

## PREEKLAMPTİK HASTALARDA ANTİOKSİDAN AKTİVİTE VE LİPİD PEROKSİDASYONU ARASINDAKİ DENGENİN İRDELENMESİ

Yasemin BUDAK\*, Gülbu İŞİTMANGİL\*, Şebnem İNAL\*\*

### ÖZET

Bu çalışmanın amacı preeklampitik gebelerde kan lipid peroksidasyon ürünlerinin artması ve antioksidan düzeylerinin azalması ile ilgili hipotezi araştırmaktır. Bu amaçla normal gebe (n=16) ve preeklampitik gebelerden (n=16) açlık venöz kanı alındı. Plazma total antioksidan aktivite ve tiyobarbitirik asitle reaksiyona giren maddelerin (TBARS) düzeyleri kolorimetrik yöntemle ölçüldü. Çalışmanın bulgularına göre normal ve preeklampitik hamilelerin plazma total antioksidan aktivite değerleri ve TBARS değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Ayrıca sağlıklı gebe kadınlardan oluşan grupta total antioksidan aktivite ve TBARS değerleri arasında negatif yönde, orta güçte bir korelasyon tespit edildi ( $r=-0.60$ ,  $p<0.05$ ). Buna karşılık, preeklampsili gebe kadınlardan oluşan grupta herhangi bir bağıntı tespit edilemedi ( $r=0.05$ ,  $p>0.05$ ). Bu bulgular ışığında preeklampitik hastalarda antioksidan savunma sistemleri ve lipid peroksidasyonu arasında bir dengesizlik olduğu ileri sürülebilir.

**Anahtar kelimeler:** Preeklampsia, antioksidan aktivite, lipid peroksidasyonu, plazma

### SUMMARY

*Evaluation of the imbalance between antioxidant activity and lipid peroxidation in preeclamptic patients.* The objective of this study is to test the hypothesis that maternal plasma lipid peroxidation products are increased and antioxidants are decreased in women with mild pre-eclampsia. Fasting venous plasma were collected from normal pregnant (n=16) and mild pre-eclamptic women (n=16). Plasma total antioxidant status and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were measured by colorimetric assay. Plasma maternal concentrations of total antioxidant status and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) were not significantly different in pre-eclampsia as compared with normal pregnancy ( $p>0.05$ ). When the variables in the same groups were measured, we found a negative correlation between total antioxidant status and TBARS in the normal group ( $r=-0.60$ ,  $p<0.05$ ). In the mild preeclamptic women we could not find a correlation between total antioxidant status and TBARS ( $r=0.05$ ,  $p>0.05$ ). The findings in this study show that there is an imbalance between antioxidant defences and lipid peroxidation in preeclamptic patients.

**Key words:** Pre-eclampsia, antioxidant activity, lipid peroxidation, plasma

### GİRİŞ

Preeklampsia ve eklampsia gebelikte en başta gelen ölüm nedenleri arasındadır<sup>(10)</sup>. Preeklampsia intrauterin büyüme geriliği, erken doğum ve perinatal asfiksiye yol açarak perinatal morbidite ve mortalitede artışa yol açmaktadır. Preeklampitik hastalarda abruptia plasenta, intraserebral hemoraji, karaciğer ve böbrek yetmezliği gibi komplikasyonlar da normale göre artmıştır<sup>(3)</sup>.

Preeklampsideki patofizyolojik değişikliklerin ve damar endotel hasarının hastalığın gelişiminde önemli rol oynadığı düşünülmektedir<sup>(21)</sup>. Kötü beslenen fetoplazental ünitenin serbest oksijen radikalleri ve buna bağlı olarak lipid peroksidasyonunun oluşumuna yol açtığı bilinmektedir<sup>(21)</sup>. Lipid peroksidasyon ürünlerinin invitro koşullarda endotel hücrelerinde hasara yol açtığı gösterilmiştir<sup>(9)</sup>. Dolaşımda bulunan antioksidanlar serbest radikalleri yok ederek hücre membranlarının

serbest radikallere bağılı peroksidasyonunu engellemektedir. Artan serbest radikaller, tüketime bağılı olarak plazmadaki antioksidanların konsantrasyonunda düşmeye yol açabilir (9).

Bu çalışmanın amacı; preeklampitik hastalarda normal hamilelerle karşılaştırıldığında plazma serbest radikal düzeylerinde artış ve total antioksidan aktivitede azalma olduğuna dair hipotezi araştırmaktır.

### MATERYAL ve METOD

Bu çalışmaya preeklampitik (n=16) ile normal gebeler (n=16) kabul edildi. Preeklampsi tanısı kan basıncının 140/90 mmHg üzerinde ve proteinürinin 300 mg/24 saat üzerinde oluşu ile kondu. Kontrol grubu seçilirken anne yaşı ve gestasyonel yaş ile uyumlu olmasına dikkat edildi (Tablo 1). Kronik hipertansiyon, diabet, böbrek veya kardiyovasküler problemi olanlar çalışma dışı bırakıldı.

**Tablo 1.** Çalışmaya alınan normal ve preeklampitik gebelerin özellikleri. Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

	Normal (n=16)	Pre-eklampsi (n=16)
Yaş	24.4 (±3.9)	24.2 (±4.0)
Örnek alındığında gestasyonel yaş (gün)	235.6 (±22.8)	231.4 (±24.1)
Sistolik kan basıncı (mmHg)	120.0 (±8.8)	161.1 (±19.0)
Diastolik kan basıncı (mmHg)	75.2 (±8.4)	105.2 (±8.4)

Hastaların plazmaları otooksidasyonu önlemek için derhal ayrılarak ölçümler yapılarak -80°C de saklandı. Total antioksidan aktivite Randox kiti (Randox Laboratories, England) kullanılarak ölçüldü. Yöntem ortama ilave edilen antioksidanların konsantrasyonla uyumlu bir şekilde 2,2'-azinobis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonate (ABTS)'in,

renk oluşumunu engellemesine dayanmaktadır (14).

Plazma tiyobarbitürik asitle reaksiyona giren maddelerin (TBARS) düzeyi kolorimetrik yöntem ile ölçüldü. Deproteinize edilen serum üzerine 1 ml TBA ayıracağı eklendi ve reaksiyon karışımı 60 dakika 95°C de ısıtıldı. Süpernatantın absorbanansı 535nm'de köre karşı okundu. TBARS konsantrasyonu ekstinksiyon katsayısı olan  $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$  kullanılarak hesaplandı (18).

*İstatistik.* İstatistik çalışmaları Statistical Package for the Social Sciences (SPSSX Package) kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçlar ortalama ± SD olarak hesaplandı. Ortalamalar arası ilişki *Students-t testi*; değişkenler arası ilişki ise *Pearson* korelasyon analizi ile karşılaştırıldı.

### BULGULAR

Normal gebelerde ve preeklampsili gebelerde serum/plazma total antioksidan aktivite değerleri sırası ile  $2.35 \pm 1.78$  mmol/L ve  $2.07 \pm 1.62$  mmol/L bulundu (Tablo 2); ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ).

**Tablo 2.** Çalışmaya alınan normal ve preeklampitik gebelerin bulguları. Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

Plazma	Normal (n=16)	Pre-eklampsi (n=16)
Total antioksidan aktivite (mmol/L)	2.35 (±1.78)	2.07 (±1.62)
TBARS (µmol/L)	2.66 (±1.95)	2.90 (±1.96)

Normal gebelerde ve preeklampsili gebelerde serum/plazma TBARS değerleri sırası ile  $2.66 \pm 1.95$  µmol/L ve  $2.90 \pm 1.96$  µmol/L bulundu (Tablo 2); ancak gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ( $p > 0.05$ ).

Aynı gruplarda değişkenler arası ilişki, korelasyon analizi ile araştırıldığında sağlıklı gebe kadınlardan oluşan normal grupta total antioksidan aktivite ve TBARS değerleri arasında negatif yönde orta güçte bir korelasyon tespit edildi ( $r=-0.60$ ,  $p<0.05$ ). Preeklampsili gebe kadınlardan oluşan hasta grubunda herhangi bir bağıntı tespit edilemedi ( $r= 0.05$ ,  $p>0.05$ ).

## TARTIŞMA

Serbest radikal oluşumu insan metabolizmasının bir parçasıdır. Serbest radikallerin yaşamsal biyolojik sistemlere zarar verme potansiyeline bağlı olarak yüzden fazla hastalıkta rolü olduğu bulunmuştur (1,7). Organizmalar serbest radikallerin etkilerini azaltmak ve oluşturdukları hasarları ortadan kaldırmak için kompleks antioksidan sistemler geliştirmişlerdir. Antioksidan sistemler süperoksit dizmutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi enzimler, albümin, seruloplazmin ve ferritin gibi makromoleküller ve askorbik asit,  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, ubiquinol-10, GSH, metionin, ürik asit ve bilirübin gibi küçük moleküllerden oluşmaktadır (7).

Literatürde serbest radikal oluşumunun preeklampside rol oynadığını destekleyen birçok çalışma vardır (12,17). Yapılan bir çalışmada preeklampsili hastaların desidua bazalislerinde lipid hidroperoksitlerinin arttığı tespit edilmiştir (24). Doğum sonrası erken dönemde küretaj ile desidual dokunun çıkarılmasının preeklampsi semptomlarından kurtulmayı hızlandırdığı görülmüştür (14). Bununla birlikte plasental peroksidasyon ürünlerinin anne kanında birikimi ile ilgili direkt bir bulgu yoktur (8). Son yıllarda yapılan bazı çalışmalarda plazma lipid peroksit düzey artışının preeklampitik gebelerle normal gebeler karşılaştırıldığında anlamlı oranda olmadığını gösteren bulgulara rastlanmıştır (4). Lipid peroksidasyon artışının ölçümünde kullanılan yöntemlerin nonspesi-

fik olduğu ve ex vivo lipid peroksidasyonuna bağlı olduğunu gösteren çalışmalar vardır (6, 25).

Moris ve arkadaşları (16) dolaşımdaki lipid peroksidasyon ürünleri olan 8-iso-PGF<sub>2 $\alpha$</sub> , lipid hidroperoksitleri ve malondialdehitin preeklampitik hastalarda örnekler invitro oksidasyonu önleyecek şekilde uygun koşullarda alındığı zaman artmadığını bulmuşlardır. Regan ve arkadaşları da (19) invitro oksidasyondan etkilenmeyen, kimyasal olarak stabil ve invivo lipid peroksidasyonun göstergesi olan 8,12-iso-iPF<sub>2 $\alpha$</sub> -VI düzeylerinin preeklampitik hastalarda normal hamilelerden farklı olmadığını göstermişlerdir. Biz de benzer şekilde; bu çalışmada normal ve preeklampitik hamileler arasında plazma lipid peroksitleri arasında istatistiksel olarak fark bulamadık.

Moris ve arkadaşları (16) literatürdeki diğer çalışmalarda lipid peroksit düzeyinin yüksek çıkmasının invitro oksidasyona bağlı olduğunu düşünerek otooksidasyonu önlemek için plazmaları 20 mmol BHT varlığında saklamışlardır. İnvitro oksidasyon örnek alındıktan sonra oda ısısında üç saat içinde ve -20 °C de saklandığında iki ay içerisinde başlamaktadır. Bizde çalışmamızda otooksidasyonu engellemek için örnekleri derhal -80°C'ye kaldırdık, plazmaları sabit ısıda sakladık ve çözüldükten sonra hemen çalışmaya aldık. Moris ve arkadaşları (16) lipid peroksitlerinin normal gebelerde de tıpkı preeklampitiklerde olduğu gibi gebe olmayan kadınlara göre yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda gebe olmayan kontrol grubunun olmaması bu bulguyu test etmemizi olanaksız kıldı. MDA dışındaki diğer oksidatif stres göstergelerinin (protein karbonil grubu, dien konjugat düzeyleri gibi) ölçülmemesi ise çalışmamızın en önemli eksikliğidir.

Preeklampsili hastaların kan dolaşımında bulunan antioksidan sistemlerin serbest radikallere bağlı endotel hücre hasarını engelle-

mek için kullanılarak düştüğünü düşünmekteydik. Çalışma sonucunda normal ve preeklampitik gruplar arasında total antioksidan aktivite açısından istatistiksel olarak fark bulunmadık. Literatürde bu metodun antioksidan kapasitesinin ölçümünde başarı ile kullanıldığı gösterilmiştir (15,20,22,26). Literatürde total antioksidan aktivitenin arttığını (11) ve azaldığını (23) gösteren, birbiri ile çelişen çalışmalar vardır. Bu çelişkili sonuçların in-vitro oksidasyona veya kullanılan metotlara bağlı olduğunu düşünmekteyiz.

Bizim çalışmamızda sağlıklı gebe kadınlarda total antioksidan aktivite ve TBARS değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif yönde korelasyon vardı. Preeklampsilie gebe kadınlardan oluşan hasta grubunda ise herhangi bir bağıntı tespit edilemedi. Bu bulgu Bowen ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma ile benzer çıkmıştır (2). Bu dengenin bozulması normal gebelerde artan oksidan strese karşı antioksidan sistemin dengeyi sağlama gücünü koruduğunu, preeklamptiklerde ise bu dengenin bozulduğunu düşündürmektedir. Antioksidan dengedeki bozukluk invivo koşullarda dolaşımın belli bölgelerinde lokalize oksidasyona yatkınlık yaratıyor olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM: Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90: 7915.
2. Bowen R. S, Moodley J, Dutton F.M, Theron J.A: Oxidative stress in pre-eclampsia. *Acta Obs Gyn Scand*. 2001; 80: 719.
3. Cunningham FG, Lindheimer MD: Hypertension in pregnancy: Current concepts. *N Eng J Med* 1992; 326: 927.
4. Davidge ST, Hubel CA, Brayden RD, Capeless EC, McLaughlin MK: Sera antioxidant activity in uncomplicated and preeclamptic pregnancies. *Obstet Gynecol* 1992; 79: 897.
5. Gitto E, Reiter RJ, Karbownik M, Tan D, Gitto P, Barberi S, Barberi I: Causes of oxidative stress in the pre- and perinatal period. *Biol Neonate* 2002; 81:146.
6. Gu Heridge JMC, Halliwell B: The measurement and mechanism of lipid peroxidation in biological systems. *Trends Biochem Sci* 1990; 15:12.
7. Halliwell B, Gutteridge JMC, Cross CE: Free radicals, antioxidants, and human disease: where are we now? *J Clin Lab Med* 1992; 119: 598.
8. Hubel CA: Oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia. *Exp Biol Med* 1999; 222: 222.
9. Kaneko T, Nakono S, Matsuo M: Protective effect of vitamin E on linoleic acid hydroperoxide-induced injury to human endothelial cells. *Lipids* 1991; 26: 345.
10. Kaunitz AM, Hughes JM, Brimes DA, Smith JC, Rochat RW, Kafriksen ME: Causes of maternal mortality in the United States. *Obst Gynecol* 1985; 65: 605.
11. Kharb S: Total free radical trapping antioxidant potential in pre-eclampsia. *Int J Gynaecol* 2000; 69: 23.
12. Madazli R, Benian A, Gumustas K, Uzun H, Ocak V, Aksu F: Lipid peroxidation and antioxidants in preeclampsia. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999; 85: 205.
13. Magann E, Martin J, Isaacs J, Perry K, Martin R, Meydrech E: Immediate postpartum curettage: Accelerated recovery from severe preeclampsia. *Obstet Gynecol*. 1993; 81: 502.
14. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A: A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 1993; 84: 407.
15. Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA: Antioxidant activities of carotenoids and xanthophylls. *FEBS Lett*. 1996; 384: 240 (1996).
16. Morris JM, Gopaul NK, Endresen MJR Knight M, Linton EA, Dhir S, Anggard EE, Redmon CWG: Circulating markers of oxidative stress are raised in normal pregnancy and preeclampsia. *Br J Obs Gyn* 1998; 105: 1195.
17. Poston L, Chappell LC: Is oxidative stress involved in the aetiology of pre-eclampsia? *Acta Paediatr* 2001; 90: 3.
18. Prasad K, Kaina J, Bharadug B.,Chaudhary A.K: Increased oxygen free radical activity in patients on cardiopulmonary bypass undergoing aortocoronary bypass surgery. *Am Heart J* 1992; 123: 3.
19. Regan CL, Levine RJ, Baird DD, Ewell MG, Martz KL, Sibai BM, Rokach J, Lawson JA, Fitzgerald GA: No evidence for lipid peroxidation in severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2001; 185:572.
20. Rice-Evans C, Miller NJ, Bolwell PG, Bramley PM, Pridham JB: The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Rad Res* 1995; 22: 375.
21. Roberts JM, Redman G: Preeclampsia: more than pregnancy induced hypertension. *Lancet* 1993; 341: 1447.
22. Salah N, Miller NJ, Paganga G, Tijburg L, Bolwell GP, Rice-Evans C: Polyphenolic flavonols as scavengers of aqueous phase radicals and as chain-breaking antioxidants. *Arch Biochem Biophys* 1995; 322: 339.
23. Shaarawy M, Aref A, Salem ME, Sheiba M: Radical scavenging antioxidants in pre-eclampsia and eclampsia. *Int J Gynaecol Obstet* 1998; 60:123.
24. Staff AC, Ranheim T, Khoury J, Henriksen T: Increased contents of phospholipids, cholesterol, and lipid peroxides in deciduas basalis in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 587.
25. Yeo HC, Helbock HJ, Chyu DW, Ames BN: Assay of malondialdehyde in biological fluids by gas chromatography-mass spectrometry. *Anal Biochem* 220: 391 (1994).
26. Yu BP: Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994; 74:139.