



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**GEBELERDEN ALINAN AMNİYON SIVILARININ
KARYOTİP ANALİZİNDE NORMAL, DOWN
SENDROMU VE NÖRAL TÜP DEFEKTİ OLDUĞU
TESPİT EDİLEN OLGULARIN AMNİYON
SIVILARINDA OKSİDATİF STRES (MDA)
PARAMETRELERİNİN, ANTIOKSİDAN (SOD, CAT,
GSH-Px) VE ESER ELEMENT (Se, Zn, Cu)
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Filiz ATALAY

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

KAHRAMANMARAŞ 2012

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**GEBELERDEN ALINAN AMNİYON SIVILARININ KARYOTİP ANALİZİNDE
NORMAL, DOWN SENDROMU VE NÖRAL TÜP DEFEKTİ OLDUĞU TESPİT
EDİLEN OLGULARIN AMNİYON SIVILARINDA OKSİDATİF STRES (MDA)
PARAMETRELERİNİN, ANTİOKSİDAN (SOD, CAT, GSH-Px) VE ESER
ELEMENT (Se, Zn, Cu) DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

TEZ YÖNETİCİSİ
Prof. Dr. Metin KILINÇ

Kimyager Filiz ATALAY
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Filiz ATALAY tarafından hazırlanan “Gebelerden Alınan Amniyon Sıvılarının Karyotip Analizinde Normal, Down Sendromu ve Nöral Tüp Defekti Olduğu Tespit Edilen Olguların Amniyon Sıvılarında Oksidatif Stres (MDA) Parametrelerinin, Antioksidan (SOD, CAT, GSH-Px) ve eser element (Se, Zn, Cu) düzeylerinin araştırılması” adlı bu tez, jürimiz tarafından 10/08/2012 tarihinde oy birliği ile Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Ünvan, Ad ve Soyad (DANIŞMAN)

Ana Bilim Dalı, Üniversite Adı

Prof. Dr. Metin KILINÇ

Tıbbi Biyokimya, KSÜ

Ünvan, Ad ve Soyad (ÜYE)

Ana Bilim Dalı, Üniversite Adı

Prof. Dr. Fatma İnanç TOLUN

Tıbbi Biyokimya, KSÜ

Ünvan, Ad ve Soyad (ÜYE)

Ana Bilim Dalı, Üniversite Adı

Prof. Dr. Ayhan COŞKUN

Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

.....

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

.....

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

(İmza)

(Adı Soyadı)

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Normal, down sendromu ve nöral tüp defekti olduğu tespit edilen gebelerden alınan amniyon sıvıları arasında eser element, oksidatif stres ve antioksidan parametreleri arasındaki farklılıklar belirlenmeye çalışılmıştır.

Bu çalışmada normal olduğu tespit edilen 235 gebeden alınan amniyon sıvıları ile 9 down sendromlu ve 10 nöral tüp defekli gebeden alınan amniyon sıvıları arasındaki antioksidan enzim ve eser element düzeyleri karşılaştırıldı. Dokularda antioksidan enzim düzeyleri spektrometrik yöntemle, eser element düzeyleri atomik absorpsiyon spektrometresiyle (AAS) oksidatif stres ise HPLC ile çalışıldı.

Amniyon sıvılarındaki ortalama çinko, bakır ve selenyum düzeyleri kontrol grubunda sırasıyla; 6,4 µg/dl, 7,2 µg/dl ve 13,4 µg/l bulunmuş iken down sendromlu grupta sırasıyla; 5,9 µg/dl, 4,8 µg/dl ve 10,3 µg/L, nöral tüp defekli grupta ise sırasıyla 6,1 µg/dl, 5,8 µg/dl ve 11,2 µg/L olarak bulunmuştur. MDA, CAT, GSH- Px ve SOD düzeyleri kontrol grubunda sırasıyla; 0,84 nmol/ ml, 36 Ü/ml, 1,4 Ü/ml ve 1,4 Ü/ml, down sendromlu grupta; 0,9 nmol/ml, 32 Ü / ml, 2,7 Ü / ml ve 1,4 Ü /ml, nöral tüp defekli grupta ise sırasıyla; 0,8 nmol/ ml, 28 Ü / ml, 1,1 Ü/ml ve 1,6 Ü/ml olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasında MDA, SOD ve CAT arasında istatistiksel farklılık gözlenmemiştir ($p > 0,05$) fakat GSH-Px de gruplar arası ilişkinin $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlendi. Hasta ve normal gruplar arasında çinko, bakır ve selenyum arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark tespit edilememiştir ($p > 0,05$).

Sonuç olarak amniyon sıvılarında çinko, bakır, selenyum düzeyleri ile ve MDA, SOD ve CAT düzeyleri arasında farklılık gözlenmemesi hasta gruplarında sayının az olmasıyla ilişkilendirilebilir.

Anahtar sözcükler: Amniyon sıvısı, trizomi 21, nöral tüp defekti, çinko, bakır, selenyum, SOD, GSH-Px, CAT, MDA.

ABSTRACT

Amniotic fluids taken pregnant women which identified as normal, Down syndrome and neural tube defect were studied indicating differences between trace elements, oksidatif stress and antioxidant parameters.

In this study, amniotic fluids taken pregnant women that are 235 normal, 9 having Down syndrome and 10 having neural tube defect were compared evaluating oxidative stress, antioxidant parameters and trace elements. Antioxidant enzymes, MDA and trace element levels in tissues were analysed using spectrophotometer and atomic spectrometry instrument respectively.

While in amniotic fluids collected from the control group mean zinc, copper and selenium levels were 8,30 µg/dl, 8,25 µg/dl and 18,9 µg/l respectively, they were found as 6,85 µg/dl, 5,81 µg/dl and 11,24 µg/l respectively in the down syndrome group; 5,87 µg/dl, 4,77 µg/dl and 13,14 µg/l respectively in the neural tube defects group.

MDA, CAT, GSH-Px and SOD levels were found as 0,84 nmol/ ml, 36 U/ml, 1,4 U/ml and 1,4 U/ml respectively in the control group; 0,9 nmol/ml, 32 U / ml, 2,7 U / ml and 1,4 U /ml respectively in the down syndrome group, 0,8 nmol/ ml, 28U / ml, 1,1 U/ml and 1,6 U/ml respectively in the neural tube defects group.

There is no statistically difference among the three groups MDA, SOD and CAT levels ($p > 0,05$) but GSH-Px levels had difference among the groups ($p < 0,05$). There were no statistically difference for trace element levels among three groups.

As a result there were no statistically difference among three groups. It could be due to insufficient numbers of patient.

Key words: Amniotic fluids, trisomi 21, neural tube defect, zinc, copper, selenium, SOD, GSH-Px, CAT, MDA.

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince mesleki konulardaki bilgi birikimini ve tecrübelerini büyük sabır ve özveriyle aktaran, biyokimya bilgilerimin gelişmesinde büyük katkıları olan, insani değerleri ile örnek aldığım tezimin danışmanlığını yapan değerli hocam Sayın Prof. Dr. Metin KILINÇ'a,

Yüksek lisansım süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, derin hoşgörü anlayışı ve deneyimi ile iyi bir şekilde yetişmeme katkısı olan Sayın hocam Doç. Dr. Ergül BELGE KURUTAŞ'a ve Sayın hocam Prof. Dr. Fatma İNANÇ TOLUN'a,

Tez çalışmam sırasındaki katkılarından dolayı sayın hocalarım Doç. Dr. Deniz Cemgil ARIKAN ve Yrd. Doç.Dr. Tuğba ARIKAN'a,

Eğitimim süresince sevgi ve dostluklarını benden esirgemeyen, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarıma özellikle Arş. Gör. Kimyager. Eda GANIYUSUFOĞLU ve Arş. Gör. Mehmet GEZGİNCİ' ye,

Bugünlere gelmemde büyük pay sahibi olan, desteklerini benden hiç bir zaman esirgemeyen sevgili aileme,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
KISALTMALAR LİSTESİ	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Amniyon Sıvısı	3
2.2. Genetik ve Kromozomal Anomalilerin Prenatal Taranması	4
2.2.1. Down Sendromu	4
2.2.2. Nöral Tüp Defekti	7
2.3. Serbest Radikaller	11
2.3.1. Reaktif Oksijen Türleri	12
2.3.2. Süperoksit Radikali (O ₂ ⁻)	14
2.3.3. Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)	15
2.3.4. Hidroksil Radikali	15
2.3.5. Singlet Oksijen	16
2.4. Hücrelerde Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri	16
2.4.1. Serbest Radikallerin Lipit Yapılara Etkileri	18
2.4.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri	19
2.4.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere Etkileri	20
2.4.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri	20
2.5. Antioksidan Sistem	20
2.5.1. Antioksidan Enzimler	20
2.5.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	21
2.5.1.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH- Px)	22
2.5.1.3. Katalaz	23
2.6. Eser Elementler	24
2.6.1. Çinko	24
2.6.2. Selenyum	25

2.6.3. Bakır	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. BİYOKİMYASAL ANALİZLER.....	27
3.1.1. Materyal	27
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar.....	27
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler	27
3.2. Analiz Yöntemleri	28
3.2.1. Katalaz Aktivite Tayini	28
3.2.2. Süperoksit Dismutaz AktiviteTayini.....	29
3.2.3. GSH-Px Ölçümü	32
3.2.4. MDA Ölçümü	34
3.2.5. Eser Element Analizleri	34
3.2.5.1. Amniyon Sıvılarında Selenyum Tayini	34
3.2.5.1. Amniyon Sıvılarında Selenyum Tayini	34
3.2.5.3. Amniyon Sıvılarında Bakır Tayini	34
4. BULGULAR	35
4.1. Verilerin İstatistiki Değerlendirilmesi.....	35
4.2. Gruplar Arası Antioksidan Sonuçlarının Karşılaştırılması	35
4.2. Gruplar Arası Eser Element Sonuçlarının Karşılaştırılması	38
5. TARTIŞMA.....	40
6. SONUÇ.....	44
7. KAYNAKLAR.....	46
ÖZ GEÇMİŞ.....	61

TABLO LİSTESİ

Tablo 2.3: Dünyanın çeşitli bölgelerindeki NTD sıklığı	11
Tablo 2.1: Reaktif oksijen Türleri	13
Tablo 2.2: Endojen ve Eksojen Antioksidanlar	21
Tablo 3.1. Eritrositte CAT aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı	29
Tablo 3.2. SOD standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı	30
Tablo 3.3. SOD standart eğri çizimi için kuvars küvetlerinin hazırlanışı	30
Tablo 3.4. SOD aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı	32
Tablo 3.5. GSH-Px aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı	33
Tablo 4.1. Gruplar arasında antioksidan ve MDA bulguları	35
Tablo 4.2. Gruplar arasında eser element bulguları	38

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Oksijen molekülünün orbital yapısı	13
Şekil 2.2: Lipit peroksidasyonu.....	17
Şekil 4.1: Gruplar arasında MDA (nmol/ml) değerlerinin karşılaştırılması.....	36
Şekil 4.2: Gruplar arasında CAT (Ü/ml) değerlerinin karşılaştırılması.	36
Şekil 4.3: Gruplar arasında GSH-Px (Ü/ml) değerlerinin karşılaştırılması.....	37
Şekil 4.4: Gruplar arasında SOD (Ü/ml) değerlerinin karşılaştırılması.	37
Şekil 4.5: Gruplar arasında Zn (µg/dl) değerlerinin karşılaştırılması.....	38
Şekil 4.6: Gruplar arasında Cu (µg/dl) değerlerinin karşılaştırılması.	39
Şekil 4.7: Gruplar arasında Se (µg/l) değerlerinin karşılaştırılması.	39

KISALTMALAR LİSTESİ

AAS	: Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi
AFP	: Alfa fetö protein
CAT	: Katalaz
Cu	: Bakır
DS	: Down Sendromu
GSH-Px	: Gulutasyon peroksidaz
HPLC	: High Performanca Liquit Chromatography
MDA	: Malondialdehit
MR	: Mental Retardasyon
NTD	: Nöral Tüp Defekti
Se	: Selenyum
SED	: Sosyo-Ekonomik Düzey
ROS	: Reactive Oxygene Species
PUFA	: Poly Unsaturated Fatty Acid (Çoklu Doymamış Yağ Asitleri)
RNS	: Reactive Nitrogene Species
SOD	: Süperoksit dismutaz
Zn	: Çinko

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Amniyotik keseyi dolduran ve kordon adı verilen bir zarla çevrili olan amniyon sıvısının sağlıklı bir gebelik ve fetus gelişimi için önemi büyüktür. Bu sıvı fetusun amniyon kesesi içinde rahat hareket etmesine, dıştan gelebilecek mekanik darbelere karşı korunabilmesine, kas- iskelet sisteminin gelişmesine, simetrik büyümesine olanak sağlar, onun için yaşam ortamıdır ve havanın yerini tutmaktadır. Amniyon sıvısı, fetusa sağladığı yararlar kadar anne sağlığı içinde önemlidir. Bu sıvı sayesinde ağırlık kazanan fetus anne rahmine baskı yapmamış olur. Amniyon sıvısının fetusu olumsuz etkilerden koruması ve onun gelişimine yardımcı olması yanında, onu enfeksiyonlara karşı koruyabilecek antimikrobiyal etkisi olduğu da ileri sürülmektedir. Gebelikte karşılaşılabilecek fetal enfeksiyonların anne sağlığı ve bebek gelişimi için son derece önemli olduğu, hatta bu enfeksiyonların fetusun intrauterin evrede bile ölümüne neden olabileceği bildirilmektedir (Kiraz ve ark., 1993).

İnsan sinir sisteminin embriyolojik başlangıcı nöral tüp oluşumudur. Bu yapı gebeliğin 30. gününden önce tüp formunu oluşturur. Eğer baş kısmını oluşturan bölümde gelişim defekti oluşursa anensefali, spinal kord bölümünde sorun olursa spina bifida gelişimi olduğu düşünülür. Nöral tüp defektlerinin (NTD) ortalama görülme sıklığı 1/1000 doğum olup, bu oran ülkeler arasında farklılık göstermektedir (Kiraz ve ark., 1993).

Tüm anöploidilerin %50 kadarını oluşturması ve mental retardasyon insidansında arttırıcı etki göstermesi nedeniyle özel bir öneme sahiptir. Trizomi 21'li bebekte zekâ geriliği vardır, IQ genellikle 25-50 arasındadır. Kalbe ait yapısal bozukluklar bebeklerin yaklaşık %50'sini etkilediği her doğan 660 bebekten biri Down sendromu olarak dünyaya geldiği çok iyi bakım şartları altında bile lösemi ve erken başlangıçlı Alzheimer hastalığı nedeniyle erken çocukluk döneminde kayıp oranları oldukça fazla olduğu bildirilmektedir (Lynch ve Berkovvitz, 1992).

Günümüzde başlıca uygulama endikasyonları trizomiler için uygulanan tarama testlerinde anormallik, ileri anne yaşı, ultrasonografide yapısal anomaliler, kromozom anomalili doğum öyküsü ve çiftlerden birinde bilinen kromozom translokasyonlarıdır.

Nöral tüp defektlerinin kalıtımı, birtakım genlerin yanı sıra çeşitli dış etkenlerin de birlikte rol oynadıkları multifaktöriyel kalıtım şekline uymaktadır. Nöral tüp defekti anomalilerinin insidansı çeşitli etnik gruplardaki hastalarda farklı olabilmektedir. Bir çiftin önceden nöral tüp defektli bebekleri varsa sonraki gebelikte tekrarlama riski yaklaşık 1/30

kadardır. Nöral tüp defektlerinin sıklığının anne yaşının ileri olması ile ilişkisinin olmadığı vurgulanmıştır (Wald ve ark., 1992).

Bu çalışmada sağlıklı, nöral tüp defekti ve Down sendromu olduğu fetal karyotip sonucu belirlenen gebelerden alınan amniyon sıvılarının antioksidan özellikleri ve eser element düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Antioksidan özelliklerinin ve eser element düzeylerinin araştırılması amacıyla Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Doğum polikliniğine başvuran 235 sağlıklı, 10 nöral tüp defekti olan ve 9 trisomi 21'li gebeden amniyon sıvısı alındı. Hastalardan alınan amniyon sıvılarında katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) spektrofotometrik olarak, oksidatif stresin göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyleri ise HPLC metoduyla incelendi. Eser element (Se, Zn, Cu) düzeyleri ise atomik absorpsiyon spektrofotometresi (AAS) ile incelendi.

Sonuç olarak gebeliğinde amniyosentez sonucu normal, nöral tüp defekti ve trisomi 21 olduğu tespit edilen olgulardan alınan amniyon sıvılarında antioksidan ve oksidatif stres parametrelerinin ölçülmesiyle gebelerde çeşitli kimyasal ve çevresel ajanlar tarafından oluşan oksidatif stres faktörlerinin anne ve fetus için risk oluşturup oluşturulmadığının incelenmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Amniyon Sıvısı

Amniyotik keseyi dolduran ve koryon adı verilen bir zarla çevrili olan amniyon sıvısının sağlıklı bir gebelik ve fetüs gelişimi için önemi büyüktür. Bu sıvı fetusun amniyon sıvısı içinde rahat hareket etmesine, dıştan gelebilecek mekanik darbelere karşı korunmasına, kas- iskelet sisteminin gelişmesine, simetrik büyümesine olanak sağlar, onun için yaşam ortamıdır ve havanın yerini tutmaktadır. Amniyon sıvısı fetusa sağladığı yararları kadar anne sağlığı içinde önemlidir. Bu sıvı sayesinde ağırlık kazanan fetus anne rahmine baskı yapmamış olur (Akın ve Seyrekbasan, 2005).

Amniyon boşluğu, kısmen amniyon hücreleri tarafından oluşturulan fakat esas olarak anne kanından gelen berrak bir sıvı ile doludur. Amniyon sıvısının miktarı 10. haftada ortalama 30 ml, 20. haftada 350 ml, 3ÖÖ7. haftada 800-1000 ml şeklinde gebeliğin yaşıyla birlikte artar. Amniyon sıvısı içinde barındırdığı canlıyı dıştan gelen darbelere karşı korur, embriyonun amniyon zarına yapışmasını önler ve fetusun hareket etmesine olanak sağlar. 38. gebelik haftasından itibaren hafif bir azalma gösterir (Saraçoğlu, 2008).

“Dağdeviren ve arkadaşlarına (1997) göre” Amniyon sıvısı; %99’u, inorganik tuzlar, organik maddeler ve fetüsten dökülen epitel hücrelerden oluşur. Organik bileşiklerin yarısı protein, diğer yarısı ise karbonhidrat, enzim, yağ, hormon ve pigmentlerden oluşur. Amniyon sıvısının karakteri ve biyokimyasal içeriği, gebelik boyunca değişime uğrar. Termde amniyon sıvısının özgül ağırlığı 1.008, pH’sı 7,2’dir (Coşkun, 2008).

16 -18. gebelik haftaları arasında amniyon sıvılarının selüler içeriği artmasına rağmen, bu hücrelerin çoğu canlı olmadığı için sıvıdan elde edilen hücrelerin % 20-35’i laboratuvar analizi için kullanılabilir (ACOG Committee Opinion, 1994). Bu hücrelerin yaklaşık %70’inin fetal membranlar ve trofoblastlardan orjin aldığı bilinmektedir. Geriye kalan canlı hücrelerin ise fetal cilt ve mesane, epiteloid hücreler, fibroz bağ doku, damar fibroblastları ve fibroblastik hücrelerden orjin aldığı düşünülmektedir. Amniyon sıvısında sitogenetik analiz için gerekli olan mitoz bölünme gösteren hücrelerin nadiren bulunması nedeni ile bu hücrelerin elde edilebilmesi için hücre kültürü yapılmaktadır (Coşkun, 2008).

Gebeliğin erken aylarında embriyo, kendisine koruyucu bir yastık görevi yapan bu sıvı içinde göbek kordonu ile asılı halde bulunur. Amniyon sıvısındaki su her 3 saatte bir

yenilenir. Bu yenilenme madde alışverişinin ne kadar fazla olduğunun göstergesidir (Sadler, 1993).

2.2. Genetik ve Kromozomal Anomalilerin Prenatal Taranması

Anormal kromozom yapısı perinatal mortalite ve morbiditeye yol açtığı gibi önemli oranda fetal kayıpla sonuçlanan gebeliklere de yol açabilir. Kromozom anomalilerinin % 50'si spontan abortusla sonuçlanırken bunların sadece % 5'i 28. gebelik haftasından sonra ölü olarak doğduğu vurgulanmıştır (Hook, 1998).

Gebeliğin 9 ile 14. haftalarında yapılan fetal karyotiplemede Down sendromu sıklığı doğumdaki Down sendromu sıklığından % 48-50 daha fazla görüldüğü bildirilmiştir (Snijders ve ark., 1995).

Gebeliğin ilerleyen dönemlerinde belli başlı olarak trizomi 13, 18, 21, cinsiyet kromozomu anomalileri ve yapısal düzensizlikler görülür. Anoploidinin bebek ve çocuk ölümlerinin %5-7'sinin ve gelişim gecikmelerinin %10'unun nedeni olduğu tahmin edilmektedir. Bu tahminler gelişmiş ülkelerde 1970'li yılların ortalarında toplanmış olan verilerden elde edilmiştir (Hook, 1998).

Down sendromu, uzun dönem morbidite riskiyle ilişkili olan en yaygın kromozom anomalisidir. Canlı doğanların 1.21/1000'inde görülmektedir. İntrauterin ya da doğumdan sonraki ilk beş yılda ölümcül olabilen trizomi 18 (0.15/1000) ve trizomi 13 (0.08/1000) ise daha az sıklıkla görüldüğü bildirilmiştir (Hook, 1998).

Prenatal tarama programlarının çoğu, Down sendromu tesbiti için kullanılmaktadır. Ancak bunun yanında infertilite ile ve bazen geç gelişimle de ilgili olabilen cinsiyet kromozomlarındaki anomalileri de belirlemektedir.

2.2.1. Down Sendromu

Otozomal anöploidi sendromlarının en yaygın görüleni olan Down sendromu (DS) klinik olarak ilk kez 1866 yılında J.Langdon Down tarafından tanımlanmış, kromozomal temeli olduğu ise 1959 yılında Lejeune ve arkadaşlarınca rapor edilmiştir (Young, 2005).

Trizomiler gametogenez sırasında oluşan "meiotic nondisjunction" (kromozom ayrılmasını) kaynaklanan 21. kromozomun trizomisi şeklindedir (regüler tip DS). Zigot oluştuktan sonra mitotik bölünmenin erken bir aşamasında nondisjunction gerçekleşirse mozaikizm ortaya çıkmaktadır. Trizomiden sorumlu mayotik hata olguların %90'ında maternal mayoz I evresinde oluşmaktadır. %1-2 sıklıkta görülen mozaik tipi postzigotik

mitotik hatalarla oluşurken, hastaların %3-4'ünü oluşturan translokasyon tipi de novo ya da ailevi taşıyıcılıklar sonucu ortaya çıkmaktadır (Başaran, 1999).

İnsanlarda en sık görülen ve en iyi bilinen trizomi grubu, trizomi 21 veya Down sendromudur. Trizomi 21, insanlardaki mental retardasyon dil ve hafıza problemleri gibi karakteristik fiziksel ve nöro-psikolojik bulgular eşlik eden en yaygın kromozom anormalliklerinden biridir (Hall, 2000). Down sendromu, orta düzeyde mental retardasyon (MR) ve multipl organ sistemlerinin değişik anomalileri ile karakterize genetik bir bozukluk olduğu belirtilmiştir (Gökçora ve ark., 1999). Zigotlarda DS'nun insidansı, canlı doğumlarda görülenden iki kat fazladır. Trizomi 21 gebeliklerinin yarıdan fazlası gebeliğin erken döneminde spontan abortus ile sonlanmakta ve olguların yaklaşık %20'si ise ölü doğum sonucu kaybedilmektedir (Forrester ve Merz, 2002; Hook, 1983). Yenidoğan canlı bebeklerde down sendromu görülme sıklığı 1/600 ile 1/800 arasında değişmektedir (Balcı, 1986).

En sık gözlenen kromozomal anomali olan Down sendromu insidansının ileri anne yaşı ile birlikte artması nedeni ile ileri anne yaşı, prenatal sitogenetik tanı için geleneksel bir endikasyon olmuştur. Ancak Down sendromlu bebeklerin % 80'i 35 yaşın altındaki annelerden doğduğu belirtilmiştir. (Youngs ve ark. 1991). 1984 yılında anne serumunda düşük Alfa Feto Protein (AFP) düzeyleri ile fetal Down sendromu arasındaki ilişkinin gösterilmesi genç anne (<35) popülasyonunda Down sendromu tarama protokollerinin oluşturulmasına bir başlangıç olduğu belirtilmiştir (Coşkun, 2008).

Mayoz sırasında oluşan nondisjunction ihtimalinin 35 yaşın üstündeki annelerde arttığı belirlenmesi ileri anne yaşının, doğum öncesi sitogenetik tanı için geleneksel ve vazgeçilemez bir kriter olmasını sağlamıştır. Amniyosentez sonunda işleme bağlı fetal kayıp ihtimali (1/200) bu yaş grubundaki Down sendromu riskine eşit ya da daha az olması nedeni ile amniyosentez 35 yaşın üzerindeki tüm gebelere uygulanmaktadır (Coşkun, 2008).

Down sendromu (DS) tanısı konan bir bebeğe sahip ebeveynlere bu durumun tekrarlama olasılığı olasılığı %1'dir. Bununla birlikte, translokasyon taşıyıcısı anne-babanın translokasyon tip down sendrom'lu bir çocuğu belirlendiği zaman, rekürrens için kısmen yüksek riske sahip oldukları söylenebilir (Levanda ve Jabs, 1999). 30 yaş altındaki anneden doğan DS' lu bir hastanın anne-babasının translokasyon taşıyıcısı olma olasılığı % 2, 30 yaş üzerinde % 0,3 olarak tahmin edilmektedir. Mozaik tipteki DS' lu çocuklarda postzigotik bölünme hatası sonucu normal ve trizomik hücre dizileri bir arada

bulunmaktadır (Bordson ve Leonardo, 1991). Mozaisizm, genellikle daha az ciddiyette bir fenotipe yol açar ve ortaya konması sıklıkla kolay değildir. Entellektüel yeterlilik, normal veya normale yakın durumdan ağır geriliğe kadar değişkenlik gösterebilir (Jones, 1997).

Down sendromu riski, maternal yaş dağılımı, prenatal tanı kullanımı, gebeliğin elektif sonlandırılması ve sitogenetik analizler gibi faktörlere bağlı olarak ırk ve etnik gruplar arasında farklılıklar gösterebilir (Sava ve ark., 2006).

Down sendromlu tüm bireyler kromozom 21'in bir parçası veya tamamının üç kopyasına sahiptirler. Klinik olarak benzer bulgular göstermekle birlikte, sitogenetik incelemeler vakaların %95'inin klasik, %4'ünün Robertsonian ve %1'inin ise mozaik olduğunu göstermektedir (Jyothy, 2001). Robertsonian tip translokasyonlar translokasyon tip DS'nun en sık nedenlerindedir. En sık 14q ile 21q arasındaki translokasyona [t(14q 21q)] rastlanmaktadır (Mokhtar, 2003). Translokasyonların yarıdan fazlası gametogenez sırasında "de novo" olduğu bildirilmiştir. Bu durumda anne-babanın karyotipi normal olduğundan yinleme riski önemli oranda artmamaktadır. Diğer durumda ise anne-babadan biri dengeli translokasyon taşıyıcısıdır ve yinleme riski önemli oranda artmaktadır. Translokasyon DS'nun, otuz yaşından küçük annelerin bebeklerinde daha sık görüldüğü bildirilmiştir (Jyothy, 2002).

Stene ve arkadaşları (1977) yaptıkları bir araştırmada, anne yaşından bağımsız olarak baba yaşının ileri olmasıyla DS arasında da bir ilişki olduğunu öne sürmüş, 55 yaş baba için kritik yaş kabul etmiş ve bu yaş sonrası oluşan gebeliklerde DS sıklığında anlamlı bir artma olduğunu söylemişlerdir (Stene ve Fischer, 1977). Buna karşılık Cross ve arkadaşları 15 yıllık çalışma sonuçlarının DS sıklığına baba yaşının bir etkisinin bulunduğunu göstermekten uzak olduğunu rapor etmişlerdir (Cross ve Hook, 1987).

Yapılan tespitlerde down sendromunun fenotipinin çoğuna sebep olan defektin 21 nolu kromozom bölgelerinin uzun kolun distal bölümünde q21.1, q22.2 ve q22.3 bantlarında olduğu tespit edilmiştir. Bu bölgeler sendromun yüz özellikleri, kalp defektleri ve zeka geriliği ile ilişkilidir. 21q22 bandı üzerinde DSCAM (Down Syndrome Cell Adhesion Molekule) izole edilen bu molekül immunglobulin süperailisinin bir üyesidir. Ayrıca immunsistem ve nörolojik sistem için önemli olan Cu-Zn süperoksit dismutaz (SOD-1), interferon reseptörleri, protein s-100 gibi proteinler 21. kromozom tarafından kodlanmaktadır. Bu molekülün aşırı ekspresyonu ritmik düzensizliğe, bu durum T hücresinde fonksiyonel yetersizliğe yol açar. Böylece DS' nda enfeksiyonlara yatkınlık,

yüksek oranda malignit ve otoimmün olaylara rastlanır (Yamakawa ve ark., 1998; Sustrova ve Sarkova, 1997).

Down sendromlu çocuklarda sık görülen otoimmün durumlardan bir tanesinde hipotiroittir. Bu hastalarda normal tiroid fonksiyonlu hastalara göre gelişim geriliğinin fazla olduğu tespit edilmiştir. Çölyak hastalığında down sendromlu hastalarda sık görüldüğü ve önemli bir gelişme geriliği sebebi olduğu bilinmektedir. Bu hastalarda ayrıca diabet, hemolitik anemi, hipoparatroidizm, adrenal disfonksiyon, pemisiyoz anemi, kronik aktif hepatit ve vitiligo gibi hastalıklarda sık gözlenmektedir (Balcı, 1997).

Ayrıca down sendromlu bireyler erken yaşlanmaktadır. Alzheimer tipi bu erken yaşlanmanın gelişiminin 21 nolu kromozom üzerindeki amiloid prekürsör proteininin varlığı ile ilgili olduğu ileri sürülmektedir. Erken yaşlanmanın delilinde artritin sık ve erken gelişmesidir (Adams ve Victor, 1997; Hates ve Batshaw, 1993).

2.2.2. Nöral Tüp Defekti

Beyin ve omuriliğin geliştiği nöral tüp, fetal yaşamın ilk dört haftasında oluşur. Henüz tam olarak nedeni bilinmeyen ancak genetik ve çevresel etmenlerin birlikte rol oynadığı düşünülen bazı durumlarda nöral tüp, oluşumunu tamamlayamaz ve anensefali, ensefalosel, meningosel, miyelosel, spina bifida, gibi nöral tüp defektleri (NTD) olarak adlandırılan ciddi doğumsal anomaliler oluşur. Anensefalili bebekler doğumdan kısa bir süre sonra ölürlür. Diğer NTD'liler, yaşam boyu sürecek ciddi sakatlıkların nedenidir. Getirdiği manevi yükün yanısıra, NTD'li bir çocuğun tüm yaşam boyu bakımının topluma maliyetinin ABD'de yaklaşık 532.000 dolar olduğu hesaplanmıştır (Demir, 2008).

Von Recklinghausen (1886)'a göre açık NTD'nin mekanizması embriyonik nöral tüp kapanmasındaki durmadır. Morgagni (1769), ise artmış serebrospinal sıvı yapımına bağlı olarak gelişen artmış intraventriküler basıncın kapanmış nöral tüpün tekrar açılmasına neden olabileceğine inanmıştır (Padmanabhan, 2006).

Nöral tüp defekti, gestasyon süresince değişik zamanlarda oluşan beyin ve spinal kordun konjenital malformasyonlarıdır. İnsanda nöral doku, embriyonal dönemde 20. gün civarında embriyonun dorsal ektoderminden gelişen nöral oluk ve ardından nöral tüp şeklinde biçimlenmeye başladığı bu sürece nörolasyon denir. Nöral tüp gelişimi sırasında oluşan kapanma defektleri nörolasyon defektleri, daha sonra oluşanlar ise postnörolasyon defektleri olarak sınıflandırılırlar (Demir, 2008).

Nöral tüp defekti gelişimde tek gen anomalisi ya da kromozom sayısında anormallikten ziyade multifaktöriyel bir genetik altyapı daha önemli gözükmektedir.

Birçok genetik ve çevresel faktör kranial ya da spinal disrafizm gelişiminde ortak rol alırlar.

Nöral tüp defekti riski genel toplumdan fazla olan hastalar:

- 1.Daha önceden bir ya da daha çok nöral tüp defektli çocuk sahibi olan anneler,
- 2.Daha önceki evliliğinden nöral tüp defektli çocuk sahibi olan babalar,
3. Kendilerinde spina bifida olan ebeveynler,
- 4.Akrabalarında spina bifida olan ebeveynler şeklinde sıralanabilir.

Nöral tüp defektine neden olan sebepler farklı mekanizmalar ile etki gösterilebilir. Örneğin gelişmede duraklama oluşturarak, yapısı ya da fonksiyonu bozuk gelişmeye neden olarak ya da oluşan yapıların yıkılmasını engelleyerek bu hastalığı oluşturduğu bildirilmiştir (Lemire, 1974).

Nöral tüp defektinin coğrafi bölgeye, ebeveynin sosyoekonomik durumuna, mevsimsel değişikliklere göre farklı insidans gösterdiği açıklamıştır. Nöral tüp gelişiminin kritik aşamalarında gen-çevre etkileşimi rol oynayabilmektedir. NTD üzerinde yapılan epidemiyolojik ve deneysel çalışmalarda X-ışını, stres gibi fiziksel ajanların; alkol gibi madde bağımlılığının; civa ve kurşun gibi kimyasal ajanların, fenilketonüri, diabet ve kretinizm gibi maternal metabolik durumların merkezi sinir sisteminde konjenital malformasyonlara neden olabileceği saptanmıştır (Committee on Developmental Toxicology, 2000; Shepard ve ark., 2002; Ray ve ark., 2004).

Ebeveyni hemşire, içki ve gıda üretimi çalışanı, çiftçi, tekstil boyama ve deri endüstrisi çalışanı, tarım ilacı uygulayıcısı olanlar; organik solventler, anestezi ajanlar, sterilizan maddeler, viruslar, pestisidler, boyalar ve X-ray nedeniyle NTD açısından yüksek riskli olarak bildirilmişlerdir (Shaw ve ark., 2002; Blanco ve ark., 2005).

Erken gebelikte alkol alımının NTD ile ilişkisi olduğu bilinmektedir. Alkolün fetus üzerine doğrudan sitotoksik etkisi vardır, dolaylı olarak kötü beslenmeye de yol açar, böylece bazı vitamin ve mineral eksikliklerine zemin hazırlar. Kronik alkol alanlarda kanda, karaciğer ve eritrositlerde çinko düzeyi düşük bulunurken; tiamin, folik asit, B12 vitamini eksikliklerinin de sık olduğu bildirilmiştir (Sencer, 1987).

Sosyoekonomik düzeyi düşük gruptan gelen kadınlarda NTD insidansının daha yüksek olması, olanakları daha az olan kadınların muhtemelen daha yetersiz beslendiğini düşündürmektedir. Alım gücünün azalmasının seçilen besinin kalite ve kantitesini

etkileyeceğine şüphe yoktur. Smithells ile Laurence (1985) yaptıkları pek çok çalışmada yetersiz beslenme ile NTD arasında bir ilişki olduğunu, aynı zamanda diyetel alışkanlıkların düzeltilmesi halinde NTD rekürrens riskinin azaldığını göstermişlerdir (Laurence, 1985).

Retrospektif pek çok çalışma, etkilenen bebeklerin annelerinin daha düşük kaliteli diyetle beslendiklerini göstermiştir. Ayrıca konsepsiyon zamanı kış veya erken ilkbahar aylarına tesadüf eden bayanlarda NTD'nin daha sık görülmesi, bu mevsim taze yiyeceklerdeki dengesizliği ve turfanda yiyeceklerin pahalılığını akla getirdiğinden, sosyo-ekonomik düzey (SED) ile beslenmenin ilişkisini tekrar ortaya koymaktadır (Lemire ve Siebert, 1996). Son yıllarda bazı vitamin eksikliklerinin üzerinde durulmakta, özellikle folik asit eksikliği vurgulanmaktadır. Eser elementlerden iyot eksikliği, çinko ve kadmiyum eksikliği veya fazlalığı, demir ve manganez eksikliği, bakır ve krom fazlalığı üzerinde durulmuştur. Özellikle çinko eksikliğinin rolü olabileceği ileri sürülmüştür (Kurdoğlu, 1989).

Folik asit nükleik asit sentezinde önemli bir role sahiptir. Folat homosisteinin metiyonine dönüflmesin-deki ko-faktörlerden biridir. Metiyonin; gen regülasyonu, doku gelişim ve büyümesi için gerekli olan metil grubunu sağlar. Ayrıca nükleik asit yapımı için gereklidir. Folat eksikliğinin metabolik sonucu olarak kan homosistein düzeyi artar ve metiyonin seviyesi azalır. Daha önceki gebeliğinde NTD ile komplike olmuş gebe bayanlarda konsepsiyondan önceki ay ve birinci trimester boyunca 4 mg folik asit alımı, % 3 olan NTD rekürrens riskini %72 azaltır.

Solunan havadaki polivinil klorür (Padmanabhan, 2006) ve atık çöp sahalarına özellikle 3 km'den daha yakın olan yerleşim alanlarındaki kirli hava ve suya maruz kalmanın olumsuz sonuçları bildirilmiştir (Vrijheid ve ark., 2002; Morris ve ark., 2003). Ayrıca karbon tetra klorür, trikloretilen ve benzenle kontamine içme sularına maternal maruziyet ile NTD ve majör kardiak defekt riskinin arttığı bildirilmiştir (Padmanabhan, 2006).

Radyasyon, hücre ölümü ve mitotik gecikmeye yol açar. Gebelikte radyasyona maruz kalan kadınların bebeklerinde büyüme geriliği ve santral sinir sistemi malformasyonları bildirilmiştir. Hiroşima'da radyasyondan etkilenen fetuslarda mikrosefali, büyüme geriliği ve mental retardasyon görülmüştür (Beckman ve Brent, 1986). Bursa'da yapılan bir araştırmada, 1987 yılının ilk ayında NTD insidansında 20/1000' ye

çıkan bir artış saptanmıştır. Bu artışta muhtemelen 1986 Mayıs ayında gerçekleşen Çernobil Faciasının etkili olduğu düşünülmektedir (Akar ve Çavdar, 1988).

Artmış vücut ısısının proliferasyon, migrasyon, differansiyasyon ve apoptoz gibi pek çok kritik hücresel gelişim evresini etkilediği gözlenmektedir (Edwards ve ark., 2003). İnsan embriyosunda da nöral tüpün ısıya karşı hassas olduğu da bildirilmiştir (Moretti ve ark., 2005).

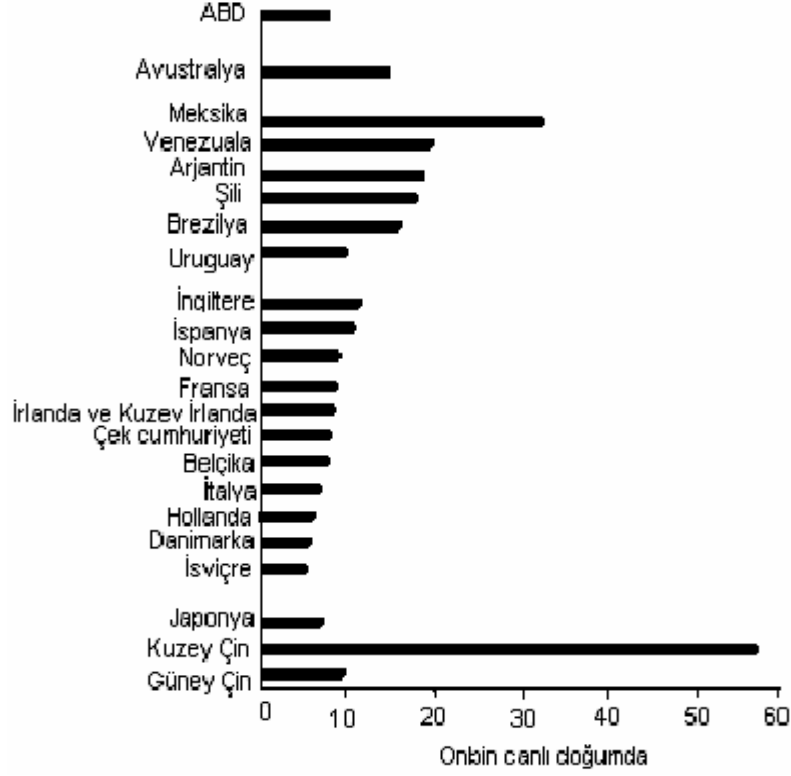
NTD gelişiminde etkili olan çevresel faktörlerden en çok üzerinde durulanlar; beslenme yetersizliği, çinko eksikliği, vitaminler özellikle folik asit eksikliğidir (Demir, 2008).

NTD oluşumunda anne yaşının çok küçük bir risk teşkil ettiği düşünülmektedir. Bu riskin çok genç ve yaşlı annelerde daha fazla olduğu görülmüştür. Annenin gebelik sayısında NTD oluşumunda etkili olabileceği, 3 ya da daha fazla gebeliği olanların ve pirimiparların NTD'ne hafif bir yatkınlıkları olduğu belirlenmiştir (Frey, 2003). Siyah ırkta beyazlara göre daha az görülür ve kız bebeklerde erkeklere göre iki kat daha fazla rastlanır (Brocklehurst, 1976; Thompson ve Rudd, 1976).

Ülkemizde her yıl yaklaşık 5000 çocuk bu hastalıkla doğmaktadır (Tunçbilek ve ark., 1999).

NTD'nin epidemiyolojisi değişik ülkelerde, değişik coğrafi bölgelerde ve farklı ırklarda farklı olduğu bildirilmiştir. Daha önce NTD'li çocuğu olan çiftlerin ikinci çocuklarında NTD görülme olasılığı %2-3 olarak belirtilmektedir (Turan ve ark., 2000). Dünya genelinde ortaya konan çalışmalara göre NTD sıklığı %0.57 ile %13.87 arasında bulunmuştur (Nikkila ve ark., 2003; Li ve ark., 2006). Amerika birleşik devletleri'ndeki İspanyollarda diğer İspanyol olmayan beyazlara ve zencilere göre NTD daha sık görülmektedir. Dünyada insidansın en yüksek olduğu bölgeler, Çin'in kuzey bölgesi %13.87 (Li ve ark., 2006), Hindistan %6.5-8.21 (Cherian ve ark., 2005) olarak dikkati çekmiştir. Komşularımızdan İran'da %2.87 (Golalipour ve ark., 2007), Yunanistan'da %1.45 olarak verilmiştir (Lekea ve ark., 1988). Amerika Birleşik Devletleri'nde beyazlar arasında %1.48 siyahlarda %0.87 (Stevenson ve ark., 2000), Birleşik Arap Emirlikleri'nde %1.23 (Samson, 2003), Avustralya yerlilerinde %2.56, Avustralya'ya sonradan yerleşen göçmenlerde %1.29 olarak bulunmuştur. Avustralya yerlilerinde göçmenlere göre iki kat daha fazla NTD görülmesi yerlilerin prekonsepsiyonel dönemde folik asit desteğine ve folik asitle takviye edilmiş yiyeceklere daha az ulaşmalarına bağlanmıştır (Bower ve ark., 2004). Diğer Avrupa ülkelerine göre NTD sıklığı çok yüksek olan İngiltere ve Kuzey

İrlanda'da 1980 lerde %4,5 olan nöral tüp defekti sıklığı yıllar içinde azalmış, 2000 yılında %1'e yakın olarak bulunmuştur (Busby ve ark., 2005). En düşük NTD sıklığı bildiren ülke %0.58 İsviçre olmuştur (Nikkila ve ark., 2006). Dünyanın çeşitli bölgelerindeki NTD sıklığı tablo 2.3. de verilmiştir (Botto ve ark., 1999).



Tablo 2.3: Dünyanın çeşitli bölgelerindeki NTD sıklığı (Botto ve ark., 1999)

2.3. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde bir veya birden fazla paylaşılmamış (eşleşmemiş) elektron taşıyan atom veya moleküllerdir. Paylaşılmamış elektrondan dolayı stabil olmayan, oldukça reaktif, çok kısa yarı ömürlü maddelerdir. Hücrenin tüm bileşenleri ile kolayca etkileşebilme özelliğine sahiptirler (Halliwell ve Gutteridge, 2001).

Serbest radikallerin biyolojik ortamlardaki türleri Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygene species - ROS) ve Reaktif Nitrojen Türleri (Reactive Nitrogene Species - RNS)' dir. Bunlardan ROS; oksijen radikallerini ve radikal olmayan reaktif oksijen türevlerini kapsayan genel bir terimdir. Aynı şekilde RNS'ler de, fizyolojik önemi olan serbest radikal türleridir (Darley ve ark., 1995). Yüksek konsantrasyonlarda serbest radikaller ve radikal türevi, radikal olmayan reaktif türler; canlı organizmalar için tehlikelidir ve tüm hücre yapılarına hasar verir. Bununla birlikte, düşük konsantrasyonlarda nitrik oksit, süperoksit anyonu ve reaktif oksijen türleri sinyal iletiminde düzenleyici medyatör olarak

önemli rol oynarlar. ROS'nin aracılık yaptığı birçok cevap, aslında hücreleri oksidatif strese karşı korur, redoks homeostazını yeniden oluştururlar (Dröge, 2002).

2.3.1. Reaktif Oksijen Türleri

Oksijen, insan yaşamı için hem temel hem de toksik bir elementtir. Serbest radikallerin temel kaynağı moleküler oksijendir. Oksijen molekülü reaktif olmamasına rağmen diğer radikallerle reaksiyona girme özelliğine sahiptir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere “**oksidan moleküller**” veya **reaktif oksijen türleri (ROS)** denir. Moleküler oksijenin indirgenmesi sonucunda süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türleri oluşur. Serbest oksijen radikalleri endojen olarak vücutta sentezlenen metabolik yan ürünlerdir. Vücutta normal veya patolojik olarak serbest radikaller üretilir. Bu ürünler hemen sentez edildikleri yerde detoksifiye edilmezler ise zararlı etkilerini oluştururlar (Halliwell ve ark., 1992).

Serbest oksijen radikalleri veya ROS birçok kompleks hastalığın (ateroskleroz, metabolik sendrom gibi) patogenezinde yer aldığı bildirilmiştir (Halliwell ve ark., 1992; Cheeseman ve Slater, 1993). Serbest radikaller membran enzimlerine ve reseptörlerine kovalent bağlanarak onların antijenik özelliğini ve taşıma fonksiyonunu bozar, poliansatüre yağ asidi/protein oranını değiştirirler. Serbest radikal oluşumu lipid peroksidasyonu ile başlar ve zar yapısında yer alan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olur. Lipid peroksidasyonuna bağlı olarak organellerde fonksiyon bozukluğu oluşur, lizozomal fragilite artışı ile mikrozomal enzimlerde değişiklikler oluşur ve sonuçta hücre ölümü gerçekleşir. Serbest oksijen radikalleri özellikle hücre zarında hasara yol açarak lipid geçirgenliğini artırır ve lipoproteinlerin kana geçişine neden olur. Bu durum monosit ve makrofajların damar duvarına geçişini arttırarak aterogenezi hızlandırır. Serbest oksijen radikalleri damar düz kas hücrelerinin büyüme ve çoğalmasını uyarır, kovalent bağları etkileyerek protein, nükleik asit ve lipidlerin yapı ve fonksiyonlarını bozar ve organizmada pek çok türde ROS oluşabilir (Cheeseman ve Slater, 1993; Cheeseman, 1992; Basaga, 1997).

ROS'ların düzeyi, yaşlanma süreci ile paralel bir artış gösterir. Glukoz gibi maddeler ROS'ni oluşturacak şekilde proteinlerle reaksiyona girerler. Diabetik hastalarda uzun süre yüksek kan glukozuna maruziyet yan etkileri kolaylaştırıcı "oksidatif stress" oluşumuyla sonuçlanır (Gutteridge, 1995).

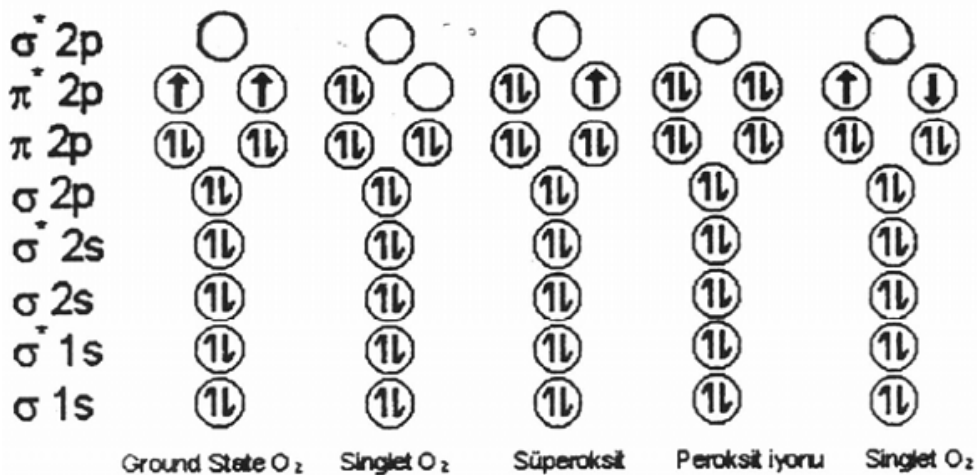
Radikal olan ve olmayan reaktif türleri tablo 2. 1' de özetlenmiştir (Yeum ve ark., 2004).

Tablo 2. 1: Reaktif oksijen Türleri.

Reaktif Türleri	
Radikal	Non-Radikal
Hidroksil ($\cdot\text{OH}$)	Peroksinitrit (ONOO^-)
Alkoksil ($\text{L(R)O}\cdot$)	Hipoklorit ($\cdot\text{OCl}$)
Hidroperoksil ($\text{HOO}\cdot$)	Hidroperoksit (L(R)OOH)
Peroksil ($\text{L(R)OO}\cdot$)	Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)
Nitrik oksit ($\text{NO}\cdot$)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Süperoksit (O_2^-)	Ozon (O_3)

Canlı organizma için önemli olan yapıları, fiziksel ve kimyasal özellikleri, hücrel kaynakları, rol oynadıkları tepkimeler ve etkileri ile çeşitli klinik durumların patogeneğinde rol oynayan serbest radikaller, atomik yörüngelerinde eşleşmemiş elektron bulundurarak, bağımsız olarak varolabilen moleküllerdir. Eşleşmemiş elektronun kazandırdığı en önemli özellik birçok radikal ile bu elektronun paylaşılabilmesidir (Dormandy, 1983; Kaynak, 2002; Halliwell ve Gutteridge, 1989).

Serbest radikallerin en önemli tepkimeleri, moleküler oksijen ve onun reaktif türlerinin olduğu tepkimelerdir. Şekil 2.1’de oksijenin orbital yapısı ve oluşan reaktif türleri belirtilmiştir (Zwart ve ark., 1999).



Şekil 2.1. Oksijen molekülünün orbital yapısı (Zwart ve ark., 1999).

Demir, bakır, mangan, molibden gibi geçiş metalleri de dış yörüngelerinde birer elektron taşımalarına rağmen radikal karakter göstermezler. Serbest radikal kabul edilen

atom ve moleküller elektron dağılımlarının yanı sıra termodinamik yapıları ve lokal kinetik reaktiviteleri ile değerlendirildiği belirtilmiştir (Aslan ve ark., 1995; Byung, 1994).

Antioksidan ise; okside olabilen substrata göre ortamda daha az derişimde bulunan ve bu substratın oksidasyonunu belirgin şekilde geciktiren veya engelleyen madde olarak tanımlanabilir. Bu tanıma göre antioksidanların fizyolojik rolü, serbest radikalleri içeren kimyasal tepkimelerin sonucunda hücrenel bileşenlere gelebilecek zararı önlemektir (Young ve Woodside, 2001).

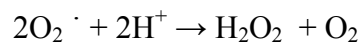
2.3.2. Süperoksit Radikali (O₂^{·-})

Oksijenli ortamda yaşam, oksidatif fosforilasyon ile ATP üretimi açısından önemli ölçüde yarar sağlarken bazı tehlikeleri de beraberinde getirir. Oksidatif fosforilasyonun ana bileşeni olan oksijene bir elektron eklenmesi ile süperoksit radikali oluşur (Kurutaş ve ark., 2004).

Süperoksit radikali serbest radikal olmasına karşın reaktifliği yüksek değildir. Kendiliğinden, özellikle elektronca zengin bir ortam olan iç mitokondri zarında solunum zinciriyle birlikte oluşur. Süperoksit ayrıca iskemi-reperfüsyonda aktive olan ksantin oksidaz gibi flavoenzimlerce endojen olarak da oluşturulur. Lipooksijenaz ve siklooksijenaz ise diğer süperoksit oluşturan enzimlerdir (Zimmerman ve Granger, 1994; Kontos ve ark., 1985; McIntyre ve ark., 1999).

Süperoksit ayrıca yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar gibi fiziksel ve kimyasal ajanlar ile bazı bileşiklerin otooksidasyonunda ve fagositozda oluşur (Oruç, 1998). Süper oksit kimyası çözelti ortamına bağlı olarak farklılıklar gösterir. Süperoksit sulu çözeltide askorbik asit, tiyol gibi molekülleri oksitleyebilen zayıf bir oksitleyici ajandır. Bunun yanında süperoksit güçlü bir indirgeyici ajan olup sitokrom-C ve ferrik-EDTA gibi çeşitli demir komplekslerini indirgeyebilir (Gutteridge, 1995).

Süperoksit, hidrojen peroksit ve moleküler oksijenin oluştuğu dismutasyon tepkimesinden dolayı sulu ortamda hızlıca kaybolur. Diğer taraftan SOD enzimiyle katalizlenen dismutasyon tepkimesi ise spontan dismutasyondan 10⁹ kat daha hızlı olduğu vurgulanmıştır (Hinder ve Stein, 1991).



Oksijen molekülü, orbitalinde çiftlenmemiş elektron taşıyorsa süperoksit radikali olarak adlandırılır. Normal oksijenden çok daha hızlı bir biyolojik molekül olan singlet

oksijen molekülü yapısında iki adet çiftlenmemiş elektron taşır. Singlet oksijen hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksitlerin oluşumuna yol açar. Serbest radikallerin yol açtığı hücre hasarının derecesi hücre içindeki koruyucu sistemlerin etkinlik derecelerine bağlıdır (Gutteridge, 1995; Garg ve ark., 2000; McCord, 1993). İskemi, hemoraji, travma ve radyoaktivite gibi durumlarda mitokondrilerdeki aerobik oksidatif fosforilasyon dengesi etkilenir ve elektron taşıma sisteminden elektron kaçakları daha fazla olur ve ROS düzeyi artar. O₂⁻ nötrofillerin bakterisidal aktivitesi, apoptozis, inflamasyon ve vasküler fonksiyonların regülasyonu gibi yararlı etkilere sahiptir (Sorescu, 2002; Kalinowski ve Malinski, 2004).

2.3.3. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Hidrojen peroksit, membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir, fakat çiftlenmemiş elektrona sahip olmadığından radikal olarak adlandırılmaz. Hidrojen peroksit serbest radikal olmamasına karşın biyolojik zarlara nüfuz edebilmesi ve daha reaktif oksijen türlerinin yapım aşamasında aldığı rolden dolayı önemlidir. Diğer bir önemli işlevi ise hücre içi sinyal molekülü olarak görev yapmasıdır (Nordberg ve Arner, 2001).

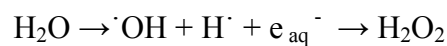
Hidrojen peroksit; süperoksit radikalının dismutasyon tepkimesi sonucu oluşur. Ürat oksidaz, glukoz oksidaz, d-aminoasit oksidaz gibi birçok enzim oksijene iki elektron transfer ederek direk hidrojen peroksit oluşturabilirler (Halliwell ve Gutteridge, 1984).

Hidrojen peroksitin redoks özelliği ve geçiş metalleri varlığında yüksek reaktif serbest radikalleri oluşturmasına karşı vücut, savunma sistemi geliştirmiştir. İstenmeyen hidrojen peroksit, katalaz, glutatyon peroksidaz ve diğer oksidazlar ile hücreden uzaklaştırılır (Gutteridge, 1995).

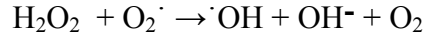
2.3.4. Hidroksil Radikali (·OH)

Hidroksil iyonu, bilinen en reaktif radikaldır. Amino asitler, nükleik asitler, organik asitler ile reaksiyona girebilir. Tek atom halinde ve bir elektronu eksik olan oksijen ile H⁺ in birleşmesinden oluşur (Sydow ve Münzel, 2003).

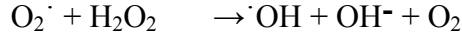
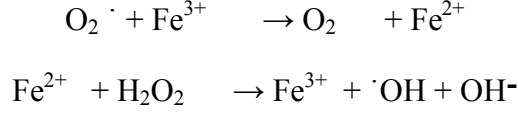
Hidroksil radikalının major oluşumu suyun yüksek enerji ile iyonizasyonudur.



Hidrojen peroksit ise süperoksit ile tepkimeye girerek en reaktif ve zarar verici serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali oluşturmak üzere kolaylıkla yıkılabilir.



Bu tepkimeye Haber-Weiss tepkimesi denir ve tepkime katalizörsüz ortamda oldukça yavaşken, demirin katalizörlüğünde çok hızlıdır.



Katalizörlü tepkimede demir önce ferrik formdan (Fe^{+3}) süperoksit ile ferröz forma (Fe^{+2}) indirgenir. Ferröz form Fenton tepkimesi ile ferrik forma tekrar yükseltgenirken $\cdot\text{OH}$ ve OH^- üretilir (Akkuş, 1994; Gutteridge, 1995).

2.3.5. Singlet Oksijen ($\text{O}_2\uparrow\downarrow$)

Oksijenin uyarılmış şekline ‘singlet oksijen’ denir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türüdür. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir. Bilirubin, karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilmektedir (Raha, 2000).

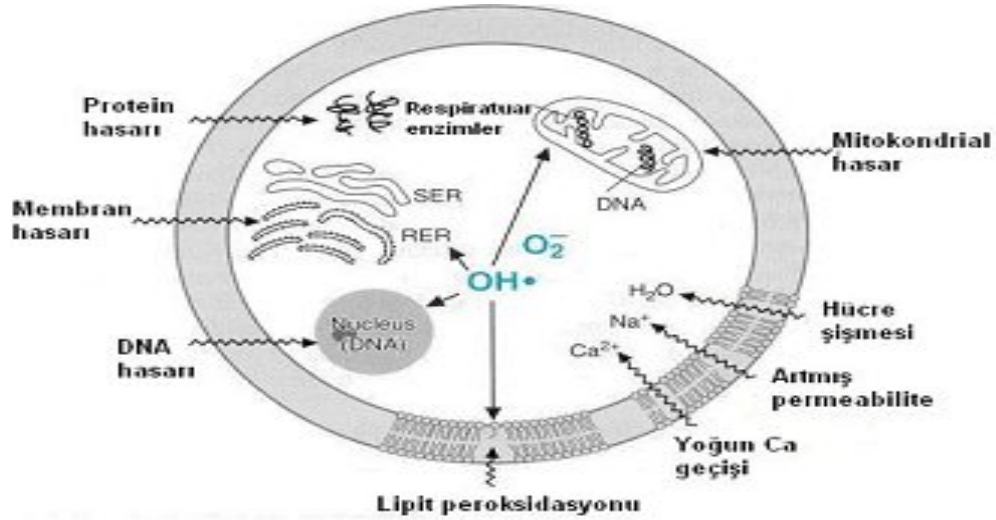
Singlet oksijen eşleşmemiş elektron içermediği için serbest radikal değildir. Bununla birlikte dönme yönlerinin farklılığından dolayı oksijenin yüksek reaktif formudur (Şekil 2.1) (Gutteridge, 1995).

Moleküler oksijende paylaşılmamış iki dış elektron aynı yönde, ayrı yörüngelerdedir. Singlet oksijende ise elektron dönme yönleri birbirine zıttır ve oluşturdukları delta veya sigma formuna göre aynı veya ayrı yörüngelerde bulunurlar. Aynı yörüngede ise delta singlet oksijen, ayrı yörüngelerde iseler sigma singlet oksijen formu oluşur. Sigma formu delta formuna göre daha enerjetik olup kolayca delta formuna dönüşebilir (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Ünal, 1999).

2.4. Hücrelerde Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri

Serbest radikal reaksiyonları, normal koşullarda bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır.

Serbest radikaller hücre içinde antioksidan kapasiteyi aşan yüksek konsantrasyonlarda oluştukları zaman; başta lipitler olmak üzere, protein, DNA, karbonhidratlar ve enzimler olmak üzere birçok molekülle reaksiyona girdikleri belirtilmiştir (Bonney ve ark., 2002). Bu reaksiyonlar sonucunda enzimlerin normal fonksiyonlarını, aerobik solunumu, kapiller permeabiliteyi bozup hücrenin potasyum kaybını artırır. Hücre içindeki birçok litik enzimi aktif hale getirirler, bazı savunma sistemlerini inaktive ederler. Trombosit agregasyonunu artırır, dokularda fagosit toplanmasını kolaylaştırır (Iuliano ve ark., 1997). Son yıllarda yapılan çalışmalar, serbest oksijen radikallerinin ve lipit peroksidasyonunun artmasının birçok hastalığın patogenezinde rol oynadığını göstermektedir. Serbest radikallerin damar endotel hücrelerinde hasar yaparak vasküler hastalıklara neden olduğu da vurgulanmaktadır (Halliwell, 1993).



Şekil 2.2: Lipit peroksidasyonu.

Esansiyel hipertansiyonun patofizyolojisinde bazı oksidatif stres parametrelerinin yüksek olduğu ve kan basıncı yüksekliği ile kuvvetli bir ilişkisi olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Rodrigo ve ark., 2007; Kashyap ve ark., 2005).

Miyokard enfarktüsü, bazı nörolojik hastalıklar, astım, romatoid artrit, kanser ve obezite dahil birçok hastalığın oksidatif stres ile ilişkisi gösterilmiştir (Dröge, 2002). Ayrıca, hiperglisemi nedeniyle meydana gelen oksidatif stres retinopatiye neden olabilir (Yülek ve ark., 2007). Serbest radikallerin ayrıca yaşlanmada da rolü vardır (Burçak ve Andican, 2004).

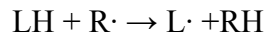
Serbest oksijen radikallerinin sinyal transdüksiyonuna etkileri sonucunda; apoptosis, proliferasyon, transformasyon ve farklılaşma gibi çeşitli hücrel olaylar etkilenmektedir (Rahman, 2003).

2.4.1. Serbest Radikallerin Lipit Yapılara Etkileri

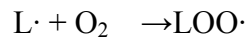
Serbest radikallerin biyolojik dokulardaki doymamış yağ asitlerine etkileri lipit peroksidasyonu olarak bilinir. Biyolojik zarların yapısı lipit ve proteinden oluşmaktadır.

Lipit peroksidasyonu lipitlere olduğu kadar zar proteinlerine de zarar verebilir. (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Lipit peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) reaktif oksijen türleri tarafından peroksitler, alkoller, malondialdehit, etan ve pentan gibi ürünlere yıkılma tepkimelerine denilmektedir. Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonrasında açığa çıkan ürünler zar geçirgenliğini ve akışkanlığını ciddi şekilde etkileyip hücre ve organel içeriklerinin ayrılmasına neden olan kopma ve kırılmalara yol açar. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen zar hasarının geri dönüşümsüz olduğu belirtilmiştir (Kurutaş ve ark., 2004; Gutteridge, 1995).

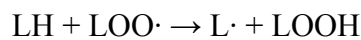
Zincir reaksiyonu şeklinde olan lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan radikal etkisiyle çoklu doymamış yağ asitleri üzerindeki metilen grubundan bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bu reaksiyon başlangıç reaksiyonu olarak isimlendirilir. Hidrojen atomu uzaklaşması ile karbon atomu üzerinde eşleşmemiş elektron kalır ve bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipit radikali ($L\cdot$) niteliği kazanır.



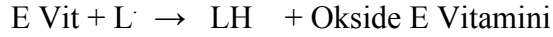
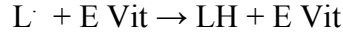
Oluşan lipit radikalının molekül içi çift bağlarının pozisyonunun değişmesiyle konjuge dienler oluşur. Bir alkenin iki çift bağı arasında bir tane tekli bağ varsa bu yapı konjuge dien olarak isimlendirilir. Bu şekilde moleküler düzenleme sağlanmış olur. Lipit radikalının moleküler oksijen ile etkileşmesi sonucu lipit peroksil radikali ($LOO\cdot$) oluşur.



Peroksil radikali diğer komşu yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşmasına neden olurken kendisi de açığa çıkan hidrojen atomunu alarak lipit hidroperoksitlerine ($LOOH$) dönüşür. Böylece peroksidasyon başladıktan sonra kendi kendine yayılabilmekte ve çok sayıda yağ asidi zinciri lipit hidroperoksitlerine dönüşebilmektedir. Bu tepkime ilerleme reaksiyonu olarak isimlendirilir (Kurutaş ve ark., 2004; Gutteridge, 1995; Özkan ve Fışkın, 2004; Soderger, 2000; Abuja, 2001).



Oldukça kararlı olan lipit hidroperoksitleri lipit peroksidasyonunun ilk ürünüdür. Lipit peroksidasyonunun sürekli olarak devam ettiği durumlarda E vitamini gibi zincirleme tepkimeyi sonlandırıcı bir antioksidan ile lipit peroksidasyonu sonlanabilir (Thomas, 2000).



Geçiş metalleri varlığında lipit hidroperoksitleri bu metallerin redoks döngüsüyle birlikte lipit peroksidasyonunu başlatabilecek radikallerin oluşumuna neden olabilirler.

Lipitlerden araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine “enzimatik lipit peroksidasyonu”, diğer radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna ise “non-enzimatik lipit peroksidasyonu” denir (Akkuş, 1995).

Lipit peroksidasyonunun son bileşeni olan malondialdehit (MDA) peroksidasyona uğramış çoklu doymamış yağ asitlerinin bölünmesiyle oluşan üç karbonlu bir dialdehidtir ve oksidatif durumun göstergesi olarak yaygın kullanılır. Bu dialdehid biyolojik ortamda makromoleküllerin NH₂ ve/veya SH gruplarına bağlı veya serbest olarak bulunur. Oluşan MDA; deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi zar özelliklerinin değişmesine yol açtığı vurgulanmıştır (Kurutaş ve ark., 2004; Cighetti ve ark., 2007). Tüm biyomoleküller içinde serbest radikallerden en fazla etkilenen yapı, lipitlerdir. Membranlarda bulunan kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle çok çabuk reaksiyona girerler. Doymamış yağ asitlerinin oksidatif yıkımı lipit peroksidasyonu olarak bilinir. Lipit peroksidasyonu çok zararlı bir reaksiyondur; çünkü kendi kendini devam ettiren bir zincir reaksiyonu şeklinde devam eder. Lipit peroksidasyonu sırasında, karbon bağlarının kopması ile aldehid yapısında yıkım ürünleri ortaya çıkarmaktadır.

2.4.2. Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinler; oksidan veya diğer serbest radikallerin özellikle daha hassas olan amino asitlerle etkileşime girmesi sonucunda doğrudan zarar görebilirler. Protein fonksiyonu için kritik olan yapısal bazı amino asitler, radikal hasarına karşı oldukça duyarlıdır. Peroksil radikalleri ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikal türleri veya hipoklorit ve hidrojen peroksit gibi aktif oksijen türlerinin yol açtığı protein hasarı; amino asit oksidasyonu, deaminasyon ve dekarboksilasyon gibi mekanizmalarla meydana gelir. Bazı aminoasit rezidüleri oksidatif saldırıya karşı daha hassastır, proteinlerin serbest radikal üreten sistemlere maruz kaldığında, amino asit yan zincirlerinin değişikliğe

uğraması sonucunda tersiyer yapısal değişiklikler meydana geldiği bildirilmiştir (Rice, 1995).

2.4.3. Serbest Radikallerin Nükleik Asitlere Etkileri

Hücre içinde hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla reaksiyona girerek değişikliklere neden olur. Hidrojen peroksitte membranları kolayca geçerek hücre çekirdeğinde DNA hasarına, sonuçta hücre disfonksiyonu ve hücre ölümüne neden olduğu vurgulanmıştır (Sheldon, 2006).

2.4.4. Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Enflamatuvar eklem hastalıklarında sinovial sıvıya geçen lökositlerden ekstrasellüler sıvıya salınan H₂O₂ ve O₂ buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronik asidi parçalamaktadır. Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunduğundan, bunun oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunmaktadır (Raha ve Robinson, 2000).

2.5. Antioksidan Sistem

2.5.1. Antioksidan Enzimler

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir. Oksidanları tutarak daha zayıf bir moleküle dönüştürmektedirler. Antioksidan savunma elemanları hücre içi ve hücre dışı ortamda farklıdır. İnsanda belli başlı hücre içi antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleridir. SOD'un yapısında bakır, çinko ve manganez; GSH-Px'de ise selenyum iyonu bulunduğundan bu enzimler 'metaloenzim' olarak da adlandırılırlar. Hücre içi ortamın aksine hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan E ve C vitamini, transferrin, haptogloblin, seruloplazmin, albumin, bilirubin, β- karoten ve α-1 antitripsin sorumludur (Bayraktar ve ark., 2005).

Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirirler:

1. Scavenging (Temizleme) Etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme şeklinde olan bu etki enzimler tarafından yapılır.

2. Quencher (Baskılama) Etkisi: Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme şeklinde olan bu etki vitaminler ve flavonoidler tarafından yapılır.

3. Onarma Etkisi (Repair Etki): Onarıcı etki üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Oksidatif hasar görmüş DNA molekülünü tamir eden enzimler bu guruba örnek olarak verilebilir (Cros ve ark., 1987).

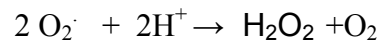
4. Zincir Koparma Etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleyen ağır metaller şeklinde olan bu etki hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır (Çavdar ve ark., 1997).

Tablo 2.2: Endojen ve Eksojen Antioksidanlar.

Eksojen Antioksidanlar	Endojen Antioksidanlar
Trolox-c	-Enzimler;
Folik asit	Süperoksitdismutaz (SOD)
Anestezikler	Katalaz (CAT)
Mannitol	Glutatyon peroksidaz (GSHPx)
Barbitüratlar	Glutatyon-S-Transferazlar (GST) Mitokondriyal
Demir şelatörleri	Sitokrom oksidaz sistemi Hidroperoksidaz.
Bütillenmi Hidroksi Toluen	-Enzim olmayanlar;
	Melatonin
	Seruloplazmin
	Transferrin
	Miyoglobin
	Hemoglobin
	Ferritin
	Bilirubin
	Glutatyon
	Sistein
	Metiyonin
	Ürat
	Laktoferrin
	Albumin

2.5.1.1. Süperoksid Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz 1968 yılında Mc Cord ve Fridovich tarafından tanımlanmıştır. Bu enzim; süperoksitin, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizler. Hidrojen peroksit daha sonra glutatyon peroksidaz ve katalaz enzimi aracılığı ile etkisiz hale getirilmektedir (Fridovich, 1983).



İnsanda SOD'nin iki tipi bulunmaktadır. Bunlar, sitozolde bulunan dimerik, Cu ve Zn ihtiva eden izomer (Cu-Zn SOD) ile mitokondride bulunan tetramerik Mn ihtiva eden izomerlerdir (Mn SOD). Genel olarak hücrede bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dir, Cu-Zn SOD 21. kromozomda, Mn SOD ise 6. kromozomda lokalizedir (Gülcü, 2010).

Enzimin fizyolojik fonksiyonu; Oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO₂ artışı ile artar. Normal metabolizma sırasında hücreler tarafından yüksek oranda süperoksit üretimi olmasına rağmen bu enzim sayesinde hücre içi süperoksit düzeyi düşük tutulur. SOD'nin hücre dışı aktivitesi çok düşüktür (Gülcü, 2010).

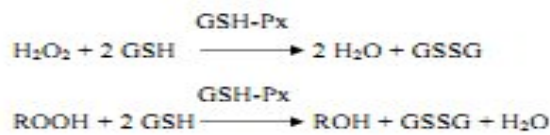
SOD fagosite edilmiş bakterilerin hücre içinde etkisiz hale getirilmesinde de rol oynar. Bu yüzden SOD, granülosit fonksiyonu için çok önemlidir. Lenfositlerde de granülositlerden daha fazla miktarda SOD bulunmaktadır. SOD enziminin yüksek katalitik aktivitesi nedeniyle hücrelerde süperoksit birikimine izin verilmez. Ancak çeşitli patolojik durumlarda süperoksit yapımının artması durumunda, süperoksite özgü tepkimeler görülmeye başlar (Gülcü, 2010).

Süperoksit metal iyonlarını indirgeyerek bağlı oldukları proteinlerden salınımına neden olur, kofaktörlerin oksidasyon düzeylerini bozar, metal iyonlarının katıldığı hidroksil radikali yapım tepkimelerini hızlandırır. Diğer radikallere göre daha az reaktif olsa da, süperoksit, indirgenmiş nükleotidleri, bazı amino grup asitleri ve antioksidan bileşikleri (glutatyon, askorbik asit, tokoferol) oksitler (Gülcü, 2010).

Süperoksit, hücre zarlarının hidrofobik ortamlarında daha uzun ömürlü ve çözünürlüğü daha fazladır. Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca bir proton alarak hidroperoksit radikalini (HOO[·]) oluşturur. Bu radikal de çok reaktif olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilir ve tokoferol gibi antioksidanları oksitleyebilir (Nozik ve ark., 2005; McCord ve Edeas 2005; Gutteridge, 1994).

2.5.1.2. Glutatyon Peroksidaz (GSH- Px)

Glutatyon Peroksidaz enzimi hidrojen peroksit ve lipit hidroperoksitlerinin bozunumunu (lipit peroksidasyonunda zincir kırıcı etki) katalizler. Glutatyon peroksidaz enzimi reaksiyon esnasında redükte glutatyonu (GSH) elektron akseptörü olarak kullanır ve sonuçta oluşan okside glutatyon (GSSG) NADPH bağımlı glutatyon redüktaz enzimi tarafından rejenere edilir (Gülcü, 2010).



Glutasyon Peroksidaz enzimi iki gruba ayrılabilir: selenyum bağı ve selenyum bağı olmayan. Selenyum bağı grupta hidrojen peroksit ve diğere organik peroksitleri indirgeyen beş üye vardır, selenyum bağımsız Glutasyon Peroksidaz ise hidrojen peroksit ile ihmal edilebilir bir aktifliğe sahip olup sadece organik hidroperoksitleri redükler.

Selenyum bağımlı üyelerden, GSH-Px 1 veya hücrese GSH-Px bütün hücrelerde eksprese edilen, tetramerik yapıda, sitozolik bir enzimdir. Eritrosit, böbrek ve karaciğere yüksek miktarda bulunur. GSH-Px 2 veya gastrointestinal GSH-Px insanlarda karaciğere ve gastrointestinal kanalda eksprese edilir; böbrek, kalp, akciğere, plasenta ve uterusda bulunmaz. GSH-Px 3 veya plazma GSH-Px plazmanın lipit kısmından izole edilmiş bir glikoproteindir, akciğere, plazma ve diğere ekstrasellüler sıvılarda bulunur. GSH-Px 4 veya fosfolipit GSH-Px sitozolde, mitokondri ve hücre zarında bulunur. GSH-Px 5 veya epididimal GSH-Px selenyum bağı değildir ve yalnız epididimiste eksprese edilir (Knappen ve ark., 1999; Hall ve ark., 1998; Haan ve ark., 1998).

Glutasyon (γ glutamil sisteinil glisin, GSH); serbest sülfidril gruplu tripeptittir. Glutasyon peroksidazın katalizlediğı reaksiyonla, membran lipitlerinin ve hemoglobinin peroksitlerle oksidasyonuna karşı koyulur. Bu reaksiyon hemoglobinin methemoglobine oksidasyon oranını azaltarak eritrositin ömrünü uzatır (Halliwell, 1996; Yalçın, 1998).

2.5.1.3. Katalaz

Katalaz 4 tane hem grubu bulunduran hemoproteindir. Her alt birim ayrıca bir molekül NADPH içerir. Bu molekül enzimin kararlılığında rol oynamaktadır. Enzim sitokrom sistemi içeren tüm oksijenli solunum yapan hücrelerde mevcuttur. Katalaz esas olarak peroksizomlarda olmak üzere endoplazmik retikulum ve sitozolde yoğundur. Aktivitesi; karaciğere, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositlerde yüksektir. Görevi, hidrojen peroksiti oksijen ve suya parçalamaktır. Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak; bu enzim bir molekül hidrojen peroksiti elektron verici bir substrat olarak, diğere de oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir (Akkuş, 1995).



Katalazın indirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit ve metil, etil hidroperoksitleri gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine etki etmez (Gutteridge, 1994).

2.6. Eser Elementler

Mineraller, yaşam için nispeten küçük miktarlarda gerekli mikrobeseindir.

Minerallerin kaynağı toprakta bulunan ve besinlerin bir bileşeni haline gelmiş olan mineral tuzları ya da deniz sularında çözünerek deniz canlılarının yapısına katılan doğal elementlerdir.

Makroelementler, günde 100 mg'dan fazla miktarda gerekli olan ve dokularda g/kg düzeylerinde bulunan elementlerdir. Karbon (C), hidrojen (H), oksijen (O) ve azot (N); karbonhidratlar, lipitler, proteinler ve nükleik asitlerin yapı taşı olan makroelementlerdir. Sodyum (Na), potasyum (K), klor (Cl), kalsiyum (Ca), fosfor (P), magnezyum (Mg) ve kükürt (S) insan vücudunda bulunan makrominerallerdir. Eser elementler, günde 100 mg'dan daha az miktarda gerekli olan ve dokularda mg/kg doku düzeylerinde bulunan elementlerdir. Demir (Fe), bakır (Cu), çinko (Zn), kobalt (Co), mangan (Mn), krom (Cr), molibden (Mo), selenyum (Se), ve iyot (I) eser elementlerdir.

Ultra eser elementler, günde 100 µg kadarı gerekli olan ve dokularda µg/kg doku düzeylerinde bulunan elementlerdir. Arsenik (As), bor (B), brom (Br), kadmiyum (Cd), kurşun (Pb), lityum (Li), nikel (Ni), silisyum (Si), kalay (Sn), vanadyum (V) ve stronsiyum (Sr) ultra eser elementlerdir.

Bir element, yeterli miktarda alınmadığında organizmada bir fonksiyon bozukluğu görülürse ve sadece o elementin fizyolojik miktarları bu bozukluğu önler veya ortadan kaldırırsa esansiyel element olarak adlandırılır.

Fonksiyonları ve eksiklik belirtileri tanımlandığı için demir, bakır, çinko, kobalt, molibden, selenyum ve iyot esansiyel olduğu kesin olarak gösterilmiş eser elementlerdir. Bor ve kromun eksiklik belirtileri tanımlanmış, fakat fonksiyonları belirlenememiştir. Manganın fonksiyonları belirlenmiş fakat eksiklik belirtileri tanımlanamamıştır. Nikel, vanadyum, silisyum ve arseniğin deneysel çalışmalara dayanılarak esansiyel oldukları düşünülür. Brom, kadmiyum, kurşun, stronsiyum ve kalay ile ilgili bilgiler ise çelişkilidir (Ademoğlu, 2006; Gül, 2008).

2.6.1. Çinko

İnsanların ve hayvanların büyümeleri ve sağlıklı olmaları için demirden sonra en büyük öneme sahip biyoelementtir. Biyolojik sistemlerde sadece 2⁺ değerlikte bulunduğundan demir, bakır gibi diğer geçiş metallerinin katıldığı oksidoredüksiyon reaksiyonlarına katılmaz. Çinko, et, süt ve süt ürünleri gibi proteinlerden zengin

besinlerde bol bulunur. Çinko bitkisel besinlerde de bulunmakla birlikte, bitki ve tahılların yapısında bulunan fitatlar (inozitol polifosfatlar), selüloz ve diğer lifler Emilimini azalttığı için biyoyararlanımı düşüktür. Günlük çinko gereksinimi 15 mg kadardır. Besinlerle alınan çinkonun büyük kısmı çinko taşıyan ligandlar aracılığıyla aktif transportla duodenum ve jejunumun proksimal kısmından emilir. Kalsiyum, fosfor, demir ve bakır içeriği yüksek besinler çinko Emilimini azaltır, proteinden zengin besinler Emilimini arttırdığı vurgulanmıştır (Gül, 2008).

Dolaşımında çinkonun % 60'ı albümine, % 40 kadarı α_2 makroglobuline, çok az bir kısmı da transferin ve serbest amino asitlere bağlanarak taşınır. Çinko vücuttan başlıca dışkıyla (pankreas salgıları nedeniyle), daha az miktarda da safra ve idrarla atılır. İnsan vücudunda, başta prostat bezi, semen, karaciğer ve sindirim kanalı, saç, deri, retina, böbrek, kas ve kemiklerde olmak üzere toplam 1,4–2,3 g kadar çinko bulunur. Vücut çinkosunun %70 kadarı kolaylıkla mobilize edilemeyen çinko havuzu (sabit fraksiyon) halinde deri, kas ve kemiklerde bulunur. Eritrositlerde, karbonik anhidraz ve süperoksit dismutaz (SOD) gibi çinko içeren enzimlerin miktarı fazla olduğundan, eritrositlerin çinko konsantrasyonu da nispeten yüksek olduğu bildirilmiştir (Gül, 2008).

2.6.2. Selenyum

Deniz ürünleri ve tahıllarda yüksek, ette nispeten düşük konsantrasyonda, proteine bağlı selenosistein, selenometyonin gibi seleno- aminoasitler, selenosülfid ve civaya bağlı selenyum halinde bulunur. Erişkinler için günlük alınması önerilen selenyum miktarı 50–200 μg 'dır. Besinlerle alınan selenyum miktarı, besinlerin protein ve toprağın selenyum içeriğiyle orantılı olduğundan günlük alınması gereken miktar, o coğrafi bölgedeki toprağın selenyum içeriğine göre ayarlanmalıdır. Besinlerle alınan selenyumun % 40 kadarı bağırsaklardan emilir, fazlası vücuttan idrarla uzaklaştırıldığı bildirilmiştir (Gül, 2008).

Selenyum, selenosistein halinde glutatyon peroksidaz (GSH-Px), iyodotironin deiyodinaz ve tiyoredoksin redüktaz enzimlerinin yapısında bulunur. Selenosistein bir amino asittir, yapıca sisteine benzer, tek fark sülfür yerine selenyum içermesidir. Selenosisteinin bir genetik kodu olmadığından biyolojik sistemlerdeki diğer amino asitler gibi kodlanmaz. Selenosistein normalde bitiş kodonu olan UGA kodonu tarafından kodlanır. Yapısında selenosistein içeren enzimleri sentezi sırasında selenosisteine özgü tRNA aracılığıyla mRNA'daki kodon modifikasyona uğratarak selenosistein kodonu olarak kullanılmakta ve sentezler gerçekleşmektedir (Gül, 2008).

2.6.3. Bakır

Bakır bir eser element olarak kabul edilir ve çeşitli oksidazların yapılarını tamamlayıcı özelliği nedeni ile yaşam için zorunludur. Çeşitli besinlerde çok yaygın olarak bulunur ve en çok karaciğer, kuru baklagiller, ceviz ve fındık gibi kuru yemişler, daha az miktarda yeşil sebzeler ve süt gibi besinlerde yer almaktadır. Ağızdan kalsiyum ihtiva eden maddelerin alımı, uzun süre oral çinko tedavisi bakır eksikliğine yol açabilmektedir. Vücutta en çok bakır içeren dokular sırasıyla; karaciğer, kalp, beyin ve böbrektir. Günlük gereksinim 0,6-2 mg kadardır ve dengeli beslenme ile kolayca sağlanmaktadır. Besinlerle sindirim kanalına alınan bakır ince barsak üst kısmından emilmektedir ve emilimi askorbik asit, divalen katyonlar, kalsiyum, çinko ve fitatlar ile engellenir. Plazmada bulunan bakırın %10 u dengeli bakır bölümünü, geri kalan % 90 ı ise karaciğerde sentezlenen ve özel bir metalloprotein olan seruloplazmin yapısını oluşturmaktadır. Molibdat, sülfat, fitat, askorbik asit, çinko ve kadmiyumun fazlası diyetdeki bakırın emilimini azaltır.

Demir metabolizmasında bakır önemli bir rol oynar. Eksikliği demir emilimini azaltır ve anemi şiddetli bakır eksikliğine eşlik eder. Ferrooksidaz aktivitesine sahip olan ve bakır içeren seruloplazmin, demir transferine bağlanmadan önce ferrodemiri (Fe^{++}) ferik demire (Fe^{+++}) oksitler. Bu nedenle demirin hemoglobin yapısına katılabilmesi için gereklidir.

Eksikliğinde demir eksikliğine bağlı hipokrom mikrositer anemiye benzer bir tablo ortaya çıkmaktadır. Oluşan anemi demir eksikliğinden farklı olarak demir verilerek düzelterilememektedir (Hoffman, 1988).

Bakır metabolizmasının en önemli kalıtsal hastalıklarından olan Wilson hastalığında vücudun çeşitli doku ve organlarında bakır birikmesi ile oluşan bir hastalık tablosu gözlenir.

Bakır eksikliği ile giden, bakırın barsaktan emiliminde hata sonucu oluşan X kromozomuna bağlı kalıtsal hastalık olan Menkes hastalığı ise daha nadir görülür. Sitokrom-c oksidaz ve süperoksit dismutaz gibi enzimlerin aktif bir komponenti olan bakır, lökopeni oluşumunda önemlidir. Olağan koşullarda serum bakır akut ve kronik enfeksiyonlarda artmaktadır. Bu artışın genellikle enfeksiyon sırasında değişen seruloplazmin sentezi nedeni ile olduğu düşünülmektedir. Bakırın büyüme ve gelişme üzerine etkisi vardır. Finlandiya'da yapılan bir çalışmada serum bakır ile ağırlık arasında pozitif, boy ile negatif korelasyon saptanmıştır (Laitinen ve ark., 1989).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. BİYOKİMYASAL ANALİZLER

3.1.1. Materyal

Bu çalışmada kullanılan materyaller; Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi, kadın doğum polikliniğine başvuran gebelerden, 16-20. gebelik haftaları arasında amniyosentez ile alınan amniyon sıvılarından oluşmaktadır. NTD'li ve DS'lu hasta grupları ise ultrason eşliğinde yapılan ikili ve üçlü testlerde risk taşıyan gebelerin amniyon sıvılarının alınarak karyotip analizi sonucu hasta olduklarının belirlenmesiyle oluşturulmuştur.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Cihazlar

1. Derin Dondurucu (Örnek Saklamak için)	BOSCH
2. PH metre (Tamponların pH'ını ayarlamak için)	HANNA
3. Terazî (Kimyasalları tartmak için)	OHAUS(PA214C)
4. UV Spektrofotometre (fotometrik ölçümler için)	SHIMADZU UV 180
5. Benmari	MEMMERT
6. Otomatik pipetler	Eppendorf, Isolab
7. Buz Makinesi	Scotsman AF 10
8. Distile su cihazı	MİLLİPURE
9. Manyetik Karıştırıcı (Kimyasal hazırlamak için)	IKA
10. AAS	PERKİN ELMER
11. HPLC	SHIMADZU

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

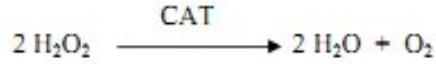
1,1,3,3 tetrametoksipropan		Sigma
Bakır sülfat	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Sigma
2-[2-Tiyobarbitürik asit]	TBA	Merck
Etilendiamin tetraasetik asit	EDTA	Sigma
Disodyum hidrojen fosfat	$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	Merck
Dipotasyum hidrojen fosfat	K_2HPO_4	Merck
Folin-Ciocalteu fenol ayırıcı		Sigma
Glutasyon redüktaz	GR	Sigma
Glutasyon	GSH	Sigma
Hidrojen peroksit	H_2O_2	Merck

Lauril sülfat	SDS	Sigma
n-Butanol		Merck
Piridin		Merck
Potasyum dihidrojen fosfat	KH ₂ PO ₄	Merck
Sodyum dihidrojen fosfat	NaH ₂ PO ₄ .2H ₂ O	Merck
Sodyum hidroksit	NaOH	Merck
Sodyum karbonat	Na ₂ CO ₃	Merck
Sodyum klorür	NaCl	Merck
Sodyum potasyum tartarat		Sigma
t-Butil hidroperoksit		Sigma
Tris baz		Sigma
Tris hidroklorit	Tris HCl	Sigma
β-Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat	β-NADPH	Sigma

3.2. Analiz Yöntemleri

3.2.1. Katalaz Aktivite Tayini

CAT, H₂O₂'nin yıkımını katalize eder. H₂O₂'nin CAT tarafında yıkım hızı, H₂O₂'nin 230 nm'de ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak spektrofotometrik olarak ölçülebilir (Beutler, 1975).



Ayrıçlar

I. 1 M Tris-HCl, 5 mM Na₂ EDTA tamponu, pH 8.0

Tris- Baz 5.358 g

Tris-HCl 8.787 g

Na₂ EDTA 0.1461 g

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

2. 1 M Fosfat tamponu, pH 7.0

K₂HPO₄ 6.723 g

KH₂PO₄ 8.344 g

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

3. 10 mM H₂O₂

% 30'luk peroksit'den 10 µl alınır ve 9.990 ml saf suya tamamlanır.

Yöntem

Tablo 3.1. Eritrositte CAT aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı

	Kör (µl)	Numune (µl)
1 M Tris HCl, 5 mM Na ₂ , EDTA , pH 8.0	50	50
10 mM H ₂ O ₂	-	900
Saf Su	930	30
37°C'de 10 dakika inkübe edilir		
Hemolizat	20	20

Oluşan tepkime 1 cm ışık yolu kuvars küvetlerde, 37°C'de 230 nm'de 0., 2.5., 5. dakikalardaki absorbans değerleri ölçülerek izlenir. Doğrusal artış gösteren zaman aralığındaki optik dansite (OD) değerleri kullanılarak CAT enzim aktivitesi ölçülür.

Hesaplama

$$\text{CAT Aktivitesi (Ü/ml)} = \frac{\Delta\text{OD} \times V_T (1.0\text{ml})}{0.071 \times V_H (0.02 \text{ ml})}$$

ΔOD : Dakikadaki optik dansite değişimi

$V_{\text{Örnek}}$: Örnek hacmi

V_T : Toplam hacim

0.071 : 10 mM H₂O₂ yıkım hızının verdiği OD değeridir.

3.2.2. Süperoksit Dismutaz Aktivite Tayini

SOD, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin (O₂⁻) hidrojen peroksit ve moleküller oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Bu yöntem, ksantin ve ksantin oksidaz (XOD) kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin, 2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenol]-5-feniltetrazolium klorid (p-iyodonitrotetrazolium viyole: INT) ile meydana getirdiği kırmızı renkli formazan boyasının 505 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin (OD) okunması esasına dayanmaktadır. Örnekte bulunan SOD, süperoksit radikallerini ortamdan uzaklaştırarak 2 numaralı formazan reaksiyonunu inhibe eder. Sonuçta oluşan kırmızı rengin OD'si SOD yokluğunda oluşan renge göre azalır. Bu aradaki farkın belirlenmesiyle SOD aktivitesi ölçülür (Fitzgerald ve ark. 1992).

Ayrıçlar

1. CAPS (3-(sikloheksilamino)-1-propan sülfonik asit) Tamponu pH 10.2

50.00 mM CAPS 1,1065 g

0.94 mM EDTA 0.035 g

Doymuş NaOH 11,1µl

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

2. Substrat karışımı

0.05 mM Ksantin 0.00152 g

0.025 mM INT 0,00253 g

CAPS Tamponuyla 10 ml'ye tamamlanır.

3. 80 Ü/L Ksantin oksidaz

50 Ü Ksantin oksidaz 3.04 µl

Saf su ile 1 ml'ye tamamlanır.

4. 0.01 M Fosfat tamponu pH 7,0

Na₂PO₄ 54.91 mg

NaH₂PO₄ 3.58 mg

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

5. Standart (S6): 5,6 Ü/ml SOD içeren Ransod kitinin standartıdır.

Standart Eğrinin Çizimi:

Liyofilize olarak hazırlanmış SOD standartı 10 ml bidistile su ile sulandırılır. Standart eğri çiziminde kullanılacak olan diğer SOD derişimleri fosfat tamponuyla aşağıdaki tabloda verildiği şekilde hazırlanır. 2-8 °C'de saklandığında 2 hafta süreyle dayanıklıdır.

Tablo 3. 2. SOD standart eğri çizimi için tüplerin hazırlanışı.

Kullanılacak Standartlar	Standart Solüsyonun Hacmi	0.01 M Fosfat Tamponunun Hacmi	SOD Derişimi (Ü/ml)
S5	6 ml S6	5 ml	2.8
S4	5 ml S5	5 ml	1.4
S3	5 ml S4	5 ml	0.7
S2	3 ml S3	6 ml	0.23

* S1: Kör (fosfat tamponu)

Yöntem

SOD aktivite tayini için, eritrosit pelleti 1: 3 oranında soğuk su ile hemoliz edilir ve bu hemolizatta hemoglobin tayini yapılır. Daha sonra, bu hemolizat 1:25 oranında 0.01 M fosfat tamponu ile sulandırılır ve aktivite tayini yapılır. Ayraçlar aşağıdaki gibi konur.

Tablo 3. 3. SOD standart eğri çizimi için kuvars küvetlerinin hazırlanışı.

	Kör (µl)	Standart (µl)
Standart	-	25
0.01 M Fosfat Tamponu	25	-
Substrat Karışımı	850	850
Küvetler iyice karıştırılır		
Ksantin oksidaz	25	25

Tekrar karıştırıldıktan 30 saniye sonra çalışma körünün ve standartın 37°C'de, 505 nm dalga boyunda havaya karşı başlangıç absorbansları (A₁) okunur. Aynı anda kronometre çalıştırılarak 3 dakika sonra son absorbansları (A₂) tekrar okunur.

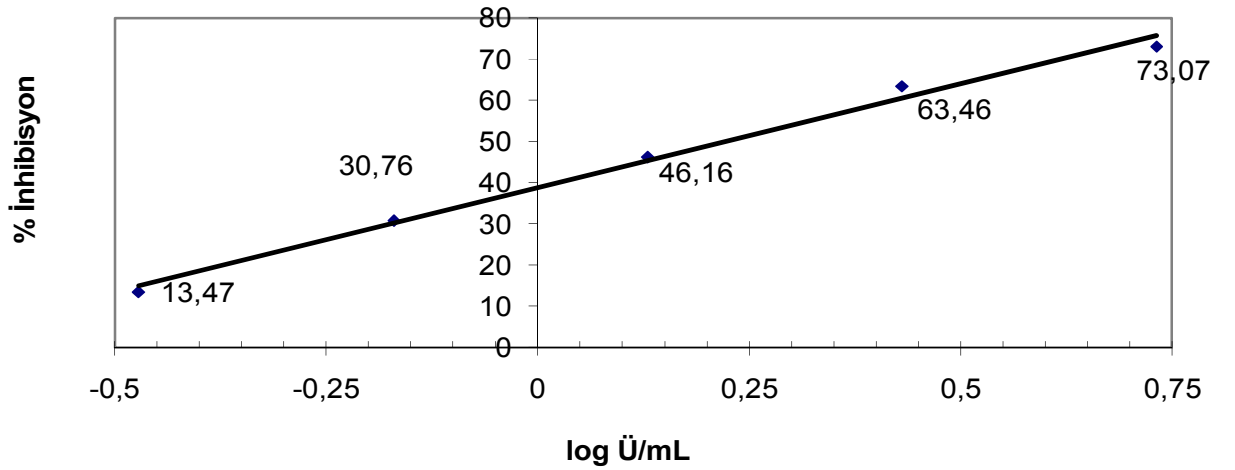
Hesaplama

Çalışma körü SOD içermediği için inhibisyona uğramamış reaksiyon olarak kabul edilir ve değeri %100 olarak alınır. Tüm standartlar için % inhibisyon değeri bunlara ait çalışma körüyle oranlanarak 100'den çıkarılması sonucu hesaplanır.

$$\Delta A/\text{dak. standart} = A_2 - A_1 / 3 \text{ dakika}$$

$$\% \text{ inhibisyon standart} = 100 - \frac{\Delta A/\text{dak standart} \times 100}{A \text{ çalışma körü}}$$

Hesaplama yapıldıktan sonra x yatay eksenine SOD derişimlerinin (Ü/ml) logaritmik dönüşüm değerleri, Y (dikey) eksenine standartlara ait % inhibisyon değeri yazdırılarak standart eğri elde edilir. Şekil 10'da SOD standart eğrisi verilmiştir.



Şekil 3.1. Süperoksit dismutaz standart eğrisi.

Örnek Çalışması

Tablo 3.4. SOD aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı.

	Kör (µl)	Numune (µl)
Hemolizat	-	25
0.01 M Fosfat Tamponu	25	-
Substrat Karışımı	850	850
Küvetler iyice karıştırılır		
Ksantin oksidaz	25	25

Tekrar karıştırıldıktan 30 saniye sonra 37°C'de, 505 nm dalga boyunda havaya karşı başlanğıç absorbans (A_1) okunur. 3 dakika sonra absorbans (A_2) tekrar okunur.

Hesaplama:

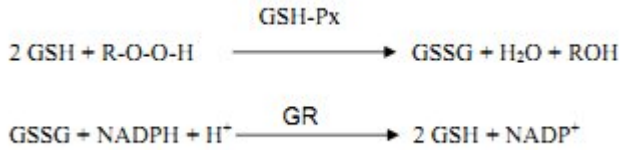
$$\Delta A/\text{dak örnek} = A_2 - A_1 / 3 \text{ dakika}$$

$$\% \text{ inhibisyon örnek} = 100 - \frac{\Delta A/\text{dak örnek} \times 100}{A \text{ çalışma körü}}$$

Örneğe ait hesaplanan yüzde inhibisyon değerine karşılık gelen SOD değeri standart eğri kullanarak bulunur.

3.2.3. GSH-Px Ölçümü

GPx, hidrojen peroksit tarafından redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyona (GSSG) yükseltgenmesini kataliz eder. Hidrojen peroksit t-butil hidroperoksitin ortamda GPx'in oluşturduğu GSSG, glutatyon redüktaz (GR) ve NADPH yardımıyla GSH'ye indirgenir. GPx aktivitesi, NADPH'in NADP^{+} 'ye yükseltgenmesi sırasındaki absorbans farkının 340 nm'de okunmasıyla ölçülür (Beutler E., 1975)



Ayrıçlar:

1. 1 M Tris Tamponu (pH: 8,0)

Tris asit 8,8 g

Tris baz 5,4 g

EDTA 0,14 g

Saf su ile 100 ml'ye tamamlanır.

2. 0,1 M GSH

GSH 31 mg

Saf su ile 1 ml'ye tamamlanır.

Gerekli miktarda günlük olarak hazırlanır.

3. 10 Ü/ml Glutasyon Redüktaz

Kullanılan glutasyon redüktazın U/ml'si üzerinden hesaplanır.

4. 7 mM t-butil hidroperoksit

%70'lik t-butil hidroperoksit 1:1000 saf su ile sulandırılır.

5. 2 mM NADPH

NADPH 17 mg

Saf su ile 10 ml'ye tamamlanır.

Gerekli miktar günlük olarak hazırlanır.

Tablo 3.5. GSH-Px aktivite tayini için kuvars küvetlerinin hazırlanışı.

Yöntem:
Ayıraçlar 1 ml'lik küvetlere tabloda belirtilen oranlarda ilave edilir.

	Kör (µl)	Örnek (µl)
1 M Tris Tamponu	100	100
0,1 M GSH	20	20
10 Ü/ml Glutasyon Redüktaz	100	100
2 mM NADPH	100	100
Hemolizat	10	10
Saf Su	670	660
37 °C'de 10 dakika inkubasyon		
t-Bütil hidroperoksit	-	10

Hesaplama:

1 cm ışık yollu kuvars küvetlerde, 37 °C'de, 340 nm dalga boyunda oluşan tepkimenin absorbans değişliği farklı zaman aralıklarında izlenir.

$$\text{GSH-Px Aktivitesi (Ü/ml)} = \frac{\Delta\text{OD/ dak}}{6,22} \times \frac{V_{\text{Toplam}}}{V_{\text{Örnek}}}$$

ΔOD = Optik Dansite Değişimi

6,22 = 1 mM NADPH'nin 1 cm'lik ışık yolunda verdiği OD değeri

V_{Toplam} = Toplam hacim

$V_{\text{Örnek}}$ = Örnek hacmi

3.2.4. MDA Ölçümü

0.3 mL serum örneği üzerine 0.5 M HClO₄'den 0.2 mL ilave edildi. Proteinlerin çöktürülmesinden sonra saf su ilave edilerek toplam hacim 1 mL'ye tamamlandı. Karışım 4500 devirde 5 dakika santrifüjlendikten sonra berrak kısmından 20 µl dikkatlice alınarak HPLC'de analizlendi. Technopak 10U C18 ters faz kolon (25 cm, 4.6 mm ID; 5µm particles) kullanıldı. Mobil faz 30 mmol KH₂PO₄ ve metanol karışımı (%65-%35, H₃PO₄ ile pH=4) olan ve akış hızı 1.5 ml/dk'ya ayarlanarak 254 nm'de HPLC'ye enjekte edildi. Değişik konsantrasyonlarda hazırlanmış olan stok 1,1,3,3- tetraetoksipropan (TEP) çözeltilerinin pik yükseklikleri ölçülerek çalışma grafiği çizildi. Çalışma grafiğinin doğru denklemi yardımıyla MDA miktarları belirlendi (Karataş ve ark., 2002).

3.2.5. Eser Element Analizleri

3.2.5.1. Amniyon Sıvılarında Selenyum Tayini

200 µl süpernatant 400 µl % 0.05 triton X solüsyonu ile sulandırıldı. Daha sonra Perkin Elmer marka atomik spektrometre cihazında grafit yöntemi kullanılarak çalışıldı. Sonuçlar µg/l olarak hesaplandı.

3.2.5.2. Amniyon Sıvılarında Çinko Tayini

200 µl süpernatant 600 µl % 5 gliserol ile sulandırıldı. Daha sonra Perkin Elmer marka atomik spektrometre cihazında alev spektrofotometri yöntemiyle çalışıldı. Sonuçlar µg/dl olarak hesaplandı.

3.2.5.3. Amniyon Sıvılarında Bakır Tayini

Bakır 200 µl süpernatant 200 µl % 10 gliserol ile sulandırıldı. Daha sonra Perkin Elmer marka atomik spektrometre cihazında alev spektrofotometri yöntemiyle çalışıldı. Sonuçlar µg/dl olarak hesaplandı.

4. BULGULAR

4.1. Verilerin İstatistiki Değerlendirilmesi

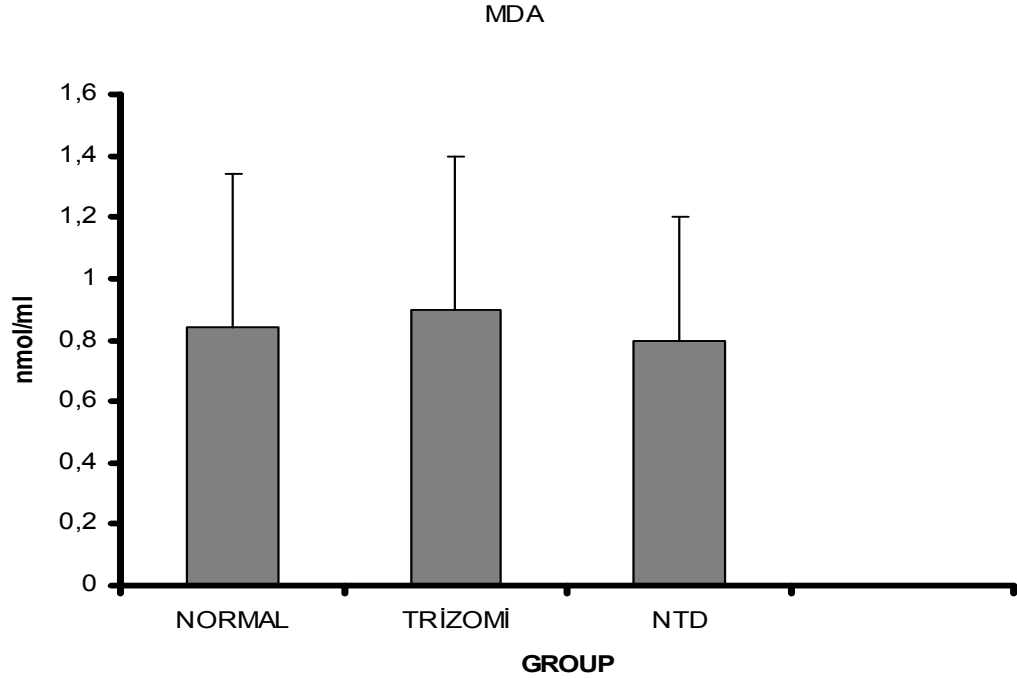
Ticari bir program olan SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 15.0 kullanılarak gerekli istatistiksel analizler ve şekiller yapıldı. $p < 0.05$ olması anlamlı olarak kabul edildi. Trizomili ve Nöral Tüp Defekti olan olduğu tespit edilen gebelerden alınan amniyon sıvıları sağlıklı gebelerden alınan amniyon sıvılarıyla Mann Whitney U ve Kruskal-Wallis H Testi kullanılarak karşılaştırıldı.

4.2. Gruplar Arası Antioksidan Sonuçlarının Karşılaştırılması

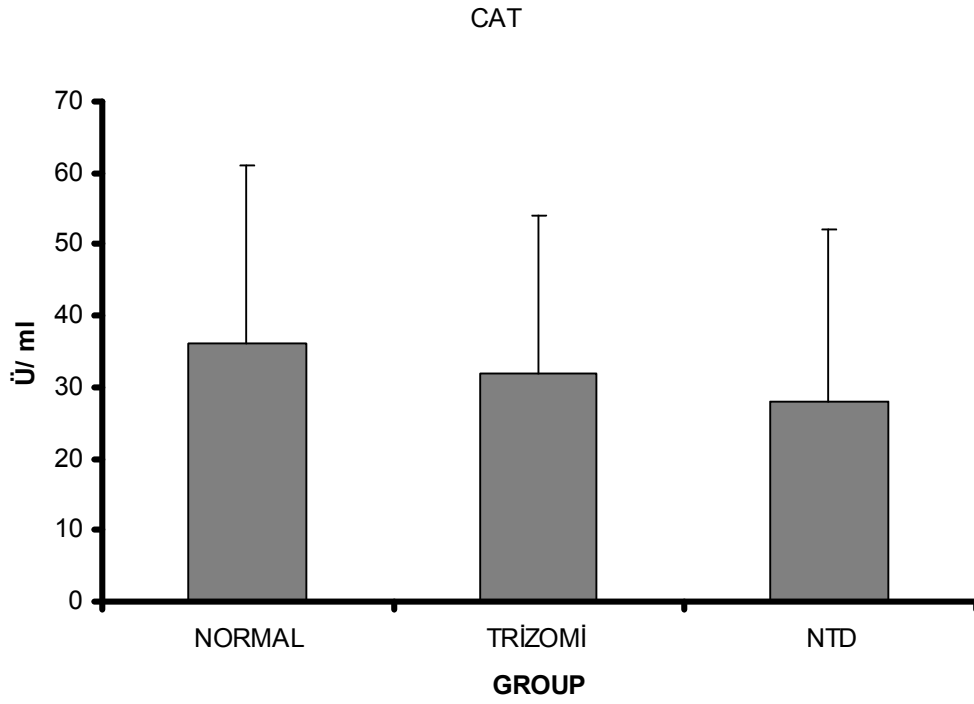
Tablo 4.1. Gruplar arasında antioksidan ve MDA bulguları.

	MDA (nmol/ml)	CAT (U/ ml)	GSH- Px (U/ ml)	SOD (U/ ml)
NORMAL OLGULAR X±SD	n: 235 0,84 ± 0,5	n: 235 36 ± 25	n: 235 1,4 ± 0,8	n: 235 1,4 ± 0,3
TRİZOMİ OLGULARI X±SD	n:9 0,9 ± 0,5	n:9 32 ± 22	n:9 2,7 ± 2,2	n:9 1,4 ± 0,1
NTD OLGULARI X±SD	n:10 0,8 ± 0,4	n:10 28 ± 24	n:10 1,1 ± 1,1	n:10 1,6 ± 0,1

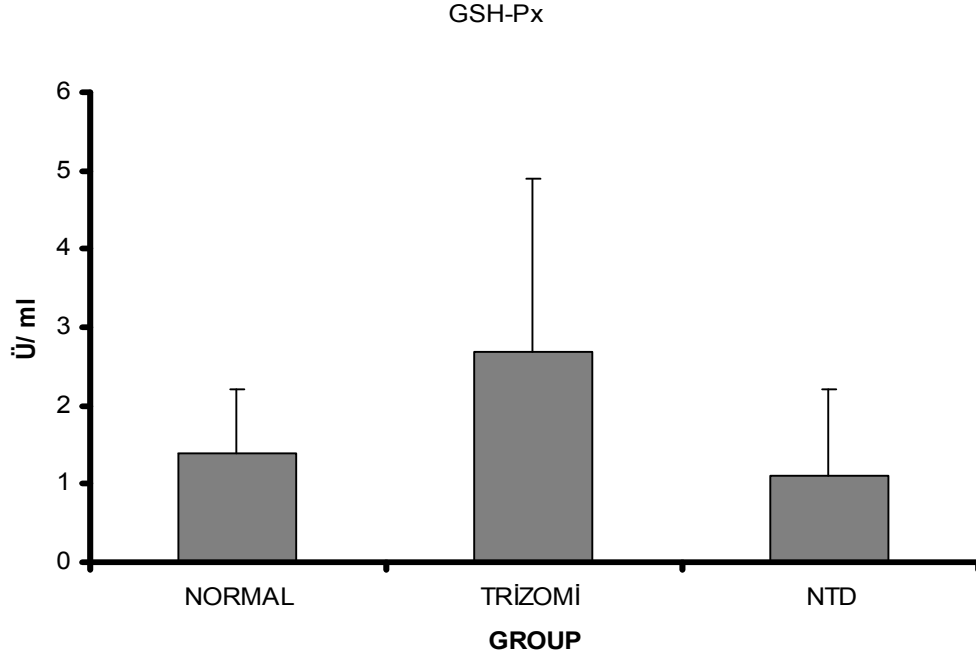
Gruplar arasında MDA, SOD ve CAT arasında farklılık gözlenmemiştir. ($p > 0,05$). GSH-Px de gruplar arası ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı ($p < 0,05$) olduğu bulunmuştur.



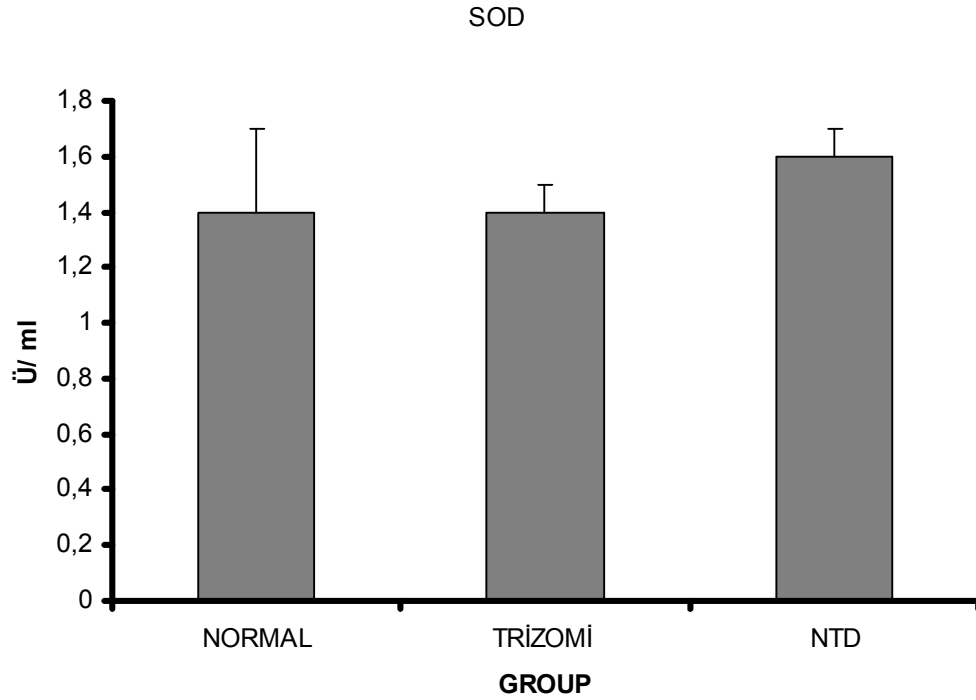
Şekil 4. 1: Gruplar arasında MDA (nmol/ml) değerlerinin karşılaştırılması.



Şekil 4. 2: Gruplar arasında CAT (Ü/ml) değerlerinin karşılaştırılması.



Şekil 4. 3: Gruplar arasında GSH-Px (Ü/ml) değerlerinin karşılaştırılması.



Şekil 4. 4: Gruplar arasında SOD (Ü/ml) değerlerinin karşılaştırılması.

Gruplar arası farklılıklar grafiksel olarak yukarıdaki gibi gösterilmiştir. MDA ve GSH-Px düzeyleri trizomili hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu, SOD

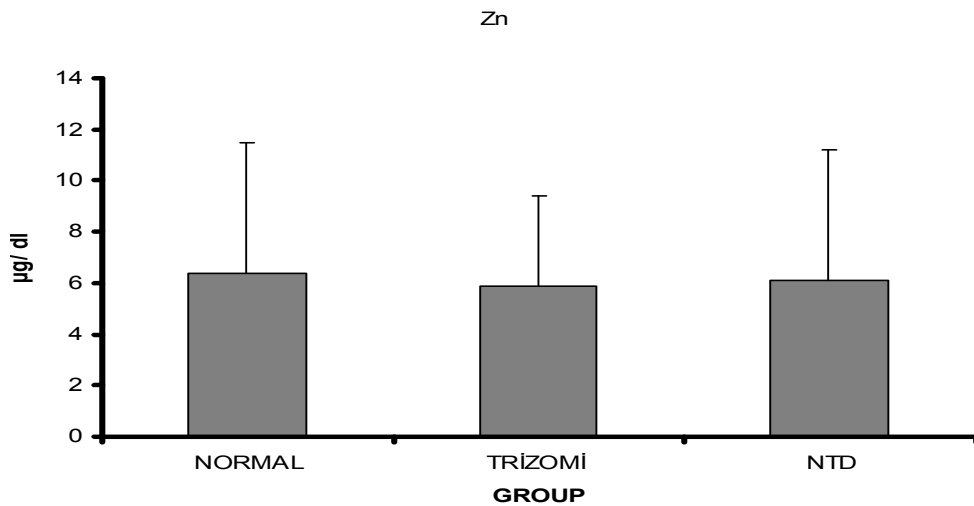
değerlerinin NTD olan hastalarda kontrol grubundan yüksek olduğu, CAT değerlerinin ise kontrol grubunda yüksek olduğu görülmektedir.(Grup 1: Trizomi 21, Grup 2 : NTD, Grup 3 : Normal)

4.2. Gruplar Arası Eser Element Sonuçlarının Karşılaştırılması

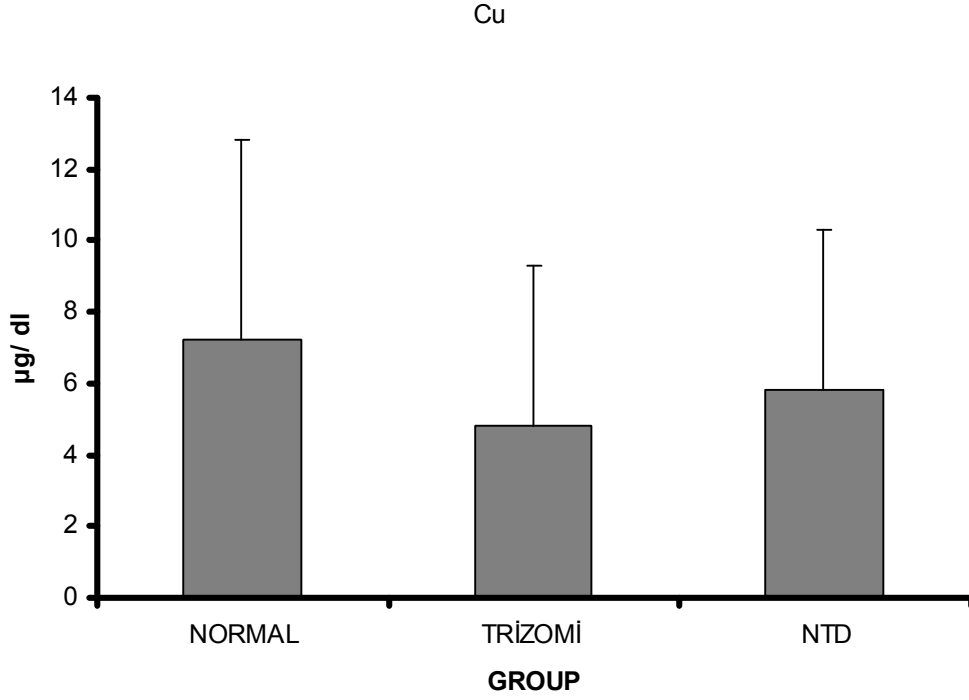
Tablo 4.2. Gruplar arasında eser element bulguları.

	Zn (µg/dl)	Cu (µg/ dl)	Se (µg/l)
NORMAL OLGULAR	n:179	n:95	n:120
X±SD	8,30 ± 8,41	8,25 ± 6,72	17,30 ± 14,97
(min-max)	(0,94-52,06)	(1,01-46,20)	(2,06-69,92)
TRİZOMİ OLGULARI	n:7	n:4	n:4
X±SD	6,85 ± 4,98	5,81 ± 4,53	11,24 ± 12,77
(min-max)	(1,09-13,00)	(2,48-12,28)	(1,17-27,81)
NTD OLGULARI	n:5	n:3	n:8
X±SD	5,87 ± 3,53	4,77 ± 4,51	13,14 ± 3,98
(min-max)	(1,21-9,45)	(0,94-52,06)	(13,14-3,98)

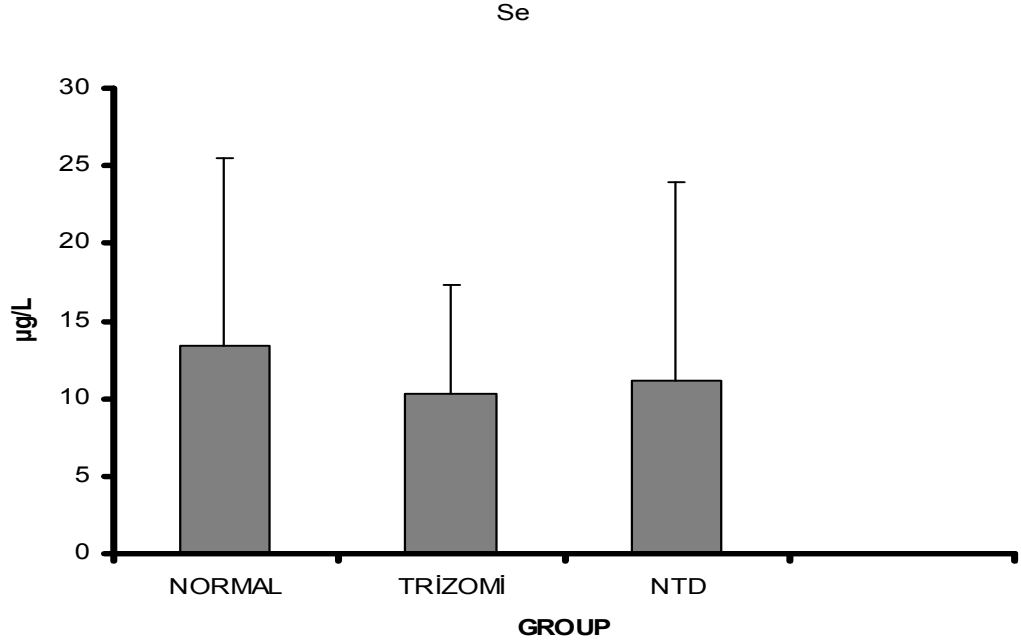
Hasta ve normal gruplar arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark tespit edilememiştir (p > 0,05).



Şekil 4. 5: Gruplar arasında Zn (µg/dl) değerlerinin karşılaştırılması.



Şekil 4. 6: Gruplar arasında Cu (µg/dl) değerlerinin karşılaştırılması.



Şekil 4. 7: Gruplar arasında Se (µg/l) değerlerinin karşılaştırılması.

*(Grup 1: Trizomi 21, Grup 2: NTD Grup 3: Normal)

Zn, Cu ve Selenyum düzeyleri kontrol grubunda NTD ve down sendromlu gruplara göre yüksek bulunmuştur.

5. TARTIŞMA

Amniyon sıvısının sağlıklı bir gebelik için ve fetüs için önemi büyüktür. Amniyotik sıvı bileşenleri gerçek fetal şartların bir markını olduğu için, çalışmalar nöral tüp defektinin patogenezi ve gelecekte önlenmesindeki rolünü açıklamak için bu bileşenlerin doku ve hücresele seviyede metabolizmasına odaklanmıştır. Bu nedenle Pascal ve arkadaşları (2002) çalışmalarında çinko ve glikoz transfer veya metabolizmasındaki bozukluğunun NTD ile ilgili olabileceğini ileri sürmüşlerdir (Pascal ve ark., 2002). Çinko enzim, hormon ve nöropeptitlerin bir bileşeni olduğu için hücre çoğalması ve farklılaşmasında etkilidir (Vallee ve Falchuk, 1993). İnsan ve hayvan çalışmaları annede çinko eksikliğinin NTD'li çocuğa sahip olmada risk faktörü olduğunu ortaya koymaktadır. NTD fetüslerle annelerinin saçlarındaki çinko konsantrasyonlarını kontrol grubun göre daha düşük bulduklarını rapor etmişlerdir (Bergmann ve ark., 1980; Srinivas ve ark., 2001). Diyabetli Sprague Dawley sıçanlarda yapılan çalışmada gebelik boyunca annenin çinko eksikliğinin teratojenik etkisinin arttığı gözlenmiştir (Uriu ve ark., 1989). Çinko ve diyabet kaynaklı hiperglisemi arasında bir etkileşim olabileceği de düşünülmektedir Leushner ve arkadaşları (1986) gelişmekte olan fetüs için çinko gibi besinlerin transferinin azalmasının bir sonucu olarak diyabetik hastalarda troblastik bazal membranın kalınlaştığını göstermektedir (Leushner ve ark., 1986). Ancak bunun mekanizması tam olarak aydınlatılmış değildir. Pascal ve arkadaşları (2002) 15. gebelik haftasında amniyotik sıvıda yapmış oldukları çalışmada NTD li grupta kontrol grubu arasında Çinko seviyelerinde belirgin bir farklılık bulmalarına rağmen (15. gebelik haftası; $NTD_{Zn}: 2,62 \pm 0,29 \text{ umol/l}$; Kontrol grubu $Zn: 1,42 \pm 0,11 \text{ umol/l}$) 38. gebelik haftasında kontrol grubu ve NTD li grup arasında fark olmadığını vurgulamışlardır (Pascal ve ark., 2002; Brandes ve ark., 1980; Laitinen ve ark., 1985; Weekes ve ark., 1992).

12-24 haftalık gebelerde kontrol grubunda ve NTD li grupta yapılan çalışmada Weekes ve ark. (1992) Zn, Cu, Fe değerlerini ölçmüşler ve kontrol grubunda sırasıyla 1,7, 1,9, 9,9 $\mu\text{mol/l}$ bulmuşlar ve istatistiksel olarak gruplar arasındaki element düzeyleri açısından bir fark gözlemlemişlerdir (Weekes ve ark., 1992). Ayrıca amniyotik sıvıdaki eser element düzeyleri sağlıklı bireylerin plazma seviyelerinde bulunan eser element düzeylerinin % 10 ile 30'u arasında olduğu rapor edilmiştir (Hambidge ve ark., 1986; Olson ve Hamlin, 1969; Anastasiadis ve ark., 1981).

Rosick ve arkadaşları (1983)' da kapsamlı olarak yaptıkları çalışmada gebelikteki Zn seviyelerinin 0,2-2,2 $\mu\text{mol/l}$ olarak rapor etmişlerdir (Rosick ve ark., 1983). Normal ve yüksek risk taşıyan gebelerde Cu konsantrasyonunda belirgin bir farklılık gözlenmemiştir

(Shearer ve ark., 1979). Zn, Cu düzeylerinde NTD'li ve normal gebelerle kıyaslandığında bir farklılık gözlenmemiştir (Nevin, 1983; Zimmerman, 1984). Weekes (1992) tarafından yapılan çalışmalarla tutarlı değildir ancak; bunun nedeni örneklerin elde edilmişindeki farklılıktan kaynaklanıyor olabilir. Nevin (1983) yaptığı çalışmada NTD li hastalarda Zn ve Cu düzeylerinin artmasını bu gerekli minerallerin metabolizmasının uyarılmasıyla ya da açık NTD lerinden minerallerin akmasıyla açıklamaktadır. Zimmerman (1984) NTD li bebeklerde genetik Zn metabolizma defektleri nedeniyle idrarla atılmasından kaynaklandığını ileri sürmektedir (Weekes, 1992). Ratlarda ve insanlarda yapılan çalışmalarda Zn eksikliğinin nörolojik ve konjenital malformasyonlarla, anormal fetal gelişimine ve büyük ölçüde azalmış doğum ağırlığıyla ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (Hurley ve Gowan, 1971; Warkany ve Petering 1972).

Laitinen ve Wood (1985) AFP nin fetal malformasyonların belirlenmesinde Zn den daha iyi bir markır oluşunu ileri sürmüşlerdir. Gebe olan kadınlarda gebe olmayanlara göre daha düşük Zn seviyesi gözlemlenmişlerdir (Wood ve ark., 1985; Laitinen ve ark., 1985).

Çinko içeren polipeptitlerin amniyon sıvısı içerisinde bulunduğu belirlenmiştir. (Sachs and Stern, 1979). Amniyotik sıvının intrauterdeki enfeksiyonları önemli ölçüde inhibe ettiği rapor edilmiştir (Blanco, Gibbs ve ark., 1982). Amniyotik sıvı içerisinde; fosfat- çinko oranlarının bakteri büyüme inhibisyonuyla doğru orantılı olduğu rapor edilmiştir. (Schlievert, Johnson ve ark., 1976). Ancak bazı çalışmalar da bu korelasyon gözlenmemiştir (Appelbaum, Shulman ve ark., 1980; Gibbs, Blanco ve ark., 1982; Scane and Hawkins 1984). Eser elementlerin amniyotik sıvıdaki antibakteriyel etkisini incelemek üzere yapılan çalışmalar da Schlievert ve arkadaşları (Schlievert, Johnson ve ark., 1976) 650- 750 dalton molekül ağırlığına ulaşan amniyotik sıvının antibakteriyel etkisinin çinko miktarına bağımlı olduğunu göstermiştir. Yine aynı çalışmada belirtilen çinko miktarı 0,08-0,44 mg/l olarak rapor edilmiştir (Durá Travé, da Cunha Ferreira ve ark., 1984). 29-42. gebelik haftalarında çinko konsantrasyonlarını 0,15-0,30 mg/l olarak rapor etmişlerdir. (Brandes, Lightman ve ark., 1980). 22-36. haftalarda çinko konsantrasyonlarını 0,09-0,20 mg/l olarak rapor etmişlerdir. Erki ve arkadaşları (1986) gebelik boyunca amniyotik sıvıda antibakteriyel etki ve çinko seviyesi arasında herhangi bir korelasyon saptamadıklarını rapor etmişlerdir (Honkonen, Nántö ve ark., 1986). Bizim olgularımızda da karyotip analizi normal bulunanların Zn düzeylerinin NTD ve Trisomi 21 olguya sahip gebelerin amniyon sıvı çinko düzeylerinden nümerik olarak yüksek bulunmasına rağmen istatistiki olarak anlamlı bulunamamıştır, bunun da hasta sayısının az olmasından kaynaklandığı düşünülebilir.

Bakır birçok enzim ve kofaktörün yapısında bulunmaktadır. Erki ve arkadaşları (1986) bakır ile antibakteriyal etki arasında bir korelasyon bulamamışlardır.(Honkonen, Nântö ve ark., 1986)

Karunanithy ve arkadaşları (1989) hamileliğin devamı süresince Se miktarını kademeli olarak azaldığını rapor etmişlerdir (Karunanithy ve ark., 1989)

Mihailovic ve arkadaşları (1998) farklı yaş gruplarında ve farklı trimestırlarda gebe olmayan ve rastgele seçilen gebelerde yaptıkları çalışmada gebe olmayan kadınlarda kan ve plazma selenyum bileşenlerinin yeterli olduğu düşünülenden daha düşük çıkmasını düşük Se alımıyla alakalı olduğunu bildirmişlerdir. Gebe olmayan kadınlara kıyasla gebe kadınların tam kan ve plazma Se seviyelerinin ikinci, üçüncü trimestırda ve doğumda önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir.

İnsan vücudunda oluşan biyolojik işlemler için önemli birçok enzimde bulunan eser elementlerin hem eksikliği hem de fazlalığı normal vücut metabolizmasında bozulmalara yol açar. Eser elementlerden bakır, çinko ve selenyum immün sistem fonksiyonlarında önemli bir etkiye sahiptir (Srinivas ve ark., 1988; Hawkes ve ark., 2001).

Serbest oksijen radikalleri normal immün savunma ve metabolik aktivitede gerekli ürünlerdir. Ancak aşırı üretildiklerinde ve kontrol edilmediklerinde doku hasarına yol açmakta, akut ve kronik enflamasyonda rol oynamaktadır. Serbest oksijen radikalleri hücrel protein, karbonhidrat, nükleotit ve lipitlerin kimyasal modifikasyonu ile doku hasarına sebep olabileceği bildirilmektedir (Shukla ve ark., 1996; Delibaş ve ark., 1996).

Diğer bir çalışmada genel olarak SOR'un indüklediği doku hasarının enflamasyonla yakın ilişkili olduğu vurgulanmıştır (Babior ve ark., 1973). Serbest radikallerin yaptığı hasarlar en çok hücre zarlarının lipit ve proteinlerinde olur. Poliansatüre yağ asitleri oksidatif hasara özellikle duyarlıdır. MDA, hücrel lipitlerin serbest radikal hasarı sonucu üretilir. MDA seviyeleri, insan dokularında serbest radikal üretiminin varlığına katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Norlander ve ark., 1996).

Normal şartlarda, vücuttaki antioksidanlar serbest radikallerin potansiyel hasarını sınırlandırır. Vücutta bulunan antioksidanlar SOD, GSH-Px ve CAT gibi antioksidan enzimler yanında α -tokoferol, β -karoten, retinol, askorbik asit gibi non-enzimatik antioksidanları içerir (Besler ve Çomoğlu, 2003).

Reaktif oksijen türleri aerobik solunumun yan ürünleri ve diğer metabolik ürünlerin yan ürünleri olarak sürekli oluşturulurlar (Januniaux ve ark., 2004). ROS yüksek reaktivite ve onların zararlarını engellemek için oluşan bir dizi antioksidan sistem ile

karakterizedir (Kambayashi ve ark., 2003). ROS miktarı onları inhibe etmek için kullanılan antioksidan miktarından fazla olduğu zaman hücrel oksidatif stres oluşur. Bazı çalışmalar gebelik boyunca ortaya çıkan komplikasyonlar ile oksidatif stres arasında bağlantı olduğunu ortaya koymuşlardır (Chamy ve ark., 2006; Perrone ve ark., 2007; Halliwell ve Whiteman, 2004; Palmieri ve Sblendorio, 2007).

Bogavac ve arkadaşları (2012)' na göre amniyotik sıvılarda total protein miktarını oldukça düşük ve geniş varyasyon aralığında bulmuşlardır. (0.41–19.19 µg/ml) pregnancy-induced hypertensionlu gebeleri çalışma grubu ve sağlıklı olan gebelerinde kontrol grubu olarak belirlendiği çalışmada MDA düzeyleri çalışma grubunda 0,49-20,01 nmol/l, kontrol grubunda ise 1,67-22,43 nmol/l arasında bulunduğu rapor edilmiştir. GSH-Px ve SOD aktivitesi her iki grupta tespit edilebilmiş ve sırasıyla çalışma grubunda GSH-Px : 2.60 - 168.20 mIU/ml; SOD: 4.40- 18.10 U/mgprotein; kontrol grubunda: GSH-Px: 13.40- 117.70 mIU/ml SOD: 4.40- 23.20 U/mg protein olarak bulunmuş ve istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadığı rapor edilmiştir (Bogavac ve ark., 2012). Çalışmamızda normal, NTD ve trisomi 21 olgulara sahip annelerin amnion sıvısında elde edilen örneklerde MDA, CAT ve SOD düzeylerinde anlamlı bir fark olmadığı ortaya konmuştur.

Gebelerde ilk trimesterde alınan amnion sıvısında düşük çıkan GSH-Px aktivitesinin doğuma kadar düşük seyrettiği buna karşın göbek kordon kanında GSH- Px düzeylerinin aynı düzeylerde kaldığı izlenmiştir (Mihailović, Cvetković ve ark., 2000; Korpela ve ark., 1984). Çalışmamızda trisomi 21 olgularımızın GSH-Px düzeylerinin kontrol ve NTD olgularından anlamlı şekilde yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Normal gebelerde artan MDA düzeylerinin toplam serum lipit düzeylerinin artmasıyla ilişkili olduğunu öne sürülmektedir. MDA lipit peroksidasyonunun dolaylı markırı olarak kabul edildiğinden (Wang ve Walsh, 1996; Ishihara, 1978) gebelik boyunca plesenta dokularında artan lipit proksidasyonunun bir sonucu olarak MDA düzeylerinde artışın görüldüğü bildirilmiştir (Maseki ve ark., 1998) .

Trisomi 21 nörolojik olarak ve büyüme geriliğiyle tanımlanan en yaygın kromozom anormalliklerinden biridir. DS'nun patolojik mekanizması net değildir fakat kromozom 21 gen ekspresyonuyla fenotipi belirlenebilmektedir (Wessels ve ark., 2003). SOD-1 DS'nun gelişiminde kritik bir bölge olan 21. kromozomun uzun kolunda haritalanmıştır (Lieman ve ark., 1982). DS' lu hastalarda bu ilaveden SOD-1 geninin sorumlu olabileceği ileri sürülmektedir (Ognibene ve ark.,1999). DS' lu gebelerde amniyotik sıvıdaki SOD aktivitesi normal olanlara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Baeteman ve ark., 1985;

Netto ve ark., 2004). Brooksbank ve Balazs (1984) DS'lu, fetusların serebral korteksinde in-vitro lipoperoksidasyonda MDA tarafından olduğu tahmin edilen önemli bir artış olduğunu rapor etmişlerdir. Pecheur ve arkadaşları (2005) DS'lu fetüslerin beyinlerindeki oksidatif stresin artışının kanıtı olarak in vitro deneylerde lipit peroksidasyonunun artması ve serbest oksijen radikallerinin metabolizmasının bozulmuş olmasından (özellikle artan SOD-1 aktivitesinin glutatyon peroksidaz enziminin artmasına rağmen kompanse edilememesi) kaynaklandığını ileri sürmektedirler (Pecheur, Bourdon ve ark., 2005). Oksidatif stres hamileliğin ilk dönemlerinde ortaya çıkabilir ve bu durum fetal büyüme geriliğine yol açabilir. Fetal büyüme geriliğinin bir amniyotik sıvıdaki izoprostan konsantrasyonunun markır olabileceği öne sürülmüştür (Longini, Perrone ve ark., 2005). SOD süperoksit anyonlarını hidrojen peroksit'e dönüştürerek memeli dokularında toksik oksijen türevlerinden hücreleri korumada rol alan metaloproteinaz ailesine bağlı bir enzimdir.

Bizim çalışmamızda normal, trizomi 21 ve nöral tüp defekti olduğu tespit edilen gebelerden alınan amniyon sıvılarında MDA ve antioksidan sistem parametreleri incelenmiş istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamasına rağmen NTD' li hastalarda kontrol grubuna ve trizomi 21 grubuna göre SOD daha yüksek bulunmuştur. Normal ve NTD' li grupta MDA düzeyleri Trizomi 21 grubuna göre daha düşüktür. Ancak istatistiki olarak anlamlılık bulunamamıştır. GSH- Px düzeyi trizomili grupta diğerlerine göre istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Eser element düzeyleri incelendiğinde Zn, Cu, ve Se kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur. Buna karşın element eksikliğinin anlamlı farklılığından veya etyolojide rol oynayabileceği düşüncesinin ileri sürülmesi için olgu sayısının arttırılması gerekliliğine inanılmaktadır. Bu çalışmada normal karyotip analizine sahip olgularımızın eser element ve MDA, antioksidan enzim düzeylerinin olgu sayısının fazla olması nedeniyle referans sonuç olarak değerlendirilmesinin uygun olacağı düşünülebilir.

6. SONUÇ

Zn, Cu ve Se düzeyleri kontrol grubunda NTD ve down sendromlu gruplara göre yüksek bulunmuştur. Fakat istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Gruplar arasında MDA, SOD VE CAT arasında istatistiksel olarak farklılık gözlenmedi ($p > 0,05$). GSH-Px de gruplar arası ilişkinin $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi. Kontrol ve hasta gruplarına dahil olan gebelerden alınan amniyon sıvılarında eser element ve antioksidan sistemdeki değişiklikleri anlamak için hasta gruplarının sayısının artırılmasının gerektiğine ve daha ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

7. KAYNAKLAR

- Abuja, P.M., Albertini R., 2001. Methods For Monitoring Oxidative Stress, Lipid Peroxidation and Oxidation Resistance of Lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*. 306:1-17
- ACOG Committee Opinion., 1994. Down Syndrome Screening. Publication No. 141, American College of Obstetricians and Gynecologists, Washington, DC.
- Adams, R.D., Victor, M., 1997. Degenerative diseases of nervous system. In *Principle of Neurology*. 5 th ed. New York: Mc Grav Hill Co., 1993:89657-1009
- Ademoğlu, E., 2006. Eser ve Ultraeser Elementler . *Biyokimya* (Ed.Gürdöl F, Ademoğlu E.), Nobel yayıncılık. 613-625.
- Akar, N., Çavdar, A.O., 1988. High incidence of neural tube defects in Bursa, Turkey. *Pediatric and Peinatal Epidemiology*. 2: 41-44.
- Akın, A., Seyrekbasan, B., 2005. İnsan Amniyon Sıvsının Antimikrobiyal Aktivitesi Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, *Ankara Türk Mikrobiyol Cem Dergi* 35:167-177
- Akkuş, İ., 1995. Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım, Konya*. 1-15
- Appelbaum, P., G. Shulman., 1980. "Studies on the growth-inhibiting property of amniotic fluids from two United States population groups." *American journal of obstetrics and gynecology* 137(5): 579.
- Appelbaum, P., G. Shulman., 1980. "Studies on the growth-inhibiting property of amniotic fluids from two United States population groups." *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 137(5): 579.
- Aslan, R., Şekeroğlu, M.R., Bayirođlu, F., 1995. Serbest Radikal Türlerin Membran Lipid Peroksidasyonuna Etkileri ve Antioksidan Savunma, *Y.Y.Ü Sağlık Bil. Derg.*;2(1); 137-142
- Babior, B.M., Kipnes, R.S., Curnutte, J.T., 1973. Biological defense mechanisms. The production by leukocytes superoxide, a potential bactericidal agent. *J Clin Invest*. 52: 741–744.
- Baeteman, M., M. Mattei., 1985. "Immunoreactive SOD 1 in Amniotic Fluid, Amniotic Cells and Fibroblasts from Trisomy 21 Fetus." *Acta Paediatrica* 74(5): 697-700.

- Balcı, S., 1986. Down sendromu. Trizomi 21. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 1:35-38.
- Balcı, S., 1997. Otozomal Kromozom Hastalıkları. Katkı Pediatri Dergisi. 18 (5): 581-603
- Basaga,H.S., 1997. Biochemical aspect of free radical. Are the strongest determinants of plasma antioxidative capacity and serum lipid resistance to oxidation in Finnish men. *Atherosclerosis*,130(1-2):223-233.
- Başaran, N., 1999. Tıbbi Genetik, 7.baskı. Bursa: Güneş & Nobel Tıp Kitabevi. 180-195, 250-256.
- Bayraktar, M., Kılıç, S., Özdemir, İ., Aydemir, S., Ulu, R., 2005. The Investigation of Serum Malondialdehyde Levels and Erythrocyte Antioxidant Enzymes in Hypertension Patients. *J Healt Sci*, 14(2)76-81.
- Beckman, D.A., Brent, R.L., 1986. Mechanism of known enviromental teratogens. *Drugs and Chemicals. Clinics in Perinatology* 13. 649-674.
- Bergmann, K.E., Makosch, G., Tews, K.H.,1980. Abnormalities of hair zinc concentration in mothers of newborninfants with spina bifida. *Am J Clin Nutr* 1980;33:2145 - 50.
- Besler, H.T, Çomoğlu, S., 2003. Lipoprotein oxidation, plasma total antioxidant capacity and homocystein level in patients with multiple sclerosis. *Nutr Neurosci*. 6.189-196.
- Blanco, J., R. Gibbs, 1982. "The association between the absence of amniotic fluid bacterial inhibitory activity and intra-amniotic infection." *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 143(7): 749.
- Blanco, Munoz., J, Lacasana, M., Borja, Aburto, V.H., Torres, Sanchez, L.E., Garcia, A.M., Lopez, Carrillo, L., 2005. Socioeconomic factors and the risk of anencephaly in a Mexican population: A case-control study. *Public Health Rep.*;120:39-45.
- Bogavac, M., Lakic, N., Simin. N., Nikolic, A., Sudji, J., Bozin, B., 2012. Biomarkers of oxidative stress in amniotic fluid and complications in pregnancy. *The Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*. 25(1): 104-108
- Bonnefoy, M., Drai, J., Kostka ,T,. 2002. Antioxidants to slow aging, facts and perspectives. *Presse Med*,31 (25):1174-84.
- Bordson, B.L., Leonardo, V.S., 1991. The appropriate upper age limit for semen donors: a review of the genetic effects of paternal age. *Fertil Steril*; 56: 397-401.
- Botto, L.D., Moor, A.C., Khory, M.J., Ericks, on D.J., 1999. Neural-Tube Defects. *The New England Journal of Medicine*. 341(20): 1509-1519

- Bower, C., Eades, S., Payne, J., D'Antoine, H., Stanley, F., 2004. Trends in neural tube defects in western Australia in indigenous and non-indigenous populations. *Pediatric and Perinatal Epidemiology*. 8: 277-280
- Brandes, J., A. Lightman, et al. 1980. "Zinc concentration in gravida's serum and amniotic fluid during normal pregnancy." *Neonatology* 38(1-2): 66-70.
- Brocklehurst, G., 1976. *Spina bifida for the clinician*. London, William Heinmann Medical Books, , 304-312.
- Burçak, G., Andican, G., 2004. Oksidatif DNA Hasarı ve Yaslanma. *Cerrahpasa J Med*, 35: 159-169.
- Busby, A., Abramsky, L., Dolk, H., Armstrong, B., 2005. Preventing neural tube defect in Europe: population based study. *BMJ*. 330(12): 574-575
- Chamy VM, Lepe J, Catalan A, Retamal D, Escobar JA, Madrid EM. Oxidative stress is closely related to clinical severity of pre-eclampsia. *Biol Res* 2006;39:229–236.
- Cheeseman, K.H., 1992. Free radical and antioxidant. *Br Med Bull*, 12(6): 347-396..
- Cheeseman, K.H., Slater, T.F., 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*,;49(3):481-493.
- Cherian, A., Sena, S., Bullock, R.K., 2005. Cntony AC. İncidence of neural tube defects in the least-developed area of India: a population-based study. *The Lancet*. 366: 930-931
- Committee on Developmental Toxicology., 2000. *National Research Council Scientific Frontiers in Developmental Toxicology and Risk Assessment*. National Academic Press, Washington, DC 49(3):481.
- Coşkun, Z., 2008. Amniyosentez Uygulanan 615 Olgu Sonuçlarının Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi. T.C. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Diyarbakır 44 s.
- Cros, C.E., Halliwell, B., Borish, E., 1987. Oxygen Radicals And Human Disease. *Ann Intern Med*, 107:526-45.
- Cross, P.K., Hook, E.B., 1987. An analysis of paternal age and 47, +21 in 35.000 new prenatal cytogenetic diagnosis data from the New York State Chromosome Registry: no significant effect. *Human Genet*. 77; 307-316.
- Cunningham, F.G., , K.J., Bloom, S.L., Huath, J.C., Gilstrap, III L.G., Wenstrom, K.D., Williams, Obstetrics. 2005. 22nd . New York, McGRAW-HILL, p 213- 219.
- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., 1997. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, 6(3-4):92

- Dağdeviren, A., Çakar, A.N., 1995. Fetal Gelişme ve Plasenta; Plasenta ve Fetal Zarları Histolojisi. Beksaç MS (Ed): Fetal Tıp; Prenatal Tanı. Medical Network & Nobel. Ankara, 14-17.
- Darley-USmar, V., Wiseman, H., Halliwell, B., 1995. Nitric Oxide and Oxygen Radicals: A Question of Balance . FEBS Letters,; (369) 131-135.
- Delibaş, N., Doğru, H., Döner, F., Gedikli, O., Tahan, V., 1996. Presbiakuzi ve serbest radikaller. Kulak Burun Boğaz ve Baş Boyun Cerrahisi Dergisi 4: 8–11.
- Demir, M.B., 2008. Gebelikte Folik Asit Kullanımı ve Nöral TüpDefekti İlişkisi Farkındalığının Demografik Özellikleri. Uzmanlık Tezi. On Dokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı. Samsun. 46s.
- Doğru, H., Delibaş, N., Döner, F., Tüz, M., Uygur, K., 2001. Free radical damage in nasal polyp tissue. Otolaryngol Head Neck Surg. 124: 570–2.
- Dormandy, T.L., 1983. An approach to free radicals. Lancet,;322:1010-1013.
- Döner, F., Tahan, V., Delibaş, N., Doğru, H., Kılışkaya, M., 1997. Baş -boyun tümörlerinde malondialdehit düzeyleri. Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi. 7: 85–8.
- Dröge, W., 2002. Free Radicals in the Physiological Control of ell Function. Physiol Rev, 82: s.48
- Đukic, M.M., 2008. Oksidativni stres – slobodni radikali, prooksi-dansi i antioksidansi [Oxidative stress – free radicals, prooxidantsand antioxidants] (in Serbian).
- Durá Travé, T., R. da Cunha Ferreira, 1984. "Zinc concentration of amniotic fluid in the course of pregnancy and its relationship to fetal weight and length." Gynecologic and obstetric investigation 18(3): 152-155.
- Edwards, M.J., Saunders, R.D., Shiota, K., 2003. Effects of heat on embryos and fetuses. Int J Hyperthermia.;19:295–324.
- Forrester, M.B., Merz, R.D., 2002. Epidemiology of Down syndrome (Trisomy 21), Hawaii, 1986-97. Teratology. 65(5):207-12.
- Frey, L., 2003. Hauser AW. Epidemiology of Neural Tube Defects. Epilepsia. 44(3): 4-13
- Fridovich, I. 1975. Superoxide dismutases. Annu Rev Biochem. 44:147 -59.
- Gibbs, R., Blanco, J., 1982. "Inorganic phosphorus and zinc concentrations in amniotic fluid: correlation with intra-amniotic infection and bacterial inhibitory activity." American journal of obstetrics and gynecology 143(2): 163.
- Golalipour, M.J., Mobasheri, E., Vakili, M.A., 2007. Epidemiology of neural tube defects in northen Iran, 1998-2003. Eastern Mediterranean Health Journal. 13(3): 560-566

- Gökçora, N., Atasever, T., Karabacak, N.I., 1999. Tc-99 HMPAO brain perfusion imaging in young Down's syndrome patients. *Brain & Development*. 21:107-112.
- Groenen, P.M.W., Wevers, R.A., Janssen, F.S.M., Tuerlings, J.H.A.M., Merkurs, J.M.W.M., 2002. Are myo-inositol, glucose and zinc concentrations in amniotic fluid of fetuses with spina bifida different from controls? *Early Human Development* 71. 1 – 8
- Gutteridge, J.M.C., 1995. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chemistry* ;41(12):1819-1828
- Gutteridge, J.M., 1989. *Free radicals in biology and medicine*. 2th Ed. Oxford: Clarendon Pres,.125
- Gutteridge, J.M.C., 1994. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chem Biol Inter* ;91:133-140.
- Gül, Asiye., 2008. Nazal Polip Dokusunda Antioksidan Enzimve Eser Element Düzeyleri. Uzmanlık Tezi, Kahramanmaraş Sütçi İmam Üniveristesesi, Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Kahramanmaraş. 41 s.
- Gülcü, E., 2010. Romatoid Artrit Hastalarında Antioksidan Enzim Düzeyleri ile Hastalık Aktivitesi Arasındaki İlişki. Tıpta Uzmanlık Tezi. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi. Fiziksel Tıp ve Rehabilitasyon Anabilim Dalı. Van. 154s.
- Haan, J.B., Bladier, C., Griffith, P., Keiner, M., O'shea R.D., Kola, İ., 1998. Mice with a homozygous null mutation for the most abundant glutathione peroxidase, Gpx1, show increased susceptibility to the oxidative stres-inducing agents paraquat and hydrogen peroxide. *Issue of August*. 273(35):22528-22536.
- Hall, J.G., 2000. Chromosomal clinical abnormalities. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (Editors). *Nelson Textbook of Pediatrics*. 16th Edition, Philadelphia: W.B Saunders Company, : 325-333.
- Hall, L., Williams, K., Perry, A.C.F., Frayne, J., Jury, J.A., 1998. The majority of human glutathione peroxidase type 5 (GPX5) transcripts are incorrectly spliced : implications for the role of GPX5 in the male reproductive tract. *Biochem J*,;333:5-9.
- Halliwell, B., Whiteman M., 2004. Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and do the results mean? *Br J Pharmacol*;142:231–255.
- Halliwell, B., Cross, C.E., Gutteridge, J.M.C., 1992. Free radicals, antioxidants and human disease: Where are we now? *J Lab Clin Med*,; 598-620.

- Halliwell, B., 1993. Free radicals and vascular disease: how much do we know? *BMJ*, 307(6909):885-6.
- Halliwell, B., 1996. Cellular stress and protection mechanisms. *Biochem Soc Transac* 24: 1023-7.
- Halliwell, B., Gutteridge, John, M.C., 2001 *Free Radicals in Biology and Medicine*. Third Edition. New York: Oxford University Press,; s.22-24.
- Hambidge, K.M., Cassey, C.E., Kreps, N.F., 1986. Trace Elements In Human and Animal Nutrition. Ed 4. Orlando, Academiv Pres. Vol.2,pp 1-137
- Hates, A., Batshaw, M.L., 1993. *Pediatric Clinics of North America*. 40 (3) 523-534.
- Hawkes, W., Kelley, D., Taylor, P., 2001. The effects of dietary selenium on the immune system in healthy men. *Biol Trace Element Res*. 81:189–213.
- Honkonen, E., V. Nántö., 1986. Trace elements and antibacterial activity in amniotic fluid. *Neonatology* 50(1): 21-26.
- Hook, E.B., 1983. Chromosome abnormalities and spontaneous fetal death following amniocentesis: further data and associations with maternal age. *Am J Hum Genet*. 35: 110-116.
- Hook, E.B., 1998. Chromosome abnormalities: prevalence, risks and recurrence. In: Brock DJH, Rodeck CH, Ferguson-Smith MA. (eds) *Prenatal Diagnosis and Screening*. Edinburgh: Churchill Livingstone; 351-92.
- Hurley, L.S., Gowan, I., Swenerton, H., 1971. Teratogenic effect of short term and transitory zinc deficiency in rats. *Teratology*. 4: 199-202.
- Iuliano, L., Colavita, A.R., Leo, R., Pratico, D., Violi, F., 1997. Oxygen free radicals and platelet activation. *Free Radic Biol Med*, 22(6): 999-1006.
- Januniaux, E., Cindrova-Davies T., Johns, J., Dunster, C., Hempstock, J., Kelly, F.J., Burton, G.J., 2004. Distribution and transfer pathways of antioxidant molecules inside the first trimester human gestational sac. *J Clin Endocrinol Metab*. ;89:1452–1458.
- Jones, K.L., 1997. Chromosomal abnormality syndromes. *Simith's Recognizable Patterns of Human Malformation*. 5th Edition, Philadelphia: W.B Saunders Company,; 8-13.
- Jyothy, A., Kumar, K.S, Mallikarjuna, G.N., 2001. Parental age and the origin of extra chromosome 21 in Down syndrome. *J Hum Genet*. 46: 347-350.
- Jyoty, A., Rao, G.N., Kumar, K.S., 2002. Translocation Down syndrome. *Indian J Med Sci*. 56:122-126.

- Kambayashi, Y., Tero-Kubota, S., Yamamoto, Y., Kato, M., Nakano, M., Yagi, K., Ogino, K. 2003. Formation of superoxide anion during ferrous ion-induced decomposition of linoleic acid hydroperoxide under aerobic conditions. *J Biochem.* 134:903–909
- Karatas, F., Karatepe, M., Baysar, A., 2002. Determination of free malondialdehyde in human serum by high performance liquid chromatography, *Anal Biochem.* 311: 76-79.
- Kashyap, M.K., Yadav, V., Sherawat, B.S., Jain, S., Kumari, S., Khullar, M., 2005. "Different Antioxidants Status, Total antioxidant Power and Free Radicals in Essential Hypertension" *Molecular and Cellular Biochemistry*, 277: 89-99.
- Kaynak, K., 2002. Akciğer kanserinde oksidatif hasarın rolü. *Solunum*,;4(4);468-473
- Kiraz, N., Akgün, Y., Akşit, F., 1993. Gebeliğin son haftasında alınan amniyon sıvılarının antibakteriyel etkinliğinin araştırılması. *Mikrobiyol Bül* 27:27.
- Knapen, M.F.C., Zusterzeel, P.L.M., Peters, W.H.M., Steegers, E.A.P., 1999. Glutathione and Glutathione-Related Enzymes in Reproduction. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology.* ;82: 171-184
- Kontos, H. A., Wei, E. P., Ellis, E. F., Jenkins, L. W., Povlishock, J. T., Rowe, G. T., Hess, M.L., 1985. Appearance of superoxide anion radical in cerebral extracellular space during increased prostaglandin synthesis in cats. *Circ. Res.* 57:142–151
- Korpela, H., Loueniva, R., Yrjanheikki, E., Kuppila, A., 1984. Selenium concentration in maternal and umbilical blood, placenta and amniotic membranes, *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 54(2–3), 257–261
- Koşar, F., Şahin, I., Taşkapan, Ç., 2006. Trace element status (Se, Zn, Cu) in heart failure. *Anadolu Kardiyol Derg.* 216–20.
- Kurdoğlu, G., 1989. Vitaminlerle ilgili bozukluklar. 402-404.
- Kurutaş, B. E., İnanç, G. F., Kılınç, M., 2004. Serbest Radikaller. *Arşiv*,; 13:120-13
- Laitinen, R., Jalanko, H., Kolho, K.L., 1985. Zinc and alpha fetoprotein in amniotic fluid from early pregnancies with fetal malformations. *Am J Obstet Gynecol.* 152: 461-565.
- Laurence, K.M., 1985. Prevention of neural tube defects by improvement in maternal diet and pre-conceptional folic acid supplementation. *Prevention of Physical and Mental Congenital Defects, Part B: Epidemiology.* 383-388.
- Lekea, V., Tzoumaka-Bakoula, C., Golding, J., 1988. Incidence of anencephalus and spina bifida in Greece. *Teratology.* 38(4): 347-9

- Lemire, R. J., 1974 Embryology of the central nervous system. In Davis, J. A., and Dobbing, J., eds: Scientific Foundations of Pediatrics. London, William Heinemann Medical Books, , 103-118.
- Lemire, R.J., Siebert, J.R., 1996. Wilkins Neurosurgery. 11: 3411-3418.
- Leushner, J.R., Tevaarwerk, G.J., Clarson, C.L., Harding, P.G., Chance, G.W., Haust, M.D., 1986. Analysis of the collagens of diabetic placental villi. Cell Mol Biol. 32:27 – 35.
- Levanda, A.F., Jabs, E.W., 1999. Dysmorphology: Genetic syndromes and associations. Oski's Pediatrics Principles and Practice. 3rd Edition, Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins,: 2225-2259
- Li, Z., Ren, A., Zhang, L., 2006. Ye R, Li S, Zheng J, Hong S, Wang T, Li Z. Extremely high prevalence of neural tube defects in a 4-county area in Shanxi province, China. Birth Defects Research. 76 (Part A): 237-240
- Lieman-Hurwitz, J., N. Dafni., 1982. "Human cytoplasmic superoxide dismutase cDNA clone: a probe for studying the molecular biology of Down syndrome." Proceedings of the National Academy of Sciences 79(9): 2808.
- Longini, M., S. Perrone., 2005. "Isoprostanes in amniotic fluid: a predictive marker for fetal growth restriction in pregnancy." Free Radical Biology and Medicine 38(11): 1537-1541.
- Lynch, L., Berkovitz, R.L., 1992. Amniocentesis, Skin Biopsy, Umbilical Cord Blood Sampling in the Prenatal Diagnosis of Genetic Disorders.in Reece EA, Hobbins JC, Mahoney MJ.(eds): Medicine of the Fetus and Mother. Philadelphia JB. Lippincott, ,pp 641-52.
- Ishihara. M., 1978. Studies on lipoperoxide of normal pregnant women and of patient with toxemia of pregnancy, Clin. Kim. Acta 81, 1–9.
- Maseki, M., Nishigaki, I., Hagihara, M., Tomoda, Y., Yagi, K., 1998. Lipid peroxide levels and lipid serum content of serum lipoprotein fractions of pregnant subjects with and without pre-eclampsia, Clin. Kim. Acta 155, 155–161.
- McCord, J.M., Edeas, M.A., 2005. SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. Biomed Pharmacother 59(4): 139-42.
- McIntyre, M., Bohr, D. F., 1999. Dominiczak, A. F. Endothelial function in hypertension. Hypertension;34.539–545.
- Mihailovic, M., Chetkovic,M., Ljubic, A., Nedeljkovic, S., Jovanovic, I., Pesut, O., 1998. Selenium and Malondialdehyde Content and Glutathione Peroxidase Activity in

- Maternal and Umbilical Cord Blood and Amniotic Fluid. By Humana Press Inc. All rights of any nature, whatsoever, reserved. 0163-4984/00/7301-0047
- Mihailović, M., M. Cvetković., 2000. "Selenium and malondialdehyde content and glutathione peroxidase activity in maternal and umbilical cord blood and amniotic fluid." *Biological trace element research* 73(1): 47-54.
- Mokhtar, M.M., Abd, el-Aziz A.M., Nazmy, N.A., Mahrous, H.S., 2003. Cytogenetic profile of Down syndrome in Alexandria, Egypt. *East Mediterr Health J.* 9: 37-44.
- Moretti, M.E., Bar-Oz B, Fried S, Koren G., 2005. Maternal hyperthermia and the risk for neural tube defects in offspring: Systematic review and meta-analysis. *Epidemiology.* :216–219.
- Morris, S.E., Thomson, A.O., Jarup, L., de Hoogh, C., Briggs, D.J., Elliott, P., 2003. No excess risk of adverse birth outcomes in populations living near special waste landfill sites in Scotland. *Scott Med J.*48:105–107.
- Netto, C. B., I. R. Siqueira., 2004. -S100B content and SOD activity in amniotic fluid of pregnancies with Down syndrome.-*Clinical biochemistry* 37(2): 134-137.
- Nevin, N.C., 1983. Prevention of neural tube defects in an area high incidans. An Dobbing J(ed) *Prevention Of Spina Bifida Neurol Tube Deffect.* London. Acedemic Pres. Pp 127-144
- Nikkila, A., Rydhström, H., Kalen, B., 2006. The incidence of spina bifida in Sweden 1973-2003. The effect of prenatal diagnosis. *European Journal of Puplic Health.*16(6): 660-662
- Norlander, T., Westrin, K.M., Fukami, M., 1996. Experimentally induced polyps in the sinus mucosa: a structural analysis of the initial stage. *Laryngoscope.* 106:196-203.
- Nozik, Grayck, E., Suliman, H.B., Piantadosi, C.A., 2005. Extrasellular superoxide dismutase. *Int J Biochem Cell Biol.* 37(12):2466–71.
- Ognibene, A., R. Ciuti, et al. (1999). "Maternal serum superoxide dismutase (SOD): a possible marker for screening Down syndrome affected pregnancies." *Prenatal diagnosis* 19(11): 1058-1060.
- Olson, A.D., Hamlin, W.B., 1969. A new merhodfor serum iron and serum iron and total iron-binding capacity by atomic absorpsion spectrophotometry. *Cin Chem.* 15; 438-444
- Oruç, Özcan, E., 1998. 2,4-Diamin ve Azinfosmetilin Tilapia Nilotica'da Karaciğerde Antioksidan Enzim Aktivitelerine ve Lipid Peroksidasyonuna Etkileri. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.

- Özkan, A., Fışkın, K., 2004. Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*. 14:52-60
- Padmanabhan, R., 2006. Etiology, pathogenesis and prevention of neural tube defects. *Congenit Anom, Kyoto.*;46:55-67.
- Palmieri, B, Sblendorio, V., 2007. Oxidative stress tests: overview on reliability and use. Part II. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 11:383–399.
- Parks, R.R., Huang, C.C., Haddad, J., Jr. 1994. Evidence of oxygen radical injury in experimental otitis media. *Laryngoscope*. 104:1389–92.
- Pascal, M.W., Groenen, R. A., Wevers, F. S.M., Janssen, J. H.A.M. Tuerlings, J. M.W.M., Merkus, R. P.M., Steegers, T. 2002. Are myo-inositol, glucose and zinc concentrations in amniotic fluid of fetuses with spina bifida different from controls? *Early Human Development* 71. 1-8.
- Pecheur, M. L., Bourdon E., 2005. "Oxidized SOD1 alters proteasome activities in vitro and in the cortex of SOD1 overexpressing mice." *FEBS letters* 579(17): 3613-3618.
- Perrone, S., Bellieni, C.V., Centini, G., Kenanidis. A., De Marco. L., Petraglia, F., Buonocore, G., 2007. Early oxidative stress in amniotic fluid of pregnancies with Down syndrome. *Clin Biochem*. 40:177–180.
- Karunanithy, R., Roy, A. C., and Ratnam, S. S., 1989. Selenium status in pregnancy: studies in amniotic fluid from normal pregnant women, *Gynecol. Obstet. Invest*. 27(3), 148–150.
- Raha, S., Robinson, B.H., 2000. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends Biochem Sci*. 25:502-507
- Rahman, I., 2003. Oxidative stress, chromatin remodeling and gene transcription in inflammation and choronic lung diseases. *J Biochem Mol Biol*. 36(1): 95-109.
- Ray, J.G., Vermeulen, M.J., Meier, C., Wyatt PR., 2004. Risk of congenital anomalies detected during antenatal serum screening in women with pregestational diabetes. *QJM*; 97: 651–653.
- Rice-Evans, C., 1995. Free Radicals and Antioxidants in Normal and Pathological Processes. in: Rice-Evans C, Bruckdorfer KR, editors. *Oxidative Stress, Lipoproteins and Cardiovascular Dysfunction*. Cambridge: Portland Press Ltd. s.1-33.
- Rodrigo, R., Passalacqua, W., Araya, J., Guichard, C., Bachler, J.P., 2007. Relationship between oxidative stress and essential hypertension. *Hypertens Res*, 30: 1159-1167

- Rosick, U., Rosick, E., Bratter, P. 1983. Determination of zinc in amniotic fluid in normal and high risk pregnancies. *J Clin Chem Biochem.* 21;363-385.
- Sachs, B. and C. Stern (1979). "Activity and characterization of a low molecular fraction present in human amniotic fluid with broad spectrum antibacterial activity." *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 86(2): 81-86.
- Sadler, T. W., 1993, *Langman's Medikal Embrioloji (çev. C Başaklar) Palme Yayınları, No:105, Ankara, 102s.*
- Samson, G.R., 2003. The incidence and demography of neural tube defects in Abu Dhabi, United Arab Emirates. *Journal of Tropical Pediatrics.* 49(4): 256-257
- Saraçoğlu, M., 2008. Posterior Spinal Füzyonda Amniyon Sıvısının Etkisinin İncelenmesi Uzmanlık Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı. Trabzon. 37s.
- Sava, G.M., Morris, J.K., Mutton, D.E., Alberman, E., 2006. Maternal age-specific fetallossrates in Down syndrome pregnancies. *Prenat Diagn.*; 26:499-504
- Scane, T. and D. Hawkins.,1984. Antibacterial activity in human amniotic fluid: relationship to zinc and phosphate. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 91(4): 342-348.
- Scane, T., D. Hawkins., 1984. Antibacterial activity in human amniotic fluid: relationship to zinc and phosphate. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology* 91(4): 342-348.
- Schlievert, P., W., Johnson., 1976. Bacterial growth inhibition by amniotic fluid. VI. Evidence for a zinc-peptide antibacterial system. *American journal of obstetrics and gynecology* 125(7): 906.
- Sencer, E., 1987. Çinko, Beslenme ve Diyet. 123-126.
- Shaw, G.M., Nelson, V., Olshan, A.F., 2002. Paternal occupational group and risk of offspring with neural tube defects. *Paediatr Perinat Epidemiol* ;16: 328–333.
- Shearer,T.R., Lis, E.W., Johnson,K.S., 1979. Copper and zinc in the amniotic fluid and serumfrom high risk pregnant women. *Proc Soc Exp Biol Med.* 161; 382-385
- Sheldon, M., 2006. Reactive Oxygen Species: Toxic Molecules or Spark of Life. *Critical Care.* 10 (1): 208. Available from: [URL:http://ccforum.com/content/10/1/208](http://ccforum.com/content/10/1/208).
- Shepard, T.H., Brent, R.L., Friedman, J.M., 2002. Update on new developments in the study of human teratogens. *Teratology.*;65:153–161.
- Shukla, G.K., Mahajan, A., Pandey, S., 1996. A study of free radicals and scavenging enzyme in tonsillitis. *Boll Chim Farm* 1996; 135: 653–5.

- Snijders, R.J.M., Sebire, N.J., Nicolaides, K.H., 1995. Maternal age and gestational age-specific rates for chromosomal defects. *Fetal Diagn Ther*; 10: 349-55.
- Sodergen, E., 2000. Lipid Peroxidation *In vivo* Evolution and Application of Methods for Measurements, Sweden, Tryck&Medier.
- Srinivas, U., Braconier, J., Jeppsson, B., Abdulla, M., Akeson, B., 1988 Trace element alterations in infectious diseases. *Scand J Clin Lab Invest*; 48:495–500.
- Srinivas, M., Gupta, D.K., Rathi, S.S., Grover, J.K., Vats, V., Sharma, J.D., 2001. Association between lower hair zinc levels and neural tube defects. *Indian J Pediatr*.68:519 – 22
- Stene, J., Fischer, G., Stene, E., 1977. Paternal age effect in Down's syndrome. *Ann Hum Genet*.40: 299-306.
- Stevenson, R.E., Allen, W.P., Pai, G.S., 2000. Best R, et al. Decline in Prevalence of Neural Tube Defects in an High-Risk Region of the United States. *Pediatrics*. 106(4): 677-683
- Sustrova, M., Sarkova, V.,1997. Down's syndrome effect of increased gene expression in chromosome 21 on the function of the immune and nervous system. *Bratisl Listy*; 98(4): 211-228.
- Thompson, M. W., and Rudd, N. L.,1976. The genetics of spinal dysraphism. In Morley, T. P., ed. *Current Controversies in Neurosurgery*. Philadelphia, W. B. Saunders Co. 126-146.
- Tunçbilek, E., Boduroğlu, K., Alikabifoğlu, M., 1999. Neural tube defects in Turkey: prevalence, distribution and risk factors. *Turk J Pediatr*; 41: 299-305.
- Turan, J.M., Say, L., Bulut, A., 2000. Nöral tüp defektlerinin folik asit kullanımını . Sürekli tıp eğitim dergisi. Ağustos:1-6
- Uriu-Hare, J.Y., Stern, J.S., Keen, C.L., 1989. Influence of maternal dietary Zn intake on expression of diabetes-induced teratogenicity in rats. *Diabetes*. 38:1282 – 90.
- Vallee, B.L., Falchuk, K.H.,1993. The biochemical basis of zinc physiology. *Physiol Rev*. 73:79 – 118
- Vrijheid, M., Dolk, H., Armstrong, B., Eurohazcon collaborative group., 2002. Hazard potential ranking of hazardous waste landfill sites and risk of congenital anomalies. *Occup Environ Med*;59:768–776.
- Wald, N., Stone, R., Cuckle, H.S., Grudzinskas, J.G., Barkai, G., Brambati, B., Teisner, B., Fuhrmann, W., 1992. First trimester concentrations of pregnancy

- associated plasma protein A and placental protein 14 in Down's syndrome. *BMJ.*; 305:28-33.
- Warkany, J., Petering, H.G., 1972. Congenital malformation of the central nervous system in rats produced by maternal zinc deficiency. *Teratology.* 5: 319-322.
- Weekes, E.W., Tamura, T., Davis, R.O., Birch, R., Vaughn, W.H., Franklin, J.C., 1992. Nutrient levels in amniotic fluid from women with normal and neural tube defect pregnancies. *Biol Neonate.* 61:226 – 31.
- Wessels, M., F. Los, et al. (2003). "Poor outcome in Down syndrome fetuses with cardiac anomalies or growth retardation." *American Journal of Medical Genetics Part A* 116(2): 147-151.
- Wood, B.J., Whyley, G.A., Lawrence, D.M., 1985. Evaluation of amniotic fluid zinc levels in open neural tube defects. *J Gynecol Obstet.* 5: 215-218.
- Wang, Y., and Walsh, S. W., 1996. Antioxidant activities and mRNA expression of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in normal and preeclamptic placentas. *J. Soc. Gynecol. Invest.* 3(4), 179–184.
- Yalçın, A.S., 1998. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim* II 342 6.
- Yamakawa, K., Huot, Y.K., Haendelt, M.A., Hubert, R., Chen, X.N., Lyons, G.E., 1998. DSCAM: a novel member of the immunoglobulin superfamily maps in a Down syndrome region and is involved in the development of the nervous system. *Hum Mol Genet.* 7 (2): 227-237
- Yeum, K.J., Russell, M.R., Krinsky, I.N., Adlani, G., 2004. Biomarkers of antioxidant capacity in hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Archives of Biochemistry and Biophysics*,;430: 97-103.
- Young, I.D., 2005. *Medical Genetics*, Oxford: Oxford University Press. 52-56.
- Youngs, S., Gregson, N., Jacobs, P., 1991. The efficacy of maternal age screening for Down's syndrome in Wessex. *Prenatal Diagn*, 11:419-25.
- Yülek, F., Or, M., Ozogul, C., Isik, A.C., Ari, N., Stefek, M., Bauer, V., Karasu, C., 2007. Links Effects of stobadine and vitamin E in diabetes-induced retinal abnormalities: involvement of oxidative stress. *Arch Med Res.* 38(5): 503-11.
- Zimmerman, A.W., 1984. Hyperzincemia in anencephaly and spina bifida. A Clue to the pathogenesis of neural tube defects. *Neurology.* 34; 443-450
- Zimmerman, B. J., Granger, D. N., 1994. Mechanisms of reperfusion injury. *Am. J. Med. Sc.* ; 307:284–292

Zwart, De L.L., Meerman, J.H.N., Commandeur, J.N.M., Vermeulen, N.P.E., 1999.
Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in
humans. *Free Radical Biology and Medicin*,; 26: 202-226

ÖZ GEÇMİŞ Filiz ATALAY

Ev Adresi : Nurdağı/ GAZİANTEP
Telefon: 0533 306 23 43 E-mail: filizatalay2700@hotmail.com

KİŞİSEL BİLGİLER

Doğum Tarihi: 28 Şubat 1986
Doğum Yeri: Sivas
Medeni Hali: Bekar

EĞİTİM BİLGİLERİ

2009-2012 Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya ABD. Yüksek Lisans
2003-2008 Erciyes Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Lisans
1999-2003 Nuh Mehmet Baldöktü Anadolu Lisesi

YABANCI DİL BİLGİSİ

İngilizce: UDS : 78,75

BİLGİSAYAR BİLGİSİ

MS Office Programları.

KATILINAN EĞİTİMLER/SEMİNERLER

17025 Laboratuvar teknikleri Eğitimi
HPLC Kullanım ve Bakım eğitimi
Flow-Sitometre Kullanım ve Bakım Eğitimi
ICP-OES Kullanım ve Bakım Eğitimi
LC-MS-MS Kullanım Eğitimi

YAYINLAR

Plasma selenium, zinc, copper and lipid levels in postmenopausal Turkish women and their relation with osteoporosis. [Arikan DC](#), [Coskun A](#), [Ozer A](#), [Kilinc M](#), [Atalay E](#), [Arikan T](#). [Biol Trace Elem Res](#). 2011 Dec;144(1-3):407-17. Epub 2011 Jun 8.

Elevation of both reactive oxygen species and antioxidant enzymes in vein tissue of infertile men with varicocele. Altunoluk B, Efe E, Kurutas EB, Gul AB, **Atalay F**, Eren M.