

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**ABORTUS İMMİNENS HASTALARINDA LİPİD PEROKSİDASYONU (MDA)
VE BAZI ANTİOKİDANT (SOD, GSH, GP_x VE CAT) AKTİVİTELERİN
ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN : Eren SARIKAYA
DANIŞMAN : Prof. Dr. Halit DEMİR

VAN-2020

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

**ABORTUS İMMİNENS HASTALARINDA LİPİD PEROKSİDASYONU (MDA)
VE BAZI ANTİOKİDANT (SOD, GSH, GP_x VE CAT) AKTİVİTELERİN
ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

HAZIRLAYAN: Eren SARIKAYA

VAN-2020

KABUL VE ONAY SAYFASI

Kimya Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Halit DEMİR danışmanlığında, Eren SARIKAYA tarafından hazırlanan “**Abortus İmminens Hastalarında Lipid Peroksidasyonu (MDA) ve Bazı Antioxidant (SOD, GSH, GPx ve CAT) Aktivitelerinin Araştırılması**” isimli bu çalışma Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili hükümleri gereğince... /.../2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Halit DEMİR

İmza:

Üye : Prof. Dr. İbrahim YÖRÜK

İmza:

Üye : Dr.Öğretim Üyesi Mustafa BİLİCİ

İmza:

Üye :Dr.Öğretim Üyesi Fikret TÜRKAN

İmza:

Üye :Dr.Öğretim Üyesi Mehmet Nuri ATALAR

İmza:

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/....../2019 gün ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Enstitü 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 bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Eren SARIKAYA

ÖZET

ABORTUS İMMİNENS HASTALARINDA LİPİD PEROKSİDASYONU (MDA) VE BAZI ANTİOKİDANT (SOD, GSH, GPx VE CAT) AKTİVİTELERİN ARAŞTIRILMASI

SARIKAYA, Eren
Doktora Tezi, Kimya Anabilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Halit DEMİR
Ocak 2020, 83 Sayfa

Bu tez çalışmasında Van Bölge Eğitim Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum servisinde abortus imminens teşhisi konulmuş hastalardan alınan serum örneklerinden bazı antioksidant aktiviteleri (SOD, GSH, GPx ve CAT) ve lipid peroksidasyon ürünü olan MDA düzeyi araştırıldı. Abortus imminens hastalarında SOD, GPx, CAT aktiviteleri ve GSH'de sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşük bulundu ($p<0.001$) (Çizelge 4.1). Hasta grubun serum CAT aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük bulundu ($p<0.001$) (Çizelge 4.1). Hasta grubu serum GSH seviyesi kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük bulundu ($p<0.001$) (Çizelge 4.1). Hasta serum MDA düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu ($p<0.001$) (Çizelge 4.1). Sonuç olarak; SOD, CAT, GSH ve GPx aktivitelerinin kanda yüksek ve MDA düzeyin düşük olması, abortus imminens hastalığı riskini azaltıcı bir faktör olarak değerlendirilebilir. Ayrıca, oksidatif stres ve antioksidan dengedeki herhangi bir hasarının, abortus imminens gelişiminin hastalığının muhtemel bir nedeni olduğu düşünülebilir.

Anahtar kelimeler: Abortus imminens, CAT, GPx, GSH, MDA, SOD.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF LIPID PEROXIDATION (MDA) AND SOME ANTIOXIDANT (SOD, GSH, GPx AND CAT) ACTIVITIES IN ABORTUS IMMINENS PATIENTS

SARIKAYA, Eren

Ph.D. Thesis, Department of Chemistry

Thesis Advisor: Prof. Dr. Halit DEMİR

January 2020, 83 Pages

In this study, some antioxidant activities (SOD, GSH, GPx and CAT) and serum MDA levels were determined from serum samples taken from patients diagnosed with abortus imminens in Gynecology Department Van Regional Training and Research Hospital Gynecology Department. SOD, GPx, CAT activities and GSH in abortus imminens patients were found to be significantly lower than healthy controls ($p < 0.001$) (Table 4.1). Serum CAT activity of the patient group was significantly lower than the control group ($p < 0.001$) (Table 4.1). Serum GSH level in the patient group was significantly lower than the control group ($p < 0.001$) (Table 4.1). Patient serum MDA level was significantly higher than the control group ($p < 0.001$) (Table 4.1). As a result; High SOD, CAT, GSH and GPx activities and low MDA levels can be considered as a factor reducing the risk of aborus imminens disease. Furthermore, any damage to oxidative stress and antioxidant balance may be considered as a possible cause of the disease of the development of abortus imminens.

Keywords: Abortus imminens, CAT, GPx, GSH, MDA, SOD.



ÖN SÖZ

Bu çalışma, Van bölgesinde karşılaşılan abortus imminensli hasta ve sağlıklı kontrol grubu arasındaki bazı antioksidan aktivitesi ile oksidatif stresi düzeyi arasındaki farklılığı saptamak ve abortus imminensli hastalarda temel ve klinik tanıda yararını saptamak üzere amaçlanmıştır.

Çalışmanın planlanmasında ve yürütülmesinde her türlü yardımını esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Halit DEMİR'e ve eşi Dr. Canan DEMİR'e ve tezimi yazmamdaki gerekli motivasyonu sağlayan abim Ahmet ALTAN'a ve hayatım boyunca bana her konuda destek olan ve beni "layıkıyla insan olmak her şeyden aladır" şiarıyla yetiştiren anne ve babama teşekkür ederim.

Aralık 2019

Eren SARIKAYA



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖN SÖZ.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER LİSTESİ	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ	5
2.1. Oksidatif Stres	10
2.1.1. Malondialdehitin tanımı ve biyokimyasal önemi	16
2.2. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar	21
2.2.1. Süperoksit dismutaz enzimi ve biyokimyasal önemi	30
2.2.2. Katalaz enzimi ve biyokimyasal önemi.....	31
2.2.3. Redükte glutatyon ve biyokimyasal önemi.....	31
2.2.4. Glutatyon peroksidaz enzimi ve biyokimyasal önemi	35
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	39
3.1. Materyal.....	39
3.1.1. Cihaz ve malzemeler	39
3.1.2. Reaktifler ve kimyasal maddeler	40
3.2. Yöntem	40
3.3. Analiz Metodları.....	41
3.3.1. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi tayini	41
3.3.2. Katalaz (CAT) aktivitesi tayini	42
3.3.3. Redükte glutatyon (GSH) tayini	43
3.3.4. Glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi tayini	44
3.3.5. Malondialdehit (MDA) düzeyi tayini	45
3.4. İstatistiksel analiz	46

	Sayfa
4. BULGULAR	47
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	53
KAYNAKLAR	65
ÖZ GEÇMİŞ.....	83



ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. SOD aktivitesi tayin yöntemi	42
Çizelge 3.2. Glutasyon peroksidaz aktivitesi tayini	45
Çizelge 4.1. Çalışma popülasyonunun SOD, CAT ve GPx serum aktiviteleri ile serum GSH ve MDA düzeyi.....	48



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Erken gebelik kesesi.....	8
Şekil 2.1. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu.....	13
Şekil 2.2. MDA'nın TBA ile reaksiyonu ve oluşan renkli TBA-MDA kompleksinin yapısı.....	17
Şekil 2.3. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu.....	20
Şekil 2.4. Serbest Radikallerin Oluşumu.....	27
Şekil 2.5. Genel Glutasyon metabolizmasının şematik gösterimi.....	34
Şekil 2.6. Redükte glutasyon.....	34
Şekil 4.1. Abortus imminensli ve kontrol grubu SOD aktivitesi karşılaştırması.....	48
Şekil 4.2. Abortus imminensli ve kontrol grubu CAT aktivitesi karşılaştırması.....	49
Şekil 4.3. Abortus imminensli ve kontrol grubu GSH düzeyi karşılaştırması.....	49
Şekil 4.4. Abortus imminensli ve kontrol grubu GPx aktivitesi karşılaştırması.....	50
Şekil 4.5. Abortus imminensli ve kontrol grubu MDA düzeyi karşılaştırması.....	50



SİMGELER ve KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda belirtmiştir.

Simgeler	Açıklama
Cu	Bakır
Fe	Demir
Zn	Çinko
O ₂	Oksijen
O ₃	Ozon
O ₂ ⁻	Süperoksit
OH ⁻	Hidroksil
°C	Santigrad derece sıcaklığı
dk	Dakika
g	Gram
h	Saat
L	Litre
ml	Mililitre
µl	Mikrolitre
mg	Miligram
mM	Milimolar
M	Molar
N	Normal
rpm/dk	Devir/dakika

Simgeler**Açıklama**

μg	Mikrogram
μm	Mikrometre
β	Beta
α	Alfa
kDa	Kilodalton
U/L	Ünite/litre

Kısaltmalar**Açıklama**

ATP	Adenozintrifosfat
CAT	Katalaz
CP	Compounding Protein
DNA	Deoksiribonükleik asit
DFP	Diizopropilflorofosfat
EDTA	Etilen Diamin Tetraasetik Asit
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
HDL	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
H_2O_2	Hidrojen peroksit
Kcal	Kilokalori
LDL	Düşük Dansiteli Lipoprotein
MDA	Malondialdehit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NO_2	Nitrojen dioksit

Kısaltmalar	Açıklama
ROR	Reaktif Oksijen Radikalleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RNA	Ribonükleik asit
SOD	Süperoksit dismutaz
TBA	Tiyobarbitürik asit
TNM	Tümör sınıflama sistemi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
UV	Ultraviyole
BHK	Bazal Hücreli Karsinom
SOR	Serbest Oksijen Radikalleri
GSH	Redükte Glutasyon
Mn	Mangan
Cu	Bakır
Fe	Bakır
Ni	Ni
GSSG	Okside Glutasyon
(PLGSH-Px)	Fosfolipit Hidroperoksit Glutasyon Peroksidaz
UVB	Ultraviyole B
KOH	Potasyum Hidroksit
Na-azid	Sodyum Azid
Na ₂ CO ₃	Sodyum Karbonat
BSA	Bovin Serum Albumin
NH ₄ (SO ₄)	Amonyum Sülfat
CuCl ₂	Bakır Klorür

Kısaltmalar**Açıklama**

NaOH

Sodyum hidroksit

DTNB

5,5-ditiobis-(2-nitrobenzoik asit)

BHT

Bütilhidroksitoluen çözeltisi

TBA

Tiobarbitürik asit çözeltisi

TCA

Trikloroasetik asit çözeltis





1. GİRİŞ

Abortus, canlı bir doğum gerçekleşmeden önce meydana gelen erken doğumdur ve düşük ile eş anlamlıdır. Ayrıca abortus, fetüsün ortadan kaldırılması için yapılan indüklenmiş bir gebelik sonlandırılması anlamına da gelir (Cunningham ve ark., 2010). Abortustan sorumlu olan mekanizma çoğu zaman belirsizdir, fakat gebeliğin çok erken aylarında gebelik kesesinin spontan olarak atılmasının öncesinde embriyo ya da fetusun ölümü görülür. Bu sebeple erken abortusun etyolojik değerlendirilmesi, fetal ölümün sebebinin kesinleştirilmesini içerir (Cunningham ve ark., 2001).

Düşükler; kendiliğinden düşük, tekrarlayan düşük, zorlanan düşük ve septik düşük olarak sınıflandırılır. Klinik tablo; düşük tehdidi, kaçınılmaz düşük, tam olmayan düşük, tam düşük ve kalık düşük şeklinde oluşabilir (Özgüven, 2007). Dünya sağlık örgütü (WHO) tarafından 1977 yılında, fetüs ağırlığı ve gebelik süreci kriter alınarak bir abortus tanımı yapılmıştır. Bu tanıma göre, 20. gebelik haftasından önce, 500 gramdan daha az ağırlıklı embriyo ya da fetüs ve eklerinin, tamamının ya da bir kısmının uterus kavitesi dışına atılması olayına abortus denilmektedir (Beksaç ve ark., 2001). Abortus sonucu olan vajinal kanamalar birinci ve ikinci trimesterde olan kanamalar arasında ilk sıradadır. Abortus gebeliğin en çok görülen komplikasyonudur (Atasü ve Şahmay, 2001). Düşük tehdidi, gebeliğin 20. haftasından önce vajinal kanama ve batında kramp şeklinde ağrı bulguyla tanımlanır. Tüm gebeliklerin yaklaşık % 30- 40'ında görülür. Kanama çoğunlukla azdır ve alt batında hafif ya da kramp ağrısı şeklinde oluşabilir. Fizik muayenede karın çoğunlukla hassas değildir ve serviks kapalıdır. Kanamanın servikal ostan geldiği görülür ve servikal hareketlerde veya adnexial bölgede hassasiyet görülmemektedir. Birçok hastada kanama 8-10. gebelik haftasında olsa da, gerçek kayıp genelde 8. gebelik haftasından önce olmaktadır (Simpson ve ark., 1987).

Abortus imminens için etyolojik faktör net olarak bilinmemektedir. Abortus imminensli olguları diğer patolojilerden ayırt edebilmek amacıyla seri beta hcg ölçümleri ve transvajinal ultrasonografi ile takip yapılmaktadır.

Abortus imminens, düşük tehdidi anlamına gelmektedir. Gebeliklerin % 20-25'inde ilk aylarda damlama şeklinde vajinal kanama olmakta ve abortus imminensin hemen hemen yarısı düşükle sonlanmaktadır. Abortus imminens tanısı; öykü, pelvik muayene, laboratuvar araştırmaları (serum β -hCG düzeyi, estradiol, progesteron, human plasental laktojen) ile yapılır.

Spontan gebelik kayıpları vajinal kanama hikayesi, konsepsiyon ürünlerinin mevcudiyeti, servikal kanalın dilatasyonuna göre abortus imminens (düşük tehdidi), abortus incipiens (önlenemeyen düşük), missed abortus, septik abortus ve habitüel abortus olarak alt gruplara ayrılır (Tulandi ve Al-Fozan, 2011).

Düşük tehdidinin klinik tanısı, gebeliğin ilk yarısı boyunca kanlı vajinal akıntı veya kanama olması halinde konulabilir. Bu durum sıklıkla görülen bir olaydır ve dört veya beş kadından birinde erken gestasyon süresince lekelenme şeklinde ya da daha ağır vajinal kanama gerçekleşebilir. Erken gebelikte kanaması olan kadınların hemen hemen yarısında abortus olur. Geri kalan kısmı 20. haftanın üzerine devam eder. Kanama 10. gebelik haftasında gerçekleşirse % 90, eğer 13. haftasında olursa % 99 olasılıkla gebelik devam eder (Stabile ve ark., 1987). Abortus tehdidinde kanama genelde hafiftir ancak günler ya da haftalarca devam edebilir. Bununla birlikte preterm doğum, düşük doğum ağırlığı, perinatal ölüm gibi suboptimal gebelik sonuçlarında artmış risk sürer. İnfantta malformasyon riskinin artmış olarak görünmemesi önemlidir (Funderburk ve ark., 1980; Batzofin ve ark., 1984).

İzole bir mutasyon oluşumu veya poligenik (birden fazla sayıda genin beraberce bozuk olması) faktörler kromozomal yapıyı değiştirmeden genetik bozukluğuna yol açabilirler. Bu durum daha geç haftalarda düşük yapar ve maternal yaş arttıkça risk artar (Sierra ve Stephenson, 2006).

Abortus imminens sadece erken gebelik haftasındaki kayıplar olarak tanımlanamaz. Yapılan birçok bilimsel araştırmada abortus imminens öyküsüne sahip gebelerin ilerleyen gebelik haftalarında gebeliğe bağlı bazı komplikasyonlar ile yüz yüze kaldığını ortaya çıkmıştır. Abortus imminens tanısından ötürü izlenen gebelerde, ilerleyen haftalarda istenmeyen gebelik komplikasyonları 2.2 kat daha fazla ortaya çıkmaktadır (Johns ve ark., 2003). Preterm doğum ve antepartum hemoraji riskinin abortus imminens tanılı gebelerde arttığını gösteren diğer bir

çalışma ise Wijesiriwardana ve ark.'nın çalışmasıdır. Fakat Wijesiriwardana ve ark., abortus imminensin gebelik komplikasyonlarında yalnızca çok az bir risk artışına sebep olduğunu iddia etmişlerdir; preterm doğum riskinde 1.56 kat, antepartum kanama riskinde ise 1.83 kat risk artışı gözlemleyen çalışmacılar Mulik ve ark.'nın aksine abortus imminensin abrupsiyo plasenta riskini arttırmadığını göstermişlerdir (Wijesiriwardana ve ark., 2006). Abortus imminensin obstetrik sonuçlara etkisini araştıran en geniş kapsamlı çalışma Weiss ve ark. tarafından yapılmıştır. Weiss ve ark. tarafından abortus imminensli gebeler içerisinde hafif kanaması olanlarda ilerleyen gebelik haftalarında preeklampsi riskinin 1.5 kat, preterm doğum riskinin 1.3 kat, abrupsiyo plasenta riskinin 1.6 kat, 24 haftanın altında gebelik kaybı riskinin 2.5 kat daha fazla olduğunu, ciddi kanaması olanlarda ise intrauterin gelişme geriliğine sahip fetus riskinin 2.6 kat, preterm doğum riskinin 3 kat, erken membran rüptürü riskinin 3.2 kat, 24 haftanın altında gebelik kaybı riskinin 4.2 kat ve abrupsiyo plasenta riskinin 3.6 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir (Weiss ve ark., 2004).



2. KAYNAK BİLDİRİŞLERİ

İlk trimester gebeliklerde vajinal kanama olgusu en çok görülen komplikasyondur. Vajinal kanama ve sancı ile karakterize abortus imminens obstetrikte sorun yaratan bir durumdur, prognozun ne olacağı önceden kesin olarak bilmek çok zordur. Klinik olarak tanı konulan gebeliklerin yaklaşık % 20'sinde vajinal kanama vardır (Krause ve Graves, 1999). Ayrıca, gebeliğin ilk yarısındaki hafif ve orta şiddetteki kanamalar ve myometrium kontraksiyonlarına bağlı ağrılar düşük tehdidi olarak adlandırılmaktadır.

Abortus imminenste beyaz küre sayısı (lökosit) başlangıçta baskılanmıştır. Daha sonra belirgin lökositoz gelişir. Plazma glikoz konsantrasyonu başlangıçta stress hormonlarının etkisiyle yükselir fakat hepatik fonksiyonlar bozulduğunda glukoneogenez azalır ve hipoglisemi gelişir. Trombosit sayısında ve fibrin düzeylerinde azalma, artmış fibrin yıkım ürünleri, protrombin zamanında uzama beklenir (Gonik, 1999).

Sigara içimi, öploidik abortus riskindeki artışla ilişkili bulunmuştur (Harlap ve ark., 1980). Günde 14'ten fazla sigara içen kadınlar için risk, kontrollere göre yaklaşık iki kat daha fazla olarak bulunmuştur (Kline ve ark., 1980).

Gebeliğin ilk 8 haftasında sık alkol kullanımı hem spontan abortus hem de fetal anomalilere neden olabilmektedir (Floyd ve ark., 1999) Abortus riskinin, içmeyenlerle karşılaştırıldığında haftada iki defa içen kadınlarda iki katına, her gün alkol alanlardaysa üç katına çıktığı bildirilmektedir (Kline ve ark., 1980).

Günde dört fincandan fazla kahve tüketiminin abortus riskini hafif yükselttiği görülmektedir (Armstrong ve ark., 1992). Risk, artan miktarla birlikte artmaktadır. Bir kafein metaboliti olan "Paraksantin" in çok yüksek düzeylerde olması durumunda, abortus riskinde anlamlı iki katlık bir artış olduğu gözlemlenmiştir (Klebanoff ve ark., 1999).

Yüksek radyasyona maruziyetin gebelerde abortus meydana getirebileceği kabul edilmektedir (Brent, 1989)

Rahim içi araçlar, kontraseptif başarısızlıktan sonar septik abortus insidansında meydana gelen artışla ilişkilidir (Farley ve ark., 1992).

İş sebebiyle anestetik gazlara maruz kalan kadınlarda spontan abortus riskinde artış olduğu görülmüştür (Biovin, 1997). Arsenik, kurşun, formaldehit, benzen ve etilen oksitin abortusa neden olabileceği yönünde çalışmalar vardır (Barlow ve Sullivan, 1982).

Diğer risk faktörleri ise ileri anne yaşı, önceki gebeliklerden birisinin düşükle sonuçlanması, annenin kötü alışkanlıkları (sigara, alkol, kokain vb.), konsepsiyon döneminde antiinflamatuvar ilaç kullanımını sayılabilir.

Kardiyak aktivite gözleendiğinde risk oldukça azalıyor olsa da, bu gebeliklerin yarısı düşük ile sonuçlanmaktadır. Birçok gebelik kadın gebelik tanısı almadan spontan olarak kaybedilmektedir ve düşük tanısı ağır ya da gecikmiş bir menstrüasyon sebebiyle gözden kaçmaktadır (Tongsong ve ark., 1995).

Biyokimyasal belirteçlerin çalışılmasındaki amaç hem kanaması olan hastaların prognozunu belirlemek hem de bu hastaların tedavisinde fikir sahibi olmaktır. HCG ve progesteron ölçümü en sık kullanılan biyokimyasal belirteçlerdir ve hem normal hem de anormal gebeliklerdeki sekresyon paternleri yaygın olarak incelenmiştir. Birçok yeni çalışmada da daha yeni serum belirteçleri çalışılmaktadır. Bugün hangi gebeliklerin terne kadar devam edeceği hangilerinin abortusla sonuçlanacağını gösteren tam anlamı ile güvenilir hiçbir test yoktur (Witt ve ark., 1990a). Birçok çalışmada göstermiştir ki klinik olarak tanımlanan gebeliklerin % 15-20'si düşükle sonuçlanır (Zinaman ve ark., 1996). Düşük tehdidinde rol alan faktörler multifaktöryeldir. Etyolojide çeşitli fetal ve maternal faktörler suçlansa da etyoloji henüz netliğe kavuşmamıştır (Kaufmann ve ark., 2003).

İlk üç ay tarama testinde kullanılan parametrelerden biri olan gebelikle ilişkili plasma proteininin (pregnancy-associated plasma protein-A;PAPP-A) düşük serum düzeylerinin kötü gebelik ve yenidoğan sonuçları ile ilişkili olabileceği daha önce yapılan bazı çalışmalarda gösterilmiştir (Smith ve ark., 2006).

Meekins'in ve diğer birçok araştırmacının yaptığı çalışmalarda gösterdiği gibi kötü obstetrik sonuçlarla ilgili patolojik değişikliklerin birçoğu plasental implantasyon ve gelişimin gerçekleştiği gebeliğin ilk üç ayında meydana gelmektedir. Gerçekleşen bu değişiklikleri hastalık süreci başlamadan gösterebilen bazı biyokimyasal belirteçler, bize bu durumlara karşı erken önlem alma hatta belki de gelecekte abortus imminense engel olma şansı verecektir. Bu sebeple perinataloji bilim dalı özellikle son yıllarda plasental

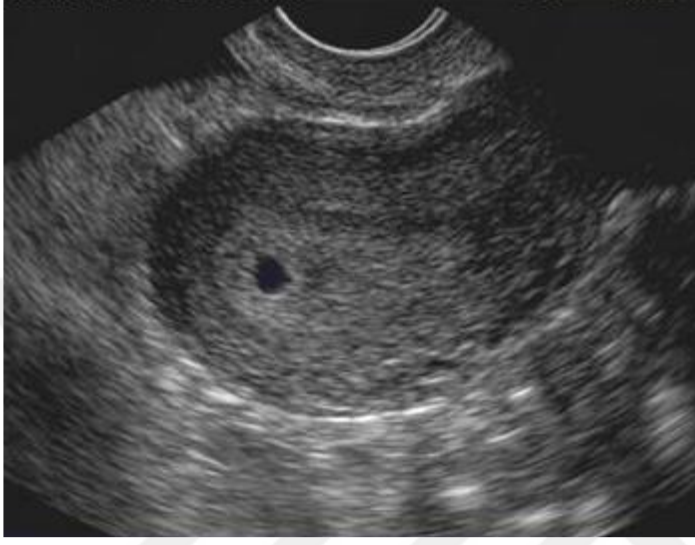
eksiklikleri belirlemek amacıyla birçok plasental biyokimyasal belirteç, çeşitli renkli doppler ultrason yöntemleri ve parametreleri, fetal ve plasental gelişimi değerlendiren çeşitli ultrasonografik yöntemler üzerinde çalışmalar üretmektedir (Burger ve ark., 2004).

Abortus imminens olduğu düşünülen gebelerde fizik muayeneyi takiben gebeliğin yaşını, lokalizasyonunu ve canlılığını belirlemek için yapılması gereken ilk tetkik ultrasonografidir. Ultrasonografide endometrial kavitede canlı gebeliğin görülmediği durumlarda ektopik gebelik veya anormal intrauterin gebelik akla gelmelidir.

Diğer bazı serolojik belirteçlerin de abortus imminensde gebeliğin devamını öngörmeye kullanılabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Florio ve ark. abortus imminensde bakılan serum inhibin A, aktivin A ve hCG düzeylerinin abortus ile sonuçlanan gebeliklerde, devam eden gebeliklere oranla daha düşük düzeylerde olduğunu ve serum inhibin A düzeyi için abortusu öngörmedeki MoM (multiple of medians) değerinin 0.553 MoM olduğunu saptamışlardır (Florio ve ark., 2004). Abortus imminens vakalarında etkinliği en çok araştırılmış medikal ajan progesterindir. Yapılan bir çalışmada elde edilen Cochrane verilerinde progesteronun abortus imminensi önleme veya tedavi etmedeki etkinliği net olarak ortaya konulmamıştır (Haas ve Ramsey, 2008).

Etiyolojik nedeni tam olarak aydınlatılamayan abortus imminensin temelinde bazı moleküler defektlerin olduğu düşünülmektedir. Ekstraselüler matriksin düzenlenmesinde rol oynayan ve proteolitik aktiviteye sahip bir grup enzimden oluşan "Matriks metalloproteinaz (MMP)" enzim sisteminin gebelikteki kimi hastalıklarda görevinin olduğu bilinmektedir. Yapılan araştırma sonucunda abortus imminensde serum MMP-2 düzeylerinde azalma olduğu, MMP-9 düzeylerindeyse artış olduğu gözlemlenmiştir. MMP-2 düzeylerindeki bu azalmanın plasentasyon durumundaki bir probleme işaret edebileceği, MMP-9 artışının ise bu sorunsalı düzeltmek için gerçekleşen kompanzatuvar bir artış olduğu düşünülmektedir (Şahincioğlu, 2008). Ayrıca, isotretinoin kesinlikle yükselmiş spontan düşük insidansı ile ilişkilidir (Schnorr ve ark., 1991). Video gösterim terminalleri ve eşlik eden elektromanyetik alanlara maruz kalma da abortus riskini arttırmamaktadır (Gardella ve Hill, 2000).

Onuncu hafta ve daha önceki haftalardaki fetus için embriyo terimi kullanılmaktadır. 12. gestasyonel haftaya kadar olan abortuslar erken abortus olarak adlandırılırken, 12-20. gestasyonel haftalar arasında gerçekleşen abortus geç abortus olarak ifade edilmektedir (Atasü ve Şahmay, 2001).



Şekil 1.1. Erken gebelik kesesi.

Abortus imminens tanılı olguların gebeliklerinde ortaya çıkacak komplikasyonları ön görme bakımından çeşitli markerlar, serum belirteçleri ve ultrasonografi bulguları kullanılarak yapılan retrospektif ve prospektif çalışmalar bulunmaktadır.

Abortus imminensde erken tanı için ve prognozu saptamada faydalı parametreler bulmak adına human koryonik gonadotropin (HCG), progesteron, relaxin, kanser antijeni 125 (CA 125), HPL gibi birçok hormonal, antijenik ve biyolojik parametrenin normal ve komplike gebeliklerde düzeyleri incelenmiştir. HCG, ilk protein yapısındaki plasental hormondur.

Abortus imminens hastalarında prognozu kesin öngören biyokimyasal belirteçler henüz bulunamamıştır. Serum BhCG, progesteron, ADAM12 proteini benzeri bazı belirteçler abortus eden olgularda daha düşük saptansa da, bu belirteçlerin imminens prognozunu tespitinde kullanılabilmesi amacıyla çok daha geniş kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır. Çalışmada maternal nötrofil lenfosit oranı (NLR) ve platelet lenfosit oranı (PLR) oranlarının prognoza etkisi gösterilememişse de abort eden gebelerdeki platelet

ve nötrofil yüksekliği konusunda daha geniş hasta gruplarıyla yapılacak prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır (Uçuran, 2018).

Abortus imminensli olguların prognozunu tayinde, biyokimyasal yöntemler yıllardır ilgi çekmiştir. Yapılan birçok çalışmada maternal serum CA-125 seviyelerinin en yüksek değerlere 7-10. gebelik haftalarında ulaştığı ve 9-12. gebelik haftalarından sonra azalarak, terme kadar gebelik öncesi seviyelerde olduğu saptanmıştır (Kobayashi ve ark., 1989; Nanbu ve Fujii, 1989).

HPL, plasentanın sinsityotrofoblast hücrelerinden salgılanan bir polipeptittir (Kuntz ve Keller, 1976; Pritchard ve ark., 1985). En erken gebeliğin altıncı haftasında saptanabilir ve gebelik yaşı ile doğru orantılı olarak düzenli bir şekilde yükselir (Vorster ve ark., 1977). Maternal serum HPL düzeyi plasental fonksiyonunun bir göstergesi olup, düşük HPL seviyesi, gebeliğin prognozunun iyi olmadığını göstermektedir (Büyükören ve ark., 1993). Son yıllarda yapılan bilimsel çalışmalarda, düşük human plasental lactogen (HPL) düzeylerinin, kötü prognozlu gebeliklerin bir ispatı olduğu gösterilmektedir (Kuntz ve Keller, 1976; Garoff ve Seppala, 1975). Abortus imminens olgularında maternal serum HPL seviyelerinin normalin altında olması, fetusun canlı olmadığına dair bir bulgu olarak değerlendirilebilir (Baykaran ve ark., 1986).

Abortus imminens hem psikososyal hem de medikal olarak değerlendirilmesi gereken önemli bir gebelik sorunudur. Abortus imminens tanılı ve tanı anında yapılan ultrasonografide intrauterin canlı embriyonun görüldüğü gebeliklerin hemen hemen % 9-30'u ilk trimesterde düşük ile sonuçlanmaktadır (Wilcox ve ark., 1998; Johns ve Jauniaux, 2006).

Prognozu önceden doğru ve güvenilir bir yöntemle tahmin etmek önemlidir. Bu şekilde hem erken tedavi hem de gereksiz gebelik kayıplarının önlenmesi sağlanmalıdır. Bugüne kadar p-HCG, progesteron, 17-alfa-OH-progesteron, östron, estriol, estradiol, human plasental laktojen, alfa fötöprotein, pregnaney associated plazma protein (PAPP-A), plasental protein 5-14, relaksin, CA-125 gibi markerler çeşitli araştırmacılar tarafından kullanılmıştır (Salem ve ark., 1984). Yüksek molekül ağırlığındaki glikoprotein yapısında bir antijenik belirleyici olan CA-125'in gebelikteki orijini yapılmakta olan pek çok araştırmaya rağmen henüz açık değildir (Witt ve ark., 1990b). Bu parametrelerin belirleyicilikleri diğer hormonlar ve ultrasonografik yöntemlerle birleştirilince çok daha fazla geçerli olmaktadır.

Düşük tehdidi ayrıca aile için de yoğun bir endişe kaynağı oluşturur. Abortus imminensin etkin tedavisi yoktur. Genel olarak önerilmesine rağmen, yatak istirahati abortus imminensin seyrini değiştirmez. Abortus imminensli hastaların cinsel aktiviteden uzak kalmaları gerekmektedir. Cinsel aktivite ile semen yolu ile ulaşan prostaglandinler uterin aktiviteyi artırarak abortus riskini artırmaktadır.

2.1. Oksidatif Stres

Son yıllarda, birçok araştırmacı düşük patogenezinde oksidatif stresin rolünü araştırmaya başlamışlardır (Eberhardt, 2000; Agarwal ve ark., 2005).

Oksidatif stres yerleşimsel rahatsızlıklara neden olabilir. Düşük, yerleşim bozukluğundan kaynaklanabilecek olası bir komplikasyondur. Yer değiştirme bozukluğunun artan insidansının, plasental gelişmeyi ve nihayetinde fetüsü etkileyen serbest radikal düzeylerinin artmışlığı ile ilişkilendirilmiştir. Düşük, yetersiz trofoblast istilasından kaynaklanır, bununla beraber az miktardaki fetal oksijen ve spiral arterlerden gıda ihtiyacı yetersizliğine sebep olan trofoblastik oksidatif stres izler.

Malondialdehit, peroksidatif lipid üretimin metabolizmasının bir belirteci olarak işlev görür. Serum malondialdehitin lipid peroksidasyon sürecinin işareti olarak incelenmesi, erken düşük tehdidi için önemli bir patogenezi tanımlama aracıdır. Yüksek düzeylerdeki malondialdehit seviyesi, tehdit altındaki gebelikte hücre zarı oksidasyonunun ve oksidatif stresin meydana geldiğinin işaretidir. Oksidatif stres sırayla bozulmuş yerleşime yol açacaktır. Bozulmuş yerleşimin etkisi, intervillöz alanda kan akışının dejenerasyonu şeklinde başlar ve hamileliğin sona ermesine sebep olur. Düşük tehdidinin kendisi yetersiz trofoblast istilasının ve bunun sonucunda da spiral arterlerin yetersiz beslenmesinin bir sonucu olarak gerçekleşir (Jauniaux ve ark., 2003; Aksoy ve ark., 2009). Malondialdehit, insanda ve hayvanda iyi bir *in vivo* peroksidatif lipid markırı olarak kabul edildiğinden, diğer markırlardan önemli ölçüde daha kesin ve daha kararlı olan bir tepkimenin son ürünü olan bir madde olduğu için sıklıkla analiz edilen bir maddedir. Malondialdehit ayrıca, lipid peroksidasyonun klinik bir belirteci olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (Jauniaux ve ark., 2000; Jauniaux ve ark., 2006; Winarsi, 2007; Niki, 2009). Malondialdehitin iyi bir oksidatif stres biyobelirteç olmasının sebepleri, oksidatif stresle ve özellikle lipid peroksidasyonu ile beraber,

kullanımında olan yöntemlerin serumdaki seviyelerini doğru şekilde ölçme, izole edilmiş vücut sıvısı örneklerinin stabilitesi, bazı günlük değişimler ve diyet yağ alımı ve referans aralıklarını saptamak amacıyla tüm vücut dokularında ve biyolojik vücut sıvısında saptanabilir miktarların varlığıdır. Düşük ve gebeliğin sonlandırılması durumunda lipid peroksidasyon düzeyi artmaktadır. Tehdit altındaki düşük vakalarında serum malondialdehit düzeyi normal gebeliktekilerden önemli ölçüde farklıdır. Serum malondialdehitin yüksek miktardaki düzeyi erken düşük olguları için önemli bir risk faktörüdür.

Yüksek derişimdeki serbest radikaller ve ürünleri, hücre içeriklerine oksidatif stress oluşturarak zarar verir. Bunu lipid peroksidasyonu, DNA ve protein hasarı oluşturarak yaparlar. Oksidatif stres, toksikolojide olası bir mekanizma olarak son 20 yıldır araştırmaların odacı haline gelmiştir (Valko ve ark., 2006).

Çoğu klinik durum ile ilintili olduğu saptanan oksidatif dengedeki bozulmanın, abortus imminensteki rolü ile ilgili araştırmalar yapılmaktadır. Abortus imminens üzerine istenmeyen etkileri olduğu bilinen oksidatif stress ile arasındaki ilişkiyi göstermek için MDA düzeylerini saptayan çalışmalar yapılmıştır. Reaktif oksijen ürünleri lehine olan oksidatif stres dengesini yeniden sağlamak amacıyla, enzimatik olmayan antioksidanlar kullanılabilir.

Oksidatif strete etkili olan reaktif oksijen türleri olarak süperoksit (O_2^-), hidroksil (OH), peroksil (RO_2), hidroperoksil (HRO_2^-) gibi serbest radikaller ve hidrojen peroksit (H_2O_2), hipoklorik asiti (HOCl) radikal olmayan türler arasında sıralayabiliriz. Reaktif nitrojen türleri ise nitrik oksit (NO), nitrojen dioksit (NO_2^-) gibi serbest radikaller ve peroksinitrit ($ONOO^-$), nitroz oksit (HNO_2), alkil peroksinitrat (RONOO) gibi nonradikallerdir. Serbest oksijen radikalleri (SOR) ya da reaktif nitrojen türlerinin oluşması radikal zincir reaksiyonları ile diğer ürünlerin üretilmesine sebep olur. Süperoksit radikali (O_2^-), organizmada NADPH oksidaz, ksantin oksidaz, siklooksijenaz gibi birçok oksidaz vasıtası ile ve kimi koşullarda endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS) kullanılarak oksijenin bir elektron redüksiyonu sonucu oluşur.

ATP sentezi için olması gereken normal oksidatif fosforilasyon esnasında mitokondrial elektron transport zinciri yoluyla üretilmektedir. Normal koşullardaki O_2^- antioksidan savunma mekanizmaları yoluyla seri bir şekilde elimine edilir. O_2^- mitokondride manganez süperoksit dismutaz (Mn-SOD), sitoplazmada bakır süperoksit

dismutaz (Cu-SOD) ile H_2O_2 'e dönüştürülür. H_2O_2 , mitokondrial glutatyon peroksidaz (GPx), lizozomdaki katalaz (CAT) tarafından H_2O ve O_2 'e dönüşür. H_2O_2 ayrıca Fe, Cu gibi elementlerin tepkimeye girmesiyle reaktif hidroksil (OH) radikaline dönüştürülebilir (Fenton reaksiyonu). Fizyolojik şartlarda oluşan reaktif oksijen türleri; sinyal proteinleri, fagositozdaki savunma mekanizmaları, nötrofil fonksiyonları gibi olaylara müdahil olur. Aşırı oluşan oksidatif stres ise proteinler, lipidler ve DNA üzerinde zararlı etkiler yapar (Johansen ve ark., 2005).

Lipidler, biyolojik yapılar içinde reaktif oksijen ürünlerinin toksik etkilerine en duyarlı yapılar serbest oksijen ürünleri ile yüksek oranda tepkimeye girer ve peroksidasyon meydana gelir. Membran akıskanlığını sağlayan bu doymamış yağ asitlerinin hasarı sonucu akıskanlıkta azalma olur (De Zwart ve ark., 1999).

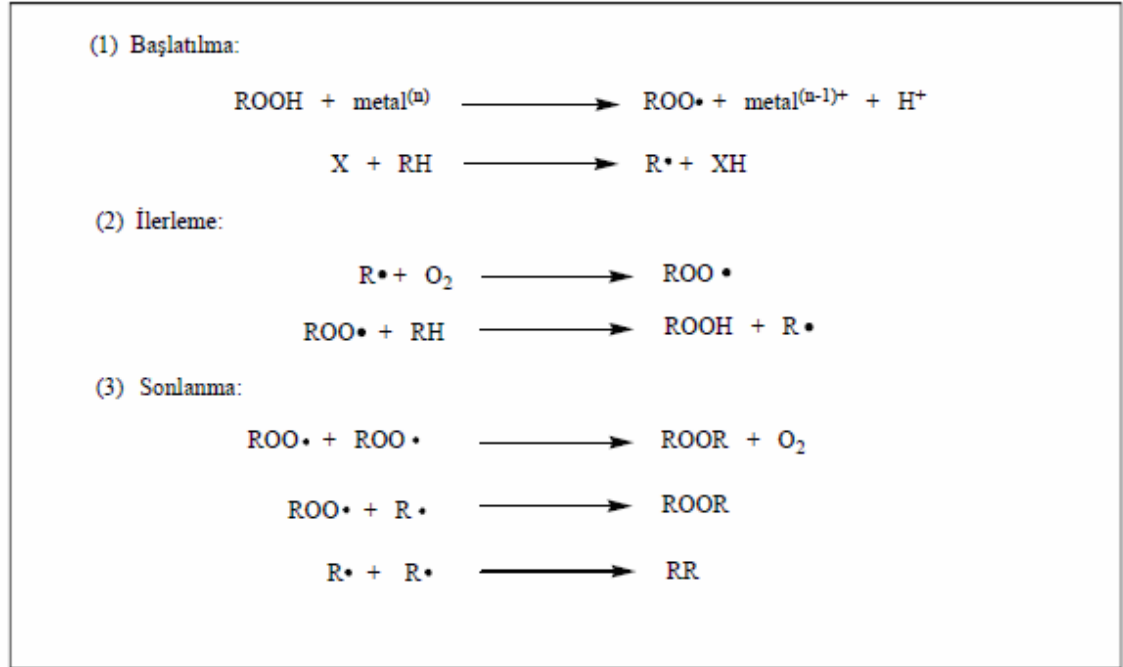
Oksidatif stres; kanser, ateroskleroz ve diabetes mellitus gibi çoğu hastalık patolojik tablosunun patogeneğinde olduğu gibi birçok farklı hastalığın mekanizmasında da rol almaktadır.

Oksidatif stres ve serbest radikaller özellikle lipitlerde hasara sebep olur. Serbest radikallerin hücrenin lipid membranına saldırmasıyla buradan elektron alırlar. Lipit hidroperoksitleri, lipit peroksidasyonunun erken evresini meydana getirir. Lipit hidroperoksitlerinin yıkım reaksiyonlarıyla biyoaktif aldehitler oluşur. Lipid peroksidasyonu; lipid hidroperoksit (COHH)'lerini oluşturmak amacıyla, oksijen radikali ile hücre membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asitlerinin reaksiyona girdiği kompleks bir işlemdir. Serbest oksijen radikallerinin membran lipidleriyle etkileşmesi zincirleme reaksiyonlarla devam eden lipid peroksidasyonunu başlatarak; membran yapısının bozulmasına, permeabilite artışına, hücrenin iyon yoğunluğunun sürdürülememesine ve doku hasarına yol açabilir (Zervos ve ark., 2011).

Lipid peroksidasyonu, normal koşullarda tüm hücre ve dokularda az miktarlarda meydana gelen ve oksijen kaynaklı serbest radikaller tarafından indüklenen oksidatif bir olaydır (Davidge ve ark., 1992).

Lipid peroksidasyonu, oluşan iki lipit peroksit radikali ile birleştirilip siklik peroksit oluşumu ile sonlanabileceği gibi, indirgenmiş metal iyonları [Demir (Fe^{2+}) ve Bakır (Cu^+) veya okside metal iyonları (Fe^{3+} ve Cu^{2+})] ile reaksiyona girerek alkoller, ketonlar, aldehidler ve buna benzer birçok sitotoksik ürünlere dönüştürülmesi ile de sonuçlanabilir. Meydana gelen bu radikaller de başka yağ asitlerinden hidrojen atomu

kopartarak lipid peroksidasyonun zincirleme reaksiyonunu sürdürürler. Lipid peroksidasyon reaksiyonları Şekil 2.1’de anlatılmaktadır.



Şekil 2.1. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu (Sagol ve Özkınay, 2000).

MDA’nın asıl kaynakları üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu veya eikosanoid sentezinde serbestleşen siklik hidroperoksitlerdir.

MDA, hücre membranının deformasyonuna, iyon geçişinin ve enzimatik fonksiyonların bozulmasına sebep olmaktadır. Hücre zarlarından kolayca geçebileceği için hücre içindeki protein sentezini, enzimatik olayları ve DNA yapısını da olumsuz yönde etkilemektedir. MDA bu niteliklerinden ötürü mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir (Sreejai ve Jaja, 2010).

Lipit hidroperoksitleri ile nihai yıkım ürünü olan düşük molekül ağırlıklı MDA lipit peroksidasyonunun indeksi olarak kabul edilir. MDA’nın aldehit gruplarıyla ile tiyobarbitürik asit arasındaki reaksiyon sonucu oluşan renkli ürün 545 nm’de absorban verir (Sagol ve Özkınay, 2000).

Oksijen kullanımının doğal bir sonucu olarak aerobik organizmalarda % 1-2 oranında reaktif oksijen metabolitleri (ROM) oluşmaktadır. Başta mitokondriyal elektron transportu, fagositik aktivasyon, türlü sentez ve degradasyon reaksiyonlarında ROM oluşmakta ve prooksidan/antioksidan dengenin prooksidanlar lehine kayması

sonucunda gelişen oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile biyomoleküllere hasar vermektedir (Burçak ve Andican, 2004).

İnsan plazmasında bulunan antioksidanların birlikte oluşturdukları etkisi, serbest radikal ataklarına karşı tek başına herhangi bir antioksidandan daha fazla koruyucu etki sağlar. Bu sebepten ötürü biyolojik sıvılardaki total antioksidan mevcudiyetinin araştırılması ilgi çeken ve oldukça mühim bir bilimsel araştırma metodudur.

Oksidatif stres ve antioksidan kapasite ile ilişkili genlerdeki tek nükleotid polimorfizmlerinin DNA dizi analiz yöntemleri ve ARMS-PCR yöntemleriyle belirlenmesini hedefleyen bir çalışmada günümüzde kanser dahil pek çok hastalığın etiolojisinde görev alan, organizmanın oksidatif stres ve antioksidan yanıtını düzenleyen genlerle olan yapısal farklılıklarının bütünsel anlamda taranmasına yönelik ve kişide herhangi bir kalıcı hasar oluşmadan önlem alınabilmesini sağlayacak bir yöntem geliştirilmiş olacaktır. Serbest radikaller nötralize edilemedikleri durumda hücrelerdeki makromoleküllere ciddi zararlar verirler. Bu etkiler sebebiyle oksidatif stres olarak bilinen durumla yakından ilişkili olup lipit peroksidasyonu, proteinler arasında disülfid bağlarının oluşumu, DNA hasarı gibi durumlara neden olmaktadır (Uysal, 1998).

Tüm bu gibi etkiler, serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulduğu ve oksidatif stres olarak tanımlanan durumla yakından ilişkilendirilip çeşitli hücrel hasarlara (lipit peroksidasyonu, proteinler arasında disülfid bağlarının oluşumu, DNA hasarı gibi) yol açmaktadır.

Normal koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde, kan çok önemli bir rol oynamaktadır. Kan, antioksidanların bütün vücuda taşınmasını ve dağıtılmasını sağlar (Ghiselli ve ark., 2000).

Oksidatif strese neden olan serbest radikaller oksijen metabolizması sonucu oluşan bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, molekül ağırlığı düşük, kısa ömürlü, kararsız, etkin, aktif ara bileşikler olarak tanımlanmaktadır (Abdollahi ve ark., 2003). Bu radikaller; metal-katalizörlü reaksiyonların ürünü olarak, UV, X-ray ve gamma-ray ışınlarının radyasyonu esnasında, atmosferdeki mevcut olan kirletici

maddeler nedeniyle, enfeksiyon sırasında nötrofiller ve makrofajlar tarafından üretilerek, mitokondriyal katalizli elektron taşıma zinciri reaksiyonları veya diğer mekanizmaların ürünleri olarak meydana gelmektedirler (Cadenas., 1989).

Hücreler hafif oksidatif stresi tek başlarına tolere edebilseler de genellikle AO enzim sistemlerini aktive ederler. Ancak, hücre içi savunma sistemlerinin yeterli olamadığı durumlarda, oksidatif stresin tanımında belirtildiği üzere, SOR ile AO'lar arasındaki denge bozulur, dolayısıyla oksidan hasara duyarlı DNA, protein, karbohidratlar ve lipitler gibi hücre sel makromoleküller zarar görür (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Gutteridge, 1994; Berger, 2005; Zadák vd., 2009; Wildburger, 2009). Serbest radikallerin hasar verme özelliklerinden dolayı diabetes mellitus, iskemi reperfüzyon hasarı, kanser, yaşlanma, kas hastalıkları gibi birçok hastalıklara yol açtığına dair çalışmalar bulunmaktadır (Mercan, 2004). SOR'lar; süperoksit (O_2^-), nitrik oksit (NO), hidroksil (OH) ve lipit peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptirler. Biyolojik sistemlerdeki en önemli SOR'lar, oksijenden oluşan radikallerdir. Oksidatif stres sonrası oluşan SOR'lar; DNA, lipit ve protein hasarına yol açar. SOR ile okside olan yağ asitleri lipit peroksi radikallerine ve lipit hidroperoksitlere dönüşürler. Lipit peroksi radikalleri ise malondialdehit (MDA)'e dönüşür. Lipit radikalleri DNA ile de reaksiyona girerek DNA-MDA ürünleri oluşturur. SOR endojen veya ekzojen olarak oluşabilir. Endojen SOR, normal hücre metabolizması ve oksidatif fosforilasyon sonrası oluşur. Hormonlar, bazı kimyasallar, ilaçlar ekzojen SOR'u oluştururlar. Lipit radikalleri hücre zarını kolayca geçebilir ve hücredeki dengeyi alt üst eder (Knight, 1995).

Serbest radikalleri doğrudan ölçmek için yüksek teknik donanım gerektiren elektron spin rezonans (ESR) yöntemi kullanılırken serbest radikallerin vücuttaki protein, lipit, karbohidrat, nükleik asitler gibi makromoleküller ile girdiği reaksiyon sonucu oluşan metabolitlerin ölçümüne yönelik indirekt uygulamalar kullanılmaktadır. Oksidatif stres sonucu hasara uğramış lipitlerin tayini için lipit hidroperoksitleri, MDA ve konjuge dienlerin ölçümü yapılabilir. Plazmada lipit hidroperoksitlerinin ölçümü için de hazır ticari kitlerin yanı sıra pahalı tekniklerden biri olan GC (gaz kromatografisi), GC-MS (gaz kromatografisi-kütle spektrofotometrisi) tekniği de kullanılabilir. Lipitlerin oksidasyon düzeyini belirlemek için en çok kullanılan testlerden biri de

tiyobarbütirik asit (TBA) ile reaksiyona giren MDA seviyesinin ölçülmesidir (Yalçın ve ark., 2010).

İlave olarak, alkol kullanımı, karaciğer ve diğer dokularında oksidatif strese bağlı lipid peroksidasyonuna yol açar ve bu karmaşık ve etkileşimli bir süreç olabilir (Nordmann ve ark., 1992; Ishii ve ark., 1997).

Hem enzimatik hem de enzimatik olmayan endojen antioksidan sistemlerinin seviyelerinde değişiklik ve serbest radikal üretiminin aktivasyonu, kronik alkol kullanımı sırasında meydana gelir. Bu, oksidatif stresin bir etkisi ile sonuçlanır, bu nedenle hücrelerin ve organellerin zarlarının hem yapısal hem de işlevsel bütünlüğü etkilenir (Albano ve ark., 1998; Cederbaum ve ark., 2009).

2.1.1. Malondialdehitin tanımı ve biyokimyasal önemi

Lipid peroksidasyonun en önemli ürünü malondialdehid (MDA) dir. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehid meydana gelir. Oluşan malondialdehid, hücre membranlarından iyon alış-verişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar, iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur (Valko ve ark., 2006).

Lipidler, biyolojik yapılar içinde reaktif oksijen ürünlerinin toksik etkilerine karşı en duyarlı yapılardır. Özellikle hücre membranında bulunan çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest oksijen radikalleri ile yüksek oranda tepkimeye girer ve peroksidasyon oluşur. Membran akışkanlığını sağlayan bu doymamış yağ asitlerinin hasarı sonucu akışkanlıkta azalma olur. Lipid peroksidasyonu sırasında biyolojik yapılardan kolayca tespit edilebilen ve peroksidatif hasarın belirteci olan malondialdehit (MDA) oluşur (De Zwart ve ark., 1999).

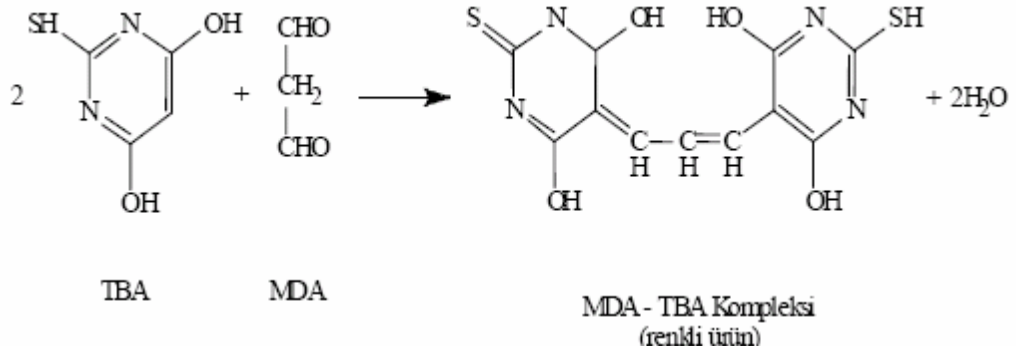
Lipid peroksidasyonu sırasında biyolojik yapılardan kolayca tespit edilebilen ve peroksidatif hasarın belirteci olan MDA, lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Oktem ve ark., 2006).

Lipid peroksidasyonu; lipid hidroperoksit (COHH)'lerini oluşturmak için, oksijen radikali ile hücre membran fosfolipidlerindeki poliansatüre yağ asitlerinin reaksiyona girdiği kompleks bir işlemidir. Serbest oksijen radikallerinin membran lipidleriyle etkileşmesi zincirleme reaksiyonlarla devam eden lipid peroksidasyonunu

başlatarak; membran yapısının bozulmasına, permeabilite artışına, hücrenin iyon gradientinin sürdürülememesine ve doku hasarına yol açabilir (Zervos ve ark., 2011).

Lipid peroksidasyonu, normal koşullarda tüm hücre ve dokularda düşük miktarlarda gerçekleşen ve oksijen kaynaklı serbest radikaller tarafından indüklenen oksidatif bir olaydır (Davidge ve ark., 1992).

Lipid peroksidasyonu serbest oksijen radikallerinin poliansatüre yağ asitlerinin yan zincirindeki metilenik karbonlardan hidrojen iyonu çıkarması ile başlar ve lipid radikali oluşur. Oluşan lipid peroksi radikalının hemen yakınındaki ansatüre lipid molekülündeki hidrojen iyonu çıkarılmasıyla lipid hidroperoksit ve yeni bir lipid radikali meydana gelir. Lipid peroksidasyonu, oluşan iki lipid peroksit radikali ile birleştirilip siklik peroksit oluşumu ile sonlanabileceği gibi, indirgenmiş metal iyonları [Demir (Fe^{2+}) ve Bakır (Cu^+) veya okside metal iyonları (Fe^{3+} ve Cu^{2+})] ile reaksiyona girerek alkoller, ketonlar, aldehidler ve buna benzer birçok sitotoksik ürünlere dönüştürülmesi ile de sonuçlanabilir. Meydana gelen bu radikaller de farklı yağ asitlerinden hidrojen atomu kopartılmasıyla lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonunu sürdürürler. MDA bu özelliklerinden dolayı mutajenik, genotoksik ve karsinojenik bir bileşiktir (Sreejai ve Jaya, 2010).



Şekil 2.2. MDA'nın TBA ile reaksiyonu ve oluşan renkli TBA-MDA kompleksinin yapısı

(Kilic ve ark., 2003).

Lipid hidroperoksitlerinin yıkımı ile oluşan ve biyolojik olarak aktif olan aldehidler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler ya da başlangıçtaki etki alanlarından difüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. (Kilic ve ark., 2003).

Malondialdehid, olusan serbest oksijen radikallerinin iyi bir göstergesidir. Malondialdehid yükselmesi, serbest oksijen radikallerinin etkisi ile artmış lipid peroksidasyonunu gösterir. Lipid peroksidasyonu, organik yapılar ve membranların fonksiyonları üzerine çok zararlı etkilerine bağlı olarak, hücre ölümüne kadar ilerleyen değişiklikler oluşturur (Polat, 2011).

Hücre membranındaki doymamış yağ asitleri ve kolesterol bileşenleri serbest radikallerle kolayca tepkimeye girerek lipid peroksidasyonuna neden olurlar ve bu membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Üç ya da daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehid (MDA) meydana gelir. MDA düzeyi lipid peroksit seviyeleri için kullanılmaktadır (Cadanás, 1989). Lipit radikalleri DNA ile de reaksiyona girerek DNA-MDA ürünleri oluşturur. Lipid hidroperoksitleri (LOOH), lipid peroksidasyonunun başlıca ürünleridir; malondialdehit (MDA) ve 4-hidroksinonenal (4-HNE), lipid peroksidasyonunun ikincil ürünleridir. MDA, arakidonik asit ve poli doymamış yağ asitlerinden (PUFA'lar) enzimatik veya enzimatik olmayan işlemler yoluyla ikincil bir yan ürün olarak üretilir. MDA enzimatik olarak metabolize edilebilir. Histidin, lisin ve arginin gibi temel amino asitler, MDA'nın elektrofilikliği nedeniyle MDA'ya karşı hassastır. Schiff-baz eklentileri, MDA ve serbest amino asitler arasındaki bu reaksiyonlardan üretilir (Pizzimenti ve ark., 2013). Bunlara ayrıca ileri lipid peroksidasyon son ürünleri (ALE'ler) denir. MDA, deoksiguanozin ve deoksiadenozin ve deoksiguanosin ve deoksiadenozin ilavelerinin eklenmesi için nükleozitler ile de reaksiyona girebilir (Niedernhofer ve ark., 2003). MDA, DNA hasarı ve mutasyonunun en hayati nedenlerinden biridir. MDA-DNA eklentileri, nükleotit eksizyon onarımı (NER) yolu ile onarılır. Bununla birlikte, MDA-DNA eklentileri, tamir sistemi çalışmadığında iplik kopmasına, nokta ve çerçeve kayması mutasyonlarına, hücre döngüsü durmasına ve apoptozun indüklenmesine neden olur.

Peroksidasyon reaksiyonlarının nihai yönü, yağ asidi karbon zincirinin parçalanmasıdır. Frag-mentation ürünleri, MDA, akrolein ve 4 – hidroksi – 2 – nonenal (HNE) gibi lipid peroksidasyonunun en kapsamlı çalışılan ürünlerinden bazılarını içerir. DNA'da büyük girişler ve silmeleri tetikleyebilir, ancak baz çifti süstitüsyonları da tespit edilmiştir. (Niedernhofer ve ark., 2003).

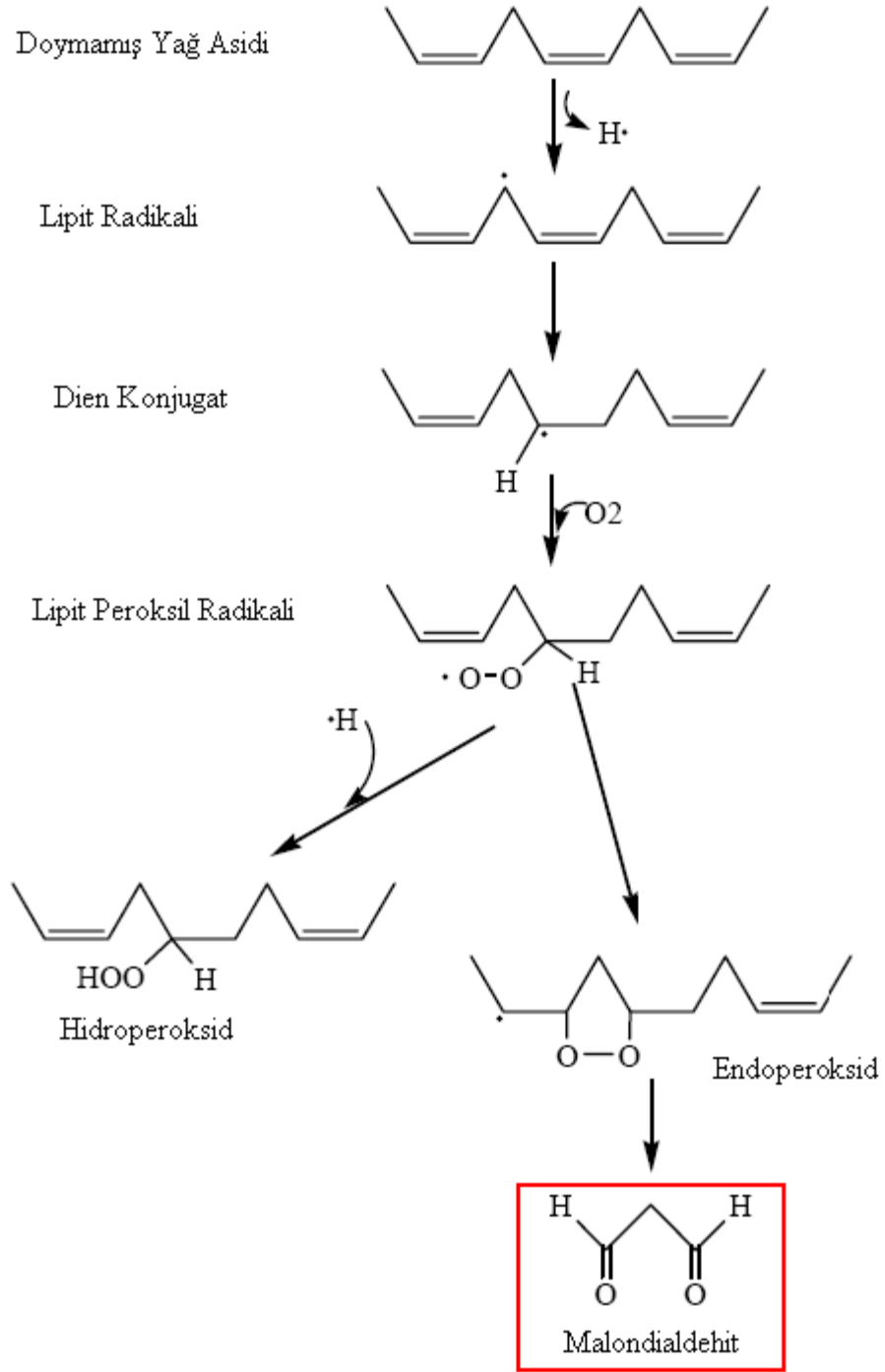
Biyolojik numuneler düşük MDA miktarları içerdiğinden, tespiti için oldukça hassas yöntemler gerekir, genellikle bütün MDA (serbest ve bağlı) değerlendirilir. Lipid

peroksidasyonunun en önemli göstergesi olan malondialdehit (MDA) oluşumu, membran komponentlerine geri dönüşümsüz hasarlar vererek bozulma, iyon nakli, enzim aktivitesi gibi membran özelliklerinin bozulmasına yol açar. Dokularda lipid peroksidasyon düzeyi değişim gösterirken, en yüksek oluşumun karaciğer olmak üzere bunu kalp, beyin ve böbrek dokularının izlediği ve bu oluşumlar üzerinde artan yaş ve azalan antioksidan mekanizmanın etkili olduğu bildirilmiştir (Winston ve ark., 1991; Rikans ve ark., 1997).

MDA birçok lipidin peroksidasyonu sırasında az miktarda oluşmaktadır; fakat demir tuzlarının varlığında karaciğer mikrozomlarının peroksidasyonu sırasında yüksek miktarda meydana gelir. Malondialdehid miktarı arakidonik asit, linolenik asit ve dokosaheksaenoik asit gibi ikiden fazla çift bağ taşıyan serbest yağ asitlerinin peroksidasyonu sırasında büyük ölçüde artmaktadır. MDA pH'a bağlı olarak değişik formlarda bulunabilir. Fizyolojik pH'da MDA birçok amino grubuna karşı düşük reaktiviteye sahip olan enolat anyonu formunda bulunur. Bununla beraber, pH azaldığında reaktivitesi büyük oranda artar. Fizyolojik koşullarda proteinler serbest amino asitlerden daha sık olarak MDA tarafından saldırıya uğrarlar ve intra ve intermoleküler protein çapraz bağlanmaları olduğu gibi özellikle lizin gibi bazı amino asit rezidülerinde modifikasyonlar da meydana gelir (Halliwell ve Gutteridge, 1999).

Lipit peroksidasyonu, lipit hidroperoksitin aldehitlere ve diğer karbonil bileşimlerine dönüşümü yoluyla sonlandırılır. Bu bileşimlerden biri malondialdehit (MDA)'dır ve lipit peroksitlerin seviyelerinin derecelerini tespit etmek için sıklıkla kullanılır (Khoschorur ve ark., 2000).

Aldehit yapıları bileşimler uzun bir yaşam süresine sahiptir; böylelikle hücre membranlarına doğru geçebilirler ve bu sayede lipit peroksidasyonunun etkileri kan, organ ve dokularda belirebilir (Çobanoğlu ve ark., 2011).



Şekil 2.3. Lipid peroksidasyonunun kimyasal yolu (Deveci, 2007; Çetin, 2011).

Yapılan bir çalışmada, UVB ışınlarıyla yapılan cilt irradyasyonun; antioksidan aktivitenin azalmasına, nispeten lipid peroksidasyonundaki artışa ve esas olarak hidroksil radikali ve singlet oksijeni gibi reaktif oksijen türlerinin aracılığıyla doğrudan oksidatif stres hasarına yol açtığı ortaya konulmuştur (Terra ve ark., 2012).

2.2. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

Çiftleşmemiş elektron serbest radikallere büyük bir reaktiflik kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyale zarar vermelerine neden olmaktadır. Bu zararın yaşanmayı teşvik ettiği ve ayrıca dejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığa sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (Mackness ve ark., 1996). Bu durum birçok hastalıkta olduğu gibi abortus imminens oluşumunda da serbest radikallerin etki mekanizmasının rol alabileceği fikrini desteklemektedir.

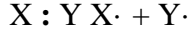
Antioksidanlar, canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi oksidasyona maruz kalabilecek materyallerin oksidasyonunu önleyen, etkisini azaltan ya da geciktirebilen maddelere antioksidanlar, bu olaya ise antioksidan savunma denilmektedir. Antioksidanlar, serbest oksijen radikallerinin hedef dokulardaki olumsuz etkilerini önleyen, geciktiren veya meydana gelen hasarın tamirinde rol alan maddelerdir. Antioksidanlar, enzimatik ve non-enzimatik olarak iki kategori altında toplanırlar. Enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx), non-enzimatik antioksidanlar ise vitamin E, vitamin C, vitamin A, selenyum, transferrin ve laktoferrindir. Antioksidanlar sıklıkla intrasellüler bazense ekstrasellüler olabilmektedirler (Halliwell, 1991; Melek ve ark., 2010; Gür, 2010).

Atomun yapısını oluşturan elektronlar; orbita adı verilen yörünge de çiftler-paired halinde bulunurlar. Az sayıda molekülde ise elektronlar çiftler halinde olmayıp-unpaired, tek olarak bulunurlar. Eksik elektronlu bu moleküller karşılaştıkları herhangi bir molekül ile aşırı şekilde reaksiyona girmeye eğilimli olup diğer moleküllerle elektron alışverişinde bulunurlar. Diğer moleküllerle kolayca elektron alışverişi yaparak onların yapısını bozan bu moleküllere serbest radikal, radikal veya oksidan moleküller denir. Tek olan bu elektron yapıları genellikle üst kısma yazılan bir nokta (O[·]) veya çizgi (O⁻) ile gösterilir (Mccord ve ark., 1993).

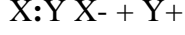
Bu serbest radikallere özgü bir reaksiyondur ve bir radikal başka bir radikale yol açar (Halliwell ve Gutteridge, 1989).

Serbest radikaller hücrede metabolik dengenin bir parçası olup devamlı olarak yapılırlar. Serbest radikaller 3 şekilde meydana gelirler (Halliwell ve Gutteridge, 1990).

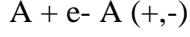
1. Kovalent bağlı normal bir molekülün, her bir parçasında ortak elektronlardan birisinin kalarak homolitik bölünmesi:



2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün heterolitik bölünmesi:



3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi: (Seifried ve ark., 2004).



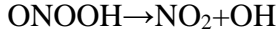
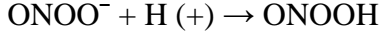
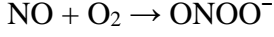
Organizmada oksijenin kısmi redüksiyonuyla, çok sayıda ve yüksek derecede reaktif ürünler (ROS) oluşur. Oksijen, hücre içinde çeşitli reaksiyonlardan sonra en son H₂O'ya indirgenir. Hidrojen peroksit serbest radikal olmamasına karşın biyolojik zarlara nüfuz edebilmesi ve daha reaktif oksijen türlerinin yapım aşamasında aldığı rolden dolayı önemlidir. Diğer bir önemli görevi ise hücre içi sinyal molekülü olarak bulunmasıdır (Nordberg ve Arner, 2001).

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

Hidroksil radikali (OH⁻) hemen bütün biyomoleküllerle reaksiyona girebilen serbest radikaller içinde en kuvvetli oksidan olan radikaldir. Suyun iyonize radyasyona maruz kalması ile oluşur (Reiter ve ark., 1997). Singlet oksijen (O₂), ortaklanmamış elektronu olmadığı için radikal olmayan reaktif oksijen molekülüdür. Singlet oksijen serbest radikal reaksiyonları sonucu oluştuğu gibi, serbest radikal reaksiyonlarını da başlatabilir. Singlet oksijen diğer moleküllerle etkileştiği zaman ya içerdiği enerjiyi transfer eder ya da kovalent tepkimelere girer. Bu tepkimeler özellikle yapısında karbon-karbon çift bağı bulunan moleküllerle olur. Bunlardan bazıları; bilirubin, DNA, tokoferoller, fenoller, karotenler, kolesterol, redükte nikotinamid adenine dinükleotid fosfat (NADPH), triptofan, metionin, sistein ve histidindir. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini (ROO) meydana getirir ve lipid peroksidasyonunu başlatabilir (Sies, 1991).

Nitrik oksit yüksek yapılı canlılarda çok önemli biyolojik fonksiyonları yerine getirmek üzere üretilen nitrojen merkezli bir radikaldir. Bu lipofilik serbest radikal, damar endotel hücrelerinde nitrik oksit sentaz enzimi aracılığı ile L-arjininden sentezlenir. Kolayca düz kasa geçerek guanilat siklaz enziminin hem demirine bağlanır

ve cGMP sentezini uyarıp damar gevşemesini uyarır. NO, aynı zamanda tiyol gruplarını S-nitrozilasyona uğratarak protein ve reseptör fonksiyonlarını da değiştirir. NO, oluşmuş olan ROS'ları ile reaksiyon vererek güçlü bir oksidan olan peroksinitrit (ONOOH) oluşturmakta ve bunun da ileri dekompozisyonu ile OH radikali oluşumuna yol açmaktadır (Southorn ve Powis, 1998).



Doymamış bağ ve sülfür içeren moleküllerin serbest radikallerle etkileşimi yüksektir. Bu nedenle triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metionin ve sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden daha kolay etkilenirler. İmmünglobin G ve albumin gibi disülfid bağı fazla olan proteinlerin ise üç boyutlu yapıları bozulur (Meram ve Aktaran, 2002).

Nötrofil, makrofaj gibi immün sistem hücrelerinin savunma mekanizması için serbest radikal reaksiyonları gerekli olsa da serbest radikallerin fazla üretimi, hücre ölümü ve doku hasarı ile sonuçlanmaktadır. Dolayısı ile serbest radikallerin tetiklediği oksidatif hasara karşı savunma mekanizmaları harekete geçer. Bunlar önleyici mekanizmalar, tamir mekanizmaları, fiziksel savunmalar ve antioksidan savunmalardır (Blokhina ve ark., 2003). Çogu olayda serbest radikal üretimi, pato-mekanizmanın bir parçasıdır ve pek çok ksenobiyotigin toksisitesi, serbest radikal üretimi ile ilgilidir (Kalender ve ark., 2004).

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklara bağlı olarak meydana gelirler. Ekzojen kaynaklı etmenler arasında parakuat, alloksan gibi kimyasalların etkisi altında kalma, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar, alkol ve uyuşturucu gibi alışkanlık yapıcı maddeler sayılabilir. Bu nedenle serbest radikaller toksikolojik açıdan da önemlidir (Mercan, 2004).

Serbest oksijen radikalleri ortamda olustugu zaman lipid peroksidasyonuna neden olarak hücre zarının akiskanlığında ve geçirgenliğinde degisikliklere neden olmaktadır (Schmidley, 1990).

Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Aerobik organizmalarda oksijen kaynaklı serbest radikallerin oluşumu diğer radikallerden çok daha fazla olmaktadır. Reaktif oksijen türleri (ROT) olarak adlandırılan bu moleküllerden bazıları radikal tanımlamasına uyarken, bazıları radikal olmamakla birlikte benzer reaktiviteye sahiptirler (Sugamura ve Keaney, 2011).

Oksidatif stresin kritik olan hastaların hastalıklarının gelişiminde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Serbest radikal hasarına neden olan dört ana grup ürün vardır. Bunlar lipid peroksidazlar, isoprostenazlar, DNA hidroksilasyon ürünleri ve protein karbonil bileşikleridir. Oksidatif stresin açıklanmasında birçok uygulanabilecek yöntem olduğu halde, bu yöntemlerin birçoğunun otomasyon eksikliği ve/veya karışık yöntemlerinden ötürü rutin klinik laboratuvarlarında kullanılamamaktadır. Mesela; isoproteenazların ölçümü büyük doğruluğa sahiptir ve vücut sıvılarındaki lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde güvenilirdir. Fakat yöntemin karmaşıklığından ötürü klinik çalışmalarda kullanımı yoktur.

Atomlarda bulunan elektronlar yörünge denilen boşluklarda hareket ederler. Her yörüngede birbirine zıt yönde hareket eden en çok iki elektron bulunur. Serbest radikaller; pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötral olabilirler. Biyolojik sistemlerde ise en fazla elektron transferi ile oluşurlar. Serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gerekli olsa da, serbest radikallerin aşırı üretimi doku hasarı ve hücre ölümü ile sonuçlanmaktadır (Altan ve ark., 2006).

Elektronlar atomlarda orbital şeklinde olup, uzaysal bölgede çiftler halinde bulunmaktadır. Atomlar arasındaki etkileşim sonucu bağlar oluşmakta ve bu bağlardan ötürü de moleküler yapı oluşmaktadır. Serbest oksijen radikalleri, atomik ya da moleküler yapılarda ortaklaşmamış tek elektron bölümlerine verilen addır. Başka moleküller ile kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere serbest oksijen radikaller (SOR) ya da reaktif oksijen radikaller (ROR) de denilmektedir (Halliwell, 1991; Gökyer, 2015).

Bir atomdaki elektron dağılımı incelendiğinde elektronların kabuklarda olduğu görülür. Kabukların alt kabuklardan, alt kabukların ise elektron içeren orbitallerden oluştuğu düşünülmektedir. Birincil kuantum sayısı olarak isimlendirilen n , kabuk sayısını, açısız momentum kuantum sayısı l de alt kabuk sayısını ifade etmektedir.

Aralarında $l = 0, 1, 2, \dots, (n-1)$ ilişkisi vardır. Magnetik kuantum sayısı m_l ise, orbital sayısını gösterip $m_l = +l, +(l-1), \dots, 0, \dots, -(l-1), -l$ değerlerini alabilir. $M_l = 0$ için bulunan s atomik orbitalleri sferik, $l=1$ için bulunan p atomik orbitalleri ise lobülerdir ve x, y ve z aksislerine yönebileceklerinden; $2p_x, 2p_y$ ve $2p_z$ olarak ifade edilirler. Tüm orbitaller iki elektron ihtiva eder ki bunlara çiftlenmiş elektronlar denir. Her bir orbitaldeki bu çift elektronlar birbirlerine zıt spindedirler ($\uparrow\downarrow$).

Kimyasal etkileşmelerde üç tür bağ oluşur:

1. İyonik bağ, bir atomdan bir diğerine elektron transferini içerir.
2. Kovalent bağ, elektronların atomların arasında paylaşılmasıyla oluşur. İki atom arasında bir çift elektronun paylaşılması durumu, bir kovalent bağı oluşturur.
3. Metalik bağlar, metaller ve alaşımlarda bulunur.

S ve p atomik orbitallerinin oluşturduğu moleküler orbitaller n, sigma (σ) ve pi (π) sembolleriyle gösterilirler. S atomik orbitallerinde nükleuslar arası mesafede elektron yoğunluğu fazla ise “sigma bağ yapan moleküler orbital” (σ), nükleuslar arası mesafe dışında elektron dansiteleri fazla ise “sigma bağ yapmayan moleküler orbital” (σ^*) ifade ve sembolleri kullanılır. P atomik orbitalleri için de aynı şekilde “pi bağ yapan moleküler orbital” (π) ve “pi bağ yapmayan moleküler orbital” (π^*)’leri mevcuttur ve daha yüksek enerji seviyeleri gösterirler (Susan ve ark., 1980; Erenel ve ark., 1992).

Metabolizmanın işleyişi esnasında doğal bir süreç olan oksidasyon sonucunda, organizmada çeşitli hasarlar yaratan ve kanser, kalp hastalıkları gibi hayati öneme sahip bazı kronik hastalıkların başlatıcısı olan serbest radikallerin oluşumu, bunlarla mücadele eden antioksidan bileşiklere olan ilgiyi artırmış, bu konudaki çalışmalar daha çok gıdaların ve farmasötik preparatların antioksidan aktivitelerinin belirlenmesine üzerine odaklanmıştır. Bu ilgi, esas olarak yaşlanma sürecinde ve birçok hastalığın etiopatogenitesinde reaktif oksijen türleri (ROS) kaynaklı hasarlara yönelmiştir. İnsanlarda yaşlanma ve kronik hastalıklar bazı karmaşık biyolojik süreçler sonucunda oluşur. Bu karmaşık süreçleri anlamak için çeşitli hipotezler öne sürülmüştür ve bunlar deneysel olarak sınanmıştır. Yaşlanmayla ilgili ileri sürülen teoriler son yıllarda moleküler genetikte ve deneysel tekniklerde sağlanan birtakım ilerlemeler yoluyla

açıklanmaya başlanmıştır. ROS'nin hücrede giderek artan bir şekilde oluşturduğu zararlar esas olarak, yaşlı (senescent) hücrelerde telomer erozyonu, genom kararsızlığı, DNA mutasyonları ve gen profillerindeki değişimleri kapsamaktadır (Wei ve Pang, 2005; Gökpınar ve ark., 2006).

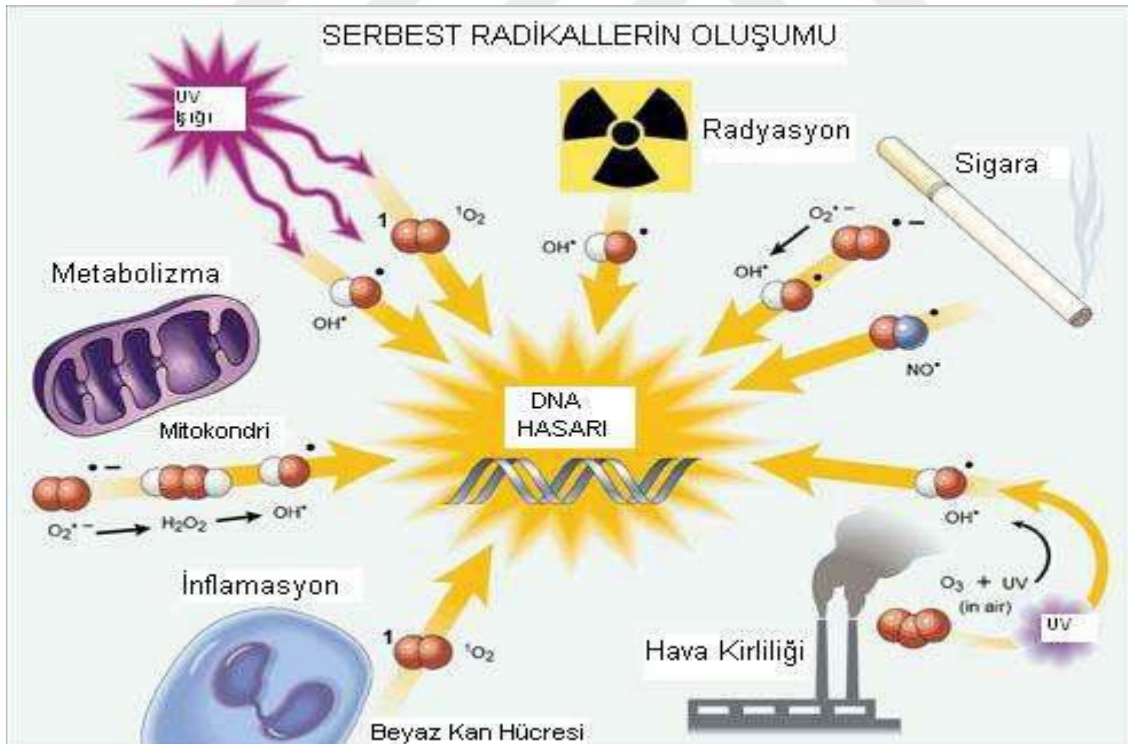
Bitkiler güneş enerjisini redükte moleküllere dönüştürmekte; memeliler ise bu redükte molekülleri birçok biyokimyasal basamak sonucunda CO₂ ve H₂O'ya indirgeyerek, enerjiyi kullanılabilir ve yüksek enerjili depo edilebilir ATP (Adenozin trifosfat) gibi fosfat bileşiklerine çevirmektedirler. Bu indirgenme-yükseltgenme reaksiyonları redoks reaksiyonları olup; okside edilebilir moleküllerden oksijen molekülüne elektron transferini içermektedir. Bir maddede elektronların kaybedilmesi durumuna oksidasyon; diğer bir maddenin ise elektronları alması durumuna ise redüksiyon adı verilmektedir. Redoks reaksiyonları sadece elektron transferi ile değil; aynı zamanda kovalent bağlardaki elektronun yörüngelerinin değişmesi ile de meydana gelmektedir. Okside olmuş ajanlar ise oldukça elektrofilik olduklarından, diğer moleküllerden elektron alabilmektedirler ve böylelikle serbest radikalleri oluşturmaktadırlar (Çaylak, 2011).

Organizmadaki serbest radikalleri hem normal metabolik faaliyetlerin bir yan ürünü olarak, hem de radyasyon, ilaçlar ve diğer zararlı kimyasalların etkileri sonucu oluşur. Metabolizma yan ürünleri olarak süperoksit anyonları (O₂⁻, O₂^{•-}), hidrojen peroksit (H₂O₂) ve hidroksil radikali (OH[•]) gibi mutajenler meydana gelmektedir. Ayrıca NADPH oksidaz gibi bazı enzimler belli küçük miktarlarda reaktif oksijen türleri (ROT) üretirler. Hücre içi ROT'un % 90'ından fazlası oksijenli solunum reaksiyonları zincirinde mitokondri iç membranında üretilmektedirler (Wei ve Pang, 2005).

Son yıllarda bilimsel çalışmalarda adı sıklıkla geçen ve yaptığı doku harabiyeti sebebiyle birçok hastalığın patolojisinde rolü olduğu bilinen kavramlardan biri ise serbest radikaller ve/veya antioksidan savunma sistemindeki bozukluktur. Serbest radikallerin organizma için fagositoz gibi yararlı işlevleri olmakla beraber, aşırı miktarda bulunmaları halinde başta lipidler ve glikoproteinler olmak üzere pek çok hücreyel yapı üzerine toksik etki yapmaktadırlar (Derin ve ark., 2011).

Serbest radikallerin oluşumu organizmada oksijen kullanımı esnasında ortaya çıkar. Eşlenmemiş elektron içeren atom ya da moleküller, hücrelerin zarar gördüğü reaksiyonlar dizisini başlatırlar. Vücuttaki serbest radikaller oluşumu katabolik

reaksiyonların yanı sıra yağlı diyetler, sağlıksız beslenme, sigara, ilaç tedavileri, alkol tüketimi, radyasyon, böcek ilaçları ve çevre kirliliği gibi etmenlerle başlamaktadır ve artmaktadır. Serbest radikaller, immün sistemi zayıflatarak çeşitli hastalıklara ve erken yaşlanmaya yol açarlar. Bu bağdandan antioksidanlar, hücre koruyucu tedavi ve dejeneratif hastalıklardan korunmada önemlidirler. Yapılan araştırmalarda, antioksidanların serbest radikalleri nötralize ederek hücrelerin zarar görmesini engelledikleri ortaya konulmuştur. Antioksidan bileşikler bağlamında, karasal kaynaklı gıdaların yanı sıra mikroalg türleri de önemli bir yere sahiptirler. Bazı mikroalg türleri çeşitli stres koşulları altında büyütüldüğünde (azot yetersizliği, yüksek ışık şiddeti, yüksek tuzluluk v.b.), hücre içinde beta-karoten, astaksantin, zeaksantin, lutein gibi güçlü antioksidan özelliklere sahip pigment maddelerinin biriktirilmesi sağlanabilir. Böylelikle mikroalgalar biyoteknoloji kapsamında, kültür koşullarındaki çeşitli parametrelerle oynanarak hücreler üzerinde çeşitli fizyolojik stresler yaratılabilir. Böylece de kültüre alınan hücrelerin istenen ürünü daha fazla üretmesi sağlanabilir (Gökpınar ve ark., 2006).



Şekil 2.4. Serbest Radikallerin Oluşumu (Anonim, 2015).

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşmaktadırlar. Ekzojen kaynaklı etmenler arasında parakuat, allokstan gibi kimyasalların etkisi altında kalma, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği oluşturan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar, alkol ve uyuşturucu gibi alışkanlık yapıcı maddeler bulunmasına binaen serbest radikaller ayrıca toksikolojik açıdan da önem taşımaktadırlar (Mercan, 2004).

Serbest radikaller tarafından oluşturulan hasarın büyük bölümü hücre içi organellerde oluşmaktadır. Şöyle ki; hücre tarafından kullanılan oksijenin yaklaşık olarak % 90'ı mitokondrilerde tüketilmektedir. Bu hücre içi yapılar sadece hassas lipid membranlarını ve enerji üretiminde sorumlu en az 100 farklı enzimi (bunların bir kısmının aktivitesinde artan yaşla beraber önemli oranda bir azalma görülür) içermekle kalmaz aynı zamanda da serbest radikallerin oluşturduğu hasara karşı yüksek derecede duyarlı olan kendi genetik materyalini de bulundurmaktadır. DNA onarımı mitokondrilerde nükleustakinden çok daha yetersiz olmasına rağmen, mitokondriyal DNA'ya karşı meydana gelen oksidatif hasar nükleustakinden 10 kat daha yüksek olup bu oksidatif hasar artan yaşla birlikte çok hızlı bir biçimde artar (Ames ve ark., 1993; Ali ve ark., 2006; Gürgöze ve ark., 2007).

Akciğerlerden içeriye giren oksijen, lipitte ve akciğer dokularının sıvı fazlarında çözünür, alveoler membranlardan kapillerle düfüze olur ve eritrositler içinde hemoglobinle bağlanarak ya da kanın içinde çözünerek diğer dokulara dağılır. Oksijen, normoksik koşullarda, dokuda çeşitli biyokimyasal proseslerde kullanılarak farklı son ürünler verir. Moleküler oksijenin çoğu son ürün olarak su oluşturmak üzere mitokondriyal sitokrom tarafından $4e^-$ ile indirgenir. Diğer enzimatik reaksiyonlar, $2e^-$ redüksiyon ile H_2O_2 ve $1e^-$ redüksiyon ile süperoksit radikalinin oluşması olarak tanımlanır. Süperoksit radikali tiyoller, hemoglobin ve epinefrin gibi hücrel içeriklerin otooksidasyonu ve fagositik hücreler tarafından bir bakterisidal ajan olarak da oluştururlar (Erenel ve ark., 1992).

Antioksidanlar farklı mekanizmalar yoluyla oksidanları etkisizleştirirler.

a) Scavenging (temizleme) etkisi: Oksidanlar, enzimler tarafından zayıf bir moleküle çevrilir.

- b) Onarma etkisi.
- c) Quencher (baskılama) etkisi: Oksidanlara, vitaminler ve flavonoidler tarafından bir hidrojen aktarılarak etkisiz hale getirilir.
- d) Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleme.

Bu antioksidan etkiler; hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini tarafından yapılır (Young ve Woodside, 2001; Taysi ve ark., 2002; Cherubini ve ark.,2005, Arslan, 2014).

Antioksidan savunma sistemi serbest radikal ve reaktif oksijen türlerinin üretimini ortadan kaldıran moleküllerin geniş bir ağının adıdır (Thapa ve Ghosh, 2012). ROS'tan kaynaklanan hasarı telafi etmek için endojen antioksidan savunma sistemleri mevcuttur. Bu sistemler şelatlanarak, hücre içi ROS aktivitesini ve redoks dengesini koruyarak işlevli hale getirilirler (Tarlovsky, 2012). Epidemiyolojik literatür çalışmalarında, antioksidanların düşük seviyeleriyle kanser riskindeki artışın ilişkili olduğunu öne sürülmüştür. Dolaşımdaki antioksidan azalma, tümör hücreleri tarafından sekresyonun yanı sıra lipit peroksidlerin tümör hücreleri tarafından süpürülmesinden dolayı olabilir (Gecit ve ark., 2012).

Yaptığımız bir çalışmada Abortus imminens hastalarındaki glutatyon S-transferaz ve glutatyon redüktaz aktiviteleri sağlıklı kontrol grubuna göre anlamı ölçüde düşük bulunmuştur (Turan ve ark., 2017).

ROS üretim tedavisinin olumsuz bir yönü ise; çeşitli kanser türlerini oluşturan ROS'un başlı başına eksojen artışına karşı dirençli hale gelebilmesidir. Örneğin çoklu ilaca dirençli HL-60 (lösemi), katalaz gibi ROS süpürücü ve detoksifiye edici antioksidanların endojen yüksekliğine bağlı olarak ROS'un artışına dayanıklıdır. Çeşitli onkogen-uyarılmış kanser hücreleri, NRF2'yi aktive ederek ve etkisini sürdürerek antioksidan aktiviteleri artırır. ROS seviyeleri, indüklenmiş hücre ölümü olmaksızın ön-tümörijenik sinyal yollarının aktive olmasını sağlar. Ayrıca, GSH'da bir artış göstermesi durumunda, kanser hücrelerini hücre ölümünden korumada aktif bir rol oynadığı gibi aynı zamanda kemoterapi ve radyasyon gibi ROS-uyaran terapi stratejilerinden korumada da aktif rol oynadığı görülmektedir (Glasauer ve Chandel, 2014).

2.2.1. Süperoksit dismutaz enzimi ve biyokimyasal önemi

ROS'a karşı ilk etki eden antioksidan enzim süperoksit dismutaz'dır. SOD, süperoksit anyonunu hidrojen peroksit ve moleküler oksijen dismute eden bir metalloenzimdir (Young ve ark., 2001).

SOD hidrofilik fazda bulunan bir antioksidandır (Sorg, 2004).

Süperoksit dismutaz (SOD) katalaz (CAT) glutatyon peroksidaz (GPx) birinci derece enzimatlere, glutatyon redüktaz (GR) ve glukoz 6-fosfat dehidrojenaz (G6PD) ikinci derece enzimatlere örnek gösterilmektedir (Carlberg ve Mannervik, 1985).

SOD oksijeni metabolize eden tüm hücrelerde ve oksijeninin zararlı etkilerine karşı önemli bir defanstır. SOD katalitik aktivitesi çok yüksek olan bir enzimdir (Greenwald, 1990).

Prokaryotlarda Fe ve Mn-SOD bulunurken, ökaryotlarda Mn, CuZn ve ekstrasellüler SOD (EC-SOD) bulunmaktadır. Bu enzim, süperoksit anyonunun ($\cdot\text{O}_2^-$), H_2O_2 ve oksijene dönüşümünü katalize ederek bu radikallerin etkisini azaltmaktadır. Bu olayda SOD enziminin aktif bölgesini oluşturan Zn önemli bir mineraldir (Larson, 1988).

O_2 tüketimini yüzde 10'lu bir elektron indirgemesiyle azaltır; O_2 'yi O_2 radikaline dönüştürür, ki bu daha sonra süperoksit dismutaz (SOD) ile H_2O_2 'ye dönüştürülür. Biyolojik zarlardan geçme kabiliyetleri nedeniyle hücreler için önemlidir. (Lushchak, 2014).

Aralarında aminoasit dizilimi, aktif metal bölgesi ve hücrel dağılım farkı bulunan üç tür SOD vardır (Young ve Woodside, 2001).

Yüksek seviyelerde oksidatif stresin yüksek SOD üretimine yol açabileceği ve bunun da etkili koruma için yeterli SOD enzim sentezi gereksinimi doğurabileceği düşünülebilir (Scandalios, 1993).

Süperoksit dismutaz (SOD) enzimiyle katalizlenen dismutasyon tepkimesi ise spontan dismutasyondan 109 kat daha hızlıdır (Kinnula ve Crapo, 2004).

2.2.2. Katalaz enzimi ve biyokimyasal önemi

Bu enzim, her biri 60 kD olan toplam dört subünite içeren tetramerik bir yapıya sahiptir. Bu ünitelerden her biri ferriprotoporfirin içerir (Mates, 2000). Katalaz enzimi tüm canlılarda, aerobik bakterilerde bulunur. Hücrede peroksizomlarda yerleşir. Hidrojenperoksidi su ve moleküler oksijene çevirir. O kadar etkili bir enzimdir ki bir dakika gibi kısa bir sürede 6 milyon hidrojen peroksidi su ve oksijene dönüştürebilir (Valko ve ark., 2006).

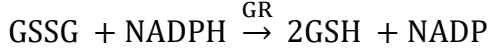
Bu enzimin aktivitesi, ortamdaki hidrojenperoksit konsantrasyonunun çok fazla arttığı durumlarda belirgin olarak artmaktadır. Ortamdaki H_2O_2 konsantrasyonunun düşük olduğu hallerde ise hidrojenperoksiti substrat olarak kullanan diğer enzimler (glutatyon peroksidaz gibi) devreye girerek hidrojen peroksiti ortamdan uzaklaştırırlar (Agar ve ark., 1986).

Katalaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri, benzer etkisi olmasına rağmen, hücre içindeki yerleşim yerleri ve etki yerleri bakımından farklılık göstermektedirler.

Enzim 2 şekilde çalışabilir: α ve β fazlar. A - fazı katalitik olarak çalışır ve serbest radikal üretimi olmadan H_2O_2 'yi H_2O ve O_2 'ye parçalar. Reaksiyon iki iki elektron reaksiyonunda gerçekleşir. İlk olarak, bir H_2O_2 molekülü, hemi bileşik I (CI) 'e oksidize eder, bir oksidasyona ferrik demirden eşdeğerini alır, oksoferril türlerini oluşturur ve diğerini porfirin halkasından bir porfirin katyon radikali meydana getirir. İkinci H_2O_2 daha sonra H_2O ve moleküler O_2 salınırken dinlenme (ferrik) enzimi yeniden oluşturmak için CI'yi azaltır. P fazı peroksidatif olarak çalışır, H_2O_2 'i oksitleyici alkoller, format (RH₂) veya nitrat ile elimine eder, böylece O_2^- ve doğal enzimi serbest bırakır (Aksoy ve ark., 2005).

2.2.3. Redükte glutatyon ve biyokimyasal önemi

Redükte glutatyon, endobiyotiklerin ve ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda; sisteminin taşımacılığında ve depo formu olarak bir reaksiyon ortağıdır. Hücrelerde intraselüler proteinlerin sülfhidril gruplarını redükte formda tutan tiyol redoks potansiyelini ve deoksiribonükleik asit üretimini sürdürdüğü için bu rolü oksidatif stres hasarına karşı korumada etkilidir (Demir ve ark., 2006).



Tiyol grubu içeren bir tripeptiddir. Hücredeki önemli fonksiyonlarının (DNA, protein sentezi, enzim aktivitesi regülasyonu gibi) yanı sıra antioksidan olarak da görev yapar (Bernovsky, 1991). Karaciger vücuttaki glutatyonun en önemli kaynağıdır (Kehre ve Smith, 1994). Oksidatif stresin ölçümünde kullanılan bir antioksidan olup, redükte glutatyon/okside glutatyon oranı oksidatif streste azalır (Uysal, 1998). Glutatyon, tüm memeli hücrelerinde milimolar konsantrasyonlarda bulunur. Glutatyon (GSH) gibi tiyollerin (R-SH) oksidasyonu tiyol ve oksijen radikallerinin oluşumuna neden olur. Bunlar sülfür merkezli radikallerdir. (RSH) ve proteinlerdeki homolitik fisyon (sülfürlerin karşılıklı bağlanması) reaksiyonları disülfid bağını oluşturur. Bu da proteinlerin konfigürasyonlarını bozarak vücuttaki metabolik aktivitelerini engeller. Vücuttaki GSH'nun büyük bölümü karacigerde genetik bilgiye ihtiyaç duyulmadan iki asamada sentezlenebilen bir tripeptiddir. Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur (Smirnoff ve Pallanca, 1995).

En önemli görevi, enzim ve proteinlerin tiyol gruplarının (-SH) indirgenmesi ile redükte formlarının yeterli düzeylerde kontrolünü sağlamaktır (Smirnoff ve Pallanca, 1995).

GSH çeşitli reaksiyonlarda yükseltgenerek GSSH'a dönüşür. Yükseltgenmiş glutatyonun tekrar indirgenirken glutatyon redüktazla indirgenmesi reaksiyonu nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH)'a ihtiyaç duyduğu için heksoz monofosfat yoluyla bağlantılıdır. Bu şekilde dokularda GSSG/GSH oranı düşük tutulur (Memişoğulları, 2005).

GSH, DNA sentezi ve hasarlı parçalarının onarılmasında etkindir; aminoasit transportu, peroksit metabolizması, iskelet-kas bütünlüğü ve birçok enzim aktivitesinin düzenlenmesinden sorumludur, enzim değildir fakat antioksidatif nitelikte bir moleküldür (Blokina ve ark., 2003).

Glutasyon oksidatif ve elektrofilik stres ve radyasyona karşı hücrelerin korunmasında önemli rol oynar. Ayrıca sitozolik GSH redoks döngüsünde substrat olarak görev alırken, ROT'a karşı direkt savunma yapabilir (Parcell, 2002).

GSH'ın hücresele seviyesi g-glutamil trapeptidaz, aminoasit transporterları, glutasyon sentetaz, glutasyon peroksidaz ve glutasyon redüktazı içeren çoklu bir enzim sistemi tarafından korunur (Knapen ve ark., 1999).

Glutasyon protein olmayan tek tiyoldür (Lu, 2009). GSH'ın en önemli görevlerinden biri de sistein deposu olmasıdır. Sistein hücre dışı ortamda kararsızdır ve hızlıca sistine okside olmaktadır (Yuan ve Kaplowitz, 2009).

GSH, ROS ataklarına karşı fonksiyon göstermek için protonları membran lipitlerine verir (Curello, 1985). GSH, apoptoza karşı savunma hücrelerine giden apoptotik sinyal yollarıyla ilişkili olarak çalışır (Masella ve ark., 2005). Ayrıca, GSH'nin AP-1 ve NF-kB gibi çeşitli transkripsiyon faktörlerini aktive ettiği de bilinmektedir. GSH vücutta üretilen en hayati antioksidanlardan biridir. Sitozolik GSH redoks döngüsünde substrat olarak rol alırken, serbest radikallere karşı direkt olarak da savunma yapabilir (Knapen ve ark., 1999).

ER, ayrıca ROS üretiminde anahtar rol oynayan hücresele bir organeldir. ER lümeni, protein katlanması ve disülfit bağlarının oluşumu için uygun bir oksitleyici ortamı (yüksek oranda oksitlenmiş GSH formları ile) temsil eder.

Hücrelerdeki toplam glutasyonun bir kısmı, R grubunun sistein kalıntısı, koenzim A veya -SH grupları içeren bir protein olabileceği — karıştırılmış ta glutasyon biçiminde bulunur (Halliwell ve Gutteridge, 2007). Glutasyon, bu önemli antioksidanları aktif formlarına geri döndüren askortata yarı-hidratkarbonatın indirgenmesi sırasında doğrudan veya dolaylı olarak tokoferil radikalini azaltabilir (Maxwell ve Lip, 1997). Mitokondriyal GSH havuzları alkoliklerde boşaltıldığında, hücre ölümü ve sonunda sirozu yaratarak ROS zararını arttıracaktır. (Fernandez-Checa ve ark., 2002).

Bitki hücrelerinde ROS kloroplast, mitokondri, plazma membranı ve apoplastik alanlarda meydana gelmektedir. Süperoksit radikalleri, peroksizomlarda da normal metabolizma süresince oluşmaktadır. Oluşan ROS, süperoksit dismutaz (SOD) ve GR gibi antioksidan savunma sistemince etkisiz bir hale getirilmektedir (Koç ve Üstün, 2008). Güçlü bir antioksidan olan yeşil çay polifenolleri, reaktif oksijen ve nitrojen türlerini bağlayarak, ayrıca glutatyon redüktaz gibi hücre içi bir antioksidan enzimin sentezini tetiklemektedirler (Şahin ve Özdemir, 2006).

2.2.4. Glutatyon peroksidaz enzimi ve biyokimyasal önemi

Glutatyon redoks döngüsü, hücre içi hidroperoksitlerin azaltılmasında kilit bir rol oynar. GPx seleno-sistein bileşiği sınıfına aittir çünkü dört selenyum atomunu bağlar ve glutatyon peroksidazın katalitik aktivitesini sağlar. Ortak alt madde olarak glutatyon'a ihtiyacı var (Çaylak, 2011).

Glutatyon, indirgenmiş formda (GSH), kendisini başka bir glutatyon molekülü ile disülfid köprüsü oluşturarak, hidrojen peroksitleri veya lipid peroksitleri ile reaksiyona sokarak reaksiyona sokarak reaksiyona sokarak bu moleküllerin detoksifikasyonunda rol oynayarak kendisini oksitlenmiş glutatyon (GSSG) formuna dönüştürür. GPx enzimi (Aktaş ve ark., 2005).

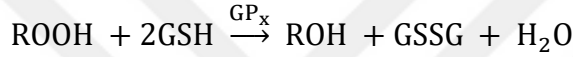
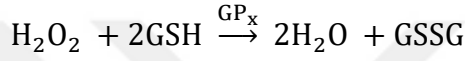
Birçok çalışma, organik ve inorganik Se takviyelerinin fizyolojik fonksiyonlar ve insan sağlığı üzerindeki etkisinin araştırıldığını, ancak diyetle ek ilavenin en uygun kullanım şeklinin belirtilmediğini göstermiştir (Bennett ve ark., 2012).

Glutatyon peroksidaz aktivitesi, biyolojik sistemlerde genel savunma mekanizmalarında ve stratejilerinde kilit ve temel bir rol oynayan birincil bir antioksidan savunma sistemidir. İnsanlarda en az sekiz GPx enzimi vardır, GPx1 - GPx8. GPx 1-8 genleri sırasıyla 3, 14, 5, 19, 6, 6, 1 ve 5 numaralı kromozomlarla eşleştirilir. Glutatyon peroksidazları, kanser ve kardiyovasküler hastalıklar dahil olmak üzere birçok yaygın ve karmaşık hastalığın geliştirilmesinde ve önlenmesinde de yer almıştır. Selenyumun beslenme durumunun optimizasyonu daha yüksek GPx4 aktivitesine neden olabilir ve böylece nöronal kaybı geciktirebilir hatta önleyebilir.

Yeni selenyum biyolojisi ve GPx1 alanındaki gelişmelerin glukoz ve lipid metabolizmasına bağlı hastalıklarda yer alan sinyal ve moleküler mekanizmaları önerme

girişiminde buldukları gösterilmiştir. İnsüline bağımlı hastalıkların tedavisinde çeşitli antioksidan enzimlerin uygulamalarını taklit etme gereksinimlerini ve fırsatlarını taklit eder. GPx enzimi, insülin fiziolojisi ve enerji metabolizmasının ana düzenleyicisidir. Hiperbarik oksijen, tıbbi ozon ve enteral glutamin, tek başına veya arginin ile kombinasyon halinde, antioksidan savunma mekanizmalarını modüle ederek nekrotizan enterokolit (NEC) üzerinde olumlu etkiler göstermiştir.

Glutasyon peroksidaz (GPx; E.C. 1.11.1.9), hidroperoksidlerin indirgenmesinden sorumlu sitozolik bir enzimdir. Eritrositlerde GPx oksidan strese karşı en etkili antioksidandır ve fagositik hücrelerde de bazı önemli fonksiyonlarda bulunur (Benzer ve Ozan, 2003).



Hücrelerde meydana gelen hidroperoksidlerin uzaklaştırılmasından sorumlu bir enzimdir. Subünitleri bir Se atomu içerdiğinden, hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülmektedir. Bu enzimin varlığı tarihte ilk kez Mills tarafından 1957 yılında memelilerin eritrositlerinde bulunmuştur. Endotel hücrelerinde ve özellikle akciğerde en etkili enzimdir. Enzim aktivitesinin % 60-75'i ökaryot hücre sitoplazmasında bulunmaktadır. % 25-40'ı ise mitokondride saptanmıştır. Enzim aktivitesinin en fazla görüldüğü dokular ise eritrositler ve karaciğerdir. GPx, intrasellüler mesafede lipitleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimdir. Bu sebeple hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim, hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korumaktadır. Membran fosfolipit hidroperoksidlerini alkole indirgeyen fosfolipit hidroperoksid glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) da Se atomu içermektedir ve monomerik bir yapıdadır. Ayrıca sitozolik bir enzimdir. Membrana bağlı bir antioksidan olan vitamin E'nin yetersiz olduğu durumlarda PLGSH-Px membranın peroksidasyonuna karşı bir koruma sağlar (Cheeseman ve ark., 1993; Frei, 1994; Mungan, 1996; Günaldı, 2009).

Glutasyon peroksidaz; indirgenmiş glutasyon tarafından H_2O_2 ve lipit peroksidlerinin detoksifikasyonunu katalizler. Böylece membran lipitlerini ve hemoglobini, peroksidlerin oksidasyonundan korur. GPx, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda da rol almaktadır. Memeli hücrelerinde biyolojik membranların peroksidatif hasarına karşı en hayati savunma sağlayan antioksidan enzim sistemidir. Bu

enzimlerden, glutatyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz birlikte hücreyi peroksidan moleküllerden korumayı amaçlayan ortaklaşa bir sistem oluşturur (Öncü ve ark., 2002).





3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Araştırmamızda kullanılan kan ve serum örnekleri Van Bölge Eğitim Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları Doğum Kliniği'ne başvuran ve Abortus Imminens teşhisi konulan hastalardan temin edildi.

3.1.1. Cihaz ve malzemeler

Vorteks
Derin Dondurucu Tüpleri
Serum Saklama Tüpleri
Spektrofotometre
Ayarlanabilir Otomatik Pipetler
Termostatlı Su Banyosu
Cam Pipet
Soğutmalı Santrifüj
Derin Dondurucu
Etüv
Kronometre
Hassas Terazi
Spektrofotometre Küveti
Otomatik Pipet Ucu
Ph Metre
Magnet
Beher
Balon joje
Erlen

3.1.2. Reaktifler ve kimyasal maddeler

KOH

H₂O₂

Na-azid

GSH

GR

Ksantin

Nitro Blue Tetrazolium

Na₂CO₃

Bovin Serum Albumin

Ksantin Oksidaz

NH₄(SO₄)

CuCl₂

KH₂PO₄

Na₂HPO₄

Sodyum hidroksit çözeltisi

DTNB

Sodyum sitrat

NADPH

GSSG

Etilendiamintetraasetik asit çözeltisi

Bütilhidroksitoluen çözeltisi

Tiobarbitürik asit çözeltisi

Trikloroasetik asit çözeltisi

Saf alkol

3.2. Yöntem

Çalışma popülasyonu tanı alan ve takibi yapılan yaşları 20-45 yaş arasında değişen toplam 40 abortus imminensli hasta ile 40 sağlıklı bireyden oluşturuldu. Biyokimyasal parametreler; serum örnekleriyle belirlendi. Bu çalışmadaki kan örnekleri toplanmadan önce Van Kadın Doğum Hastanesi Klinik ve Laboratuvar Araştırmaları

Yerel Etik Kurulu Onayı alındı. Çalışmada denek olarak seçilen sağlıklı ve hasta bireylerden 3'er ml usulüne uygun venöz kan alınarak 5000 rpm/dk da yaklaşık 10 dakika santrifüj edildi ve böylece serumlar ayrıştırıldı. Çalışmaya dahil edilen abortus imminens'li hastalardan alınan kan örneklerinin santrifüj işlemiyle ayrıştırılan serumlarda süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), redükte glutasyon (GSH), glutasyon peroksidaz (GPx) ve malondialdehit (MDA) düzeyleri tayin edildi. Çalışmaya dahil edilme ve edilmeme kriterleri belirlenirken ultrasonografik yöntemler kullanılmıştır.

3.3. Analiz Metodları

3.3.1. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi tayini

SOD aktivitesi, Sun ve ark. (1988) tarafından önerilen yöntem kullanılarak tayin edilmiştir. SOD, oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin($O_2\cdot^-$) hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dismutasyonunu hızlandırır. Bu yöntem, ksantin ve ksantin oksidaz (XOD) kullanılarak oluşturulan süperoksit radikallerinin, nitro blue tetrazolium (N.B.T) ile meydana getirdiği mavi renkli formazan boyasının 560 nm dalga boyunda verdiği optik dansitenin (OD) okunması esasına dayanmaktadır. Örnekte bulunan SOD, süperoksit radikallerini ortamdaki uzaklaştırarak formazan reaksiyonunu inhibe eder. SOD'nin bir ünitesi deneme koşulları altında N.B.T indirgenme hızının % 50 inhibisyonudur.

Reaktif Çözeltisinin Hazırlanışı:

1. 0.3 mM Ksantin*: 4.56 mg ksantin 100 ml bidistile suda çözüldü.
2. 0.6 mM EDTA: 4.46 mg EDTA 20 ml bidistile suda çözüldü.
3. 150 mg/L NBT: 12.3 mg NBT 100 ml bidistile suda çözüldü.
4. 400 mM Na_2CO_3 : 2.544 g Na_2CO_3 60 ml bidistile suda çözüldü.
5. Sığır serum albümin (1g/L): 12 mg BSA 12 ml bidistile suda çözüldü.

Reaktif çözeltinin hazırlanışı: 40 ml ksantin çözeltisi, 20 ml EDTA çözeltisi, 20 ml NBT çözeltisi, 12 ml Na_2CO_3 çözeltisi, 6 ml BSA'yı karıştırıldı.

- Ksantin oksidaz (167 u/L) enziminden 16 µl alınıp, 1 ml 2 M $(NH_4)_2SO_4$ da çözüldü.

- 2M (NH₄)₂SO₄ 10 ml'ye saf su ile tamamlandı (+4 °C'de muhafaza edildi).
- 0.8 mM CuCl₂.2H₂O hazırlandı, 100 ml'ye saf su ile tamamlandı.
- *Önce birkaç damla 1N NaOH de çözüldü.

Çizelge 3.1. SOD aktivitesi tayin yöntemi.

	Kör	Örnek
Reaktif	1.425 mL	1.425 mL
Örnek	-	0.05 mL
Bidistile su	0.1 mL	-
Ksantin oksidaz	0.025 mL	0.025 mL
25°C'de oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi		
CuCl ₂	0.050 mL	0.050 mL

Çizelge 3.1.'de belirtildiği gibi pipetlemeler yapıldıktan sonra, kör ve örnek tüpleri 560 nm'de bidistile suya karşı okundu.

SOD için Aktivite Hesaplanması: (Kör OD – Numune OD) / Kör OD

1 Ünite SOD: NBT redüksiyonunu % 50 inhibe eden enzim aktivitesidir.

3.3.2. Katalaz (CAT) aktivitesi tayini

Hidrojen peroksidin substrat olarak kullanılan bu çalışmada Aeibi yöntemine göre katalaz aktivitesi belirlendi. Aktivite şu şekilde yapıldı önce iki tüp alındı kör tüpüne 2.8 ml 30 mM'lık H₂O₂ ilave edilir ve üzerine 0.2 ml fosfat tamponu eklenir. Numune tübüne ise 2.8 ml 30 mM'lık H₂O₂ ilave edilir. Üzerine 0.2 ml enzim eklenerek vortexle karıştırıldı. 30 saniye aralıklarla iki defa 240 nm'de absorbanslar okundu ve böylece aktivite tayin edildi (Aeibi, 1984).

Kullanılan çözeltiler:

1. 30 mM H₂O₂'nin hazırlanışı: 100 ml bidistile suyun içine, % 30'luk H₂O₂'den 0.34 ml alınarak konuldu.

2. 50 mM Fosfat Tamponunun hazırlanışı: 6.81 g KH₂PO₄ ve 7.1 g Na₂HPO₄ bidistile suda çözülerek, tamponun ph'ı 1N NaOH ile 7.4'e ayarlandı ve hacim 1 litreye tamamlandı.

$$E.Ü.= (2.3 / \Delta x) \times [(\log A_1 / \log A_2)]$$

$\Delta x = 30$ saniye

2.3= 1 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 'nin 1 cm'lik ışık yolunda verdiği optik dansite

3.3.3. Redükte glutatyon (GSH) tayini

İndirgenmiş glutatyon (GSH), eritrositte bulunan sülfidril gruplarının DTNB (5'.5'-(2-ditiobis nitrobenzoik asit) ile reaksiyonu sonucu sarı rengin oluşumu ile ölçüldü. EDTA' lı kanlarda indirgenmiş glutatyon seviyesi ölçümü, 24 saat içerisinde, spektrofotometre'de 412 nm'de gerçekleştirildi (Beutler ve ark., 1963).

Kullanılan çözeltiler:

1. Fosfat tamponu: 0.3 M disodyum fosfat bidistile su ile hazırlanır.
2. Ellman's ayıracı: 40 mg DTNB (5'.5'-(2-ditiobis nitrobenzoik asit) ve % 1 sodyum sitrat, 100 ml'ye bidistile su ile tamamlandı.

Hesaplama:

Glutatyon derişimi mmol/g protein biriminden hesaplandı.

$$C / 1000 = (OD_2 - OD_1) / 13600 \times E_1 \times 5/2 \times 1/2$$

13600: GSH ile DTNB etkileşimi sırasında oluşan sarı rengin molar ekstinksiyon katsayısı.

E_1 : Eni 6 nm'den büyük olan bant kullanılırsa hem ışık yolu hem de bant genişliği farklarını düzelten bir türev ekstinksiyon katsayısı kullanılır. Bizim kullandığımız bantın eni 2 nm'dir. Hesaplamalarda $E_1=1$ olarak alındı.

1000: mmol'e dönüşüm katsayısı.

C: mmol / glutatyon

OD_1 : DTNB ilave edilmeden önce 412 nm dalga boyunda ölçülecek optik dansite.

OD_2 : DTNB ilave edildikten sonra 412 nm dalga boyunda ölçülecek optik dansite.

3.3.4. Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesi tayini

Glutasyon peroksidaz aktivitesi belirlenmesi için Beutler'in tayin yöntemi uygulandı. Bu metodun prensibi redükte glutasyonun hidrojen peroksitle reaksiyonu sonucu okside glutasyona yükseltgenmesini katalizleyen glutasyon peroksidazın (glutasyon: H₂O₂ oksidoredüktaz, EC 1.11.1.9) aktivitesinin okside glutasyonun (GSSG), NADPH varlığında glutasyon redüktaz (GR) enzimi tarafından GSH'a indirgenmesi, NADPH 'daki azalmasının 340 nm' de takip edilmesi esasına dayanır.

Kullanılan Çözeltiler:

1. Fosfat tamponu; 3.402 g KH₂PO₄ tartıldı, 100 ml deiyonize suda çözüldü, pH 1N KOH ile 7.0 a ayarlanıp hacim deiyonize su ile 250 ml ye tamamlandı.
 2. 0.2 M EDTA; 0.37 g EDTA 5 ml deiyonize suda çözüldü.
 3. 10 mM H₂O₂; 8.59 µl orijinal (% 35 w/w) şişeden alınıp 10 ml fosfat tamponunda çözüldü.
 4. 0.4 M Na- azid; 0.026 g Na- azid 1ml deiyonize suda çözüldü.
 5. 2 mM NADPH; 0.017 g NADPH 10 ml deiyonize suda çözüldü. Günlük olarak hazırlandı.
 6. 0.1 M GSH; 0.03 g GSH 1ml deiyonize suda çözüldü. Günlük olarak hazırlandı.
 7. 10 U/ ml GR; 100 µl GR 10 ml deiyonize suda çözüldü.
- Deneyin yapılışı: Tüpler çizelge 3.2.'deki belirtildiği gibi pipetlendi.

Çizelge 3.2. Glutasyon peroksidaz aktivitesi tayini.

Kör (µl)		Örnek (µl)
Fosfat tamponu	100	100
GSH	-	10
EDTA	20	20
GR	100	100
Na-azid	10	10
NADPH	100	100
Numune	50	50
Bidistile su	640	630
Tüpler vortekslendi, 37°C'de 10 dakika inkübe edildi.		
H ₂ O ₂	10	10
340 nm'de absorbanslar okundu.		

Glutasyon peroksidaz Aktivitesi (U / ml) = $(\Delta OD / t) \times [(Vt) / (6.22 \times V\ddot{o})]$

Glutasyon peroksidaz aktivitesi U/ ml olarak belirlendi.

0. , 2.5., 5. dakikalarda 340 nm'de spektrofotometrede okumalar yapıldı.

ΔOD : Zamana göre absorbans değişimi

t: Zaman

Vt: Toplam reaksiyon hacmi (ml)

Vö: Örnek hacmi (ml)

6.22: 1 nmol NADPH'ın 1 cm'lik ışık yolunda verdiği optik dansisite.

3.3.5. Malondialdehit (MDA) düzeyi tayini

Yağ asitlerinin, serbest radikallerle reaksiyonu sonucu oluşan peroksidasyon ürünlerinden malondialdehit, tiobarbutirik asit ile renkli forma girmesi sonucu ölçüldü. (Gutteridge, 1995).

Kullanılan çözeltiler:

1. 0.1 M EDTA çözeltisi (Etilen diamin tetra asetik asit disodyum):

37.224 gr EDTA-Na₂H₂O 1 litre bidistile suda eritildi.

2. % 88'lik BHT çözeltisi (Bütil hidroksi toluen): 0.220 gr BHT, 25 ml saf alkolde çözüldü.

3. 0.05 N NaOH çözeltisi (Sodyum hidroksit): 2 gr NaOH, 1 lt bidistile suda eritildi.

4. % 1'lik TBA çözeltisi (Tiobarbitürik asit) : 1 gr TBA 100 ml'ye 0.05 N NaOH ile tamamlandı.

5. % 30'luk TCA çözeltisi (trikloroasetik asit) : 30 gr TCA, 100 ml distile suda eritildi.

6. Fosfat Tamponu: 8.1 gr NaCl, 2.302 gr Na₂HPO₄, 0.194 gr NaH₂PO₄ bidistile suda eritilerek 1 lt'ye tamalandı. pH'sı 7.4'ye ayarlandı.

Deneyin yapılışı:

Bir tüpe serumdan 200 µl alındı. Üzerine 800 µl fosfat tamponu ve 25 µl BHT çözeltisi ve 500 µl % 30' luk TCA eklendi. Tüpler vortekste karıştırılarak 2 saat buzda tutuldu. Sonra 15 dk 2000 rpm'de santrifüj edildi. Süpernatantın 1 ml'si alınarak başka tüplere aktarıldı. Bunların üzerine 75 µl EDTA, 25 µl TBA eklendi. Tüpler vortekste karıştırıldı ve 15 dk sıcak su banyosunda tutuldu. Sonra oda ısısına getirilerek 532 nm'de UV/Vis spektrofotometrede absorbanları okundu.

3.4. İstatistiksel Analiz

Üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler; Ortalama, Standart Sapma olarak ifade edilmiştir. Bağımsız iki grup karşılaştırmalarında normal dağılım koşulu sağlanan durumlarda T-Test, normal dağılım koşulu sağlanmayan durumlarda Mann Whitney U test istatistiği kullanıldı. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak alınmış ve hesaplamalar için SPSS istatistik paket programı kullanılmıştır.

4. BULGULAR

GPx, MDA, GSH, CAT ve SOD için yapılan istatistikler ve karşılaştırma verileri Tablo 1’de belirtilmiştir. Tablo 1’e bakıldığında GPx, MDA, GSH, CAT ve SOD için hastalık tanılı grup ve kontrol grup ortalamaları aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($p<0.05$). Hasta grubunda MDA ortalaması kontrol grubuna göre çok yüksek bulunurken, GPx, GSH, CAT ve SOD ise kontrol grubuna göre çok düşük bulunmuştur.

SOD (Süperoksit dismutaz) enzim aktivitesi analizi (Çizelge 4.1) incelendiğinde, kontrol grubu (22269.38 ± 1578.915 U/L) ile hasta grubu (9644.53 ± 1672.697 U/L) arasında istatistiksel yönden anlamlı ilişki ($p<0.001$) olarak bulundu (Şekil 4.1).

CAT (Katalaz) enzim aktivitesi tayini (Çizelge 4.1)’de gösterildiği gibi incelendiğinde, kontrol grubu ($0.00299425\pm0.0008007493$ U/L) ile hasta grubu ($0.000302875\pm0.0002322419$ U/L) arasında istatistiksel yönden anlamlı ilişki ($p<0.001$) olarak tespit edildi (Şekil 4.2).

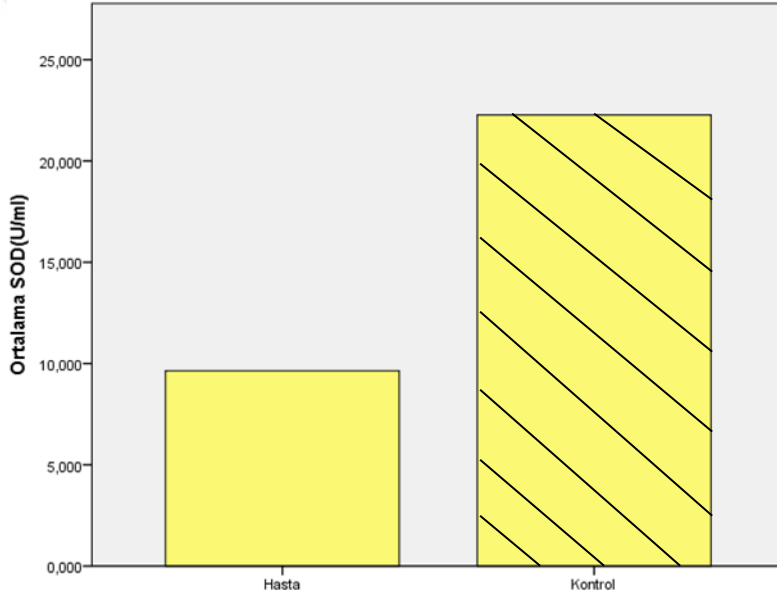
GSH (Redükte glutatyon) düzeyi ölçümü (Çizelge 4.1) incelendiğinde, kontrol grubu (0.0242 ± 0.0059751623 mg/dl) ile hasta grubu ($0.00453125\pm0.0015801037$ mg/dl) arasında istatistiki yönden anlamlı ilişki bulundu ($p<0.001$) (Şekil 4.3).

GPx (Glutatyon peroksidaz) enzim aktivitesi analizinde (Çizelge 4.1) ’de gösterildiği gibi incelendiğinde, kontrol grubu (488.58 ± 25.655 U/L) ile hasta grubu (194.73 ± 38.596 U/L) arasında ($p<0.001$) olarak belirlendi (Şekil 4.4).

MDA (Malondialdehit) düzeyi tayininde (Çizelge 4.1) ’de gösterildiği gibi incelendiğinde, kontrol grubu (0.7839412 ± 1.12089499 $\mu\text{mol/L}$) ile hasta grubu (1.180081 ± 0.1807423 $\mu\text{mol /L}$) arasında istatistiksel yönden anlamlı ilişki ($p<0.001$) olarak belirlendi (Şekil 4.5).

Çizelge 4.1. Çalışma popülasyonunun SOD, CAT, GR ve GPx serum aktiviteleri ile serum GSH, MDA düzeyi. Örnekler incelendiğinde hasta ve kontrol grubu ortalaması SOD, MDA, GSH, GPx ve CAT düzeyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($P < 0.05$).

	Kontrol (n=40)(ortalama \pm Std.sapma)	Hasta (n=40)(ortalama \pm Std. sapma)	p
GPx(U/L)	488.58 \pm 25.655	194.73 \pm 38.596	0.001
MDA (mmol/L)	0.7839412 \pm 1.12089499	1.180081 \pm 0.1807423	0.001
GSH (mg/dl)	0.0242 \pm 0.0059751623	0.00453125 \pm 0.0015801037	0.001
CAT (U/L)	0.00299425 \pm 0.0008007493	0.000302875 \pm 0.0002322419	0.001
SOD(U/L)	22269.38 \pm 1578.915	9644.53 \pm 1672.697	0.001

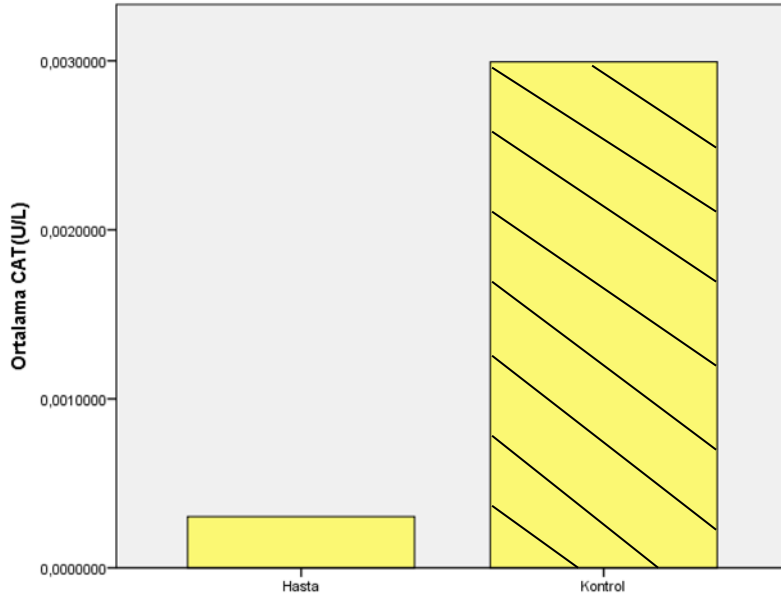


Şekil 4.1. Abortus imminensli ve kontrol grubu SOD aktivitesi karşılaştırması.

SOD (Süperoksit dismutaz) enzim aktivitesi analizi (Çizelge 4.1) incelendiğinde,

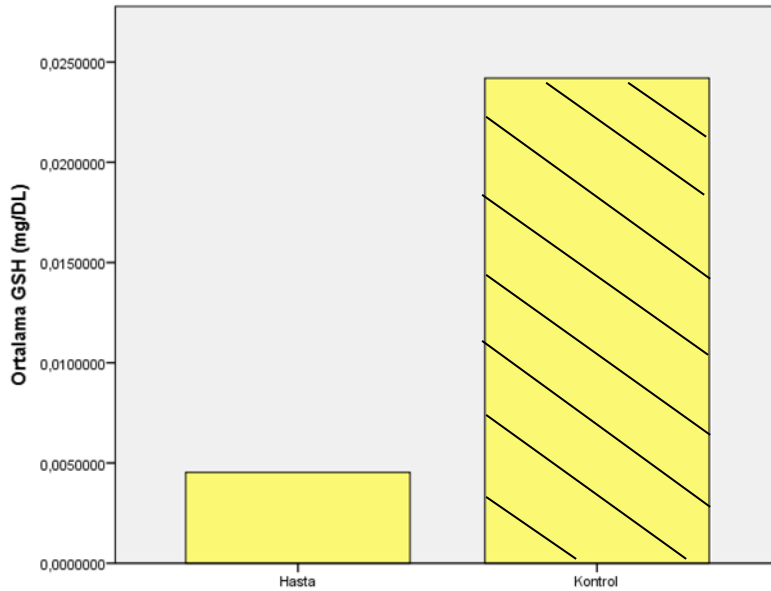
kontrol grubu (22269.38 \pm 1578.915 U/L) ile hasta grubu (9644.53 \pm 1672.697U/L) arasında

istatistiksel yönden anlamlı ilişki ($p < 0.001$) olarak bulundu (Şekil 4.1).



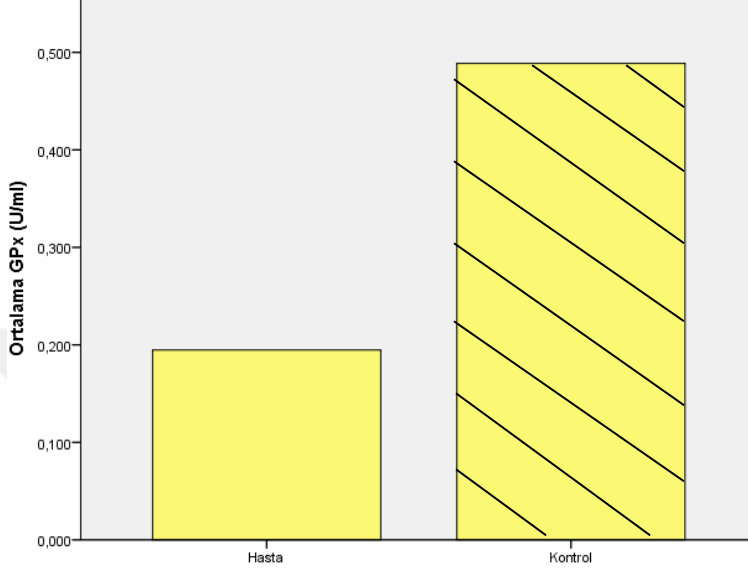
Şekil 4.2. Abortus imminensli ve kontrol grubu CAT aktivitesi karşılaştırması.

CAT (Katalaz) enzim aktivitesi tayini (Çizelge 4.1)'de gösterildiği gibi incelendiğinde, kontrol grubu ($0,00299425 \pm 0,0008007493$ U/L) ile hasta grubu ($0,000302875 \pm 0,0002322419$ U/L) arasında istatistiksel yönden anlamlı ilişki ($p < 0,001$) olarak tespit edildi (Şekil 4.2).



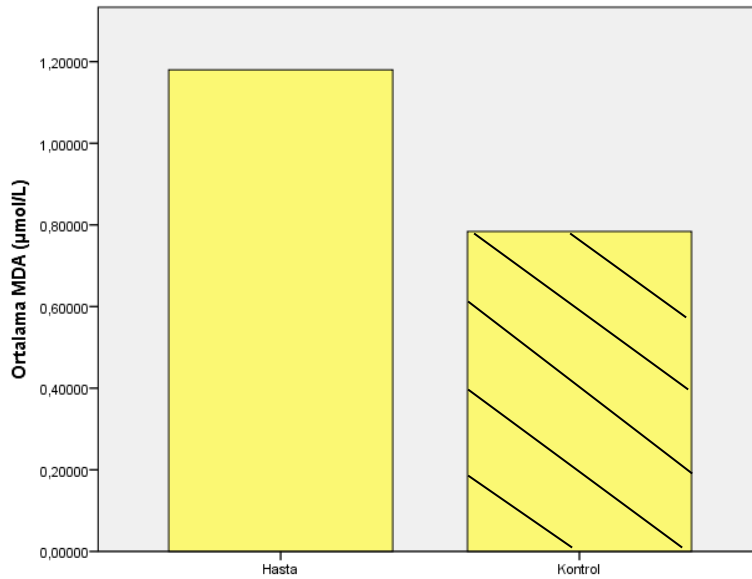
Şekil 4.3. Abortus imminensli ve kontrol grubu GSH düzeyi karşılaştırması.

GSH (redükte glutasyon) düzeyi ölçümü (Çizelge 4.1) incelendiğinde, kontrol grubu (0.0242 ± 0.0059751623 mg/dl) ile hasta grubu ($0.00453125 \pm 0.0015801037$ mg/dl) arasında istatistiki yönden anlamlı ilişki bulundu ($p < 0.001$) (Şekil 4.3).



Şekil 4.4. Abortus imminensli ve kontrol grubu GPx aktivitesi karşılaştırması.

GPx (Glutasyon peroksidaz) enzim aktivitesi analizinde (Çizelge 4.1) 'de gösterildiği gibi incelendiğinde, kontrol grubu (488.58 ± 25.655 U/L) ile hasta grubu (194.73 ± 38.596 U/L) arasında ($p < 0.001$) olarak belirlendi (Şekil 4.4).



Şekil 4.5. Abortus imminensli ve kontrol grubu MDA düzeyi karşılaştırması.

MDA (Malondialdehit) düzeyi tayininde (Çizelge 4.1) 'de gösterildiği gibi incelendiğinde, kontrol grubu ($0.7839412 \pm 1.12089499 \mu\text{mol/L}$) ile hasta grubu ($1.180081 \pm 0.1807423 \mu\text{mol /L}$) arasında istatistiksel yönden anlamlı ilişki ($p < 0.001$) olarak belirlendi (Şekil 4.5).





5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında, abortus imminensde bir oksidatif stres belirteci olan malondialdehit düzeyi ve bazı antioksidan aktiviteler olan katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz enzim aktiviteleri ile redükte glutatyon düzeyi araştırıldı.

Reaktif oksijen türleri (ROT); süperoksit radikalleri (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2)hidroksil radikali (OH^-) ve oksijen metabolizmasında oluşan singlet oksijendir. Serbest radikaller, çeşitli serbest radikalleri şekillendiren serbest radikal dizi tepkimelerini başlatabilir (Arslan ve ark., 2014). Reaktif oksijen türleri (ROT), kanser dahil birçok hastalık patogoneziyle ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, ROT'ların tümör hücresi göçünü artırdığı, tümörlerin yayılma riskini ve metastazını artırdığı da bildirilmiştir. ROT'un zararlı etkilerinin enzimatik (katalaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz v.b.) komponentlerden oluşan çeşitli hücrel savunma sistemleri tarafından kontrol edildiği bilinmektedir. Epidemiyolojik literatür çalışmaları, antioksidanların düşük seviyeleriyle kanser riskindeki artış arasında bir ilişkili olduğunu ortaya çıkarmışlardır (Geçit ve ark., 2012).

Enzimler, canlı organizmalardaki biyolojik tepkimeleri hızlandırıcı etkiye sahip protein yapılı biyokatalizörlerdir. Proteinlerin en büyük grubunu oluştururlar (Keha ve Küfrelioğlu, 1997; Telefoncu, 1986; Bilici ve ark., 2012). Enzimlerin canlı yapıdaki işlevler gittikçe daha çok anlaşılmaktadır. Temel bilimler, biyoloji, kimya, eczacılık ve tıp gibi çok geniş araştırma bölümlerindeki çalışmaların büyük bir kısmı enzimler alanındaki olanlarıdır. Katalaz (CAT), peroksidaz (POD), glutatyon redüktaz (GR) ve süperoksit dismutaz (SOD), biyolojik ve biyokimyasal sistemlerde enzimatik etkiye sahip antioksidantlardır. Antioksidan sistem, serbest radikal ya da farklı reaktiflikteki moleküllerin oksidatif hasarına karşı hücreye koruma sağlar. Bundan ötürü antioksidan savunma sistemindeki POD, GSSG-Rx, SOD ve CAT gibi antioksidan enzimler ciddi ehemmiyete sahiptirler. Serbest radikal hasarının istenmeyen tesirleri hücredeki antioksidan savunma sistemi aracılığıyla düzenlenir (Gülçin, 2002).

Abortusun; son menstruasyonun ilk günü baz alınmak koşuluyla 20 haftadan önce hamileliğin bitişi veya 500 gr'dan az olan fetusun kaybedilmesi (gebeliğin sonlanmasına) olarak tanımlanır. Fetusun, uterusun dışında gelişimini sağlayacak kapasiteye erişmeden 500 gr veya daha aşağıda ağırlıkta iken uterus dışına atılmasına

yada gebeliğin 20. Gebelik haftasından önce sonlanmasına abortus denir. Onikinci hamilelik haftasına dek olan abortus vakalarına erken abortus, 12-20. haftalar arasında meydana gelen abortuslara geç abortus denir (Acar ve Çelik, 2001).

Abortus imminens gebeliğin ilk yarısında meydana gelen kanlı vajinal akıntı veya uterin kanama olarak tanımlanmaktadır. Gebeliğin ilk aylarındaki vajinal lekelenme veya kanama, gebeliklerin yaklaşık % 20'sinde görülebilmektedir. Kanama, kahverengi bir akıntı veya parlak kırmızı renkte kendini gösterebilir ve tek bir seferde olabileceği gibi tekrarlayıcı da olabilir. Kanamaya çoğunlukla uterin kramplar ve bel-kasık ağrısı eşlik etmektedir. Pelvik muayenede serviksin kapalı olduğu ve servikal silinmenin olmadığı tespit edilir. Ayırıcı tanıda ektopik gebelik, molar gebelik, vajinal kanama, servisit, servikal erozyon, servikal polip ve serviks kanseri yer almaktadır (Porter ve ark., 2003).

Abortus imminense bağlı vajinal kanama sık rastlanılan obstetrik klinik bir durumdur. Abortus imminens erken gebelik haftalarında kanama ile karakterize, düşük tehdidi olarak da adlandırılan en yaygın obstetrik acillerdendir ve gebelerde % 15-20 insidansında görülmektedir (Jouppila, 1985). Hastalar ve doktorları gebeliğin devamı konusunda endişe içerisindedirler, fakat bu gebeliklerin sonucu hakkında yol gösteren etkili bir belirteç bulunmamaktadır. Düşük tehditlerinin prediksyonu için birçok maternal serum belirteci açıklanmıştır. Çalışmaların çoğunda birden fazla sayıda belirteç incelenmiştir (Johnson ve ark., 1993; Dumps ve ark., 2002).

Çalışmaların çoğunda birden fazla sayıda belirteç incelenmiştir (Johnson ve ark., 1993; Dumps ve ark., 2002). Abortus imminens hastalarında kanama haftalarca sürebilir. Bu durumda gebeliğin devam edip etmeyeceğine karar vermek önemlidir. Vajinal sonografi, seri serum β -hCG ölçümleri ve serum progesteron değerlerinin tek başına yada combine ölçümleri gebeliğin prognozunu belirlemede yardımcı yöntemlerdir. β -hCG düzeyinin düşmesi veya anormal derecede düşük olması, plasma östrojeninin düşmesi, düşük serum progesteron düzeyleri spontan abortusun bir işareti olabilir.

İlk trimester abortuslarının risk faktörleri arasında ise ileri anne yaşı, önceki gebeliklerden birinin abortus ile sonuçlanması, annenin kötü alışkanlıkları (sigara, alkol, kokain vb.), konsepsiyon döneminde antiinflatuar ilaç kullanımı sayılabilir. İlk trimester abortuslarının en sık sebebi ise genetik anomalilerdir (Porter ve ark., 2003).

Bu konu ile ilgili yapılmış 26 çalışmayı incelendiği bir metaanalizde, 16 ng/ml'den daha fazla progesteron düzeyinin canlı durumdaki gebeliği öngörmeye % 95 sensitivite ve % 40 spesifiteye sahip olduğu gösterilmiştir (Mol ve ark., 1998).

Hormonal testlerle birlikte ultrasonografi, imminens olgularının değerlendirilmesinde önemli bir yere sahiptir (Alcazar ve Ruiz, 2000).

Prognozun önceden tayini gerek vakaların psikolojik durumları gerekse tıbbi yaklaşım bakımından mühim neticelerin doğmasına sebep olacaktır. Çoğu hastada girişimlerin neticeyi değiştirememesine rağmen klinik yönetimdeki asıl hedef çabukluk, tanının hızlı konması, uygun, gelişmiş ve canlı bir gebelik varsa güven vermek, eğer bu tarz bir gebelik yoksa da uygun girişime karar vermektir. Böylesine bir hedef doğrultusunda abortus imminens hastalarında prognoz tayini açısından birçok parametre tanımlanmıştır. En kısa sürede tanıya gidilerek uygun yaklaşımda bulunulması ile hem gereksiz maternal kanamanın önüne geçilmesi, ayrıca hastanede kalış süresinin kısaltılabilmesi hedeflenmiştir.

Abortusların yaklaşık olarak % 80'den fazlası 12. Haftaya kadar olur ve oran daha sonraki haftalarda hızlı biçimde düşer. Bu erken abortusların en azından yarısına kromozomal anomaliler sebep olur. Ardından insidanslar hızlı biçimde azalır. Erken spontan abortusların hemen hemen % 50 ile 60'ı, fetusun kromozomsal anomalisiyle ilişkilidir. Anestetik gazlar, radyoaktif izotoplar, arsenik, benzen gibi bazı maddeler, isotretinoin, thalidomid, antikoagülanlar, kanser kemoterapisinde kullanılan ilaçlar, kokain gibi bazı ilaçlar, perkloretilen (kuru temizleme solventi) ve diğer organik solventler, ağır metal maruziyeti, abortuslara sebep olmaktadır (McMartin ve ark., 1998). Arsenik, kurşun, formaldehit, benzen ve etilen oksitin abortusa neden olabileceği yönünde çalışmalar vardır (Barlow ve Sullivan, 1982).

Bedendeki oksidatif stres artışı daha fazla radikal oluşumuna sebep olur. Oluşan bu radikaller metabolizma açısından hayati ehemmiyete sahip protein, lipit, karbohidrat ve nükleik asitler gibi makromoleküllerin yapısında bozulmaya sebep olur. Oluşan bu durum endojen ve ekzojen antioksidantlar yoluyla kontrol altına alınmadığı durumdaysa birçok hastalığın oluşumunda önemlidir. Oksidatif stres, serbest radikal üretimindeki artışın belirtildiği parametrelerin, antioksidant savunma sisteminde rol alan enzim ve metabolitlerdeki konsantrasyon yükselişini ya da azalışını belirten parametrelerin ve hasara uğramış dokuların araştırılması veya hasalı dokudaki biyolojik sıvılardaki

metabolitlerinin analizi ile sonuçlandırılabilir. Belli dönemlerde yapılması gereken analizler çeşitli teknikler kullanılarak gerçekleştirilebilmektedir. Eritrosit, serum, plazma, doku numuneleri gibi biyolojik örneklerde analizler yapılmak suretiyle çok çeşitli yöntemler mevcuttur. Şu anki yöntemlerin her birinin zorluklarının yanında, serbest radikallerin tepkimeye sokulma meyilleri yüksek olduğundan ve yarı ömürlerinin kısa olması sebebiyle doğrudan yapılan ölçümler güçtür (Erel, 2005; Erel, 2004).

Oksidatif stres, çevresel toksisitenin çok aşamalı bir karsinojenik sürece bağlanmasında önemli bir bileşendir. Ayrıca oksidatif stres, kanser gelişimi gibi çok aşamalı bir süreç ile (tek bir hücre içinde meydana gelen üç aşama; başlangıç, yükselme ve ilerleme), birden fazla etkinliğin kümülatif etkisiyle karakterize edilir. Reaktif oksijen türleri (ROS) endojen ve ekzojen uyarıya yanıt olarak üretilir. ROS karsinogenezin bütün bu aşamalarına etki edebilir (Tarlovsky, 2012). Bu nedenle oksidanların ve antioksidanların hücrese seviyeleri arası dengesizlik durumunu açıklamak için oksidatif stres terimi kullanılır (Hristova ve ark., 2014).

Serbest radikaller yoluyla gerçekleşen hücre hasarının, yaşlanma süreci ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların (başta ateroskleroz, katarakt, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar, immunsistem bozuklukları ve kanser oluşumu) patogeneğinde görevlidir. Oksidatif stres, yaklaşık olarak 50 kadar hastalık patogeneziyle ilişkilendirilmiştir (Derviş, 2011). Dolaşımdaki antioksidan azalma, tümör hücreleri tarafından gerçekleştirilen sekestrasyonun yanı sıra lipit peroksidlerin tümör hücreleri tarafından süpürülmesinden dolayı olabilir (Gecit ve ark., 2012).

Yapılan bir çalışmada, serum malondialdehit seviyesi gebe olmayan kadınlarda daha düşük olduğu bildirilmiştir (Patil ve ark., 2007). Türkiye'de yapılan başka bir çalışmada kendiliğinden düşük yapan kadınlarda serum malondialdehit düzeyinin aynı gebelik haftasında normal gebeliktekine göre daha yüksek olduğunu belirtilmiştir (Özkaya ve ark., 2008). Yapılan bir çalışmada, tehdit altındaki gebelerdeki serum malondialdehit düzeyi normal hamilelikten önemli ölçüde farklı bulunmuştur (Sutama ve Surya, 2015).

Birkaç çalışmada, OS'nin tekrarlayan düşük (Sumitha ve ark., 2015), intrauterin büyüme kısıtlaması veya IUGR (Holland ve ark., 2017), preterm doğum (Mustafa ve ark., 2010) gibi gebelik komplikasyonları insidansındaki rolünü incelemişlerdir (Gupta

ve ark., 2009; Wu ve ark., 2016) ve gebelik diyabeti (Madazli ve ark., 2008; Lappas ve ark., 2011), yapılan çalışmalarda çoğu belirteç olarak malondialdehit (MDA) olarak kullanmışlardır. Çalışmalarda, gebe olmayan kadınlara kıyasla düşük gören kadınlarda serum MDA düzeylerinin daha yüksek olduğunu ortaya konulmuştur (Issa ve ark., 2012). Sutama ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise düşük gebelik riski olan gebelerde, düşük gebelik riski olan kadınlardan daha yüksek serum MDA düzeylerini bildirmişlerdir ve düşük risk düzeyini düşürmede potansiyel bir risk faktörü olarak MDA seviyelerini arttırmışlardır (Sutama ve Surya, 2016). Sumitha ve arkadaşlarının çalışması, tekrarlayan düşükleri olan kadınlarda artan oranda OS olduğunu göstermiştir (Sumitha ve ark., 2015). Ayrıca, Ghneim ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise, OS'nin tekrarlayan düşüklerde önemli bir nedensel faktör olabileceği bildirilmiştir (Ghneim ve ark., 2016).

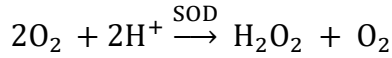
Dağlar ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada, ilk trimesterde düşük tehditi olan kadınlarda serum MDA düzeylerinin normal gebeliği olan kadınlardan biraz daha yüksek olduğunu bulmuşlardır ($P = 0.083$). Ayrıca, düşük kadınlarda normal gebeliği olanlara göre daha yüksek glutatyon peroksidaz (GPx) aktivitesi bulunmuştur (Dağlar ve ark., 2016). Yine bir başka çalışmada ise, artmış MDA seviyesi, azalmış süperoksit dismutaz aktivitesi ve değiştirilmiş tiroid profili şeklinde artmış lipid peroksidasyonunun, gebeliğin sona ermesi ve gebe kaldığı ürünlerin uterus boşluğundan çıkarılmasında rol oynayabileceği bildirilmiştir (Ramandeep ve ark., 2017). MDA'nın birçok çalışmada patolojik gebeliklerde OS tanısı için bir belirteç olarak kullanıldığı düşünülürse (Sumitha ve ark., 2015; Lappas ve ark., 2011), yüksek serum MDA düzeyleri ve hamilelik sırasında düşük TAC, 2 risk faktörüdür. Bu bulgular, OS'nin, spontan kürtajın etyopatogenezinde anahtar rol oynadığı hipotezini desteklemektedir (Torkzahrani ve ark., 2019). Bu tez çalışmasında, serum MDA düzeyi hasta grubu düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna nazaran anlamlı ölçüde daha düşük bulundu ($p < 0.001$) (Çizelge 4.1).

Ayrıca SOD'un başka bir fonksiyonu da dehidrataz enzimler (dihidroksi asit dehidrataz, akonitaz, 6-fosfoglukonat dehidrataz ve fumaraz A ve B) aracılığıyla süperoksit radikallerinin inaktivasyonunu gerçekleştirmektir (Mates, 2000). Çok sayıda izoformu olan enzimin insanda üç alt formu bulunur: Sitosolik Cu, Zn-SOD, mitokondriyal Mn-SOD ve hücre dışı SOD (69.71). Cu, Zn-SOD 32 kD ağırlığındadır

ve iki insidental alt üniteden oluşur. Süperoksit anyonunu su ve oksijene çevirir. Enzim aktivitesi için optimal pH 5-9.5'dur. Mitokondriyal Mn-SOD 96 kD ağırlığında homotetramer yapıdadır. Her bir alt ünitesi manganez içermektedir. Bu enzim Mn'in 3 değerlilikten 2'ye ve 2'den 3 değerli forma dönüştüğü iki aşamalı bir siklus içinde süperoksit radikalinin dönüşümünü sağlar (Mates, 2000).

Meydana gelen ürünler lizozomlarda bulunan CAT kullanılarak veya mitokondrideki glutatyon peroksidaz kullanılmasıyla H₂O'ye detoksifiye edilir (Johansen ve ark., 2005).

SOD, elektronları süperoksit moleküllerle protonlar arası birbirine taşır ve ayrıca redoks-aktif metaloproteinleri birbirine bağlar. Süperoksit dismutaz izoformları Mn, Fe, Cu (yapısal Zn iyonuyla) ve Ni içeren aktif konumdaki redox metaline göre sınıflandırılmıştır. SOD'un iki sıra aile oluşturan ilk üç izoformu üzerinde yoğun bir şekilde çalışılmıştır ayrıca fenotik dağılımı, hücrel lokasyonu ve yapıları hakkında bilgi bilinmektedir (Dupont ve ark., 2008). SOD'un bakır, çinko formu (Cu, Zn-SOD) 32.000 Da moleküler ağırlığında bir dimerdir. Memeli hücrelerinin sitoplazmasında geniş ölçüde çözümlenebilir bir enzim olarak tespit edilmiştir (Crapo ve ark., 1992).



Mitokondriyi ROS/RNS'den koruyan birçok antioksidan enzim arasında mangan-süperoksit dismutaz (Mn-SOD) temel süpürücü enzim olarak davranır. Mn-SOD'un, ROS/RNS'nin zararlı etkilerinden korumadaki rolü hakkında çeşitli model sistemleri üzerinde bazı çalışmalar yapılmıştır (İbrahim ve ark., 2013). SODN'i indükleyen ve SODF ekspresyonunu transkripsiyon başlangıcını kontrol ederek bastıran iki SOD geni Ni tarafından diferansiyel olarak düzenlenmiştir (Chung ve ark., 1999). Ni-SOD, O₂ ve H₂O₂ oluşturmak için kontrollü oranda (10⁹ M⁻¹ s⁻¹) bir yayılmayla (O₂•-) ile tepkime verir. Böylece Ni-SOD molekül türleri genelde tiyolat ligandlarının oksidatif değişikliğiyle ortaklaşmış (trans) formasyonu katalize eder. Bu etkinliğin indirgen ortamlarda çalışan asetil koenzim A sentaz/karbon monoksit dehidrogenaz ve NiFe hidrogenaz gibi Cys-S tarafından bağlanan redoks aktif Ni merkezli metaloenzimlerle tezat halinde olduğunu ortaya koyan bazı çalışmalar vardır (Gale ve ark., 2010). Özkaya ve ark. (Özkaya ve ark., 2008), artan lipid peroksidasyonunun ve süperoksit dismutaz aktivitesinin inhibisyonunun, spontan düşük patogenezinde rol oynayabileceği söylenebilir.

Yapılan bir literatür çalışmasında hem süperoksit dismutaz hem de glutatyonun maternal plazma ve plasental doku seviyelerinde de önemli bir düşüş gözlemlenmiştir. Preeklampsili kadınlarda süperoksit dismutaz aktivitesindeki eksiklik, vücutta sayısız kaynak tarafından sürekli olarak üretilen süperoksit anyonunun etkin bir şekilde etkisiz hale gelmemesi ve konsantrasyonlarında bir artışa yol açması nedeniyle özel önem taşıyabilir (Madazli ve ark., 2002).

Yapılan bir çalışmada, önceki raporlarla uyumlu olarak, preeklampsili hastalarda MDA'nın plazma seviyelerinde anlamlı bir artış ve SOD aktivitesinde anlamlı bir azalma bulunmuştur. Ayrıca bazı çalışmalarda daha önce bildirildiği gibi plazma MDA düzeyi, SOD aktivitesi ve diyastolik kan basıncı arasında doğrudan bir korelasyon olduğu belirtilmiştir (Uotila ve ark., 1993).

CuZn-SOD ve GPx'in aktiviteleri ve E vitaminin doku seviyeleri preeklamptikte normal plasentalardan anlamlı derecede düşüktür. Cu-Zn-SOD ve GPx için messenger RNA ekspresyonu preeklamptik plasentalarda düşüktür. Antioksidan aktivitesinin azalmasının preeklamptik plasentalarda lipid peroksit düzeylerinde artışa yol açabileceğini düşünülmektedir (Wang ve Walsh, 1996).

Epitelyal over karsinomu olgularında, normal bireyler ve nonepitelyal over karsinomu olan hastalıklar ve diğer jinekolojik maligniteler ile karşılaştırıldığında yüksek düzeyde manganez SOD gözlenmiştir. Serum manganez SOD seviyelerinin etkili tedaviyi takiben azalması, lezyonların kaybolmasını yansıtıyor gibi görünmektedir. Yapılan bu çalışmada, serumdaki manganez SOD ölçümünün, epitelyal yumurtalık karsinomlarının varlığı, tedaviye yanıtın ve nükslerin erken saptanması için izlemenin klinik açıdan yararlı belirteçlerinden birini sağlayabileceğini düşündürmektedir (Ishikawa ve ark., 1990). SOD aktivitesi bakımından ise gruplar arasında farklılık göstermemiştir (Bednarek ve ark., 2001). Endometriozisli kadınlarda periton sıvısında LPO, ancak SOD düzeylerinin normal pelvisli kadınlara göre anlamlı derecede yüksek olduğunu gösterdi (Yi ve ark., 2001). SOD aktivitesi için bu sonuçlar, plasentadaki gebeliğin erken evrelerinde oksijen gereksiniminin, gebelik sonundakine kıyasla düşük olduğunu göstermektedir (Sekiba ve Yoshioka, 1979).

Oositleri ve embriyoları koruyan enzimatik savunma mekanizması SOD, katalaz veya GPx'i içerir (El Mouatassim, 1999; Gardiner ve Reed, 1995; Li ve ark., 1993; Lapointe ve ark., 1998; Paynton ve Bachvarova, 1994). Endometriozisde, SOD

ekspresyonu adet döngüsü boyunca endometriyumda belirgindir, bu da süperoksitin endometrioziste kısırlıkta anahtar rol oynadığını göstermektedir (Ota ve ark., 1999). Endometriozis ve adenomiyozisde eutopik endometriyumda abartılı bir Cu, Zn - SOD ve Mn - SOD ekspresyonu vardır (Ota ve ark., 2001).

Artmış endotelial NO sentazı, azalmış SOD ve preeklampsili kadınların maternal damarlarında artmış nitrotirozin boyaması da bildirilmiştir (Beckmann ve ark., 1996). Yüksek bakır çinko SOD, katalaz, GPx ve SOD seviyeleri diyabetle ilişkili embriyopatiye karşı koruyucu bir etki yaratmaktadır (Ericsson ve Borg, 1991; Hagay ve ark., 1995).

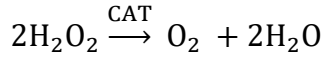
Bu tez araştırmasın da, serum SOD aktivitesi hasta grubu düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna nazaran anlamlı ölçüde daha düşük bulundu ($p < 0.001$) (Çizelge 4.1). Bizim bulgularımız, literatür verilerini destekler niteliktedir. Sonuç olarak, yapılacak çalışmalarda SOD aktivitesinin kanda yüksek olması abortus imminens riskini azaltıcı faktör olarak değerlendirilebilir.

Katalaz fenol, alkol gibi substratların, hidrojen peroksidin çift redüksiyonu ile detoksifikasyonuna neden olur. Katalaz ve glutatyon peroksidaz, ikincil bir ara toksik ürün oluşturmadan, H_2O_2 'yi direkt suya çevirir. H_2O_2 'nin yüksek konsantrasyonlarında katalaz devreye girerken düşük konsantrasyonlarda glutatyon peroksidaz bu işlemi gerçekleştirir (Cheeseman ve Slater, 1993).

Glikoprotein yapıda bir hemoprotein olup, H_2O_2 'nin yüksek yoğunluktaki durumlarında yüksek aktivite ile görev alır (Halliwell, 1974). Hidrojen peroksit (H_2O_2) proteinlerdeki hem grubunda bulunan demirle reaksiyon vererek yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir atomlarını meydana getirmektedir. Bu formdaki demir atomları çok güçlü oksitleyici niteliklerde olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu misali radikal tepkimeleri başlatabilir. Oksitleyici niteliği sebebiyle biyolojik sistemlerde oluşan H_2O_2 'nin derhal ortamdan uzaklaştırılmalıdır. Bu mesuliyeti hücrelerdeki önemli antioksidan enzimler olan CAT ve peroksidaz enzimleri sağlar (Halliwell, 1984).

Tetramerik sert porfin protein olan katalaz (CAT; H_2O_2 : H_2O_2 oksidoredüktaz, E.C. 1.11.1.6; CAT) H_2O_2 'nin bir mol H_2O ve yarım mol O_2 'ye dismutasyonunu katalizler (Guan ve ark., 2014). CAT, her biri bir heme prostetik grup içeren 4 özdeş alt birimden oluşmaktadır (Teke, 2014). Katalaz, hücreleri içinde meydana gelen hidrojen

peroksitten korur (Speranza ve ark., 1993). H₂O₂, katalaz ve glutatyon peroksidaz tarafından detoksifiye edilir. Katalaz normal şartlarda kimi hücre tipleri için gerekli olmadığı halde, hücrelerinin uyarlanabilen yanıtının oksidatif strese karşı tolerans kazanmasında önemli bir görev alır. Katalaz H₂O₂ 'yi hücreden uzaklaştırmadan ve O₂'ye dönüşmeden yakalar. Katalaz bu şekilde, kimyasal redüksiyonun tekrarlanan seviyelerden dolayı ya da toksinle doğrudan etkileşimden dolayı O₂'nin konsantrasyonunu tutabilir (Matés ve Jiménez, 1999). Katalaz enziminin kanser etiyolojisinde bir rol oynaması olasıdır (Ahn ve ark., 2005).



Tümör hücrelerindeki DNA hasarına ve/veya hücre ölümüne sebep olan azalan katalaz aktivitesi H₂O₂'nin birikmesine yol açar. Tümör hücrelerindeki azalan katalaz ve H₂O₂'nin artan üretimi ve azalan detoksifikasyonu bazı sonuçlar elde edilmiştir, aynı zamanda tümör büyümesini ve gelişimini düzenleyen durumlar ortaya konulmuştur. H₂O₂'nin birikimi ve hidroperoksitler de DNA hasarını artırabilirler. Her iki durumda da, hücre transformasyonuna ve kansere yol açmaya uygun bir durum olan MnSOD'un yüksek miktarıyla azalmış katalaz, özellikle artan mutasyonların sıklığına duyarlı olan intraselüler antiapoptotik ortama neden olabilir (Ho ve ark., 2001). Kültür ortamına serbest radikal temizleyici enzimlerin (SOD, katalaz, GPx, N-asetilsistein ve bütillenmiş hidroksitolüen) eklenmesi, hiperglisemi sonrası embriyonik malformasyon insidansını azaltmıştır (Wentzel ve ark., 1997; Eriksson ve Borg, 1991). Bu tez çalışmasında, serum CAT aktivitesi hasta grubu düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük bulundu (p<0.001) (Çizelge 4.1). Katalaz seviyelerinin yükselmesi, diyabetle ilişkili embriyopatiye karşı koruyucu bir etki ortaya çıkardığı bildirilmiştir (Eriksson ve Borg, 1991; Hagay ve ark., 1995). Bizim bulgularımız, literatür verilerini destekler niteliktedir. Sonuç olarak, yapılacak çalışmalarda CAT aktivitesinin kanda yüksek olması abortus imminens riskini azaltıcı faktör olarak değerlendirilebilir.

Redükte glutatyon, sistein içeren bir tripeptit yapısındadır, hücre içi sentezlenebilen ve ince bağırsaktan emilebilen hem endojen ve hem eksojen bir antioksidandır. Peroksidazlar için substrat işlevi görebilen GSH, antioksidan etkili C ve E vitaminleri üzerinde de koruyucu etkiye sahiptir (Blokhina ve ark., 2003). Antioksidanlar plazmada etkileşim içindedirler. Bu etkileşimin sonucu bileşenlerin tek

başlarına yaptıkları etkinin toplamından çok daha fazla bir etki yapmaktadır. Bu duruma bir misal vermek gerekirse; glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferolu yeniden aktifleştirmesini sağlamasıdır.

Hücre artık GSH içeriğini daha fazla koruyamazsa kesin hücre ölümü bunu izleyebilir (Wang ve ark., 2014). Tümör progresyonundaki oksidatif stresin rolü bir GSH tüketici olan ve tümörögenezi artıran dietilmalat ile doğrulanır. Oysa GSH'ın kendisi veya disülfiiram GSH seviyelerini artıran bir içeriktir ve deri tümörü progresyon oranını azaltmaktadır (Rotstein ve Slaga, 1998).

In vivo ortamın önemli antioksidant moleküllerinden olan GSH'ın antioksidant savunma sisteminde rol oynamaktan başka ksenobiyotiklerin zehirsizleştirilmesi, aminoasitlerin transportu, proteinlerdeki sülfidril gruplarının redükte formda tutulması, kimi enzimatik tepkimelerde koenzim olarak rol alması gibi bir çok fizyolojik fonksiyonu mevcuttur. Glutatyon peroksidaz enzimi tarafından katalizlenen tepkimeyle GSH, hidrojen peroksit ya da lipid peroksitlerle tepkimeye girerek bu moleküllerin detoksifikasyonunda rol alırken kendisi bir başka GSH molekülüyle disülfit bağı oluşturarak okside glutatyon (GSSG) şekline dönüşmektedir. Hücre içerisinde serbest radikallerin detoksifikasyonunun sağlanabilmesi amacıyla okside glutatyonun redükte glutatyonla dönüştürülmesi gerekmektedir. NADPH reaktifinin kullanıldığı bir tepkimeyle okside glutatyon, glutatyon redüktaz enzimi ile yeniden redükte glutatyon formuna çevrilir (Aktaş ve ark., 2005). Overyum kanseri üzerinde yapılan bir çalışmada hasta grubu preop ve postop GSH düzeyinin sağlıklı kontrol grubuna nazaran daha düşük saptanmıştır (Bilici ve ark., 2014). Glutatyon'un (GSH), oogenez, döllenme ve gelişimin birçok önemli yönünü değiştirdiği gösterilmiştir. (Tarin ve ark., 1998; Gardiner ve Reed; 1994). GSH, oksidatif stresin analizinde kullanılan bir antioksidan olup, redükte glutatyon/okside glutatyon oranı oksidatif stress varlığında azalır (Urso ve Clarkson, 2003). Bu tez araştırmasında, hasta grubu serum GSH düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna göre daha düşük bulundu ve istatistiksel manada da anlamlı bir fark bulundu ($p < 0.001$) (Çizelge 4.1).

Glutatyon redoks döngüsü, *in vivo* hidroperoksitlerin indirgenmesinde birincil derecede önemlidir. GPx, dört atom selenyum bağladığından ötürü seleno-sistein bileşiği sınıfına girmektedir ve glutatyon peroksidazın katalitik aktivitesini bu niteliği ile sağlar. Ko-substrat düzeyinde glutatyonla ihtiyaç vardır (Çaylak, 2011). GPx,

hücrelerde meydana gelen hidroperoksitlerin uzaklaştıran bir enzimdir. Selenyum (Se), protein ve disülfidlerin azaltılması ile ilgili bir enzim olan tioredoksin redüktaz (TrxR) ve H₂O₂'nin (Bennett ve ark. , 2012). GPx'ın alt birimleri bir Se atomu ihtiva ettiğinden dolayı, hücreyi birçok hasa karşı koruma sağlayan bir selenoenzim olduğu varsayılmaktadır. GPx enziminin varlığı ilk kez 1957'de memeli eritrositlerinde bulundu. Endotel hücrelerde ve özellikle akciğerde en etkili enzimdir. Ökaryotik hücre sitoplazmasında enzim aktivitesinin yaklaşık % 60-75'ini sağlar. Mitokondride % 25-40 oranında bulunmuştur. En yaygın enzim aktivitesi eritrositler ve karaciğerde belirgindir. GPx, lipitleri hücre içi uzaklıktaki peroksidatif hasardan koruyan en önemli enzimdir. Bu sebeple, bu enzim, hücrenin sitosolik bölmesinde, hücrenin yapısını ve işlevini korur. Fosfolipid hidroperoksitleri alkole indirgeyen fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px) ayrıca Se atomunu içerir ve monomeriktir. Aynı zamanda bir sitosolik enzimdir. PLGSH-Px, membran bağlı bir antioksidan olan E vitaminin gereken düzeyden az olduğu durumlarda membranın peroksidasyonuna karşı etkin bir koruma sağlar (Günaldı, 2009).

Glutatyon peroksidazı; H₂O₂ ve lipid peroksitlerin detoksifikasyonunu azaltılmış glutatyon ile kataliz reaksiyonu verir. Böylelikle, membran lipidlerini ve hemoglobini peroksitlerin oksidasyonuna karşı korur. GPx ayrıca ksenobiyotiklerin detoksifikasyonunda da görev alır. Memeli hücrelerde biyolojik membranların peroksidasyon kaynaklı hasarına karşı önemli bir savunma sağlayan antioksidant enzim sistemidir. Antioksidan enzimler arasında glutatyon peroksidaz, katalaz ve süperoksit dismutaz, hücreyi peroksidant moleküllerden korumayı amaçlayan ortak bir sistem oluşturur (Öncü ve ark. 2002).

Se eksikliği, iskemi sonrası reperfüzyon hasarıyla AMI, koroner bypass ameliyatı, kalp nakli ve koroner anjiyoplasti ihtiyacında artışa sebep olabilmektedir (Levander ve Burk, 1994; Toufektsian ve ark., 2000). GPx'ın; oksitlenmiş LDL kolesterolün etkilerinden dolayı endotel hücrelerini koruduğu tahmin edilmektedir (Yoshizawa ve ark., Whanger ve ark., 2004; Lorgeril ve Sarel, 2006). Çin'de yaygın olarak görülen bir juvenil kardiyomyopati hastalığı bir çok çocuğun ölümüne sebep olmuş fakat haftada 0.5-1 mg Se uygulanmasıyla tamamiyle tedavi edilmiştir (Combs ve Combs, 1984). Bu tez çalışmasında, serum GPx aktivitesi hasta grubu düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna nazaran önemli ölçüde daha düşük bulundu (p<0.001) (Çizelge

4.1). Bizim bulgularımız, literatür verilerini destekler niteliktedir. Sonuç olarak, yapılacak çalışmalarda GPx aktivitesinin kanda yüksek olması abortus imminens riskini azaltıcı faktör olarak değerlendirilebilir.

Sonuç olarak; serum GPx, SOD, CAT aktivitelerinin ve GSH düzeyinin abortus imminens hastalarında sağlıklı kontrol gruplarına göre düşük oluşu MDA düzeyinin anlamlı derecede yüksek olması antioksidan ve prooksidanlar arasındaki dengenin prooksidanlar lehine bozulması sonucuna varılabilir ve ayrıca abortus imminenste antioksidan enzimlerin yetersizliği abortus patofizyolojisinin açıklamasında bir belirteç olabilir. Bu konuda daha fazla bilimsel araştırmalara gereksinim vardır. Bu çalışmanın bundan sonraki yapılacak bilimsel araştırmalara katkı sunacağı aşikardır.



KAYNAKLAR

- Abdollahi M., Bahreini-Moghadam A., Emmami B., Fooladian F., Zafariet K., 2003. Increasing intracellular camp ve cgmp inhibits cadmium-induced oxidative stress in rat submveibular saliva. *Comp. Biochem. Physo, C: Comp. Pharma.,* **135** (3): 331-336.
- Acar A., Çelik Ç., 2001. *Plasenta ve Fonksiyonları*. İn: Obstetrik maternal- fetal tıp & perinatoloji. Ed: Beksaç S, Demir N, Koç A, Yüksel A.. Kozan ofset, s. 52-61.
- Aeibi, H., 1984. *Catalase.(in) Methods In Enzymology*. L. Packer(Editör), Academic Pres, Orlando. **105**: 121-126.
- Agar N.S., Sadrzadeh S.M., Hallaway P.E., Eaton J.W., 1986. Erythrocyte catalase. A somatic oxidant defense? *J Clin Invest.,* **77**: 319-321.
- Agarwal A., Gupta S., Sharma R.K., 2005. Role of oxidative stress infemale reproduction. *Reprod Biol Endocrinol.,* **3**: 28-35.
- Aksoy A.N., Aksoy H., Öztürk N., Bulut C., 2009. Erythrocyte TAO and TBARS levels in patients who suffered missed abortion. *Turk J Med Sci.,* **39** (6): 881-5.
- Aksoy Y., Balk M., Ögüt H., Özer N., 2005. The mechanism of inhibition of human erythrocyte catalase by azide. *Turkish Journal of Biology,* **28** (2-4): 65-70.
- Aktaş, M., Değirmenci, U., Ercan, S.K., Tamer, L., Atik, U., 2005. Redükte glutatyon ölçümünde Hplc ve spektrofotometrik yöntemlerin karşılaştırılması. *Türk Klinik Biyokimya Derg.,* **3** (3) : 95-99.
- Albano E., Clot P., Tabone M., Arico S., Ingelman, M., 1998. Oxidative damage and human alcoholic liver diseases. *Experimental and clinical evidence in Free Radicals: From Basic Science to Medicine*, Birkhäuser, Basel.
- Alcazar J.L., Ruiz-Perez M.L., 2000. Uteroplacental circulation in patients with firsttrimester threatened abortion. *Fertil Steril.* **73** (1): 130-5.
- Ali, SS., Xiong, C., Lucero, J., Behrens, MM., Dugan, LL., Quick, KL.. 2006. Gender differences in free radical homeostasis during aging: shorter-lived female C57BL6 mice have increased oxidative stress. *Aging Cell,* **5** (6): 565-74.

- Altan, N., Sepici, Dinçel A., Koca, C., 2006. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Turkish Journal of Biochemistry*, **31** (2): 51–56.
- Anonim, 2015. <http://www.stayhealthy100.com/freeradicals.html> (Erişim tarihi: 16.03.2015).
- Armstrong B.G., McDonald A.D., Sloan M., 1992. Cigarette, alcohol, and coffee consumption and spontaneous abortion. *Am J Public Health*, **82**: 85-87.
- Arslan, A., Demir, H., Ozbay, M.F., Arslan, H., 2014. Evaluation of lipid peroxidation and some antioxidant activities in patients with primary and metastatic liver cancer. *Journal of Cancer Therapy*, **5**: 192-197.
- Atasü T., Şahmay Ş., 2001. *Abortus*. Jinekoloji, Nobel, 2. Baskı, İstanbul, **37**: 533-545.
- Barlow S., Sullivan F.M., 1982. Reproductive hazards of industrial chemicals: an evaluation of animal and human data, New York: *Academic Press*, 156-67.
- Batzofin J.H., Fielding W.L., Friedman E.A., 1984. Effect of vaginal bleeding in early pregnancy on outcome. *Obstet Gynecol.*, **63**: 515-518.
- Baykaran Ö., Çapanoğlu R., Kabalak T., Tavmergen E., 1987. *Gebelikte human plasental laktojenin yenidoğan problemleri ile bağlantısı*. XXV. Türk Pediatri Kongresi. İstanbul. "Neonatolojide Yenilikler" Kongre Kitabı. s. 292.
- Beksaç S., Demir N., Koç A., Yüksel A., 2001. *Erken gebelik problemleri ve düşükler*. Obstetrik, Maternal – Fetal Tıp ve Perinatoloji, 1. baskı, Medikal&Nobel, Ankara, s. 1076- 1085.
- Bennett L.L., Rojas S., Seefeldt T., 2012. Role of antioxidants in the prevention of cancer. *Journal of Experimental & Clinical Medicine*, **4** (4): 215-22.
- Benzer, F., Temizer Ozan, S., 2003. Fasciola hepatica ile enfekte koyunlarda lipid peroksidasyonu, antioksidant enzimler ve nitrik oksit düzeyleri. *Turk J Vet Anim Sci.*, **27**: 657-661.
- Berger M.M., 2005. Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical Nutrition*, **24** (2): 172-183.
- Bernovky C., 1991. Nucleotide chloramines and neutrophil mediated cytotoxicity. *Faseb J.*, **5**: 295-300.
- Beutler E., 1975. *A Manual of Biochemical Methods*. 2nd ed. New York. Grunef Strotton.

- Beutler, E., Duron, O., Kelly, B.M., 1963. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med.*, **61**: 882-90.
- Bharath S., Hsu M., Kaur D., Rajagopalan S., Veersen J.K., 2002. Glutathione, Iron and Parkinson's Disease. *Biochemical Pharmacology*, **64**: 1037-1048.
- Bilici, M. Atasoy, N. Kavak, S. Demir, H. 2012. Examining the level of some elements (zinc, chromium, lead and cadmium) and some liver enzymes (lower and upper) in the blood-serum of the workers at the car-repairing shops in the vicinity of Van. *Fresenius Environmental Bulletin*, **21** (4): 901 – 907.
- Bilici, M., Cim, N., Demir, D., 2014. Pre and post-operative oxidative stress level in cases with ovarian neoplasia. *Medical Science and Discovery*, **1** (4): 115-117.
- Biovin J.F., 1997. Risk of spontaneous abortion in women occupationally exposed to anaesthetic gases: a meta-analysis. *Occup Environ Med.*, **54**: 541.
- Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V., 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A Review. *Ann Bot.*, **9** : 179-94.
- Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V., 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann Bot.*, **91** (2): 179-194.
- Brent R.L., 1989. The effect of embryonic and fetal exposure to x-ray, microwaves, and ultrasound: counseling the pregnant and nonpregnant patient about these risks. *Semin Oncol.*, **16**: 347-368.
- Burçak G., Andican G., 2004. Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. *Cerrahpaşa Medicina Oral*, **35**: 159-69.
- Burger O., Pick E., Zwickel J., et al., 2004. Placental protein 13 (PP-13): Effects on cultured trophoblasts, and its detection in human body fluids in normal and pathological pregnancies. *Placenta*, **25**: 608–622.
- Burton G.J., Jauniaux E., 2011. Oxidative stress. Best Pract Res. *Clin Obstet Gynaecol.*, **25**: 287-299.
- Büyükören A., Sevilen F., Kocaoğlu N., Baysal B., Egeci Y., 1993. Düşük tehdidi olgularında HPL, AFP, HCG değerlerinin prognozdeki önemi. *Jinekoloji ve Obstetrik Dergisi*. **4**: 240.
- Cadenas E., 1989. Biochemistry of oxygen toxicity. *Ann. Rev. Biochem.*, **58**: 79-110.
- Carlberg I., Mannervik B., 1985. Glutathione reductase. *Methods Enzymol.*, **113**: 484-490.

- Cheeseman K.H., Slater T.F, 1993. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.*, **49**: 481-493.
- Cherubini, A., Ruggiero, C., Polidori, M.C., Mecocci, C., 2005. Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine*, **39**: 841–852.
- Chung, H.J., Kim, E.J., Suh, B., Choi, J.H., Roe, J.H., 1999. Duplicate genes for Fe-containing superoxide dismutase in streptomyces coelicolor A3(2). *Gene*, **231** (1-2) : 87–93.
- Combs, G. F., Combs S. B., 1984. The nutritional biochemistry of selenium. *Ann Rev.*
- Crapo, J. D., Oury, T., Rabouille, C., Slot, J. W., Chang, L.Y., 1992. Copper,zinc superoxide dismutase is primarily a cytosolic protein in human cells. *Cell Biology*, **89**: 10405-10409.
- Cunningham F.G., Gant N.F., Leveno K.J., Gilstrap L.C., Hauth J.C., 2001. Williams Doğum Bilgisi. İstanbul, *Nobel Tıp Kitabevleri.*, s.855-882,
- Cunningham F.G., Leveno K.J., Blomm S.L., Hauth J.C., Rouse D.J., Spong C.Y., 2010. (Eds.), Williams obstetrics.İstanbul, *Nobel Tıp Kitabevleri*, 215-234.
- Curello S., Ceconi C., Bigoli C., Ferrari R., Albertini A., Guarnieri C., 1985. Changes in the cardiac glutathione status after ischemia and reperfusion. *Experientia*, **41** (1): 42-3.
- Çaylak, E., 2011. Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araştırmaları Dergisi*, **9** (1) : 73-83.
- Çetin, Ç., 2011. *Koroner arter ektazi hastalarında oksidatif dna hasarı, lipid peroksidasyonu ve bazı antioksidant enzimler* (yüksek lisans tezi, basılmamış), Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Van.
- Çobanoğlu, U., Demir, H., Cebi, A., Sayır, F., Alp, H.H., Akan, Z., Gur, T., Bakan, E., 2011. Lipid peroxidation, dna damage and coenzymeq10 in lung cancer patients - markers for risk assessment? *Asian Pacific J Cancer Prev.*, **12**: 1399-1403.
- Davidge S.T., Hubel C.A., Brayden R.D., Capeless E.C., McLoughlin M.K., 1992. Sera antioxidant activity in uncomplicated and preeclamptic pregnancies. *Obstet Gynecol.*, **79**: 897-901.

- De Zwart 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 inhumans. *Free Radic Biol Med.*, **26**: 202-226.
- Derin, D., Yazıcı, A., Erkoç, Ş., 2011. Şizofrenik bozukluğu olan hastalarda serbest radikal metabolizması ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemi elemanlarının incelenmesi. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, **11**: 174-182.
- Derviş, E., 2011. Oral antioksidanlar. SB. *Haseki Eğitim Hastanesi, Dermatoloji Kliniği. Dermatoloji Dergisi.*, **2** (1) : 263-267.
- Deveci, A., 2007. *Mastitisli (Meme İltihabı) İneklerde Kan MDA ve GSH Düzeylerinin Araştırılması* (yüksek lisans tezi, basılmamış). KÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- differences in free radical homeostasis during aging: Shorter- lived female C57BL6 mice have increased oxidative stress. *Aging Cell*, **5** (6): 565–574.
- Dumps P., Meisser A., Pons D., et al., 2002. Accuracy of single measurement of pregnancy associated plasma protein-A, human chorionic gonadotrophin and progesterone in the diagnosis of early pregnancy failure. *European Journal of Obstetrics, Gynecology and Reproductive Biology*, **100**: 174–180.
- Dupont, C.L., Neupane, K., Shearer, J., Palenik, B., 2008. Diversity, function and evolution of genes coding for putative Ni-containing superoxide dismutases. *Environmental Microbiology*, **10** (7) : 1831–1843.
- Eberhardt M.K., 2000. Reactive oxygen metabolites: *Chemistry and Medical Consequence*, s.174-85.
- Erel O., 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, **37** (4): 277-285.
- Erel O., 2005. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, **38**: 1103-1111.
- Erenel, G., Erbaş, D., Arıcıoğlu, A., 1992. Serbest radikaller ve antioksidan sistemler. *Gazi Tıp Dergisi*, **3**: 243-250.
- Farley T.M., Rosenberg M.J., Rowe P.J., Chen J.H., Meirik O., 1992. Intrauterine devices and pelvic inflammatory disease: an international perspective. *Lancet*, **339**: 785-788.

- Fernández-Checa J.C., Colell A., García-Ruiz C., 2002. S-Adenosyl-L-methionine and mitochondrial reduced glutathione depletion in alcoholic liver disease. *Alcohol*, **27** (3): 179-183.
- Florio P., Luisi S., D'Antona D., Severi F.M., Rago G., Petraglia F., 2004. Maternal serum inhibin A levels may predict pregnancy outcome in women with threatened abortion. *Fertil Steril*, **81**:468-470.
- Floyd R.L., Decoufle P., Hungerford D.W., 1999. Alcohol use prior to pregnancy recognition. *Am J Prev Med.*, **17**: 101-107.
- Frei, B., 1994. Reactive oxygen species and antioxidant vitamins: Mechanisms of action., *The American Journal of Medicine*, 97 (Suppl 3A), 26, 3A-5S-3A-12S.
- Funderburk S.J., Guthrie D., Meldrum D., 1980. Outcome of pregnancies complicated by early vaginal bleeding. *Br J Obstet Gynaecol.*, **87**: 100-105.
- Gale, E.M., Narendrapurapu, B.S., Simmonett, C.A., Schaefer, H. F., Harrop, T.C., 2010. Exploring the effects of h-bonding in synthetic analogues of nickel superoxide dismutase (ni-sod): experimental and theoretical implications for protection of the ni-scys bond. *Inorg. Chem.*, **49**: 7080–7096.
- Gardella J.R., Hill J.A., 2000. Environmental toxins associated with recurrent pregnancy loss, semin. *Reprod Med.*, **3** (18): 40.
- Garoff L., Seppala M., 1975. Prediction of fetal outcome in threatened abortion by maternal serum placental lactogen and alpha-fetoprotein. *Am J Obstet Gynecol.*, **121**: 257-61.
- Gecit, I., Aslan, M., Gunes, M., Pirincci, N., Esen, R., Demir, H., Ceylan, K., 2012. Serum prolidase activity, oxidative stress, and nitric oxide levels in patients with bladder cancer. *J Cancer Res Clin Oncol.*, **138**: 739–743.
- Ghiselli A., Serafini M., Natella N., et Al., 2000. Total Antioxidant Capacity As A Tool To Assess Redox Status: Critical View And Experimental Data. *Free Radic Biol Med.*, **29**: 11.
- Gonik B., 1999. Intensive care monitoring of the critically ill pregnant patient. In: Creasy RK, Resnik R, eds. *Maternal Fetal Medicine*. S.905-8.

- Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., 2006. Algal antioksidanlar *E.U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences* , **23** (1/1): 85-89.
- Gökyer, H., 2015. *Meme Kanserli Hastalarda Adenozin Deaminaz, Aril Esteraz ve Paraoksanaz-1 Serum Aktivitelerinin İncelenmesi* (yüksek lisans tezi, basılmamış), Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Van.
- Greenwald R.A., 1990. Superoxide dismutase and catalase as therapeutic agents for human diseases. A critical review. *Free Radic Biol Med.*, **8** (2): 201-209.
- Gutteridge J.M.C., 1994. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chemico-Biological Interactions*, **91**: 133-140.
- Gülçin, I., 2002. *Isırgan Otunun (Urtica dioica) Antioksidant Aktivitesinin Belirlenmesi, Oksidatif Enzimlerin Karakterizasyonu ve Bazı In vivo Etkilerinin İncelenmesi* (doktora tezi, basılmamış). AÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Günaldı M., 2009. *Kan selenyum düzeyi ve glutatyon peroksidaz aktivitesinin akut miyokart enfarktüsü gelişimi üzerine etkisi*. Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, (iç hastalıkları kliniği Uzmanlık Tezi), 71p.
- Gür, T., 2010. *Cerrahi Tedavi Yapılmış Kolon Kanserli Hastalarda Kemoterapi Öncesi ve Sonrası Tümör Belirleyicileri ve Bazı Biyokimyasal Parametrelerin İncelenmesi* (doktora tezi, basılmamış), Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Van.
- Haas D.M., Ramsey P.S., 2008. Progestogen for preventing miscarriage. *Cochrane Database Syst Rev.*, 2008; 2:CD003511.
- Halliwell B., Gutteridge J., 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem J.*, **219**:1-14.
- Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 1990. role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: An Overview. *Methods Enzymol.*, **49** (3): 577-587.
- Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 1999. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press Inc. New York.
- Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 4th edition, Clarendon Press, Oxford.

- Halliwell, B., 1991. Drug antioxidant effects. *Drugs*, **42** (4): 569 - 605.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M., 1989. *Production Of Hydroxyl Radicals In Living Systems*. Free Radicals In Biology And Medicine. Oxford. Clarendon Press, s.254-300.
- Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1989. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: University Press. S.184.
- Harlap S., Shiono P.H., 1980. Alcohol, smoking, and incidence of spontaneous abortions in the first and second trimester. *Lancet*, **2**: 173-176.
- Ishii H., Kurose I., Kato S., 1997. Pathogenesis of alcoholic liver disease with particular emphasis on oxidative stress. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, **12**: 272-282.
- Jauniaux E., Hempstock J., Greenwold N., et al., 2003. Trophoblastic oxidative stress in relation to temporal and regional differences in maternal placental blood flow in normal and abnormal early pregnancies. *Am J Pathol.*, **162**: 115-45.
- Jauniaux E., Poston L., Burton G.J., 2006. Placental-related diseases of pregnancy: involvement of oxidative stress and implications in human evolution. *Hum Reprod.*, **14**: 747-55.
- Jauniaux E., Watson A.L., Hempstock J., et al., 2000. Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress. A possible factor in human early pregnancy failure. *Am J Pathol.*, **157**: 2111-42.
- Johansen J.S., Harris A.K., Rychly D.J., Ergul A., 2005. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. *Cardiovasc Diabetol.*, **4** (1): 5.
- Johns J., Hyett J., Jauniaux E., 2003. Obstetric outcome after threatened miscarriage with and without a hematoma on ultrasound. *Obstet Gynecol*, **102**: 483-487.
- Johnson M.R., Riddle A.F., Sharma V., et al., 1993. Placental and ovarian hormones in anembryonic pregnancy. *Human Reproduction*, **8**: 115.
- Jouppila P., 1985. Clinical consequences after ultrasonic diagnosis of intrauterine hematoma in threatened abortion. *Journal of Clinical Ultrasound*, **13**: 107-111.

- Kalender S., Kalender Y., Ogutcu A., Uzunhisarcikli M., Durak D., Aıkgöz F., 2004. Endosulfan-induced cardiotoxicity and free radical metabolism in rats: the protective effect of vitamin E. *Toxicology*, **202**: 227-235.
- Kaufmann P., Black S., Huppertz B., 2003. Endovascular trophoblast invasion: implications for the pathogenesis of intrauterine growth retardation and preeclampsia. *Biol Reprod*, **69**: 1-7.
- Keha, E., Küfrevioğlu, Ö.İ., 1997. Enzimler, *Biyokimya Kitabı*, 2.Baskı, 97-98, Şafak Yayınevi, Erzurum.
- Khoschorur, G.A., Winklhofer-Roob, B.M., Rab, P.H., et al., 2000. Evaluation of a sensitive Hplc method for the determination of malondialdehyde and application of the method to different biological materials. *Chromatographi A*, **52**: 181-184.
- Kinnula V.L., Crapo J.D., 2004. Superoxide dismutases in malignant cells and human tumors. *Free Radical Biology And Medicine*, **36** (6): 718-744.
- Kilic E., Yazar S., Saraymen R., Ozbilge H., 2003. Serum malondialdehyde level in patients infected with *Ascaris lumbricoides*. *World J Gastroenterol.*, **9** (10): 2332-2334.
- Klebanoff M.A., Levine R.J., DerSimonian R., Clemens J.D., Wilkins D.G., 1999. Maternal serum paraxanthine, a caffeine metabolite, and the risk of spontaneous abortion. *N Engl J Med.*, **341**: 1639-1644.
- Kline J., Shrouf P., Stein Z., Susser M., Warburton D., 1980. Drinking during pregnancy and spontaneous abortion. *Lancet*, **2**: 176-180.
- Knapen M.M., Zusterzeel P.L.M., Peters W.H.M., Steegers E.A.P., 1999. Glutathione and glutathione-related enzymes in reproduction. A review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.*, **82**: 171-184.
- Knight J.A., 1995. Disease related to oxygen-derived free radicals. *Ann. Clin.Lab.Sci.*, **25** (2): 111-21.
- Kobayashi F., Sagawa N., Nakamura K., 1989. Mechanism and clinical significance of elevated CA-125 levels in the sera of pregnant women. *Am J Obstet Gynecol.*, **160**: 563.
- Ko, E., Üstün, A.S., 2008. Patojenlere karşı bitkilerde savunma ve antioksidanlar. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, **24** (1-2) : 82-100.

- Krause S.A., Graves B.W., 1999. Midwifery triage of first trimester bleeding. *J. Nurse Midwifery*, **44**: 537-548.
- Kuntz J., Keller P.J., 1976. *HCG, HPL, Ostradiol, progesterone and AFP in serum in patients with threatened abortion*. **83**: 640-4.
- Larson R.A., 1988. The antioxidants of higher plants. *Phytochemistry*, **27** (4): 969-978.
- Levander O., Burk R., 1994. Selenium, Modern nutrition in health and disease (Ed). M. Shike. Lea and Febiger: Philadelphia
- Lorgeril, D.M., Salen, P., 2006. Selenium and Antioxidant defenses as major mediators in the development of chronic heart failure. *Heart Fail Rev.*, **11**: 13-17.
- Macdonald, H.B., 2000. Conjugated Linoleic.
- Lushchak V.I., 2014. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chemico-Biological Interaction*, **224**: 164-75.
- Mackness M.I., Mackness B., Durrington P.N., Connelly P.W., Hegele R.A., 1996. Paraoxonase: Biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. *Curr Opin Lipidol.*, **7**: 69-76.
- Madazli R., Benian A., Aydin S., Uzun H., Tolun N., 2002. The plasma and placental levels of malondialdehyde, glutathione and superoxide dismutase in pre-eclampsia. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, **22** (5): 477-480.
- Masella R., Di Benedetto R., Vari R., Filesi C., Giovannini C., 2005. Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **16** (10): 577-86.
- Mates J.M., 2000. Effect of antioxidant enzymes in the molecular control of reactive oxygen species toxicology. *Toxicology*, **153**: 83-104.
- Maxwell S.R., Lip G.Y., 1997. Reperfusion injury: a review of the pathophysiology, clinical manifestations and therapeutic options. *International Journal of Cardiology*, **58** (2): 95-117.
- Mccord J.M, 1993. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.*, **26** (5): 351-7.

- McMartin K.I., Chu M., Kopecky E., Eniarson T.R., Koren G., 1998. Pregnancy outcome following maternal organic solvent exposure: a meta-analylsis of epidemiologic studies, *AM J Ind Med.*, 34: 288.
- Melek, M., Edirne, Y., Edirne, T., Etensel, B., Karaca, I., Aktas, S., Kirkali, G., Demir,H., 2010. Parameters of some of biochemistry on ischemia-reperfusion injury in newborn rat intestine. *A. Journal of Chemistry*, 22 (2): 1569-1576.
- Memişoğulları R., 2005. Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidan etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 3: 30-39.
- Meram İ., Aktaran Ş., 2002. *Serbest Radikallerin Biomoleküller Üzerine Etkileri*. Arşiv. 11: 299.
- Mercan U., 2004. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak Derg.*, 15 (12): 91-96.
- Mungan, G., 1996. *Kan bankalarında CPDA-1 (Citrate Phosphate Dextrose Adenine) ile saklanan kanlarda allopürinolün lipid peroksidasyonu ve biyokimyasal parametrelere etkisinin incelenmesi*. Ankara Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya. Uzm. Tezi, 67s.
- Nanbu Y., Fujii S., 1989. CA-125 in the epitelium closely related to the embriyonic ectoderm: The periderm and amnion. *Am J Obstet Gynecol.*, 161: 462.
- Niedernhofer L.J., Daniels J.S., Rouzer C.A., Greene R.E., Marnett L.J., 2003. Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. *The Journal of Biological Chemistry*. 278 (33): 31426-33.
- Niki E., 2009. Lipid peroxidation: physiological levels and dual biological effects. *Free Radical Biol Med.*, 47 (5): 469-84.
- Nordberg J., Arner E.S.J., 2001. Reactive Oxygen Species, Antioxidants And The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biology And Medicine*, 31 (11): 1287-1317.
- Nordmann R., Ribière C., Rouach H., 1992. Implication of free radical mechanisms in ethanol induced cellular injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 12: 219-240.
- Oktem F., Yilmaz H.R., Ozguner F., Olgar S., Ayata A., Uzare E., Uz E., 2006. Methotrexate-induced renal oxidative stress in rats: the role of a novel antioxidant caffeic acid phenethyl ester. *Toxicol Ind Health*, 22 (6): 241-7.

- Ozkaya O., Sezik M., Kaya H., 2008. Serum malondialdehyde, erythrocyte glutathione peroxidase, and erythrocyte superoxide dismutase levels in women with early spontaneous abortions accompanied by vaginal bleeding. *Med Sci Monit.*, **14**: 47–51.
- Öncü M., Gültekin F., Karaöz E., Altuntaş İ., Delibaş N., 2002. Klorprifos-Etil tarafından oluşturulan oksidatif hasarın sıçan karaciğerine etkileri. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, **22** (1): 50-5.
- Öncü, M., Gültekin, F., Karaöz, E., Altunta, İ., Delba, N., 2002. Klorprifos-etil tarafından oluşturulan oksidatif hasarın sıçan karaciğerine etkileri .*T Klin Tıp Bilimleri*, **22** : 50-55.
- Özgünen F.T., 2007. Abortions; Classification: General information and clinical manifestation. Türkiye Klinikleri. *Journal Of Surgical Medical Sciences Gynecology Obstetric.*, **3** (5): 1.
- Parcell S., 2002. Sulfur in human nutrition and applications in medicine. *Altern Med Rev.*, **7**: 22-44.
- Pizzimenti S., Ciamporcero E., Daga M., Pettazzoni P., Arcaro A., Cetrangolo G., et al., 2013. Interaction of aldehydes derived from lipid peroxidation and membrane proteins. *Frontiers in Physiology*, **4**: 242.
- Polat M., 2011. *Toxoplasma gondii pozitif hastalarda oksidatif stres ve protein oksidasyon ürünlerinin değerlendirilmesi.* (yüksek lisans tezi, basılmamış) Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı, Kayseri.
- Porter T.F., Branch D.W., Scott J.R., 2003. Early pregnancy loss. In: Scott JR, Gibbs RS, Karlan BY, Haney AF, eds. *Danforth's Obstetrics and Gynecology.* *Lippincott Williams and Wilkins.*, **9**: 77-78.
- Pritchard J.A., MacDonakJ P.C., Gand N.F., 1985. *Williams Obstetrics.* Seventeenth edition. Appleton Century-Crofts/Norwalk. Conneticut. s.119.
- Reiter R., Tang L., Garcia J.J., Munoz-Hoyos A., 1997. Pharmacological Actions Of Melatonin In Oxygen Radical Pathophysiology. *Life Sci.*, **60**: 2255-71.
- Rikans L.E., Hornbrook K.R., 1997. Lipid Peroxidation, Antioxidant Protection and Aging. *Biochemical Acta*, **1362**: 116-127.

- Sagol S., Özkınay E., 2000. Preeklampsi etyopatogenizinde lipid peroksidasyonu. *T Klin Jineköl Obst.*, **10**: 7-15.
- Salem H.T., Ghoneimah S.A., Shooohan M.M., 1984. Prognostik value of Biochemical Tests in the assessment of fetal outcome in the Threatened Abortion. *Br J Obstet and Gynecol.*, **91**: 382-5.
- Scandalios J.G., 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiology*, **101** (1): 7.
- Schmidley J.W., 1990. Free radicals in central nervous system ischemia. *Stroke*, **21**: 1086-90.
- Schnorr T.M., Grajewski B.A., Hornung R.W., Thun M.J., Egeland G.M., Murray W.E., Conover D.L., Halperin W.E., 1991. Video display terminals and the risk of spontaneous abortion. *N Engl J Med.*, **324**: 727.
- Seifried H.E., Anderson D.E., Sorkin B.C., Costello R.B., 2004. Free Radicals: The pros and cons of antioxidants. Executive Summary Report. *J Nutr.*, **34** (11): 3143-63.
- Sierra S., Stephenson M., 2006. Genetics of recurrent pregnancy loss. *Semin Reprod Med.*, **24** (1):17-24.
- Sies H., 1991. Oxidative Stress. From Basic Research To Clinical Application. *Am J Med.*, **91** (3): 31-38.
- Simpson J.L., Mills J.L., Holmes L.B., Ober C.L., Aarons J., Jovanovic L., et al., 1987. Low fetal loss rates after ultrasound-proved viability in early pregnancy. *Jama*, **258**: 2555-2557.
- Smirnoff N., Pallanca J.E., 1995. Ascorbate metabolism in relation to oxidative stress. *Biochemical Society Transactions*, s. 24-26.
- Smith G.C., Shah I., Crossley J.A., Aitken D.A., Pell J.P., Nelson S.M., Cameron A.D., Connor M.J., Dobbie R., 2006. Pregnancy-associated plasma protein A and alpha-fetoprotein and prediction of adverse perinatal outcome. *Obstet Gynecol.*, **107** (1): 161–166.
- Sorg O., 2004. Oxidative stres: a theoretical model or biological reality? *Comptes Rendus Biologies*, **327**: 649- 662.
- Southorn P.A., Powis G., 1998. Free Radicals In Medicine. I. Chemical Nature And Biologic Reactions. *Mayo Clin Proc.*, **63** (4): 381-9.

- Sreejai R., Jaya D.S., 2010. Studies on the changes in lipid peroxidation and antioxidants in fishes exposed to hydrogen sulfide. *Toxicol Int.*, **17**: 71-77.
- Stabile I., Campbell S., Grudzinskas JG., 1987. Ultrasonic assessment of complications during first trimester of pregnancy. *Lancet*, **2**: 1237-1240.
- Sugamura K., Keaney J.F., 2011. Reactive oxygen species in cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med.*, **51**: 978-992.
- Sun Y., Oberley L.W., Li Y., 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.*, **34**: 497-500.
- Susan, M., Deneke, D., Barry, L., Fanburg, M.D., 1980. Normobaric oxygen toxicity of
- Şahin, H., Özdemir, F., 2006. Yeşil çayın sağlık üzerine etkisi. *Türkiye 9. Gıda Kongresi.*
- Şahincioğlu Ö., 2008. *Abortus imminens vakalarıda matriks metalloproteinaz-9 ve matriks metalloproteinaz-2 düzeylerinin tespiti*, (tıpta uzmanlık tezi, basılmamış) Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- Tarlovsy, V. F., 2012. Role of antioxidants in cancer therapy , *Nutrition*, 1-7.
- Taysi, S., Polat, F., Gul, M., Sari, RA., Bakan, E., 2002. Lipid peroxidation, some extracellular antioxidants, and antioxidant enzymes in serum of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology International.*, **21**: 200–204.
- Telefoncu, A., 1986. *Temel ve uygulamalı enzimoloji*. Ege Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fak. Yayını (Der.), S. 59, İzmir.
- Terra, V.A., Souza-Neto, F.P., Pereira, R.C., Silva, T.N.X., A.C.C., Costa, R.C., Luiz, R., Cecchini, A.L., Cecchini, 2012. Time-dependent reactive species formation and oxidative stress damage in the skin after UVB irradiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, **109**: 34–41.
- Thapa, D., Ghosh, R., 2012. Antioxidants for prostate cancer chemoprevention: challenge and opportunities. *Biochemical Pharmacology*, **83**: 1319–1330.
- the lung. *N Eng J Med.*, **303**: 76-86.
- Tongsong T., Srisomboon J., Wanapirak C., et al., 1995. Pregnancy outcome of threatened abortion with demonstrable fetal cardiac activity: A cohort study. *J Obstet Gynaecol.*, **21**:331.

- Toufektsian M-C., Boucher F., Pucheu S., et.al., 2000. Effect of Selenium deficiency on the response of cardiac tissue to ischemia and reperfusion. *Toxicol*, **148**: 125-132.
- Tulandi, T., ve Al-Fozan H., 2011. Spontaneous abortion: Risk factors, etiology, clinical manifestations, and diagnostic evaluation. *UpToDate*, 85-93.
- Turan K., Uckan K., Sarikaya E., Demir H., Demir C., 2017. Investigation of prolidase, adenosine deaminase, glutathione s-transferase and glutathione reductase activities in patients with abortus imminens. *Journal Of Clinical And Analytical Medicine*, **8** (6): 519-522.
- Uçuran, G., 2018. *Abortus imminens tanılı olgularda nötrofil lenfosit ve trombosit lenfosit oranlarının abort etmeyi öngörmeye rolü var mıdır?* (uzmanlık tezi, basılmamış) İzmir Kuzey Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği Tepecik Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları Ve Doğum Kliniği, İzmir.
- Uotila J.T., Tuimala R.J., Aarnio T.M., Pyykko K.A., Ahotupa M.O., 1993. Findings on lipid peroxidation and antioxidant function in hypertensive complications of pregnancy. *Br J Obstet Gynecol*, **100** (3): 270-6.
- Urso M., Clarkson P.M., 2003. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, **189**: 41-54.
- Uysal M., 1998. Serbest radikaller, lipit peroksidleri ve organizmada prooksidan-antioksidan dengesi etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim*, **11**: 336-340.
- Valko M., Rhodes C.J., Mancel J., Izakovic M., Mazur M., 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*. **160**: 1-40.
- Vorster C.Z., Pannah P.R., Slabber L.B., 1977. The prognostic value of serum HPL determination in early pregnancies. *Am J Obstet Gynecol.*, **128**: 879.
- Wang Y., Walsh S.W., 1996. Antioxidant activities and mRNA expression of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in normal and preeclamptic placentas. *Journal of the Society for Gynecologic Investigation*, **3** (4): 179-184.
- Wei, Y.H., Pang, C.Y., 2005. The role of mitochondria in human aging process. *Biotech International*, **17**: 8-13.

- Weiss J.L., Malone F.D., Vidaver J., Ball R.H., Nyberg D.A., Comstock C.H., Hankins G.D., Berkowitz R.L., Gross S.J., Dugoff L., Timor-Tritsch I.E., D'Alton M.E., 2004. FASTER Consortium. Threatened abortion: A risk factor for poor pregnancy outcome, a population-based screening study. *Am J Obstet Gynecol.*, **190**: 745-750.
- Whanger, P.D., 2004. Selenium and Its Relationship to Cancer: an update. *British Journal of Nutrition*. 91: 11-28.
- Wijesiriwardana A., Bhattacharya S., Shetty A., Smith N., Bhattacharya S., 2006. Obstetric outcome in women with threatened miscarriage in the first trimester. *Obstet Gynecol.*, **107**: 557-562.
- Wilcox A.J., Weinberg C.R., O'Connor J.F., Baird D.D., Schlatterer J.P., Canfield R.E., Armstrong E.G., Nisula B.C., 1998. Incidence of early loss of pregnancy. *N Engl J Med.*, **319**:189-194.
- Wildburger R., Mrakovcic L., Stroser M., Andrisic L., Borovic Sunjic S., Zarkovic K., Zarkovic,N., 2009. Lipid peroxidation and age-associated diseases-cause or consequence: Review Citation. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi.*, **29** (1): 189-193.
- Winarsi H., 2007. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas. *Yogyakarta: Kanisius*. S. 50-5.
- Winston G.W., Giulio R.T., 1991. Prooxidant and Antioxidant Mechanisms in Aquatic Organisms. *Aquatic Toxicology*. **19**: 137-161.
- Witt B.R., Wolf G.C., Wanwright C., Johnson P., 1990a. Thomeycraft protein and human chorionic gonadotropin as predictors of outcome in threatened and non-threatened pregnancies. *Fertil steril*, **53**: 1029.
- Witt R.B., Wolf C.G., Wainwright J.C., 1990b. Relaxin, CA-125, progesteron, estradiol, Schwangerschaft protein and human chorionic gonadotropin as predictors of outcome in threatened and nonthreatened pregnancies. *Fétil Steril*, **53**: 1029.
- Yalçın A.S., Kılınç A., Cöbek B., 2010. Evaluation of a simple colorimetric analysis for urinary malondialdehyde determination. *Pathology and Laboratory Medicine International*, **2**: 23-26.

- Young I.S., Woodside J.V., 2001. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol.*, **54**: 176-186.
- Young, I.S., Woodside, J.V., 2001. Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol.*, **54**: 176-186.
- Yuan L., Kaplowitz N., 2009. Glutathione in liver diseases and hepatotoxicity. *Molecular Aspects of Medicine*, **30**: 29-41.
- Zadák Z., Hyspler R., Tichá A., Hronek M., Fikrová P., Rathouská J., Hrnčiariková D., Stetina R., 2009. Antioxidants and vitamins in clinical conditions. *Physiological Research*, **58** (1): 13-17.
- Zervos I., Nikolaidis E., Lavrentiadou S., Tsantarliotou M., Eleftheriadou E., Papapanagiotou E., Fletouris D., Georgiadis M., Taitzoglou I., 2011. Endosulfan-induced lipid peroxidation in rat brain and its effect on t-PA and PAI-1: ameliorating effect of vitamins C and E. *J Toxicol Sci.*, **36**: 423-433.
- Zhang J.F., Shen H., Wang X.R., Wu J.C., Xue Y.Q., 2004. Effects of Chronic Exposure of 2,4-dichlorophenol on the Antioxidant System in Liver of Freshwater Fish. *Carassius auratus. Chemosphere*, **55**: 167-174.
- Zinaman M.J., Clegg D.E., Brown C.C., et al., 1996. Estimates of human fertility and pregnancy loss. *Fertil Steril*, **65**: 503-509.



ÖZ GEÇMİŞ

1984 yılında Ankara'da doğdu. Lise eğitimini İzmir Atatürk Lisesi'nde tamamladı. 2007 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eğitim Fakültesi Kimya Öğretmenliği Bölümü'nü kazandı. 2013 yılında bu bölümden mezun oldu. 2013 yılında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne bağlı Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisans öğrenimine başladı. 2015 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne bağlı Kimya Anabilim Dalı'nda yüksek lisansı bitirdi. 2015 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü'nü bitirdi. 2015 yılında Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne bağlı Kimya Anabilim Dalı doktora programına başladı.

