

Preeklampsili Gebelerde Maternal Serum Nitrik Oksit Metabolitlerinin Seviyeleri

Levent Tütüncü¹, Emine Özdemir², Ercüment Müngen¹, Ali Rüştü Ergür¹, Yusuf Z. Yergök¹

¹GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İstanbul

²Gölcük Deniz Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İzmit

Özet

Amaç: Bu çalışmanın amacı, preeklampitik gebelerdeki nitrik oksit (NO) metabolitlerinin serum seviyelerini tespit etmek ve NO seviyesi ile preeklampsisi arasında bir ilişki olup olmadığını ortaya çıkartmaktır.

Yöntem: Bu prospektif, vaka kontrollü çalışmada preeklampsisi tanısı konulmuş gebe kadınlardan (n=30) ve benzer yaş grubundaki sağlıklı gebelerden venöz kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinin serum fraksiyonlarında toplam nitrit/nitrat konsantrasyonu hesaplandı. Daha sonra her iki gruptaki gebeliklerin sonuçları araştırıldı ve iki grup klinik özellikleri ile NO metabolitleri açısından birbirleri ile karşılaştırıldı. İstatistiksel değerlendirme için eşli t-test ve χ^2 test kullanıldı. 0.05'den küçük p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Preeklampitik ve sağlıklı gebelerde ortalama toplam nitrit/nitrat seviyeleri sırasıyla 59.0 ± 15.55 $\mu\text{mol/L}$ ve 41.0 ± 10.37 $\mu\text{mol/L}$ olarak bulundu. Preeklampitik gebelerin maternal serumlarında toplam nitrit/nitrat seviyeleri anlamlı derecede daha yüksekti ($p < 0.05$). Ayrıca şiddetli preeklampsisi alan gebelerdeki nitrit/nitrat seviyeleri, hafif preeklampitik ve sağlıklı gebelerle karşılaştırıldığında, anlamlı derecede yüksek saptandı ($p < 0.05$).

Sonuç: Bu çalışmada NO metabolitlerinin maternal serum seviyeleri preeklampitik gebelerde daha yüksek saptandı ve bu yükseklik preeklampsinin şiddeti ile doğru orantılı olarak bulundu. Bu artış, preeklampside uteroplasental kan akımını artırmaya yönelik kompensatuar bir mekanizma olabilir.

Anahtar Sözcükler: Gebelik, nitrik oksit, preeklampsisi, nitrit, nitrat.

Maternal serum concentrations of the metabolites of nitric oxide in preeclampsia

Objective: The purpose of this study was to determine the serum levels of nitric oxide (NO) metabolites in pregnant women with preeclampsia and to find out any relation between the pathogenesis of preeclampsia and NO levels.

Methods: In this prospective, case-control study, venous blood samples were collected from pregnant women with preeclampsia (n=30) and age-matched healthy pregnant women (n=30). The serum fractions of these samples were assayed for total nitrite/nitrate levels. The outcomes of the pregnancies were evaluated and groups were compared to each other for the clinical characteristics and NO metabolites. Student's paired t-test and χ^2 test were used for the statistical analysis. P value less than 0.05 was considered statistically significant.

Results: The mean total serum levels of nitrite/nitrate in pregnant women with preeclampsia and healthy pregnant women were 59.0 ± 15.55 $\mu\text{mol/L}$ and 41.0 ± 10.37 $\mu\text{mol/L}$ respectively. There were significantly higher total nitrite/nitrate levels in the maternal serum of preeclamptic women ($p < 0.05$). Also, significantly higher nitrite/nitrate levels were found in severe preeclamptic women compared with those of mild preeclamptic and healthy pregnant women ($p < 0.05$).

Conclusion: Maternal serum levels of NO metabolites were higher in pregnant women with preeclampsia and it was directly related with the severity of the disease. This may be a compensatory mechanism to increase the blood flow to uteroplacental unit in preeclampsia.

Keywords: Pregnancy, nitric oxide, preeclampsia, nitrite, nitrate.

Giriş

Preeklampsji gebelerde görülen en ciddi sağlık sorunlarından birisidir ve 20 haftadan büyük gebeliklerin yaklaşık olarak %5-8'inde ortaya çıkmaktadır.¹ Hipertansiyon, ödem ve proteinüri ile karakterize olan bu hastalık, vücuttaki tüm sistemleri etkileyerek, hem fetal hem de maternal morbidite ve mortaliteye neden olan çok önemli bir gebelik komplikasyonudur. Bugüne kadar preeklampsinin etyolojisi ve patogenezi net olarak aydınlatılamamış olsa da, temel sorunun anormal sitotrofoblast invazyonu nedeniyle gelişen azalmış plasental kanlanma ve buna bağlı ortaya çıkan yaygın endotel hasarı olduğu düşünülmektedir.² Bu endotel hasarı sonucunda "endotelin" ve "tromboksan" gibi maddelerin yapımı ile damar duvarının angiotensin II'ye olan duyarlılığı artarken, nitrik oksit (NO) ve prostasiklin gibi vazodilatör maddelerin yapımının ise azaldığı bildirilmiştir.³

Bir aminoasit olan L-argininden "nitrik oksit sentaz (NOS)" enziminin etkisi ile sentezlenen NO, trombosit agregasyonunu inhibe eden ve damarlar da vazodilatasyona neden olan etkili bir serbest radikaldir.⁴ İlk bulunduğu yıllarda "endotel kaynaklı gevşetici faktör-endothelium derived relaxing factor (EDRF)" olarak tanımlanan,⁵ ancak daha sonra NO olduğu anlaşılan,^{6,7} bu çok küçük lipofilik molekül, sitozolik guanilat siklazı aktive ederek siklik guanozin monofosfat (cGMP) konsantrasyonunu artırır ve böylece hücre içi Ca⁺⁺ miktarını azaltarak vazodilatasyona neden olur. NO gaz halinde bulunan bir moleküldür, yarı ömrü çok kısadır (yaklaşık 4 saniye) ve hızla metabolitleri olan nitrit (NO₂) ile nitrate (NO₃) dönüşür.⁸ Bu nedenle NO üretiminin araştırıldığı çalışmaların büyük kısmında onun metabolitleri olan nitrit ve nitratın konsantrasyonları farklı örneklerde (maternal plazma, serum, idrar ve çeşitli dokular, amnios mayii, plasenta, umbilikal venöz kan, beyin-omurilik sıvısı) ölçülmüştür.

Normal gebelikte hem NO üretiminin, hem de NO'ya cevabın arttığı bilinmekte^{4,8} gebeliğin devamını sağlayan birçok fizyolojik mekanizmada bu artışın rol oynadığı düşünülmektedir.⁹ Bu nedenle preeklampsinin patogenezi NO sisteminde meydana gelen bir fonksiyon bozukluğunun yer alabileceği düşünülmüş ve son 10 yıl içerisinde de bu konuda çok sayıda araştırma yapılmıştır.¹⁰ Ancak yapılan bu çalışmalarda çelişkili sonuçlar sunulmuş, bir kısmında preeklampsi gebelerde NO

seviyelerinin arttığı,¹¹⁻¹⁵ bir kısmında azaldığı,¹⁶⁻¹⁸ bazıları ise değişmediği raporlanmıştır.¹⁹⁻²¹

Bu çalışma; preeklampsinin patogenezi nitrik oksit seviyelerindeki değişikliklerin rolü olup olmadığını araştırmak ve eğer varsa preeklampsinin şiddeti ile nitrik oksit düzeyleri arasındaki ilişkiyi ortaya koymak amacı ile planlanmış, bu amaçla çalışmaya dahil edilen olgularda serum toplam nitrit/nitrat seviyesi bakılmıştır.

Yöntem

Bu çalışmaya hastanemiz yüksek riskli gebe polikliniğine başvuran ve preeklampsji tanısı konulmuş olan 30 gebe ile, kontrol grubu olarak hastanemiz antenatal izlem polikliniğine başvuran ve herhangi bir sorun saptanmayan, çalışma grubu ile benzer özelliklere sahip 30 gebe kadın dahil edildi. Kontrol grubu, polikliniğimize başvuran primigravid gebeler arasından, çalışma grubunu oluşturan preeklampsi gebelerle yaş, gebelik haftası ve risk faktörleri açısından eşleştirilerek oluşturuldu. Çalışma Helsinki deklarasyonu prensiplerine uygun olarak planlandı, hastanemiz etik kurulundan çalışma için izin belgesi ve çalışmaya katılmış insanlardan "bilgilendirilmiş onam" belgesi alındı. Çalışmaya dahil edilen gebelerin tamamı 28. gebelik haftasını doldurmuş ancak 36. gebelik haftasından daha büyük gebeliğe sahip olmayan, 20 ile 35 yaşları arasında, tedavi gebeliği, sigara içimi veya tanı konulmuş başka bir sistemik hastalık (Diabetes mellitus, kronik hipertansiyon, oto-immun hastalıklar, kronik böbrek hastalıkları, üriner enfeksiyon, kardiyovasküler hastalıklar, tiroid fonksiyon bozukluğu, enfektif hastalıklar vs.) gibi risk faktörleri içermeyen, demir ve folik asit dışında herhangi bir tedavi almayan, herhangi bir fetal anomali saptanmayan ve tekiz gebeliğe sahip primigravid kadınlardan oluşmaktaydı.

Preeklampsji tanısı için ACOG kriterleri kullanıldı.¹ Buna göre 20. gebelik haftasından önce normotansif olduğu bilinmesine rağmen, 15 dakikalık istirahat süresi sonrası ve 6 saat ara ile en az iki kez, oturur pozisyonda ölçülen tansiyon arteriyel değerinin sistolik 140 mmHg, diastolik 90 mmHg'nin üzerinde olması ve 24 saatlik idrarda 300 mg'ın üzerinde proteinüri saptanması preeklampsji olarak kabul edildi. Aynı şartlarda ölçülen tansiyon arteriyel değerinin sistolik 160 mmHg, diastolik 110 mmHg olması, 24 saatlik idrarda 5 g'ın

üzerinde proteinüri saptanması, 24 saat içerisinde 500 ml'den az idrar çıkışı, fetal gelişme geriliği saptanması, trombositopeni saptanması veya karaciğer fonksiyon bozukluğu bulunması halinde ise "ağır preeklampsii" tanısı konuldu.

Çalışma ve kontrol grubuna dahil edilen gebelerin tamamından tam kan, tam idrar, karaciğer fonksiyon testleri, böbrek fonksiyon testleri, açlık kan şekeri, viral hepatit belirteçleri, indirek coombs testi, 24 saatlik idrarda protein, kreatinin klirens, idrar kültürü tetkikleri ve göz dibi muayenesi yaptırıldı. Ayrıca fetal iyilik halinin tesbiti için gebelerin tamamına fetal monitör, ultrasonografi ve fetal Doppler çalışmaları yapıldı. Çalışmaya dahil edilen gebelerin tamamından serum toplam nitrit/nitrat değerinin saptanması amacı ile, preeklampsii için herhangi bir tedavi başlanmadan önce, 24 saatlik nitrit ve nitratdan fakir diyet (Ispanak, pancar ve pişmiş et içermeyen) verilmesini ve sekiz saatlik açlığı takiben periferik venöz kan alındı. Alınan kanların serum fraksiyonları ayrılarak çalışma süresinin sonunda topluca çalışılmak üzere -70°C'de saklandı. Serum toplam nitrit/nitrat seviyelerinin ölçümü, gebelerin tamamı doğurduktan sonra, çalışma hakkında bilgi sahibi olmayan biyokimya teknisyenleri tarafından topluca yapıldı.

Serum toplam nitrit/nitrat seviyelerinin ölçümünde Cortas ve Wakid'in tarif ettiği yöntem kullanıldı.²² Bu yöntem nitratın bakır kaplanmış kadmiyum granülleri ile nitrit haline indirgenmesi ve oluşan nitritin ortamda daha önceden bulunan nitrit ile beraber ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Burada askorbat vb. inhibitörlerin etkisini ortadan kaldırmak için standart eklenmesi yöntemi kullanılmıştır.

Çalışmada tüm veriler ortalama \pm standart sapma olarak verildi. İstatistiksel değerlendirmeler SPSS Ver. 11.0 (Chicago, IL, ABD) programı kullanılarak, bağımsız gruplar t-testi ve ki kare testi ile yapıldı, $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya 10 tanesi hafif, 20 tanesi ise ağır preeklampsii tanısı almış 30 preeklampitik gebe ile kontrol grubu olarak 30 sağlıklı gebe dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen gebelerin genel özellikleri karşılaştırıldığında preeklampitik gebe grubu ile

kontrol grubunu oluşturan sağlıklı gebeler arasında yaş ve nitrit/nitrat serum seviyelerinin kontrolü için örneğin alındığı gebelik haftası açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0.05$). Buna karşın çalışma grubunu oluşturan preeklampitik gebelerde ortalama sistolik ve diastolik tansiyon arteriyel değerleri ile 24 saatlik idrarda saptanan protein miktarı anlamlı seviyede yüksek bulundu ($p < 0.05$). Preeklampitik gebelerin ortalama gebelik süresi ve yenidoğanların ortalama doğum ağırlığı da kontrol grubuna nazaran anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0.05$). Ayrıca çalışma grubunda sezaryen oranları %63.3 ile kontrol grubunda saptanan %33.3 oranına nazaran anlamlı derecede yüksek saptandı ($p < 0.05$). Çalışma grubunda bir gebede perinatal, bir gebe de ise postnatal fetal kayıp gözlenirken, kontrol grubunu oluşturan gebelerin hiçbirisinde fetal kayıp izlenmedi. Çalışmaya dahil edilen gebelerin genel özellikleri ve gruplar arasındaki farklar Tablo1'de sunulmuştur.

Çalışma grubunu oluşturan preeklampitik gebelerde maternal serum ortalama nitrit/nitrat seviyesi 59.0 ± 15.55 $\mu\text{mol/L}$ bulundu. Kontrol grubunda ise bu değer 41.0 ± 10.37 $\mu\text{mol/L}$ olarak saptandı ve iki grup arasında istatistiki açıdan anlamlı bir fark vardı ($p < 0.05$) (Tablo 2). Hafif ve ağır preeklampitik gebeler ayrı ayrı değerlendirildiğinde, maternal serum ortalama nitrit/nitrat değerleri sırası ile; 51.8 ± 13.63 $\mu\text{mol/L}$ ve 73.8 ± 6.0 $\mu\text{mol/L}$ olarak saptandı. Ağır preeklampsii grubunda saptanan değer hem hafif preeklampsii grubuna hem de kontrol grubuna nazaran istatistiksel açıdan anlamlı derecede yüksek bir değerdi ($p < 0.05$).

Tartışma

Günümüze kadar yapılan bir çok çalışmada, gebelik esnasında en azından damar yatağında ve uterusu NO yapımının arttığı ve bu artışın kontraktiletiyi doğum eylemi başlayana kadar azaltarak uterusun sessiz kalmasını sağladığı ve damarsal yapıların gebeliğe adaptasyonunda önemli rol oynadığı bildirilmiştir.^{4,8} Bu amaçla yapılan araştırmalarda normal gebelikte plazma ve idrarda cGMP ve nitrit/nitrat miktarının arttığı, yani dolaylı olarak NO üretiminin arttığı gösterilmiştir.⁹ Buradan yola çıkarak, preeklampitik gebelerde ortaya çıkan klinik bulguların açıklanmasında normal gebelerin tersine NO yapımında bir azalma olabileceği fikri

Tablo 1. Çalışmaya dahil edilen gebelerin genel özellikleri.

Özellik	Preeklampsi (n=30)	Normal Gebelik (n=30)	P Değeri
Yaş (Yıl) (Ortalama±SD)	29.06±5.40	28.06±4.01	ad
Örnek alındığında gebelik haftası (Ortalama ±SD)	32.6±2.8	32.1±3.0	ad
Doğumda gebelik haftası (Ortalama±SD)	35.2±2.7	38.1±2.1	<0.05
Sistolik Kan Basıncı (mmHg) (Ortalama±SD)	153±19	114±8	<0.05
Diastolik Kan Basıncı (mmHg) (Ortalama±SD)	113±14	73±6	<0.05
24 Saatlik idrarda protein (g) (Ortalama±SD)	4.28±1.02	0.18±0.22	<0.05
Doğum ağırlığı (g) (Ortalama±SD)	2488±751	3226±276	<0.05
Sezaryen doğum oranı	19 (%63.3)	10(%33.3)	<0.05
Perinatal ölüm	2 (%6.66)	0	ad

SD: Standart sapma

ad: Anlamlı değil

Tablo 2. Maternal serum nitrit/nitrat konsantrasyonları.

	Maternal serum ortalama nitrit/nitrat miktarı (µmol/L)
Preeklampsi (n=30)	59.0±15.55a
Hafif preeklampsi (n=10)	51.8±13.63a
Ağır preeklampsi (n=20)	73.8±6.0a,b
Normal gebelik (n=30)	41.0±10.37
P değeri	<0.05

Not: Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

aKontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı (p<0.05)

bHafif preeklampsi grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı (p<0.05)

ortaya atılmış ve bu amaçla preeklampside NO sisteminin muhtemel rolünü ortaya çıkarmaya yönelik onlarca çalışma yapılmış ve yayınlanmıştır.¹⁰⁻²¹ Bu çalışmaların büyük çoğunluğunda maternal veya fetal plazmada, çok kısa yarılanma ömrü olan NO yerine, onun metabolitleri olan NO₂ ve/veya NO₃ seviyeleri bakılmıştır.^{11-14,16-21} Bununla birlikte preeklampitik gebelerin amnios mayiinde,²³ beyin omurilik sıvısında²⁴ veya kordon kanında^{12,15} NO metabolitlerini araştıran çalışmalar da yayınlanmıştır. Bu çalışmalar sonucunda çelişkili sonuçlar raporlanmış ve preeklampsinin patogeneğinde NO sisteminin rolü olabileceği ortaya konulsa da, bunun nasıl olduğu tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Bu amaçla son yıllarda daha ileri tekniklerle yapılan çalışmalarda NO metabolitleri yerine, NO sentezinde rol alan NOS izoenzimleri araştırılmış, ancak yine farklı sonuçlar raporlanarak, preeklampitik gebelerde NOS mRNA üretiminin düştüğü²⁵ veya değişmediği,²⁶ ya da preeklampitik gebeler ile normotansif gebeler arasında immün boya-

ma ile bakılan NOS izoenzim seviyelerinde bir fark olmadığı bildirilmiştir.²⁷

Bizim çalışmamızda ise preeklampitik gebelerde maternal serum ortalama nitrit/nitrat seviyeleri normotansif sağlıklı gebelere nazaran belirgin derecede yüksek bulunmuştur. NO'un etkileri göz önüne alındığında preeklampitik bir gebede NO etkinliğinin azalması ve buna bağlı olarak ortaya çıkan vazokonstriksiyonun preeklampsinin patogeneğinde rol oynaması beklenirken, tam tersine NO metabolitlerinin artması, preeklampsi patogeneğinde NO sisteminin doğrudan rolü olmadığını, ancak oluşan preeklampsi bulgularını azaltmaya ve uteroplasental kan akımını artırmaya yönelik kompensatuar bir mekanizma olabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuç daha önce yapılan bazı çalışmalarla da uyumlu bir sonuçtur¹¹⁻¹⁴ Ayrıca çalışmamızda, ağır preeklampsi grubunda NO metabolit seviyelerinin daha da yüksek bulunması, bu düşüncüyü destekleyen bir bulgu olarak kabul edilebilir. Benzer şekilde Pathak ve ark.'ları da yaptıkları çalışmada

preeklampitik gebelerdeki serum nitrit/nitrat seviyelerini normotensif gebelere nazaran anlamlı derecede daha yüksek bulmuşlar ve preeklampsinin şiddeti ile nitrit/nitrat seviyeleri arasında doğru orantı saptadıklarını bildirmişlerdir.²⁸ Yine Shamash ve ark.'ları 2000 yılında yaptıkları çalışmada preeklampsinin şiddeti ile NO metabolitlerinin maternal fetal dolaşımındaki miktarı arasında pozitif ilişki olduğunu göstermişlerdir.¹² Preeklampitik gebeler ile normotensif gebeler arasında serum nitrit/nitrat seviyeleri açısından bir fark saptanmadığını bildiren bir çalışmada dahi, ağır preeklampsisi grubunda NO üretimi daha fazla bulunmuştur.²¹ Tüm bu bulgular, bizim popülasyonumuzda saptanan ve preeklampsinin şiddeti arttıkça NO üretiminin de arttığını gösteren sonucu destekler nitelikte bulgulardır.

NO üretimi ve salınımındaki bu artışın, preeklampitik gebelerde ortaya çıkan endotel hasarı ve oksidatif strese bağlı olarak oluştuğu ileri sürülmüş, ayrıca trombositler, trofoblastlar, desidual ve myometrial hücrelerin de artmış NO üretiminin kaynağını oluşturabileceği düşünülmüştür.¹³ Bu kaynaklardan salınan fazla NO, preeklampitik gebelerde görülen vazokonstriksiyon, trombosit agregasyonu ve buna bağlı olarak azalan utero-plasental kan akımını artırmaya yönelik kompensatuar bir mekanizma olabilir. Preeklampsisi gelişen gebelerin teorik olarak dört farklı dönemden geçtikleri ileri sürülmüş ve bu hipoteze göre preeklampsie neden olan tahmini etken ortaya çıkmadan önceki herhangi bir bulgunun saptanmadığı dönemin ilk evreyi, tahmini etkenin ortaya çıkması sonrası kompensatuar mekanizmalarla dengenin devam ettirilebilmesi nedeniyle herhangi bir klinik bulgunun ortaya çıkmadığı dönemin ikinci evreyi, hafif klinik bulguların ortaya çıkmasına rağmen kompensatuar mekanizmaların halen etkin olmasına bağlı olarak ciddi bulguların görülmediği dönemin üçüncü evreyi ve artık kompensatuar mekanizmaların yetersiz kaldığı, ciddi klinik bulguların görüldüğü dönemin de dördüncü evreyi oluşturduğu ileri sürülmüştür.⁸ Bu hipoteze göre ikinci ve üçüncü evrelerdeki kompensatuar mekanizmaların temelini NO sistemi oluşturmakta, preeklampsie neden olan muhtemel etken ortaya çıktıktan sonra NO üretimi ve salınımı artmaya başlayarak, gebeliğin ileri evrelerine kadar ciddi bulguların ortaya

çıkmasını önlemekte, ancak belli bir aşamadan sonra NO seviyelerinin çok yüksek olmasına rağmen bu yeterli olamamakta ve ağır preeklampsisi tablosu ortaya çıkmaktadır. Bizim çalışmamızda elde edilen bulgular da bu hipotezi desteklemektedir.

Sonuç

Bu çalışmada preeklampitik gebelerin maternal serumlarında toplam nitrit/nitrat seviyeleri normotensif, sağlıklı gebelere nazaran anlamlı seviyede daha yüksek bulunmuştur. Bu yükseklik preeklampsinin şiddeti ile doğru orantılı olarak artmaktadır. Gebelerde karşılaşılan en ciddi sorunlardan birisi olan preeklampside, NO sisteminin, uteroplasental kan akımını artırmaya yönelik koruyucu bir rolü olabilir. Ancak preeklampsisi patogeneğinde NO sisteminin kesin rolünü ortaya çıkartmak için, gebeliğin farklı dönemlerinde NO seviyelerini doğrudan gösterecek, prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır

Kaynaklar

1. American College of Obstetricians and Gynecologists. Diagnosis and management of preeclampsia and eclampsia. ACOG Practice Bulletin No. 33. Washington D.C.: ACOG; 2002.
2. Granger JP, Alexander BT, Llinas MT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of hypertension during preeclampsia linking placental ischemia with endothelial dysfunction. *Hypertension* 2001; 38: 718-22.
3. Granger JP, Alexander BT, Bennett WA, Khalil RA. Pathophysiology of pregnancy-induced hypertension. *Am J Hypertens* 2001;14: 178S-85S.
4. Weiner CP, Thompson LP. Nitric oxide and pregnancy. *Semin Perinatol* 1997; 21(5): 367-80.
5. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 288(5789): 373-6.
6. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84(24): 9265-9.
7. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987; 327(6122): 524-6.
8. Buhimschi IA, Saade GR, Chwalisz K, Garfield RE. The nitric oxide pathway in pre-eclampsia: pathophysiological implications. *Hum Reprod Update* 1998; 4(1): 25-42.
9. Rosselli M, Keller PJ, Dubey RK. Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Hum Reprod Update* 1998; 4(1): 3-24.

10. Lowe DT. Nitric oxide dysfunction in the pathophysiology of preeclampsia. *Nitric Oxide* 2000; 4(4): 441-58.
11. Ranta V, Viinikka L, Halmesmaki E, Ylikorkala O. Nitric oxide production with preeclampsia. *Obstet Gynecol* 1999; 93(3): 442-5.
12. Shaamash AH, Elsnosy ED, Makhlof AM, Zakhari MM, Ibrahim OA, EL-dien HM. Maternal and fetal serum nitric oxide (NO) concentrations in normal pregnancy, pre-eclampsia and eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet* 2000; 68(3): 207-14.
13. Yoneyama Y, Suzuki S, Sawa R, Miura A, Doi D, Otsubo Y, Araki T. Plasma nitric oxide levels and the expression of P-selectin on platelets in preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187(3): 676-80.
14. D'Anna R, Baviera G, Corrado F, Crisafulli A, Ientile R, Buemi M, Squadrito F. Neurokinin B and nitric oxide plasma levels in pre-eclampsia and isolated intrauterine growth restriction. *BJOG* 2004; 111(10): 1046-50.
15. Karabulut AB, Öztürk LÇ, Sezgin N, Haşcalık Ş, Kafkaslı A. Preeklampşik gebe kadınlarda ve bebeklerinin kordon kanında, nitrik oksit metabolitleri olan nitrit ve nitratın plazma düzeylerinin araştırılması. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2001; 8(1):1-4.
16. Mutlu-Turkoglu U, Aykac-Toker G, Ibrahimoglu L, Ademoglu E, Uysal M. Plasma nitric oxide metabolites and lipid peroxide levels in preeclamptic pregnant women before and after delivery. *Gynecol Obstet Invest* 1999; 48(4): 247-50.
17. Aydin S, Benian A, Madazli R, Uludag S, Uzun H, Kaya S. Plasma malondialdehyde, superoxide dismutase, sE-selectin, fibronectin, endothelin-1 and nitric oxide levels in women with preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; 113(1): 21-5.
18. Müderris İİ, Özçelik B, Muhtaroglu S. Preeklampsi ve eklampside maternal serum nitrik oksid ve total antioksidan aktivite seviyelerinin önemi. *Türkiye Klinikleri Jinekoloji Obstetrik Dergisi* 2002; 12(1): 25-9.
19. Egerman RS, Andersen RN, Manejwala FM, Sibai BM. Neuropeptide Y and nitrite levels in preeclamptic and normotensive gravid women. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 181: 921-3.
20. Pasaoglu H, Bulduk G, Ogus E, Pasaoglu A, Onalan G. Nitric oxide, lipid peroxides, and uric acid levels in pre-eclampsia and eclampsia. *Toboku J Exp Med* 2004; 202(2): 87-92.
21. Diejomaoh FM, Omu AE, Al-Busiri N, Taher S, Al-Othman S, Fatinikun T, Fernandes S. Nitric oxide production is not altered in preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet* 2004; 269(4): 237-43.
22. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990; 36(8 Pt 1): 1440-3.
23. Tranquilli AL, Bezzeccheri V, Giannubilo SR, Scagnoli C, Mazzanti L, Garzetti GG. Amniotic vascular endothelial growth factor (VEGF) and nitric oxide (NO) in women with subsequent preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2004; 113(1): 17-20.
24. Celik O, Hascalik S, Turkoz Y, Hascalik M, Gokdeniz R. Cerebrospinal fluid nitric oxide level changes in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2003; 111 (2): 141-5.
25. Wang Y, Gu Y, Zhang Y, Lewis DF. Evidence of endothelial dysfunction in preeclampsia: decreased endothelial nitric oxide synthase expression is associated with increased cell permeability in endothelial cells from preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 190(3): 817-24.
26. Wang X, Athayde N, Trudinger B. Maternal plasma from pregnant women with umbilical placental vascular disease does not affect endothelial cell mRNA expression of nitric oxide synthase. *J Soc Gynecol Investig* 2004; 11(3): 149-53.
27. Rajagopal M, Moodley J, Chetty R. Nitric oxide: does it have an etiological role in pre-eclampsia? *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003; 82(3): 216-9.
28. Pathak N, Sawhney H, Vasishta K, Majumdar S. Estimation of oxidative products of nitric oxide (nitrates, nitrites) in preeclampsia. *Aust NZJ Obstet Gynaecol* 1999; 39(4): 484-7.