

Gebelikte ve Postpartum Erken Dönemde Serbest Radikal Oluşumu ve Antioksidan Enzim Düzeyleri

Hakan Kaya¹ Namık Delibaş² Metin Çapar³ Veysel Tahan⁴
Mustafa Serteser⁵ M.Okun Özkaya⁶

¹ Yrd. Doç.Dr. SDÜ Tıp Fak. Kadın Hast. ve Doğum Anabilim Dalı, ISPARTA.

² Yrd. Doç. Dr. SDÜ Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, ISPARTA.

³ Yrd.Doç.Dr. SÜ Tıp Fak.Kadın Hast. ve Doğum Anabilim Dalı, KONYA.

⁴ Arş.Gör. Dr. SDÜ Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, ISPARTA.

⁵ Arş.Gör.Dr. Akdeniz Üniversitesi Tıp Fak.Biyokimya Anabilim Dalı,ANTALYA.

⁶ Arş.Gör.Dr.SDÜ Tıp Fak.Kadın Hast.ve Doğum Anabilim Dalı, ISPARTA.

Özet

Gebelikte serbest radikal oluşumunu ve bunun antioksidan enzimlerle dengelenip dengelenmediğini araştırmak için Isparta Doğumevine başvuran birinci trimestirde 17, ikinci trimestirde 14, üçüncü trimestirde 23 ve postpartum (PP) ikinci saatte 18 hastada ve sigara içmeyen, sağlıklı ve gebe olmayan 20 kadında kontrol grubu olarak malondialdehid (MDA), eritrosit superoksid dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (Gpx) çalışıldı.

Gebelikte ve PP ikinci saatteki MDA düzeylerinin gebe olmayan kadınlara göre anlamlı ölçüde arttığı ve bunun yanında antioksidan defans sistemi içinde yer alan SOD ve Gpx düzeylerinin de arttığı tespit edildi. Ayrıca PP ikinci saatteki MDA düzeyleri anlamlı ölçüde gebelikteki düzeyinden yüksek bulundu. Birinci, ikinci ve üçüncü trimestir düzeylerinde kendi aralarında fark bulunmadı.

Sonuçta; normal gebelikte serbest radikal oluşumunun artışına karşılık defans mekanizmalarında arttığı görüldü. Doğumun da maternal serbest radikal oluşumunu artırdığı gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler:Serbest radikaller, Gpx, SOD, MDA, gebelik.

Free Radical Generation and Antioxidant Nevels In Pregnancy and Postpartum Early Period

Abstract:

In order to evaluate the generation of the free radicals and to find out whether this is balanced with the antioxidant enzymes or not, we measured concentration of MDA, the activity of the SOD and Gpx on 17 patients in the first trimestr, on 14 patients in the second trimestr, on 23 patients in the third trimestr and on 18 patients who were after two hours of postpartum period and 20 patients as the control group who doesn't smoke was healthy and not pregnant.

We established that the level of MDA was increased meaningfully according to non-pregnant women and beside of this also the levels of SOD and Gpx which takes part in antioxidant defence system was increased. Moreover in the two hours of postpartum period MDA levels was found high according to pregnancy levels. There was no difference between first, second and third trimestr MDA, GPx and SOD levels.

As a result; it was seen that the generation of the free radicals and also antioxidant defence system increased in normal pregnant women. It was observed that the delivery increases the generation of maternal free radicals.

Key Words:Free radicals, Gpx, SOD, MDA, pregnancy.

Serbest radikaller bir çok fizyolojik veya patolojik durumlarda üretilen, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektronu bulunan herhangi bir atom veya moleküldür. Bir bileşik bir elektron

kaybederek veya ilave bir elektron alarak serbest radikal (SR) haline dönebilir. SR'ler daha büyük bir yapının parçası olabilir, immobil olabilir veya küçük ve serbestçe diffüze olabilen türler halinde

olabilir(1-3).

Biyolojik sistemlerde önemli serbest radikallerin çoğu oksijene dayanır. Hücrelerdeki hasar ve yaşlılık hali, organizmadaki akut ve kronik enfeksiyonlar, radyasyon ve stress serbest radikal oluşumuna yol açabilirler. Ayrıca organizmada aerobik enerji akımı sırasında da SR açığa çıkar. Biyolojik olarak hem hücre zarları hem de DNA için oldukça zararlı olan bu moleküller için, özellikle olduğu bölgelerdeki korunmayı sağlayan SOD ve GPx gibi enzimler mevcuttur (4,5).

Gebelikte preeklampsi ve eklampside, gebelikle birlikte seyreden kronik enfeksiyonlarda ve intrauterin gelişme geriliğinde SR'in rolü gösterilmiştir(6-8).

Materyal ve Metot

Çalışmaya Isparta Doğum ve Çocuk Bakımevi'ne gebeliğinin değişik dönemlerinde başvuran 54 hasta ile vajinal doğum yapmış 18 hasta ve gebe olmayan 20 kadın kontrol grubu olarak alındı. Kontrol ve hasta grubuna alınan kadınlar sigara içmeyen, fizik muayene ve anamnezlerinde herhangi bir sistemik hastalık bulgusu olmayan, normotensif özellikleri olanlardan seçildi.

Gebe kadınlarda herhangi bir ilaç tedavisi almıyor olmaları gözönünde bulunduruldu. PP kan alınan grubtaki hastaların tamamı vajinal doğum yapanlardan seçildi.

Gebe ve kontrol grubunda ve PP ikinci saatte alınan kan örnekleri ikiye ayrıldı. Bir örnek santrifüj edilerek ayrılan serum çalışılncaya kadar bir hafta süreyle -20 'C derecede bekletildi. İkinci örnek GPx ve SOD çalışılması için bekletilmeden hazırlandı.

SOD ve GPx Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda spektrofotometrik, MDA ise Akdeniz

Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda florometrik yöntemle bakıldı. SOD aktivitesi Sun ve ark'nun yöntemiyle belirlendi (9). Bu metotda superoksid radikallerinden oluşan ksantin ve ksantin oksidazın nitrobluetetrazolium (NBT) ile reaksiyonu sonucu oluşan formazan kullanılarak çalışıldı. Superoksid dismutaz aktivitesi, 560 nm'de bu reaksiyonun inhibisyon derecesine göre tayin edildi. Bir SOD ünitesi, NBTH2 redüksiyon oranında %50 inhibisyona yol açan enzim miktarı olarak tanımlandı ve SOD aktivitesi aynı zamanda her bir mililitre eritrosit sedimentindeki üniteler olarak tarif edildi. GPx aktivitesi Paglia ve Valentine metoduyla belirlendi (10). Bu metot, glutatyonun glutatyon redüktaz ve NADPH varlığında hidroperoksit tarafından oksidasyonunun Gpx ile katalize olmasına dayanır. Okside glutatyon NADPH'nun NADP+ 'ya dönüşümü sırasında hızla redükte forma dönüşür. Bu redüksiyon 340 nm'deki absorbansta ölçülür. GPx aktivitesi litrelik eritrosit sedimenti başına IU olarak tanımlandı. MDA Wasowicz ve ark'ının 1,1,3,3 tetrametoksiopropan kullanarak tarif ettikleri yöntemle göre çalışıldı. 50 mikrolitre örnek 1 ml distile su içeren tüpe alındı. Asetik asit içinde 29 mmol/l TBA içeren 1ml'lik solüsyon eklendikten sonra örnek su banyosu içine konulup 1 saat 95-100'C derecede ısıtıldı. Soğutulduktan sonra soğuk su altında 25 mikrolitre 5 mol/l'lik HCL eklendi ve karışım reaksiyonu 3.5 ml 'lik n-butanol ile 5 dk süreyle hızlandırıldı. Santrifüj edilip butanol fazı ayrıldı, butanolun floresansı spektrofotometrede (Shimatzu RF-5000, Kyoto, Japan) ölçüldü (11).

Bulgular t-testi ve varyans analizi kullanılarak karşılaştırıldı.

Bulgular

Kontrol ve çalışma gruplarının yaşları ve pariteleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Gruplar arasında yaş ve pariteler açısından fark yoktur.

Tablo1. Kontrol ve çalışma gruplarının yaş ve parite değerleri.

	Yaş	Parite
Kontrol	27.2 ± 4.3	2.2 ± 0.9
1.Trimestir	29.7 ± 5.2	2.4 ± 0.8
2.Trimestir	27.6 ± 3.9	2.1 ± 1
3. Trimestir	30.1 ± 3.8	2.7 ± 1.1
PP	26.9 ± 4.1	2.0 ± 0.6

Kontrol, gebe ve postpartum dönemdeki kadınların MDA, GPx ve SOD değerleri Tablo

2'de gösterilmiştir. 1., 2. ve 3. trimestir gebe gruplarının MDA, GPx ve SOD değerlerinde kendi

aralarında varyans analizi ile anlamlı fark bulunmazken, PP 2.saatteki hastalarda MDA değeri gebe kadınlardan yüksek bulundu ($p < 0.05$). GPx ve SOD değerlerinde anlamlı fark bulunmadı.

Kontrol grubunun MDA, GPx ve SOD değerleri hem gebe hem de postpartum gruptaki kadınlardan anlamlı ölçüde düşük bulundu ($p < 0.05$).

Tablo 2. Kontrol, gebe ve postpartum dönemdeki kadınların MDA, GPx ve SOD değerleri.

	Kontrol (n=20)	1. Trimestir (n=17)	2. Trimestir (n=14)	3. Trimestir (n=23)	PP 2 saatte (n=18)
MDA (nmol/ml)	28.3 ± 7.4°	40.1 ± 6.1	36.0 ± 5.9	39.3 ± 6.5	52.3 ± 8.9•
GPx (U/L)	86.2 ± 12.1°	113.7 ± 17.8	109.8 ± 12.0	117.5 ± 15.2	122.5 ± 17.0
SOD (U/ml)	166 ± 43°	209 ± 58	218 ± 76	238 ± 62	240 ± 72

• $p < 0.05$

° $p < 0.05$

Tartışma

Lipid peroksidasyonu normalde düşük seviyelerde bütün doku ve hücrelerde gerçekleşmektedir (12,13). Oksidan ve antioksidan düzeylerindeki dengenin oksidan lehine değişmesi oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır (14). Bu da lipid peroksidasyonu sırasında SR oluşumunu artırmakta ve hücre membranlarında hasara yol açmaktadır. Yoğun doku lipid peroksidasyonu artmış kan lipid peroksit seviyesini doğurmaktadır (15).

Normal gebeliklerde artmış MDA seviyeleri total serum lipid düzeyinin artışı ile paralel gitmekte ve lipid peroksidasyonunun total lipid düzeyine olan oranı değişmemektedir (16,17).

Yapılan son çalışmalar gebelikte plasental dokunun lipid peroksidasyonunun majör kaynağı olduğunu göstermiştir (18,19).

Buonocore ve ark'ı yaptıkları çalışmalarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında gebelerde peripartal dönemde belirgin SR oluşumunun arttığını belirlemişlerdir (20). Aynı çalışmada annelerde antioksidan enzim düzeylerine bakılmamıştır. Cranfield ve ark'nın çalışmalarında ise gebelikte antioksidan enzim düzeyi gebe olmayanlara göre önemli ölçüde artmıştır (21). Çalışmamızdaki bulgular literatür ile uyumludur.

Gebeliğin seyri sırasında ise plazma glutatyon peroksidaz aktivitesinin giderek düştüğü Behne ve ark'nın çalışmasında gösterilmiştir (22). Bizim çalışmamızda glutatyon peroksidaz aktivitesinde terme yaklaşıldıkça azalma tespit edilmemiştir. Buna

karşılık SOD aktivitesinde terme yaklaşıldıkça anlamlı olmayan bir artış mevcuttur.

Buonocore ve ark'nın çalışmasında vajinal doğumu takiben SR düzeyinde anlamlı artış olmasına karşılık bunu sezeryanla doğumda görmemişlerdir. Bizim çalışmamızda doğumların tamamı vajinal yoldan gerçekleşmiş olup serbest radikallerin göstergesi olan MDA hem kontrol grubu hem de gebelerdekine göre artmıştır. Bu artış antioksidan enzim düzeylerindeki artış ile kompanse edilmemiştir. Burada kompensasyon için zaman faktörünün önemli olduğunu düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, gebelikte hem SR hem de antioksidan enzimler dengeli olarak artmaktadır. Doğum sonu erken dönemde ise SR oluşumu artmaktadır. Bu travay sırasında yüksek oranda enerji harcanması ve bu esnada mitokondrilerdeki SR açığa çıkışının artışından kaynaklanabilir (2). Bundan hareketle gerek gebelik sırasında ve gerekse peripartal dönemde annenin antioksidan olduğu bilinen vitaminlerle (A,C ve E) desteklenmesi gerektiğini söyleyebiliriz.

Kaynaklar

- 1-Bast A, Goris RJA. Oxidative stress. *Biochemistry and human disease. Pharm Weekbl (Sci)* 1989; 11(6);199-206.
- 2-Cheeseman KH, Slater TF. An Introduction to free radical biochemistry. *British Medical Bulletin.* 1993; 49(3); 481-93.
- 3-Lohr JB. Oxygen radicals and neuropsychiatric illness. *Arch Gen Psychiatry.* 1991; 48; 1097-1106.
- 4-Jesberger JA, Richardson JS. Oxygen free radicals and brain dysfunction. *Intern J Neuroscience.* 1991; 57; 1-17.

- 5- Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rodgers GM, Hubel CA, McLaughlin MK. Preeklampsia; an endotelial cell disorder. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161;1200-4.
- 6-Dekker GA, Kraayenbrink AA; Oxygen free radicals in preeklampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164;273.
- 7-Hubel CA, Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rogers GM, McLaughlin MK; Lipid peroxidation in pregnancy ; new perspectives on preeklampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1989; 161; 1025-1034.
- 8- Ishiura M. Studies on lipoperoxide of normal pregnant women and of patients with toxemia of pregnancy. *Clin Chim Acta* 1978; 84;1-9.
- 9- Sun Y, Oberley LW, Ying L. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34; 497-500.
- 10-Paglia D, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70;158-69.
- 11- Wasowichz W, Jean N, Peratz A. Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid-reactive substances in serum ; importance of extraction pH and influence of sample preservation and storage. *Clin Chem* 1993; 38(12), 2522-26.
- 12-Spitz B, Deckmyn H, Van Bree R, Pijnenborg R, Vermeylen J, Van Assche FA. Influence of a vitamin E-deficient diet on prostacyclin production by mesometrial triangles and aortic rings from nondiabetic and diabetic pregnant rats. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 151;116-20.
- 13- Rodgers GM, Taylor RN, Roberts JM. Preeklampsia is associated with a serum factor cytotoxic to human endothelial cells. *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159;908-14.
- 14-Sies H. Oxidative stress; introductory remarks. In: Sies H, ed. *Oxidative stress*, London, England: Academic Press, 1982; 1-8.
- 15- Szczeklik A, Gryglewski RJ. Low density lipoproteins (LDL) are carriers for lipid peroxides and inhibit prostacyclin biosynthesis in arteries. *Artery* 1980; 7; 488-95.
- 16- Maseki M, Nishigaki I, Hagihara M, Tomoda Y, Yag, K. Lipid peroxide levels and lipid serum content of serum lipoprotein fractions of pregnant subjects with and without pre-eklampsia. *Clin Chim Acta* 1981; 155;155-61.
- 17-Potter JM, Nestel PJ. The hyperlipidemia of pregnancy in normal and complicated pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 1979; 94; 165-70.
- 18- Diamant S, Kissilevitz R, Diamant Y. Lipid peroxidation in human placental tissue; general properties and influence of gestational age. *Biol Reprod* 1980; 23; 776-81.
- 19- Sekiba K, Yoshioka T. Changes in lipid peroxidation and superoxide dismutase activity in the human placenta. *Am J Obstet Gynecol* 1979; 135; 368-71.
- 20- Buonocore G, Gioia D, Filippo M, Picciolini E et al. Superoxide anion release by polymorphonuclear leukocytes in whole blood of newborns and mothers during the peripartal period. *Ped Research* 1994; 36;60-3.
- 21- Cranfield LM, Gollan JL, White AG, Dormandy TL. Serum antioxidant activity in normal and abnormal subjects. *Ann Clin Biochem*, 1979; 16;299-306.
- 22- Behne D, Wolters W. Selenium content and glutathione peroxidase activity in the plasma and erythrocytes of non-pregnant and pregnant women. *J Clin chem clin Biochem* 1979; 17;133-5.

Yazışma Adresi:

Yrd.Doç.Dr.Hakan Kaya

SDÜ Tıp Fak. Kadın Hast. Ve

Doğum Anabilim Dalı,

ISPARTA.