Kontrol, gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarında *CYP2C19* genotip ve alel sıklık dağılımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Genotip: $p=0,01$, Alel: $p=0,004$). *CYP2C19* genetik polimorfizm sonuçları Tablo 4.8’de gösterilmiştir.

Tablo 4.8. CYP2C19 genetik polimorfizmlerinin genotip ve alel sıklıkları

		Genotip / Alel Sıklıkları						<i>p</i> ; (χ^2 ;df)	
		Kontrol (n=155)		Gestasyonel Hipertansiyon (n=110)		Preeklampsi (n=58)			
		n	(%)	n	(%)	n	(%)		
CYP2C19	Genotip								
		*1/*1	73	(47,1)	35	(31,8)	20	(34,5)	
		*1/*2	27	(17,4)	18	(16,4)	12	(20,7)	
		*1/*17	44	(28,4)	30	(27,3)	18	(31,0)	0,01;
		*2/*2	2	(1,3)	3	(2,7)	1	(1,7)	(21,8;10)
		*2/*17	5	(3,2)	15	(13,6)	2	(3,5)	
	*17/*17	4	(2,6)	9	(8,2)	5	(8,6)		
Alel		*1	217	(70,0)	118	(53,7)	70	(60,3)	0,004;
		*2	36	(11,6)	39	(17,7)	16	(13,8)	(15,29; 4)
		*17	57	(18,4)	63	(28,6)	30	(25,9)	

Tablo 4.8’de görüldüğü gibi yabancı tip alel (*1) hasta gruplarında kontrol grubuna göre daha az bulunurken, *2 ve *17 alelleri ise gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarında yaklaşık 1,5 kat fazla gözlenmektedir.

4.5.2. CYP2C9 Genetik Polimorfizmleri ile Gestasyonel Hipertansiyon ve Preeklampsi Arasındaki İlişki

CYP2C9 genetik polimorfizmleri ile kontrol, gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarındaki genotip ve alel sıklıkları arasında ilişki saptanmadı. CYP2C9 genetik analizlerinden elde edilen sonuçlar Tablo 4.9'da gösterilmiştir.

Tablo 4.9. CYP2C9 genetik polimorfizmlerinin genotip ve alel sıklıkları

	Genotip / Alel Sıklıkları							<i>p</i> ; (χ^2 ;df)
	Kontrol (n=155)		Gestasyonel Hipertansiyon (n=110)		Preeklampsi (n=58)			
	n	(%)	n	(%)	n	(%)		
CYP2C9								
	*1/*1	87	(56,1)	77	(70,0)	38	(65,5)	
	*1/*2	32	(20,7)	12	(10,9)	8	(13,8)	
Genotip	*1/*3	29	(18,7)	17	(15,5)	11	(19,0)	0,40; (10,46; 10)
	*2/*2	0	(0,0)	1	(0,9)	0	(0,0)	
	*2/*3	4	(2,6)	2	(1,8)	0	(0,0)	
	*3/*3	3	(1,9)	1	(0,9)	1	(1,7)	
Alel	*1	235	(75,8)	183	(83,2)	95	(81,9)	0,23; (5,52; 4)
	*2	36	(11,6)	16	(7,3)	8	(6,9)	
	*3	39	(12,6)	21	(9,5)	13	(11,2)	

Tablo 4.9'da görüldüğü üzere, yabancıl tip (*1) ve enzim aktivitesinde kaybolmaya yol açan (*2 ve *3) alellerinin ve genotiplerin dağılımı benzerdir.

4.5.3. *CYP2J2**7 Genetik Polimorfizmi ile Gestasyonel Hipertansiyon ve Preeklampsi Arasındaki İlişki

*CYP2J2**7 genetik polimorfizmi ile çalışma gruplarındaki genotip sıklıkları arasında ilişki saptanmadı. *CYP2J2**7 genetik analizlerinden elde edilen sonuçlar Tablo 4.10'da gösterilmiştir.

Tablo 4.10. *CYP2J27 genetik polimorfizminin genotip ve alel sıklıkları**

		Genotip / Alel Sıklıkları						<i>p</i> ; (χ^2 ;df)
		Gestasyonel						
		Kontrol (n=155)		Hipertansiyon (n=110)		Preeklampsi (n=58)		
<i>CYP2J2</i> *7		n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Genotip	<i>CC</i>	133	(85,8)	100	(90,9)	46	(79,3)	0,10; (4,425; 2)
	<i>CT</i>	21	(13,5)	10	(9,1)	10	(17,2)	
	<i>TT</i>	1	(0,7)	0	(0)	2	(3,5)	
Alel	<i>C</i>	287	(92,6)	210	(95,5)	102	(87,9)	0,04; (6,391; 2)
	<i>T</i>	23	(7,4)	10	(4,5)	14	(12,1)	

Tablo 4.10'da görüldüğü gibi, *CYP2J2**7 polimorfizmi için kontrol, gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarındaki alel sıklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0,04$). İlginç olarak, *7 alelinin sıklığı gestasyonel hipertansiyon grubunda azalmış (% 4,5) iken, preeklampsi grubunda artış gözlemlendi (% 12,1).

4.5.4. sEH (*EPHX2*) *rs751141* Genetik Polimorfizminin Genotip ve Alel Sıklıkları

sEH *rs751141* genetik polimorfizmi ile kontrol, gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarındaki genotip ve alel sıklıkları arasında ilişki bulunmadı. sEH *rs751141* genetik analizlerinden elde edilen sonuçlar Tablo 4.11’de gösterilmiştir.

Tablo 4.11. sEH (*EPHX2*) *rs751141* genetik polimorfizminin genotip ve alel sıklıkları

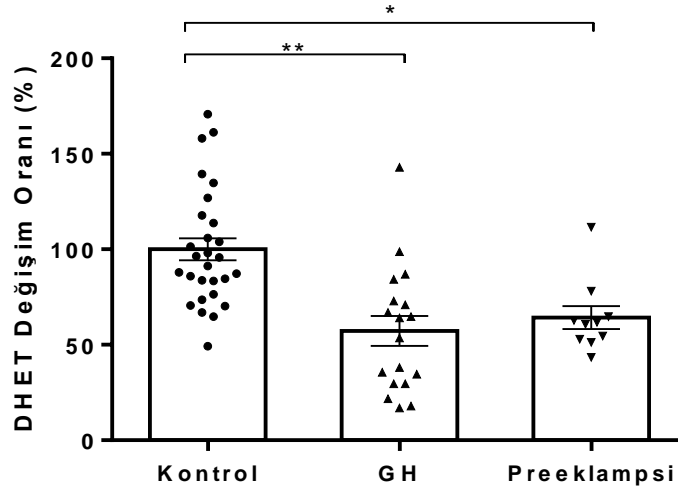
		Genotip / Alel Sıklıkları						<i>p</i> ; (χ^2 ;df)
		Gestasyonel						
		Kontrol (n=155)		Hipertansiyon (n=110)		Preeklampsi (n=58)		
		n	(%)	n	(%)	n	(%)	
<i>sEH rs751141</i>								
Genotip	GG	130	(83,9)	95	(86,4)	52	(89,7)	0,54; (1,206; 2)
	GA	24	(15,5)	14	(12,7)	6	(10,3)	
	AA	1	(0,6)	1	(0,9)	0	(0)	
Alel	G	284	(91,6)	204	(92,7)	110	(94,8)	0,52; (1,280; 2)
	A	26	(8,4)	16	(7,3)	6	(5,2)	

Tablo 4.11’de görüldüğü gibi, sEH *rs751141* genetik polimorfizmi için genotip ve alel dağılımları gruplar arasında benzerdi.

4.6. Plazmadan DHET Düzeylerinin Ölçüm Sonuçları

4.6.1. Preeklampsi, Gestasyonel Hipertansiyon ve Kontrol Gruplarında DHET düzeylerinin karşılaştırılması

Kontrol, preeklampsi ve GH grupları arasındaki DHET düzeyleri karşılaştırıldığında hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma görüldü ($p<0,0001$). Preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyon gruplarındaki DHET düzeyleri ise benzerdi. Gruplar arasındaki DHET değişim oranı Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. Preeklampsi, gestasyonel hipertansiyon ve kontrol gruplarında DHET Düzeyleri. Tek yönlü ANOVA ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p<0,0001$). *Post-hoc* Tukey testi uygulandı. Gestasyonel hipertansiyon (GH) grubunda ve preeklampsi grubunda DHET düzeylerinde kontrol grubuna göre anlamlı azalma saptandı. (*: $p=0,005$, **: $p<0,0001$)

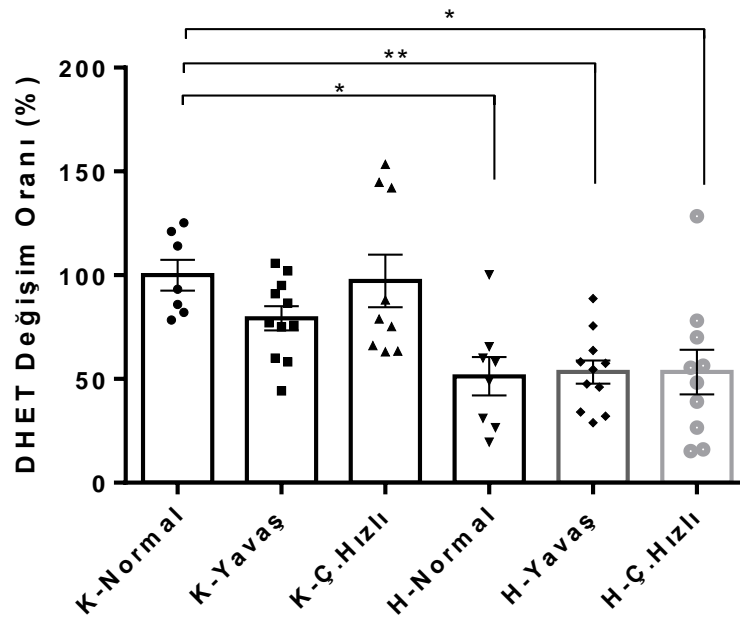
4.6.2. CYP Epoksijenaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri ile Plazma DHET Düzeyleri Arasındaki İlişki

CYP Epoksijenaz enzimlerinin genetik polimorfizmlerinin plazma DHET düzeyi üzerine olan etkilerini değerlendirebilmek için bireyler tahmini fenotip

gruplarına ayrılarak analiz yapıldı (Tablo 4.12). Bu gruplar oluşturulurken CYP2C19 ve CYP2C9 genetik polimorfizmleri için literatürdeki fenotip öngörü tablolarından yararlanıldı. Tek yönlü ANOVA testi ile tüm gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,0001$). Öngörülen fenotip gruplarında kontrol ve hasta grupları içerisinde plazma DHET değişim oranları arasında fark saptanmadı. Öngörülen fenotip gruplarına göre plazma DHET değişim oranları Şekil 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.12. CYP Epoksijenaz enzimleri için öngörülen fenotip grupları

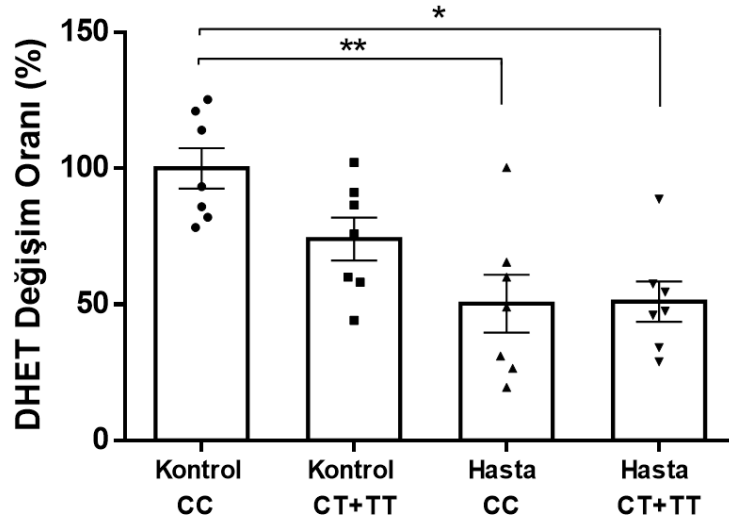
Gruplar	Grup Özellikleri
Çok hızlı metabolizör	<i>CYP2C19</i> *1/*17 veya <i>CYP2C19</i> *17/*17 olan bireyler
Normal metabolizör	<i>CYP2C19</i> , <i>CYP2C9</i> , <i>CYP2J2</i> genetik polimorfizmleri için homozigot yabancı tip olan bireyler
Yavaş metabolizör	<i>CYP2C9</i> *2/*2, *2/*3 ve *3/*3 olan bireyler ile <i>CYP2J2</i> *7 <i>CT</i> veya <i>TT</i> olup <i>CYP2C9</i> *1/*2, <i>CYP2C9</i> *1/*3 olan bireyler



Şekil 4.4. Öngörülen fenotip gruplarında DHET düzeyleri. Tek yönlü ANOVA testi ile gruplar arasında anlamlı farklılık saptandı ($p=0,0001$). *Post-hoc* Tukey testinde H-normal, H-yavaş ve H-Çok hızlı gruplarında DHET düzeylerinde K-Normal grubuna göre anlamlı azalma saptandı. *: $p=0,01$ **: $p=0,009$ Kontrol grubunda normal metabolizör bireyler: ($n=7$, K-normal), yavaş metabolizör olan bireyler: ($n=11$, K-Yavaş), çok hızlı metabolizör olan bireyler: ($n=9$, K-Çok hızlı). Hasta grubunda normal metabolizör bireyler: ($n=7$, H-normal), yavaş metabolizör olan bireyler: ($n=11$, H-Yavaş), çok hızlı metabolizör olan bireyler: ($n=9$, H-Çok hızlı).

4.6.3. *CYP 2J2*7* Genotip Grupları ile Plazma DHET Düzeyleri Arasındaki İlişki

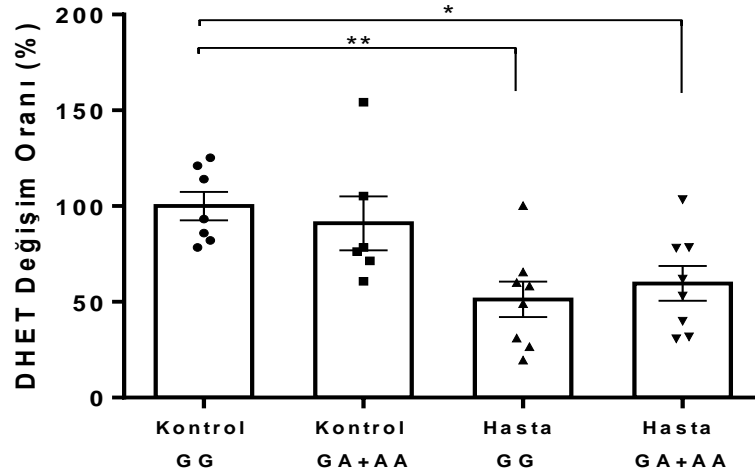
Kontrol grubunda *CYP2J2*7* CT+TT grubunda yabancı tip grubuna göre DHET düzeylerinde azalma eğilimi saptandı ($p=0,13$). Hasta grubunda genotip grupları arasında DHET düzeylerinde anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0,99$). Sonuçlar Şekil 4.5'te gösterilmiştir.



Şekil 4.5. CYP2J2*7 genotip gruplarında plazma DHET düzeyleri. Tek yönlü ANOVA testi ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0,0008$). *Post-hoc* Tukey testi uygulandı. Kontrol CC grubunda DHET düzeylerinde hasta CC ve hasta CT+TT grubuna göre anlamlı artış saptandı (*: $p=0,001$; ** $p=0,002$). DHET düzeylerinde hasta CC grubunda kontrol CC grubuna göre azalma eğilimi gözlemlendi ($p=0,13$).

4.6.4. sEH (EPHX2) rs751141 Genetik Polimorfizmi ile Plazma DHET Düzeyleri Arasındaki İlişki

Tek yönlü ANOVA testi ile genotip grupları arasında anlamlı fark saptandı ($p=0,003$). Ancak, yapılan *post-hoc* analizde hem kontrol hem de hasta grubunda GG ve GA+AA genotip grupları karşılaştırıldığında farklılık saptanmadı. Sonuçlar Şekil 4.6.'te belirtilmiştir.

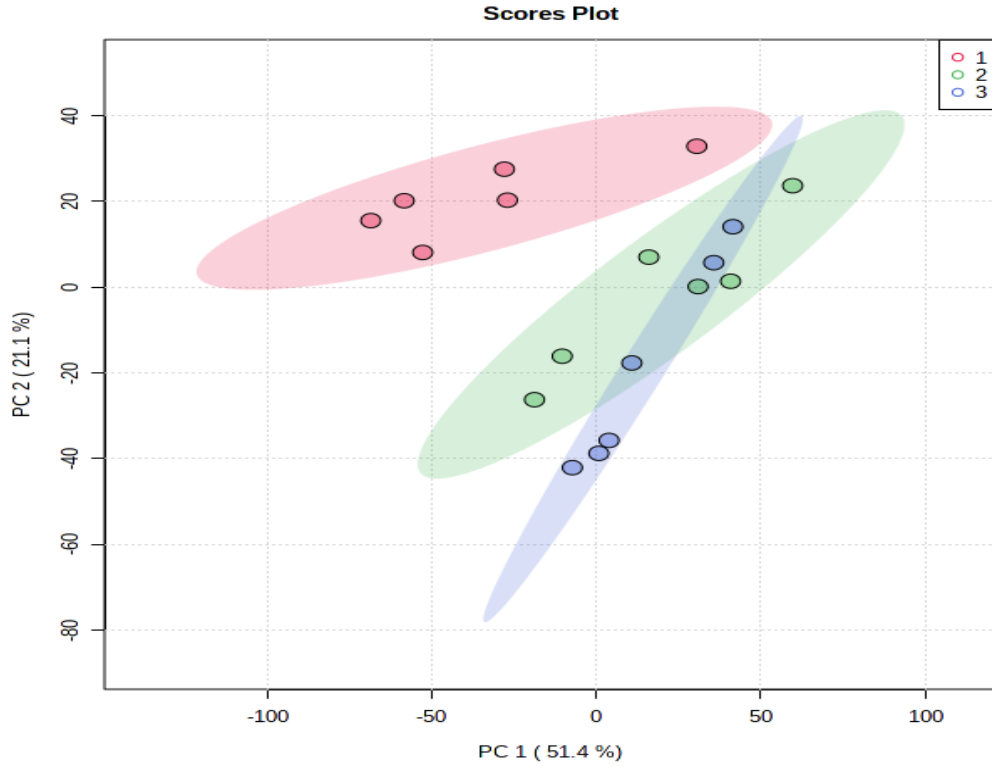


Şekil 4.6. *sEH (EPHX2) rs751141* genotip gruplarında plazma DHET değişim oranları. Tek yönlü ANOVA testi ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0,003$). *Post-hoc* Tukey testi uygulandı. DHET düzeylerinde, hasta GG ve hasta GA+AA gruplarında kontrol GG grubuna göre anlamlı azalma saptandı (*: $p=0,03$; **: $p=0,008$).

4.7. Hedeflenmemiş Metabolomik Çalışması Sonuçları

4.7.1 Temel Bileşen Analizi (PCA)

Metabolomik analizinde (Şekil 4.7) grafik üzerindeki eliptik kümeler üç gruba ait numunelerin dağılımını göstermektedir. PCA analizi sonucunda kontrol grubu ile gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarının ayrıştığı saptanırken, iki hasta grubunun metabolitler yönünden ayrışmadığı saptandı. Her gruptan 6 adet olmak üzere seçilip analiz edilen örneklerin temel bileşen analizi sonuçları Şekil 4.7'de belirtilmiştir. Şekilde X eksenini birinci temel bileşeni, Y eksenini ise 2. temel bileşeni göstermektedir. Bu bileşenler şiddeti dilüsyonla korele olarak azalan piklerin pik şiddetlerin matematiksel modeller ile dönüşümü sonucu ortaya çıkan, istatistiksel olarak iki grup arasındaki farklılığın yüzde cinsinden gösterimidir.



Şekil 4.7. Kontrol, gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarının temel bileşen analizi (PCA) sonuçları. Şekilde kırmızı küme kontrol grubunu, yeşil küme gestasyonel hipertansiyon grubunu, mavi küme ise preeklampsi grubunun dağılımını göstermektedir.

4.7.2. Hedeflenmemiş Metabolomik Analizi Sonuçları

Hedeflenmemiş metabolomik analizinde preeklampsi grubundaki 34 gebeden 15 gebe antihipertansif tedavi olarak alfa-metildopa, 2 gebe ise $MgSO_4$ kullanmaktaydı. Gestasyonel hipertansiyon grubunda ise 34 gebeden 10 gebe antihipertansif tedavi olarak alfa-metildopa kullanmaktaydı. Bu iki grupta başka bir antihipertansif tedavi verilmemişti. Kontrol grubundaki sağlıklı gebeler ise ilaç tedavisi kullanmamaktaydı.

Yapılan metabolomik analizinde şiddeti dilüsyonla korele olarak azalan ($r > 0,9$) 2862 adet pik saptandı. Bu piklerden kontrol ve gestasyonel hipertansiyon grupları arasında t testi sonuçlarına anlamlı değişiklik gösteren ($p < 0,05$) ve iki grup arasındaki 2 kattan fazla değişen 73 adet pik seçildi ve bu piklerin m/z (kütle/yük) değerlerinin karşılık geldiği metabolitler saptandı. Gestasyonel hipertansiyon ve kontrol grubu

arasında 2 kat değişen metabolitler ile metabolik yolak analizi yapıldığında iki grup arasında porfirin metabolizması, steroid hormon metabolizması ve folat biyosentezinde değişiklikler olduğu görülmüştür. “Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes” (KEGG) veritabanında porfirin metabolizması yolağındaki 8, folat biyosentez yolağındaki 4, steroid hormon sentezi yolağındaki 10 metabolitte anlamlı değişim saptandı.

İki grup arasında 5 kattan fazla değişen metabolitler Tablo 4.13’te gösterilmiştir. Preeklampsi ve kontrol grupları arasında ise değişimi 2 kattan fazla olan 83 pik saptandı. Preeklampsi ve kontrol grupları arasında 5 kattan fazla değişen metabolitler Tablo 4.14’de gösterilmiştir. Kontrol grubundan hem gestasyonel hipertansiyon grubunda hem de preeklampsi grubunda farklılaşan metabolitler ise Tablo 4.15’te gösterilmiştir.

Tablo 4.13. Gestasyonel hipertansiyon ve kontrol grupları arasında 5 kattan fazla değişim saptanan metabolitler

Metabolit	Kat Değişim Kontrol ile Gestasyonel Hipertansiyon Grubu	Gestasyonel Hipertansiyon Grubunda Kontrol Grubuna Göre Değişim
Sfingosil fosfokolin	9,95	Artış
N-Asetilspermin	8,57	Azalış
Alfa-N-fenilasetil-L- glutamin	8,24	Azalış
11b,21-Dihidroksi-5b- pregnan-3,20-dion	5,75	Artış
3a, 21-Dihidroksi-5b- pregnan-11,20-dion	5,75	Artış
17alpha,21- Dihidroksipregnenolon	5,75	Artış
Galaktozilsfingozin	5,74	Azalış
Siyanokobalamin	5,32	Azalış

Tablo 4.14. Preeklampsi ve kontrol grupları arasında 5 kattan fazla değişim saptanan metabolitler

Metabolit	Kat Değişim Kontrol ile Preeklampsi Grubu	Preeklampsi Grubunda Kontrol Grubuna Göre Değişim
PE(O-18:1(1Z) /20:4(5Z,8Z,11Z,14Z))	42,24	Azalış
Sfingozil fosfokolin	26,87	Artış
11b,21-Dihidroksi-5b-pregnan-3,20- dion	7,98	Artış
3a, 21-Dihidroksi-5b-pregnan-11,20- dion	7,98	Artış
17alpha,21-Dihidroksipregnenolon	7,98	Artış
Bilirubin	7,24	Artış
Riboflavin	5,82	Azalış
N Asetilspermin	5,73	Azalış
Tauro-deoksikolik asit	5,55	Artış
Tetrahidrokortisol	5,55	Artış
Östron Glukuronid	5,20	Artış

Tablo 4.15. Kontrol grubundan hem gestasyonel hipertansiyon grubunda hem de preeklampsi grubunda farklılaşan metabolitler

Metabolit adı (KEGG veritabanına göre)	Kat Değişim (Kontrol ile Preeklampsi)	Preeklampsi Grubunda Kontrol Grubuna Göre Değişim	Kat Değişim (Kontrol ile Gestasyonel Hipertansiyon)	Gestasyonel Hipertansiyon Grubunda Kontrol Grubuna Göre Değişim
LysoSM(d18:1)	26,8	Artış	10,0	Artış
N1-Acetylspermine	5,7	Azalış	8,6	Azalış
Alpha-N-Phenylacetyl-L-glutamine	2,1	Azalış	8,2	Azalış
17alpha,21-Dihydroxypregnenolone	8,0	Artış	5,7	Artış
Galactosylsphingosine	2,7	Azalış	5,7	Azalış
2-(3-Carboxy-3-aminopropyl)-L-histidine	4,7	Azalış	5,0	Azalış
3-beta-Hydroxy-4-beta-methyl-5-alpha-cholest-7-ene-4-alpha-carboxylate	6,2	Artış	4,2	Artış
2,5-Diaminopyrimidine nucleoside triphosphate	2,4	Azalış	4,2	Azalış
Tetrahydrocortisol	5,5	Artış	4,0	Artış
Chenodeoxycholic acid glycine conjugate	2,8	Azalış	4,0	Artış
2-Arachidonylglycerol	4,6	Artış	3,5	Artış
5-Carboxy-2-pentenoyl-CoA	3,5	Artış	3,5	Artış
Leukotriene D4	2,1	Azalış	3,5	Azalış
6-Hydroxymelatonin	2,1	Azalış	3,4	Azalış
Tetrahydrofolyl-[Glu] (2)	2,0	Azalış	3,4	Azalış
1-Phosphatidyl-1D-myo-inositol 3-phosphate	4,0	Azalış	3,2	Azalış
S-(1,2-Dichlorovinyl) glutathione	4,0	Azalış	3,2	Azalış

4.7. BULGULARIN ÖZETİ

- *CYP4F3 rs3794987* genetik polimorfizmi için, kontrol, gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarındaki alel sıklığı dağılımlarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0,03$, Tablo 4.6).
- *CYP2C19* genotip ve alel sıklık dağılımları karşılaştırıldığında, kontrol, gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (Genotip: $p=0,01$, Alel: $p=0,004$; Tablo 4.8).
- *CYP2J2*7* genetik polimorfizminin üç gruptaki alel sıklıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0,04$, Tablo 4.10).
- Kontrol ve hasta grupları arasındaki DHET düzeyleri karşılaştırıldığında preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyon grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı ($p=0,005$; $p<0,0001$; Şekil 4.3).
- Hastalar yabancı-tip ve genetik polimorfizm taşıyanlar olarak gruplara ayrıldığında, DHET ve 20-HETE düzeyleri genotip grupları arasında benzerdi.
- Preeklampsi grubunda, *CYP4F2*3 TT* genotip ve *T* alelinin sıklığında kontrol grubuna göre azalma eğilimi saptandı ($p=0,06$; $p=0,08$; Tablo 4.4).
- Kontrol grubunda CYP ω -hidroksilaz yavaş metabolizör öngörülen fenotipine sahip bireylerde, normal metabolizör olan bireylere göre 20-HETE düzeylerinde azalma eğilimi gözlemlendi ($p=0,15$; Şekil 4.2).
- Kontrol grubu içinde, *CYP2J2*7 CT+TT* grubunda yabancı tip (*CC*) grubuna göre DHET düzeylerinde azalma eğilimi saptandı ($p=0,13$; Şekil 4.5).
- Hedeflenmemiş metabolomik çalışması sonuçları ile yapılan PCA analizinde gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarının kontrol grubundan ayrıştığı saptanırken, iki hasta grubunun metabolitler yönünden benzer olduğu saptandı (Şekil 4.7).

5.TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, Türk toplumunda CYP4F2, CYP4F3, CYP4A11, CYP2J2, CYP2C9, CYP2C19 ve sEH enzimlerinin genetik polimorfizmlerinin gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi üzerindeki etkileri araştırıldı.

Çalışmamızda, hastaların kan ve plazma örneklerinin alındığı gebelik haftası gruplar arasında benzerdi (Tablo 4.1). Literatürdeki bir çalışmada gebeliğin 24-34. haftaları ile 35-40. haftalarındaki EET ve 20-HETE düzeyleri karşılaştırıldığında farklılık saptanmamıştır (65). Bu nedenle çalışmamızda, bütün gruplardaki gebeler gebeliğin 3.trimesterinde çalışmaya dahil edildi. Preeklampsi risk faktörleri arasında ileri anne yaşı ve obezite bulunmaktadır. Yaş ve vücut kitle indeksinin hasta gruplarında kontrol gebe grubuna göre anlamlı olarak daha fazla olduğu saptandı. Preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyon grubunda VKİ ortalaması 32,1 iken kontrol grubunda 28,6'ydı. Preeklampsi grubunda yaş ortalaması 31,3, gestasyonel hipertansiyon grubunda 29,5 iken kontrol grubunda 28,6'ydı (Tablo 4.1). Kontrol grubu ve hastalar arasında yaş ve VKİ farklılığı olması her iki hastalık için de beklenen bulgulardır.

5.1. CYP ω-Hidroksilaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri ile Gestasyonel Hipertansiyon, Preeklampsi ve 20-HETE Düzeyleri Arasındaki İlişki

CYP4F2 enzimi ve CYP4A11 enzimi araşidonik asitten 20-HETE üretiminde birlikte rol alan iki enzimdir. Literatürde *CYP4F2**3 genetik polimorfizminin 20-HETE üretimini azalttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (81, 86). 20-HETE'nin preeklampsi patofizyolojisinde yer alan trofoblast hücre göçünün inhibisyonu, endotel disfonksiyonu ve inflamasyona neden olduğu bilinmektedir.

Çalışmamızda *CYP4F2**3 polimorfizminin (missens C>T değişimi) alel sıklığını % 34,0 olarak saptadık. Özer ve diğ. (2013) çalışmasında Türk toplumunda *CYP4F2**3 polimorfizminin alel sıklığı % 40 dolayında saptanmıştır (83). Bu sonuç çalışmamızdaki sıklık ile benzerdir. Literatürde *CYP4F2**3 genetik polimorfizmini esansiyel hipertansiyonla ilişkilendiren çalışmalar olduğu gibi bir ilişkinin saptanamadığı çalışmalar da vardır. Avustralya toplumunda yapılan bir çalışmada *CYP4F2**3 genetik polimorfizmi esansiyel hipertansiyon ile ilişkilendirilmiştir (137). Literatürde preeklampsi ile *CYP4F2**3 genetik polimorfizminin ilişkisinin değerlendirildiği bir çalışma henüz bulunmamaktadır. Çalışmamızda preeklampsi

grubunda *CYP4F2**3 polimorfizminin *3/*3 genotip ve *3 alel sıklıklarında kontrol grubuna göre azalma eğilimi gözlemlendi (Tablo 4.4). Bu bulgu literatürdeki *CYP4F2**3 genetik polimorfizminin preeklampsi patofizyolojisinde olası rolü bulunan 20-HETE oluşumunu azalttığı bilgisi düşünüldüğünde beklenen yönde bir bulgudur.

Çalışmamızda *CYP4A11 rs9333025* genetik polimorfizminin (intronda C>T değişimi) alel sıklığı yüzde 8,8 olarak saptandı. *CYP4A11 rs9333025* genetik polimorfizminin polimorfik alel sıklığı beyaz ırkta % 9,3, Asya toplumlarında ise % 16 olarak bildirilmiştir (82). *CYP4A11 rs9333025* genetik polimorfizminin Türk toplumundaki alel sıklığı ilk defa bu çalışmada ortaya konmuştur. Çalışmamızda *CYP4A11 rs9333025* genetik polimorfizmi ile gestasyonel hipertansiyon, preeklampsi ve kontrol gruplarındaki genotip ve alel sıklıkları arasında ilişki saptanmadı (Tablo 4.5). Bir diğer önemli *CYP4A11* genetik polimorfizmi olan *CYP4A11 rs1126742* çalışmamızda incelenmedi. Başka çalışmalarda bu polimorfizmin de gebeliğin hipertansif hastalıklarındaki fonksiyonel etkilerinin toplumumuzda değerlendirilmesi önemli olabilir.

Çalışmamızda *CYP4F3 rs3794987* genetik polimorfizmi (promoter bölge, A>G değişimi, “tag-SNP”) ile kontrol, gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarındaki alel sıklık dağılımında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p=0,03$, Tablo 4.6). *CYP4F3*, 20-HETE oluşumunda minör bir enzimdir. Nötrofillerdeki 20-HETE üretiminden sorumludur. Ayrıca, çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonundan sorumludur. *CYP4F3 rs3794987* genetik polimorfizminin *CYP4F3* genindeki birçok polimorfizm ile bağlantılı olan bir “tag-SNP” olduğu saptanmıştır (138). Bağlantılı olduğu genetik polimorfizmlerin enzim aktivitesindeki değişkenlikte rolü olabilir. Preeklampsi patofizyolojisinde inflamasyonun rolü vardır. Bu polimorfizmde dahil olduğu bir haplotip genç yetişkin ve çocuklarda inflamatuvar bir hastalık olan Crohn hastalığı ile ilişkili bulunmuştur (136).

Çalışmamızda 20-HETE düzeyleri her iki hastalık grubunda ve kontrol grubunda karşılaştırıldı ve gruplar arasında farklılık saptanmadı (Şekil 4.1). Plenty ve diğ. (2018) çalışmasında, preeklampsi hastalarının plasentalarından elde edilmiş mikrozomlarda sağlıklı gebelerdekine göre artmış 20-HETE üretimi saptanmıştır. Plazma 20-HETE düzeylerinde iki grup arasında fark saptanmazken 20-HETE/EET oranı artmış olarak bulunmuştur (6). Çalışmada bu durumun preeklampside araşidonik asit metabolizmasının *CYP* epoksijenaz yolağından *CYP* ω -hidroksilaz yolağına

kaymış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Walsh ve diğ. (2020) çalışmasında düşük doz aspirin profilaksisi almaktayken preeklampsi gelişen hastaların plasentalarında araşidonik asit metabolitlerinin düzeyleri incelenmiştir. Aspirin kullanımına rağmen preeklampsi gelişen hastalarda aspirin kullanan normal gebelere göre artmış 20-HETE düzeyleri saptanmıştır (139). Preeklampside 20-HETE düzeyleri doku düzeyinde artış gösteriyor olabilir. Aspirin kullanmayan sağlıklı gebeler ve preeklampsi hastalarında da plasenta dokusundaki 20-HETE düzeylerinin ölçülmesi metabolizmanın plasentadaki durumunun daha belirgin saptanmasını sağlayabilir.

Çalışmamızda *CYP4F2*3* (missens C>T değişimi) ve *CYP4A11 rs9333025* (intronunda C>T değişimi), genetik polimorfizmine sahip bireyler literatürdeki bilgilere uygun olarak yavaş metabolizör fenotip grubu içerisinde değerlendirildi. Çalışmada kontrol grubunda yer alan yavaş metabolizör bireylerde normal metabolizör bireylere göre 20-HETE düzeylerinde azalma eğilimi gözlemlendi (Şekil 4.2). Bu bulgu *CYP4F2*3* ve *CYP4A11 rs9333025* polimorfizmlerinin azalmış 20-HETE düzeyleri ile ilişkili olduğunu gösteren literatürdeki çalışmalar ile uyumludur (86). *CYP4A11 rs9333025* genetik polimorfizminin alel sıklığının düşük olması nedeniyle çalışmamızda homozigot polimorfik olan ancak iki kişi saptanabildi. Bu nedenle bu polimorfizmin 20-HETE düzeylerine olan etkisi yeterince değerlendirilememiş olabilir. Yavaş metabolizör gruptaki 20-HETE düzeylerinin azalma eğilimi ve *CYP4F2*3* polimorfik alelinde kontrol grubunda preeklampsi grubuna göre artış eğilimi birlikte değerlendirildiğinde, bu polimorfizmin preeklampside koruyucu etkiye neden olabileceği düşünülebilir. Daha yüksek hasta sayısı ile yapılacak çalışmalarla *CYP4F2*3* genetik polimorfizminin preeklampsi hastalığındaki olası ilişkisi ortaya konabilir.

5.2. CYP Epoksijenaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri ile Preeklampsi ve Gestasyonel Hipertansiyon Arasındaki İlişki

Çalışmamızda, kontrol, gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarında *CYP2C19* genotip ve alel sıklık dağılımları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı (genotip: $p=0,01$, alel: $p=0,004$, Tablo 4.8). *CYP2C19*17* (promoterde C>T değişimi, “gain of function”) alel sıklığı kontrol grubunda % 18,4, gestasyonel hipertansiyon grubunda % 28,6, preeklampsi grubunda ise % 25,9 olarak

saptandı. *CYP2C19**2 (“splice” varyantı, G>A değişimi, “loss of function”) alel sıklığı ise kontrol grubunda % 11,6 gestasyonel hipertansiyon grubunda % 17,7 preeklampsi grubunda ise % 13,8 olarak saptandı (Tablo 4.8). Gestasyonel hipertansiyon grubunda hem *2 hem de *17 alel sıklığında artış görülmektedir. *CYP2C19**2 genetik polimorfizminde enzim aktivitesi azalırken, *CYP2C19**17’de artmaktadır. İki alelde birlikte görülen artış alel sıklık dağılımında görülen anlamlı farklılığın fonksiyona yansımamasına neden olabilir. Riaz ve diğ. (2019) çalışmasında esansiyel hipertansiyon hastalarında sağlıklı bireylere göre *CYP2C19**2 ve *CYP2C19**17 polimorfik alel sıklıklarında anlamlı artış saptanmıştır (140). Literatürde preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyon ile *CYP2C19**2 ve *CYP2C19**17 genetik polimorfizmlerinin ilişkisini değerlendiren bir çalışma henüz bulunmamaktadır.

CYP2C9, *CYP2J2* ile birlikte EET üretiminden sorumlu diğer bir enzimdir. *CYP2C9* enziminin *2 (missens C>T değişimi) ve *3 (missens A>C değişimi, “loss of function”) genetik polimorfizmleri yavaş metabolizör fenotipe yol açar. Çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında *CYP2C9* genetik polimorfizmlerinin alel ve genotip sıklık dağılımında farklılık saptanmadı (Tablo 4.9). Sun ve diğ. (2018) yaptığı çalışmada *CYP2C9* genetik polimorfizmi ile erken başlangıçlı şiddetli preeklampsi ve labetalol tedavi etkinliği arasında anlamlı bir ilişki olmadığı bildirilmiştir (141). Bu bulgu, çalışmamızdaki sonuç ile uyumludur.

Çalışmamızda toplumumuzdaki *CYP2J2**7 polimorfik alel (promoterde C>T değişimi) sıklığı % 7,3 olarak saptandı (Tablo 4.10). *CYP2J2**7 genetik polimorfizminin sıklığı beyaz ırkta % 8,0 Afrikalı Amerikalılarda % 11,2, Çin toplumunda % 2,1 olarak saptanmıştır. *CYP2J2**7 polimorfizmi enzim aktivitesinde azalmaya neden olur (93). *CYP2J2* mRNA ekspresyonlarının kardiyovasküler hastalıklarda ve preeklampside inflamasyona yanıt olarak arttığı gösterilmiştir (142). EET’nin antiinflamatuvar ve vazodilatör etkisi düşünüldüğünde bunun bir kompanzasyon mekanizması olduğu varsayılabilir. Nitekim enzim aktivitesini azalttığı bilinen *CYP2J2**7 aleli bazı çalışmalarda koroner arter hastalığı, serebral iskemi ve hipertansiyon gibi kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (143). Rus toplumunda yapılan bir çalışmada *CYP2J2**7 aleli ile hipertansiyon arasında güçlü bir ilişki bulunmuştur (144). Afrikalı Amerikalılarda yapılan bir çalışmada ise *CYP2J2**7 aleli ile hipertansiyon arasında ilişki bulunamamıştır (145). Başka bir çalışmada *CYP2J2**7 genetik polimorfizmi kadınlarda hipertansiyon ile ilişkili

bulunmuşken erkeklerde ilişkilendirilmemiştir (146). Genetik çalışmaların sonuçlarında toplumlar ve cinsiyetler arasında farklılıklar görülebilmektedir.

Çalışmamızda *CYP2J2**7 polimorfizminin 3 çalışma grubu arasındaki alel dağılımları karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulundu (Tablo 4.10). Preeklampsi grubunda *CYP2J2**7 alel sıklığı % 12,1 kontrol grubunda ise % 7,4 olarak saptandı. Bu sonuçlar *7 alelinin bazı çalışmalarda kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilendirilmesi ile uyumludur. Finlandiya toplumunda 94 preeklampsi hastası üzerinde yapılan bir çalışmada *CYP2J2**7 genetik polimorfizminin alel dağılımı ile preeklampsi arasında bir ilişki saptanmamıştır (147). Bu durum toplumlar arası farklılıklardan kaynaklanıyor olabilir.

5.3. Preeklampsi, Gestasyonel Hipertansiyon ve Kontrol Gruplarında DHET Düzeylerinin Karşılaştırılması

Hasta gruplarında kontrol grubuna göre DHET düzeyleri azalmıştı (Şekil 4.3). DHET plazma düzeylerinde saptadığımız azalma preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyon hastalarında EET üretiminin azaldığının indirekt (dolaylı) bir göstergesi olabilir. Literatürde preeklampsi hastalarında idrarda atılan DHET miktarının ölçüldüğü çalışmalar vardır. Catella ve diğ. (1990) yedi hasta ile gerçekleştirdikleri çalışmada preeklampsi grubunda idrar DHET düzeylerinde artış bildirilmiştir (148). Herse ve diğ. (2012) insan plasenta örneklerinde yaptığı çalışmada artmış *CYP2J2* ekspresyonu ve DHET düzeyleri saptamıştır (147). Jiang ve diğ. (2013) çalışmasında ise preeklampsi grubunda idrar DHET düzeylerinde azalma saptanmıştır (65). Bu durum hastalarda böbrek hasarında ve hipertansiyonda yetersiz renal EET üretiminin rolü olabileceği şeklinde yorumlanmıştır (65). Plenty ve diğ. (2018) çalışmasında insan plazma EET düzeylerinde azalma saptanmıştır (6). Liu ve diğ. (2019) çalışmasında da serum DHET düzeylerinde azalma saptanmıştır (66). Normal gebelikte gebe olmayan bireylere göre EET düzeyleri artmaktadır. Bu durumun normal gebelikte vasküler homeostazın sağlanmasında rolü olabilir.

Çalışmamızda EET düzeylerinin dolaylı bir belirteci olan plazma DHET düzeylerinin preeklampsi hastalarında azaldığı saptandı. Preeklampsi hastalarında sEH inhibitörlerinin EET düzeylerini artırarak EET'nin endotel disfonksiyonu ve hipertansiyonu önleyici etkilerini artırabileceği düşünülebilir. Endojen EET'lerin metabolizmasını azaltarak EET düzeylerini ve EET'nin faydalı etkilerini artıran sEH

inhibitörleri birçok hastalık için umut verici ilaç molekülü adaylarıdır (149). Hayvan modellerinde AUDA, TPPU, 1-adamantan-1-yl-3-üre gibi sEH inhibitörlerinin hipertansiyon, kalp yetmezliği, multipl organ inflamasyonu gibi hastalıkların tedavisindeki yararlı etkileri gösterilmiştir (150-152). GSK2256294 maddesinin KOAH tedavisi için faz 1 çalışmaları tamamlanmıştır ve bu maddenin ciddi bir yan etkisi saptanmamıştır (153). 11,12 EET analogu NUDSA, 14,15 EET analogu EET-A ve EET-B gibi EET analogu moleküller de geliştirilmiştir. NUDSA antihipertansif etkinliği hayvan çalışmalarında gösterilen ilk EET analogudur (154). EET-A ve EET-B oral yoldan da aktif EET analoglarıdır. Bu moleküllerin hayvan deneylerinde 2 hafta süreyle oral yoldan kullanımı sonrasında antihipertansif etkileri olduğu saptanmıştır (155). İleride yapılacak çalışmalarla birlikte sEH inhibitörleri ve EET analogları preeklampsi tedavisinde aday moleküller olabilir.

Preeklampsi hastalarında plazma DHET düzeylerinde saptadığımız anlamlı azalma düşünüldüğünde doymamış yağ asitleri EET'nin azalan faydalı etkilerini yerine koyabilmek için kullanılabilir. Eikosapentaeonik asit (EPA) ve Dokosaheksaeonik asit (DHA) CYP enzimleri ile EET benzeri etkiler gösteren epoksi-eikosatetraeonik asitlere (EEQ) metabolize edilir (156). Gözlemsel çalışmalar, gebelikte doymamış yağ asitleri alımının preeklampsi riskini azalttığını ileri sürmüştür (157-159). Ayrıca, preeklampsi hastalarında EPA ve DHA alımı ile sFLT-1 düzeyleri arasında ters ilişki saptanmıştır (160). Bununla birlikte iki meta-analiz çalışması doymamış yağ asitleri alımı ile preeklampsi oluşum riskini ilişkilendirememiştir (161, 162).

5.4. CYP Epoksijenaz Enzimlerinin Genetik Polimorfizmleri ile Plazma DHET Düzeyleri Arasındaki İlişki

EET'nin sEH enzimi ile metabolizması sonucu daha stabil ve daha az etkili olan DHET oluşur. DHET, EET metabolizmasının son ürünüdür ve literatürde DHET düzeyleri CYP epoksijenaz enzim aktivitelerini değerlendirmede dolaylı bir belirteç olarak kullanılmıştır (116, 163). Çalışmamızda da CYP epoksijenaz enzimleri ve sEH enzimi aktivitesinin değerlendirilmesinde bir indirekt (dolaylı) belirteç olarak DHET düzeylerinin ölçümü kullanılmıştır. EET düzeylerinin ölçülememiş olması çalışmamızın kısıtlılıklarındandır.

Çalışmamızda CYP epoksijenaz enzimlerinin genetik polimorfizmlerinin DHET düzeylerine etkileri değerlendirilirken *CYP2C19*17* genetik polimorfizmine sahip bireyler çok hızlı metabolizör, *CYP2C9*2*, **3*, *CYP2J2*7* genetik polimorfizmine sahip bireyler yavaş metabolizör, yabancı tip alellere sahip bireyler ise normal metabolizör gruplarına ayrılarak değerlendirildi. Kontrol grubundaki normal metabolizör bireylerde hasta grubundaki yavaş, normal ve çok hızlı metabolizör bireylere göre anlamlı artmış DHET düzeyleri saptandı (Şekil 4.4). Bu durum gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarında kontrol grubuna göre azalmış DHET düzeyleri ile ilişkilidir. Öngörülen fenotip grupları hasta ve kontrol grupları içerisinde karşılaştırıldığında gruplar arasında farklılık saptanmadı. Kontrol grubunda yavaş metabolizör grubunda normal metabolizör grubuna göre DHET düzeylerinde azalma gözlenmesine rağmen azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi. Akasaka ve diğ. (2017) çalışmasında, *CYP2C19* yavaş metabolizör öngörülen fenotipe sahip bireylerde DHET düzeylerinde azalma bildirilmiştir (116). *CYP2C19* EET biyosentezinde minör bir enzimdir. *CYP2C19*17* genetik polimorfizmini in vivo EET ve DHET düzeyleriyle ilişkilendiren bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda çok hızlı metabolizör grubu oluşturan *CYP2C19*17* aleli taşıyan bireylerde artmış DHET düzeyleri saptanmamış olabilir.

Çalışmamızda sağlıklı gebelerde DHET düzeylerinde *CYP2J2*7 CT+TT* genotip grubunda, CC genotip grubuna göre azalma eğilimi gözlemlendi ($p=0,13$; Şekil 4.5). 289 koroner arter hastası ve 255 sağlıklı bireyde yapılan bir çalışmada *CYP2J2*7* alelini taşıyan bireylerde serum DHET düzeylerinde azalma saptanmıştır (93). Çalışmamızda bulunan farkın anlamlı bulunmamasının bir nedeni hasta sayısının yetersiz kalması olabilir.

5.5. Solubl Epoksit Hidrolaz *rs751141* Genetik Polimorfizmi ile Gestasyonel Hipertansiyon, Preeklampsi ve DHET Düzeyleri Arasındaki İlişki

Solubl epoksit hidrolaz enzimi EET'yi daha az etkili olan metaboliti DHET'ye metabolize eder. Solubl epoksit hidrolaz enziminin yavaş metabolizör fenotipe yol açan *rs751141* (missens G>A değişimi) ve hızlı metabolizör fenotipe yol açan *K55R* (missens A>G değişimi, Lys55Arg amino asit değişimi, "gain of function") olmak üzere iki önemli genetik polimorfizmi vardır (122). Solubl epoksit hidrolaz *K55R* genetik polimorfizmi 260 hastada yapılan bir çalışmada preeklampsi ile

ilişkilendirilmiştir (123). Bu çalışmada hızlı metabolizmaya neden olarak EET düzeylerini düşüren *K55R* genetik polimorfizminin polimorfik alel sıklığı hasta grubunda anlamlı artmış olarak saptanmıştır.

Literatürde yavaş metabolizör fenotipe yol açan *rs751141*'in (missens G>A değişimi) preeklampsideki etkilerini inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır. sEH *rs751141* varyantının EET'nin yıkımını azaltarak preeklampside koruyucu etkisi olabileceği düşünülebilir. Çalışmamızda polimorfik A aleli kontrol grubunda % 8,4; preeklampsi grubunda % 5,2 olarak saptandı ancak sEH *rs751141* genetik polimorfizminin alel ve genotip sıklık dağılımları gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmadı (Tablo 4.11). Bunun nedeni özellikle preeklampsi grubundaki hasta sayısının az olması ve genetik polimorfizmin alel sıklığının düşük olması olabilir.

Przybyla ve diğ. (2003) sEH *rs751141* homozigot varyant olan genotipte enzimin aktivitesinin homozigot yabancı tip genotipindeki enzime göre % 50 azaldığını bildirmiştir (122). Ramirez ve diğ. (2014) ise sEH *rs751141* genetik polimorfizminin insülin sensitivitesi ile ilişkisini inceleyen çalışmalarında genotip grupları arasında plazma EET düzeylerinde farklılık saptamamıştır (164). Çalışmamızda sEH *rs751141* genotip grupları ile plazma DHET düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmakla birlikte *post-hoc* analizi yapıldığında bu farklılığın kontrol ve hasta grupları arasında olduğu görülmektedir. Kontrol ve hasta gruplarındaki genotip alt grupları karşılaştırıldığında farklılık saptanmadı (Şekil 4.6). Bunun nedeni çalışmamızdaki homozigot polimorfik alele sahip birey sayısının çok az olması olabilir.

5.6. Hedeflenmemiş Metabolomik Çalışması

Gestasyonel hipertansiyon ve kontrol grubu arasında 2 kattan fazla değişen metabolitler ile metabolik yolak analizi yapıldığında iki grup arasında porfirin metabolizması, steroid hormon metabolizması ve folat biyosentezinde değişiklikler olduğu görülmüştür. KEGG veritabanında porfirin metabolizması yolağındaki 8, folat biyosentez yolağındaki 4, steroid hormon sentezi yolağındaki 10 metabolitte anlamlı değişim saptandı. Ferranti ve diğ. (2020) yaptığı metabolomik çalışmasında da porfirin metabolizması ve steroid hormon biyosentezi yolağında preeklampsi ve kontrol grupları arasında anlamlı değişim görülmüştür (165). Porfirin metabolizmasındaki metabolitlerde görülen bu artış literatürdeki hedeflenmiş metabolit düzeyleri ölçüm

çalışmaları ile de uyumludur. Kenny ve diğ. (2010) çalışmasında porfirin metabolizması ürünü olan bilirubin, biliverdin, hem gibi metabolitlerin düzeylerinde artış saptanmıştır (166). Preeklampsi hastalarında sağlıklı gebelere göre folat düzeylerinin daha düşük olduğu bilinmektedir (167). Hedeflenmemiş metabolomik çalışmasında metabolitler m/z değerlerine göre putatif moleküller olarak tanımlanmıştır. Bu nedenle gruplar arasında farklılığı saptanan metabolitlerdeki değişikliğin hedeflenmiş çalışmalar ile doğrulanması gereklidir.

Bu çalışmada özet olarak; *CYP2J2*7*, *CYP2C19*17* ve *CYP4F3 rs3794987* genetik polimorfizmlerinin gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi gruplarında alel sıklık dağılımı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklı saptandı. Preeklampsi grubunda, *CYP4F2*3 TT* genotip ve T alelinin sıklığında kontrol grubuna göre azalma eğilimi saptandı. Hasta grubunda plazma DHET düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma görüldü. Kontrol grubu içerisinde *CYP2J2*7 CT+TT* grubunda yabancı tip genotip grubuna göre DHET düzeylerinde azalma eğilimi saptandı. Kontrol grubunda CYP ω -hidroksilaz yavaş metabolizör olan bireylerde, normal metabolizör olan bireylere göre 20-HETE değişim oranında azalma eğilimi gözlemlendi.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Kontrol, preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyon grupları arasında *CYP2J2*7*, *CYP2C19*17* ve *CYP4F3 rs3794987* genetik polimorfizmlerinin alel sıklıklarının dağılımında anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Bu çalışma literatürde sözü edilen polimorfizmler ile gestasyonel hipertansiyon ve preeklampsi arasındaki bir ilişki saptayan bildiğimiz ilk çalışmadır. Bu sonuçlar ileride yapılacak çalışmalar ile desteklenirse, *CYP2J2*7*, *CYP2C19*17* ve *CYP4F3 rs3794987* genetik polimorfizmlerinin preeklampsinin erken tanısında belirteç olarak kullanılması mümkün olabilir.

Plazma DHET düzeylerinde hasta gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı. Bu durum EET üretiminde azalmanın dolaylı bir göstergesi olabilir. İlerde yapılacak çalışmalarla birlikte bu bulgular preeklampsi patofizyolojisinin daha iyi anlaşılmasını ve preeklampside yeni ilaç molekül adaylarının denenmesinin önünü açabilir. Preeklampsi ve gestasyonel hipertansiyon tedavisinde, EET analogları ya da EET'nin etkisini artırabilecek sEH inhibitörleri preeklampsi hayvan modellerinde denenebilir.

*CYP4F2*3*, *CYP4A11 rs9333025* genetik polimorfizmlerini taşıyan ve bu nedenle yavaş metabolizör olduğu öngörülen bireylerde, 20-HETE düzeylerinde azalma eğilimi saptandı. Ayrıca sağlıklı gebelerde, *CYP2J2*7 CT+TT* grubunda yabani tip grubuna göre DHET düzeylerinde azalma eğilimi saptandı. Bu sonuçların ilerideki çalışmalarla desteklenmesi halinde preeklampsi hastalığında ilgili genetik polimorfizmlerin fonksiyonel etkilerinin daha iyi anlaşılması sağlanabilir.

7.KAYNAKLAR

1. ACOG Practice Bulletin No. 202: Gestational Hypertension and Preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2019;133(1):e1-e25.
2. Keskinilic B, Engin-Ustun Y, Sanisoglu S, Sahin Uygur D, Keskin HL, Karaahmetoglu S, ve diğ. Maternal mortality due to hypertensive disorders in pregnancy, childbirth, and the puerperium between 2012 and 2015 in Turkey: A nation-based study. *J Turk Ger Gynecol Assoc.* 2017;18(1):20-5.
3. Sanderson M, Sappenfield WM, Jespersen KM, Liu Q, Baker SL. Association between level of delivery hospital and neonatal outcomes among South Carolina Medicaid recipients. *Am J Obstet Gynecol.* 2000;183(6):1504-11.
4. McElwain CJ, Tuboly E, McCarthy FP, McCarthy CM. Mechanisms of Endothelial Dysfunction in Pre-eclampsia and Gestational Diabetes Mellitus: Windows Into Future Cardiometabolic Health? *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020;11:655.
5. Roberts JM, Hubel CA. The two stage model of preeclampsia: variations on the theme. *Placenta.* 2009;30 Suppl A:S32-7.
6. Plenty NL, Faulkner JL, Cotton J, Spencer SK, Wallace K, LaMarca B, ve diğ. Arachidonic acid metabolites of CYP4A and CYP4F are altered in women with preeclampsia. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2018;136:15-22.
7. Powell PK, Wolf I, Jin R, Lasker JM. Metabolism of Arachidonic Acid to 20-Hydroxy-5,8,11,14-eicosatetraenoic Acid by P450 Enzymes in Human Liver: Involvement of CYP4F2 and CYP4A11. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 1998;285(3):1327-36.
8. Kikuta Y, Kusunose E, Sumimoto H, Mizukami Y, Takeshige K, Sakaki T, ve diğ. Purification and characterization of recombinant human neutrophil leukotriene B4 omega-hydroxylase (cytochrome P450 4F3). *Arch Biochem Biophys.* 1998;355(2):201-5.
9. Zeldin DC. Epoxygenase pathways of arachidonic acid metabolism. *J Biol Chem.* 2001;276(39):36059-62.
10. El-Sherbeni AA, El-Kadi AO. The role of epoxide hydrolases in health and disease. *Arch Toxicol.* 2014;88(11):2013-32.
11. Zordoky BN, El-Kadi AO. Effect of cytochrome P450 polymorphism on arachidonic acid metabolism and their impact on cardiovascular diseases. *Pharmacol Ther.* 2010;125(3):446-63.
12. Steegers EA, von Dadelszen P, Duvekot JJ, Pijnenborg R. Pre-eclampsia. *Lancet.* 2010;376(9741):631-44.
13. Khan KS, Wojdyla D, Say L, Gulmezoglu AM, Van Look PF. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review. *Lancet.* 2006;367(9516):1066-74.
14. Say L, Chou D, Gemmill A, Tunçalp Ö, Moller A-B, Daniels J, ve diğ. Global causes of maternal death: a WHO systematic analysis. *The Lancet Global Health.* 2014;2(6):e323-e33.
15. Stevens W, Shih T, Incerti D, Ton TGN, Lee HC, Peneva D, ve diğ. Short-term costs of preeclampsia to the United States health care system. *Am J Obstet Gynecol.* 2017;217(3):237-48 e16.
16. Gestational Hypertension and Preeclampsia: ACOG Practice Bulletin, Number 222. *Obstet Gynecol.* 2020;135(6):e237-e60.
17. Bernstein PS, Martin JN, Jr., Barton JR, Shields LE, Druzin ML, Scavone BM, ve diğ. National Partnership for Maternal Safety: Consensus Bundle on Severe Hypertension During Pregnancy and the Postpartum Period. *Obstet Gynecol.* 2017;130(2):347-57.
18. Barton JR, O'Brien J M, Bergauer NK, Jacques DL, Sibai BM. Mild gestational hypertension remote from term: progression and outcome. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;184(5):979-83.
19. Saudan P, Brown MA, Buddle ML, Jones M. Does gestational hypertension become pre-eclampsia? *Br J Obstet Gynaecol.* 1998;105(11):1177-84.

20. Melamed N, Ray JG, Hladunewich M, Cox B, Kingdom JC. Gestational hypertension and preeclampsia: are they the same disease? *J Obstet Gynaecol Can.* 2014;36(7):642-7.
21. Villar J, Carroli G, Wojdyla D, Abalos E, Giordano D, Ba'aqeel H, ve diğ. Preeclampsia, gestational hypertension and intrauterine growth restriction, related or independent conditions? *Am J Obstet Gynecol.* 2006;194(4):921-31.
22. Ros HS, Cnattingius S, Lipworth L. Comparison of risk factors for preeclampsia and gestational hypertension in a population-based cohort study. *Am J Epidemiol.* 1998;147(11):1062-70.
23. Bartsch E, Medcalf KE, Park AL, Ray JG, High Risk of Pre-eclampsia Identification G. Clinical risk factors for pre-eclampsia determined in early pregnancy: systematic review and meta-analysis of large cohort studies. *BMJ.* 2016;353:i1753.
24. Boyd PA, Lindenbaum RH, Redman C. Pre-eclampsia and trisomy 13: a possible association. *Lancet.* 1987;2(8556):425-7.
25. Cincotta RB, Brennecke SP. Family history of pre-eclampsia as a predictor for pre-eclampsia in primigravidas. *Int J Gynaecol Obstet.* 1998;60(1):23-7.
26. Salonen Ros H, Lichtenstein P, Lipworth L, Cnattingius S. Genetic effects on the liability of developing pre-eclampsia and gestational hypertension. *Am J Med Genet.* 2000;91(4):256-60.
27. Thomsen LC, Melton PE, Tollaksen K, Lyslo I, Roten LT, Odland ML, ve diğ. Refined phenotyping identifies links between preeclampsia and related diseases in a Norwegian preeclampsia family cohort. *J Hypertens.* 2015;33(11):2294-302.
28. Broughton Pipkin F, Rubin PC. Pre-eclampsia--the 'disease of theories'. *Br Med Bull.* 1994;50(2):381-96.
29. Zhou Y, Damsky CH, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with failure of human cytotrophoblasts to mimic a vascular adhesion phenotype. One cause of defective endovascular invasion in this syndrome? *J Clin Invest.* 1997;99(9):2152-64.
30. Zhou Y, Damsky CH, Chiu K, Roberts JM, Fisher SJ. Preeclampsia is associated with abnormal expression of adhesion molecules by invasive cytotrophoblasts. *J Clin Invest.* 1993;91(3):950-60.
31. Roberts JM, Redman CW. Pre-eclampsia: more than pregnancy-induced hypertension. *Lancet.* 1993;341(8858):1447-51.
32. Meekins JW, Pijnenborg R, Hanssens M, McFadyen IR, van Asshe A. A study of placental bed spiral arteries and trophoblast invasion in normal and severe pre-eclamptic pregnancies. *Br J Obstet Gynaecol.* 1994;101(8):669-74.
33. Fushima T, Sekimoto A, Minato T, Ito T, Oe Y, Kisu K, ve diğ. Reduced Uterine Perfusion Pressure (RUPP) Model of Preeclampsia in Mice. *PLoS One.* 2016;11(5):e0155426.
34. Dekker GA. Risk factors for preeclampsia. *Clin Obstet Gynecol.* 1999;42(3):422-35.
35. Redman CW, Sacks GP, Sargent IL. Preeclampsia: an excessive maternal inflammatory response to pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 1999;180(2 Pt 1):499-506.
36. Nirupama R, Divyashree S, Janhavi P, Muthukumar SP, Ravindra PV. Preeclampsia: Pathophysiology and management. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction.* 2021;50(2):101975.
37. Tomimatsu T, Mimura K, Matsuzaki S, Endo M, Kumasawa K, Kimura T. Preeclampsia: Maternal Systemic Vascular Disorder Caused by Generalized Endothelial Dysfunction Due to Placental Antiangiogenic Factors. *International Journal of Molecular Sciences.* 2019;20(17):4246.
38. McCarthy AL, Woolfson RG, Raju SK, Poston L. Abnormal endothelial cell function of resistance arteries from women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 1993;168(4):1323-30.
39. Granger JP, Alexander BT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of pregnancy-induced hypertension. *Am J Hypertens.* 2001;14(6 Pt 2):178S-85S.

40. Chambers JC, Fusi L, Malik IS, Haskard DO, De Swiet M, Kooner JS. Association of maternal endothelial dysfunction with preeclampsia. *JAMA*. 2001;285(12):1607-12.
41. Malhotra AS, Goel P, Chaudhary A, Kochhar S, Kaur G, Bhagat A. Serial profile of flow-mediated dilatation in primigravida for prediction of preeclampsia and gestational hypertension. *Hypertens Pregnancy*. 2018;37(4):212-9.
42. Lamarca B. Endothelial dysfunction. An important mediator in the pathophysiology of hypertension during pre-eclampsia. *Minerva Ginecol*. 2012;64(4):309-20.
43. Powe CE, Levine RJ, Karumanchi SA. Preeclampsia, a disease of the maternal endothelium: the role of antiangiogenic factors and implications for later cardiovascular disease. *Circulation*. 2011;123(24):2856-69.
44. Roberts JM, Taylor RN, Goldfien A. Clinical and biochemical evidence of endothelial cell dysfunction in the pregnancy syndrome preeclampsia. *Am J Hypertens*. 1991;4(8):700-8.
45. Murthi P, Pinar AA, Dimitriadis E, Samuel CS. Inflammasomes-A Molecular Link for Altered Immunoregulation and Inflammation Mediated Vascular Dysfunction in Preeclampsia. *Int J Mol Sci*. 2020;21(4).
46. Kroetz DL, Zeldin DC. Cytochrome P450 pathways of arachidonic acid metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2002;13(3):273-83.
47. Spector AA, Fang X, Snyder GD, Weintraub NL. Epoxyeicosatrienoic acids (EETs): metabolism and biochemical function. *Progress in Lipid Research*. 2004;43(1):55-90.
48. Daikh BE, Lasker JM, Raucy JL, Koop DR. Regio- and stereoselective epoxidation of arachidonic acid by human cytochromes P450 2C8 and 2C9. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994;271(3):1427-33.
49. Sudhakar V, Shaw S, Imig JD. Epoxyeicosatrienoic acid analogs and vascular function. *Curr Med Chem*. 2010;17(12):1181-90.
50. Oni-Orisan A, Alsaleh N, Lee CR, Seubert JM. Epoxyeicosatrienoic acids and cardioprotection: the road to translation. *J Mol Cell Cardiol*. 2014;74:199-208.
51. Imig JD. Epoxides and soluble epoxide hydrolase in cardiovascular physiology. *Physiol Rev*. 2012;92(1):101-30.
52. Wang D, Dubois RN. Epoxyeicosatrienoic acids: a double-edged sword in cardiovascular diseases and cancer. *J Clin Invest*. 2012;122(1):19-22.
53. Imig JD, Hammock BD. Soluble epoxide hydrolase as a therapeutic target for cardiovascular diseases. *Nat Rev Drug Discov*. 2009;8(10):794-805.
54. Pomposiello SI, Carroll MA, Falck JR, McGiff JC. Epoxyeicosatrienoic acid-mediated renal vasodilation to arachidonic acid is enhanced in SHR. *Hypertension*. 2001;37(3):887-93.
55. Pratt PF, Li P, Hillard CJ, Kurian J, Campbell WB. Endothelium-independent, ouabain-sensitive relaxation of bovine coronary arteries by EETs. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2001;280(3):H1113-21.
56. Node K, Huo Y, Ruan X, Yang B, Spiecker M, Ley K, et al. Anti-inflammatory properties of cytochrome P450 epoxygenase-derived eicosanoids. *Science*. 1999;285(5431):1276-9.
57. Campbell WB. New role for epoxyeicosatrienoic acids as anti-inflammatory mediators. *Trends Pharmacol Sci*. 2000;21(4):125-7.
58. Christmas P. Role of Cytochrome P450s in Inflammation. *Adv Pharmacol*. 2015;74:163-92.
59. Archer SL, Gragasin FS, Wu X, Wang S, McMurtry S, Kim DH, et al. Endothelium-derived hyperpolarizing factor in human internal mammary artery is 11,12-epoxyeicosatrienoic acid and causes relaxation by activating smooth muscle BK(Ca) channels. *Circulation*. 2003;107(5):769-76.
60. Deng Y, Theken KN, Lee CR. Cytochrome P450 epoxygenases, soluble epoxide hydrolase, and the regulation of cardiovascular inflammation. *J Mol Cell Cardiol*. 2010;48(2):331-41.

61. Bellien J, Joannides R, Richard V, Thuillez C. Modulation of cytochrome-derived epoxyeicosatrienoic acids pathway: a promising pharmacological approach to prevent endothelial dysfunction in cardiovascular diseases? *Pharmacol Ther.* 2011;131(1):1-17.
62. Michaelis UR, Fleming I. From endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF) to angiogenesis: Epoxyeicosatrienoic acids (EETs) and cell signaling. *Pharmacol Ther.* 2006;111(3):584-95.
63. Dos Santos EA, Dahly-Vernon AJ, Hoagland KM, Roman RJ. Inhibition of the formation of EETs and 20-HETE with 1-aminobenzotriazole attenuates pressure natriuresis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2004;287(1):R58-68.
64. Somani ST, Zeigler M, Fay EE, Leahy M, Bermudez B, Totah RA, ve diğ. Changes in erythrocyte membrane epoxyeicosatrienoic, dihydroxyeicosatrienoic, and hydroxyeicosatetraenoic acids during pregnancy. *Life Sci.* 2021;264:118590.
65. Jiang H, McGiff JC, Fava C, Amen G, Nesta E, Zanconato G, ve diğ. Maternal and fetal epoxyeicosatrienoic acids in normotensive and preeclamptic pregnancies. *Am J Hypertens.* 2013;26(2):271-8.
66. Liu Y, Zu L, Cai W, Cheng Q, Hua T, Peng L, ve diğ. Metabolomics revealed decreased level of omega-3 PUFA-derived protective eicosanoids in pregnant women with pre-eclampsia. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2019;46(8):705-10.
67. Dalle Vedove F, Fava C, Jiang H, Zanconato G, Quilley J, Brunelli M, ve diğ. Increased epoxyeicosatrienoic acids and reduced soluble epoxide hydrolase expression in the preeclamptic placenta. *J Hypertens.* 2016;34(7):1364-70.
68. Harmon SD, Fang X, Kaduce TL, Hu S, Raj Gopal V, Falck JR, ve diğ. Oxygenation of omega-3 fatty acids by human cytochrome P450 4F3B: effect on 20-hydroxyeicosatetraenoic acid production. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2006;75(3):169-77.
69. Lasker JM, Chen WB, Wolf I, Bloswick BP, Wilson PD, Powell PK. Formation of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid, a vasoactive and natriuretic eicosanoid, in human kidney. Role of Cyp4F2 and Cyp4A11. *J Biol Chem.* 2000;275(6):4118-26.
70. Powell PK, Wolf I, Jin R, Lasker JM. Metabolism of arachidonic acid to 20-hydroxy-5,8,11, 14-eicosatetraenoic acid by P450 enzymes in human liver: involvement of CYP4F2 and CYP4A11. *J Pharmacol Exp Ther.* 1998;285(3):1327-36.
71. Kunert MP, Roman RJ, Alonso-Galicia M, Falck JR, Lombard JH. Cytochrome P-450 omega-hydroxylase: a potential O(2) sensor in rat arterioles and skeletal muscle cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2001;280(4):H1840-5.
72. Zou AP, Fleming JT, Falck JR, Jacobs ER, Gebremedhin D, Harder DR, ve diğ. 20-HETE is an endogenous inhibitor of the large-conductance Ca(2+)-activated K+ channel in renal arterioles. *Am J Physiol.* 1996;270(1 Pt 2):R228-37.
73. Muthalif MM, Benter IF, Karzoun N, Fatima S, Harper J, Uddin MR, ve diğ. 20-Hydroxyeicosatetraenoic acid mediates calcium/calmodulin-dependent protein kinase II-induced mitogen-activated protein kinase activation in vascular smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(21):12701-6.
74. Williams JM, Murphy S, Burke M, Roman RJ. 20-Hydroxyeicosatetraenoic Acid: A New Target for the Treatment of Hypertension. *Journal of Cardiovascular Pharmacology.* 2010;56(4):336-44.
75. Imig JD. Epoxyeicosatrienoic Acids and 20-Hydroxyeicosatetraenoic Acid on Endothelial and Vascular Function. *Adv Pharmacol.* 2016;77:105-41.
76. Wu CC, Gupta T, Garcia V, Ding Y, Schwartzman ML. 20-HETE and blood pressure regulation: clinical implications. *Cardiol Rev.* 2014;22(1):1-12.
77. Miyata N, Roman RJ. Role of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid (20-HETE) in vascular system. *J Smooth Muscle Res.* 2005;41(4):175-93.

78. Faulkner JL, Plenty NL, Wallace K, Amaral LM, Cunningham MW, Murphy S, ve diğ. Selective inhibition of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid lowers blood pressure in a rat model of preeclampsia. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* 2018;134:108-13.
79. Lu S, Zhu C, Long A, Tan L, Li Q, Zhu Y. Effect of 20-hydroxyeicosatetraenoic acid on biological behavior of human villous trophoblasts and uterine vascular smooth muscle cells. *Mol Med Rep.* 2014;9(5):1889-94.
80. McDonald MG, Rieder MJ, Nakano M, Hsia CK, Rettie AE. CYP4F2 is a vitamin K1 oxidase: An explanation for altered warfarin dose in carriers of the V433M variant. *Mol Pharmacol.* 2009;75(6):1337-46.
81. Stec DE, Roman RJ, Flasch A, Rieder MJ. Functional polymorphism in human CYP4F2 decreases 20-HETE production. *Physiol Genomics.* 2007;30(1):74-81.
82. Auton A, Abecasis GR, Altshuler DM, Durbin RM, Abecasis GR, Bentley DR, ve diğ. A global reference for human genetic variation. *Nature.* 2015;526(7571):68-74.
83. Ozer M, Demirci Y, Hizel C, Sarikaya S, Karalti I, Kaspar C, ve diğ. Impact of genetic factors (CYP2C9, VKORC1 and CYP4F2) on warfarin dose requirement in the Turkish population. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2013;112(3):209-14.
84. Geng H, Li B, Wang Y, Wang L. Association Between the CYP4F2 Gene rs1558139 and rs2108622 Polymorphisms and Hypertension: A Meta-Analysis. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2019;23(5):342-7.
85. Gainer JV, Bellamine A, Dawson EP, Womble KE, Grant SW, Wang Y, ve diğ. Functional variant of CYP4A11 20-hydroxyeicosatetraenoic acid synthase is associated with essential hypertension. *Circulation.* 2005;111(1):63-9.
86. Liao D, Yi X, Zhang B, Zhou Q, Lin J. Interaction Between CYP4F2 rs2108622 and CYP4A11 rs9333025 Variants Is Significantly Correlated with Susceptibility to Ischemic Stroke and 20-Hydroxyeicosatetraenoic Acid Level. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2016;20(5):223-8.
87. Curley CR, Monsuur AJ, Wapenaar MC, Rioux JD, Wijmenga C. A functional candidate screen for coeliac disease genes. *Eur J Hum Genet.* 2006;14(11):1215-22.
88. Johnson AL, Edson KZ, Totah RA, Rettie AE. Cytochrome P450 omega-Hydroxylases in Inflammation and Cancer. *Adv Pharmacol.* 2015;74:223-62.
89. Sen A, Stark H. Role of cytochrome P450 polymorphisms and functions in development of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol.* 2019;25(23):2846-62.
90. Ananthakrishnan AN, Khalili H, Song M, Higuchi LM, Lochhead P, Richter JM, ve diğ. Genetic Polymorphisms in Fatty Acid Metabolism Modify the Association Between Dietary n3: n6 Intake and Risk of Ulcerative Colitis: A Prospective Cohort Study. *Inflamm Bowel Dis.* 2017;23(11):1898-904.
91. Wu S, Moomaw CR, Tomer KB, Falck JR, Zeldin DC. Molecular cloning and expression of CYP2J2, a human cytochrome P450 arachidonic acid epoxygenase highly expressed in heart. *J Biol Chem.* 1996;271(7):3460-8.
92. King LM, Ma J, Srettabunjong S, Graves J, Bradbury JA, Li L, ve diğ. Cloning of CYP2J2 gene and identification of functional polymorphisms. *Mol Pharmacol.* 2002;61(4):840-52.
93. Spiecker M, Darius H, Hankeln T, Soufi M, Sattler AM, Schaefer JR, ve diğ. Risk of coronary artery disease associated with polymorphism of the cytochrome P450 epoxygenase CYP2J2. *Circulation.* 2004;110(15):2132-6.
94. Spiecker M, Liao J. Cytochrome P450 epoxygenase CYP2J2 and the risk of coronary artery disease. *Trends Cardiovasc Med.* 2006;16(6):204-8.
95. Wu SN, Zhang Y, Gardner CO, Chen Q, Li Y, Wang GL, ve diğ. Evidence for association of polymorphisms in CYP2J2 and susceptibility to essential hypertension. *Ann Hum Genet.* 2007;71(Pt 4):519-25.
96. Takeshita H, Tsubota E, Takatsuka H, Kunito T, Fujihara J. Cytochrome P450 2J2*7 polymorphisms in Japanese, Mongolians and Ovambos. *Cell Biochem Funct.* 2008;26(7):813-6.

97. Hoffmann MM, Bugert P, Seelhorst U, Wellnitz B, Winkelmann BR, Boehm BO, ve diğ. The -50G>T polymorphism in the promoter of the CYP2J2 gene in coronary heart disease: the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study. *Clin Chem*. 2007;53(3):539-40.
98. Gervasini G, Vizcaino S, Carrillo JA, Caballero MJ, Benitez J. The effect of CYP2J2, CYP3A4, CYP3A5 and the MDR1 polymorphisms and gender on the urinary excretion of the metabolites of the H-receptor antihistamine ebastine: a pilot study. *Br J Clin Pharmacol*. 2006;62(2):177-86.
99. Lee SS, Jeong HE, Liu KH, Ryu JY, Moon T, Yoon CN, ve diğ. Identification and functional characterization of novel CYP2J2 variants: G312R variant causes loss of enzyme catalytic activity. *Pharmacogenet Genomics*. 2005;15(2):105-13.
100. Liu PY, Li YH, Chao TH, Wu HL, Lin LJ, Tsai LM, ve diğ. Synergistic effect of cytochrome P450 epoxygenase CYP2J2*7 polymorphism with smoking on the onset of premature myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 2007;195(1):199-206.
101. Miners JO, Birkett DJ. Cytochrome P4502C9: an enzyme of major importance in human drug metabolism. *Br J Clin Pharmacol*. 1998;45(6):525-38.
102. Aynacioglu AS, Brockmoller J, Bauer S, Sachse C, Guzelbey P, Ongen Z, ve diğ. Frequency of cytochrome P450 CYP2C9 variants in a Turkish population and functional relevance for phenytoin. *Br J Clin Pharmacol*. 1999;48(3):409-15.
103. Crespi CL, Miller VP. The R144C change in the CYP2C9*2 allele alters interaction of the cytochrome P450 with NADPH:cytochrome P450 oxidoreductase. *Pharmacogenetics*. 1997;7(3):203-10.
104. Sridharan K, Al Banna R, Malalla Z, Husain A, Sater M, Jassim G, ve diğ. Influence of CYP2C9, VKORC1, and CYP4F2 polymorphisms on the pharmacodynamic parameters of warfarin: a cross-sectional study. *Pharmacol Rep*. 2021.
105. Johnson JA, Caudle KE, Gong L, Whirl-Carrillo M, Stein CM, Scott SA, ve diğ. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for Pharmacogenetics-Guided Warfarin Dosing: 2017 Update. *Clin Pharmacol Ther*. 2017;102(3):397-404.
106. Dai D, Zeldin DC, Blaisdell JA, Chanas B, Coulter SJ, Ghanayem BI, ve diğ. Polymorphisms in human CYP2C8 decrease metabolism of the anticancer drug paclitaxel and arachidonic acid. *Pharmacogenetics*. 2001;11(7):597-607.
107. Sausville LN, Gangadhariah MH, Chiusa M, Mei S, Wei S, Zent R, ve diğ. The Cytochrome P450 Slow Metabolizers CYP2C9*2 and CYP2C9*3 Directly Regulate Tumorigenesis via Reduced Epoxyeicosatrienoic Acid Production. *Cancer Res*. 2018;78(17):4865-77.
108. Mahgoub A, Idle JR, Dring LG, Lancaster R, Smith RL. Polymorphic hydroxylation of Debrisoquine in man. *Lancet*. 1977;2(8038):584-6.
109. Eichelbaum M, Spannbrucker N, Dengler HJ. Influence of the defective metabolism of sparteine on its pharmacokinetics. *Eur J Clin Pharmacol*. 1979;16(3):189-94.
110. Wrighton SA, Stevens JC, Becker GW, VandenBranden M. Isolation and characterization of human liver cytochrome P450 2C19: correlation between 2C19 and S-mephenytoin 4'-hydroxylation. *Arch Biochem Biophys*. 1993;306(1):240-5.
111. de Morais SM, Wilkinson GR, Blaisdell J, Nakamura K, Meyer UA, Goldstein JA. The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem*. 1994;269(22):15419-22.
112. Ferguson RJ, De Morais SM, Benhamou S, Bouchardy C, Blaisdell J, Ibeanu G, ve diğ. A new genetic defect in human CYP2C19: mutation of the initiation codon is responsible for poor metabolism of S-mephenytoin. *J Pharmacol Exp Ther*. 1998;284(1):356-61.
113. Goldstein JA, Ishizaki T, Chiba K, de Morais SM, Bell D, Krahn PM, ve diğ. Frequencies of the defective CYP2C19 alleles responsible for the mephenytoin poor metabolizer phenotype in various Oriental, Caucasian, Saudi Arabian and American black populations. *Pharmacogenetics*. 1997;7(1):59-64.

114. Aynacioglu AS, Sachse C, Bozkurt A, Kortunay S, Nacak M, Schroder T, ve diğ. Low frequency of defective alleles of cytochrome P450 enzymes 2C19 and 2D6 in the Turkish population. *Clin Pharmacol Ther.* 1999;66(2):185-92.
115. Gumus E, Karaca O, Babaoglu MO, Baysoy G, Balamtekin N, Demir H, ve diğ. Evaluation of lansoprazole as a probe for assessing cytochrome P450 2C19 activity and genotype-phenotype correlation in childhood. *Eur J Clin Pharmacol.* 2012;68(5):629-36.
116. Akasaka T, Sueta D, Arima Y, Tabata N, Takashio S, Izumiya Y, ve diğ. CYP2C19 variants and epoxyeicosatrienoic acids in patients with microvascular angina. *Int J Cardiol Heart Vasc.* 2017;15:15-20.
117. Sim SC, Risinger C, Dahl ML, Aklillu E, Christensen M, Bertilsson L, ve diğ. A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants. *Clin Pharmacol Ther.* 2006;79(1):103-13.
118. Karaca RO, Kalkisim S, Altinbas A, Kilincalp S, Yuksel I, Goktas MT, ve diğ. Effects of Genetic Polymorphisms of Cytochrome P450 Enzymes and MDR1 Transporter on Pantoprazole Metabolism and Helicobacter pylori Eradication. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2017;120(2):199-206.
119. Zeldin DC, Kobayashi J, Falck JR, Winder BS, Hammock BD, Snapper JR, ve diğ. Regio- and enantiofacial selectivity of epoxyeicosatrienoic acid hydration by cytosolic epoxide hydrolase. *J Biol Chem.* 1993;268(9):6402-7.
120. Larsson C, White I, Johansson C, Stark A, Meijer J. Localization of the human soluble epoxide hydrolase gene (EPHX2) to chromosomal region 8p21-p12. *Hum Genet.* 1995;95(3):356-8.
121. Sandberg M, Hassett C, Adman ET, Meijer J, Omiecinski CJ. Identification and functional characterization of human soluble epoxide hydrolase genetic polymorphisms. *J Biol Chem.* 2000;275(37):28873-81.
122. Przybyla-Zawislak BD, Srivastava PK, Vazquez-Matias J, Mohrenweiser HW, Maxwell JE, Hammock BD, ve diğ. Polymorphisms in human soluble epoxide hydrolase. *Mol Pharmacol.* 2003;64(2):482-90.
123. Sari I, Pinarbasi H, Pinarbasi E, Yildiz C. Association between the soluble epoxide hydrolase gene and preeclampsia. *Hypertens Pregnancy.* 2017;36(4):315-25.
124. Wang H, Jiang Y, Liu Y, Lin C, Cheng G, Chen X, ve diğ. CYP2J2*7 single nucleotide polymorphism in a Chinese population. *Clin Chim Acta.* 2006;365(1-2):125-8.
125. Liang JQ, Yan MR, Yang L, Suyila Q, Cui HW, Su XL. Association of a CYP4A11 polymorphism and hypertension in the Mongolian and Han populations of China. *Genet Mol Res.* 2014;13(1):508-17.
126. Li J, Yang W, Xie Z, Yu K, Chen Y, Cui K. Impact of VKORC1, CYP4F2 and NQO1 gene variants on warfarin dose requirement in Han Chinese patients with catheter ablation for atrial fibrillation. *BMC Cardiovascular Disorders.* 2018;18(1).
127. Yasar U, Eliasson E, Dahl ML, Johansson I, Ingelman-Sundberg M, Sjoqvist F. Validation of methods for CYP2C9 genotyping: frequencies of mutant alleles in a Swedish population. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999;254(3):628-31.
128. Goktas MT, Karaca RO, Kalkisim S, Cevik L, Kilic L, Akdogan A, ve diğ. Decreased Activity and Genetic Polymorphisms of CYP2C19 in Behçet's Disease. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology.* 2017;121(4):266-71.
129. Cheng S, Shah SH, Corwin EJ, Fiehn O, Fitzgerald RL, Gerszten RE, ve diğ. Potential Impact and Study Considerations of Metabolomics in Cardiovascular Health and Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circ Cardiovasc Genet.* 2017;10(2).
130. Tautenhahn R, Patti GJ, Rinehart D, Siuzdak G. XCMS Online: A Web-Based Platform to Process Untargeted Metabolomic Data. *Analytical Chemistry.* 2012;84(11):5035-9.

131. Sysi-Aho M, Katajamaa M, Yetukuri L, Orešič M. Normalization method for metabolomics data using optimal selection of multiple internal standards. *BMC Bioinformatics*. 2007;8(1):93.
132. Agnolet S. 1H NMR- and HPLC-based Metabolomics Combined with Hyphenated HPLC-SPE-NMR Methods for the Investigation of Herbal Remedies and Medicinal Plants: University of Copenhagen; 2011.
133. Chong J, Wishart DS, Xia J. Using MetaboAnalyst 4.0 for Comprehensive and Integrative Metabolomics Data Analysis. *Curr Protoc Bioinformatics*. 2019;68(1):e86.
134. Shinde DD, Kim KB, Oh KS, Abdalla N, Liu KH, Bae SK, ve diğ. LC-MS/MS for the simultaneous analysis of arachidonic acid and 32 related metabolites in human plasma: Basal plasma concentrations and aspirin-induced changes of eicosanoids. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2012;911:113-21.
135. Goktas MT, Hatta F, Karaca O, Kalkisim S, Kilic L, Akdogan A, ve diğ. Lower CYP2C9 activity in Turkish patients with Behcet's disease compared to healthy subjects: a down-regulation due to inflammation? *Eur J Clin Pharmacol*. 2015;71(10):1223-8.
136. Costea I, Mack DR, Israel D, Morgan K, Krupoves A, Seidman E, ve diğ. Genes Involved in the Metabolism of Poly-Unsaturated Fatty-Acids (PUFA) and Risk for Crohn's Disease in Children & Young Adults. *PLoS ONE*. 2010;5(12):e15672.
137. Ward NC, Tsai IJ, Barden A, Van Bockxmeer FM, Puddey IB, Hodgson JM, ve diğ. A Single Nucleotide Polymorphism in the CYP4F2 but not CYP4A11 Gene Is Associated With Increased 20-HETE Excretion and Blood Pressure. *Hypertension*. 2008;51(5):1393-8.
138. Hartiala JA. Genetic studies of inflammation and cardiovascular disease [Ph.D.]. Ann Arbor: University of Southern California; 2014.
139. Walsh SW, Reep DT, Alam SMK, Washington SL, Al Dulaimi M, Lee SM, ve diğ. Placental Production of Eicosanoids and Sphingolipids in Women Who Developed Preeclampsia on Low-Dose Aspirin. *Reproductive Sciences*. 2020;27(12):2158-69.
140. Riaz S, Mansoor A, Siddiqi S, Tareen M, Rubab S, Batool A, ve diğ. Association of CYP2C19*2 and *17 genetic variants with hypertension in Pakistani population. 2019:851-5.
141. Sun C-J, Li L, Li X-Y, Zhang W-Y, Liu X-W. Associations of polymorphisms of CYP2D6 and CYP2C9 with early onset severe pre-eclampsia and response to labetalol therapy. *Archives of Gynecology and Obstetrics*. 2018;298(1):125-32.
142. Aliwarga T, Evangelista E, Sotoodehnia N, Lemaitre R, Totah R. Regulation of CYP2J2 and EET Levels in Cardiac Disease and Diabetes. *International Journal of Molecular Sciences*. 2018;19(7):1916.
143. Spiecker M, Darius H, Hankeln T, Soufi M, Sattler AM, Schaefer JRR, ve diğ. Risk of Coronary Artery Disease Associated With Polymorphism of the Cytochrome P450 Epoxygenase CYP2J2. *Circulation*. 2004;110(15):2132-6.
144. Polonikov AV, Ivanov VP, Solodilova MA, Khoroshaya IV, Kozhuhov MA, Ivakin VE, ve diğ. A common polymorphism G-50T in cytochrome P450 2J2 gene is associated with increased risk of essential hypertension in a Russian population. *Dis Markers*. 2008;24(2):119-26.
145. Dreisbach A, Japa S, Sigel A, Parenti M, Hess A, Srinouanprachanh S, ve diğ. The Prevalence of CYP2C8, 2C9, 2J2, and Soluble Epoxide Hydrolase Polymorphisms in African Americans With Hypertension. *American Journal of Hypertension*. 2005;18(10):1276-81.
146. Polonikov AV, Ponomarenko IV, Bykanova MA, Sirotina SS, Bocharova AV, Vagaytseva KV, ve diğ. A comprehensive study revealed SNP-SNP interactions and a sex-dependent relationship between polymorphisms of the CYP2J2 gene and hypertension risk. *Hypertens Res*. 2019;42(2):257-72.
147. Herse F, Lamarca B, Hubel CA, Kaartokallio T, Lokki AI, Ekholm E, ve diğ. Cytochrome P450 subfamily 2J polypeptide 2 expression and circulating epoxyeicosatrienoic metabolites in preeclampsia. *Circulation*. 2012;126(25):2990-9.

148. Catella F, Lawson JA, Fitzgerald DJ, FitzGerald GA. Endogenous biosynthesis of arachidonic acid epoxides in humans: increased formation in pregnancy-induced hypertension. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1990;87(15):5893-7.
149. Imig JD. Prospective for cytochrome P450 epoxygenase cardiovascular and renal therapeutics. *Pharmacol Ther*. 2018;192:1-19.
150. Sinal CJ, Miyata M, Tohkin M, Nagata K, Bend JR, Gonzalez FJ. Targeted Disruption of Soluble Epoxide Hydrolase Reveals a Role in Blood Pressure Regulation. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(51):40504-10.
151. Qiu H, Li N, Liu J-Y, Harris TR, Hammock BD, Chiamvimonvat N. Soluble Epoxide Hydrolase Inhibitors and Heart Failure. *Cardiovascular Therapeutics*. 2011;29(2):99-111.
152. Wang B, Wu L, Chen J, Dong L, Chen C, Wen Z, ve diğ. Metabolism pathways of arachidonic acids: mechanisms and potential therapeutic targets. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2021;6(1).
153. Lazaar AL, Yang L, Boardley RL, Goyal NS, Robertson J, Baldwin SJ, ve diğ. Pharmacokinetics, pharmacodynamics and adverse event profile of GSK2256294, a novel soluble epoxide hydrolase inhibitor. *Br J Clin Pharmacol*. 2016;81(5):971-9.
154. Imig JD, Elmarakby A, Nithipatikom K, Wei S, Capdevila JH, Tuniki VR, ve diğ. Development of Epoxyeicosatrienoic Acid Analogs with in Vivo Anti-Hypertensive Actions. *Frontiers in Physiology*. 2010;1.
155. Khan MAH, Liu J, Kumar G, Skapek SX, Falck JR, Imig JD. Novel orally active epoxyeicosatrienoic acid (EET) analogs attenuate cisplatin nephrotoxicity. *The FASEB Journal*. 2013;27(8):2946-56.
156. Arnold C, Markovic M, Blossey K, Wallukat G, Fischer R, Dechend R, ve diğ. Arachidonic Acid-metabolizing Cytochrome P450 Enzymes Are Targets of ω -3 Fatty Acids*. *Journal of Biological Chemistry*. 2010;285(43):32720-33.
157. Olsen SF, Secher NJ, Tabor A, Weber T, Walker JJ, Gluud C. Randomised clinical trials of fish oil supplementation in high risk pregnancies. *Fish Oil Trials In Pregnancy (FOTIP) Team*. *BJOG*. 2000;107(3):382-95.
158. Popeski D, Ebbeling LR, Brown PB, Hornstra G, Gerrard JM. Blood pressure during pregnancy in Canadian Inuit: community differences related to diet. *CMAJ*. 1991;145(5):445-54.
159. Arvizu M, Afeiche MC, Hansen S, Halldorsson TF, Olsen SF, Chavarro JE. Fat intake during pregnancy and risk of preeclampsia: a prospective cohort study in Denmark. *Eur J Clin Nutr*. 2019;73(7):1040-8.
160. Kulkarni AV, Mehendale SS, Yadav HR, Joshi SR. Reduced placental docosahexaenoic acid levels associated with increased levels of sFlt-1 in preeclampsia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2011;84(1-2):51-5.
161. Lewin GA, Schachter HM, Yuen D, Merchant P, Mamaladze V, Tsertsvadze A. Effects of omega-3 fatty acids on child and maternal health. *Evid Rep Technol Assess (Summ)*. 2005(118):1-11.
162. Horvath A, Koletzko B, Szajewska H. Effect of supplementation of women in high-risk pregnancies with long-chain polyunsaturated fatty acids on pregnancy outcomes and growth measures at birth: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Br J Nutr*. 2007;98(2):253-9.
163. Kirchheiner J, Meineke I, Fuhr U, Rodriguez-Antona C, Lebedeva E, Brockmoller J. Impact of genetic polymorphisms in CYP2C8 and rosiglitazone intake on the urinary excretion of dihydroxyeicosatrienoic acids. *Pharmacogenomics*. 2008;9(3):277-88.
164. Ramirez CE, Shuey MM, Milne GL, Gilbert K, Hui N, Yu C, ve diğ. Arg287Gln variant of EPHX2 and epoxyeicosatrienoic acids are associated with insulin sensitivity in humans. *Prostaglandins & Other Lipid Mediators*. 2014;113-115:38-44.

165. Ferranti EP, Frediani JK, Mitchell R, Fernandes J, Li S, Jones DP, ve diğ. Early Pregnancy Serum Metabolite Profiles Associated with Hypertensive Disorders of Pregnancy in African American Women: A Pilot Study. *Journal of Pregnancy*. 2020;2020:1515321.
166. Kenny LC, Broadhurst DI, Dunn W, Brown M, North RA, McCowan L, ve diğ. Robust early pregnancy prediction of later preeclampsia using metabolomic biomarkers. *Hypertension*. 2010;56(4):741-9.
167. Guo Y, Smith GN, Wen SW, Walker MC. FOLATE METABOLISM AND PREECLAMPSIA. *Fetal and Maternal Medicine Review*. 2012;23(2):131-55.

EKLER**Ek.1.Etik kurul izni**

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 16969557 **4780**

Konu : ARAŞTIRMA PROJESİ DEĞERLENDİRME RAPORU

Toplantı Tarihi : 17 EYLÜL 2019 SALI
Toplantı No : 2019/22
Proje No : GO 19/874 (Değerlendirme Tarihi: 10.09.2019)
Karar No : 2019/22-04

Üniversitemiz Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Melih Ö. BABAOĞLU'nun sorumlu araştırmacı olduğu, Prof. Dr. Dilek Şahin UYGUR, Prof. Dr. Aykan YÜCEL, Prof. Dr. Nursabah Elif Başçı AKDUMAN, Doç. Dr. Mustafa ÇELEBİER, Uzm. Dr. Nazan Vanlı TONYALI, Arş. Gör. Ozan KAPLAN ile birlikte çalışacakları ve Dr. Mert Can ONGUN'un uzmanlık tezi olan, GO 19/874 kayıt numaralı, "**Preeklampside ve Gestasyonel Hipertansiyonda CYP4F2, 4F3, 4A11, 2J2, 2C9, 2C19, Solubl Epoksit Hidrolaz Enzimleri ile İlaç Transporteri MDR1 Genetik Polimorfizmlerinin Etkileri**" başlıklı proje önerisi araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup, 01 Ekim 2019-01 Haziran 2021 tarihleri arasında geçerli olmak üzere incelenmesi etik açıdan **uygun bulunmuştur**. Çalışma tamamlandığında sonuçlarını içeren bir rapor örneğinin Etik Kurulumuza gönderilmesi gerekmektedir.

1. Prof. Dr. Ayşe Lale DOĞAN	(Başkan)	İZİNLİ	9. Doç. Dr. Fatma Visal OKUR	(Üye)
İZİNLİ		İZİNLİ		
2. Prof. Dr. Sevdâ F. MÜFTÜOĞLU	(Üye)	10. Doç. Dr. Can Ebru KURT		(Üye)
3. Prof. Dr. M. Yıldırım SA	(Üye)	11. Doç. Dr. H. Hüsrev TURNAGÖL		
4. Prof. Dr. Nâcdet SAGLAM	(Üye)	12. Dr. Öğr. Üyesi Özay GÖKÖZ		
İZİNLİ		13. Dr. Öğr. Üyesi Müge DEMİR		
5. Prof. Dr. Mintaze Kerem GÜNEL	(Üye)	14. Öğr. Gör. Dr. Meltem ŞENGELEN		(Üye)
İZİNLİ				
6. Prof. Dr. Oya Nuran EMİROĞLU	(Üye)	15. Av. Meltem ONURLU		
7. Prof. Dr. M. Özgür UYA	(Üye)			
8. Doç. Dr. Gözde GİRGİN	(Üye)			