

**N-NİTRO-L-ARJİNİN METİL ESTER (L-NAME) İLE
PREEKLAMPSİ MODELİ OLUŞTURULAN SIÇANLARDA
KURKUMİNİN ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

**Zekeriya SOYDAN
1128205101**

**KARDİYOVASKÜLER FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Hasan ERDOĞAN**

**TEZ NO: 2015/10
2015 – TEKİRDAĞ**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**N-NİTRO-L-ARJİNİN METİL ESTER
(L-NAME) İLE PREEKLAMPSİ MODELİ
OLUŞTURULAN SIÇANLARDA KURKUMİNİN
ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Zekeriya SOYDAN
1128205101

KARDİYOVASKÜLER FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hasan ERDOĞAN

Bu Tez Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından NKUBAP.00.20.AR.14.07 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

Tez No: 2015/10
2015 – TEKİRDAĞ

KABUL ve ONAY

Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Kardiyovasküler Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde Prof. Dr. Hasan ERDOĞAN danışmanlığında yürütülmüş
bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

03/02/2015

Prof. Dr. Hasan ERDOĞAN

Namık Kemal Üniversitesi

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Şeref ALPSOY

Namık Kemal Üniversitesi

Üye

Yrd. Doç. Dr. Ümit ŞENER

Namık Kemal Üniversitesi

Üye

Kardiyovasküler Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Zekeriya SOYDAN'ın "N-Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME) ile preeklampsi modeli oluşturulan sıçanlarda Kurkuminin etkisinin incelenmesi" başlıklı tezi 03.02.2015 günü saat 10:00'da Namık Kemal Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Burhan TURGUT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Akademik hayatımın ilk yıllarında maddi manevi desteğiyle hep yanımda olan, bilgi ve tecrübeleriyle her zaman beni cesaretlendiren, yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince, deneyimlerinden geniş ölçüde yararlandığım sayın hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Hasan Erdoğan'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Biyokimyasal analizlerde desteğini esirgemeyen hocam Prof. Dr. Ahmet GÜREL'e ve Arş Gör. Ahsen Yılmaz'a teşekkürlerimi sunarım.

İmmünohistokimyasal çalışmalarda hep yanımda olan hocam Doç Dr. Cevat AKTAŞ'a, çalışmamda büyük emeği geçen Yrd. Doç. Dr. Mustafa Erboğa'ya,

Fikirleriyle çalışmamı planlamamda ve gerçekleştirmede katkılarını esirgemeyen, kıymetli hocam Yrd. Doç. Dr. Ümit Şener'e ve Uzm. Dr. Filiz Erdoğan'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayvan deneylerinde çalışma arkadaşı olarak büyük desteği olan Arş. Gör. Bilal Burak Baltacı teşekkür ederim.

Son olarak, Sevgili eşim, kızım ve anneme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.(NKUBAP.00.20.AR.14.07 nolu proje kapsamında)

ÖZET

Zekeriya Soydan, N-Nitro-L-Arjinin Metil Ester (L-NAME) ile Preeklampsi Modeli Oluşturulan Sıçanlarda Kurkuminin Etkisinin İncelenmesi, Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kardiyovasküler Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 2015.

Çalışmamızda gebe sıçanlarda oluşturulan deneysel preeklampsi modelinde Kurkuminin beyin dokusu KBB'ine, plazmadaki bazı oksidatif stres parametrelerine ve Sistolik ve Diastolik Kan Basıncı (SKB ve DKB) üzerine etkilerini incelemeyi amaçladık.

Wistar Albino dişi sıçanlar dört gruba ayrıldı. Sıçanlar, Kontrol, Kurkumin (100 mg/kg/gün, gastric gavaj ile 10 gün), L-NAME (80 mg/kg/gün, içme suyu ile 10 gün boyunca), L-NAME (80 mg/kg/gün, içme suyu ile 10 gün boyunca) + Kurkumin (100 mg/kg/gün, gastric gava ile 10 gün boyunca) olarak düzenlendi. Gebeliğin 0. , 15. ve 20. günlerinde, indirek SKB ve DKB düzeyleri Data Aquisition sistemiyle ölçüldü. Gebeliğin 20. gününde hayvanlar sakrifiye edilerek, biyokimyasal değerlendirmeler için intrakardiyak kan alımı yapıldı. Plazmada Tiyobarbitürik Asit Reaktan Maddeleri (TBARS), Protein Karbonil (PC) ve Nitrik Oksit (NO) seviyeleri değerlendirildi. Histopatolojik inceleme için beyin dokusu çıkartıldı ve beyin kesitleri hematoksilin-eozin (H-E) ile boyandı. İmmünohistokimyasal olarak, sıkı bağlantı proteini Okludin, vasküler endotel hücre membran proteini Kaveolin-1 ve su kanal proteini Aquaporin-4 (AQP-4) semikantitatif olarak değerlendirildi.

L-NAME grubu TBARS düzeyi Kontrol ($P<0.001$), Kurkumin ($P<0.001$) ve L-NAME + Kurkumin ($P<0.001$) gruplarından yüksekti. L-NAME grubu PC düzeyi Kontrol ($P<0.006$), Kurkumin ($P<0.006$) ve L-NAME + Kurkumin ($P<0.002$) gruplarından yüksekti. Kurkumin grubunun NO düzeyi Kontrol

($P<0.002$), L-NAME ($P<0.001$) ve L-NAME+Kurkumin ($P<0.001$) grubuna göre yüksek olduğu saptanmıştır.

L-NAME grubunun 20. gündeki SKB Kontrol ($P<0.001$), Kurkumin ($P<0.001$) ve L-NAME + Kurkumin ($P<0.001$) gruplarına göre yüksekti. L-NAME + Kurkumin grubunun 20. gündeki DKB Kontrol ($P<0.027$) ve L-NAME grubuna ($P<0.001$) göre azaldı. Ayrıca, L-NAME grubu 20. gün DKB düzeyi, Kurkumin ($P<0.027$) grubundan yüksekti.

İmmünohistokimyasal değerlendirmede L-NAME grubunda AQP-4 yoğun boyanırken, Okludin ve Kaveolin-1 daha az boyandı. L-NAME+Kurkumin grubunda ise L-NAME grubuna göre AQP-4 boyanma yoğunluğunun azaldığı, buna karşın Okludinin ve Kaveolin-1'in daha yoğun boyandığı görüldü.

Deneyel preeklampsi modelimizde, Kurkumin plazma NO seviyesini arttırırken, plazma lipid ve protein oksidasyon seviyelerini azalttı. Kurkumin preeklampside kan basıncını azalttı. Kurkumin aynı zamanda KBB bütünlüğü üzerine koruyucu etkiye sahiptir. Çalışmamızda, Kurkuminin preeklampside faydalı bir etkiye sahip olabileceği sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Preeklampsi, L-NAME, Kurkumin, AQP-4, Okludin, Kaveolin-1

Destekleyen Kurumlar: Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi

ABSTRACT

Zekeriya Soydan, N-Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME) preeclampsia model in rats to examine the effect of curcumin. Namik Kemal University, Institute of Health Sciences, Department of Cardiovascular Physiology, Master's Thesis, Tekirdag-2015.

In our study, we aim to examine the effect of Curcumin on blood brain barrier (BBB), brain tissue, plasma, systolic and diastolic blood pressure (SBP and DBP) with different parameter in an experimental preeclampsia formed by pregnant rats.

Wistar Albino female rats are divided into four groups. Rat groups were arranged as Control, Curcumin (100 mg/kg/day, by gastric gavage for ten days), L-NAME (80 mg/kg/day, in their drinking water for ten days), L-NAME (80 mg/kg/day, in their drinking water for ten days) + Curcumin (100 mg/kg/day, by gastric gavage for ten days). Indirect Systolic and diastolic blood pressures (SBP and DBP) were measured by data acquisition system in the 0th, 15th and 20th day of gestation. Rats were sacrificed, and then intracardiac blood was taken for the biochemical parameters in the 20th day of gestation. Thiobarbituric Acid Reactive Species (TBARS), Protein Carbonyl (PC) and Nitric Oxide (NO) levels in were assessed in plasma. The rat brain was removed for histopathologic research, and the brain sections were stained with hematoxylin-eosin (H-E). As immunohistochemically, tight junction protein Occluding, vascular endothelial cell membrane protein Caveolin-1 (Cav-1) and water channel protein aquaporin-4 (AQP-4) were assessed as semi-quantitative.

The TBARS level of L-NAME group were higher than Control (P<0.001), Curcumin (P<0.001) and L-NAME + Curcumin groups (P<0.001).

The PC level of L-NAME group were higher than Control ($P<0.006$), Curcumin ($P<0.006$) and L-NAME + Curcumin groups ($P<0.002$). The NO level of Curcumin group were higher than Control ($P<0.002$) L-NAME ($P<0.001$) and L-NAME + Curcumin groups ($P<0.001$).

The tail SBP of L-NAME group in the G20.day were higher than Control ($P<0.001$), Curcumin ($P<0.001$) ve L-NAME + Curcumin ($P<0.001$) groups. The tail DBP of L-NAME + Curcumin group in the G20.day were decreased than Control ($P<0.027$) and L-NAME ($P<0.001$) groups. Furthermore, the tail DBP of L-NAME group in the G20.day were higher than Curcumin group ($P<0.027$).

In immunohistochemical assessment, the staining of AQP-4 in L-NAME group was intense. Occludin and Caveolin-1 were stained low intense in L-NAME group. In L-NAME + Curcumin group according to L-NAME, AQP-4 was stained less intens, whereas Occludin and Caveolin-1 were stained more intense.

Curcumin reduced plasma lipid and protein oxidation levels whereas it increased NO levels in our experimental preeclampsia models. Curcumin decreased the blood pressure in preeclamsia. It has also protective effect on integrity of BBB. In our study, It was concluded that Curcumin may be a useful treatment in preeclamsia.

Key words: Preeclampsia, L-NAME, Curcumin, AQP-4, Occludin, Caveolin-

1

Supporting Institutions: Namik Kemal University Scientific Research Projects Unit

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xvi
TABLolar DİZİNİ	xvii
GRAFİKLER DİZİNİ	xviii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Preeklampsi	5
2.2. Preeklampsi İnsidansı ve Risk Faktörleri	6
2.3. Etyoloji ve Patogenez	7
2.3.1. Oksidatif Stres	8
2.3.2. Yetersiz Trofoblastik İnvazyon ve Plasental İskemi	10
2.3.3. Sistemik Endotel Disfonksiyonu	11
2.3.4. Genetik Faktörler	14
2.3.5. İmmünolojik Faktörler	15
2.4. Preeklampsi Hayvan Modelleri	16
2.5. Kan Beyin Bariyeri	17
2.5.1. Kan Beyin Bariyerinin Yapısı ve Özellikleri	19
2.5.2. Kan Beyin Bariyeri Sıkı Bağlantıları	24
2.5.2.1. Sıkı Bağlantılar	25
2.5.2.1.1. İntegral Proteinler	26

2.5.2.1.1.1. Klaudinler	26
2.5.2.1.1.2. Okludinler	26
2.5.2.1.1.3. Bağlantı Adezyon Molekülü (JAM)	28
2.5.2.1.2. Sitoplazmik Proteinler	28
2.5.3. Adheren Bağlantılar	29
2.5.3.1. Vasküler Endotelyal Kaderin (VE-Kaderin)	29
2.5.4. Kan Beyin Bariyerinde Etkili Diğer Proteinler	30
2.5.4.1. Kaveolin - 1	30
2.5.4.2. Aquaporinler	31
2.5.5. Kan Beyin Bariyeri Fonksiyonları	32
2.5.6. Kan Beyin Bariyerinden Madde Geçişi	33
2.5.7. Kan Beyin Bariyeri Patofizyolojisi	35
2.6. Kurkumin	35
2.6.1. Kurkuminin Antidiyabetik Etkisi	37
2.6.2. Kurkuminin Anti Enflamatuvar ve Anti Oksidan Etkisi	38
2.6.3. Kurkuminin Antikanser Etkisi	38
2.6.4. Kurkuminin Nöroprotektif Etkisi	39
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1. Deney Hayvanları	41
3.2. Deney Grupları	41
3.3. Deneysel Yöntem	42
3.4. Kan ve Doku Örneklerinin Eldesi ve Saklanması	43
3.5. İmmünohistokimyasal Analiz	44
3.6. Biyokimyasal Analizler	45
3.6.1. Nitrik Oksit (NO) Tayini	46
3.6.2. Tiyobarbitürik Asit Reaktan Maddeleri	46
3.6.3. Protein Karbonil (PC) Tayini	47

3.7. İstatistiksel Analiz	47
4. BULGULAR	48
4.1. Biyokimyasal Sonuçlar	48
4.2. Kan Basıncı Sonuçları	51
4.3. İmmünohistokimyasal Sonuçlar	55
4.3.1. Aquaporin-4	55
4.3.2. Kaveolin-1	56
4.3.3. Okludin	56
4.4. Proteinüri Sonuçları	61
5. TARTIŞMA	62
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	69
7. KAYNAKLAR	71
EKLER	
EK 1- Etik Kurul Onayı	

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AEC	Aminoetil Karbazol
ACE	Anjiyotensin Konverting Enzim
ALP	Alkalen Fosfataz
ATP	Adenozin Trifosfat
AQP	Aquaporin
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
CSD	Kaveolin Scaffold Domein
Cm	Santimetre
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
DNPH	Dinitrofenilhidrazin
DMBA	Dimetilbenzaantrasin
DKB	Diastolik Kan Basıncı
DM	Diabetes Mellitus
EBA	Endotelyal Bariyer Antijen
EDCF	Endotelyal Kaynaklı Kontraksiyon Faktörü
EDRF	Endotelyal Kaynaklı Relaksasyon Faktörü
EL	Ekstrasellüler Loop
ELAM	Endotelyal Lökosit Adezyon Molekül
eNOS	Endotelyal Nitrik Oksit Sentaz
FGF	Fibroblast Growth Faktör
GUK	Guanilat Kinaz
γ -GTP	Gama Glutamil Transpeptidaz
GP	Glutatyon peroksidaz

Hg	Civa
H ₂ O ₂	Hidrojen Peroksit
H&E	Hematoksilen Eozin
HLA	İnsan Lökosit Antijeni
5-HT	5 Hidroksi Triptofan
ICAM	İntrasellüler Adezyon Molekülü
IL	İnterlökin
IL	İnrasellüler Loop
IFN- γ	İnterferon Gama
iNOS	İndüklenabilir Nitrik Oksit Sentaz
JAM	Bağlantı Adhezyon Molekülü
KBB	Kan Beyin Bariyeri
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
LAT	Nötral Aminoasit Taşıyıcıları
L	Litre
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
L-NAME	N-Nitro L-Arjinin Metil Ester
mm	Milimetre
mg	Miligram
μ m	Mikrometre
μ M	Mikromol
MCT	Monokarboksilik Asit Taşıyıcıları
MDR	Multi-drug Direnç Protein
MMP	Matriks Metallo Proteinaz
NO	Nitrik Oksit
nNOS	Nöral Nitrik Oksit Sentaz

NO ₂	Nitrit
NO ₃	Nitrat
NF-KB	NF Kappa B
Nm	Nanometre
PC	Protein Karbonil
PDZ	Post Sinaptik Density-95
PCAM	Tronbosit Endotelyal Hücre Adezyon Molekülü
PBS	Fosfat Buffer Solüsyon
PGI ₂	Prostasiklin
P-gp	P Glikoprotein
pH	Potansiyel Hidrojen
PMA	Formol Metil Asetat
PPAR- γ	Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SOD	Süper Oksit Dismutaz
SSS	Santral Sinir Sistemi
SKB	Sistolik Kan Basıncı
STZ	Streptozosin
Ω	Ohm
TBARS	Tiyobarbitürik Asit Reaktan Türleri
TJ	Sıkı Bağlantı
TM	Transellüler Membran
THC	Tetrahidrokurkumin
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör Alfa
TXA ₂	Tromboksan A2
VCAM	Vasküler Hücre Adhezyon Molekülü
VEGF	Vasküler Endotelyal Growth Faktör

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 1. Sistemik enflamatuvar cevap ve preeklampsi	16
Şekil 2. Beyindeki bariyer yapıları	20
Şekil 3. Kan Beyin Bariyerinin genel yapısı	21
Şekil 4. Kan Beyin Bariyerinde endotel hücreleri arasındaki bağlantı Kompleksi	25
Şekil 5. Okludin anatomik yapısı	27
Şekil 6. Kaveolin-1'in transmembran anatomik yapısı	31
Şekil 7. Kurkuminoidlerin kimyasal yapısı	36
Şekil 8. Kontrol (a), Kurkumin (b), L-NAME (c) L-NAME + Kurkumin (d) gruplarına ait beyin dokusunda AQP-4 immünboyanması	59
Şekil 9. Kontrol (a), Kurkumin (b), L-NAME (c) L-NAME + Kurkumin (d) gruplarına ait beyin dokusunda PC immünboyanması	60
Şekil 10. Kontrol (a), Kurkumin (b), L-NAME (c) L-NAME + Kurkumin (d) gruplarına ait beyin dokusunda NO immünboyanması.	61

TABLOLAR

	Sayfa
Tablo 1. KBB’de görev alan enzimlerin listesi	23
Tablo 2. Vücuttaki bazı kapillerin elektriksel dirençleri	24
Tablo 3. Deney grupları arasında TBARS, NO ve PC değerlerinin karşılaştırmaları	50
Tablo 4. Deney gruplarında sıçanlarda kuyruk SKB ve DKB ölçümlerinin deney gruplarına göre karşılaştırılması	52
Tablo 5. Sıçanlarda kuyruk SKB ve DKB ölçümlerinin deney gruplarında grup içi karşılaştırmaları	54
Tablo 6. Tüm gruplar arasındaki AQP-4, Kaveolin-1 ve Okludin immunreaktivitelerinin yoğunluğunun semikantitatif olarak değerlendirilmesi	62
Tablo 7. Tüm gruplar arasında idrar proteinüri miktarı strip ile semikantitatif olarak değerlendirilmesi	63

GRAFİKLER

	Sayfa
Grafik 1. Deney grupları TBARS bar grafiği	50
Grafik 2. Deney grupları PC bar grafiği	51
Grafik 3. Deney grupları NO bar grafiği	51
Grafik 4. Deney gruplarında kuyruk SKB ortalamlarının gebeliğin 0., 15. ve 20. günlerdeki değişimi	55
Grafik 5. Deney gruplarında kuyruk DKB ortalamlarının gebeliğin 0., 15. ve 20. günlerdeki değişimi	56

1.GİRİŞ

Preeklampsi, 20. gebelik haftasından sonra gelişen hipertansiyon (DKB \geq 90 mm/Hg) ve proteinüri (\geq 300 mg/24 saat) olarak tanımlanan (Milne ve diğ. 2005, Sibai ve diğ. 2005, Borzychowski ve diğ. 2006) ancak bunun yanında, trombosit aktivasyonu, artmış kapiller permeabilite, generalize vazokonstriksiyon, azalmış plazma volümü ve fetoplasental kan akımında azalma ile karakterize; maternal mortalite ve morbiditenin, fetal büyüme geriliğinin ve perinatal ölümlerin önde gelen sebeplerinden biri olarak gösterilmektedir (Baschat ve Hecher 2004, von Dadelszen ve Magee 2002, Arngrimsson ve diğ. 1997).

Preeklampsi, kadınların %3-5'inde görülen çoklu organ tutulumuna neden olan (Dorniak-Wall ve diğ. 2014, Walker 2000), vasküler disfonksiyonla karakterize, başlıca plasenta oluşumunu ve maternal mikrodamar sistemini etkileyen bir patofizyolojiye sahiptir. Hastanın klinik durumunu hangi sistemin ne derecede etkilendiği belirler. Etiyolojisinin tam olarak bilinmemesinden dolayı klinik tedavisi zordur. Bundan dolayı tüm dünyada yılda bu hastalık nedeni ile 50.000 kadın ölümü ve 900.000 perinatal ölüm gerçekleşmektedir (Mohaupt 2007).

Preeklampside yetersiz trofoblastik invazyon ve spiral arterlerde gebeliğe özgü yeniden yapılanmada sorun vardır, ancak bu durum tek başına maternal sendromun oluşması için yeterli değildir. Birçok çalışma preeklampside plasenta kaynaklı oksidatif strese artışın olduğunu ve maternal dolaşımda da oksidatif stres ürünlerinin yükseldiğini ve buna karşın antioksidan aktivitenin ise azaldığını ortaya koymaktadır (Vanderlelie ve diğ. 2005, Madazli ve diğ. 2008, Uzun ve diğ. 2005).

Kandaki maddelerin beyin parankimine serbest hareketini sınırlayarak nöronal homeostazisin korunmasında en önemli rol oynayan Kan Beyin Bariyeri (KBB) başlıca beyin damar endoteli hücreleri tarafından oluşturulur. KBB'nin normal işlevini görmesi ve sağlamlığının devam etmesi için astrosit, perisit, mikrogliya ve bazal lamina tarafından desteklenir (Yılmaz 2006, Abbott ve diğ. 2010). KBB sadece fiziksel değil aynı zamanda metabolik bir bariyer işlevi de görmektedir. KBB'nin endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantının yüksek değerinde elektriksel dirence sahip olduğu bilinmektedir. Preeklampatik kadınlarda vasküler geçirgenlikteki artışın bir sonucu olarak proteinüri ve yaygın ödem görülür (Öz 1993). Beyindeki ödem varlığı ve enflamasyon artışına bağlı KBB bütünlüğünün bozulması, beyin parankimine serum proteinlerinin geçmesiyle tesbit edilebilir. Preeklampsi sırasında, hipertansiyona bağlı olarak kapiller direnç zayıflar, permeabilite artışıyla birlikte vazojenik ödem oluşur. Preeklampatik gebelikte beyindeki kapiller yoğunluk artışının yanında akut hipertansiyona bağlı damarların daralma ve damar yapısındaki değişiklikler ile hemodinamik değişikliklerin KBB geçirgenliğindeki artışa yol açtığı ileri sürülmektedir (Fenstermacher ve Rapaport 1984, Stanness ve diğ. 1997). Enflamasyon artışı ve KBB yapısının bozulması sonucu aşırı miktarda proteinin beyin dokusuna girişi preeklampsi nöbetlerinin de dahil olduğu nörolojik komplikasyonların ortaya çıkışına neden olduğu ileri sürülmüştür. Gebe sıçan modeli kullanılan bir çalışmada gebe sıçanlarda oluşturulan hipertansiyon ve proteinüri koşullarında KBB'nin fonksiyonel ve yapısal özellikleri üzerinde oluşturduğu etkiler araştırılmış, preeklampside sıçanlarda KBB geçirgenliğinin aşırı derecede artığı gösterilmiştir (Küçük ve diğ. 2012). Bu çalışmalar sıçanlarda gebelikte KBB'nin etkilendiğini göstermektedir. Bu

etkilenmede preeklampitik konvulziyonların oluşmasında önemli olabilecektir.

Oksidan-antioksidan dengesi, hayatın her evresinde olduğu gibi hamilelik döneminde de hem annenin hem de fetüsün fizyolojik fonksiyonlarını homeostatik koşullarda sürdürebilmesi için büyük önem taşımaktadır. Preeklampside bu denge oksidatif strese bağlı olarak oksidan artışı yönünde değişir. Preeklampside artan reaktif oksijen türleri (ROS) ve serbest radikaller endotelyal disfonksiyonla karakterize yaygın bir patolojiye neden olur. Preeklampsi hastalarında endotel hücre hasarı sonucu hücre membran bütünlüğünde bozulma ve aşırı protein sızıntısı olur ve proteinüri sonucu periferik ve pulmoner ödem gelişir. Preeklampside sistemik inflamasyon yanıtının da arttığı belirtilmiş ve preeklampitik kadınların plazmasında TNF- α , IL-6 ve İnterferon gibi bu hastalığın patogenezinde rol oynayan sitokinlerin düzeylerinde belirgin bir artış olduğu gösterilmiştir (Berköz ve Yalın 2009, Canoruç ve diğ. 2006, Myatt ve Cui 2004).

Kurkumin'in antiinflamatuvar, antioksidan, antikanserojenik, antimutajenik, antikoagülan, antidiyabetik, antibakteriyal, antiviral ve nöronal protektif etki olmak üzere çok geniş bir spektrumda etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Naik ve diğ. 2011, Hatcher ve diğ. 2008, Kunnumakkara ve diğ. 2008, Aggarwal ve Sung 2009, Aggarwal ve Harikumar 2009). Özellikle Kurkuminin TNF, IL-1, -2, -6, -8, -12, IFN- γ gibi önemli pro-inflamatuvar sitokinleri inhibe ederek çok önemli bir anti-inflamatuvar etkisinin olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (Hatcher ve diğ. 2008). Kurkumin birçok oksijen radikali, özellikle süperoksit anyonlarının, nitrojen dioksit ve hidroksil radikallerinin süpürülmesine yol açar. Ayrıca Kurkuminin endotel ve düz kas hücrelerini hasara karşı koruduğu ve vasküler yapının rejenerasyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir (Belviranlı ve

diğ. 2012). Beyin membranlarında hidrojen peroksit ve homosistein gibi G protein bağımlı oksidatif uyarılar Kurkumin tarafından inhibe edilebildiği ve Kurkuminin beyin çalışmalarında antioksidan aktiviteyi arttırdığı gösterilmiştir (Hatcher ve diğ. 2008). Kurkumin'in KBB'ini geçebilme özelliği vardır (Choudhary ve Sekhon 2012). Preeklampatik koşullarda oksidasyon artışına bağlı KBB'nin fonksiyonel yapısının bozulması çalışmalarda mevcut olmasına rağmen preeklampsi koşullarında Kurkuminin antioksidan yanıtı ve KBB bütünlüğü üzerine etki yaparak ne tür değişikliklere yol açtığı ile ilgili herhangi bir çalışma bulunamamıştır.

Anti-inflamatuvar, antioksidan ve nöroprotektif etkisini olduğu bilinen Kurkuminin, yapılan birçok bilimsel çalışmada kullanılmasına rağmen, preeklampside de koruyucu veya önleyici olarak kullanılmasını içeren bir çalışmaya rastlanılmamıştır. Preeklampsi patofizyolojisinde endotelial fonksiyonun bozulduğunu ve bunun sonucu yüksek oranda damar geçirgenliğinin arttığını bunun neticesinde preeklampatik bulguların ortaya çıkmasına katkı sağladığı görülmektedir. Preeklampatik hasta gruplarında Kurkumin verilmesinin vazoaktif etkiye bağlı NO artışı damar geçirgenliğini koruyacağını ve proteinüri ve ödem gibi endotelial disfonksiyona bağlı patolojilerin gelişimini önleyeceğini düşünmekteyiz.

Bu çalışmada gebe sıçanlarda L-NAME ile oluşturulan preeklampsi sırasında Kurkumin uygulamasının bir sonucu olarak ortaya çıkabilecek beyin dokusu, KBB bütünlüğü ve plazma düzeyinde etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Preeklampsi

Preeklampsi, 20. gebelik haftasından sonra gelişen hipertansiyon (DKB \geq 90 mm/Hg) ve proteinüri (\geq 300 mg 24 saatte veya spot idrarda) olarak tanımlanır (Milne ve diğ. 2005). Preeklampsili gebelerde, hipertansiyon ve proteinürinin yanında periferik ödem eşlik etmektedir. Preeklampsili gebelerde artan ödem endotelial vasküler disfonksiyonun göstergesidir. Bunun yanında başağrısı, pıhtılaşma bozukluğu ve respiratuar distress sendromu preeklampsi gebelerde görülen patolojilerdendir.

Preeklampsi sadece gebeliğe özgü bir patolojidir ve gebeliğin sonlanması ile ortadan kalkar. Ama özellikle kronik hipertansiyon, ikiz doğum, Diabetes Mellitus (DM) gibi predispozan risk faktörleri varsa multiparlar da düşünülebilir. Yıllardır süren çalışmalara rağmen yüksek risk grubunun tesbitinde halen sorun teşkil etmektedir. Preeklampsinin klinik semptom ve bulguları çok iyi bilinmesine karşın etyolojisi kesin olarak bilinemediğinden, hastalığın önlenmesi ve tedavisi mümkün olmamaktadır. Yani preeklampsi tedavisindeki asıl problem, patofizyolojisinin tam olarak aydınlatılmamış olmasıdır.

Preeklampsi tanısı için aşağıdaki iki kriter esastır (Gifford ve diğ. 2000, Abuelo 1992, Kuo ve diğ. 1992, Meyer ve diğ. 1994).

1. Hipertansiyon preeklampsi tanısının en önemli kriteridir. Kan basıncı önceden normal olan bir bayanda hamileliğin 20. haftasından sonra hipertansiyonun gelişimi (SKB \geq 140 mm Hg ya da DKB \geq 90 mm Hg).

2. Proteinüri geç gelişen bir bulgudur, hipertansiyon varlığında anlamlıdır. 24 saatlik idrarda ≥ 0.3 g (≥ 300 mg) protein olarak tanımlanan proteinüri dir. Bu genelde temiz idrar numunesinde (spot idrar örneği) 1+ veya üzerinde dipstick okumasına karşılık gelir.

Bu iki kriterin yanında normal gebelerde hafif olarak görülen ödem preeklampitik gebelerde tamamen patolojiktir. Geç ortaya çıkan bir bulgu olması ve yeni başlayan preeklampside bazen görülememesi, tanı koymak için gereken bir bulgu değildir (Helewa ve diğ. 1997, Brown ve diğ. 2001, Gifford ve diğ. 2000). Generalize olması, yüz ve elleri tutması, sabah kalktıktan sonra kaybolmaması önemli özelliğidir. Bundan dolayı ödem hariç diğer bulgular preeklampsi tanısı için mutlaka bulunmalıdır.

Aynı zamanda erken başlayan şiddetli preeklampsi olgularında Antitrombin III eksikliği, Protein S yetmezliği, aktive Protein C rezistansı, hiperhomosisteinemi görülme sıklığı yükselir (Dekker ve diğ. 1998, Dekker ve diğ. 1995).

Preeklampsi; hipertansiyonun şiddetine, proteinüri miktarına, doku ve organların etkilenen derecesine bağlı olarak hafif ve şiddetli formlara ayrılır.

2.2. Preeklampsi İnsidansı ve Risk Faktörleri

Preeklampsi, insan gebeliğinin multisistem bir hastalığı olup, gebe kadınların %3-5'inde görülen (Lie ve diğ. 1998) önemli bir maternal mortalite nedenidir. Preeklampsi hastalarında dünyada heryıl 50.000 kadın ve 900.000 perinatal ölüm gerçekleşmektedir (Mohaupt 2007). Ağır preeklampsiye vakaları %1'den az görülürken, eklampsi hastalarına %0.1 oranında

rastlanmaktadır. Eklampsi gelişmiş ülkelerde 1:2000, gelişmekte olan ülkelerde ise 1:100-1:1700 olarak bildirilmiştir (Douglas ve Redman 1994).

Risk faktörleri;

1. Nulliparite (Doğurmamışlık)
2. Multipar kadınlarda (Birden çok doğum yapmak)
 - a. Daha önceki gebeliklerde preeklampsi olması
 - b. Son bebek ile 10 yaş fark olması
3. Proteinüri
4. Çok sayıda gebelik (Multiparite)
5. Annede veya kız kardeşte gebelikte preeklampsi olması.
6. DKB > 80 mm/hg
7. Kırk yaş üzerinde olmak
 - a. Nullipar kadınlar
 - b. Multipar kadınlar
8. Vücut kitle indeksi > 35 kg/m²
9. Altta yatan medikal bozukluklar (hipertansiyon, böbrek hastalıkları, diyabet, antifosfolipid antikor)

2.3. Etiyoloji ve Patogenez

Preeklampsi uzun yıllardır bilinen bir hastalık olmasına rağmen etiyojisi ve patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır. Patofizyolojik alanlardaki çalışmalar hipertansiyon, böbrek fonksiyonları, endotel disfonksiyonu, koagülasyon ve son yıllarda hormonal, immünolojik ve genetik etkenlerde yoğunlaşmıştır. Yaygın vazospasm ile seyreden bu hastalık uterus, plasenta ve böbrek gibi çok sayıda organda kan perfüzyonunu azaltmaktadır. Vasküler daralma kan akımına karşı dirence

yol açar ve arteriyel hipertansiyon oluşmasına neden olur. Vasküler endotel hücrelerinde meydana gelen bu değişiklikler, endotel hücre hasarına neden olur ve endotel hücreleri fibrin ve birçok kan bileşenini subendotelyal alana sızdırmaya başlar. Bütün bu vasküler değişiklikler lokal hipoksi ile birlikte nekroz ve preeklampsi tablosunu oluşturur (Zhou ve diğ. 2013).

Yapılan yoğun çalışmalara karşın gelinen nokta etiyopatogenezin açığa çıkarılmasında bir kısım hipotezlerden ibaret kalmıştır. Bu hipotezlerden bazıları; anormal trofoblast invazyonu, koagülasyon anormalliği, damar endotel hasarı, immünolojik bozukluk, genetik yatkınlık olarak gösterilir (Sibai 1990). Genel olarak preeklampsiye ait etiyopatogenezde, bozulmuş Prostoglandin I₂ (PGI₂)- tromboksan A₂ (TXA₂) dengesi, oksijen serbest radikalleri, nitrik oksit metabolizması, homosistein ve trombofilinin muhtemel tetikleyici etkisi ve kalsiyum metabolizmasındaki dengesizliklerin bir sonucu olan maternal vasküler endotelyal disfonksiyon rol almaktadır (Dekker ve Sibai 1998). Endotel disfonksiyonu ile preeklampsideki multisistem tutulumu açıklamak mümkün olmaktadır.

2.3.1. Oksidatif Stres

Çalışmalar preeklampside plasenta kaynaklı oksidatif strete artışın olduğunu ve maternal dolaşımında da oksidatif stres ürünlerinin artış gösterdiğini, buna karşın antioksidan aktivitenin ise azaldığını göstermektedir (Vanderlelie et al. 2005; Madazli et al. 2008; Uzun et al. 2005). Yani preeklampside azalmış plasental perfüzyona bağlı olarak artmış lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistemler tarafından tamponlanamayan serbest oksijen radikallerinin birikimi görülmektedir. Artan oksidatif stres sonucu preeklampitik gebelerde yaygın endotel hasarı meydana gelmekte, bu

etki serbest radikallerin sistemik dolaşımında damar endotelinin yapısını bozarak lipid peroksidasyonuna ve yaygın oksidatif hasara neden olmaktadır (Poston ve Raijmakers 2004). Serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve artmış lipid peroksidasyonu preeklampsideki immünolojik mekanizmaları ve yaygın endotel hasarını göstermekte bu nedenle endotelyal hastalıklarda temel sebebinin oksidatif stresten kaynaklandığı düşünülmektedir (Witztum 1994). Yine bu endotelyal değişikliklerin nedeni olarak maternal dolaşımında sinsityotrofoblast fragmanlarının bulunması gösterilmektedir. Bu fragmanlara karşı artmış inflamatuvar yanıt sitokinlerin miktarında artışa ve endotelyal fonksiyonlarda azalmaya neden olur. Ayrıca endotelyal değişikliklerden pıhtılaşma sistemleri de etkilenmektedir (Bulla ve diğ. 2003, Sidorova ve diğ. 2007).

Preeklampside artan lipid peroksidasyonuna bağlı olarak yükselen lipid peroksidaz siklooksijenaz yolağını inaktive ederek plasentada TXA₂/PGI₂ dengesini önemli bir vazokontrüktör olan TXA₂ lehine bozar. Ayrıca artmış serbest radikaller seviyesi endotelinleride arttırır (Walsh 2004). Preeklampside gebelik maladaptasyonu, nötrofil, makrofaj ve T-hücrelerinin aktivasyonu ile serbest oksijen radikalleri oluşumu artmaktadır. Glutatyon peroksidaz (GP) gibi lipid peroksidaz inhibitörü ve süperoksit anyonlarını inhibe eden Süper oksit dismutaz (SOD) azalmış seviyeleri serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidaz artışına yol açar. Preeklampside artan plasental lipid peroksidasyonu ve serbest radikaller bir vazodilatatör olan nitrik oksidin inaktivasyonuna neden olur (Yang ve diğ. 1994, Walsh ve Wang 1993, Wang ve Walsh 1998).

Plasentada iskemik reperfüzyon ve hipoksiye neden olan spiral arter yapılanmasındaki problemler, plasenta kaynaklı oksidatif stresin ana nedenidir (Redman ve Sargent 2008). Birçok çalışmada plasental kaynaklı

oksidatif stres trofoblastlarda serbest radikal artışına bağlı apoptozise yol açmakta ve gebelerin plasentalarında da apoptozis artışına sebep olmaktadır (Huppertz ve diğ. 2003).

Materna-fetal bileşkede bulunan hücrelerde dengeli sitokin ekspresyonu optimum koşullarda plasentanın normal oluşum ve gelişimi için gereklidir. Ancak endotel fonksiyonlarının düzenlenmesinde de etkili olan sitokinlerin, preeklampitik gebelerde salınım ve fonksiyonlarında dengesizlikler meydana gelmektedir. Preeklampside antioksidan sistemler tarafından tamponlanamayan serbest oksijen radikallerinin birikmesi, nötrofiller ve makrofajların aktivasyonuna neden olarak endotel hücrelerin aktivasyonuna ve sitokin üretiminde artışa sebep olurlar. Preeklampside, plasenta, amniyon sıvı, plazmada IL-2, IL-6, IL-12, TNF- α ve TNF- α reseptörleri artmış olarak bulunmuştur (Lockwood ve diğ. 2008, Tarnowska-Madra ve diğ. 2010, El-Kabarity ve Naguib 2011).

2.3.2.Yetersiz Trofoblastik İnvazyon ve Plasental İskemi

Preeklampsi etyopatogenezindeki plasentasyonda, maternal vasküler cevaptaki yetersizlik de neden olarak gösterilmektedir. Plasentasyonda maternal vasküler cevap spiral arterlerin trofoblastik dokular tarafından endovasküler invazyonu ile oluşur. Böylece spiral arterler uteroplental arterlere dönüşür. Normal gebelikte görülen bu trofoblastik invazyon preeklampside yetersizdir ve bu yetersizlik hem myometriyal invazyonda hemde spiral arterlerin modifikasyonunda kendini gösterir (Madazli ve diğ. 2002; Jauniaux ve Nicolaidis 1996).

Normal gebelikte spiral arterlerin çapları belirgin olarak artar ve uteroplental, serebral, hepatik ve renal kan akımlarında da belirgin artış

olduğu bilinmektedir. Preeklampside ise kalp debisinde, kan hacminde, arteriyal kan basıncı ve periferik dirençte artma, uteroplasental ve renal kan akımlarında azalma görülmektedir (Khong ve diğ. 1986, Rasmsey ve Haris 1966). Yetersiz trofoblastik invazyon sonucu spiral arterlerde yeterli dilatasyonun oluşmaması intervillöz alana anneye ait kanın daha yüksek basınçla girmesine neden olur, bu etki intervillöz alanda göllenme, fibrin birikimi, trombüs ve lümen içinde akımın kısmen veya tamamen durmasına sebep olabilmektedir (Jauniaux ve Nicolaidis 1996, Madazli ve diğ. 2003).

Temel patolojilerden birtanesi de spiral arter oluşumundaki patolojik bozukluklar nedeni ile intervilloz alanda iskemi-reperfüzyon tipi hasarın, hipoksinin, plasentada oksidatif strese bağlı serbest radikal oluşumunun, sitokin salınım bozukluğuna bağlı lökosit ve makrofaj aktivasyonuna yol açarak preeklampsi tablosuna neden olmasıdır (Hung ve Burton 2006, Genc ve diğ. 2011).

2.3.3. Sistemik Endotel Disfonksiyonu

Preeklampsi etyolojisinde iki temel patoloji yer almaktadır. Birincisi yetersiz trofoblastik invazyon, ikincisi ise; vasküler endotel hasarıdır. Bu patolojilerin varlığı plasantasyon sorununun yanında, anormal sitokin salınımı, oksidatif stres ve serbest radikallerin ortaya çıkması, makrofajların uyarılması, apoptozis ve maternal dolaşıma geçen maddeler ile yaygın endotel hasarına sebep olurlar. Görülen yaygın endotel hasarı preeklampside maternal belirtilerin ortaya çıkmasına sebep olur (Ahmed ve diğ. 2014, Szpera-Gozdziewicz ve Breborowicz 2014).

Endotel hücre hasarı, vasküler permeabilitenin bozulmasına neden olarak protein sızıntısına sebep olan hücre membran bütünlüğünün

bozulduğu, bunun sonucu preeklampatik kadınlarda proteinüri, periferik ve pulmoner ödemin meydana geldiği fizyopatolojik bir durumdur. Yani artmış intravasküler basınç ve endotel hasarının birlikteliği beyin, retina, akciğer, karaciğer ve subkutanöz dokularda ödemle sonuçlanan, sıvının intravasküler aralıktan ekstravasküler alana geçişine sebep olur.

Endotel multifonksiyonel bir organ olarak, patolojisinde tüm sistemleri ilgilendiren foksiyon yetmezliği ve eksiklikler meydana gelmektedir. Başlıca; metabolik bariyer oluşturur, kapiller transportu düzenler, plazma lipid içeriğini kontrol eder, hemostazda rol alır. Vasküler düz kas aktivitesini; PGI₂, endotel kökenli relaksasyon faktör (EDRF), endotel kökenli kontraktıl faktör (EDCF), TXA₂ ve diğer parakrin faktörler aracılığı ile modüle eder. Endotel hücreleri ayrıca trombosit agregasyonunu ve pıhtı oluşumunu engellerler. Endotel hasarı subendotelial bölgeye temas, platelet agregasyonu, TXA₂ sentezi ve pıhtılaşmada aktif rol alan komponentlerin salınımına yol açar (Silva ve diğ. 2012, Faraci 2011).

Prostasiklinin ana kaynağı endotelial hücrelerdir. Trombositler ise tromboksanın primer kaynağıdır. Normal gebelikte endotelial PGI₂ 8-10 kat artarken, preeklampatik gebelerde bu oran ancak 1-2 kattır. Preeklampatik gebelerde TXA₂ sentezinde daha belirgin bir artış vardır (Fitzgerald ve diğ. 1987). PGI₂ endotel kaynaklı potent bir vazodilatatör ve platelet agregasyonunun güçlü bir inhibitörü iken, TXA₂ platelet kaynaklı olup güçlü bir vazokontrüktördür ve platelet agregasyonunu stimüle eder. Endotelial disfonksiyon sonucu PGI₂ salınımı azalır ve subendotelial kollojenin açığa çıkması TXA₂'nin salınmasına ve platelet agregasyonuna neden olur. Endotel fizyolojisinin bozulmasında etkili olan lipid peroksidasyonu siklooksijenazı aktive ederek PGI₂ sentetazı hasara uğratar ve bu şekilde de PGI₂/TXA₂ dengesi TXA₂ lehine bozulur. TXA₂ lehine bozulmuş PGI₂/TXA₂ dengesi

preeklampsideki patofizyolojik mekanizmanın merkezinde bulunan vazokonstrüksiyon ve hipertansiyon gelişimine katkıda bulunur(Ylikorkala ve Viinikka 1992, Meagher ve FitzGerald 1993). Sonuçta generalize vazospazm, hemostaz bozukluğu, koagülasyon sisteminin aktivasyonu, tromboksan-prostasiklin dengesinin tromboksan lehine bozulması, hemodinamik dengesizlik ve uteroplental kan akımında azalmayla sonuçlanan patolojiler zinciri meydana gelmektedir (Şekil 1).

Nitrik oksit (NO) normal endotel hücreleri tarafından salgılanan bir diğer biyoaktif maddedir. NO'nun, lokal vazodilatasyon ve trombosit agregasyonu etkisi prostasiklin ile sinerjik etki oluşturmaktadır (Zachary 2001).

Preeklampitik kadınlar vazokonstrüktör ajanlara normal gebe kadınlardan daha hassastırlar. Bu durum prostasiklin gibi endojen vazodilatörlerin eksikliğine bağlıdır. Artmış arteriyal ve venöz vazokonstriksiyon sonucu gelişen artmış vasküler direnç, azalmış plazma volümü ve periferik ödeme neden olmaktadır (Redman 1991).

Preeklampsi patofizyolojisi yaygın endotelyal disfonksiyonuyla karakterizedir. Özellikle uteroplental perfüzyonda azalma ve buna bağlı olarak gelişen patolojiler endotelyal hasarın sebebi olarak gösterilmektedir. Endotelyal disfonksiyonun hem vasküler, hemde intravasküler koagülasyonu değiştirerek preeklampsinin patogenezinde temel bir role sahiptir. Ayrıca endotel disfonksiyonu ile preeklampsideki multisistem tutulumu açıklamak mümkün olmaktadır (Sanchez-Aranguren ve diğ. 2014).

Endotel hücreleri NO, prostaglandin ve endothelin salınımı ile damar endotelinin antitrombotik özelliğini, damar duvarının tonusunu, lökosit ve trombositlerin adezyonunun düzenlenmesi ve permeabilitesini sağlar. Preeklampside vasküler endotelyal hücre disfonksiyonu markırları olan

azalmış prostasiklin seviyesi, artmış TXA2, Endotelin-1 (ET-1), hücreyel fibronektin ve trombomodulin düzeyi, preeklampitik gebelerde faktör VII antijen ve vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM) gibi endotel hücre hasar belirteçleri de artış gösterir (Boffa ve diğ. 1998, Berköz ve Yalın 2009) .

Yapılan çalışmalarda, preeklampitik gebelerde endotel hasarın lökosit aktivasyonu veya disfonksiyonuna bağlı olarak artığı ve bazı hastalarda endotel hasarının morfolojik lezyonu olan glomerüler endoteliozise neden olduğu belirtilmektedir. Glomerüler endoteliozis, başka hiçbir hipertansiyon tipinde olmayan, preeklampsiye özgü renal bir patolojidir (Lyll ve diğ. 1994, Roberts ve diğ. 1989).

Preeklampside nötrofil aktivasyonu, maternal plasentada gözlenmektedir. Nötrofillerin aktivasyonu vasküler hasara sebep olabilecek endotelyal hücre bütünlüğünü ve subendotelyal matriksi zedeleyen elastaz ve proteaz salgılanmasına neden olabilir (Wang ve diğ. 2007, Laresgoiti-Servitje 2013).

2.3.4. Genetik faktörler

Preeklampitik gebelerde yapılan çalışmalar, preeklampsinin genetik temelini de olduğunu, resesif tek gene bağlı geçiş gösterdiğini ancak bunun yanında multifaktöriyel geçişinde sözkonusu olabileceğini göstermektedir (Chesly LC 1986).

Anjiotensinojen gen varyantı T235'i taşıyan gebelerde preeklampsi riskinin daha yüksek olduğu gösterilmiş (Ward ve diğ. 1993). Faktör V Leiden mutasyonuna preeklampsi gebelerde daha sık rastlandığı bulunmuştur (DizonTownson ve diğ. 1996).

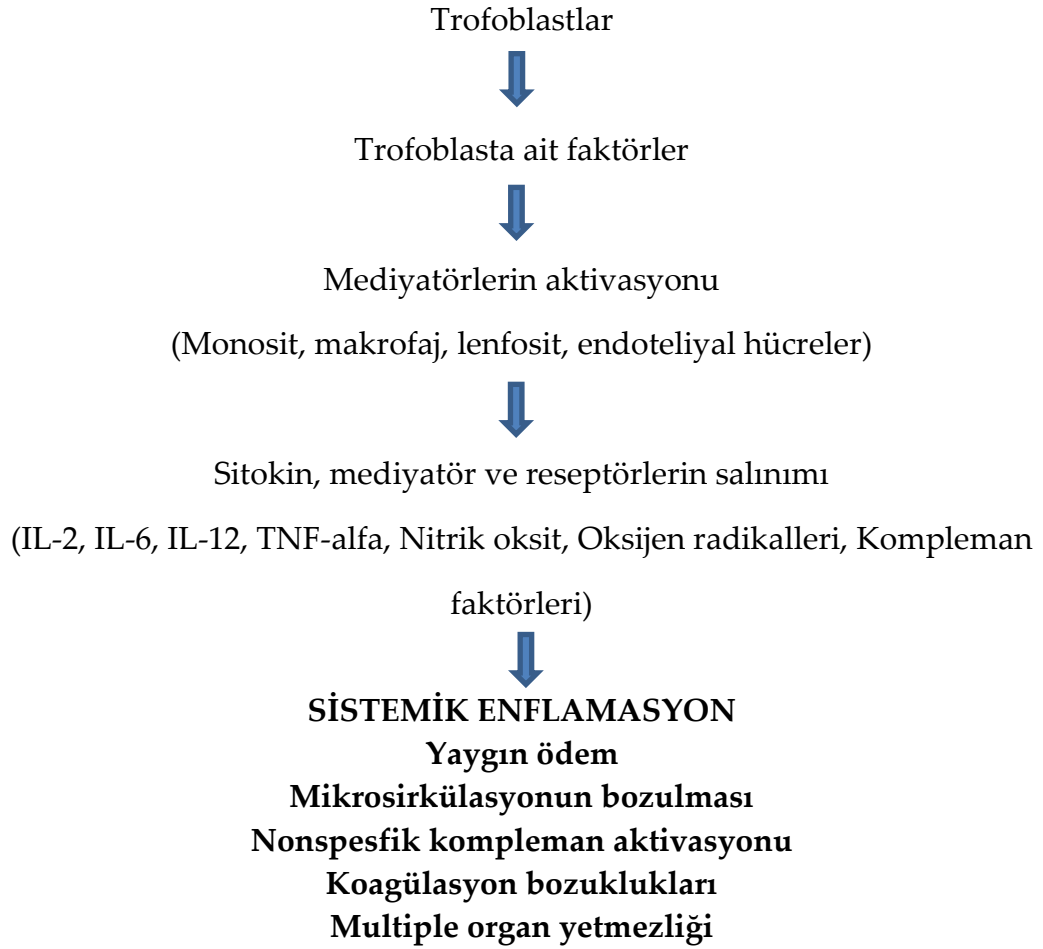
Hoff ve arkadaşları, fetal anti-HLA-DR4 antikorunu doğrudan etkileyen maternal humoral kaynaklı cevabın, gestasyonel hipertansiyon gelişimini etkileyebileceği düşünmüşler ve bunun çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini göstermişlerdir (Hoff ve diğ. 1992).

2.3.5. İmmünolojik faktörler

Preeklampsi patolojisinde hücre sel yanıtın azalması, nötrofillerin aktivasyonu ve sitokinlerin katılımı gibi immünolojik mekanizmalar etkin rol alır. Paternal/fetal antijen ile ilk karşılaşma immün reaksiyonun başlamasına neden olur. Preeklampsi de yeni eşinden oluşan ilk gebelikte ve HLA-B de daha sık görülür (Stirrat 1987; Chesly LC 1986; Dekker 2002; Feeney ve Scott 1980).

Anne ile fetus arasındaki histokompatibilitenin artması önemli görülmektedir. Sitotrofoblastlarca ortaya koyulan histokompatibilite antijeni (HLA-G) plasentayı rejeksiyondan korumaktadır(Kovats ve diğ. 1990).

HLA-G sitotrofoblastlar üzerinde yer alan class-1 antijenidir. Klasik HLA antijenlerinin tersine HLA-G antijeni tüm fetuslarda benzerdir. Bununla ilişkili olarak anne ile fetus arasında normal koşullarda rejeksiyon beklenmez. Ancak HLA-G antijenin azaldığı durumlarda ya da değişik HLA-G epitoplari ile maruziyet sonucu maternal immün cevap aktive olabilir. HLA-G'nin polimorfizminin preeklamptik gebelerde yaygın olduğu ile ilgili bilgiler sınırlıdır(O'Brien ve diğ. 2001).



Şekil 1. Sistemik enflamatuvar cevap ve preeklampsi (Parmaksız ve diğ. 2006)

2.4. Preeklampsi Hayvan Modelleri

Preeklampsi hayvan modelleri; maternal hipertansiyon, endotelial disfonksiyon, proteinüri ve anjiogenik faktörlerde dengesizlik gelişimi gibi patolojilere sahip olmalıdır. Preeklampsi hayvan modellerindeki değişiklikler doğumun gerçekleşmesi ile düzelmeli ve fetal sonuçlarda uygunluk sağlanmalıdır. Bu patofizyolojinin gelişimi ilk trimesterde trofoblast invazyonunda meydana gelen hasar sonucunda olmalıdır. Bu

patolojik mekanizmalar, anormal nitrik oksit (nitrik oksit sentaz knockout fare), renin anjiotensin sisteminde anormallikler (transjenik modeller), hipoksi (uterin perfüzyon basıncı azalması modeli), aşırı maternal immün yanıt (TNF- α infüzyonu) ve anjiogenezde hasarlanmayı (sflt-1(VEGF reseptör solübl formu) infüzyon modelleri) kapsamalıdır (McCarthy ve diğ. 2011).

Preeklampsi hayvan modellerinde bazı kısıtlamalar vardır. Farelerin üç haftalık gebeliklerinde trofoblastik invazyon yüzeyel oluşmakta, insan plasentasında üç tabaka olmasına karşılık farelerde bir tabaka sinsityotrofoblast vardır. Gerçek anlamda preeklampsinin sadece insanlarda geliştiği ve insana özgü bir patoloji olduğu düşünülmektedir (McCarthy ve diğ. 2011).

Sınırlayıcı yönleri olmasına rağmen preeklampsi hayvan modelleri preeklampsi gelişmesine neden olan birçok patofizyolojik mekanizmayı anlamamızı kolaylaştırmıştır.

2.5. Kan-Beyin Bariyeri

Kan Beyin Bariyeri (KBB); fonksiyonları için beyin ihtiyacı olan besinleri sağlayan, zararlı maddelerden beyni koruyan, ekstrasellüler ortamla bağlantısını düzenleyen, beyin vasküler endotel hücrelerinin oluşturduğu özelleşmiş bir sistemdir. KBB'den beyin hücrelerine madde geçişi hem metabolik (enzim) bariyeri sayesinde, hem de fiziksel (tight junction (TJ): sıkı bağlantılar) bariyeri sayesinde çok sıkı kontrol etmektedir. Böylece patolojik ajanların beyne geçişi yapının bütünlüğü sayesinde neredeyse imkansızdır. Bundan dolayıdır ki KBB'nin sinir sistemi patolojilerinde anahtar rol oynadığı düşünülür.

KBB kavramı, ilk defa 1902 yılında Alman mikrobiyolog Paul Ehrlich tarafından yapılan araştırmalarla gösterildi. Bu çalışmada tripan mavisini intravenöz (i.v.) olarak hayvanlara uyguladığında, beyin hariç diğer organların boyandığı gösterildi ve bu yapı KBB olarak ifade edildi. Bu alışmayı Ehrlich'in öğrencisi Goldmann daha ileri düzeeye taşıyarak, 1909-1913 yıllarındaki araştırmalarında, direkt beyin omurilik sıvısı içine verdiği boyanın tüm beyni boyadığını fakat diğer organları boyamadığını gösterdi (Goldmann 1913). 1940'lı yıllarda Broman bu çalışmalarla beyinde KBB ve kan-beyin omurilik sıvısı olmak üzere iki tane bariyer sisteminin olduğunu, bu sınırlayıcı ve seçici bariyer sisteminin beynin vasküler endotel hücreleri aracılığıyla gerçekleştiğini açıklamıştır (Broman ve diğer. 1965).

Elektron mikroskopu kullanılmaya başladıktan sonra, KBB daha ayrıntılı keşfedilmeye başlandı. Reese ve Karnovsky beyin kapillerinin spesfik yapısını göstermek için horseradish peroksidazı intravenöz uygulayarak elektron mikroskopunda KBB yapısını ultrastrüktürel düzeyde göstermişlerdir (Reese ve Karnovsky 1967).

Bu çalışmalardan yaklaşık iki yıl sonra elektron mikroskopu ile beyin vasküler endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar olduğunu ve bu endotel hücrelerinin diğer endotel hücrelerinden farklı olduğunu göstermişlerdir (Brightman ve Reese 1969).

Yapılan alışmalar artık KBB'nin çok hassas ve özel bir yapı olduğunun anlaşılmasına neden oldu. Stewart ve Wiley, 1981 yılında KBB'ni periferik organ kapiller bağlantıları ile karşılaştırdığında, KBB sıkı bağlantı yapı ve fizyolojisinin daha hassas ve spesfik olduğunu göstermişlerdir (Stewart ve Wiley 1981).

Bu alışmalar bize beyin kapillerinin beyin ve diğer organlar arasında fizyolojik bir bariyer özelliğine sahip olduğunu göstermiştir.

2.5.1. Kan-Beyin Bariyeri Yapısı ve Özellikleri

Santral sinir sistemi (SSS), yapı olarak en hassas ve en karmaşık yapıya sahiptir. Kan Beyin Bariyeri beyni kanda çözünen zararlı ajanlardan koruyan, beyne en uygun ortamı sağlayan, aynı zamanda beynin kan akımını düzenleyen kritik bir role sahiptir (Abbott ve diğ. 2010, Abbott 2002).

Beyinde bazı bölgeler KBB içermezler. Sirkumventriküler organ olarak bilinen bu bölgeler, periferik değişimleri hızla algılar ve ani değişimlerden organizmayı korurlar.

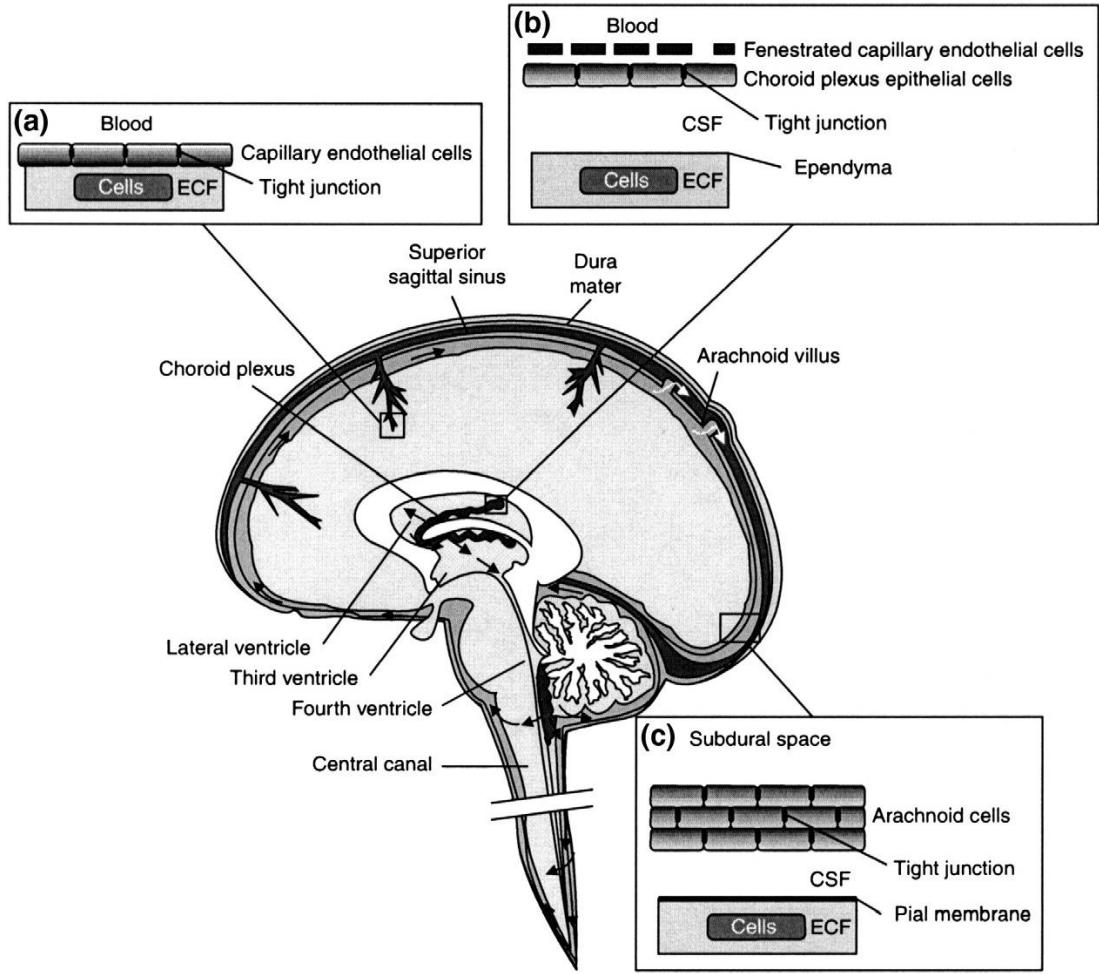
Sirkumventriküler organlar; pineal bez, supraoptik krest, nörohipofiz, area postrema, koroid pleksus, median eminens, altkomissural organ ve subfornikal organdır (Weiss ve diğ. 2009).

SSS'nde yapılan çalışmalarda birden çok bariyerden söz edilmektedir (Şekil 2). Bunlar;

1-Kan ve kapiller endotel hücreleri arasındaki bariyer; Kan Beyin Bariyeri

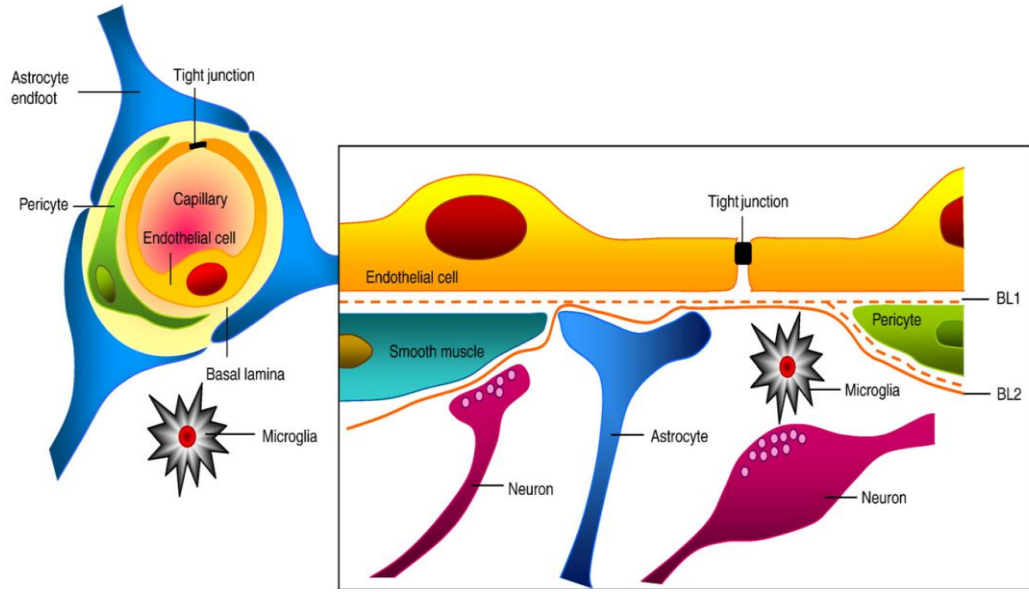
2-Kan ve avasküler araknoid epitel arasındaki bariyer

3-Koroid pleksus epitel hücreleri ile kan arasında bulunan, kan-beyin omurilik sıvısı bariyeri; KBOSB



Şekil 2. Beyindeki bariyer yapıları (Abbott ve diğ. 2010).

Kan Beyin Bariyeri; sıkı bağlantılara (TJ) sahip kapiller damarların endotel hücreleri, endotelin üstünde bulunan bazal membran, bu hücreleri çevreleyen damar çeperinin dış tabakasındaki perisitler ve beynin gri maddesi içinde bulunan yıldız şeklindeki astrositlerin ayaklı uzantıları, en dışta ise pia-araknoid zarlar ve koroid pleksus yapıları tarafından oluşturulmaktadır (Chaudhuri 2000, Abbott 2005) (Şekil 3).



Sekil 3. Kan Beyin Bariyerinin genel yapısı (Abbott ve diğ. 2010).

KBB'ni oluşturan santral sinir sistemi kapilleri periferik kapillerden farklı olarak bazı özelliklere sahiptirler. Bu özellikler KBB'nin koruyucu mekanizmasını ön plana çıkarmaktadır.

Bunlar;

- 1- İyon permeabilitesinin çok düşük düzeyde olması
- 2- Çok yüksek elektriksel dirence sahip olması
- 3- Mitokondri sayısının periferik kapillere göre daha fazla olması
- 4- Çok miktarda enzim içermesi
- 5- Endotel hücrelerinin tight junction denen sıkı bağlantılar içermesi
- 6- Suda eriyen maddelere karşı düşük geçirgenlik
- 7- Devamlı bir bazal membran (Abbott ve diğ. 2010; Cornford ve diğ. 1997).

Kan Beyin Bariyeri bu özellikleri ile beyin hemostazisini sağlayan ve ekstrasellüler ortamı sıkı bir şekilde düzenleyen kusursuz bir mekanizmadır. KBB devamlı bir bazal membran ve sıkı bağlantılar sayesinde suda çözünen

maddelerin kandan santral sinir sistemine geçişini ve serebral parankime penetrasyonunu sınırlar.

Bunun yanında KBB endotel hücreleri molekül ağırlığı 10.000'in altındaki moleküllerin geçişine izin veren porlar ve fenestrasyonların yokluğu ile periferik kapillerden farklı özellik gösterirler (ElAli ve diğ. 2014).

KBB, beyinde farklı mekanizmalar ile bariyer özelliğini göstermektedir. Endotel hücrelerinin sitoplazmasındaki enzimler ile sağlanan enzimatik bariyer, endotel hücrelerindeki TJ'lar ile oluşturulan fiziksel bariyer ve spesifik taşıyıcıların rol aldığı transport bariyerinden oluşmaktadır.

KBB'nin transport mekanizması genellikle luminal membran yüzeyinde bulunurken, beyinden kana madde geçişini ise KBB'nin abluminal yüzeyinde bulunan sistemler gerçekleştirir. KBB hücrelerinin luminal ve abluminal membran yüzeyleri arasında bir kutuplaşma mevcuttur (Betz ve diğ. 1980).

Beyinin kapiller endotelinde, histolojik bariyerin yanında bazı nörotransmitter ve ilaçları sitoplazmada inaktif forma dönüştürerek, beyne geçişlerini engelleyen enzimatik bariyer mevcuttur (Tablo 1). Enzimatik bariyer olarak fonksiyon gören alkalen fosfataz (ALP), aromatik asit dekarboksilaz, sitokrom p-450 ve gama glutamil transpeptidaz (γ -GTP) gibi bu spesifik enzimler, beyinde çok yüksek oranda bulunurlar. Gama glutamil transpeptidaz ve ALP luminal tarafta bulunurken, Na⁺-K⁺-ATPaz ve sodyum bağımlı nötral aminoasit taşıyıcılar abluminal yüzeyde bulunur. Ayrıca luminal membran yüzeyinde özellikle kemoterapötiklerin dışarı çıkışını sağlayan P-glikoprotein (P-gp) bulunmaktadır (Gültürk ve diğ. 2007). Endotel bariyer antijeni (EBA), GLUT-1 ve γ -GTP spesifik bariyer belirteçleridir (Betz ve diğ. 1980, Gültürk ve diğ. 2007).

Tablo 1. KBB’de görev alan enzimlerin listesi (Gültürk ve ark. 2007).

Enzimler	Fonksiyonları
Dopa-dekarboksilaz	L-Dopanın dopamine dönüşümü
Monoamine oksidaz-B	Katekolaminlerin inaktive edilmesi (5-HT)
Psödokolinesteraz	Eroinin morfine deasetilasyonu
Sitokrom p450	Kodeinin morfine demetilasyonu
Renin	Anjiotensinoje’nin Anjiotensin I’e çevrilmesi
Dipeptidil dipeptidaz	Enkefalin metabolizması
ACE	Enkefalin, Anjiotensin I, Nörotensin ve Bradikinin metabolizması
Aminopeptidaz A	Angiotensin metabolizması
Aminopeptidaz M	Opioid degradasyonu
Glutamil aminopeptidaz	Anjiotensin II’nin Anjiotensin III’e çevrilmesi
Enkefalinaz	Enkefalin, Endotelin, and Bradikinin degradasyonu
Endopeptidaz	Dinorfin, Bradikinin, Angiotensin II ve LHRH degradasyonu
Gama-glutamiltranspeptidaz	Lökotrien C4’ün Lökotrien D4’e dönüştürülmesi
Alkaline fosfataz	Pürine ve pirimidin metabolizması

KBB yapısında bulunan sıkı bağlantılar endotel hücreleri arasında yüksek elektrik direnci de oluştururlar (Tablo 2). Bu yüksek elektriksel direnç periferik vasküler endotelde 3-33 Ω /cm² iken KBB'nde yaklaşık 2000 Ω /cm² dir (Butt ve diğ. 1990). Bunun etkinin sonucu olarak KBB'nde parasellüler permeabilite azalır.

Tablo 2. Vücuttaki bazı kapillerin elektriksel dirençleri (Butt ve diğ. 1990).

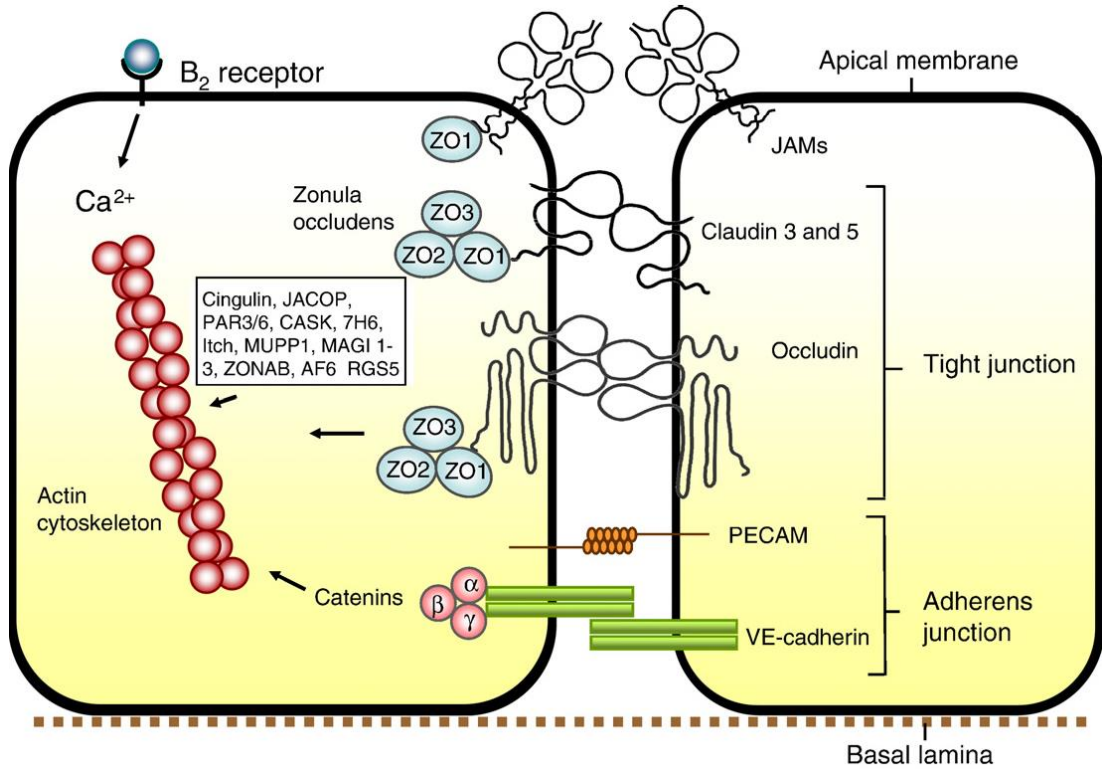
1	Mezenterik kan damarı 2 Ω /cm ²
2	Erişkin kas damarları 20-30 Ω /cm ²
3	Fötal kan beyin beriyeri 310 Ω /cm ²
4	Doğumdan sonra fötal kan beyin beriyeri 1128 Ω /cm ²
5	Erişkin kan beyin beriyeri 2000 Ω /cm ²

2.5.2. Kan-Beyin Bariyeri Sıkı Bağlantıları

Kan beyin bariyerinin en önemli yapısını oluşturan, beyin endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılardır. Koroid pleksus epiteli, araknoid epitel ve serebral endotel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar, kandan beyin dokusuna birçok madde ve makromoleküllerin geçişini engelleyen en önemli yapılardır. Sıkı bağlantı yapıları endotel hücreleri arasında moleküllerin parasellüler geçişini sınırlayan önemli bir bariyer oluşturur. Aynı zamanda endotel ve epitel hücrelerinin luminal ve abluminal plazma membran bölümlerini ayırarak, bu bölümlerdeki farklı protein ve lipid yapıyı korur. TJ yapıları lokal ve dolaşımdaki bazı maddeler ile etkileşerek parasellüler geçişi ve etkisini dakikalar içerisinde değiştirme ve düzenleme kabiliyetine sahiptir (Abbott ve diğ. 2010).

2.5.2.1. Sıkı Bağlantılar

KBB yapısında sıkı bağlantı proteinleri olarak, integral transmembran proteinlerini; okludin, klaudin, bağlantı adezyon molekülü (Junctional adhesion molecule: JAM) ve sitoplazmik uzantıları; Zonula okludensler (ZO-1, ZO-2, ZO-3), singulin, 7H6, Afadin (AF6) oluşturmaktadır (Şekil 4). Ayrıca KBB yapısında yer alan, sitoplazmik ve membran proteinleri ile bağlantıda olan hücre iskeleti proteini aktin, hücrenin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün korunmasında çok önemli bir role sahiptir (Abbott ve diğ. 2010, Stevenson ve Keon 1998, Ueno 2007).



Şekil 4. Kan Beyin Bariyerinde endotel hücreleri arasındaki bağlantı Kompleksi (Abbott ve diğ. 2010).

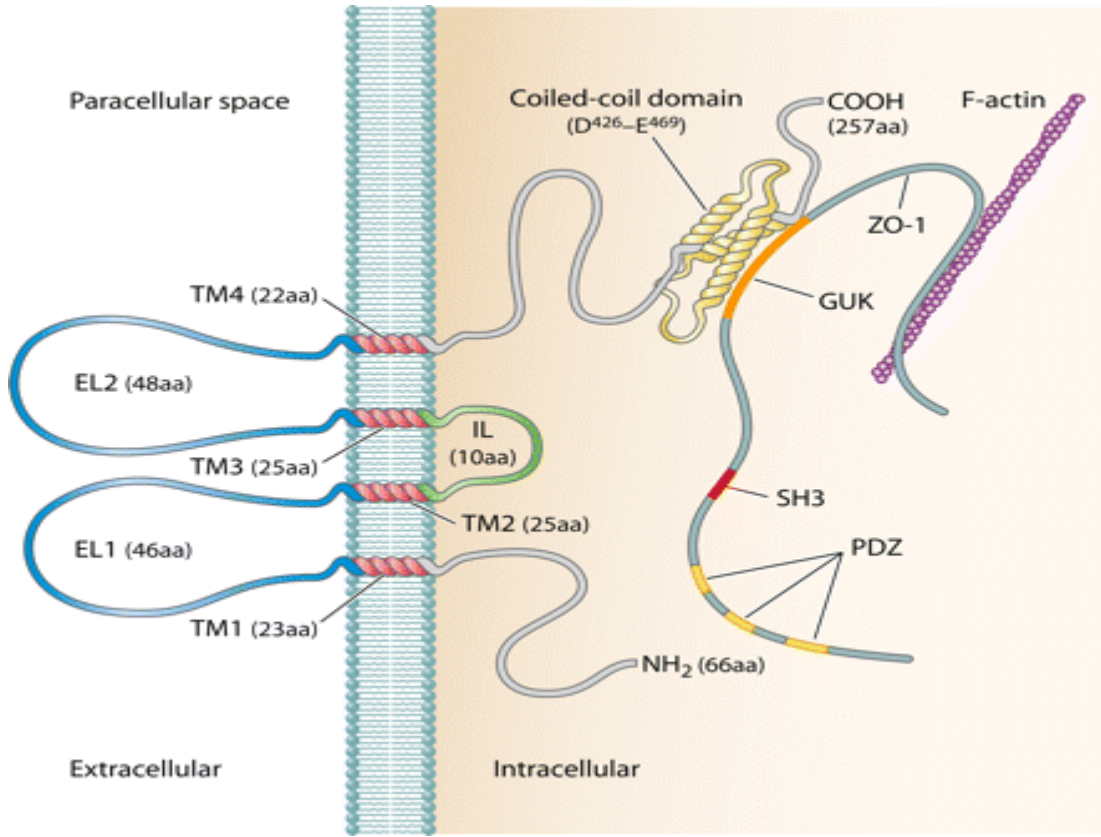
2.5.2.1.1. İntegral Proteinler

2.5.2.1.1.1. Klaudinler

Sadece TJ yapıları içerisinde bulunan fosfoprotein yapılı proteinlerdir. Dimer oluştururlar ve C terminal uçları ile hücre içinde ZO-1, ZO-2, ZO-3'ün PDZ bölgelerine (postsynaptic density-95 protein) bağlanır. Klaudinler, TJ yapısında bitişik endotel hücrelerindeki klaudinlere bağlanarak parasellüler geçirgenliğin anahtar proteini olduğunu gösterir (Abbott ve diğ. 2010).

2.5.2.1.1.2. Okludinler

KBB'nin endotel hücreleri sıkı bağlantılarında ilk keşfedilen integral membran proteinidir. Yaklaşık 60~65 kDa ağırlığındaki okludin, iki ekstrasellüler domein, üç sitoplazmik domein ve dört adet transellüler domein içerir. Okludin, yapısında ki serin ve treonin rezidüllerinin fosforillenmesi durumuna göre bariyer geçirgenliği ve hücre membranı ile ilişkisi düzenlenir. Ekstrasellüler loop, transmembran ve sitoplazmik C-terminal domeini parasellüler permeabilitenin düzenlenmesinde görev alır. Ayrıca C-terminal domeini yüksek oranda ZO-1 proteinine bağlanarak aktin ile doğrudan ilişki içerisinde. N-terminal sitoplazmik domein ise nötrofilin trans-epitelyal göçünü, TJ bütünlüğünün korunması ve bariyer fonksiyonunun sürdürülmesini düzenler (Correale ve Villa 2009; Liu ve diğ. 2012) (Şekil 5). Okludinin membrandaki yoğunluğu elektriksel direnç artışı ile paralellik göstermektedir (Abbott ve diğ. 2010, Ballabh ve diğ. 2004).



Şekil 5. Okludin anatomik yapısı. EL1-2: Ekstrasellüler loop1-2, TM1-4:Transmembran domain1-4, ZO1: Zonula okludens1, GUK: Guanilat Kinaz domein, IL: İnrtrasellüler loop (Cummins 2012).

Okludin TJ transmembran proteinlerinden parasellüler permeabilite de en etkili olan sıkı bağlantı proteinleridir (Kucuk ve diğ. 2012). Endotelial sıkı bağlantılarda okludin yapısının bozulması kapiller geçirgenliği arttırarak KBB permeabilite artışından sorumlu olabilir. Yapılan çalışmada, subaraknoid hemaraji (SAH) sonrası yapısı bozulan KBB'de okludin ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir (Li ve diğ. 2014). Astrositlerin hasarlanması nedeniyle de, okludin gibi sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyon azalması sonucu KBB vasküler permeabilitesi ve bütünlüğü bozular (Neuhaus ve diğ. 2014). Kanserde hücre-hücre adezyonunun

bozulması ve inflamasyona bağlı KBB geçirgenliğin artmasında okludin yapısının bozulması ve ekspresyonunun azalması sorumlu tutulmuştur (Forster 2008; DosSantos ve diğ. 2014).

2.5.2.1.1.3. Bağlantı Adezyon Molekülü (JAM)

40 kDa ağırlığında glikolize bir proteindir. Bağlantı bölgelerinde okludini stabilize eden, TJ ile ilişkili üç tipi belirlenmiştir. Okludin, ZO-1 ve singulin ile ortak yerleşim gösterirler. Monosit göçü ile ilişkilidir. Çalışmalarda monoklonal antikor ile JAM inhibisyonu sağlanarak monosit taransmigasyonunun engellendiği gösterilmiştir(Ueno 2007, Abbott ve diğ. 2010)

2.5.2.1.2. Sitoplazmik Proteinler

Sitoplazmada bulunan regülatör proteinler sıkı bağlantı bölgelerinde tanıtıcı proteinler olarak yer almaktadırlar. Bu proteinler zonula okludinler (ZO-1/2/3), singulin, 7H6, AF6 ve diğer proteinlerden meydana gelmektedir. Zonula okludin proteinleri membran bağlantılı guanilat kinaz benzeri proteinlerdir. ZO-1 ve ZO-2 proteinlerinin C-terminal uçları, parasellüler geçirgenlikte rol alan hücre iskeletinin primer proteini aktin ile etkileşir. ZO-1 ve ZO-2 çoğunlukla epitel ve endotel sıkı bağlantılarında eksprese edilirler (Ueno 2007,Stevenson ve Keon 1998). ZO-1; klaudin, JAM, okludin ve aktin ile etkileşir. ZO-2; klaudin, singulin, okludin ve alfa-katenin ile etkileşir. ZO-3; singulin, ZO-1 ve miyozine bağlanır.

AF6 ve JAM monosit göçü sırasında, TJ'lerin açılıp kapanmasında rol oynamaktadırlar. 7H6, ATP yetersizliğinde TJ den ayrılarak parasellüler

geçirgenliğin artışına sebep olmaktadır. Singulin ise sadece TJ'lerin bulunduğu endotel hücrelerinde bulunur ve ZO-2, ZO-3, AF6, JAM, aktin ve miyozinle etkileşir (Ueno 2007, Bernacki ve diğ. 2008, Kordenonsi ve diğ. 1999).

2.5.3. Adheran Bağlantılar

Adheran Bağlantılar kaderinler ile aktine bağlı katenin arasında bulunur. Endotel hücrelerine yapısal destek sağlarlar, bozulması durumunda bariyer yapısı bozulur(Abbott et al. 2010, Ueno 2007, Stevenson ve Keon 1998).

2.5.3.1.Vasküler Endotelyal Kaderin (VE-Kaderin)

Katenin üzerinden hücre iskeletine bağlanan integral bir proteindir. VE-Kaderin'in yeni tanımlanan p-120-katenine yüksek afinite ile bağlandığı, endotel bütünlüğünün sağlanmasında ve vasküler reorganizasyonunda rolü olduğu çalışmalarda gösterilmiştir (Correale ve Villa 2009).

Trombosit Endotelyal Hücre Adezyon Molekülü (PECAM); TJ yapısında bulunmayan, başlıca hücre apikalinde yoğunlaşmıştır. PECAM-1 hücre-hücre adezyonunu sağlar. CD-31 olarak da bilinen PECAM'ın, SSS'ne monosit göçünde rol oynadığı çalışmalarda gösterilmiştir (Correale ve Villa 2009).

2.5.4. Kan Beyin Bariyerinde Etkili Diğer Proteinler

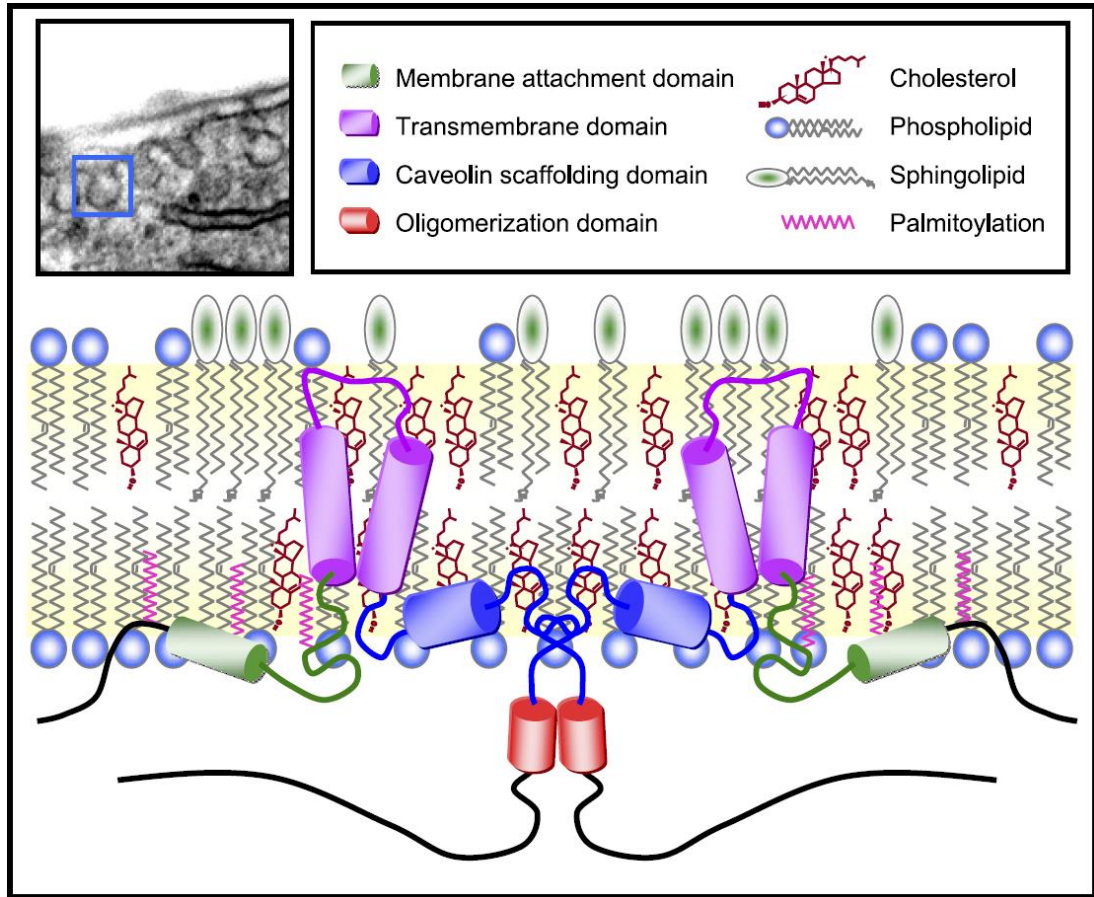
2.5.4.1. Kaveolin-1

Kaveolin-1, hücrede membranında klatrinden bağımsız endositoz ve mekanik stres sensörleri gibi birçok sinyal yolağında rol oynayan, hücre membranının küçük invajinasyonları kaveola'nın yapısal proteinidir. Kaveola yoğun olarak epitel hücreleri, endotel hücreleri, fibroblastlar ve yağ hücrelerinde bulunurlar. Kaveolinler, kaveolanın oluşumu için gerekli yapısal proteinlerdir. Kaveolin ailesi Kaveolin-1, Kaveolin-2, Kaveolin-3 olmak üzere üç üyeden oluşmaktadır. Kaveolin-1 ve Kaveolin-2 doku ve organların çoğunda tanımlanırken, kaveolin-3 ise genelde kalp kası, düz kas ve isket kası hücrelerinde eksprese edilir (Jin ve diğ. 2011, Parat ve Riggins 2012).

Kaveolinler Caveolin scaffold domain (CSD) aracılığı ile Endotelial Nitrik oksit sentaz (eNOS), İndüklenebilir Nitrik oksit sentaz (iNOS), Nöral Nitrik oksit sentaz (nNOS), Matriks Metalloproteinaz (MMP) -2 ve Aquaporin (AQP) gibi birçok proteine direk bağlanarak regüle eder. Kaveolinler mitojenik sinyal, apoptoz, kolesterol transportu, kanserin ilerlemesi ve metastazı ve vasküler hastalıklar gibi birçok hücrel aktivitenin gerçekleşmesinde rol oynarlar (Gu ve diğ. 2011).

Kaveolin-1 kaveola yapısında bulunan anahtar integral membran proteinidir (Şekil 6). Kaveolin-1 CSD aracılığıyla birçok sinyal proteinine direk olarak bağlanabilir. Birçok fizyolojik mekanizmada yer alan kaveolin-1'in sıkı bağlantı proteinlerinin degradasyonunu önleyerek KBB bütünlüğünün korunmasını sağlar. SSS patolojilerinde oksidatif stresin artmasıyla aktiver olan MMP'ler ekstrasellüler sıkı bağlantı proteinlerini

yıkar. Artan MMP'lerin kaveolin-1 yapımını azalttığı, kaveolin-1'in azalan protektif etkisi sonucu sıkı bağlantı proteinlerinin ileri düzeyde yıkılmasıyla bozulan KBB permeabilitesi birçok patolojinin ortaya çıkmasına neden olur (Gu ve diğ. 2011, Gu ve diğ. 2012).



Şekil 6. Kaveolin-1'in transmembran anatomik yapısı (Jin ve diğ. 2011)

2.5.4.2. Aquaporin

AQP su kanal proteini olarak bilinen, esasında su için özelleşmiş ancak bunun yanında gliserin gibi küçük moleküllerinde transportunu sağlayan hücre membran kanallarıdır. AQP ailesi günümüze kadar tanımlanan 13 adet üyeden oluşmaktadır. Bunlardan AQP-1, AQP-4 ve AQP-

9 SSS'de bulunmaktadır. Bunlardan koroid pleksusun epitel membranlarında lokalize AQP-1'ler serebrospinal sıvının sekresyonunda rol alırlar. SSS'de yoğun olarak ekprese edilen su kanalı AQP-4, özellikle astrosit ayakçıklarında ve beyin ve spinal kord ependimal hücrelerin bazolateral plazma membranlarında bulunurlar (Xiao ve Hu 2014).

AQP-4 özellikle astrosit ayakçıklarında lokalize SSS'nin ana su kanalıdır. Son çalışmalar gösterdiği, SSS'nin su dengesi, ekstrasellüler potasyumun tamponlanması, kalsiyum sinyal yolağı, nörotransmitterlerin düzenlenmesi, sinaptik plastisite ve nöropatolojik durumlarda proinflamatuvar sitokin sentezi gibi birçok biyolojik fonksiyonları düzenlerler. Buna ek olarak serebral ödem, intraserebral hemoraji, hiponatremi, iskemi, nöromyelitis optika ve epilepsinin yanında, Alzheimer, Parkinson, depresyon ve ilaç bağımlılığı gibi patolojilere eşlik ederler (Xiao ve Hu 2014, Deng ve diğ. 2014, Badaut ve diğ. 2014).

KBB yapısı elemanlarından astrositler yüksek oranda AQP-4 ekprese eden glial hücrelerdir. Serebral ödem, eklampsi, preeklampsi ve kanserler gibi KBB permeabilitesin arttığı birçok patolojide AQP-4 ekspresyonunun arttığı gözlenmiştir (Ribatti ve diğ. 2014; Kucuk ve diğ. 2012; Day ve diğ. 2014).

2.5.5. Kan-Beyin Bariyeri Fonksiyonları

KBB nöronal fonksiyonlar için optimal koşullarda ortam sağlayan bir bariyerdir. Spesifik iyon kanalları ve taşıyıcılar ile sinaps sinyalizasyonu için KBB tarafından en uygun şartlar oluşturulur. İlave olarak, pH, kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonları da KBB tarafından kontrol edilir (Abbott ve diğ. 2010).

KBB suda eriyen birçok besin maddesi ve metabolitlerin düşük miktarda da olsa SSS'ye geçişine izin verebilir. Ancak nörotoksik düzeyde artan bu maddeler, nöron dejenerasyonuna ve bazı patolojilere neden olmaktadır (Abbott 2005).

Beslenme sonrası plazmada seviyesi artan glutamat'ın KBB sayesinde beyine doğrudan geçişi engellenir (Bernacki ve diğ 2008).

BOS'ta bulunan protein içeriği, plazmaya göre düşük oranda ve farklıdır. Albumin, protrombin ve plazminojen plazmada bulunan ve nöral hasara neden olarak nöronlarda apoptoza yol açan makromoleküllerdir. SSS'de protrombin trombine ve plazminojende plazmine dönüşmektedir. Bu iki makromolekül apoptozisi tetikleyebilmektedir (Nadal ve diğ. 1995)

SSS'de lokal olarak bulunan, aynı zamanda bir serin proteaz olan sistatin-C BOS'ta yüksek oranda bulunur ve plazmadan BOS'a protein kaçaklarını sınırladığı belirtilmektedir (Abbott ve diğ. 2010, Reiber 2001).

2.5.6. Kan-Beyin Bariyerinden Madde Geçişi

KBB'den pasif difüzyon ile nikotin, oksijen ve karbondioksit gibi lipid çözünürlüğü yüksek olan maddeler geçebilir. Plazma proteinlerine bağlanma oranı yüksek maddelerin KBB'yi geçmeleri zordur. Pozitif yüklü ve asidik proteinler KBB'yi daha kolay geçerken, molekül ağırlığı 450 Da üzeri olan maddelerin geçişi sınırlıdır. Yani bir maddenin KBB'yi geçmesi, molekül ağırlığı, yapısı, çözünürlüğü, afinitesi ve birçok etkene bağlı olarak değişir (Abbott ve diğ. 2010).

KBB'den maddelerin geçmesi genel olarak parasellüler ve transellüler olmak üzere iki yolla kontrol edilir. Parasellüler yol ile madde geçişi; endotel hücrelerinin yapısında bulunan TJ'ler, okludin, klaudin-1,5 ve JAM

molekülleri ile kontrol edilir. Transellüler yol; madde geçişinde aktif transportun rol aldığı madde geçişidir. Beyinde bazı taşıyıcılar çift yönlü çalışmaktadır. GLUT-1, nötral aminoasit taşıyıcıları (LAT1), monokarboksilik asit taşıyıcısı (MCT1) bunlardan bazılarıdır. Luminal membrandanda bulunan P-gp, MDR-1 gibi proteinler ilaçların dışarı atılmasını sağlayan tek yönlü taşıyıcılardır (Abbott et al. 2010, Deli ve diğ 2005).

Beyinin ihtiyaç duyduğu veya atmaya çalıştığı makromoleküller endositoz yoluyla KBB'yi geçer. Reseptör aracılı veya absorbtif aracılı endositoz ve transsitoz, hücre içinde veziküller (kaveol) aracılığıyla gerçekleşmekte ve albumin, peptid, protein, LDL, tarnsferrin ve leptin gibi makromoleküllerin transferinde rol almaktadır (Abbott et al. 2010).

Kaveoller 50-100 nm boyutlarında plazma membranının sitozole doğru invajinasyonu ile oluşan, sinyal iletimi, makromoleküllerin taşınması ve hücre adezyonunu sağlayan veziküllerdir. Kaveolin ise 21-24 KDa molekül ağırlığında, kaveolün yapısal komponentini oluşturan bir proteindir. Üç çeşit kaveolin (Kaveolin-1, 2, 3) vardır. Kaveolin-1 endotel hücrelerinde yüksek miktarda eksprese edilir (Correale ve Villa 2009).

Kaveolin-1 endotel hücreleri arasında bulunan TJ'lerin stabilitesini sağlayarak yıkılmasını önler. Serbest radikal oluşumu ve MMP aktivitesini azaltarak KBB yapısını korur. Yapılan çalışmalar; fokal iskemi reperfüzyon hasarında NO ve MMP yapımındaki artışın kaveolin-1 yapımını azalttığını göstermiştir. Bu etki sıkı bağlantı proteinlerinden zonula okludensin yapımının azaltmakta ve KBB geçirgenliği ile korelasyon göstermektedir (Gu ve diğ. 2011, Gu ve diğ 2012).

2.5.7. Kan-Beyin Bariyeri Patofizyolojisi

KBB patolojileri SSS'de en önemli patofizyolojik bozukluklardır. Birçok patolojik durumda SSS'yi ilgilendiren fonksiyon bozukluğu ortaya çıkabilir. KBB fonksiyon bozuklukları, TJ stabilitesinde bozulma ile oluşan parasellüler açıklıklar, por oluşumunda artış, transport sistemlerinde bozulma, pinositik aktivite artışı, madde ve ilaç transferinde bozukluklar olarak bilinir (Engelhard ve Sorokin 2009, Correale ve Villa 2009)).

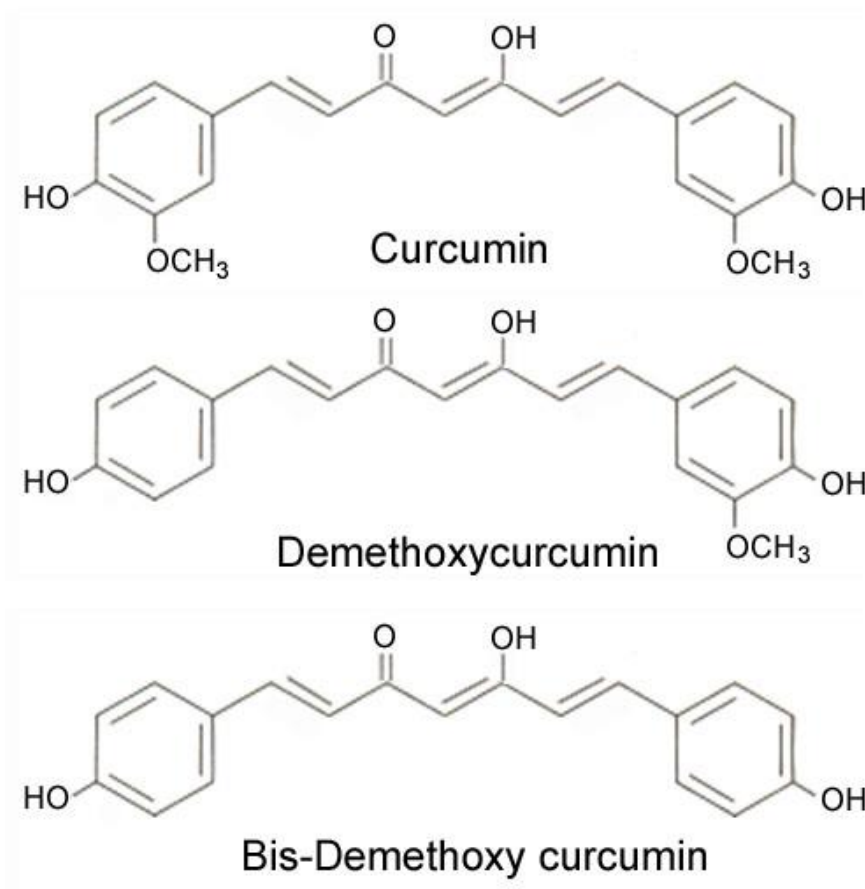
KBB fonksiyon bozukluklarına; İskemi, Hipoksi, Alzheimer hastalığı, Parkinson Hastalığı, Epilepsi, Diyabetes Mellitus, Hipovolemi, Sistemik Lupus Eritematozis, Glokom, Hiperosmolarite, Beyin Tümörleri, Glokom, Enfeksiyon, Travma ve Akut Hipertansiyon gibi patolojiler örnek verilebilir (Abbott ve diğ. 2010, De Viries ve diğ. 1997). Elektromanyetik alan ve radyasyon maruziyetinde de KBB geçirgenliği değişiklikler meydana gelmektedir (Gültürk ve ark.2007).

2.6. Kurkumin

Zerdeçal (Curcuma Longa, Hint Safranı) yemeklere sarı renk veren, asırlardan beri halk arasında kullanılan bir baharattır. Kurkumin yaklaşık 200 yıl önce izole edilmiş, fakat içeriğinin keşfi 1910 yılında gerçekleşmiştir. Kurkuminin tıp alanında kullanılması Çin ve Hindistanlılarla başlamış, günümüzde hala birçok hastalığın tedavisinde de kullanılmaktadır (Hatcher et al. 2008). Ticari yapıları Kurkuminler temelde üç büyük Kurkuminoidleri içerirler. Bütün Kurkuminoidler (Kurkumin, demetoksiKurkumin, bisdemetoksiKurkumin) zerdeçalın esas bileşenleridir. Kurkuminoidlerden

basitçe Kurkumin diye bahsedilmesine rağmen, aralarında içerik ve yapı açısından farklılıklar bulunmaktadır (Şekil 7) (Wilken ve diğ. 2011).

Kurkumin birçok patoloji ve sık görülen hastalıklarda tedavi ajanı olarak öngörülmüştür. Bu hastalıklardan bazıları pulmoner patolojiler, gastrointestinal sistem, hepatic patofizyolojiler, ağrılar ve dermal patolojiler olarak gösterilmektedir.



Şekil 7. Kurkuminoidlerin kimyasal yapısı (Wilken et al. 2011).

Kurkuminin antioksidan, antiinflamatuvar, antimutajenik, antikanserojenik, antidiyabetik, antibakteriyel, antiviral, antikoagülan ve nöroprotektif olmak üzere geniş spektrumlu protektif ve terapötik etkilere

sahip olduğu bildirilmektedir (Naik ve diğ. 2011, Hatcher ve diğ. 2008, Kunnumakkara ve diğ. 2008, Aggarwal ve Sung 2009, Aggarwal ve Harikumar 2009). Kurkumin bu etkileri çeşitli transkripsiyon faktörlerini, büyüme faktörlerini, inflamatuvar sitokinleri, protein kinazları ve birçok enzimleri düzenleyerek göstermektedir (Hatcher ve diğ. 2008).

2.6.1. Kurkuminin Antidiabetik Aktivitesi

Diyabet beyin, böbrek, kalp, karaciğer ve diğer birçok organı etkileyen hiperglisemik bir patolojidir. Enflamasyon Tip II diyabette büyük rol oynar. Bu süreçte birçok enflamasyon sitokini, Nuclear factor-kappa B (NF-KB) ve Peroxisome proliferator-activated receptor γ (PPAR- γ) gibi transkripsiyon faktörleri ve çeşitli enzimler rol oynar. NF-KB ve TNF'ler insülin direncinde rol oynarlar. Diyabette Kurkumin kan şeker seviyesini baskılar, pankreatik β - hücrelerinin antioksidan seviyelerini ve PPAR- γ aktivitesini artırır. Neredeyse 35 yıl önce Kurkuminin kan şeker seviyesini düzenlediği hastalarda gösterilmiş. Yıllar önce Babu ve Srinivasan Kurkuminle beslediği sıçanlarda diyabetin metabolik durumunu iyileştirdiklerini göstermişler. Mahesh ve arkadaşları Streptozosin (STZ) ile indüklenen diyabetik sıçanlarda hiperglisemi düzeyinde iyileşmeye neden olduğunu göstermişlerdir (Aggarwal ve Harikumar 2009, Nishiyama ve diğ. 2005).

Bütün Kurkuminler ve metabolitlerinden tetrahidroKurkuminin (THC) STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda kan glukoz seviyesini azalttığını, plazma insülin seviyesini arttırdığını ve karaciğer enzimlerini düzenlediği gösterilmiştir(Aggarwal ve Harikumar 2009).

2.6.2. Kurkuminin Anti Enflamatuvar ve Antioksidan Etkisi

Kurkuminle ilgili birçok etki onun akut ve kronik enflamasyonu baskılaması ile ilişkilidir (Hatcher ve diğ. 2008). Kurkumin birçok pro-enflamatuvar gen ürünlerinin ekspresyonunun düzenlenmesinden ve TNF- α , IL-1, IL-6, IL-8 ve kemokinlerin bulunduğu çeşitli enflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunun azaltılmasından sorumlu transkripsiyon faktörü NF-KB'nin aktivasyonunu baskılamıştır (Jurenka 2009).

Nöronal hücrelerin membranında homosistein, hidrojen peroksit ve prooksidanlarla meydana gelen G proteinin oksidasyonu, Kurkumin ile anlamlı derecede baskılanmıştır (Hatcher ve diğ. 2008). Kurkumin dentritik hücreler, makrofajlar, monositik alveolar makrofajlar ve kemik iliği hücrelerinde Formol Metil Asetat (PMA) ile indüklenmiş TNF- α seviyesini ve lipopolisakkarit seviyesini baskılandığı gözlenmiştir (Kunnumakkara ve diğ. 2008).

2.6.3. Kurkuminin Antikanser Etkisi

İn vitro ve in vivo çalışmalarda beyin, meme, gastrointestinal, baş ve boyun, karaciğer, pankreas, kolon, prostat, over ve deri gibi farklı organlardan çeşitli kanser hücrelerinin Kurkumin tarafından baskılandığı gösterilmiştir. Son yıllarda Kurkuminin etkilerinin araştırıldığı birçok çalışma bulunmaktadır. Bunlardan Familial Adenomatous Polyposis, ilerlemiş pankreas kanseri ve multiple myelom hastalarında ki çalışmaların umut vadettiği bildirilmektedir (Aggarwal ve Harikumar 2009).

Kurkumin anjiogenez de dahil olduğu birçok tümör gelişim sürecini engelleyen bir ajandır. Önceki çalışmalar da Kurkuminin Fibroblast Growth

Factor (FGF) ile indüklenmiş neovaskülarizasyonu inhibe ettiği gösterilmiştir. Üstelik Kurkuminin anjiogenez ve metastaz üzerine etkisini İntraselüler Adhezyon Molekül-1 (ICAM-1), Vasküler hücre adhezyon molekül-1 (VCAM-1), Endotelyal lökosit Adhezyon Molekül-1 (ELAM) ve hücre yüzey proteinleri kanser metastazında rol alırlar. Dolayısıyla adhezyon moleküllerinin inhibisyonu ilerlemiş kanser evrelerinde potansiyel tedavi seklidir. Kurkumin monositin endotel hücrelerine adezyonu, ICAM-1, VCAM-1 ve ELAM-1'in gen ekspresyonunu tamamen bloke ederler (Hatcher ve diğ. 2008). Kurkumin ayrıca p53, p21, kaspaz-3, kaspaz-7, kaspaz-9 gibi pro-apoptotik proteinlerin upregülasyonunu artırır (Kunnumakkara ve diğ. 2008).

Kurkuminin sıçanlarda ve farelerde 7,12-Dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) ile indüklenmiş lösemi ve meme kanserinde kullanılmış ve tedavi edici sonuçlar alınmıştır. Bunun yanında Kurkumin, kolon kanseri, özofagus kanseri, mide kanseri, karaciğer kanseri, oral kanserler ve prostat kanseri oluşturulan hayvan modellerinde kullanılmış, kanser tedavisi geleceği açısından umut veren sonuçlar elde edilmiştir (Kunnumakkara ve diğ. 2008).

2.6.4. Kurkuminin Nöroprotektif Etkisi

Kan beyin bariyerini geçme yeteneğine sahip olan Kurkumin, nörodejeneratif hastalıklara karşı koruyucu etki gösterebilmektedir (Choudhary ve Sekhon 2012).

Kurkumin Alzeimer, Multiple Skleroz, Parkinson, Epilepsi ve Depresyon gibi birçok nöronal hastalıklara karşı da koruyucu etkiye sahip olduğu göstermiştir (Aggarwal ve Harikumar 2009, Xu ve diğ. 2005,

Sumanont ve diğ. 2006, Lim ve diğ. 2001).Alzeimer hayvan modellerinde amiloid ve okside protein seviyesini azaltmış, bilinç eksikliğini önlemiştir (Aggarwal ve Harikumar 2009).

Kurkuminin vasküler sistem üzerine koruyucu etkisi yaygın olarak araştırılmış, vasküler endotel ve düz kas hücrelerini hasara karşı koruduğu, damarların yeniden yapılanmasını hızlandırdığı çalışmalarda gösterilmiştir (Morimoto et al. 2008; Srivastava and Mehta 2009).

Beyin membranlarında hidrojen peroksit ve homosistein gibi G protein bağımlı oksidatif uyarılar Kurkumin tarafından inhibe edilebildiği ve Kurkuminin beyin çalışmalarında anti-oksidan aktiviteyi arttırdığı gösterilmiş (Hatcher et al. 2008).

Pro-oksidanlar ve preeklampitik koşullarda enflamasyon artışına bağlı KBB'nin fonksiyonel yapısının bozulması çalışmalarda mevcuttur. Ancak Preeklampsi üzerine Kurkuminin etkisinin araştırıldığı bir çalışma literatürde bulunamamıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney hayvanları

İstanbul Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme Merkezi'nden temin edilen, cinsel olgunluğa erişmiş, 80-90 günlük dişi ve erkek Wistar Albino sıçanlar, Namık Kemal Üniversitesi Deney Hayvanları Laboratuvar'ında 22°C oda ısısında ve % 45-75 nemde, 12 saat aydınlık ve karanlık siklusunda serbest su ve gıda sağlanarak araştırmaya alındılar. Su ve yemleri günlük olarak değiştirildi. Çalışma süresince deney hayvanları, deney grubuna göre işaretlenmiş uygun kafeslerde (19x12x12 cm) tutuldu.

Sıçanlar iki dişiye bir erkek olacak şekilde, kafeste bir gece bırakıldı, sonraki sabah vajinal smear yapıldı. Mikroskopta bakılan smear preparatı ile spermium taşıyan sıçanlar belirlendi ve bu hayvanların gebeliğin sıfırinci gününde oldukları kabul edildi. Deney modeli üç grupta 7, bir grupta 9 hayvan olmak üzere Gebe (Kontrol), Gebe + Kurkumin (Kurkumin), Gebe + L-NAME (L-NAME) ve Gebe + L-NAME + Kurkumin (L-NAME + Kurkumin) olarak belirlendi. Gebe dişiler gebeliklerinin 21. günlerinde sakrifiye edildiler.

Bu çalışma, Namık Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun onayı alınarak gerçekleştirildi (08.05.2014 tarihli 2014/03-1 nolu toplantı kararıyla).

3.2. Deney Grupları

Çalışma grupları Wistar Albino 30 gebe sıçandan oluşmuştur. Gebe sıçanlar dört gruba ayrıldı. Deney grupları şu şekilde oluşturuldu;

Grup 1 (Kontrol Grubu, n=7): Sadece gebe kalan ve hiçbir ilaç uygulanmayan grup.

Grup 2 (Kurkumin Grubu, n=7): Gebe kalan sıçanlara G10. ve G20. günlerde 100 mg/kg dozunda Kurkumin verilen grup.

Grup 3 (L-NAME Grubu, n=7): Gebe kalan sıçanlara deneysel preeklampsi modeli oluşturmak için G10. ile G20. günler arasında her gün 80 mg/kg L-NAME verilen grup.

Grup 4 (L-NAME + Kurkumin, n=9): Gebe kalan sıçanlara deneysel preeklampsi modeli oluşturmak için G10. ile G20. günler arasında her gün 80 mg/kg L-NAME verilen ve G10. ve G20. günlerde 100 mg/kg dozunda Kurkumin verilen grup.

3. 3. Deneysel Yöntem

Hayvanların kulaklarına numaralar klips ile takıldı. Gebe kaldıktan sonra bu numaralar gruplandırılmada, hayvan kilo takibinde ve diğer işlemlerde belirleyici oldu. Hayvanların kilo tartım takibi gebelik 0., 15., 20. günlerde yapıldı.

Çalışmamız 32 dişi ve 5 erkek sıçan kullanılarak, dişi sıçanların gebe bırakılması ile başladı. Vajinal smear ile gebe olduğu belirlenen dişi sıçanlar için gebeliğin 0. Günü, G0. kabul edilip, gruplar oluşturmak üzere ikiye ayrılmış kafeslere alındı. İlk on gün normal gebelik süreçleri devam ettirildi. Daha sonra gebe sıçanlarda preeklampsi modeli oluşturulacak gruplar için Nitrik Oksit Sentaz (NOS) inhibitörü olan N-Nitro-L-Arjinin Metil Ester (L-NAME) (Sigma Chemical Co.; St. Louis, Missouri, USA) gebeliğin 10. ve 20. günleri (G10-G20.) arasında hergün 70-80 mg/kg/gün olacak şekilde günlük içme suyuna katılarak deneklere verildi.

Grup 2 ve 4'deki sıçanlarda Kurkumin (Sigma Chemical Co.; St. Louis, Missouri, USA) 100 mg/kg/gün olacak şekilde G10-G20. günler arası her gün peroral olarak gebe sıçanlara mısır yağı içerisinde çözünmüş halde gastrik

gavaj youyla verildi. G20. günde gebe sıçanların idrarından protein tayini strip ile yapıldı. İdrar toplamak için gebe sıçanlar metabolik kafeslere konularak 2 veya 3 farklı spot idrarları toplandı. Proteinürinin değerlendirilmesi "Laboquick ürinalysis reagent strips" (Köroğlu Tıbbi malzeme ve Kozmetik San. Tic. Ltd. Şti., İzmir, Türkiye) stripi ile tayin edildi ve 1+, 2+, 3+ ve 4+ olacak şekilde protein varlığı derecelendirilmesi yapıldı. $\geq 3+$ ciddi proteinüri, $< 1+$ ise normal düzeyde proteinüri olarak tayin edildi.

Gebe sıçanların G0., G10., G15. ve G20. günlerde kuyruktan kan basıncı ölçümü "PowerLab Pressure Transducer" (The Powerlab T26 model data acquisition hardware - LabChart software, Oxford, United Kingdom) kullanarak yapıldı.

Karın disseke edilerek biyokimyasal analizler için intrakardiyak kan örnekleri alındı. İmmünohistokimyasal analizler için ise beyin dokuları çıkartılarak uygun fiksatiflere alındı. Bütün gruplar G21. günde dekapite edildi.

3. 4. Kan ve Doku Örneklerinin Eldesi ve Saklanması

Deneklere 21. günde 50 mg/kg ksantin ve 10 mg/kg ksilazin dozunda intraperitoneal anestezi uygulandı. Anesteziyle uyutulan sıçanlardan intrakardiyak kan alımını takiben servikal dislokasyonla sakrifiye edildi. Daha sonra sıçanların beyin dokuları alındı ve hemen uygun fiksatife konuldu. Antikoagülan içermeyen kuru tüplere kan örnekleri alındıktan sonra $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de 30 dakika bekletildi ve 3200 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek serumlarının ayrılması sağlandı. Bütün örnekler analiz gününe kadar $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

3.5. İmmünohistokimyasal Analiz

KBB'inde kapiller endotel hücrelerinde bulunan sıkı bağlantı proteinlerinden olan Okludin, astrositlerin ayakçıklarında bulunan ve bariyer özelliği açısından önemli bir belirteç olan su kanal proteinlerinden AQP-4, kaveollerin yapısal komponentini oluşturan endotel membran proteini Kaveolin-1 proteinlerinin immünohistokimyası çalışıldı.

Işık mikroskobik incelemeler için beyin dokuları, Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvar'ında işlemlendirildi. Bu amaçla beyin dokuları %10'luk formaldehitte fikse edildikten sonra dokular yıkanarak, dehidratasyon işlemine geçildi. Dehidratasyon aşamasından sonra saydamlaştırma basamağı için dokular 3 seri 15'er dk toluol ile muamele edildi. Gömme işleminden önce dokular yumuşak parafinde 1 gece tutuldu. Bir sonraki gün tüm dokular yumuşak parafinden alınarak 1 saat sıvı sert parafinde tutularak bloklandı. Bu bloklardan Leica RM-2245 silindirli mikrotom kullanılarak 6 µm kalınlığındaki kesitler alındı. Beyin dokularının genel özelliklerini ortaya koyabilmek amacıyla alınan kesitler Hematoksilen+Eozin (H&E) ile boyandı. Entellan ile kapatılarak daimi preparat haline getirildikten sonra mikroskopta (Olympus CX41) incelenerek ve değişik büyütmelemlerde fotoğraflandı.

İmmünohistokimyasal inceleme için beyin dokusundan 6 µm kalınlığında kesitler alındı ve deparafinizasyon işlemi takiben kesitler suya indirildi. Suya indirilen kesitler antijen retrieval içinde mikrodalga fırında 20 dk kaynatıldı. Oda ısısında 20 dk soğumaya bırakıldıktan sonra kesitler Fosfat Buffer Solusyonu (PBS; pH=7.6) ile yıkandı. Bu aşamadan sonra hidrojen peroksidaz aktivitesinin giderilmesi için metanolde (Riedel-de Häen

24229) hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) ile 20 dk muamele edildi. Distile su içinde çalkalanarak kesitler PBS ile yıkandı. Özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere kesitlere %1 preimmün rabbit serum (Ultra V Block, LabVision, TA-015-UB) uygulandı. Daha sonra kesitler nemli chamber içinde 1/100 oranında sulandırılmış primer antikor ile 1 saat süre ile inkübe edildi. Kullanılan antikorlar; tavşan poliklonal anti occludin antibody (Cat. ab31721, Abcam, USA), koyun poliklonal caveolin-1 antibody (Cat. ab81397, Abcam, USA) ve fare monoklonal aquaporin-4 antibody (Cat. ab81397, Abcam, USA) idi. Kesitler 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 20 dk sekonder antikor solüsyonunda (Biotinylated Goat Anti-Mouse, LabVision, TM-015-BN) tutuldu. PBS'de yıkanan kesitlere 3 kez 20 dk streptavidin peroksidaz solüsyonu (Streptavidin Peroxidase, LabVision, TS-015-HR) uygulandı. Kesitler 3 kez PBS ile yıkama sonrasında immunohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla Amino Etil Karbazol (AEC) ile 5 dk boyandı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 5 dk Mayer hematoksilen uygulanarak zıt boyama yapıldı. Akarsuda 5 dk yıkanan kesitler kapatma solüsyonu (Mounting Medium, LabVision, TA-060-UG) konarak lamel ile kapatıldı ve ışık mikroskopunda değerlendirmeye alındı. Her antikor için, her bir hayvandan alınan görüntülerin tümü incelendikten sonra, grubun özelliğini en iyi yansıtan fotoğraf tez çalışmasına konulmak üzere seçildi.

3.6. Biyokimyasal Analizler

Deney sonunda 50 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin ile anestezi edilen hayvanlardan intrakardiyak heparinize kan örnekleri alınarak plazmada Nitrik Oksit (NO), Tiyobarbitürik Asit Raktan Maddeleri (TBARS)

ve Protein Karbonil (PC) düzeyleri tayin edildi. Biyokimyasal analizlerin spektrofotometrik analizleri, EON C marka mikroplate spektrofotomere cihazı kullanılarak yapıldı.

3.6.1. Nitrik Oksit (NO) Tayini

NO stabilitesi çok düşük olması ve oluştuktan sonra hızlıca moleküler oksijenle reaksiyona girmesi ölçümünü zorlaştırmaktadır. Bu yüzden güvenilir sonuçlar elde etmek için NO ölçümünde farklı yöntemler kullanılmaktadır. NO ölçümünde daha hızlı ve basit bir yöntem olarak nitrik oksid metabolizmasının son ürünleri olan nitrit (NO_2) ve nitrat (NO_3) miktar tayini daha sık kullanılmaktadır. NO ölçümünde Griess yöntemi olarak bilinen, Cortas ve Wakid tarafından geliştirilen NO'nun gerçeğe yakın olarak ölçülmesini sağlayan kantitatif ölçüm yöntemi ile 545 nm de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (Cortas and Wakid 1990).

3.6.2. Tiyobarbitürik Asit Reaktan Maddeleri (TBARS) Tayini

Malondialdehit (MDA) ve diğer TBARS'lar non-enzimatik oksidatif lipid peroksidlerinin parçalanması sonucu oluşan toksik etkili son ürünlerdir. İki'den fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin oksidasyonunda veya eikozanoid sentezinde serbestleşen siklik endoperoksidler TBARS'nın asıl kaynağını oluşturmaktadır.

Lipid oksidasyonunu gösteren ve lipid metabolizmasının son ürünü olan MDA ve diğer TBARS'lar asidik ortamda tiyobarbitürik asit ile reaksiyon verirler. Buege ve Aust'un (Buege ve Aust 1978) yöntemi TBARS ile TBA'nın reaksiyonu sonucu pembe renkli kompleks oluşması esasına

dayanmaktadır. Bu nedenle kompleksin renk oluşum şiddeti numunede bulunan TBARS miktarıyla orantılıdır. Yani oluşan TBARS, TBA (tiobarbütirik asit) ile pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve bu çözeltinin absorbansının 532 nm’de spektrofotometrik olarak ölçümü ile lipid peroksidasyonunun derecesi saptanmaktadır.

3.6.3. Protein Karbonil (PC) Tayini

PC tayini Reznick ve Parker’in (1994) yöntemi kullanılmıştır (Reznick ve Packer 1994). Çalışma proteinlerin 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) ile reaksiyonu sonucu meydana gelen renk değişikliğinin spektrofotometrik (EON C Mikroplate Spektrofotometre) yöntem 360 nm dalga boyunda ölçümüne dayanmaktadır.

3.7.İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirmelerde SPSS for Windows 18.0 yazılımı kullanıldı. Veri dağılımı uygunluğu non-parametrik testlerden one-sample Kolmogorov Smirnov Testi ile değerlendirildi. Grupların karşılaştırılmasında One Way ANOVA varyans analizi sonrasında Tukey’s Testi ile yapılarak gerçekleştirildi. Deney gruplarındaki hayvanların kan basınçlarındaki değişiklikler için grup içi karşılaştırmalarda Pair T testi kullanıldı.

Sonuçlar, aritmetik ortalama \pm ortalamanın standart hatası (SEM) şeklinde ifade edildi. İstatistiksel anlamlılık için, $P < 0.05$ olan değerler anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Biyokimyasal sonuçlar

Her bir deney grubunun TBARS, NO ve PC düzeylerinin ortalaması, ortalamanın standart hatası (SEM) ve varyans analiziyle gruplar arası karşılaştırmaları tablo 3'te sunulmuştur. Plazma TBARS (grafik 1), PC (grafik 2) ve NO (grafik 3) düzeylerinin deney grupları arasındaki karşılaştırmaları gösterilmiştir.

Yapılan varyans analizi ve sonrasında Tukey testiyle plazma TBARS düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmasında, L-NAME grubu TBARS düzeyinin Kontrol, Kurkumin, L-NAME + Kurkumin gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı artmış olduğu görülmektedir ($P<0.001$). Diğer gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır (Tablo 3, Grafik 1).

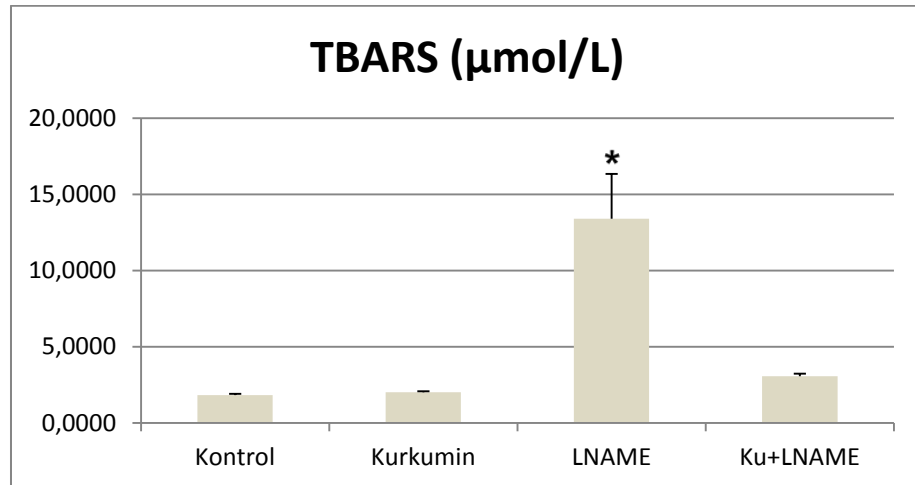
Yapılan varyans analizi ve sonrasında Tukey testiyle plazma PC düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmasında, L-NAME grubu PC düzeyinin Kontrol ($P<0.006$), Kurkumin ($P<0.006$), L-NAME + Kurkumin ($P<0.002$) gruplarına göre istatistiksel anlamlı olarak artmış olduğu saptanmıştır. Diğer gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır (Tablo 3, Grafik 2).

Yapılan varyans analizi ve sonrasında Tukey testiyle plazma NO düzeylerinin gruplar arası karşılaştırmasında, Kurkumin grubu NO düzeyinin Kontrol ($P<0.002$) ve L-NAME ($P<0.001$), L-NAME + Kurkumin ($P<0.001$) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı artmış olduğu bulunmuştur. Diğer gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunamamıştır (Tablo 3, Grafik 3).

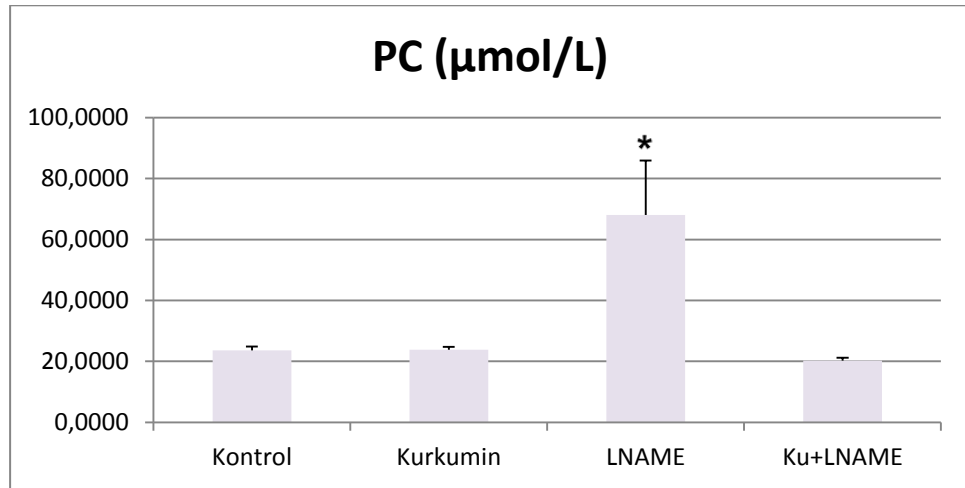
Tablo 3: Deney grupları arasında TBARS, NO ve PC değerlerinin karşılaştırmaları

Gruplar	TBARS ($\mu\text{mol/L}$)	PC ($\mu\text{mol/L}$)	NO ($\mu\text{mol/L}$)
Kontrol	1,8159 \pm 0,0832	23,5974 \pm 1,3182	54,6274 \pm 2,2306
Kurkumin	2,0058 \pm 0,0631	23,8636 \pm 0,9053	75,8069 \pm 5,6470
LNAME	13,4052 \pm 2,9424	68,0909 \pm 17,7935	51,2697 \pm 2,0850
Ku+LNAME	3,0747 \pm 0,1542	20,3030 \pm 0,8519	51,5280 \pm 3,1676
P değerleri			
1-2	A.D.	A.D.	0.002
1-3	0.001	0.006	A.D.
1-4	A.D.	A.D.	A.D.
2-3	0.001	0.006	0.001
2-4	A.D.	A.D.	0.001
3-4	0.001	0.002	A.D.

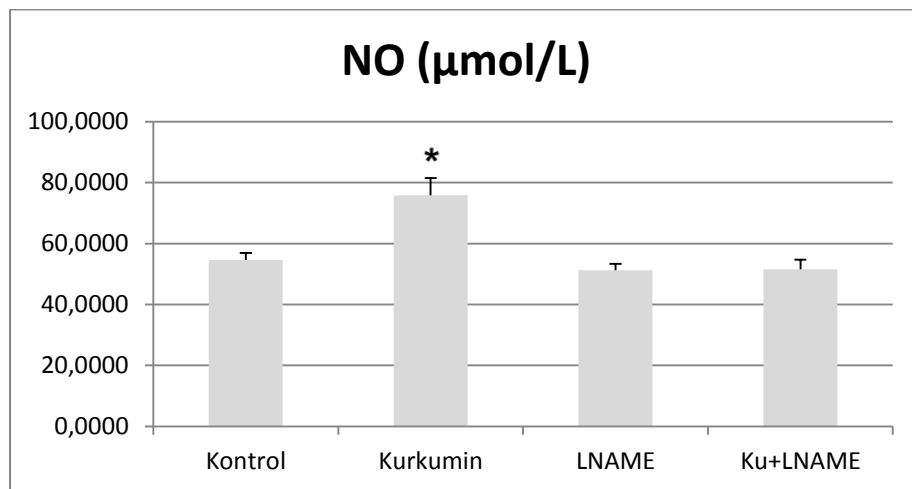
Grafik 1. Deney grupları TBARS bar grafiği. L-NAME grubu TBARS düzeyinin Kontrol, Kurkumin, L-NAME + Kurkumin gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı artmış olduğu görülmektedir ($P < 0.001$).



Grafik 2. Deney grupları Protein Karbonil (PC) bar grafiği. L-NAME grubu PC düzeyinin Kontrol ($P<0.006$), Kurkumin ($P<0.006$), L-NAME + Kurkumin ($P<0.002$) gruplarına göre istatiksels anlamlı olarak artmış olduğu saptanmıştır.



Grafik 3. Deney grupları Nitrik Oksit (NO) bar grafiği. Kurkumin grubu NO düzeyinin Kontrol ($P<0.002$) ve L-NAME ($P<0.001$), L-NAME + Kurkumin ($P<0.001$) gruplarına göre istatiksels anlamlı olarak artmış olduğu bulunmuştur.



4.2.Kan Basıncı Sonuçları

Yapılan varyans analizi ve sonrasında Tukey testiyle G0., G15. ve G20. günlerdeki sıçan kuyruk kan basıncı ölçümleri gerçekleştirilerek Kontrol, Kurkumin, L-NAME ve L-NAME + Kurkumin gruplarının SKB ve DKB kayıtları alınarak değerlendirilmiştir (Tablo 4 ve 5, Grafik 4 ve 5).

Tablo 4: Deney gruplarında sıçanlarda SKB ve DKB ölçümlerinin deney gruplarına göre karşılaştırılması ($P<0.05$) (SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diastolik Kan Basıncı).

Gruplar	G0.gün		G15.gün		G20.gün	
	SKB	DKB	SKB	DKB	SKB	DKB
Grup 1 (Kontrol)	103,43 ± 0,869	81,43 ± 1,288	107,86 ± 1,204	87,29 ± 1,340	108,00 ± 0,756	87,86 ± 1,388
Grup 2 (Kurkumin)	103,00 ± 0,816	77,43 ± 1,913	112,00 ± 1,648	88,29 ± 1,304	107,57 ± 1,307	85,86 ± 1,993
Grup 3 (L-NAME)	102,86 ± 0,962	81,57 ± 2,034	110,00 ± 0,845	90,43 ± 1,232	124,71 ± 3,068	95,71 ± 2,514
Grup 4 (Kurkumin+L-NAME)	100,11 ± 1,172	77,56 ± 1,966	110,67 ± 1,740	85,22 ± 1,299	103,22 ± 1,526	78,56 ± 2,512
P değerleri						
1-2	A.D.	A.D.	A.D.	A.D.	A.D.	A.D.
1-3	A.D.	A.D.	A.D.	A.D.	0.001	A.D.
1-4	A.D.	A.D.	A.D.	A.D.	A.D.	0.027
2-3	A.D.	A.D.	A.D.	A.D.	0.001	0.027
2-4	A.D.	A.D.	A.D.	A.D.	A.D.	A.D.
3-4	A.D.	A.D.	A.D.	0.036	0.001	0.001

G0.gün, kuyruk SKB ölçümünün deney gruplarında karşılaştırmasında, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 4).

G15.gün, kuyruk SKB ölçümünün deney gruplarında karşılaştırmasında, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 4).

G20.gün, kuyruk SKB ölçümünün deney gruplarında karşılaştırmasında, Kontrol ($P<0.001$), Kurkumin ($P<0.001$) ve Kurkumin+L-NAME grubu ($P<0.001$) ile karşılaştırıldığında L-NAME grubunda anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur. Diğer gruplar arası karşılaştırmada ise istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmamıştır (Tablo 4).

G0.gün, kuyruk DKB ölçümünün deney gruplarında karşılaştırmasında, gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 4).

G15.gün, kuyruk DKB ölçümünün deney gruplarında karşılaştırmasında, L-NAME grubuyla karşılaştırıldığında Kurkumin+L-NAME grubunda ($P<0.036$) anlamlı bir azalma saptanmıştır. Diğer gruplar arası karşılaştırmada ise istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmamıştır (Tablo 4).

G20.gün, kuyruk DKB ölçümünün deney gruplarında karşılaştırmasında, Kurkumin+L-NAME grubunda Kontrol ($P<0.027$) ve L-NAME grubuna ($P<0.001$) göre anlamlı azalma bulunmuştur. Ayrıca L-NAME grubu G20.gün kan basıncı değerleri Kurkumin grubuna ($P<0.027$) göre anlamlı olarak artmıştır. Diğer G20.gün kan basıncı değerleri gruplar arası karşılaştırmalarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmamıştır (Tablo 4).

Tablo 5: Sıçanlarda kuyruk SKB ve DKB ölçümlerinin deney gruplarında grup içi karşılaştırmaları ($P<0.05$) (SKB: Sistolik kan basıncı, DKB: Diastolik Kan Basıncı).

Grup İçi Karşılaştırmalar	Grup 1 (Kontrol)	Grup 2 (Kurkumin)	Grup 3 (L-NAME)	Grup 4 (Kurkumin + L-NAME)
G0 Sistol - G15 Sistol	0.002	0.001	0.001	0.001
G0 Sistol - G20 Sistol	0.004	0.002	0.001	A.D.
G15 Sistol - G20 Sistol	A.D.	0.023	0.002	0.001
G0 Diastol - G15 Diastol	0.012	0.012	0.001	0.005
G0 Diastol - G20 Diastol	0.033	0.016	0.005	A.D.
G15 Diastol - G20 Diastol	A.D.	A.D.	A.D.	0.017

Kontrol grubunda kuyruk SKB değerleri, G0. güne göre G15. ($P<0.002$) ve G20. günde ($P<0.004$) anlamlı olarak artmış iken, G15. ve G20.gün arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 5).

Kontrol grubunda kuyruk DKB değerleri, G0. güne göre G15. ($P<0.012$) ve G20. günde ($P<0.033$) anlamlı olarak artmış iken, G15. ve G20.gün arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 5).

Kurkumin grubunda kuyruk SKB değerleri, G0. güne göre G15. ($P<0.001$) ve G20. günde ($P<0.002$) anlamlı olarak artmış iken, G15. güne göre G20. gün kuyruk SKBnda ($P<0.023$) anlamlı bir azalma bulunmuştur (Tablo 5).

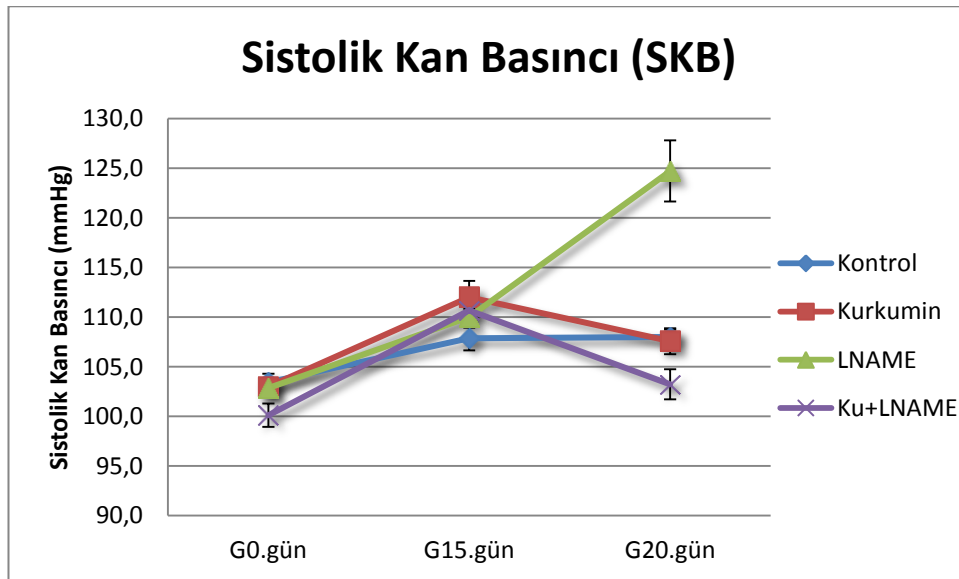
Kurkumin grubunda kuyruk DKB değerleri, G0. güne göre G15. ($P<0.012$) ve G20. günde ($P<0.016$) anlamlı olarak artmış iken, G15. ve G20.gün arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 5).

L-NAME grubunda kuyruk SKB değerleri, G0. güne göre G15. ($P<0.001$) ve G20. günde ($P<0.001$), G15. güne göre G20. günde ($P<0.002$) anlamlı bir artma bulunmuştur (Tablo 5).

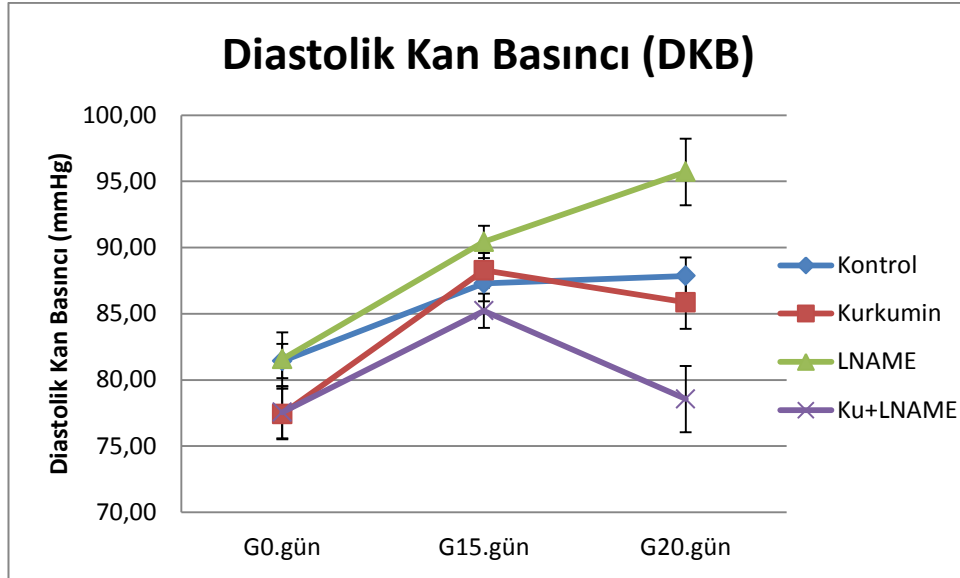
L-NAME grubunda kuyruk DKB değerleri, G0. güne göre G15. (P<0.001) ve G20. günde (P<0.005) anlamlı olarak artmış iken, G15. ve G20. gün arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 5).

Kurkumin + L-NAME grubunda kuyruk SKB değerleri, G0. güne göre G15. (P<0.001) günde anlamlı bir artma varken, G20. gün G15. güne (P<0.001) göre anlamlı bir azalma saptanmıştır. G20. gün ile G0. gün arasında ise anlamlı bir fark yoktur (Tablo 5).

Kurkumin + L-NAME grubunda kuyruk DKB değerleri, G0. güne göre G15. (P<0.005) günde anlamlı bir artma varken, G20. gün G15. güne (P<0.017) göre anlamlı bir azalma saptanmıştır. G20. gün ile G0. gün arasında ise anlamlı bir fark yoktur (Tablo 5).



Grafik 4. Deney gruplarında kuyruk SKB ortalamalarının gebeliğin 0., 15. ve 20. günlerdeki değişimi.



Grafik 5. Deney gruplarında kuyruk DKB ortalamalarının gebeliğin 0., 15. ve 20. günlerdeki değişimi.

4.3. İmmünohistokimyasal sonuçlar

4.3.1. Aquaporin-4

Kontrol ve Kurkumin grubuna ait beyin dokularında yapılan incelemelerde, perivasküler alanlarda AQP-4 immünreaktivitesinin oldukça zayıf olduğu görüldü (Şekil 8a-b).

L-NAME grubuna ait beyin dokularında yapılan incelemelerde, perivasküler alanlarda AQP-4 immünreaktivitesinin oldukça belirgin olduğu saptandı (Şekil 8c).

L-NAME + Kurkumin grubuna ait beyin dokularında yapılan incelemelerde, perivasküler alanlarda AQP-4 immünreaktivitesinin L-NAME grubuna göre azaldığı tespit edildi (Şekil 8d ve Tablo 6).

4.3.2. Kaveolin-1

Kontrol ve Kurkumin grubuna ait beyin dokularında yapılan incelemelerde, beyin kapiller damarlarında Kaveolin-1 immünreaktivitesinin oldukça belirgin olduğu görüldü (Şekil 9a-b).

L-NAME grubuna ait beyin dokularında yapılan incelemelerde, beyin kapiller damarlarında Kaveolin-1 immünreaktivitesinin oldukça zayıf olduğu saptandı (Şekil 9c).

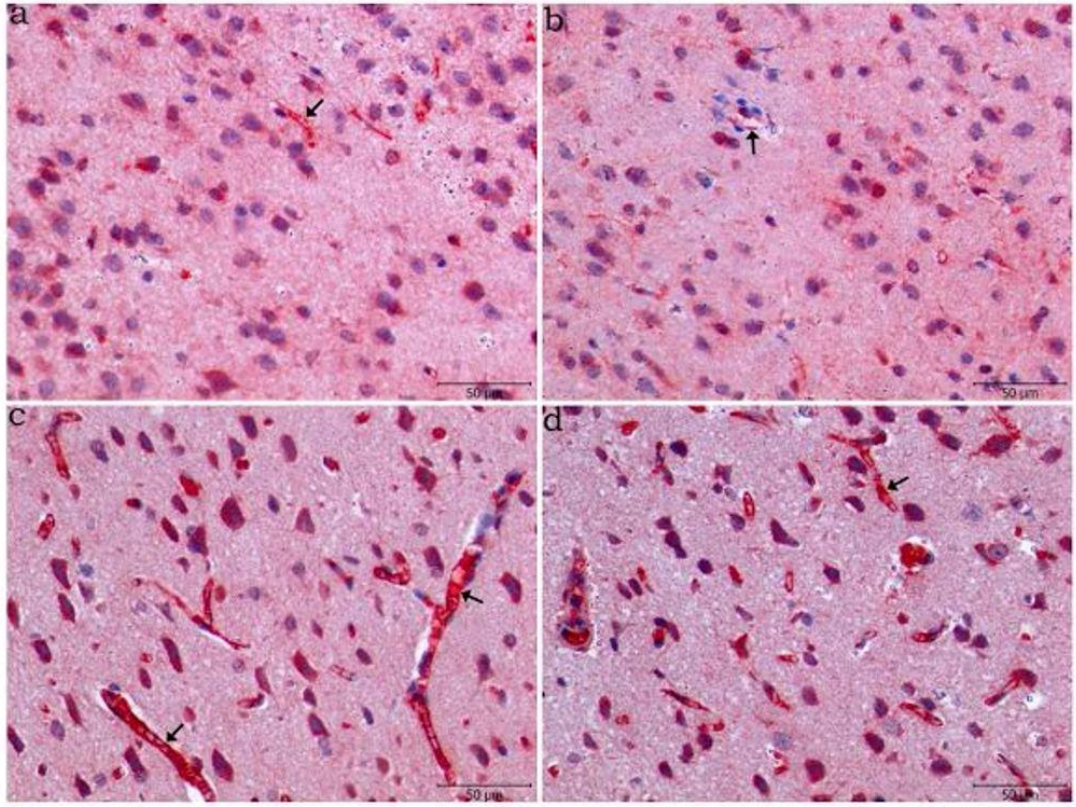
L-NAME + Kurkumin grubuna ait beyin dokularında yapılan incelemelerde, beyin kapiller damarlarında Kaveolin-1 immünreaktivitesinin L-NAME grubuna göre arttığı tespit edildi (Şekil 9d ve Tablo 6).

4.3.3. Okludin

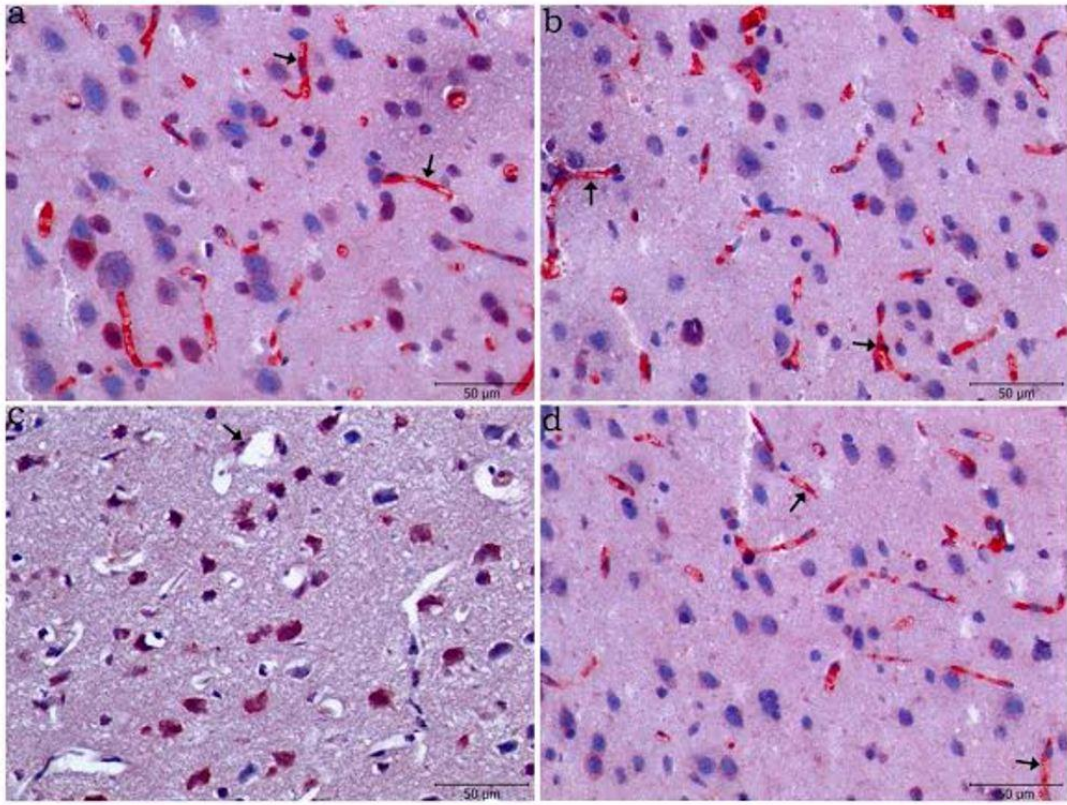
Kontrol ve Kurkumin grubuna ait beyin dokularında yapılan incelemelerde, beyin kapiller damarlarında Okludin immünreaktivitesinin oldukça belirgin olduğu görüldü (Şekil 10a-b).

L-NAME grubuna ait beyin dokularında yapılan incelemelerde, beyin kapiller damarlarında Okludin immünreaktivitesinin oldukça zayıf olduğu saptandı (Şekil 10c).

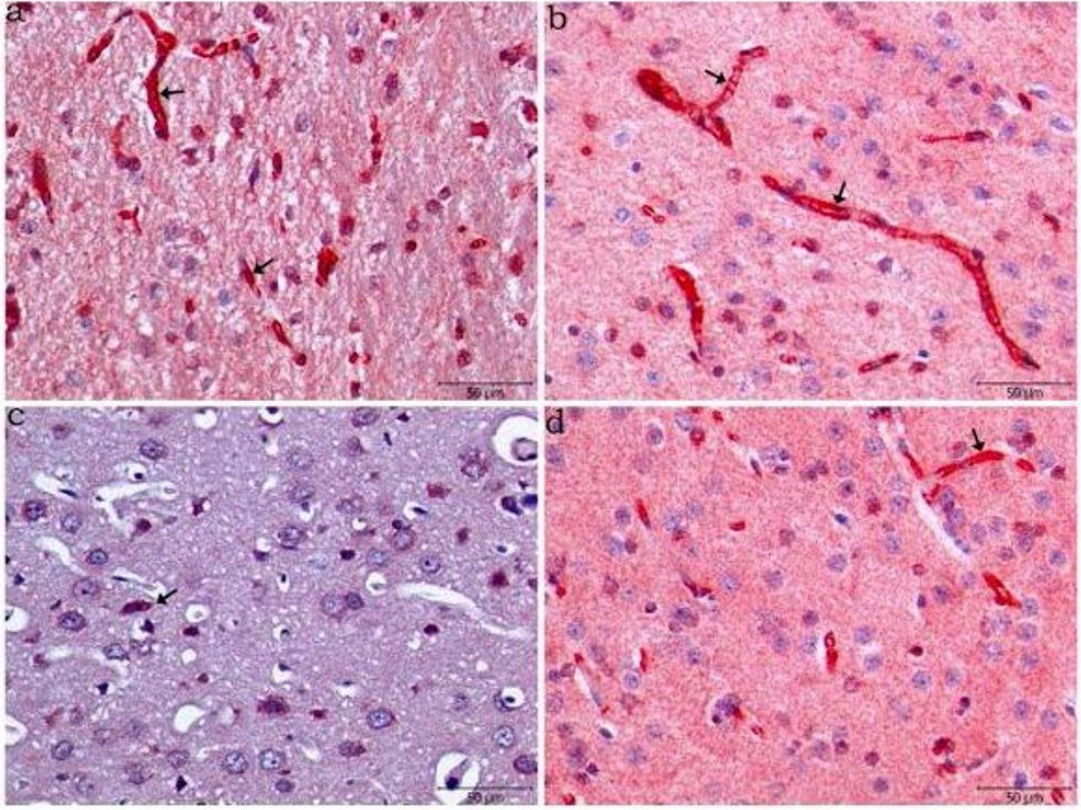
L-NAME + Kurkumin grubuna ait beyin dokularında yapılan incelemelerde, beyin kapiller damarlarında Okludin immünreaktivitesinin L-NAME grubuna göre arttığı tespit edildi (Şekil 10d ve Tablo 6)



Şekil 8. Kontrol (a), Kurkumin (b), L-NAME (c) L-NAME + Kurkumin (d) gruplarına ait beyin dokusunda AQP-4 immünboyanması. Ok: AQP-4 immünreaktivitesi gösteren damarlar. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması, X400.



Şekil 9. Kontrol (a), Kurkumin (b), L-NAME (c) L-NAME + Kurkumin (d) gruplarına ait beyin dokusunda Kaveolin-1 immünboyanması. Ok: Kaveolin-1 immünreaktivitesi gösteren damarlar. İmmünoperoksidaz, hematoxilen zıt boyaması, X400.



Şekil 10. Kontrol (a), Kurkumin (b), L-NAME (c) L-NAME + Kurkumin (d) gruplarına ait beyin dokusunda Okludin immünboyanması. Ok: Okludin immünreaktivitesi gösteren damarlar. İmmünoperoksidaz, hematoxilen zıt boyaması, X400.

Tüm gruplar arasındaki AQP-4, Kaveolin-1 ve Okludin immunreaktivitelerinin yoğunluğu semikantitatif olarak saptandı (Tablo 6). Semikantitatif değerlendirme şu biçimdeki skorlamaya göre yapıldı; yok (-), zayıf (\pm), hafif (+), orta (++), güçlü (+++).

Tablo 6. Tüm gruplar arasındaki AQP-4, Kaveolin-1 ve Okludin immunreaktivitelerinin yoğunluğunun semikantitatif olarak değerlendirmesi; yok (-), zayıf (\pm), hafif (+), orta (++), güçlü (+++).

	Kontrol	Kurkumin	L-NAME	L-NAME+Kurkumin
AQP-4	+	+	+++	++
Kaveolin-1	+++	+++	+	++
Okludin	+++	+++	+	++

4.4. Proteinüri sonuçları

Tüm gruplar arasındaki idrar proteinüri yoğunluğu strip ile semikantitatif olarak saptandı (Tablo 7). Semikantitatif değerlendirme, aşağıdaki biçimde yapıldı; (<1+): proteinüri yok, ($\geq 1+$): proteinüri pozitif, ($\geq 2+$): ileri proteinüri, ($\geq 3+$): ciddi proteinüri

Tablo 7. Tüm gruplar arasında idrar proteinüri miktarı strip ile semikantitatif olarak değerlendirmesi; <1+ (proteinüri yok), $\geq 1+$ proteinüri pozitif, $\geq 2+$ (ileri proteinüri), $\geq 3+$ (ciddi proteinüri)

	Kontrol	Kurkumin	L-NAME	L-NAME+Kurkumin
<1+	+ (n=7)	+ (n=7)		+ (n=4)
$\geq 1+$			+ (n=4)	+ (n=4)
$\geq 2+$			+ (n=3)	+ (n=1)
$\geq 3+$				

5.TARTIŞMA

Gebeliğin korkulan bir komplikasyonu olan preeklampside, oksidasyon düzeylerinin Kurkumin tedavisi sonucu nasıl etkilendiği, Kurkumin'in plazma biyokimyasal parametrelerine etkisinin ne düzeyde olduğu çalışmamızda incelendi. Ayrıca Kurkuminin, KBB'de önemli olan AQP-4, Okludin ve Kaveolin-1 protein düzeylerine ve sıçan kan basıncına olan etkisini immünohistokimyasal olarak ve sıçan kan basıncına olan etkisi kuyruk kan basıncı ölçümleriyle araştırıldı.

Preeklampsi, insan gebeliğinin multisistem bir hastalığı olup, gebe kadınların %5-7'sinde görülmektedir (Dorniak-Wall ve diğ. 2014). Gebeliğin 20. haftasından sonra gelişen hipertansiyon (DKB \geq 90 mm/Hg) ve proteinüri (\geq 300 mg 24 saatte) preeklampsi'nin iki temel patolojisidir (Milne ve diğ. 2005). Preeklampsi, vasküler disfonksiyonla karakterize primer olarak plasentasyon ve maternal mikrodamar sistemini etkileyen patofizyolojik bir durumdur. Tedavi edilmemesi durumunda şiddetli hipertansiyon ve nöbetlerin eşlik ettiği hayatı tehdit eden nörovasküler komplikasyonlara sahip eklampsi oluşabilir (Khuankaew ve diğ. 2014 Aggarwal ve diğ. 2014).

Preeklampside hayvan modeli gebeliğe özgü maternal hipertansiyon, proteinüri, ödem ve endotelyal disfonksiyon ile karakterize olmalıdır ve preeklamptik hayvan modellerinde fetal sonuçlar ile birebir uygunluk göstermelidir (McCarthy ve diğ. 2011). Çeşitli preeklamptik hayvan modelleri, preeklampsinin nedenlerini anlamamıza ve tedavi yöntemleri oluşturmamıza yardımcı olur. Bu nedenle yapılan çalışmalarda gebe hayvanlarda L-NAME ile hipertansiyon modeli oluşturularak, NOS inhibisyonunun deneysel preeklampsi modeli için kullanışlı bir yöntem olduğu bildirilmiştir (de Moura ve diğ. 2007). Sıçanlarda insanlardan farklı olarak

sinsityotrofoblast tabakasının az olması ve plasentada yüzeyel trofoblast invazyonu olması gibi nedenler preeklampside hayvan modellerinin kısıtlayıcı yönleri olarak gösterilmektedir. Kısıtlı yönleri olmasına rağmen preeklampsi hayvan modelleri preeklampsi gelişmesinin altında yatan birçok patofizyolojik mekanizmayı anlamamızı kolaylaştırmaktadır (McCarthy ve diğ. 2011).

Yapmış olduğumuz çalışmada preeklampsi model oluşumu, L-NAME uygulamasıyla gebe sıçanlarda meydana gelen hipertansiyonun kuyruktan indirek kan basıncı düzeylerindeki artışına bakılarak, metabolik kafeslere alınan hayvanların idrar protein düzeyleri ölçülerek ve fiziksel olarak hayvanlarda gözlenen ödem sonucu belirlendi.

Fizyolojik koşullarda oksidanlar ve antioksidan savunma sistemi denge halindedir. Bu dengenin bozulmasıyla membran lipid ve protein yapıları bozular, hücre içi enzimler inaktifleşir, DNA hasarı meydana gelir, mitokondrilerdeki aerobik solunum bozular, litik enzimler aktive olur, ekstrasellüler kollojen doku komponentleri yıkılır, damar geçirgenliği bozular ve trombosit agregasyonunun artması gibi bir dizi patolojiler meydana gelir (Berköz ve Yalın 2009). Hipertansiyon ve diyabet gibi patolojilerde de oksidasyonun arttığı gösterilmiştir. Ayrıca son zamanlarda hamilelik gibi fizyolojik durumlarda oksidatif strese bağlı oksidasyonun arttığı, hatta lipid peroksidasyonunun maksimum düzeye çıktığı bildirilmiştir (Verit ve diğ. 2007). Hamilelik sürecinde lipid peroksidasyonunun esas kaynağı olarak da plasenta gösterilmiştir (Wang ve diğ. 1998). Oluşan lipid peroksidasyonunun preeklampitik gebelerde, normal hamilelere göre daha fazla arttığı gözlenmiş, artan lipid peroksidasyonunun vasküler endotelial disfonksiyona ve damarlarda aşırı konstriksiyona bağlı olarak kardiyovasküler komplikasyonların gelişmesine sebep olduğu

gösterilmiştir. (Wang ve diğ. 2005, Hubel 1999). Preeklampsili gebelerde artan lipid peroksidasyonu sonucu prostasiklin (PGI_2) sentezi azalır, trombosit membranlarında tahribat meydana gelir (Weinstein 1982). Bu nedenle bozulan PGI_2 sentezi intravillöz sahada perfüzyonun da bozulmasına neden olur (Berköz ve Yalın 2009). Lipid peroksidasyonundaki artış sonucu meydana gelen hücre membran hasarı, böbrek endotel hücrelerini de etkileyerek aşırı proteinüri meydana gelmesine sebep olur (Biri ve diğ. 2006, Wisdom ve diğ. 1991).

Preeklampsili gebelerin plasentalarında, lipid peroksidasyonunda artma, glutatyon peroksidaz ve süperoksid dismutaz seviyelerinde azalma bildirilmektedir (Berköz ve Yalın 2009). Vitamin C ve E'nin plesenta dokusunda preeklampside lipid peroksidasyonunu azalttığı bildirilmektedir (Berköz ve Yalın 2009). Aynı zamanda bir antioksidan olan Kurkuminin de TBARS düzeylerini düşürerek, lipid peroksidasyonu seviyesini azalttığı çalışmalarda gösterilmiştir (Miao ve diğ. 2015, Kavaklı ve diğ. 2011)

Çalışmamızda, gebe sıçanların plazmasında bir oksidatif stres belirteci olan lipid peroksidasyonunu yansıtan TBARS düzeylerine bakılmıştır. Bulgularımız L-NAME verilerek preeklampsisi oluşturan grubun TBARS düzeyleri anlamlı derecede artarken, Kurkumin uygulanmasıyla preeklampitik sıçanların TBARS düzeylerinin anlamlı derecede azaldığını göstermiştir.

Plasental oksidatif stres markırı olan PC preeklampitik gebelerde arttığı bildirilmektedir (Palmini ve diğ. 2009, Balta ve diğ. 2011). Yapılan bir çalışmada Kurkuminin sıçan serebral hemisferinde PC düzeylerini belirgin olarak düşürdüğü gösterilmiştir (Dkhar ve Sharma 2010). Çalışmamızda L-NAME verilmesi ile artan PC düzeyi Kurkuminin etkisine bağlı olarak azaldığı görülmüştür.

Artmış SKB'na bağlı olarak gelişen hipertansiyon sonucu, ortamda artan oksidasyon ürünleri vasküler değişikliklere sebep olarak, endotelial disfonksiyon gelişmesine zemin hazırlar. Artan oksidasyon ürünleri sonucu aktive olan MMP'ler endotel hücrelerinin ve nöronların ekstrasellüler matriks yapılarını yıkarak KBB bütünlüğünü bozarlar (Raffetto ve Khalil 2008).

Fizyolojik düzeylerde NO, iyi bir vazodilatator, nörotransmitter ve immüitenin anahtar mediyatörlerinden birisidir. Aşırı sentez edilmesi ve patolojik düzeylerde artışı, oksidatif hasara ve radikal oluşumuna sebep olur (Jiang ve diğ. 2014).

NO, KBB bütünlüğü ve yapısı üzerine etkili önemli bir moleküldür. Ayrıca preeklampsilerde artan KBB permeabilitesi, azalmış endotelial NOS aktivitesi ve ekspresyonu ile ilişkili bulunmuştur (Kucuk ve diğ. 2012). Ayrıca NO, Kaveolin-1'in yapısını ve sentezlenmesini de direk olarak etkileyebilmektedir. Diğer taraftan Kaveolin-1 de bütün NOS formlarına fiziksel olarak bağlanabilmekte ve NO üretimini inhibe edebilmektedir (Gu ve diğ. 2011).

Kurkumin tedavisi uygulanan çalışmalarda NO seviyeleri değişmektedir. Bazı çalışmalarda artış gösterirken, bazı çalışmalarda azaldığı bildirilmektedir (Maheswaraiyah ve diğ. 2015, Onoda ve Inano 2000). Çalışmamızda NO seviyelerinde sadece Kurkumin verilen gebelerde diğer tüm deney gruplarına göre anlamlı olarak artış olurken, diğer gruplar arasında anlamlı bir değişiklik olmamıştır.

Kaveolin-1, KBB'de transellüler membran transport (veziküler) komponenti kaveola'nın ana bileşenidir. Beyin mikrovasküler endotel hücrelerinde yüksek miktarda sentezlenen Kaveolin-1 KBB'inde

permeabiliteden sorumlu esas proteinlerdendir (Deng ve diğ. 2012; Li ve diğ. 2014). Oksidatif stres artışına bağlı aktive olan MMP'ler KBB bütünlüğünün bozulması, beyin ödemi, hemoraji ve hücre ölümleri gibi birçok patolojiye neden olur (Gu ve diğ. 2011). Kaveolin-1, MMP aktivitesini azaltarak KBB yapısını koruyucu etki gösterir. İskemi reperfüzyon hasarı gibi nörodejeneratif hasarlarda artan MMP miktarının, Kaveolin-1 yapımını azalttığı gösterilmiştir (Gu ve diğ. 2011). Bu azalmanın sıkı bağlantı proteinlerinin yıkımını arttırdığı ve bunun sonucunda KBB permeabilitesinin bozulduğu gösterilmiştir (Gu ve diğ. 2011, Gu ve diğ. 2012, Song ve diğ. 2007). Kurkumin ile yapılan bir çalışmada Kaveolin-1 proteinini düzenleyerek patolojilerde düzelmeye olduğu gösterilmiştir (Sun ve diğ. 2014). Çalışmamızda KBB yapısının bozulduğu L-NAME grubunda azalan Kaveolin-1 düzeyinin, Kurkumin uygulanan tedavi grubunda arttığı bulunmuştur.

Membran kanal proteinlerinden, su kanal proteini olan Aquaporin'ler birçok doku ve hücrenin plazma membranı boyunca su geçişini sağlayan özelleşmiş tetramer formunda kapısız kanallardır. Şu ana kadar tanımlanmış 13 adet su kanal proteini olduğu bildirilmektedir (Chen ve diğ. 2014).

Kan beyin bariyerinde, astrosit uzantısı plazma membranlarında yüksek oranda sentezlenen AQP-4'ün, beyin ödemi ve SSS patogenezinde anahtar rol oynadığı bildirilmektedir (Xiao ve Hu 2014). AQP-4'ün preeklampsi ve eklampsinin patogenezinde yer aldığı düşünülmektedir. L-NAME ile indüklenmiş preeklampsi modellerinde ve gebe hayvanların beyin dokularında, özellikle astrositlerde ve daha küçük boyutlarda bariyer yapısındaki endotel hücrelerinde AQP-4 ekspresyonu artışı gösterilmiştir. Preeklampside, hipertansiyon gibi birçok stres faktörünün AQP-4 sentezini arttırdığı, KBB bütünlüğünün bozulmasına ve serebral ödemin gelişmesine

katkı sağladığı bildirilmiştir. Ayrıca AQP-4'ün sadece beyin ödemi oluşumu sırasında su girişini kolaylaştırmadığı, aynı zamanda beyin ödeminin elimine edilmesi için sıvı çıkışına da aracılık ettiği gösterilmiştir. (Kucuk ve diğ. 2012).

Kurkumin'in AQP-4 dahil birçok kanal proteinini düzenleyici role sahip olduğu bildirilmektedir (Zhang ve diğ. 2014). Hipoksik-iskemik beyin hasarında artmış AQP-4 sentezini, down-regule ederek beyin kapillerini çevreleyen astrositleri hasara karşı koruyabileceği ve nöral travmaya bağlı gelişen serebral ödem ve azalmış glial aktivitede AQP-4 ekspresyonunu bloke edebileceği bildirilmektedir (Zhang ve diğ. 2014).

Çalışmamızda preeklampsili gebelerde, kan beyin bariyerinin astrosit plazma membranlarında AQP-4'ün ekspresyon miktarına bakıldı. Literatürle uyumlu olarak preeklampsisi grubunda artan AQP-4 miktarı, tedavi grubunda azalmıştır (Zhang ve diğ. 2014).

Bozulmuş KBB ile transmembran proteini Okludin ekspresyonu korelasyon göstermektedir. Bu nedenle parasellüler geçiş, artmış KBB permeabilitesinin temel sorumlusu olarak bilinir. L-NAME uygulanan gebe sıçanların mikrovasküler endotel hücrelerinde Okludin sentezinin azalması bunun en iyi göstergesidir. (Kucuk ve diğ. 2012). Okludin KBB'inde mikrovasküler endotel hücrelerinin hücre iskelet yapı bütünlüğünden de sorumludur. Ayrıca Kodein gibi analjezik ajanlar KBB bütünlüğünde, kontrollü bir tedavi yanıtı oluştururlar, ancak inflamasyonla birlikte meydana gelen Okludin patolojilerinde, parasellüler geçişin bozulması sonucu, kodeinin kontrolsüz beyine geçişi ve birikimi gerçekleşir, bunun sonucunda artmış KBB geçirgenliği nedeniyle belirgin nöropatolojik yan etkiler meydana gelir (McCaffrey ve Davis 2012).

KBB permeabilitesinde rol oynayan proteinlerden biride endorfin-1'dir. Endorfin-1 parasellüler permeabiliteyi arttırmakta ve bu etkisini okludin ekspresyonunda engelleyerek gerçekleştirmektedir (Liu ve diğ. 2014).

Kan beyin bariyeri mikrovasküler endotel hücreleri arasındaki kritik role sahip transmembran proteini okludinin eksikliği ve yetersizliği; subaraknoid hemoraji, gestasyonel hipertansiyon, hipoksi, iskemi, inme gibi KBB hasarının eşlik ettiği birçok nörodejeneratif patolojide gösterilmiştir (Nag ve diğ. 2009; Wang ve diğ. 2013; Li ve diğ. 2014). Çalışmamızda Kurkuminin beyin mikrovasküler endotel hücrelerinde Okludin downregülasyonunu engelleyerek KBB permeabilitesini iyileştirdiği gösterilmiştir (Wang ve diğ. 2013).

Yaptığımız çalışmada literatüre uyumlu olarak bütünlüğü bozulan KBB'de Okludin miktarının azaldığı ve tedavi grubunda ise Kurkuminin protektif etkisi ile ekspresyonunun arttığı bulunmuştur.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız sıçanlarda preeklamsi deney modeli çalışmasında, preeklamsi oluşumu için nitrik oksit sentaz enzimini inhibe ederek NO düzeyleri azaltan L-NAME ajanını kullandık. Deneysel modelimizin oluştuğunu göstermek için de G0., G15. ve G20. günlerde sıçan kuyruk kan basınçlarını ölçerek L-NAME verilen gruplarda anlamlı kan basıncı yükselişini gösterdik. Bunun yanı sıra sıçan idrarında proteinüri oluştuğu ve gözlemsel olarak ödem gerçekleştiğini saptadık.

Oksidatif stres parametrelerinden TBARS'ı lipid peroksidasyonu düzeyini saptamak ve PC'ı ise protein oksidasyonu düzeyini göstermek için spektrofotometrik olarak değerlendirdik. Kurkumin'in preeklamtik grupta her iki parametre üzerine çok açık bir şekilde ve istatistiksel olarak anlamlı etki göstererek lipid ve protein hasarını azalttığını bulduk. Kurkumin'in tek başına NO düzeyini artırdığını, ama preeklamtik grupta anlamlı olmayan küçük bir artışa yol açtığını saptadık. Kurkumin'in NO düzeyini artırıcı etkisini preeklamtik grupta kan basıncının belirgin ve istatistiksel olarak anlamlı azalması da desteklemektedir.

Beyin dokusu kesitlerinin immünohistokimyasal olarak boyanmasıyla, KBB'nde sıkı bağlantı proteini olan Okludin düzeyinin ve vasküler endotel hücre membran proteini olan Kaveolin-1 düzeyinin preeklamsiyle azaldığı ama Kurkumin tedavisiyle düzeylerinin arttığı bulundu. KBB hücre membranlarında bol bulunan su kanal proteini olan AQP-4 düzeyinin ise preeklamtik grupta çok arttığı ama Kurkumin tedavisiyle azaldığı gösterildi.

Bulgularımız Kurkumin'in deneysel preeklamsi modelimizde KBB fonksiyonel bütünlüğünü koruyucu ve plasma oksidatif stresini azaltıcı etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Kurkumin'in preeklamside kan basıncını

azaltıcı etkisinin NO düzeylerinde artmaya neden olmasından kaynaklandığı öngörülebilmektedir.

Farklı parametrelerle yapılacak deneysel hayvan modellerinde veya insanlarda gerçekleştirilecek deneysel araştırmalarda preeklampside Kurkuminin etkisi daha net ortaya konabilecektir. Kurkumin'in farklı deneysel preeklamsi modellerinde araştırılması, gelecekte preeklamsi tedavi protokollerinde değişime yol açabilecektir.

7.KAYNAKLAR

- ABBOTT, N. J. 2002. Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain barrier permeability. *Journal of Anatomy*. 200(6):629-638.
- ABBOTT, N. J. 2005. Dynamics of CNS barriers: evolution, differentiation, and modulation. *Cellular and Molecular Neurobiology*. 25(1):5-23.
- ABBOTT, N. J., PATABENDİGE, A. A., DOLMAN, D. E., YUSOF, S. R., BEGLEY, D. J. 2010. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiology of Disease*. 37(1):13-25.
- ABUELO, J.G. 1992. Validity of dipstick analysis as a method of screening for proteinuria in pregnancy. *Am j Obstet Gynecol*. 176:1654.
- AGGARWAL, B. B., DEB, L., PRASAD, S. 2014. Curcumin Differs from Tetrahydrocurcumin for Molecular Targets, Signaling Pathways and Cellular Responses. *Molecules*. 20(1):185-205.
- AGGARWAL, B. B., HARİKUMAR, K. B. 2009. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 41(1):40-59.
- AGGARWAL, B. B., SUNG, B. 2009. Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: an age-old spice with modern targets. *Trends in Pharmacological Sciences*. 30(2):85-94.
- AHMED, R., DUNFORD, J., MEHRAN, R., ROBSON, S., KUNADIAN, V. 2014. Pre-Eclampsia and Future Cardiovascular Risk Among Women A Review. *J Am Coll Cardiol*. 63(18):1815-1822.
- ARNGRİMSSON, R., HAYWARD, C., NADAUD, S., BALDURSDOTTİR, A., WALKER, J. J., LİSTON, W. A., BJARNADOTTİR, R. I., BROCK, D. J. H., GEİRSSON, R. T., CONNOR, J. M., SOUBRIER, F. 1997. Evidence for a familial pregnancy-induced hypertension locus in the eNOS-gene region. *American Journal of Human Genetics*. 61(2):354-362.
- BADAUT, J., FUKUDA, A. M., JULLIENNE, A., PETRY, K. G. 2014. Aquaporin and brain diseases. *Biochim Biophys Acta*. 1840(5):1554-1565.
- BASCHAT, A. A., HECHER, K. 2004. Fetal growth restriction due to placental disease. *Semin Perinatol*. 28(1):67-80.
- BALTA, O., BOZTOSUN, A., DEVECİ, K., GULTURK, S., EKİCİ, F., KAYA, A., CETİN, A., CETİN, M. 2011. Reduced uterine perfusion pressure model is not successful to mimic severe preeclampsia. *Placenta*. 32:675-680.
- BALLABH, P., BRAUN, A., NEDERGAARD, M. 2004. The Blood-Brain Barrier: an overview Structure, regulation, and clinical implication. *Neurobiology of Disease*. 16:1-13.

- BELVİRANLI, M., OKUDAN, N., ATALIK, K.E.N. 2012. Yaşlı sıçanlarda kurkumin takviyesinin kalp dokusunun oksidan/antioksidan durumu üzerine etkileri. *Genel Tıp Dergisi*. 22(2):61-66
- BERNACKİ, J., DOBROWOLSKA, A., NIERWIŃSKA, K. 2008. Physiology and pharmacological role of the blood-brain barrier. *Pharmacol Reports*. 60(5):600-622.
- BERKÖZ, M., YALIN, S. 2009. Normal ve Preeklampitik gebelerde lipid peroksidasyonu ve antioksidan aktivite. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. 10(2):53-58).
- BETZ, A. L., FİRTH, J. A., GOLDSTEIN, G. W. 1980. Polarity of the Blood-Brain-Barrier - Distribution of Enzymes between the Luminal and Antiluminal Membranes of Brain Capillary Endothelial-Cells. *Brain Res* 192 (1):17-28.
- BİRİ, A., KAVUTCU, M., BOZKURT, N., DEVRİM, E., NURLU, N., DURAK, I. 2006. Investigation of free radical scavenging enzyme activities and lipid peroxidation in human placental tissues with miscarriage. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*. 13(5):384-388.
- BOFFA, M.C., VALSECCHI, L., FAUSTO, A., GOZİN, D., VİGANO' D'ANGELO, S., SAFA O. 1998. Predictive value of plasma thrombomodulin in preeclampsia and gestational hypertension. *Thromb Haemost*. 79(6):1092-2005.
- BORZYCHOWSKI, A.M., SARGENT, I.L., REDMAN, C.W.G. 2006. Inflammation and pre-eclampsia. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine*. 11:309-316
- BRİGHTMAN, M. W., REESE, T.S. 1969. Junctions between intimately apposed cell membranes in the vertebrate brain. *Journal of Cell Biology*. 40(3):648-677.
- BROWN, M., LİNDHEİMER, M.D., DE SWİET, M. 2001. The classification and diagnosis of hipertensive disorders of pregnancy: Statement from the International Society for the Study of Hipertension in Pregnancy (ISSHP). *Hipertens Pregnancy*. 20.
- BROMAN, T., GRÖNTOFT, O., STEİNWALL, O. 1965. Comparative intravital and postmortem studies on chemically induced blood-brain barrier damage tested with trypan blue. *Acta neurologica Scandinavica*. 41: 527-538.
- BUEGE, J.A., AUST, S.D. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*. 52: 302-10.
- BULLA, R., BOSSİ, F., RADİLLO, O., DE SETA, F., TEDESCO, F. 2003. Placental trophoblast and endothelial cells as target of maternal immune response. *Autoimmunity*. 36(1):11-18.
- BUTT, A. M., H. C. JONES, AND N. J. ABBOTT. 1990. Electrical-Resistance

- across the Blood-Brain-Barrier in Anesthetized Rats - a Developmental-Study. *Journal of Physiology-London* 429:47-62.
- CANORUÇ, N., KALE, A., KALE, E., AKDENİZ, N., YALINKAYA, A. 2006. Serum Interleukins (10, 6, 8, 1), Tumor Necrosis Factor Alpha and Interleukin-2 Receptor Levels in Patients with Severe Preeclampsia and Normotensive Pregnant Women. *Turkiye Klinikleri J Gynecol Obst.* 16(4):13
- CHAUDHURİ, J. D. 2000. Blood brain barrier and infection. *Med Sci Monit* 6. (6):1213-1222.
- CHEN, H. M., HUANG, H. S., RUAN, L., HE, Y. B., Lİ, X. J. 2014. Ulinastatin attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine.* 7(5):1483-1489.
- CHESLY LC, C. D. 1986. Genetics of hipertension in pregnancy. Possible single gen control of preeclampsia and eclampsia and the descendants of eclamptic women. *Br J Obstet Gynecol.* 93:898-908.
- CHOUDHARY, N., SEKHON, B.S. 2012. Potential therapeutic effect of curcumin - an update. *J Pharm Educ Res.* 3(2):64-71.
- CORDENONSİ, M., D'ATRİ, F., HAMMAR, E. 1999. Cingulin contains globular and coiled-coil domains and interacts with ZO-1, ZO-2, ZO-3, and myosin. *J Cell Biol.* 147(7):1569-1582.
- CORNFORD, E. M., VARESİ, J. B., HYMAN, S., DAMİAN, R. T., RALEİGH, M. J. 1997. Mitochondrial content of choroid plexus epithelium. *Exp Brain Res.* 116(3):399-405.
- CORREALE, J., VİLLA, A. 2009. Cellular Elements of the Blood-Brain Barrier. *Neurochem Res.* 34(12):2067-2077.
- CORTAS, N.K., WAKID, N.W. 1990. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin. Chem.* 36(8): 1440-1443.
- CUMMİNS, P. M. 2012. Occludin: one protein, many forms. *Molecular and Cellular Biology.* 32(2):242-250.
- DAY, R. E., KİTCHEN, P., OWEN, D. S., BLAND, C., MARSHALL, L., CONNER, A. C., BİLL, R. M., CONNER, M. T. 2014. Human aquaporins: regulators of transcellular water flow. *Biochim Biophys Acta.* 1840(5):1492-1506.
- DE MOURA, R.S., RESENDE, Â.C., MOURA, A.S., MARADEİ, M.F. 2007. Protective Action of a Hydroalcoholic Extract of a Vinifera Grape Skin on Experimental Preeclampsia in Rats. *Hypertension in Pregnancy.* 26: 89-100.
- DE VRİES, H.E., KUIPER, J., DE BOER, A.G. 1997. The Blood-Brain Barrier in Neuroinflammatory Diseases. *Pharmacol Rev.* 49(2):143-155.

- DEKKER, G. 2002. The partner's role in the etiology of preeclampsia. *J Reprod Immunol.* 57(1-2):203-215.
- DEKKER, G. A., DEVRİES, J. I. P., DOELITZSCH, P. M., HUIJGENS, P. C., VONBLOMBERG, B. M. E., JAKOBS, C., VANGEIJN, H. P. 1995. Underlying Disorders Associated with Severe Early-Onset Preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 173(4):1042-1048.
- DEKKER, G. A., SİBAİ, B. M. 1998. Etiology and pathogenesis of preeclampsia: current concepts. *Am J Obstet Gynecol.* 179(5):1359-1375.
- DELİ, M.A., ABRAHÁM, C.S., KATAOKA, Y. 2005. Permeability studies on in vitro blood-brain barrier models: physiology, pathology, and pharmacology. *Cell Mol Neurobiol.* 25(1):59-12.
- DENG, J., ZHAO, F., YU, X., ZHAO, Y., Lİ, D., SHİ, H., SUN, Y. 2014. Expression of aquaporin 4 and breakdown of the blood-brain barrier after hypoglycemia-induced brain edema in rats. *PLoS One.* 9(9):e107022.
- DENG, J. M., HUANG, Q., WANG, F., LİU, Y. J., WANG, Z. B., WANG, Z. G., ZHANG, Q. T., LEİ, B., CHENG, Y. 2012. The Role of Caveolin-1 in Blood-Brain Barrier Disruption Induced by Focused Ultrasound Combined with Microbubbles. *Journal of Molecular Neuroscience.* 46(3):677-687.
- DİZONTOWNSON, D. S., NELSON, L. M., EASTON, K., WARD, K. 1996. The factor V Leiden mutation may predispose women to severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 175(4):902-905.
- DKHAR, P., SHARMA, R. 2010. Effect of dimethylsulphoxide and curcumin on protein carbonyls and reactive oxygen species of cerebral hemispheres of mice as a function of age. *Int. J. Devl Neuroscience.* 28: 351-357
- DORNIÁK-WALL, T., GRİVELL, R. M., DEKKER, G. A., HAGUE, W., DODD, J. M. 2014. The role of L-arginine in the prevention and treatment of pre-eclampsia: a systematic review of randomised trials. *J Hum Hypertens.* 28(4):230-235.
- DOSSANTOS, M. F., HOLANDA-AFONSO, R. C., LİMA, R. L., DASİLVA, A. F., MOURA-NETO, V. 2014. The role of the blood-brain barrier in the development and treatment of migraine and other pain disorders. *Front Cell Neurosci.* 8:302.
- DOUGLAS, K. A., REDMAN, C. W. 1994. Eclampsia in the United Kingdom. *BMJ.* 309(6966):1395-1400.
- EL-KABARİTY, R. H., NAGUİB, A. H. 2011. Serum levels of IL-18, IL-12 and TH-1/TH-2 ratio in patients with pre-eclampsia. *Egypt J Immunol.* 18(1):1-8.

- ELALİ, A., THERIAULT, P., RIVEST, S. 2014. The role of pericytes in neurovascular unit remodeling in brain disorders. *Int J Mol Sci.* 15(4):6453-6474.
- ENGELHARDT, B., SOROKIN, L. 2009. The blood-brain and the blood-cerebrospinal fluid barriers: function and dysfunction. *Semin Immunopathol.* 31(4):497-511.
- FARACÌ, F. M. 2011. Protecting against vascular disease in brain. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology.* 300(5):1566-1582.
- FEENEY, J. G., SCOTT, J. S. 1980. Pre-Eclampsia and Changed Paternity. *European Journal of Obstetrics Gynecology and Reproductive Biology.* 11(1):35-38.
- FENSTERMACHER, J.D., RAPAPORT, S.T. 1984. Blood Brain Barrier. In *Handbook of Physiology - The Cardiovascular System.* 4. Baskı. New York. American Physiological Society. Sayfa:969-1000.
- FITZGERALD, D. J., ENTMAN, S. S., MULLOY, K., FITZGERALD, G. A. 1987. Decreased Prostacyclin Biosynthesis Preceding the Clinical Manifestation of Pregnancy-Induced Hypertension. *Circulation.* 75(5):956-963.
- FORSTER, C. 2008. Tight junctions and the modulation of barrier function in disease. *Histochemistry and Cell Biology.* 130(1):55-70.
- FURNESS, D. L. F., FENECH, M. F., KHONG, Y. T., ROMERO, R., DEKKER, G. A. 2008. One-carbon metabolism enzyme polymorphisms and uteroplacental insufficiency. *Am J Obstet Gynecol.* 199 (3).
- GENC, H., UZUN, H., BENİAN, A., SİMSEK, G., GELİSGEN, R., MADAZLİ, R. 2011. Evaluation of oxidative stress markers in first trimester for assessment of preeclampsia risk. *Arch Gynecol Obstet.* 284(6):1367-1373.
- GIFFORD, R.W., AUGUST, P.A., CUNNINGHAM, G. 2000. Report of the National High Blood Pressure Education Programme Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 183:51-55
- GOLDMANN, E.E. 1913. Vitalfarbung am Zentral nerven system. *Abh Preuss Akademik Wiss Physial Klass Mathematical Techinal.* 11-60.
- GU, Y., DEE, C. M., SHEN, J. 2011. Interaction of free radicals, matrix metalloproteinases and caveolin-1 impacts blood-brain barrier permeability. *Front Biosci (Schol Ed).* 3:1216-1231.
- GU, Y., ZHEN, G. G., XU, M. 2012. Caveolin-1 regulates nitric oxide-mediated matrix metalloproteinases activity and blood-brain barrier permeability in focal cerebral ischemia and reperfusion injury. *J. Neurochem.* 120(1):147-156.
- GÜLTÜRK, S., İMİR, G., TUNCER, E. 2007. Kan beyin bariyeri. *Erciyes Tıp Dergisi.* 29(2):147-154.

- HATCHER, H., PLANALP, R., CHO, J., TORTÌA, F. M., TORTÌ, S. V. 2008. Curcumin: From ancient medicine to current clinical trials. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 65(11):1631-1652.
- HELEWA, M.E., BURROWS, R.F., SMITH, J. 1997. Report of the Canadian Hypertension Society Consensus Conference: 1. Definitions, evaluation and classification of hipertensive disorders in pregnancy. *Can Med Assoc J*. 157:715
- HOFF, C., PEEVY, K., GIATTINA, K., SPINNATO, J. A., PETERSON, R. D. A. 1992. Maternal-Fetal Hla-Dr Relationships and Pregnancy-Induced Hypertension. *Obstet Gynecol*. 80(6):1007-1012.
- HUBEL, C. A. 1999. Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 222(3):222-235.
- HUNG T.H., BURTON G.J. 2006. Hypoxia and reoxygenation: a possible mechanism for placental oxidative stress in preeclampsia. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 45(3):189-200.
- HUPPERTZ ,B., KINGDOM, J., CANIGGIA, I., DESOYE, G., BLACK ,S., KORR, H. 2003. Hypoxia favours necrotic versus apoptotic shedding of placental syncytiotrophoblast into the maternal circulation. *Placenta*. 24(2-3):181-190.
- JAUNIAUX, E., NICOLAIDES, K. H. 1996. Placental lakes, absent umbilical artery diastolic flow and poor fetal growth in early pregnancy. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 7(2):141-144.
- JIANG, Z., LI, C., ARRICK, D. M., YANG, S., BALUNA, A. E., SUN, H. 2014. Role of nitric oxide synthases in early blood-brain barrier disruption following transient focal cerebral ischemia. *PLoS One*. 9(3):e93134.
- JIN, Y., LEE, S. J., MINSHALL, R. D., CHOI, A. M. 2011. Caveolin-1: a critical regulator of lung injury. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 300(2):L151-160.
- JURENKA, J. S. 2009. Anti-inflammatory Properties of Curcumin, a Major Constituent of Curcuma Longa: A Review of Preclinical and Clinical Research (vol 14, pg 141, 2009). *Alternative Medicine Review*. 14(3):277-277.
- KAVAKLI, H.Ş., KOCA, C., ALICI, Ö. 2011 Antioxidant effects of curcumin in spinal cord injury in rats. *Turkish J. of Trauma and Emergency Surgery*. 17(1):14-18
- KHONG, T.Y., DE WOLF, F., ROBERTSON, W.B. 1986. Inadequate maternal vascular response to placentation in pregnancies complicated by preeclampsia and by small-for-gestational age infants. *Br J Obstet Gynecol*. 93:1049.

- KHUANKAEW, T., TANABATA, S., YAMAMOTO, M., ISHIKAWA, S., TSUTSUMI, K., OHTAKE, N., SUEYOSHI, K., OHYAMA, T., SATO, T., ANUWONG, C., RUAMRUNGSRI, S. 2014. Temperature affects N and C assimilation and translocation in *Curcuma alismatifolia* Gagnep. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. 89(3):287-292.
- KOVATS, S., MAIN, E. K., LIBRACH, C., STUBBLEBINE, M., FISHER, S. J., DEMARS, R. 1990. A Class-I Antigen, Hla-G, Expressed in Human Trophoblasts. *Science*. 248(4952):220-223.
- KUCUK, M., KAYA, M., ORHAN, N., EKIZOGLU, O., ARSLAN, E., ARICAN, N., GURSES, C., ELMAS, I., KALAYCI, R., AHISHALI, B. 2012. The effect of pentylenetetrazole-induced seizures on blood-brain barrier integrity in a rat model of preeclampsia. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 36(3):311-318.
- KUNNUMAKKARA, A. B., ANAND, P., AGGARWAL, B. B. 2008. Curcumin inhibits proliferation, invasion, angiogenesis and metastasis of different cancers through interaction with multiple cell signaling proteins. *Cancer Lett*. 269(2):199-225.
- KUO, V.S., KOUMANTAKIS, G., GALLERY, E.D. 1992. Proteinuria and assesment in normal and hypertensive pregnancy. *Am J Obstet Gynecol*. 167:723.
- LARESGOITI-SERVITJE, E. 2013. A leading role for the immune system in the pathophysiology of preeclampsia. *Journal of Leukocyte Biology*. 94(2):247-257.
- LI, Z., LIANG, G., MA, T., LI, J., WANG, P., LIU, L., YU, B., LIU, Y., XUE, Y. 2014. Blood-brain barrier permeability change and regulation mechanism after subarachnoid hemorrhage. *Metabolic Brain Disease*.
- LIE, R.T., RASMUSSEN, S., BRUNBORG, H. 1998. Fetal and maternal contribution to risk of preeclampsia: population based study. *Br Med J*. 316: 1343- 47.
- LIM, G. P., CHU, T., YANG, F., BEECH, W., FRAUTSCHY, S. A., COLE, G. M. 2001. The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse. *Journal of Neuroscience*. 21(21):8370-8377.
- LIU, W., WANG, P., SHANG, C., CHEN, L., CAI, H., MA, J., YAO, Y., SHANG, X., XUE, Y. 2014. Endophilin-1 regulates blood-brain barrier permeability by controlling ZO-1 and occludin expression via the EGFR-ERK1/2 pathway. *Brain Res*. 1573:17-26.
- LIU, W. Y., WANG, Z. B., ZHANG, L. C., WEI, X., LI, L. 2012. Tight Junction in Blood-Brain Barrier: An Overview of Structure, Regulation, and Regulator Substances. *Cns Neuroscience & Therapeutics*. 18(8):609-615.

- LOCKWOOD, C. J., C. F. YEN, M. BASAR, U. A. KAYİSLİ, M. MARTEL, I. BUHİMSCHİ, C. BUHİMSCHİ, S. J. HUANG, G. KRİKUN, AND F. SCHATZ. 2008. Preeclampsia-related inflammatory cytokines regulate interleukin-6 expression in human decidual cells. *American Journal of Pathology* 172 (6):1571-1579.
- LYALL, F., GREER, I. A., F. BOSWELL, MACARA, L. M., WALKER, J. J., KINGDOM, J. C. P. 1994. The Cell-Adhesion Molecule, Vcam-1, Is Selectively Elevated in Serum in Preeclampsia - Does This Indicate the Mechanism of Leukocyte Activation. *Br J Obstet Gynaecol.* 101(6):485-487.
- MADAZLİ, R., BENİAN, A., AYDİN, S., UZUN, H., TOLUN, N. 2002. The plasma and placental levels of malondialdehyde, glutathione and superoxide dismutase in pre-eclampsia. *J Obstet Gynaecol.* 22(5):477-480.
- MADAZLİ, R., KUCUR, M., GEZER, A., ISMAN, F., BULUT, B. 2008. Chitotriosidase and YKL-40 in normal and pre-eclamptic pregnancies. *International Journal of Gynecology & Obstetrics.* 100(3):239-243.
- MADAZLİ, R., SOMUNKİRAN, A., CALAY, Z., ILVAN, S., AKSU, M.F. 2003. Histomorphology of the placenta and the placental bed of growth restricted fetuses and correlation with the Doppler velocimetries of the uterine and umbilical arteries. *Placenta.* 24(5):510-516.
- MAHESWARAIAH, A., RAO, L.J., NAİDU, K.A. 2015. Anti-Platelet activity of water dispersible curcuminoids in rat platelets. *Phytother Res. Wiley Online Library.* 10.1002/ptr.5274
- MCCAFFREY, G., DAVIS, T. P. 2012. Physiology and Pathophysiology of the Blood-Brain Barrier: P-Glycoprotein and Occludin Trafficking as Therapeutic Targets to Optimize Central Nervous System Drug Delivery. *Journal of Investigative Medicine.* 60(8):1131-1140.
- MCCARTHY, F. P., KINGDOM, J. C., KENNY, L. C., WALSH S. K. 2011. Animal models of preeclampsia; uses and limitations. *Placenta.* 32(6):413-419.
- MEAGHER, E. A., FITZGERALD, G. A. 1993. Disordered eicosanoid formation in pregnancy-induced hypertension. *Circulation.* 88(3):1324-1333.
- MEYER, N.L., MERCER, B.M., FRIEDMAN, S.A. 1994. Urinary dipstick protein: A poor predictor of absent or severe proteinuria. *Am J Obstet Gynecol.* 170:137.
- MİAO, M., GUO, L., TIAN, S., WANG, T. 2015. Effects of curcumin on antioxidant in diabetic rats. *Pakistan J. of Pharm. Sci.* 28(1):371-3
- MİLNE, F., REDMAN, C., WALKER, J., BAKER, P., BRADLEY, J., COOPER,

- C. 2005. The preeclampsia community guideline (PRECOG): how to screen for and detect onset of preeclampsia in the community. *BMJ*. 330: 576–580.
- MOHAUPT M. 2007. Molecular aspects of preeclampsia. *Mol Aspects Med*. 28(2):169-191.
- MORIMOTO, T., SUNAGAWA, Y., KAWAMURA, T., TAKAYA, T., WADA, H., NAGASAWA, A., KOMEDA, M., FUJITA, M., SHIMATSU, A., KITA, T., HASEGAWA V. 2008. The dietary compound curcumin inhibits p300 histone acetyltransferase activity and prevents heart failure in rats. *Journal of Clinical Investigation*. 118(3):868-878.
- MYATT, L., CUI, X. 2004. Oxidative stress in placenta. *Histochem Cell Biol*. 122:369-382
- NADAL, A., FUENTES, E., PASTOR, J. 1995. Plasma albumin is a potent trigger of calcium signals and DNA synthesis in astrocytes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 92(5): 1426–1430.
- NAG, S., MANÍAS, J. L., STEWART, D. J. 2009. Pathology and new players in the pathogenesis of brain edema. *Acta Neuropathologica*. 118(2):197-217.
- NAİK, S. R., THAKARE, V. N., PATH S. R. 2011. Protective effect of curcumin on experimentally induced inflammation, hepatotoxicity and cardiotoxicity in rats: Evidence of its antioxidant property. *Experimental and Toxicologic Pathology*. 63(5):419-431.
- NEUHAUS, W., GAÏSER, F., MAHRINGER, A., FRANZ, J., RIETHMULLER, C., FORSTER, C. 2014. The pivotal role of astrocytes in an in vitro stroke model of the blood-brain barrier. *Front Cell Neurosci*. 8:352.
- NISHIYAMA, T., MAE, T., KISHIDA, H., TSUKAGAWA, M., MIMAKI, Y., KURODA, M., SASHIDA, Y., TAKAHASHI, K., KAWADA, T., NAKAGAWA, K., KITAHARA, M. 2005. Curcuminoids and sesquiterpenoids in turmeric (*Curcuma longa* L.) suppress an increase in blood glucose level in type 2 diabetic KK-A(y) mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(4):959-963.
- O'BRIEN, M., MCCARTHY, T., JENKINS, D., PAUL, P., DAUSSET, J., CAROSELLA, E. D., MOREAU, P. 2001. Altered HLA-G transcription in pre-eclampsia is associated with allele specific inheritance: possible role of the HLA-G gene in susceptibility to the disease. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 58(12-13):1943-1949.
- ONODA, M., INANO, H. 2000. Effect of curcumin on the production of nitric oxide by cultured rat mammary gland. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry*. 4(5):505-515
- ÖZ, H., AKKOR, A., AYKAÇ, B., SUN, S. 1993. Preeklampsi-Eklampside Anestezi ve Yoğun Bakım. *Perinatoloji Dergisi*. 1:50-54
- PADMİNİ, E., LAVANYA, S., UTHRA, V. 2009. Preeclamptic placental

- stress and over expression of mitochondrial HSP70. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. 47(9):1073–1080
- PARAT, M. O., RİGGİNS, G. J. 2012. Caveolin-1, caveolae, and glioblastoma. *Neuro Oncol* 14 (6):679-688.
- PARMAKSIZ, Ç., ÇELİK, H. Gebelik ve Hipertansiyon. 39. Bölüm. ÇİÇEK, M.N., ÇELİK, Ç., HABERAL, A., AKYÜREK, C. 2006. *Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi*. GÜNEŞ KİTABEVİ.
- POSTON. L., RAIJMAKERS M.T. 2004. Trophoblast oxidative stress, antioxidants and pregnancy outcome-a review. *Placenta* 2004; 25(A):72-78.
- RAFFETTO, J. D., KHALİL, R. A. 2008. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease. *Biochem Pharmacol*. 75(2):346-359.
- RAMSEY, E.M., HARİS, H.W.S. 1966. Comparison of uteroplacental vasculature and circulation in the rhesus monkey and man. *Carnegie Institution of Washington: Contributions to Embryology*. 261. 38:59.
- RECŃICK, A.Z., PACKER, L. 1994. Oxidative damage to proteins: spectrophotometric method for carbonyl assay. *Methods Enzymol*. 233: 357-63
- REDMAN, C. W. G. 1991. Immunology of Preeclampsia. *Semin Perinatol* 15(3): 257-262.
- REDMAN, C. W. G., SARGENT, I.L. 2008. Placental stress and Pre-eclampsia: A Revised View. *Placenta*. 23:38-42
- REESE, T. S., KARNOVSKY, M. J. 1967. Fine structural localization of a blood-brain barrier to exogenous peroxidase. *Journal of Cell Biology*. 34(1): 207-217.
- REİBER, H. 2001. Dynamics of brain-derived proteins in cerebrospinal fluid. *Clinica Chimica Acta*. 310:173–186.
- RİBATTİ, D., RANİERİ, G., ANNESE, T., NİCO, B. 2014. Aquaporins in cancer. *Biochim Biophys Acta*. 1840 (5):1550-1553.
- ROBERTS, J. M., TAYLOR, R. N., MUSCİ, T. J., RODGERS, G. M., HUBEL, C. A., MCLAUGHLİN, M. K. 1989. Preeclampsia - an Endothelial-Cell Disorder. *Am J Obstet Gynecol*. 161(5):1200-1204.
- SANCHEZ-ARANGUREN, L. C., PRADA, C. E., RİANO-MEDİNA, C. E., LOPEZ, M. 2014. Endothelial dysfunction and preeclampsia: role of oxidative stress. *Front Physiol*. 5:372.
- SİBAİ, B. M. 1990. Eclampsia .6. Maternal-Perinatal Outcome in 254 Consecutive Cases. *Am J Obstet Gynecol* 163 (3):1049-1055.
- SİBAİ, B., DEKKER, G., KUPFERMİNC, M. 2005. Pre-eclampsia. *Lancet*. 365:785-99

- SĪDOROVA, I. S., BOROVKOVA, E. I., MARTYNOVA, I. V., SHEMANAEVA, T. V., SOLONĪTSYN, A. N. 2007. [The role of immune placental inflammation in the genesis of complicated pregnancy]. *Vestn Ross Akad Med Nauk.* (9):32-37.
- SĪLVA, B. R., PERNOMĪAN, L., BENDHACK, L. M. 2012. Contribution of oxidative stress to endothelial dysfunction in hypertension. *Front Physiol.* 3:441.
- SONG, L., GE, S., PACHTER, J.S. 2007. Caveolin-1 regulates expression of junction-associated proteins in brain microvascular endothelial cells. *Blood.* 109:1515-1523
- SRĪVASTAVA, G., MEHTA, J. L. 2009. Currying the Heart: Curcumin and Cardioprotection. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics.* 14 (1):22-27.
- STANNES, K.A., WESTRUM, L.E., FORNACĪARĪ, E. 1997. Morphological and functional characterization of an in vitro blood-brainbarrier model. *Brain Res.* 771:329-342.
- STEWART, P. A., WĪLEY, M. J. 1981. Structural and Histochemical Features of the Avian Blood-Brain-Barrier. *Journal of Comparative Neurology.* 202(2):157-167.
- STEVENSON, B.R., KEON, B.H. 1998. The tight junction: morphology to molecules. *Ann Rev Cell Devel Biol.* 14:89-109.
- STĪRRAT, G. M. 1987. The immunology of hypertension in pregnancy. *Perinatology Press* 249.
- SUMANONT, Y., MURAKAMĪ, Y., TOHDA, M., VAJRAGUPTA, O., WATANABE, H., MATSUMOTO, K. 2006. Prevention of kainic acid-induced changes in nitric oxide level and neuronal cell damage in the rat hippocampus by manganese complexes of curcumin and diacetylcurcumin. *Life Sciences.* 78(16):1884-1891.
- SUN, L.N., YANG, Z.Y., LV, S.S., LĪU, X.C., GUAN, G.J., LĪU, G. 2014. Curcumin prevents diabetic nephropathy against inflammatory response via reversing caveolin-1 Tyr14 phosphorylation influenced TLR4 activation. *International Immunopharmacology.* 23:236-246
- SZPERA-GOZDZIEWĪCZ, A., BREBOROWĪCZ, G. H. 2014. Endothelial dysfunction in the pathogenesis of pre-eclampsia. *Frontiers in Bioscience-Landmark.* 19:734-746.
- TARNOWSKA-MADRA, U., LEĪBSCHANG, J., KOWALSKA, B., FĪLĪPP, E., KOZAR, A., NĪMER, A., MACĪEJEWSKĪ, T. 2010. Levels of immunoreactive cytokines in serum of women with preeclampsia or severe pregnancy hypertension. *Ginekologia Polska.* 81(3):192-196.
- UENO, M. 2007. Molecular Anatomy of the Brain Endothelial Barrier: An

- Overview of the Distributional Features. *Current Med Chem.* 14:1199-1206.
- UZUN, H., BENİAN, A., MADAZLİ, R., TOPCUOĞLU, M. A., AYDİN, S., ALBAYRAK, M. 2005. Circulating oxidized low-density lipoprotein and paraoxonase activity in preeclampsia. *Gynecologic and Obstetric Investigation.* 60(4):195-200.
- VANDERLELİE, J., VENARDOS, K., CLIFTON, V. L., GUDE, N. M., CLARKE, F. M., PERKINS, A. V. 2005. Increased biological oxidation and reduced anti-oxidant enzyme activity in pre-eclamptic placentae. *Placenta.* 26(1):53-58.
- VERİT, F. F., EREL, O, SAV, M., CELİK, N., CADİRCİ, D. 2007. Oxidative stress is associated with clinical severity of nausea and vomiting of pregnancy. *Am J Perinatol.* 24(9):545-548.
- VON DADELSZEN, P., MAGEE, L. A. 2002. Could an infectious trigger explain the differential maternal response to the shared placental pathology of preeclampsia and normotensive intrauterine growth restriction? *Acta Obstet Gynecol Scand.* 81(7):642-648.
- WALKER, J. J. 2000. Pre-eclampsia. *Lancet.* 356(9237):1260-1265.
- WALSH, S. W. 2004. Eicosanoids in preeclampsia. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids.* 70(2):223-232.
- WALSH, S. W., WANG, Y. 1993. Deficient glutathione peroxidase activity in preeclampsia is associated with increased placental production of thromboxane and lipid peroxides. *Am J Obstet Gynecol.* 169(6):1456-1461.
- WANG, J., MİMURO, S., LAHOUD, R., TRUDİNGER, B., WANG, X. L. 1998. Elevated levels of lipoprotein(a) in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 178(1):146-149.
- WANG, Y., GU, Y., ZHANG, Y., LEWİS, D. F., ALEXANDER, J. S., GRANGER, D. N. 2007. Increased chymotrypsin-like protease (chymase) expression and activity in placentas from women with preeclampsia. *Placenta.* 28(4):263-269.
- WANG, Y., WALSH, S. W. 1998. Placental mitochondria as a source of oxidative stress in pre-eclampsia. *Placenta.* 19(8):581-586.
- WANG, Y. F., GU, Y. T, QİN, G. H., ZHONG, L., MENG, Y. N. 2013. Curcumin ameliorates the permeability of the blood-brain barrier during hypoxia by upregulating heme oxygenase-1 expression in brain microvascular endothelial cells. *Journal of Molecular Neuroscience.* 51(2):344-351.
- WANG, Y. P., WALSH, S. W., KAY, H. H. 2005. Placental tissue levels of nonesterified polyunsaturated fatty acids in normal and preeclamptic pregnancies. *Hypertension in Pregnancy.* 24(3):235-245.

- WARD, K., HATA, A., JEUNEMAÎTRE, X., HELÏN, C., NELSON, L., NAMÏKAWA, C., FARRÏNGTON, P. F., OGASAWARA, M., SUZUMORÏ, K., TOMODA, S., BERREBÏ, S., SASAKÏ, M., CORVOL, P., LÏFTON, R. P., LALOUEL, J. M. 1993. A Molecular Variant of Angiotensinogen Associated with Preeclampsia. *Nature Genetics*. 4(1):59-61.
- WEÏSS, N., MÏLLER, F., CAZAUBON, S, COURAUD, P. O. 2009. The blood-brain barrier in brain homeostasis and neurological diseases. *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes*. 1788(4):842-857.
- WÏLKEN, R., VEENA, M. S., WANG, M. B., SRÏVATSAN, E. S. 2011. Curcumin: A review of anti-cancer properties and therapeutic activity in head and neck squamous cell carcinoma. *Molecular Cancer*. 10.
- WÏSDOM, S. J., WÏLSON, R., MCKÏLLOP, J. H., WALKER, J. J. 1991. Antioxidant Systems in Normal-Pregnancy and in Pregnancy-Induced Hypertension. *Am J Obstet Gynecol*. 165(6):1701-1704.
- WÏTZTUM, J. 1994. The oxidation hypothesis atherosclerosis. *Lancet*. 344:793
- XU, Y., KU, B. S., YAO, H. Y., LÏN, Y. H., MA, X., ZHANG, Y. H., LÏ, X. J. 2005. The effects of curcumin on depressive-like behaviors in mice. *Eur J Pharmacol*. 518(1):40-46.
- XÏAO, M., HU, G. 2014. Involvement of Aquaporin 4 in Astrocyte Function and Neuropsychiatric Disorders. *Cns Neuroscience & Therapeutics*. 20(5):385-390.
- YANG, X., CAÏ, B., SCÏACCA, R. R., CANNON, P. J. 1994. Inhibition of inducible nitric oxide synthase in macrophages by oxidized low-density lipoproteins. *Circulation Research*. 74(2):318-328.
- YILMAZ N. 2006. Kan-Beyin Bariyerinin Fizyopatolojisi. *Van Tıp Dergisi*. 13(1):25-27
- YLÏKORKALA, O., VÏÏNÏKKA, L. 1992. The Role of Prostaglandins in Obstetrical Disorders. *Baillieres Clinical Obstetrics and Gynaecology*. 6 (4):809-827.
- ZACHARY, I. 2001. Signaling mechanisms mediating vascular protective actions of vascular endothelial growth factor. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 280(6):C1375-C1386.
- ZENG, X., CHENG, Y., QU, Y., XU, J., HAN, Z., ZHANG, T. 2013. Curcumin inhibits the proliferation of airway smooth muscle cells *in vitro* and *in vivo*. *International Journal of Molecular Medicine* 32: 629-636
- ZHANG, X., CHEN, Q., WANG, Y., PENG, W., CAÏ, H. 2014. Effects of curcumin on ion channels and transporters. *Front Physiol*. 5:94.
- ZHOU, A., DEKKER, G. A., LUMBERS, E. R., LEE, S. Y., THOMPSON, S. D., MCCOWAN, L. M. E., ROBERTS, C. T., CONSORTÏUM, S. 2013. The association of AGTR2 polymorphisms with preeclampsia and uterine

artery bilateral notching is modulated by maternal BMI. *Placenta*. 34 (1):75-81.

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
08.05.2014	2014/03	4

KARAR 01: Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi öğretim üyesi Prof. Dr. Hasan ERDOĞAN'ın yürütücülüğünü yaptığı Doç.Dr.Cevat AKTAŞ, Yrd.Doç. Dr. Ümit ŞENER, Yrd.Doç.Dr. Bahadır KUMRAL, Uzm.Dr. Filiz ERDOĞAN, Arş.Gör.Zekeriya SOYDAN ve Araş Gör. Mustafa ERBOĞA'nın ortak çalışmaları olan "**N-Nitro-L-Arginine Methyl Ester (L-NAME) ile preeklampsi modeli oluşturulan sıçanlarda Kurkuminin etkisinin incelenmesi**" konu başlıklı çalışmaları Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunda incelenmiş, yapılan inceleme sonucunda çalışma, Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına,

KARAR 02: Namık Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu başvuru dosyalarının 5 (beş) yıl süre ile saklanmasına,

KARAR 03: NKU- HADYEK Yönergesinin son halinin Mevzuat Komisyonuna yazılmasına,

KARAR 04: Namık Kemal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından Hayvan Refah Birimi oluşturularak üyelerinin atanmasına,

Oybirliği ile karar verilmiştir.

T.C.
NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar Sayısı
08.05.2014	2014/03	4



Başkan
Prof. Dr. M. İhsan SOYSAL
Rektör Yardımcısı

Prof. Dr. Ahmet GÜREL
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
(KATILMADI)

Prof. Dr. Hasan ERDOĞAN
Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi
(KATILMADI)



Prof. Dr. H. Ersin ŞAMLI
Ziraat Fakültesi Öğretim Üyesi



Prof. Dr. Sezen ARAT
Ziraat Fakültesi Öğretim Üyesi



Doç. Dr. Mustafa TAŞ
Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi



Doç. Dr. Gülşay VURAL
Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi



Doç. Dr. Rifat BİRCAN
Fen Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi



Yrd. Doç. Dr. Dilek MUZ
Veteriner Fakültesi Öğretim Üyesi

Mesut KOÇ
Ziraat Mühendisi



Halil YAZGI
Avukat

