



T. C.

**BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

NEVIN AL

TIP FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ÜRİDİNİN YENİDOĞAN HİPEROKSİK BEYİN HASARI  
MODELİNDE SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ ÜZERİNE  
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Nevin AL**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BURSA - 2019**

2019



T. C.  
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK  
BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ FİZYOLOJİ  
ANABİLİM DALI

ÜRİDİNİN YENİDOĞAN HİPEROKSİK BEYİN HASARI MODELİNDE  
SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ ÜZERİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Nevin AL

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

DANIŞMAN:

Prof. Dr. Tülin ALKAN

HDP (T)-2017/24 - BAP

BURSA - 2019

T.C.  
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ETİK BEYANI

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum “**Üridinin Yenidoğan Hiperoksik Beyin Hasarı Modelinde Serbest Oksijen Radikalleri Üzerine Etkisinin Araştırılması**“ adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Nevin AL

## SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

**Tıp Fizyoloji Anabilim Dalı** Yüksek Lisans öğrencisi **Nevin AL** tarafından hazırlanan **Üridinin Yenidoğan Hiperoksik Beyin Hasarı Modelinde Serbest Oksijen Radikalleri Üzerine Etkisinin Araştırılması** konulu Yüksek Lisans tezi ...../...../.....günü, .....-..... saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Adı-Soyadı

İmza

**Tez Danışmanı**

Üye

Üye

Üye

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun ..... tarih ve ..... sayılı toplantısında alınan ..... numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Gülşah ÇEÇENER  
Enstitü Müdürü

## TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

...../...../.....

**Adı Soyadı:** Nevin AL

**Anabilim Dalı:** Tıp-Fizyoloji

**Tez Konusu:** Üridinin Yenidoğan Hiperoksik Beyin Hasarı Modelinde Serbest Oksijen Radikalleri Üzerine Etkisinin Araştırılması

<b><u>ÖZELLİKLER</u></b>	<b><u>UYGUNDUR</u></b>	<b><u>UYGUN DEĞİLDİR</u></b>	<b><u>ACIKLAMA</u></b>
Tezin Boyutları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

**Unvanı Adı Soyadı:**

Prof. Dr. Tülin ALKAN

**İmza:**

## İÇİNDEKİLER

Dış Kapak

İç Kapak

ETİK BEYANI .....	II
KABUL ONAY .....	III
TEZ KONTROL BEYAN FORMU .....	IV
İÇİNDEKİLER .....	V
TÜRKÇE ÖZET .....	VII
İNGİLİZCE ÖZET .....	VIII
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Yenidoğan Hiperoksik Beyin Hasarı.....	3
2.2. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma .....	5
2.3. Serberst Radikaller .....	8
2.3.1. Süperoksit Radikali ( $O_2^-$ ).....	11
2.3.2. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ ) .....	12
2.3.3. Hidroksil radikali ( $OH^*$ ) .....	13
2.4. Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri.....	14
2.4.1. Serbest Radikallerin Lipidler Üzerine Etkileri .....	14
2.4.1.1. Malondialdehit (MDA) .....	15
2.4.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri.....	16
2.4.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri .....	16
2.4.4. Myeloperoksidaz (MPO) ve Hipokloröz Asit (HOCl).....	17
2.5. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemleri .....	18
2.5.1. Oksidatif Stres .....	18
2.5.2. Oksidatif Stres ve Yenidoğan Beyni.....	19
2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	20
2.6.1. Enzimatik Antioksidanlar .....	22
2.6.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) .....	22
2.6.1.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	24
2.6.1.3. Glutasyon Redüktaz (GR) .....	24
2.6.1.4. Katalaz .....	25
2.6.2. Nonenzimatik Antioksidanlar .....	25
2.6.2.1. Glutasyon (GSH) .....	25

2.6.2.2. Melatonin .....	26
2.6.2.3. Ürik Asit.....	26
2.6.2.4. Bilirubin .....	26
2.6.2.5. Albumin.....	27
2.6.2.6. Koenzim Q10 .....	27
2.6.2.7. $\alpha$ -Lipoik Asit.....	27
2.6.2.8. Selenyum .....	27
2.6.2.9. Seruloplazmin ve Transferrin .....	27
2.8. Pirimidin Bileşikleri ve Üridin.....	28
2.8.1. Pirimidin Bileşiklerinin Sentezi .....	29
2.8.2. Pirimidin Nükleotidlerin Biyokimyasal Aktiviteleri.....	30
2.8.2.1. Protein Glikozilasyon Reaksiyonları.....	30
2.8.2.2. Fosfolipid ve Glikosfingolipidlerin Sentezi.....	30
2.8.2.3. Glikojen Sentezi.....	31
2.8.2.4. P2Y Reseptörleri .....	31
2.8.2.5. Beyinde Pirimidin Bileşikleri .....	32
2.9. DJ-1 Proteini.....	33
3. Gereç ve Yöntemler.....	35
3.1. Deney Hayvanları.....	35
3.2. Çalışma Protokolü ve Tedavi Grupları.....	35
3.3. Hiperoksik beyin hasarının oluşturulması .....	36
3.4. Doku Prosedürü .....	37
3.5. Western Blot Protokolü .....	38
3.6. İstatiksel Analiz .....	39
4. BULGULAR.....	40
4.1. Grupların Beyin MDA Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	40
4.2. Grupların Beyin MPO Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	41
4.3. Grupların Beyin SOD Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	42
4.4. Grupların Beyin GSH-Px Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	43
4.5. Grupların Beyin DJ-1 Protein Düzeylerinin Karşılaştırılması.....	44
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	45
6. KAYNAKLAR .....	52
7. SİMGELER VE KISALTMALAR .....	75
8. TEŞEKKÜR .....	76
9. ÖZGEÇMİŞ.....	77

## TÜRKÇE ÖZET

Preterm yenidoğanlara neonatal yoğun bakım ünitelerinde, resüsitasyon, pulmoner hipertansiyon ve solunum sıkıntısı gibi nedenlerden dolayı oksijen tedavisi uygulanmaktadır.

Term ve preterm yenidoğanlar, endojen radikal süpürücü sistemlerinin tam olarak olgunlaşmamış olması sebebiyle reaktif oksijen türlerinin neden olduğu bozulmalara duyarlıdırlar. Reaktif oksijen türleri, fizyolojik olarak antioksidan sistemler aracılığı ile düzenlenmektedir. Reaktif oksijen türleri ve antioksidan arasındaki dengenin bozulması DNA ve mitokondriyal membran, apoptoz ve hücrel fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak oksidatif strese neden olabilir. Oksidatif stresin hiperoksiyi takiben akciğer, retina ve muhtemelen genel doku hasarından sorumlu olduğu kabul edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, yenidoğan sıçan beyninde hiperoksi uygulaması sonrasında oluşan oksidatif stresin neden olduğu bozulmalara karşı üridinin, antioksidan sistem aracılığıyla olası tedavi etkinliğini araştırmaktır. Çalışmamızda 53 adet neonatal Spraque-Dawley cinsi sıçan doğumdan 6 gün sonra randomize olarak 5 gruba ayrılmıştır. Oda havasındaki sıçanlara 6. gün tek doz intraperitoneal serum fizyolojik (%0,9 NaCl) veya diğer gruplara hiperoksi maruziyetinden 15 dakika önce tek doz 100 mg/kg, 300 mg/kg, 500 mg/kg dozunda üridin intraperitoneal (i.p.) enjeksiyonu yapılmıştır. 48 saat boyunca oda havasında (%21 O<sub>2</sub>) tutulmuş veya hiperoksiye (%80 O<sub>2</sub>) maruz bırakılan sıçanlar takiben dekapite edilerek tüm beyin homojenatlarından Western Blot yöntemiyle DJ-1 proteininin analizi ve Malondialdehit (MDA), Myeloperoksidaz (MPO), Süperoksit Dismutaz (SOD), Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px) enzimlerinin biyokimyasal analizleri yapılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Üridin, antioksidan, hiperoksik beyin hasarı, MDA, MPO, SOD, GSH-Px, DJ-1.



## İNGİLİZCE ÖZET

### **Effect of Uridine on Free Oxygen Radicals in Neonatal Hyperoxic Brain Injury**

Oxygen therapy is applied to preterm neonates in neonatal intensive care units for reasons such as resuscitation, pulmonary hypertension and respiratory distress.

Term and preterm neonates are susceptible to deterioration caused by reactive oxygen species because their endogenous radical scavenging systems are not fully mature. Reactive oxygen species are regulated physiologically by antioxidant systems. Disruption of the balance between reactive oxygen species and antioxidants may cause oxidative stress due to DNA and mitochondrial membrane, apoptosis and cellular dysfunction. The degradation of balance between reactive oxygen species and antioxidant may cause oxidative stress due to DNA and mitochondrial membrane, apoptosis and cellular dysfunction. Oxidative stress has been recognized to be responsible for lung, retina and possibly general tissue damage following hyperoxia.

The aim of this study was to investigate the possible treatment efficiency of uridine through antioxidant system against the deterioration caused by oxidative stress after hyperoxia application in pups brain. In our study, 53 neonatal Spraque-Dawley rats were randomly divided into 5 groups 6 days after birth. Rats in room air were injected intraperitoneally (i.p.) a single dose of either saline (0.9% NaCl) or uridine 100 mg/kg, 300 mg/kg, 500 mg/kg 15 minutes prior to hyperoxia exposure to on day 6. Rat pups which were kept either at room air (21% O<sub>2</sub>) or exposed to hyperoxia (80% O<sub>2</sub>) for 48 hours, were subsequent to decapitated. The homogenates obtained from the whole brain were analyzed by Western blotting DJ-1 protein, and the biochemical analysis of Malondialdehyde (MDA), Myeloperoxidase (MPO), Superoxide Dismutase (SOD), Glutathione Peroxidase (GSH-Px) enzymes were conducted.

**Key Words:** Uridine, antioxidant, hyperoxic brain injury, MDA, MPO, SOD, GSH-Px, DJ-1.

## 1. GİRİŞ

Hipoksik iskemik ensefalopati, intraserebral kanama ve serebral infarkt, yenidoğan beyin hasarının en yaygın sebeplerindendir (Vannucci ve Hagberg, 2004). Yenidoğan yoğun bakımda oksijenin kullanımı yenidoğan tıp alanında kritik bir alandır ve günümüzde Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitelerinde oksijen atmosferdeki konsantrasyonundan daha yüksek oranlarda; PaO<sub>2</sub>'nin 50mmHg veya SaO<sub>2</sub>'nin %80 ya da kapiller O<sub>2</sub> basıncının 40 mmHg'nin altında olması halinde; resusitasyon, respiratuar distres sendromu ve pulmoner hipertansiyon tanısı almış vakalarda yararlı olmasına rağmen, prematüre bebeklerde uygulanan ek suprafizyolojik oksijen tedavisi, prematüre retinopatisi (Perrone ve ark., 2009; Saugstad, 2006), bronkopulmoner displazi (Gien ve Kinsella, 2011) ve beyinde beyaz ve gri madde hasarı (Felderhoff-Mueser ve ark., 2004) sonucunda nörogelişimsel hastalıkların patofizyolojisinde önemli etkisi bulunmaktadır (Brown ve ark., 2009; Collins ve ark., 2001; Lee ve Davis, 2011; Lodygensky ve ark., 2010; Reich ve ark., 2016; Volpe, 2001).

Son yıllardaki çalışmalarda suprafizyolojik oksijen tedavisinin, vücutta çeşitli sitokinlerin üretimini başlatması ile iltihaplanma düzeneklerini tetikleyerek nörodejenerasyona neden olduğu hakkında görüş birliği bulunmaktadır (Allan ve Rothwell, 2001; Felderhoff-Mueser ve ark., 2005). Preterm bebeklerde endojen radikal süpürme sistemlerinin tamamen olgun olmaması nedeniyle reaktif oksijen türlerinin neden olduğu bozulmalara karşı özellikle hassastır (Reich ve ark., 2016). Oksijen uygulamasının gelişen beyinde hücre ölümüne de yol açtığı prematüre bebekler, hayatlarının sonraki dönemlerinde %50'ye varan oranlarda bilişsel bozukluk ya da davranışsal sorunlarla karşılaşmaktadırlar (Volpe, 2001). Bu yan etki profili daha güvenli olan alternatif tedavilere ihtiyaç göstermektedir.

Hiperoksinin deneysel beyin hasarında; azalmış beyin kütlesi, azalmış nöronal yoğunluk (Yis ve ark., 2008a), kaspaz aktivasyonu, oksidatif stres, nörotrofinlerin azalan ekspresyonu, nörotrofin-düzenleyici yolların azalan aktivasyonu (Felderhoff-

Mueser ve ark., 2004; Felderhoff-Mueser ve ark., 2005), proinflatuar sitokinlerin (Felderhoff-Mueser ve ark., 2005) ve Fas'ın artmış düzeyleri, vazooobliterasyon ve nöronal, oligodendroglial ve vasküler hücre ölümü, korteks ve beyaz cevherde yaygın preoligodendrositlerde apoptotik dejenerasyon ile ilişkili olduğu literatürde tartışılmaktadır (Endesfelder ve ark., 2017a; Gerstner ve ark., 2008).

Yenidoğanda hiperoksik hasar oluşturulan deneysel modellerde nöronal hasarın azaltılması amacıyla birçok nöroprotektif ajan son yıllarda yapılan çalışmaların ilgi odağını oluşturmaktadır.

DJ-1 oksidatif stres ve hücre ölümüne karşı nöronları koruyan, redoks-duyarlı bir şaperon fonksiyonu olan ve beyin yaşına bağlı nörodejeneratif hastalıklar ile ilişkili bir proteindir (Bonifati ve ark., 2003; Lev ve ark., 2008). Bu nedenle, DJ-1 seviyelerinin düştüğü durumlarda, oksidatif stres tetiklenmekte ve bu da nöronal hasara (Yokota ve ark., 2003) veya hiperoksi uygulamasından sonra olgunlaşmamış beyinde hücre ölümüne neden olmaktadır (Bendix ve ark., 2012b).

Yenidoğan hipoksik iskemik beyin hasarı sonrası uygulanan üridin tedavisinin apoptotik aktiviteyi baskılayarak beyin hasarını azalttığı (Cansev ve ark., 2013) uzun dönemde üridinin kognitif fonksiyonlar üzerine olumlu etkisi de ortaya konmuştur (Gören ve ark. 2017a).

Ayrıca, bir pirimidin nükleotidi olan ve vücuda verildiğinde üridine dönüştüğü bilinen CDP-kolin tedavisinin yenidoğan sıçan hiperoksik akciğer hasarında fosfolipid düzeylerini arttırdığı, aktif kaspaz-3 ekspresyonunu ve doku proinflatuar sitokin seviyelerini azalttığı, antioksidan savunma sistemini güçlendirerek serbest oksijen radikallerinin düzeylerini azalttığı tespit edilmiştir (Çetinkaya ve ark., 2013).

Yenidoğan hiperoksik beyin hasarında uygulanan üridin tedavisinin apoptotik hücre ölümünü ve hipomiyelizasyonu azalttığı, nöron sayısını ve öğrenme ve hafıza performansını arttırdığı da bulunmuştur (Gören ve ark., 2017b).

Bu bulguların ışığında çalışmamızda hiperoksik beyin hasarında üridinin tedavisinin serbest oksijen radikallerinin düzeyleri ve antioksidan savunma sistemi üzerine etkisi araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Yenidoğan Hiperoksik Beyin Hasarı

Yenidoğan beyin hasarının karakteri erişkinlerinkinden farklıdır. Ayrıca, beynin gelişimsel evrelerine bağlı olarak nöronal ve nöron dışı yapılardaki etkilenme düzeyi farklılıklar gösterebilir. Beyin hasarı görülme ve ölüm oranı, hasarın düzeyi ile yakın ilişkilidir (Jensen ve ark., 2003).

Vücut ağırlığının %2'sini oluşturmasına rağmen beyin, kalpten sonra en yüksek oksijen tüketimine sahip ikinci organdır. Beynin kan akımındaki ve beyin dokusuna sunulan oksijen seviyesindeki düşüş; yenidoğanlarda ventrikül içi kanama, periventriküler lökomalazi, perinatal ensefalopati, kardiyopulmoner yetmezliğe neden olabilmektedir. Bu nedenle neonatal oksijenasyon beyin hücrelerinin devamlılığı için zorunlu bir terapidir (Siesjö ve Nilsson 1971; Taher ve ark., 2016; Terraneo ve ark., 2017; Weaver ve Liu, 2015; Xu ve ark., 2012).

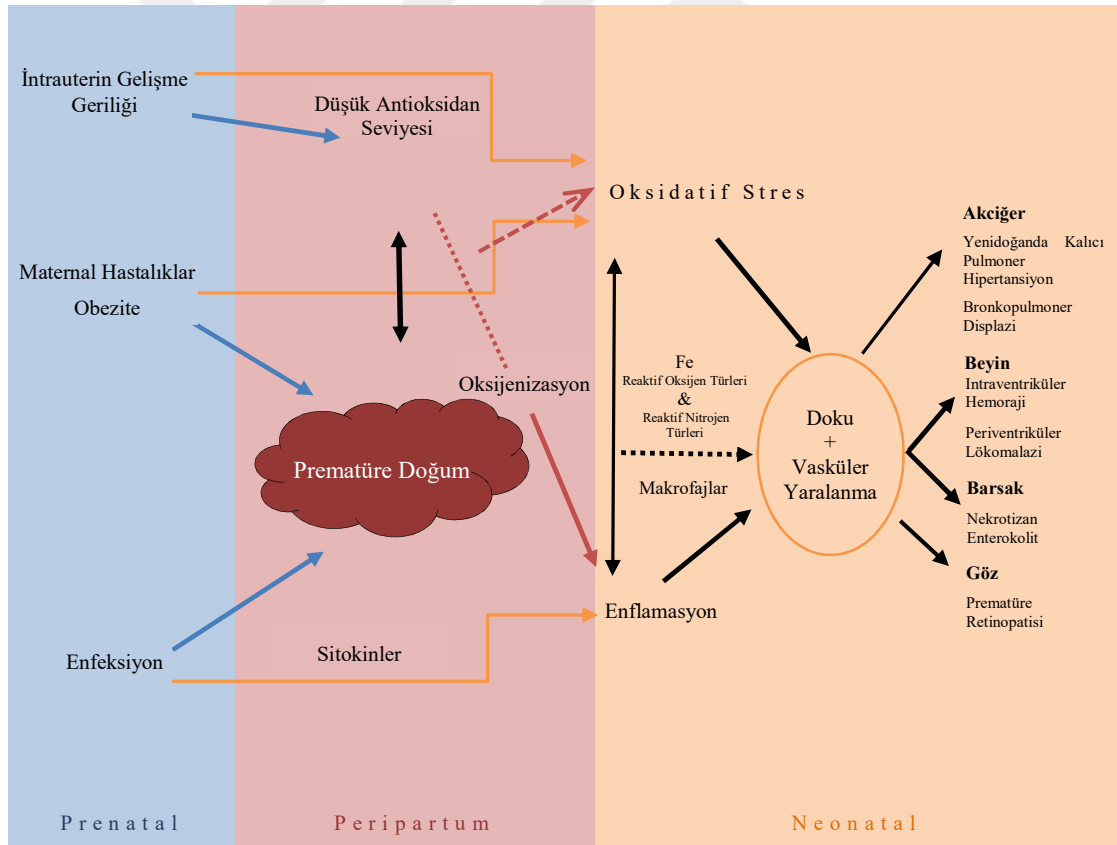
Prematüre doğum tüm canlı doğumların %5.5-11.4'ünü oluşturmaktadır (Howson ve ark., 2013; Keller ve ark., 2010). Her 10 yenidoğandan 1'i doğumda ek oksijen desteğine ihtiyaç duymaktadır (Kayton ve ark., 2018). Uygulanan oksijen tedavisi, hipoksik yenidoğanlarda solunumsal belirtileri iyileştirirken; preterm bebeklerde en sık görülen -akciğer dokusunda enflamasyon, fibrozis, gelişim bozukluğu ve/veya duraklamasıyla ortaya çıkan- bronkopulmoner displazi olgularında ise; prenatal steroid, postnatal sürfaktan, antioksidan tedavilere ek olarak kullanıldığında hastalığın şiddetini azaltabilmektedir (Perrone ve ark., 2017; Van Marter, 2005).

Oksijen vücutta oksidatif fosforilasyon ile enerji üretirken, serbest radikal kaynağı olan reaktif oksijen türlerinin oluşmasına neden olarak, toksik etki gösterebilmektedir (Back ve ark., 1998; Fridovich, 1999; Gerstner ve ark., 2008, Mandal ve ark., 2009).

Deneysel çalışmalarda, immatür beyinde oksijen uygulaması ile artan reaktif oksijen türlerinin, çeşitli beyin bölgelerinde yaygın apoptozise neden olabileceği (Felderhoff-Mueser ve ark., 2004, Hoehn ve ark., 2003), çeşitli sitokinlerin üretimini başlatabildiği ve böylece iltihaplanmayı tetikleyip sonuç olarak nörodejenerasyona neden olduğu savunulmuştur (Allan ve Rothwell, 2001).

Klinikte de perinatal iskemi olgularında kullanılan oksijen tedavisinin, olgunlaşmamış antioksidan savunma mekanizmalarına sahip yenidoğanlarda nörodejenerasyonu arttırdığı bildirilmiştir (Saugstad, 2001).

Saugstad OD. (1989) literatürde ilk kez, bronkopulmoner displazi, prematüre retinopatisi, nekrotizan enterokolit, periventriküler lökomalazi, patent duktus arteriosus, respiratuar distres sendromu, intrauterin gelişme geriliği gibi hastalıkların aslında farklı olmadığını, ancak en çok etkilenen dokulara göre “Neonatolojik Oksijen Radikal Hastalığı” olarak adlandırmıştır (Şekil 1).



Şekil 1. Yenidoğanda Oksijen Radikal Hastalığına katkıda bulunan mekanizmalar (Perez ve ark., 2019 kaynağından uyarlanmıştır).

Uygulanması gereken en uygun oksijen satürasyonu veya PaO<sub>2</sub> konusunda henüz tedavi stratejisi hakkında görüş birliğinin sağlanamaması ile birlikte perinatal mortalite son on yılda %25 azalmış olmasına rağmen perinatal beyin hasarı, çocuklarda hala ölüm ve gelişme geriliğinin önde gelen nedenidir (Castillo ve ark., 2008; Christou ve Brodsky, 2005; D'Angio ve Maniscalco, 2004; Perez ve ark., 2019; Stoll ve ark., 2010).

## 2.2. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma

Reaktif oksijen türlerinin mitokondride elektron taşıma zincirinde oksijenin indirgenmesi ve/veya enzimatik reaksiyonlar sırasında aşırı üretimi, oksidatif ve antioksidan sistemler arasındaki dengesizlik nedeniyle oksidatif strese neden olmaktadır (Felderhoff-Mueser ve ark., 2004; Finkel ve Holbrook, 2000).

Yenidoğan beyin dokusunun oksidatif strese daha duyarlıdır:

- Hipoksik-Hiperoksik ortam değişikliği; fetal gelişim süresince PaO<sub>2</sub> ~25 mmHg hipoksik koşullar altında iken ekstrauterin normoksik koşullarda bu basınç 85-90 mmHg'dır. Doğumda intrauterin ortamdan ekstrauterin ortama geçiş ile oksijen seviyesi artmaktadır (Gitto ve ark., 2009). Bu artış doğal antioksidan savunma sistemleri yetersiz olan prematüre yenidoğanlarda (Kumar ve ark., 2010; Patel ve ark., 2009) Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesinde uygulanan ek oksijen tedavisi ile reaktif oksijen türlerinin seviyesini daha da fazla arttırmaktadır (Kayton ve ark., 2018). Aynı zamanda yapılan deneysel çalışmalarda da oksijenasyonun reaktif oksijen türlerinin üretimini indüklediği gösterilmiştir (Rizzo ve ark., 2012).
- Reaktif oksijen türlerinin üretimi ve antioksidan savunma arasındaki dengesizlik, DNA ve mitokondriyal membran, apoptoz ve hücrel fonksiyon bozukluğuna bağlı oksidatif strese neden olabilir (Finkel ve Holbrook, 2000; Yuan ve Yankner, 2000).
- Beyin dokusu total vücudun oksijeninin %20'sini metabolize ettiği için reaktif oksijen türlerinin oluşumu da fazladır. Enerjisini oksijen bağımlı mitokondriyal oksidatif fosforilasyondan sağlayan beyin dokusu diğer dokulardan daha fazla oksidatif risk taşımaktadır (Ikonomidou ve Kaindl, 2011).
- Nöronal membranlar serbest demir düzeyi ve çoklu doymamış yağ asitleri yönünden zengindir ve serbest radikaller ile etkileşerek oksidasyon oluşmasını destekleyecek

substrat sağlayarak oksidatif stresin artmasına neden olur (Chen ve ark., 2008; Saugstad, 2005).

- Postnatal dönemde enzimatik antioksidan enzimler beyinde az bulunmaktadır (karaciğerin %10'u). Ayrıca Vitamin E, GSH (Glutasyon), Vitamin A, melatonin, seruloplazmin, transferrin ve SOD gibi antioksidanların da beyinde düşük seviyede olması nedeniyle antioksidan savunma mekanizmaları yetersiz kalmaktadır (Gitto ve ark., 2009; Valko ve ark., 2007). Doğumdan sonraki çok kısa bir süre yüksek düzeyde bulunan antioksidanlardan Vitamin C ve bilirubin ise dokuları korumak için yeterli olamamaktadır (Gopinathan ve ark., 1994).

Antioksidanlardan GSH-Px, katalaz ve SOD'un gebelik süresinin son %15'lik periyodunda %150 arttığı ve nonenzimatik antioksidanların artan konsantrasyonlarda plasenta geçişi olduğu bilinmektedir (Davis ve Aunten, 2010).

Prematüre bebeklerin kordon kanındaki GSH-Px, katalaz, bakır ve çinko içeren Süperoksit Dismutaz (Cu/Zn SOD) aktiviteleri term bebeklere göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük bulunmuştur (Georgeson ve ark., 2002).

Antioksidan mekanizmaların dengeleyebileceği miktardan daha fazla serbest radikal türleri oluştuğunda ortaya çıkan oksidatif stres intrauterin hayatta başlayarak hayat boyu devam etmektedir. Reaktif oksijen ve reaktif azot türleri hem toksik hem de faydalı bileşiklerdir. Reaktif oksijen ve reaktif azot türleri yüksek konsantrasyonlarda, nükleik asitlerde, lipidlerde ve proteinlerde yapı modifikasyonlarını sağlarken fonksiyon modülasyonu ile oksidatif stres oluştururlar (Reich ve ark., 2016).

Perinatal ve yenidoğan döneminde Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitelerinde ek suprafizyolojik oksijen tedavisine kronik olarak maruz kalmak sonraki dönemlerde serebellum, korteks, bazal çekidekler, hipotalamus, striatum, hipokampus gibi beyin bölgelerini etkileyebilmektedir (Castillo ve ark., 2008; Felderhoff-Mueser ve ark., 2005; Reich ve ark., 2016; Volpe, 2009). 28. gebelik haftasından önceki doğumlarda nörogelişimsel nöral hücre oluşumu, nöronal göç, çoğalma ve olgunlaşma gibi gelişimsel süreçlerin bozulma oranlarının %70'e kadar yükselmekte olduğu bildirilmiştir (Twilhaar ve ark., 2018).

Preterm dönemde uygulanan oksijen, düşük motor öğrenme performansı ile serebral nöronal gelişimi (Collins ve ark., 2001; Felderhoff-Mueser ve ark., 2004; Klinger ve ark., 2005) ve serebellar işlevselliğini bozarak serebellar boyut ve fonksiyonun uzun süreli bozulmasına neden olabilmektedir (Limperopoulos ve ark., 2010; Tran ve ark., 2017). Hiperoksida ayrıca, değişen oksijen seviyesi ile serebral kan akımını değişmesine de neden olmaktadır (Bulte ve ark., 2007).

Deneysel çalışmalarda, -oksijen tüketimlerinin fazla olması ve yetersiz antioksidan savunma nedeniyle- hem nöronların, (Sorace ve Krause, 2009) hem de oligodendroglial hücrelerin gelişiminin etkilendiği (Brill ve ark., 2017; Gerstner ve ark., 2006; Schmitz ve ark., 2014) bildirilmiştir.

Neonatal dönemde uygulanan oksijen tedavisi, immatür beyinde astrositler, nöronal ve oligodendroglial hücrelerin gelişimi için gerekli olan oligodendrosit prekürsör hücreleri proliferasyonunda yer alan insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2) gibi büyüme faktörlerinin sentezleme kapasitelerini de etkilemektedir (Domingues ve ark., 2016; Sofroniew, 2014). Scheuer ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada postnatal 6. günde (P6) 24 saat süreyle %80 oksijen uygulamasının astrosit sayısını %50 azalttığı gösterilmiştir (Scheuer ve ark., 2019). Aynı zamanda beyaz cevher hasarlanması ve serebellar bozulmanın ileri yaşlara kadar devam ettiği bildirilmektedir (Back ve ark., 2007; Scheuer ve ark., 2015; Scheuer ve ark., 2017; Serdar ve ark., 2016).

Serbest radikaller aynı zamanda beyin dokusunda kan-beyin bariyeri fonksiyonunun makro seviyede bozulmasını, enflamasyon, sitotoksik ve vazojenik ödem oluşmasını da sağlamaktadırlar (Heo ve ark., 2005).

Hipoksiye sürekli maruz kalmanın beyin hasarını (Caretta ve ark., 2008) ve bilişsel bozukluğu (Gao ve ark., 2015; Merz ve ark., 2013) indüklediği bilinmektedir. Son yıllarda hücre ölümü ve bilişsel bozulma ile ilişkili süreçler hiperoksida de araştırılmaktadır (Yis ve ark., 2008a).

Deneysel hiperoksi uygulaması hipoksi uygulaması ile karşılaştırıldığında her ikisinin de kalıcı serebral hasara yol açtığı, altta yatan mekanizmanın, reaktif oksijen türlerinin üretimi ile antioksidan savunma arasındaki dengesizliğin benzer olduğu

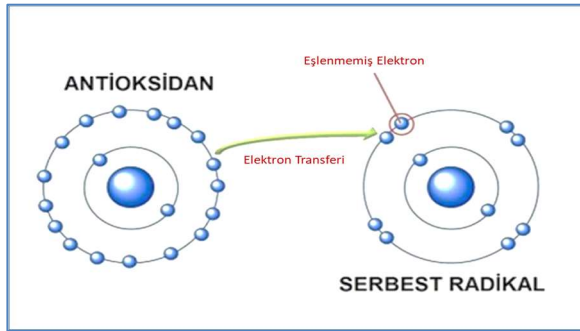


ancak hipokside hiperoksiden daha yüksek seviyelerde hasarın meydana geldiği görülmüştür (Terraneo ve ark., 2017).

Preterm bebekler sınırlı kalori ve mikronutrient deposu ile doğdukları için beyin hasarına karşı çok hassastır. Yenidoğan takibinde uygulanan ek suprafizyolojik oksijenizasyonun yararlı olduğunu gösterilmiş ancak çok merkezli deneysel ve klinik çalışmalar ile desteklenmesi gereklidir. Bu nedenle Hiperoksik Beyin Hasarı ile ilgili deneysel kanıtların gözden geçirilerek, nöroprotektif stratejilerin değerlendirilmesi önem taşımaktadır.

### 2.3. Serbest Radikaller

Dış yörüngelerinde eşlenmemiş elektron içeren atom, atom grupları ya da moleküller serbest radikal olarak tanımlanmıştır. Serbest radikaller; yüksek enerjili, kısa ömürlü, elektriksel olarak ise pozitif, negatif yüklü ya da nötraldirler (Halliwell ve Gutteridge, 1989). Serbest radikaller kararsız ve reaktif yapıdadır. Moleküler oksijen paralel spin durumunda bir veya iki eşlenmemiş elektrona sahiptir bu nedenle serbest radikallerle çok kolay reaksiyona girer (Dawn ve ark., 1996; Tietz, 1995) (Şekil 2).



Şekil 2. Serbest radikal türlerine elektron transferi

Serbest radikallerin endojen kaynakları, oksidan oluşumuna yol açan hücresel aktiviteler bu kaynakları oluştururlar.

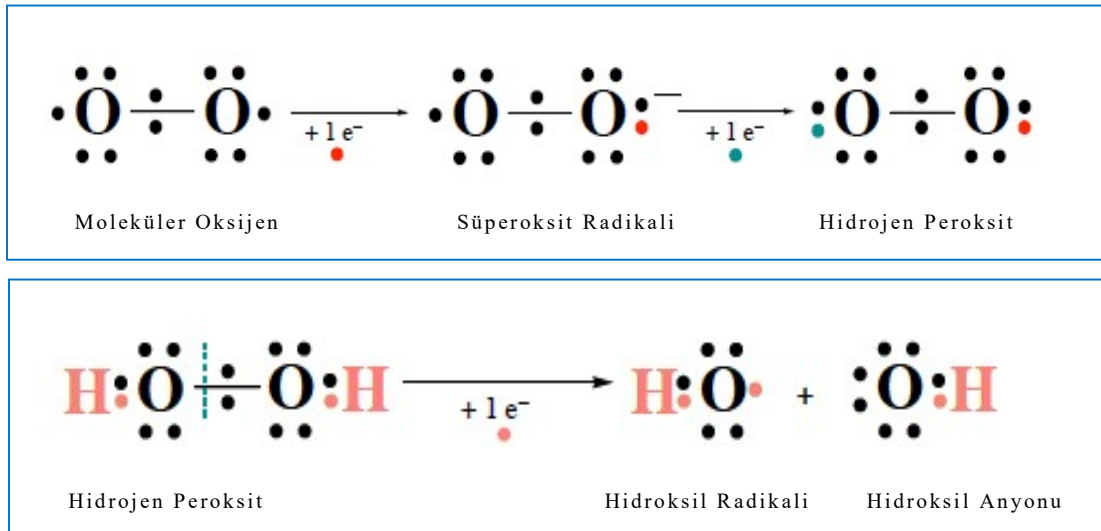
Serbest radikaller; hidroksil radikali ( $\text{OH}\cdot$ ), süperoksit radikali ( $\text{O}_2\cdot^-$ ), nitrik oksit (NO), azot dioksit ( $\text{NO}_2$ ), peroksil (ROO) ve lipid peroksil ( $\text{LOO}\cdot$ ). Ayrıca, oksidan olarak da adlandırılan ve kolayca organizmada serbest radikal reaksiyonlarına yol açan; hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ozon ( $\text{O}_3$ ), singlet oksijen ( $^1\text{O}_2$ ), hipokloröz asit (HOCl), nitrik asit ( $\text{HNO}_3$ ), peroksinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ), dinitrojen trioksit ( $\text{K}_2\text{O}_3$ ) ve lipid peroksittir.

Mitokondriyal elektron transportu sırasında; Oksidatif fosforilasyon ile ATP oluşumu sırasında, moleküler oksijen ardışık olarak indirgendiğinde reaktif oksijen türleri ( $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^{\cdot}$ ) oluşmaktadır, moleküler oksijenin %98'i mitokondride sitokrom C oksidaz ile  $H_2O_2$ 'ye indirgenmektedir. Hücrelerdeki en büyük serbest radikal kaynağı iç mitokondrial membranda süregelen elektron transport zincirindeki elektron sızıntısıdır. İç mitokondrial membranda üretilen başta  $O_2^{\cdot-}$  radikali olmak üzere  $H_2O_2$  ve  $OH^{\cdot}$  radikali mitokondrial oksijen tüketiminin %1-2'sini oluşturmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Muller ve ark., 2004). Ayrıca sitokrom oksidaz, ksantin oksidaz ve hücre zarındaki NADPH oksidaz da serbest oksijen türlerinin enzimatik kaynaklarıdır.

$O_2^{\cdot-}$  radikalinin mitokondri içinde SOD aracılığı ile  $H_2O_2$  ve takiben  $H_2O$  açığa çıkmasıyla hücreler oksidatif hasardan korunmaktadır. (Mansouri ve ark, 2006; Peng ve ark, 2006).

Biyolojik sistemlerde serbest radikal molekülleri; solunum zincirinde, fagositoz, prostaglandin sentezi ve sitokrom P450 sisteminde: elektronun bir molekülden diğer bir moleküle transferi, heterolitik bölünme esnasında kovalent bağ oluşturan iki elektron atom ya da atom gruplarının birisinde kalması sonucu ve moleküle bir elektron eklenmesi ile oluşmaktadır.

Moleküler oksijenden reaktif ara ürünlerin oluşumu aşağıda yer alan tepkimede gösterilmiştir (Şekil 3).



Şekil 3. Moleküler oksijenden reaktif ara ürünlerin oluşumu

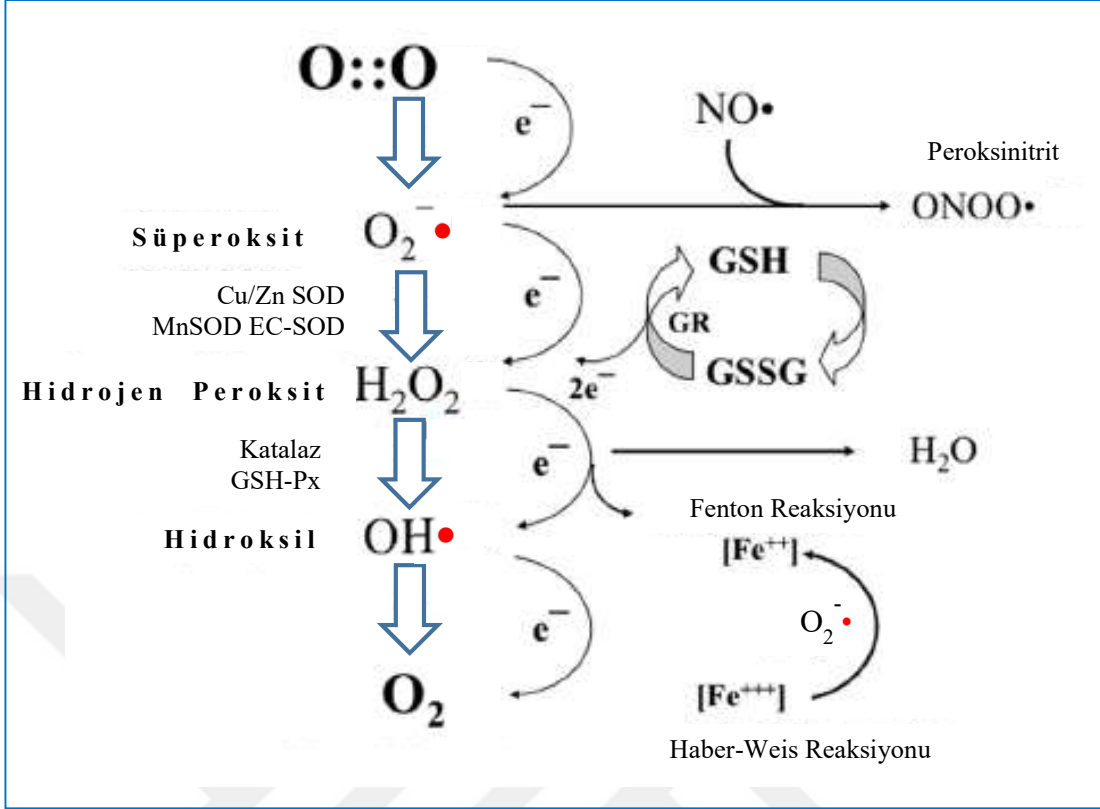
Mitokondrinin yanısıra sitokrom P450 yönünden zengin olan endoplazmik retikulum ve nükleus iç membranlarında da serbest radikal üretimi oluşmaktadır. Endoplazmik retikulum ve nükleer membranındaki elektron transport sistemleri, doymamış yağ asitlerini ve ksenobiyotikleri okside ederler ve flavoprotein içeren sitokrom redüktazlar otooksidasyon ile  $O_2^{\cdot-}$  ve  $H_2O_2$  radikallerini oluşturmaktadırlar (Liu ve ark, 1999).

Yapısında fosfolipid, glikolipid, gliserid doymamış yağ asidi ve kolay okside olabilen amino asit içeren transmembran proteinlerini içeren plazma membranları serbest radikallerin tehdidi altındadır. Serbest radikallerin hücre içi diğer organeller ile reaksiyona girmesi için plazma membranlarını geçtikleri ya da hasarı membranda başlattıkları bilinmektedir. Serbest radikaller; lipid peroksidasyonu, salgı fonksiyon bozukluğu, bozulmuş transmembran iyon dengesi ve hücrel metabolik olayların inhibisyonuna yol açmaktadır (Niki, 1987).

Serbest radikallerin biyolojik ortamlarda reaktif oksijen ve reaktif nitrojen olmak üzere iki türü bulunmaktadır. Reaktif oksijen türleri ve reaktif azot türleri oksidatif strese bağlı; onkogenlerin aşırı ekspresyonu, mutajen bileşiklerinin üretilmesi, iltihap oluşum süreci ve nörodejenerasyon patogeneğinde ve patofizyolojisinde rolü olduğu kabul edilmektedir (Droge, 2002; Genestra, 2007; Pham-Huy ve ark., 2008; Pisochi ve Pop, 2015; Wilhelm ve ark., 2016).

Endojen serbest radikaller; immün hücre aktivasyonu, iltihaplanma, zihinsel stres, aşırı egzersiz, iskemi, enfeksiyon, kanser ve yaşlanma sürecinde üretilirken, eksojen reaktif oksijen türlerinin oluşumunda ise sigara, alkol, geçiş metalleri, siklosporin, takrolimus, gentamisin ve bleomisin gibi bazı ilaçlar; asbest gibi endüstriyel çözücüler ve radyasyon serbest radikallere ayrışmakta ya da metabolize edilmektedir (Pham-Huy ve ark., 2008; Valko ve ark., 2005; Valko ve ark., 2006; Young ve Woodside, 2001).

Serbest oksijen radikalleri vücutta endojen olarak sentezlenmekte olan metabolik yan ürünleri oluşturmakta ve sentezlenen ürünler hızlıca detoksifiye edilmedikleri zaman zararlı etkileri ortaya çıkmaktadır (Cash ve ark., 2007; Halliwell ve Gutteridge, 1989) (Şekil 4).



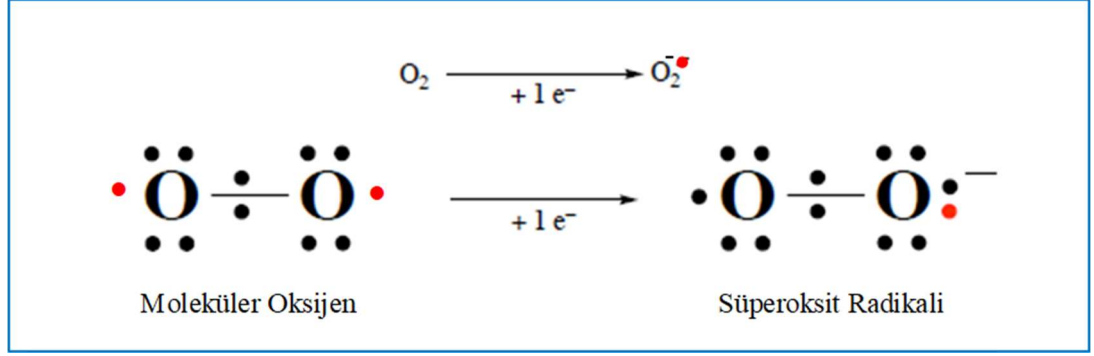
Şekil 4. Serbest radikaller ve Reaksiyonları (Torres-Cuevas ve ark., 2016 kaynağından uyarlanmıştır).

### 2.3.1. Süperoksit radikali (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>)

O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, moleküler oksijenin suya indirgenmesinde ara basamaktır. Serbest radikal olan süperoksit, zararlı etkisini direkt olarak değil, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynağı ve geçiş metal iyonlarının indirgenmesini sağlayarak gösterir. Organizmada süperoksitin enflamasyon, apoptozis ve vasküler fonksiyonların regülasyonu gibi etkileri de bulunmaktadır (Cherubini ve ark., 2005; Halliwell, 1993; Young ve Woodside, 2001).

Aerobik hücrelerde oksijen molekülüne bir elektron eklenmesi ile O<sub>2</sub><sup>•-</sup> oluşmaktadır (Halliwell ve Gutteridge, 1992) (Şekil 5). Mitokondrial elektron transfer sistemi hücrelerde ATP'nin asıl kaynağıdır. Oksijenin metabolik reaksiyonlar sırasında az miktarda oluşan elektron kaçakları moleküler oksijenin O<sub>2</sub><sup>•-</sup> dönüşmesine sebep olmaktadır. Ayrıca süperoksit ksantin oksidaz benzeri flavoenzimlerce endojen yollarla da oluşturulabilir (Kontos ve ark., 1985).

Hüresel süperoksit düzeyleri kontrol altında olup süperoksit seviyesi arttığında SOD enzimi ile oksijen ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dönüştürülerek azaltılır (Cherubini ve ark., 2005; Kovacic ve ark., 2005).



Şekil 5. Moleküler Oksijenden Süperoksit radikali Oluşumu

### 2.3.2. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

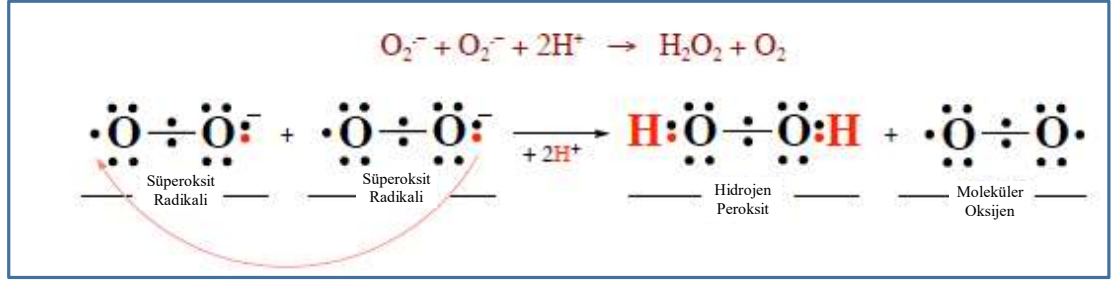
Süperoksit üretilen sistemlerde, dismutasyon tepkimesi sonucunda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de üretilmektedir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oksidan olarak zayıf, geçiş metal iyonları yokluğunda kararlı olan zayıf bir indirgendir. Yüksek konsantrasyonlarda ise toksik etkisi bulunmaktadır (Gutteridge, 1995).

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, çiftlenmemiş elektronu olmadığı için serbest radikal olarak kabul edilmemektedir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hücre membranından geçip sitozole diffüze olur ve uzun süre sitozolde kalabilir ve hücrelerde fizyolojik değişikliklere neden olabilir. Diffüze olarak geçtiği dokularda süperoksit ile reaksiyona girerek en reaktif radikal olan OH• oluşturur (Cherubini ve ark., 2005).

Süperoksit anyonuna bir elektron eklenmesi ya da moleküler oksijene iki elektron eklenmesi ve iki proton ile H<sup>+</sup> birleşerek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşur (Nordberg ve Arner, 2001) (Şekil 6).



H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, serbest halde bulunan Fe<sup>+2</sup> ile reaksiyona girmesi sonucu OH• dönüşür (Cherubini ve ark., 2005). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in redoks özelliği vardır ve geçiş metalleri ile birlikte yüksek reaktif serbest radikalleri oluşturduğu için bu etkilerine karşı vücutta antioksidan savunma sistemi gelişmiştir. Bu mekanizmalar sonucunda oluşan GSH-Px, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, katalaz ve diğer oksidazlarla hücrelerden uzaklaştırılır (Gutteridge, 1995).

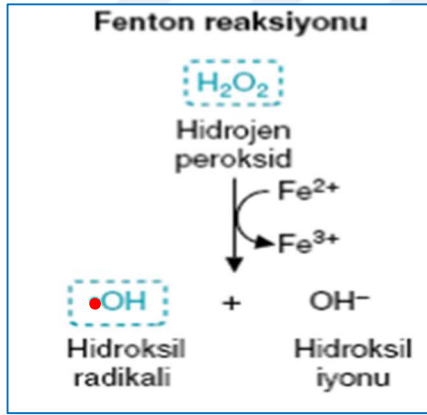


Şekil 6. Hidrojen Peroksit Oluşumu

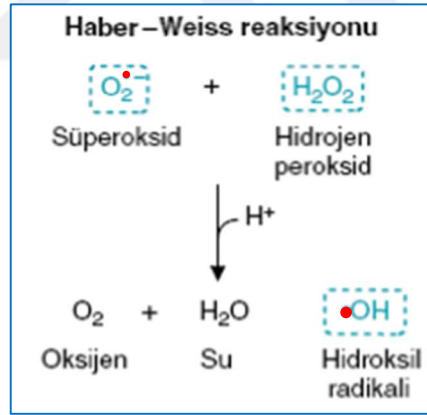
### 2.3.3. Hidroksil radikali (OH•)

En reaktif radikal olan hidroksil; amino asitler, organik asitler ve nükleik asitler ile reaksiyona girebilmektedir. Tek atom halinde olan ve bir eşlenmemiş elektronu olan oksijen ile  $\text{H}^+$ 'in birleşiminden oluşmaktadır.  $\text{OH}^\bullet$  çok yüksek reaktivitesi olan, yarı ömrü ( $\sim 10^{-9}$  s) kısa olan tehlikeli bir radikaldir (Valko ve ark., 2007).

$\text{H}_2\text{O}_2$ 'in  $\text{Fe}^{2+}$  ya da diğer geçiş elementleri ( $\text{Cu}^+$ ,  $\text{Zn}$ ,  $\text{Mn} \dots$ ) ile indirgenerek  $\text{OH}^\bullet$  dönüşmesine “Fenton reaksiyonu” adı verilmektedir (Şekil 7). Geçiş metalleri  $\text{OH}^\bullet$  oluşmasında önemli role sahiptir (Lloyd ve ark., 1997).



Şekil 7. Fenton reaksiyonu (Smith ve ark., 2005)



Şekil 8. Haber-Weiss reaksiyonu (Smith ve ark., 2005)

$\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin  $\text{O}_2^{\cdot-}$  ile tepkimeye girmesi sonucunda  $\text{OH}^\bullet$ 'in üretilmesine “Haber-Weiss reaksiyonu” adı verilmektedir (Şekil 8).



$\text{OH}^\bullet$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'in geçiş metalleriyle indirgenmesi ya da  $\text{O}_2^{\cdot-}$  ile reaksiyona girmesi sonucunda oluşmaktadır. Katalizörsüz çok yavaş olan bu reaksiyon  $\text{Fe}^{+2}$  katalizörlüğünde çok hızlı oluşmaktadır. Katalizörlü tepkimede demir, ferrik formdan

(Fe<sup>+3</sup>) ferröz forma (Fe<sup>+2</sup>) süperoksitle indirgenir. Ferröz form, ferrik forma fenton tepkimesiyle tekrar yükseltgenir ve OH• üretilir (Cherubini ve ark., 2005; Gutteridge, 1995; Young ve Woodside, 2001).

OH• deoksiriboz ve bazlarla reaksiyona kolay girer. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hücre membranlarını kolaylıkla geçebildiğinden DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hücre ölümüne neden olur (Sheldon, 2006).

Biyolojik sistemlerde lipid peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin serbest radikal oksidasyonu ile oluşmaktadır. OH• radikali membran fosfolipidlerinin, doymamış yağ asidi yan zincirlerine hücum ederek lipid peroksidasyonunun başlatmasına neden olmaktadır (Gutteridge, 1995). Lipid peroksidasyonu sonucu hücre membran bütünlüğünde bozulma, protein hasarı ile enzimlerin aktivasyonu, mitokondri ve hücre DNA'sında hasarlanma, hücre iskeletinde bozulma sonucunda hücrenin ölümüne neden olur (Dröge, 2002; Irani ve ark., 1997; Lander, 1997).

#### **2.4. Serbest Oksijen Radikallerinin Etkileri**

Normal hücrenel reaksiyonlar sırasında O<sub>2</sub>•, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> yanısıra nitrik oksit de üretebilmektedir. Organizmada serbest radikal reaksiyonlarının enfeksiyonlara karşı fagositoz ile savunma, nötrofil, makrofaj ve sitotoksik lenfositler aracılığıyla kanser hücrelerinin öldürülmesi, mitokondride ATP üretilmesi, hücre büyümesi gibi etkileri bulunmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin az miktarda bulunmasının nükleer transkripsiyon faktörlerinin aktive edilmesi, intrasellüler ortamdan Ca<sup>+</sup> salınımı, bazı sitokin ve büyüme faktörü sinyallerinin aktive edilmesi gibi reaksiyonlarda önemli rolü bulunmaktadır. Hücrelerde reaktif oksijen türleri çözünerek guanilat siklaz aktivitesinin düzenlenmesi ve gen transkripsiyon gibi önemli işlevlerde kullanılmaktadır (Devasagayam ve ark., 2004; Dröge, 2002; Lander, 1997; Valko ve ark., 2007).

##### **2.4.1. Serbest Radikallerin Lipidler Üzerine Etkileri**

Lipidler hücre ve hücre içi membranlarda bulunan ve serbest radikallerin hasarlarına karşı son derece hassas biyomoleküllerdir. Hücre membranında bulunan



kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle çok kolay reaksiyona girer ve peroksidasyon ürünlerini oluşturur (Devasagayam ve ark., 2003).

Lipid peroksidasyonu kendi kendini sürdüren zincir reaksiyonu şeklinde ilerleyerek üretildiği bölgeden daha uzak bölgede etkisini gösterebilmektedir (Devasagayam ve ark., 2003).

Hücrelerde oluşan radikallerin etkisiyle çoklu doymamış yağ asitleri üzerinden bir hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile lipid peroksidasyonunun ilk reaksiyonu oluşmaktadır. Hidrojen atomunun uzaklaşması karbon atomu üzerinde eşlenmemiş elektron kalmasına ve yağ asidi zincirinin lipid radikal (L•) özelliği kazanmasına neden olmaktadır. Lipid radikallerinin moleküler oksijen ile etkileşmesi lipid peroksil radikallerini (LOO•) oluşturmaktadır. LOO• komşu yağ asitleri ile etkileşerek yeni lipid radikallerini oluşturmaktadır. LOO• açığa çıkan hidrojen atomunu alarak lipid hidroperoksitlerine (LOOH) dönüşmektedir. Bu şekilde peroksidasyon başladıktan sonra kendini katalizlemeye devam ederek çok miktarda yağ asidi LOOH dönüştürülebilir. Bu tepkimelere ilerleme reaksiyonu denmektedir (Abuja ve Albertini, 2001; Gutteridge, 1995).



Bu zincir reaksiyonu sonucunda konjuge dien, MDA, 4-hidroksinoneal benzeri aldehit yıkım ürünleri meydana gelmektedir. Yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan ürünler zar geçirgenliği ve zar akışkanlığını bozarak kopma ve kırılmalara neden olabilir. Lipid peroksidasyonundan oluşan zar hasarının, hücre fonksiyonları için çok zararlı ve geri dönüşümsüz olduğu bulunmuştur (Devasagayam ve ark., 2003; Gutteridge, 1995).

Serbest oksijen radikalleri ve lipid peroksidasyonunun artmasının vasküler hastalıkların patogeneğinde rol oynadığı, bu radikallerin, damar endotel hücrelerine hasar vermesi sonucunda vasküler permeabilite değişikliklerine sebep olduğu da vurgulanmaktadır (Halliwell, 1993).

#### 2.4.1.1. Malondialdehit (MDA)

MDA en az üç çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda oluşmaktadır. Tiyobarbutirik asid reaktif maddeler olarak ölçülmektedir. Hücre membranında iyon



alışverişini etkileyerek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına sebep olarak iyon geçirgenliğini ve enzim aktivitesini değiştirir (Porter, 1984).

Lipid peroksidasyonunun son bileşeni MDA'dır. Oluşan MDA'nın; hücrelerde deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi, hücre yüzey bileşenleri agregasyonu gibi membran özelliklerinin değişmesine neden olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda kordon kanındaki MDA seviyelerinin yüksek olmasının; lipid peroksidasyonun arttığı ve yenidoğan döneminde daha yüksek oksidatif stresin göstergesi olduğu savunulmuştur (Buonocore ve ark., 1998; Nycyk ve ark., 1998; Rogers ve ark., 1998).

#### **2.4.2. Serbest Radikallerin Proteinler Üzerine Etkileri**

Serbest radikaller, yağ asitlerini direkt etkilerken, proteinlerin etkilenme derecesi aminoasit içeriklerine bağlıdır (Devasagayam ve ark., 2003). Proteinlerin fonksiyonu için önemli olan amino asitlerin bazıları radikal hasarına çok duyarlıdır. Peroksil ya da OH• gibi serbest radikaller veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> gibi reaktif oksijen türlerinin neden olduğu protein hasarları; amino asit oksidasyonu veya deaminasyon gibi mekanizmalarla oluşmaktadır. Bazı amino asitler oksidatif stresin oluşturduğu hasara karşı daha duyarlıdır, proteinler serbest radikallere maruz kaldıklarında, amino asit yan zincirlerinde tersiyer yapısal değişiklikler meydana gelmektedir (Rice-Evans, 1995).

Reaktif oksijen türlerinin sebep olduğu protein oksidasyonu sonucunda, protein hidroperoksitler gibi kararlı ve yüksek derecede reaktif ürünler oluşur ve bu ürünler geçiş metal iyonları ile etkileşip radikalleri oluşturabilir. Oksitlenmiş proteinler birikerek hücre hasarlanmalarına neden olabilmektedir (Devasagayam ve ark., 2004; Sarma ve ark., 2010).

#### **2.4.3. Serbest Radikallerin Karbonhidratlar Üzerine Etkileri**

Hidroksil gibi serbest radikallerin karbonhidratlarla reaksiyona girmesiyle karbon atomlarından bir hidrojen atomu çıkmasına ve karbon merkezli radikal üretilmesine neden olmaktadır. Enflamatuar eklem hastalıklarında; sinovial sıvıya geçen lökositlerden ekstrasellüler sıvıya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve O<sub>2</sub> salınmaktadır. Buradaki mukopolisakkarit olan hyaluronik asit gibi moleküllerin zincirlerinin kırılmasına

neden olmaktadır. Hyaluronik asit gözün vitröz sıvısında da fazla miktarda bulunur ve oksidatif stres sonucunda katarakt oluşmasına da neden olmaktadır (Devasagayam ve ark., 2004; Raha ve Robinson, 2000).

#### 2.4.4. Myeloperoksidaz (MPO) ve Hipokloröz Asit (HOCl)

Düşük veya orta konsantrasyonlarda serbest radikaller, hücresel yapıların olgunlaşma süreci için gereklidir. Konakçı savunma sisteminde, fagositler (nötrofiller, makrofajlar ve monositler), vücudun hastalıklara karşı savunma mekanizmasının bir parçası olarak salgılanmaktadır (Dröge, 2002; Valko ve ark., 2007).

MPO enzimi katalizörlüğünde, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den HOCl oluşmaktadır.



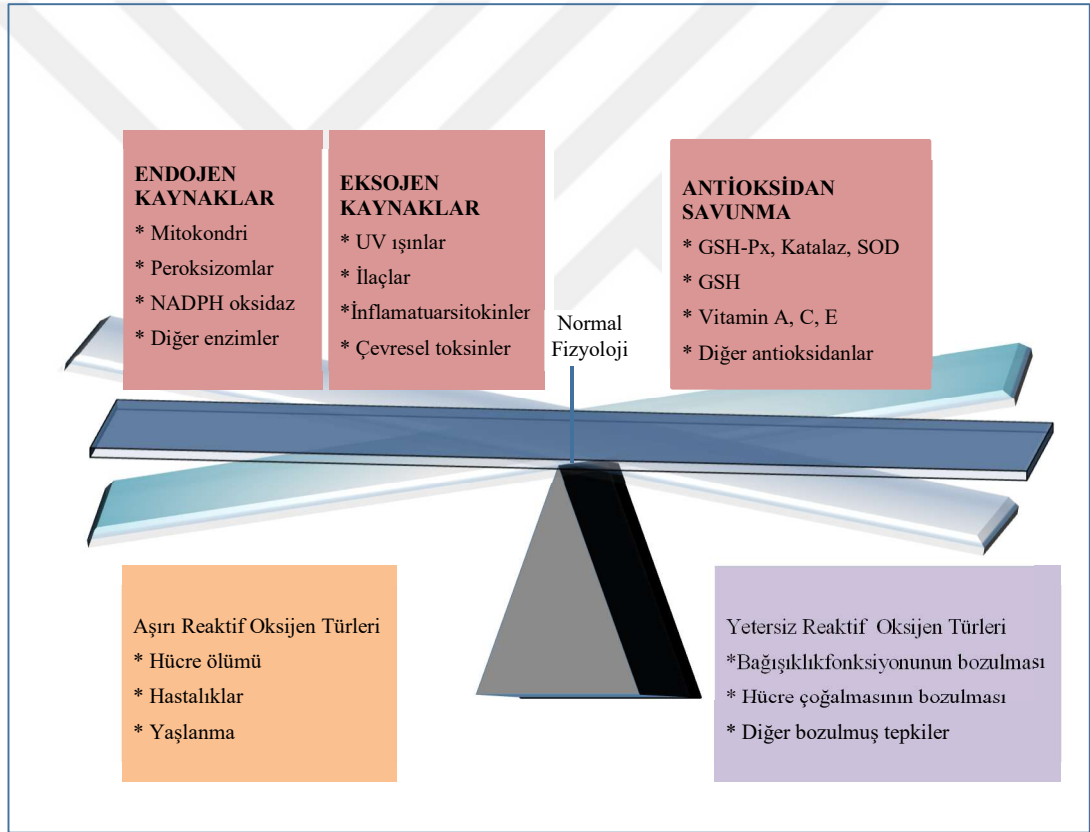
MPO sadece immun sistem hücrelerinde (özellikle nötrofillere) bulunan hem grubu içeren bir enzimdir. Sülfidril grupları, demir-sülfür merkezleri, hem proteinleri gibi demir ve sülfür içeren grupların oksidasyonu, proteinlerin oksidatif dekarboksilasyonu ve deaminasyonu, peptid bağlarının yıkılması gibi zararlı etkiler oluşturmaktadır. HOCl varlığında aerob bakteriler, ATP sentetaz ya da elektron transport zincirinde meydana gelen hasar, membran transportu özelliklerini kaybetmesine neden olmaktadır (Marcinkiewicz, 1997; Weiss ve ark., 1982).

MPO insan polimorfonükleer lökositlerin ~ %5'ini oluşturmaktadır. Ayrıca monositlerde (toplam proteinin ~%1'i) ve doku makrofajlarında var olduğu bilinmektedir. MPO, polimorfonükleer lökositlerin polimorfonükleer lökositler ve monositlerin azurofilik granüllerinde depolanmışlardır. Hücresel tepkimeler ve degranülasyon boyunca fagositik vakuollere bırakılmasının yanısıra ekstraselüler alana da bırakılmaktadır. Bu hücreler tarafından fagosit edilen bakteriler, MPO enzimi aktivitesi ile yok edilmektedirler (Andrews ve Krinsky, 1986).

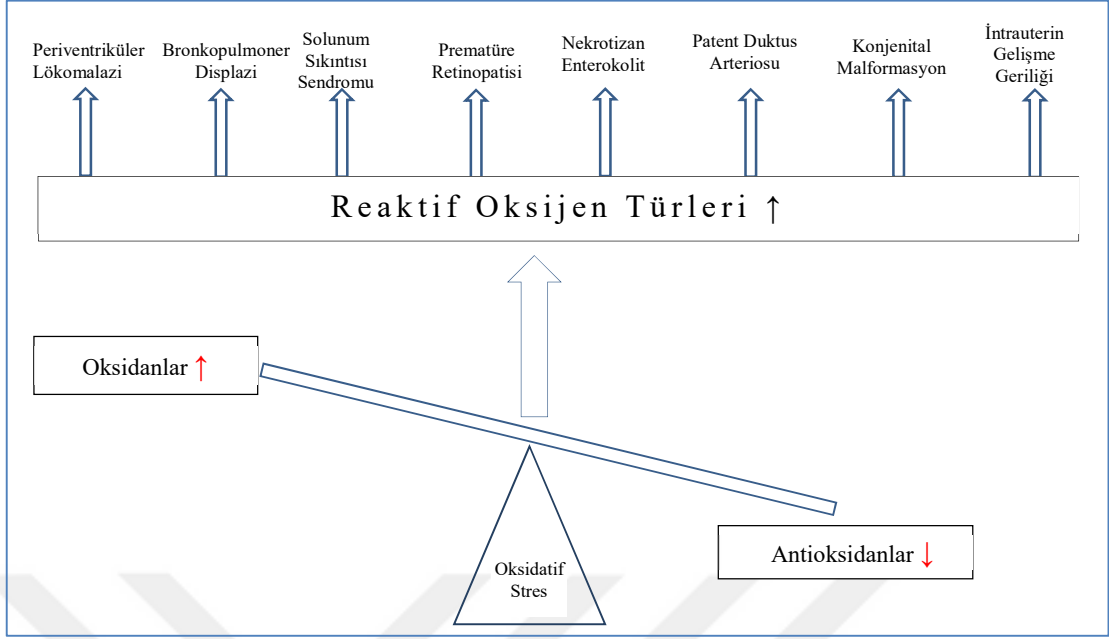
## 2.5. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Sistemleri

### 2.5.1. Oksidatif Stres

Vücutta serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve uzaklaştırılması ile antioksidan savunma arasındaki dengenin oksidanlar lehine kaymasına oksidatif stres denmektedir. Fizyolojik koşullarda organizma serbest radikallerden korunmak, etkilerini azaltmak veya uzaklaştırılmak için antioksidanlara sahiptir; ancak serbest oksijen radikallerinin aşırı üretilmesi ile antioksidan sistemler yetersiz kalmakta ve oksidatif hasar meydana gelmektedir (Şekil 9) (Davies, 1995; Davies, 2000; Sies, 1997).



Şekil 9. Oksidatif stres ve antioksidanlar



Şekil 10. Oksidatif Stres ve Yenidoğan Hastalıkları (Ozsürekcı ve Aykac, 2016 kaynağından uyarlanmıştır).

### 2.5.2. Oksidatif Stres ve Yenidoğan Beyni

Serbest demir düzeyi ve çoklu doymamış yağ asitleri yönünden zengin olan yenidoğan beyninin, antioksidan enzim düzeyleri (SOD, GSH-Px) diğer dokulara göre daha düşüktür. Enerjisini oksijen bağımlı mitokondriyal oksidatif fosforilasyondan sağladığı için, diğer dokulardan daha fazla oksidatif risk gözlenmektedir (Ikonomidou ve Kaindl, 2011).

Serbest radikaller oksidatif strese neden olarak, beyin dokusunda kan-beyin bariyeri fonksiyonunun makro seviyede bozulmasını, enflamasyon, sitotoksik ve vazojenik ödem oluşmasını sağlamaktadırlar (Heo ve ark., 2005).

Oksidatif stres; hiperoksi, hipoksi/iskemi, ilaçlar ve travmatik beyin hasarına bağlı erken gelişimsel beyin harabiyetinin ve nöronal hasar sonucunda gelişen nörogelişimsel hastalıkların patogenezinde rol oynamaktadır (Deuber ve Terhaar, 2011) (Şekil 10).

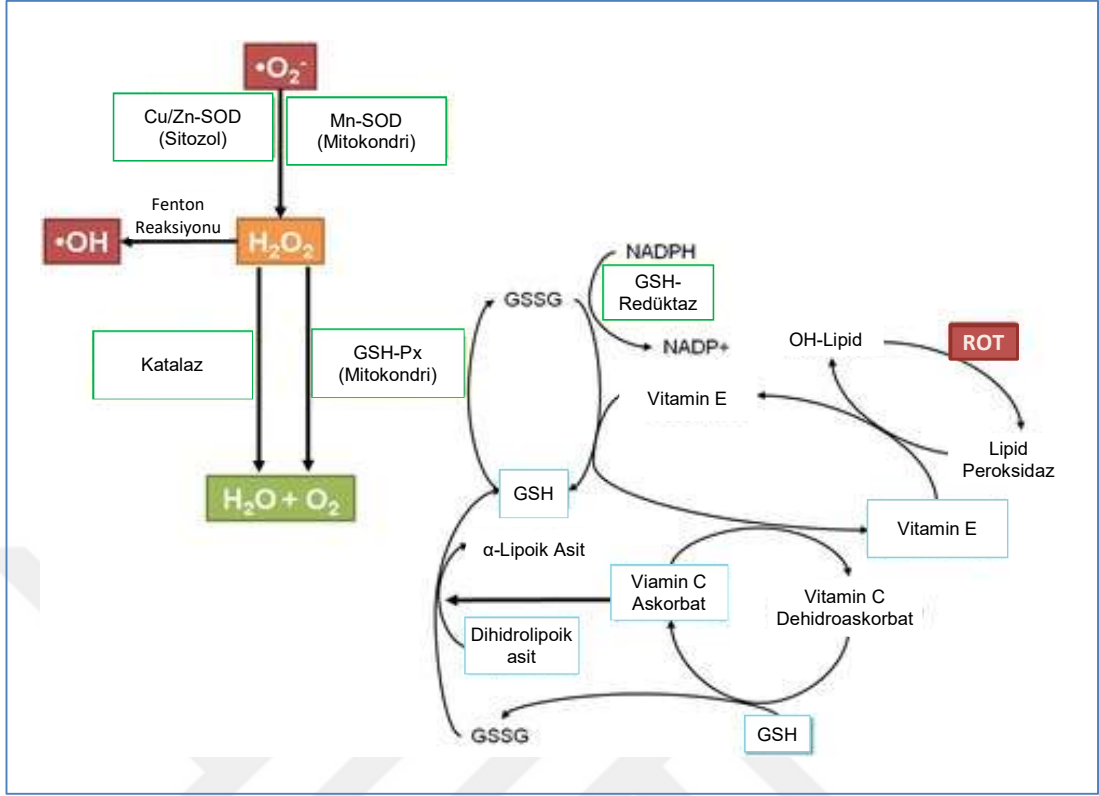
## 2.6. Antioksidan Savunma Sistemleri

Antioksidanların, hücrelerin zar yapısındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu engellemesi bilinen ilk etkileridir. Günümüzde antioksidanların lipidler, proteinler, nükleik asitler ve hedefte olan makromoleküller üzerine koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Yalçın, 1992).

Antioksidanlar, molekülleri okside olmaktan koruyan veya oksidasyonu yavaşlatma yeteneği bulunan moleküllerdir. Bir maddeden oksidasyon ajanına elektron transferi yapılan kimyasal reaksiyona “oksidasyon” denir. Oksidasyon reaksiyonları, hücre hasarı oluşturabilen zincir reaksiyonları başlatabilen serbest radikallerin üretilmesine neden olmaktadır. Antioksidanlar, serbest radikallerin etkisini reaktif oksijen türlerini indirgeyen enzim sistemlerinde dahil olduğu mekanizmalar ile azaltmaktadır.

Antioksidanların kullanılmasının, immün hücre fonksiyonunu büyük ölçüde arttırdığı, birçok bakteriyel ve viral enfeksiyonun kontrol altına alınmasına, oksidan yaralanma bölgesinde antioksidanlar ile oksidanlar arasındaki dengesizliğin tersine çevrilmesine ve ilerleyen doku hasarının önlenmesine neden olduğu bildirilmiştir (Morris ve ark., 2013).

Hem intrasellüler hem de ekstrasellüler sıvıda bulunan doğal antioksidan sistemler enzimatik ve nonenzimatik olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Enzimatik antioksidanlar GSH-Px, katalaz, SOD enzimleri ve bazı proteinlerden oluşmaktadır. Nonenzimatik antioksidanlar ise çoğunun besin kaynaklı olduğu Vitamin C, Vitamin E, Vitamin A, GSH gibi antioksidanları içermektedir (Halliwell ve Gutteridge, 2007; Holmström ve Finkel, 2014; Lobo ve ark., 2010; Narin, 2012) (Tablo 1) (Şekil 11).



Şekil 11. Antioksidanlar; ROT (Reaktif Oksijen Türleri) (Kurutas, 2016 kaynağından uyarlanmıştır).

Antioksidanların etki mekanizmaları dört şekildedir;

**Temizleyici etki:** Oksidanların reaktif olmayan zayıf yeni moleküle çevirerek yapılan etki enzimler tarafından yapılır. Antioksidan enzimler ve küçük moleküller bu tip etkide bulunurlar.

**Bastırıcı etki:** Serbest oksijen radikalleri ile etkileşip bir hidrojen aktarım aktivitelerini azaltarak ya da inaktif şekle dönüştürerek etki eder. Vitaminler ve flavonoidler bu etkide bulunurlar.

**Zincir Kırıcı Etki:** Serbest oksijen radikallerini bağlayıp, radikal oluşum reaksiyonunu engelleyerek etki ederler.

**Onarıcı Etki:** Serbest oksijen radikallerinin meydana getirdiği hasarı onararak etki ederler (Young ve Woodside 2001).

**Tablo 1.** Antioksidanların sınıflandırılması (Aydemir ve Karadağ, 2009)

ENDOJEN ANTIÖKSİDANLAR		
ENZİMATİK ANTIÖKSİDANLAR	NONENZİMATİK ANTIÖKSİDANLAR	
Glutasyon redüktaz	Glutasyon	Koenzim Q10
GSH-Px	Melatonin	Selenyum
Katalaz	Ürik asit	$\alpha$ -Lipoik asit
SOD	Bilirubin	Transferrin
	Albümin	Seruloplazmin
EKSOJEN ANTIÖKSİDANLAR		
EKSOJEN ANTIÖKSİDANLAR	İLAÇ OLARAK KULLANILAN EKSOJEN ANTIÖKSİDANLAR	
Vitamin A	Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopürinol, oksipürinol,)	
Vitamin C	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)	
Vitamin E	Rekombinant Süperoksit Dismutaz	
Folik asit	Sitokinler (TNF ve IL-1)	
	Endojen antioksidan aktiviteyi artıranlar (GSH-Px aktivitesini artıran ebselen ve asetilsistein)	
	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)	
	Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)	
	Nötrofil adezyon inhibitörleri	
	Trolox-C (Vitamin E analogu)	
	Demir şelatörleri	
	Barbitüratlar	

## 2.6.1. Enzimatik Antioksidanlar

### 2.6.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Mc Cord ve Fridovich 1968 yılında süperoksit dismutaz'ı tanımlamışlardır (Fridovich, 1975).

SOD,  $2O_2^{\cdot-}$ 'i,  $H_2O_2$  ve moleküler oksijene katalizleyen bir enzimdir. Molekül ağırlığı 17-85 kDa olan metalloenzimdir. SOD, oksijenin zarar veren etkileşimlerinde önemli koruyucudur. SOD'un fizyolojik fonksiyonu aerobik hücreleri süperoksitin zararlı etkilerinden korumaktır (Greenwald, 1990). Hücrelerde metabolizma sırasında fazla miktarda üretilen süperoksit SOD enzimi sayesinde hücre içinde düşük tutulmaktadır.

SOD, bakterilerin fagosite edildikten sonra hücre içindeki etkilerinin önlenmesinde aktiftir. Granülosit ve lenfositlerde bol miktarda bulunur. SOD enziminin yüksek katalizör aktivitesi sebebiyle hücrelerde süperoksit birikimi bulunmamaktadır.

$O_2^{\cdot-}$ , metal iyonlarını indirgeyerek bağlı oldukları proteinlerden salınmasına sebep olmaktadır, kofaktörlerin oksidasyonunu bozarak, metal iyonlarının da bulunduğu  $OH^{\cdot}$  oluşturan tepkimelerin hızlanmasına sebep olmaktadır. Süperoksit diğer radikallerden daha az reaktif olmasına rağmen, indirgenmiş nükleotitleri, aminoasitlerin bazılarını ve antioksidan bileşikleri (GSH, Vitamin E) oksitleyebilmektedir.

Hücre zarının hidrofobik ortamında süperoksitin ömrü uzun ve çözünürlüğü fazladır. Zar fosfolipidleri hücrelerin zar yüzeylerini asidik yapabilir bu nedenle süperoksit hücre zar yüzeyinde protonu kolayca alıp hidroperoksit radikalini oluşturabilmektedir. Hidroperoksit radikali reaktif olduğu için hücre zarında lipid peroksidasyonunu başlatarak Vitamin E benzeri antioksidanları oksitleyebilmektedir (Gutteridge, 1994; McCord ve Edeas, 2005; Nozik-Grayck ve ark., 2005).



İnsanlarda SOD'un üç izoformu bulunmaktadır. Bunlardan Cu/Zn SOD sitozolde, manganez içeren Süperoksit Dismutaz (Mn-SOD) mitokondride ve ekstrasellüler Süperoksit Dismutaz (EC-SOD) hücre dışı sıvılarda bulunmaktadır (Sen ve Chakraborty, 2011; Young ve Woodside, 2001).

Hücrelerde en bol bulunan SOD formu olan sitozolik dimerik Cu/Zn SOD; iki eşit alt üniteden oluşmaktadır. Her bir alt ünitesinde bir Cu ve bir Zn atomu içermektedir (Mruk ve ark., 2002; Nordberg ve Arner 2001). Mn-SOD; mitokondriyal bir enzimdir ve dört eşit alt üniteye sahiptir. Aktif bölgesinde  $Mn^{+3}$  bulundurur. Bazı farklılıklar olmasına rağmen Cu/Zn SOD ile aynı reaksiyonu katalizlemektedir (Fridovich, 1995). EC-SOD, her bir alt ünitesinde birer tane enzimatik aktiviteler için gerekli olan bakır ve çinko atomu bulundurmaktadır. EC-SOD, dismutazın ekstrasellüler matriks ve hücre yüzeylerinde plazmadakinden daha yüksek yoğunlukta bulunmaktadır. EC-SOD, fibroblast hücreleri, glia hücreleri ve endotel hücreleri tarafından salgılanmakta ve sentezlenmektedir. Ekstrasellüler düzeyde enzimatik olarak  $O_2^{\cdot-}$ leri etkisizleştirebilen tek antioksidandır (Holmström ve Finkel 2014; Marklund, 1990; Zaghloul ve ark., 2012).



### 2.6.1.2. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

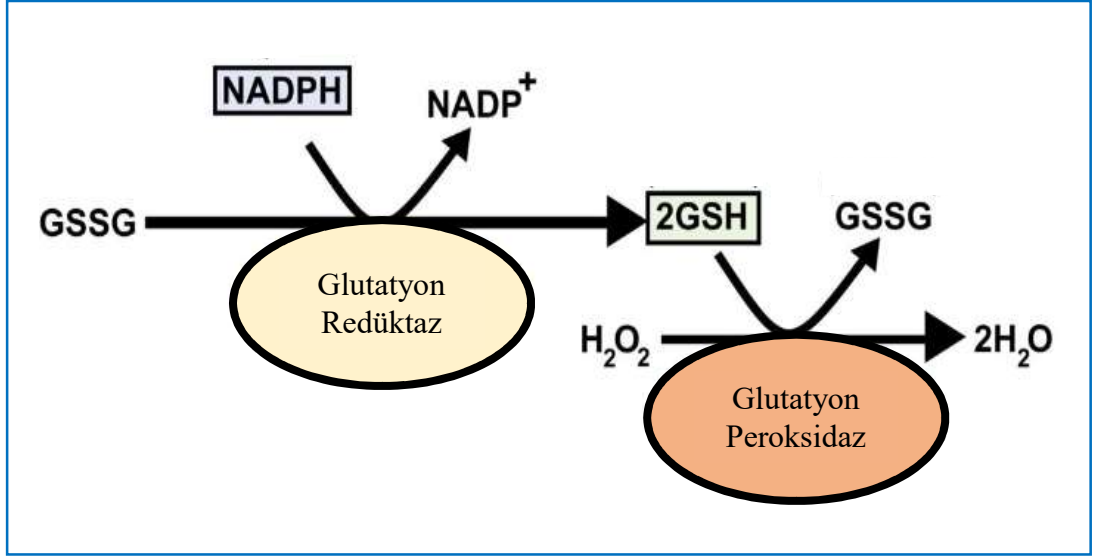
Hücrelerin sitoplazmasında bulunan GSH-Px enzimi, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den kaynaklanan oksidatif strese OH•'in oluşmasını engelleyerek hücreleri korumaktadır. GSH-Px, Her alt biriminde bir selenyum atomu bulunan dört alt birimden oluşmaktadır (Sen ve Chakraborty, 2011).

GSH-Px'in elektron kaynağı GSH'dır, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi ve organik hidroperoksitleri (DNA hidroperoksitler, LOOH) metabolize edebilen bir enzimdir. GSH-Px enziminin aktif bölgesinde selenyum içeren selenyuma bağımlı GSH-Px ve selenyuma bağımlı olmayan GSH-Px olmak üzere iki ana tipi bulunmaktadır. Glutasyon peroksidazlardan, Selenyuma bağımlı olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve organik hiperoksitlerde, Selenyuma bağımlı olmayan ise organik hidroperoksitlerin metabolize edilmesinde daha etkilidir. GSH-Px enzimi oksidatif strese karşı eritrositlerde en etkili antioksidandır (Cnubben ve ark., 2001; Guemouri ve ark., 1991; Reiter ve ark., 1995).



### 2.6.1.3. Glutasyon Redüktaz (GR)

GR, GSH-Px enzimi ile NADPH'nin bir elektronunu (okside glutasyon) GSSG disülfid bağlarına aktarır ve GSH'a dönüşümünü katalize eder. Bu nedenle NADPH serbest radikal hasarını engellemek için gereklidir (Sen ve ark., 2010) (Şekil 12). GSH-Px enzimi ile hidroperoksitlerin indirgenmesi ile oluşan GSSG NADPH bağımlı glutasyon redüktaz (GR) enzimi tarafından rejenere edilmektedir (Yalçın, 1998).



Şekil 12. Glutatyon Redüktaz

#### 2.6.1.4. Katalaz

Katalaz, sitozolde peroksizomlar, mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunmaktadır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in, H<sub>2</sub>O ve O<sub>2</sub>'ye dönüşümünü sağlayan katalaz enzimi; (Limon-Pacheco ve Gonsebatt, 2009) dört protein alt birimden meydana gelir. Enzimin her bir alt birimi, bir hem grubu ve bir NADPH molekülü içermektedir.



O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve moleküler oksijene katalizleyen SOD aktivitesinin katalaz aktivitesi artmadan yükselmesi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> birikerek OH<sup>•</sup> radikallerinin oluşmasına sebep olmaktadır (Garewal, 1997).

#### 2.6.2. Nonenzimatik Antioksidanlar

##### 2.6.2.1. Glutatyon (GSH)

Glutatyon, hücrelerin redoks durumunu korumasında, sinyal mekanizmalarının düzenlenmesinde, gen ekspresyonu ve apoptozisde antioksidan olarak etki göstermektedir (Townsend ve ark., 2003).

GSH, GSH-Px'in katalitik etkisi sonucunda lipid peroksitleri ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi detoksifiye etmektedir. GSH, plazma membranından aminoasit transportu ile Vitamin E ve C gibi antioksidanların yeniden düzenlenmesini sağlar. GSH, Vitamin E'nin

tokoferol radikalini direkt, askorbatı semidehidroaskorbata indirekt olarak indirgeyebilmektedir (Sen ve Chakraborty, 2011).

#### **2.6.2.2. Melatonin**

Melatonin, endojen olarak pineal bezden üretilip, dolaşıma salgılanmaktadır (Hevia ve ark., 2014). Melatoninin, serbest radikal süpürücüsü ve dolaylı olarak antioksidan etki göstermesi, serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stresi azaltarak geniş çaplı bir koruma sağlamaktadır. SOD, katalaz, GSH-Px ve GR içeren antioksidan enzimleri uyararak, protein ve lipidleri ayrıca çekirdek DNA'sını ve mitokondriyel DNA'yı korumaktadır (Reiter ve ark., 2006).

Melatoninin beyin iskemi/reperfüzyon, böbrek, barsak, kalp ve karaciğerde oluşan reaktif oksijen türlerini (Marseglia ve ark., 2015); preterm yenidoğanlarda Respiratuar Distres Sendromu şiddetini ve enflamasyonunu azaltmıştır (Gitto ve ark., 2004). Bunlara bağlı olarak yenidoğanlarda hipoksik-iskemik ensefalopatinin tedavisinde melatoninin tekli ve/veya kombine kullanılabileceği gösterilmiştir (Çetinkaya ve ark., 2011; Özyener ve ark., 2012; Robertson ve ark., 2013). Deneysel modellerde yapılan çalışmalarda, periventriküler lökomalazinin önlenmesinde melatonin ve agomelatin nöroprotektif etkisi olduğu bulunmuştur (Lee ve Davis, 2011).

#### **2.6.2.3. Ürik Asit**

İnsanlarda pürin katabolizmasının son oksidasyon ürünü olan ürik asit, hidroksil, süperoksit, peroksinitrit anyonu, peroksinitrit asiti etkisiz hale getirir, lipid peroksidasyonu engeller, geçiş metal iyonlarının şelatorü olarak etki eder (Waring, 2002).

#### **2.6.2.4. Bilirubin**

Bilirubin, eritrositlerin parçalanması sonucunda içerilerinde bulunan hem proteinlerinin yıkımı ile oluşmaktadır. Bilirubin antioksidan etkisini, peroksil radikallerini zincir kırıcı etki etkiyle sağlar (Gutteridge, 1995).

#### **2.6.2.5. Albumin**

Albuminin fizyolojik ve farmakolojik etkileri bulunmaktadır. Vücutta bölümler arasında sıvı dağılımı ve ozmotik basıncı düzenlemede önemli rolü bulunmaktadır. Genel olarak, plazmadaki önemli ve etkili antioksidanlardan birisi albümindir (Roche ve ark., 2008).

#### **2.6.2.6. Koenzim Q10**

Koenzim Q10, insan vücudunda sentezlenen, vitamin benzeri bileşiktir. Aerobik metabolizma, aerobik solunum metabolizmalarında enerji üretiminde önemlidir. Koenzim Q10'in, serbest radikalleri süpürme, lipid peroksidasyonunu baskılama gibi antioksidan etkileri bulunmaktadır (Gürkan ve Bozdağ-Dündar, 2005).

#### **2.6.2.7. $\alpha$ -Lipoik asit**

$\alpha$ -Lipoik asit ve  $\alpha$ -lipoik asitin indirgenmesi sonucu ortaya çıkan dihidrolipoik asit güçlü antioksidanlardandır.  $\alpha$ -Lipoik asit, hidroksil, HOCl, singlet oksijen ve peroksinitrit anyonun; dihidrolipoik asit, süperoksit ve peroksil radikallerinin süpürücüsüdür (Packer ve ark., 2001).

#### **2.6.2.8. Selenyum**

Bağışıklık düzenleyici ve antioksidan fonksiyonları bulunan selenyum, GSH-Px'in aktivitesini artırarak reaktif oksijen türlerinin oluşumunu baskılamaktadır (Kim ve ark., 2014).

#### **2.6.2.9. Seruloplazmin ve Transferrin**

Antioksidan protein olan seruloplazmin ve transferrin beyin de dahil olduğu birçok dokuda sentezlenmektedir. Seruloplazmin, SOD gibi etki göstererek eritrosit zarlarında ki çoklu doymamış yağ asitlerini reaktif oksijen türlerinin zararlarına karşı korur ve aynı zamanda önemli bir büyüme faktörüdür. Fenton reaksiyonunda  $Fe^{+2}$ ,  $H_2O_2$ 'nin daha toksik ürün olan  $OH\cdot$ 'a dönüşümünü katalizlemesi sonucunda oksidatif strese neden olmaktadır. Transferrinin hücrelere  $Fe^{+3}$  taşınması, serbest  $Fe^{+2}$

iyon konsantrasyonunu azaltarak antioksidan etki göstermektedir (Chauhan ve ark., 2004).

Deneysel çalışmalarda, mitokondriyal kaynaklı oksidatif stresin spesifik rolünün; patofizyolojisinde rol aldığı yenidoğan hastalıklarında antioksidan tedavi uygulanmasının ümit verici sonuçları olmasına rağmen, antioksidan tedavinin klinikte tedavi standardı olarak kullanılmasını teşvik eden güçlü kanıt eksikliği bulunmaktadır. Prematüre yenidoğanlarda antioksidan sistemi anlamak, ideal enzim aktivitesini belirlemek için deneysel modellerin geliştirilmesi ve yenidoğanlarda klinik fizyolojik sonuçlarla bağlantısını anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

## **2.8. Pirimidin Bileşikleri ve Üridin**

Pirimidinlerin kimyasal yapıları benzen ve piridin'e benzer, aromatik heterosiklik organik bileşiklerdir. Altılı kimyasal halka yapısının 1 ve 3 numaralı pozisyonlarında birer adet nitrojen atomu bulunmaktadır. Pirimidinlerin baz, nükleozid ve nükleotid olmak üzere üç formu bulunmaktadır. Üç çeşit pirimidin bazı nükleik asitlerin (DNA ve RNA) yapılarında yer almaktadır. Timin sadece DNA'nın yapısında, urasil ise sadece RNA'nın yapısında bulunurken, sitozin DNA ve RNA'nın yapısında bulunmaktadır. Pirimidin bazlarına riboz veya 2-deoksiriboz formlarında şeker molekülünün 1 numaralı karbonu ile pirimidin bazının 1 numaralı azotunun birleşmesi sonucunda pirimidin nükleozidleri oluşturmaktadır. Elde edilen pirimidin nükleozidi, baz isminin sonuna "-idin" takısı getirilerek (örneğin üridin) adlandırılmaktadır. Bazlara riboz eklendiğinde nükleozidler takı almazlar, 2-deoksiriboz eklendiğinde ise isminin önüne "d-" takısı getirilmektedir; sitidin, timidin, üridin.

Pirimidin nükleotidleri; baz+şeker (nükleozid) ve şekerin 5'-hidroksil grubuna bir veya daha fazla fosfat grubunun kovalent bağ ile eklenmesiyle oluşmaktadır. Nükleotide eklenen fosfat gruplarının sayısına göre ismi belirlenmektedir; buna göre bir nükleozid mono-, iki di-, üç fosfat grubu eklendiğinde ismine tri- ekleri getirilmektedir.

### 2.8.1. Pirimidin Bileşiklerinin Sentezi

Pirimidin bileşikleri vücutta “de novo” ve “kurtarma yolağı” mekanizmaları aracılığıyla sentezlenmektedir (Barness ve ark., 1995).

De novo yolağı, büyüme ve gelişme süresince aktiftir. Kurtarma yolağına kıyasla böbrekte ve birçok dokuda de novo yolağı daha önemli sentez şeklidir (Traut ve Jones, 1996). Beyinde pirimidinlerin başlıca sentez şekli kurtarma yolağıdır. Pirimidin biyosentezinin de novo yolağının ilk basamağı karbomoil fosfat’tan üridin-5’-monofosfat (UMP) oluşmasıdır. Daha sonra ATP’den nükleotid kinaz enzimi ile katalize edilen ardışık reaksiyonlar ile oluşturulan fosfat gruplarının UMP’ye aktarılması ile sırasıyla üridin-5’-difosfat (UDP) ve üridin-5’-trifosfat (UTP) sentezi gerçekleşmektedir. Sitidin-5’-trifosfat sentaz enziminin katalizlemesi sonucunda UTP Sitidin-5’-trifosfat’a (CTP) dönüştürülmektedir (Lecca ve Ceruti, 2008). Hücre içindeki Sitidin-5’-trifosfat havuzu sitidin’in re-fosforilasyonundan ya da üridin’in metabolizmasından oluşabilir. Kan beyin bariyerini dolaşımda bulunan sitidinden daha etkin bir şekilde geçen üridin, beyin dokusunda CTP sentezinin ana kaynağını oluşturur (Cansev, 2006). Sentez sırasında gerekli olan amin grubu glutamin’den elde edilmektedir. Timin nükleotidleri DNA’nın yapısına katıldıkları için deoksi formda sentezlenmektedirler. Dokunun ana pirimidin kaynağını, kandan alınan pirimidin nükleozidleri oluşturmaktadır.

Kurtarma yolağı ile hücre içi nükleotid havuzları daha az enerji harcanarak yerine konulmaktadır (Şekil 13). Kurtarma yolağı, üridin, sitidin, timidin gibi nükleozidlerin kandan dokulara alınmasını ve dokularda nükleotidlerin bu nükleozidlerden sentezlenmesini içermektedir. merkezi sinir sisteminde de novo sentezi kısıtlıdır, nükleotid ihtiyacı ise fazladır (Geiger ve Yamasaki, 1956). Sentezlenen nükleotidler, nükleotid havuzuna aktarılmaktadır. İnsanlarda, dolaşımdaki temel pirimidin üridindir ve plazma konsantrasyonu ~3-5  $\mu\text{M}$ ’dir (Cansev, 2006; Traut, 1994; Wurtman ve ark., 2000). Sıçanlarda, sitidinin plazma konsantrasyonu üridinden 3 kat yüksek olmasına rağmen, üridin kan beyin bariyerini daha etkin şekilde geçebilmektedir (Cansev, 2006).



(CDP) birleşerek diaçilgliserol'e katılmadan önce aktifleştirilmelidir. Bu reaksiyon ile CDP-kolin yada CDP-etanolaminin oluşmaktadır. Hücre içinde sitidin'in re-fosforilasyonu yada üridin'in metabolizması ile CTP havuzu oluşmaktadır. Dolaşımdaki üridin kan beyin bariyerini sitidin'den daha etkin şekilde geçmektedir. Beyin dokusundaki CTP sentezinin ana kaynağını üridin oluşturmaktadır (Cansev, 2006). Böylece hücre içi UTP düzeylerinin yeni sentezlenen fosfolipid miktarlarının temel belirleyicisi olduğu sonucuna varılmaktadır (Cansev ve ark., 2005).

### **2.8.2.3. Glikojen Sentezi**

Polisakkarid olan glikojen vücutta glikozun depo formunu oluşturmaktadır. Karaciğer ve kaslarda sentezi daha fazla olmasının yanı sıra uterus, beyin ve diğer dokularda da sentezlenmektedir. Glikojen molekülü her basamağında UDP-glukoz'dan bir glukoz molekülü alması ile zincir şeklinde uzar, bu reaksiyonların her birinde UDP molekülü serbest bırakılır (Haugaard ve ark., 1977). Glikojen sentaz enzimi ve protein düzeyleri glikojen üretiminde etkili kriterdir, UTP ve glukoz yoğunluğuna göre hücre içindeki UDP-glukoz seviyeleri tarafından düzenlenmektedir. Hücre içinde UTP konsantrasyonundaki azalmalar glikojen sentezini de azaltmaktadır, kültür sıvısına üridin ilave edilerek bu durum düzeltilenmektedir (Haugaard ve ark., 1977). Glukoz yoksunluğu, hücre içi UDP-glukoz depolarında hızla azalmaya neden olmaktadır. Sonuçta glikojen sentaz aktivitesinin inhibe olması glikojen sentaz mRNA'sı ve protein düzeylerinin azalmasına neden olur (Higuita ve ark., 2004).

### **2.8.2.4. P2Y Reseptörleri**

Nükleotidlerin aktive ettiği reseptör ailesi P2X (iyonotropik) ve P2Y (metabotropik)'dir (Miras-Portugal ve ark., 2018). P2X reseptör ailesini sadece adenin nükleotidleri uyarırken, P2Y reseptör ailesini ise adenosin ve üridin nükleotidleri uyarmaktadır. P2Y reseptörleri, G proteinine bağlı, 4 tanesi (P2Y2, P2Y4, P2Y6 ve P2Y14) üridin nükleotidleri tarafından aktive edilebilen 8 tane alt reseptörü belirlenmiştir (Abbracchio ve ark., 2006). P2Y reseptörlerinin



uyarılmasının hücre proliferasyonu, farklılaşması ve büyümesinde etkili olduğu bulunmuştur (Cansev, 2007). P2Y reseptörleri; 7 hidrofobik transmembran bölge, 3 ekstrasellüler, 3 intrasellüler halka içermektedirler.

Adenin nükleotidlerine duyarlı olan P2Y1, P2Y11, P2Y12 ve P2Y13 reseptörleri üridine duyarlı değildir. P2Y2 ve P2Y4 reseptörleri ise ATP ve UTP tarafından aktive edilebilmektedir. Üridin nükleotidleri olan UTP, UDP ve UDP-glukoz periferik ve merkezi sinir sisteminde eksprese edilen P2Y2, P2Y4, P2Y6 ve P2Y14 reseptör alt tiplerini aktive edebilmektedir (Abbracchio ve ark., 2006). UDP ve UTP tarafından aktive edilen P2Y2, P2Y4, ve P2Y6 reseptörleri uyarıldığında, Gq proteinler ile fosfolipaz C'nin aktivasyonu ile hücre içi diaçilgliserol, inositol trisfosfat ve kalsiyum artışı oluşmaktadır (Albert ve ark., 1997; Arslan ve ark., 2000). P2Y14 reseptörleri ise UDP-glukoz ve diğer UDP-şekerler tarafından uyarılarak Gi proteinleri üzerinden adenilat siklaz aktivitesinin inhibisyonunu sağlayarak hücre içi siklik AMP (sAMP) düzeyini azaltmaktadırlar (Chambers ve ark., 2000). Ayrıca UDP, UDP-glukoz ve UDP-galaktoz tarafından aktive edilen; beyin, böbrek ve kalpte yaygın olarak bulunan GPR17; üridin nükleotidleri için yeni bir reseptördür (Chambers ve ark., 2000; Ciana ve ark., 2006).

Yapılan çalışmalarda; üridin konsantrasyonlarının Alzheimer hastalarının beyin omurilik sıvısında yaş-uyumlu normal bireylere kıyasla düşük olduğu bulunmuş (Czech ve ark., 2012) ve P2Y2 reseptörünün beyin korteksinde azalmasının Alzheimer hastalığının nöropatolojisi ile ilişkili olabileceği sonucuna varılmıştır (Lai ve ark., 2008).

#### **2.8.2.5. Beyinde Pirimidin Bileşikleri**

Beyinde, de novo pirimidin sentezi karaciğerdekinden daha az miktarda bulunmaktadır (Bourget ve Tremblay, 1972). Beyin pirimidin düzeylerinin de novo sentezine bağımlı miktarları bilinmese de, dolaşımda bulunan üridin ve sitidin'in, karbonhidrat, elektrofizyolojik aktivitesi ve fosfolipid içeriğinin devamlılığı için önemli olduğu bulunmuştur (Benzi ve ark., 1984; Geiger ve Yamasaki, 1956). Pirimidinlerin plazma konsantrasyonunun ve taşıyıcı proteinlerin beyin pirimidin düzeyinin belirlenmesinde önemli olduğu; bu yüzden beynin dolaşımda bulunan

pirimidinlere ihtiyacı olduğu düşünülmektedir. İnsanlarda dolaşımdaki pirimidin üridin (Wurtman ve ark., 2000) sıçanlarda ise sitidin'dir (Traut, 1994). Deney hayvanlarında plazma konsantrasyonlarını arttıran sitidin ve üridin'in oral (Cansev ve ark., 2005) yada parenteral (Peters ve ark., 1987) yolla yapılan tedavileri beyin düzeylerini de arttırmıştır.

Pirimidin nükleotidleri dışarıdan verildiğinde fosfat gruplarından ayrılarak kana sitidin ve üridin olarak geçmektedir (Wurtman ve ark., 2000). Üridin ve sitidin beyin hücrelerine önce kan-beyin bariyerindeki taşıyıcılar aracılığı ile sonra beyin ekstrasellüler sıvısına daha sonra hücre zarında bulunan taşıyıcı proteinler aracılığı ile hücre içine alınmaktadır (Cansev, 2006). Dışarıdan alınan sitidin ve üridin beyne taşıyıcılar aracılığı ile alınsa da, literatürde insanlarda fizyolojik olarak beyne üridin'in sitidin'e kıyasla daha kolay geçebileceği öne sürülmektedir (Cansev, 2006).

## **2.9. DJ-1 Proteini**

Normal koşullarda sitozolde ve az yoğunlukta nukleus ve mitokondride lokalize olan, 1. kromozomun kısa kolunda yer alan ve PARK7'nin gen ürünü olan DJ-1 proteini 2003 yılında tanınlanmıştır (Bonifati ve ark. 2003).

DJ-1 sitoprotektif etkisini diğer proteinlerin DNA-bağlanma bölgelerine bağlanarak göstermektedir (Kato ve ark. 2013).

Anti-apoptotik etkisini ise p53 transkripsiyonal aktivitesini inhibe ederek (Fan ve ark. 2008) ve hücreyi apoptozdan koruyarak göstermektedir (Canet-Avilés ve ark. 2004). Ayrıca anti inflamatuvar yolları da regüle ettiği literatürde tartışılmıştır (Canet-Avilés ve ark. 2004; Shinbo ve ark. 2005; Takahashi ve ark. 2001; Yokota ve ark. 2003; Zhong ve ark. 2006). DJ-1 özellikle nöron, glialarda ve diğer dokularda da yaygın bir biçimde eksprese edilmektedir (Bader ve ark. 2005). Bu nedenle DJ-1'in nöron-glia etkileşiminde önemli olduğu düşünülmektedir (Bandopadhyay ve ark. 2004).

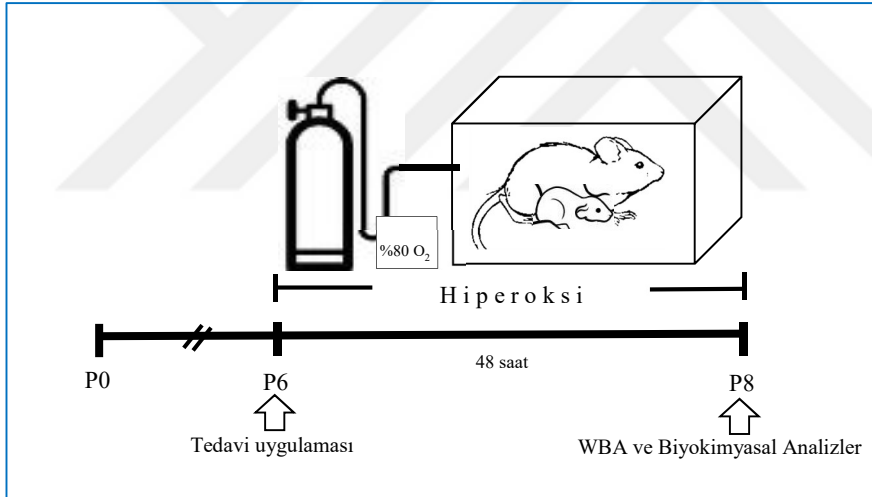
Antioksidan etkisini; oksidatif hasar sürecinde yapısındaki 106. sistein rezidüsünün oksidasyonu ile mitokondriye transloke olarak mitokondri matriksinde ve membranlar arası boşlukta yerleşerek gösterir (Blackinton ve ark. 2009; Canet-Avilés ve ark. 2004; Zhang ve ark. 2005). Ayrıca transkripsiyonel koaktivatör, moleküler şaperon ve reaktif oksijen türlerinin üretimini azaltarak göstermektedir (Li

ve ark. 2005; Xu ve ark. 2005; Yokota ve ark. 2003). DJ-1 oksidatif stresin intrasellüler sensorü olup oksidatif stresin ortadan kaldırılmasında görevli olan önemli bir protein olduğu için mitokondriyal disfonksiyonla ilişkisi kurulmuştur. DJ-1, mitokondriyal kompleks I'in alt ünitelerine bağlanarak mitokondriyal hasarı ortadan kaldırır (Hayashi ve ark. 2009). Oksidatif stres sırasında DJ-1'in parkin ve PINK1 gibi proteinlerle etkileşime girerek mitokondriyal fonksiyonları desteklemektedir (Moore ve ark. 2005; Tang ve ark. 2006). DJ-1'in fonksiyon kaybı, azalan mitokondriyal membran potansiyeli ve fragmentasyonu ile sonuçlanmaktadır, aynı zamanda E64D mutasyonunun çalışıldığı mitokondriyal disfonksiyonlara, mitokondride artan reaktif oksijen türlerinin üretimine, mitokondriyal membran potansiyelinde azalmaya neden olduğunun gösterildiği in vitro çalışmalar da bulunmaktadır (Krebiehl ve ark. 2010). DJ-1 knockout farelerde yapılan çalışmalarda mitokondrideki membranlar arası potansiyel düşük bulunmuş (Giame ve ark. 2012) olup oksidatif stresin ortadan kaldırılmasında glutamat sistein ligaz geninin ekspresyonunu artırarak ve hücrel GSH düzeyi ile birlikte Mn-SOD geninin transkripsiyonunu artırarak etkisini göstermektedir (Zhong ve Xu 2008; Zhou ve Freed 2005).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

#### 3.1. Deney Hayvanları

Çalışma, Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 2017-05/05 sayılı karar ile onaylanmıştır. Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme, Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden P6'da temin edilen, 12,0 gr'ın üzerinde olan 53 adet Spraque Dawley yenidoğan yavru dişi/erkek farkına bakılmaksızın kullanılmıştır. Anneleri eşliğinde 12 saatlik aydınlık/karanlık döngüsü ile 18-24°C arasında gıda ve su kısıtlılığı olmadan standart koşullar altında ve ayrı ayrı kafeslerde takip edildi. Deney akış şeması Şekil 14'te gösterilmiştir.



Şekil 14. Deney Akış Şeması

#### 3.2. Çalışma Protokolü ve Tedavi Grupları

P6 yavru sıçanlar randomize olarak 5 gruba ayrıldı;

Sürekli oksijen akış sistemi sürdürülen 60x20x20cm (GxDxY) boyutlarında kontrollü gaz giriş ve çıkış sistemi bulunan plexiglas düzenek içerisinde oda havası (%21 O<sub>2</sub>) soluyan;

\* **Normoksi+Salin** (n:10) tek doz i.p. %0,9 NaCl uygulanan grup.

Düzeneğin içinde %80 O<sub>2</sub> uygulanan ve hiperoksi uygulamasından 15 dakika önce tek doz tedavi alan gruplar ise;

\* **Hiperoksi + Salin** (n:11) %0,9 luk NaCl uygulanan grup.

\* **Hiperoksi + Ü100** (n:13) 100 mg/kg Üridin uygulanan grup.

\* **Hiperoksi + Ü300** (n:9) 300 mg/kg Üridin uygulanan grup.

\* **Hiperoksi + Ü500** (n:10) 500 mg/kg Üridin uygulanan grup.

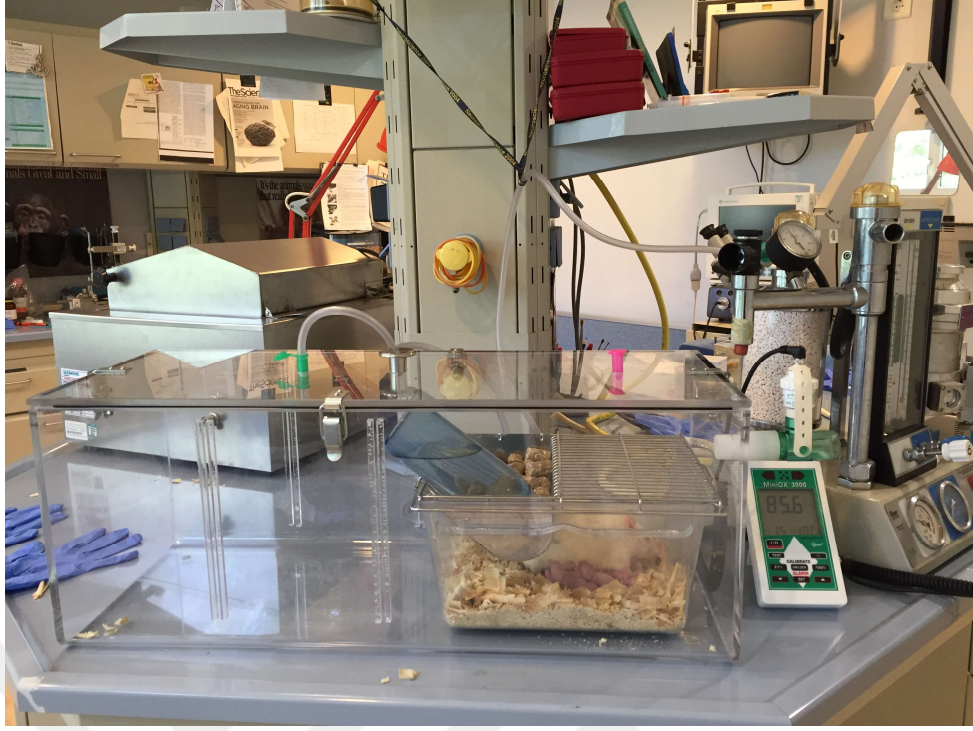
Tedavi amacıyla %0,9 NaCl; 0,1 ml/10 g vücut ağırlığı ve üridin 100/300/500 mg/kg, salin içinde çözülmüş şekilde hazırlandı ve i.p. olarak uygulandı. Bu çalışmada verilen üridin dozu (100/300/500 mg/kg), Cansev ve ark. hipoksik iskemik ensefalopatinin yenidoğan sıçan modellerinde nöroprotektif etkilerini göstermiş olduğu için seçilmiştir (Cansev ve ark., 2013; Koyuncuoglu ve ark., 2015).

### **3. 3. Hiperoksik Beyin Hasarının Oluşturulması**

Gebeliği planlanmış spontan doğumu takiben, doğdukları gün 0 olarak kabul edilen yavru sıçanlar (P0), 6. ile 8. günler arasında (P6-P8) 48 saat süreyle; Normoksi grubunda oda havasına (%21 O<sub>2</sub>); Hiperoksi grubunda ise %80 O<sub>2</sub> maruz bırakıldılar.

Hiperoksi uygulaması sürekli oksijen akış sistemi sürdürülen 60x20x20 cm (GxDxY) boyutlarında kontrollü gaz giriş ve çıkış sistemi bulunan plexiglas düzenek içine anestezi cihazı (Minor 612, AMS Türkiye) aracılığı ile sağlanmış olup nem oranı %80'in üzerinde tutulmuş ve CO<sub>2</sub> soda-lime ile uzaklaştırılmıştır (Endesfelder ve ark., 2017a). Düzeneğin içindeki oksijen seviyesi %80 oksijen doygunluğunu korumak için MiniOX 3000 oksijen analizörü (Ohio Medical Corporation, Gurnee, IL, ABD) ile sürekli izlenmiştir (Resim 1). Bu dönemdeki yavru sıçanların beyin gelişimi, insanda ~24. gestasyonel gebelik haftasındaki yenidoğana karşılık gelmektedir (Dobbing ve Sands, 1979).

Derin anestezi altında gerçekleştirilen dekapitasyon; 8. günde tartımı takiben, gerçekleştirilmiş ve beyin dokusu distile su içerisinde homojenize edilerek biyokimyasal araştırmalar ve Western Blot analizleri için kullanılabilecek kadar -80 °C'de saklandı.



Resim 1. Hiperoksik Beyin Hasarının Oluşturulan Düzenek

### 3.4. Doku Prosedürü

MDA enzimi için çözdürülen dokular Sunred firmasına ait rat spesifik çift antikor sandviç yöntemi esas alınarak çalışıldı. Sonuçlar nmol/g protein olarak verildi. (SunRed Biotechnology Company Rat ELİSA Kit, Cat. No:201-11-0157 Shangai)

MPO enzimi için çözdürülen dokular Sunred firmasına ait rat spesifik çift antikor sandviç yöntemi esas alınarak çalışıldı. Sonuçlar ng/g protein olarak verildi. (SunRed Biotechnology Company Rat ELİSA Kit, Cat. No:201-11-0575 Shangai)

SOD enzimi için çözdürülen dokular Sunred firmasına ait rat spesifik çift antikor sandviç yöntemi esas alınarak çalışıldı. Sonuçlar ng/g protein olarak verildi. (SunRed Biotechnology Company Rat ELİSA Kit, Cat. No:201-11-0169 Shangai)

GSH-Px enzimi için çözdürülen dokular Sunred firmasına ait rat spesifik çift antikor sandviç yöntemi esas alınarak çalışıldı. Sonuçlar ng/g protein olarak verildi. (SunRed Biotechnology Company Rat ELİSA Kit, Cat. No:201-11-5104 Shangai)

DJ-1 Proteini için çözdürülen dokular, DJ-1/ $\beta$ -tubulin, % değişim oranı *Cell Signaling Technology* firmasına ait DJ-1 (D21E11) Rabbit mAb proteini Western blot protokolü esas alınarak çalışıldı.

Daha önceden tartılmış olan beyin dokuları 2-8°C'de bekletilerek ağırlıklarının 10 katı Fosfat Buffer Salin (PBS) (Soęuk ve pH 7,4) solüsyonu ile homojenize edildi. 2500 r.p.m.'de 20 dakika boyunca santrifüj edildi. Kit prosedürüne göre standartlar hazırlandı. Plate standartlardan 50  $\mu$ L, doku örneklerinden 40  $\mu$ L yükleme yapıldı, örneklerin üzerine 10  $\mu$ L biotin-Ab eklendi. Daha sonra standart ve örneklerin üzerine Str-HRP-Conjugate Reagent solüsyonundan 50  $\mu$ L eklendi. Plate 37 °C'de 1 saat boyunca inkübe edildi. Bir saatin sonunda önceden yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Bu işlem sonunda her bir kuyucuğa 50  $\mu$ L kromojen A solüsyonu, ardından 50  $\mu$ L kromojen B solüsyonu eklendi. Kromojen B solüsyonu ışığa duyarlı olduğu için ışıktan korunarak 37°C'de 10 dakika boyunca inkübe edildi. Bu süre sonunda tüm kuyucuklara stop solüsyonu eklendi (Mavi renk sarı renge dönüştü). Spektrofotometrede 450 nm'de plateler okutuldu ve sonuçlar analiz edildi.

### **3.5. Western Blot Protokolü**

Sekizinci gün dekapite edilen deney hayvanlarının beyin dokuları eksize edildi. Beyin dokusu 2 ml distile su içerisinde homojenize edilerek -80°C'de muhafaza edildi. Tüm homojenatların total protein içeriği Lowry yöntemine (Lowry ve ark., 1951) göre analiz edildikten sonra 1:1 oranında Laemmli tamponu (Laemmli, 1970) ile muamele edilerek kaynatıldı. Her örnek, 20 $\mu$ g protein içerecek şekilde Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi (SDS-PAGE; Mini Protean II, Bio-Rad, Hercules, CA, ABD) yardımıyla elektroforetik olarak (175mV) yürütüldü. Ardından protein bantları poliviniliden florür (PVDF) membranlara (Millipore, Billerica, MA, ABD) (400mA) aktarıldı. Membranlar tris tamponlu salin ve tween 20 (TBST) içinde çözdürülmüş %5 yağsız kuru süt (Carnation, Glendale, CA, ABD) çözeltisi ile bloke edildi. Membranlar bloke edildikten sonra TBST tamponuyla yıkandı ve bir gece DJ-1 Rabbit mAb (1:1000, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, ABD) primer antikoları ile inkübe edildi. Ertesi gün, TBST tamponunda yıkandıktan sonra membranlar HRP (Horse radish peroksidaz) ile bağlanmış rabbit anti Ig G ikincil antikoru (1:5000, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, ABD)

ile 1 saat inkübe edildi. En sonunda, membranlar güçlendirilmiş kemilüminesans solüsyonu (Millipore, Billerica, MA, ABD) ile inkübe edilerek görsel hale getirildi ve dijital görüntüler Licor CDigit tarayıcısı (LI-COR Biotechnology, Lincoln, NE, ABD) ile analiz edildi. Bantların dansitesi Licor CDigit sisteminin yazılımı kullanılarak karşılaştırıldı. Bu işlemi takiben membranlar, primer ve sekonder antikoları uzaklaştırmak için özel bir tampon (Thermo Fisher Scientific, Rockford IL, ABD) ile muamele edildi. Ardından membranlar, eşit miktarda protein yüklendiğinin kontrolü için fare-anti- $\beta$ -III-tubulin antikorunu (Millipore, Temecula, CA, ABD) ile inkübe edildi ve uygun ikincil antikor ile işlem tekrarlanıp görüntü alındı.

DJ-1 protein/ $\beta$ -Tubulin protein düzeyleri, protein bantlarının ortalama dansitelerinin yüzdesi olarak değerlendirildi.

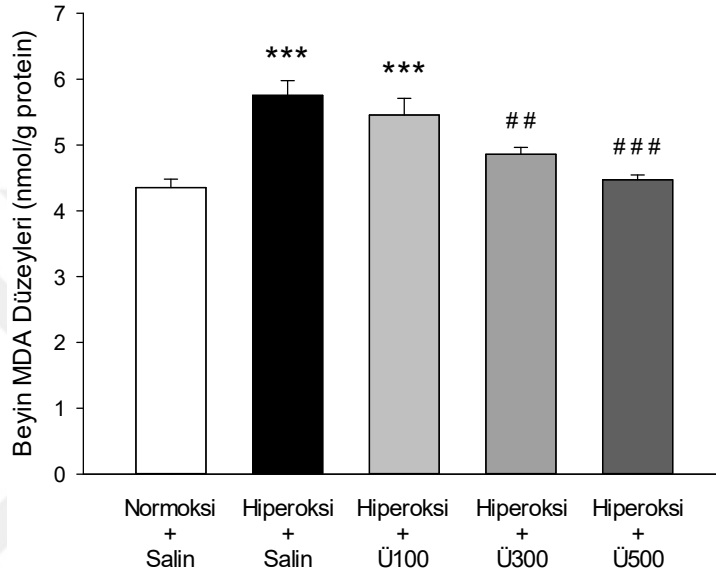
### **3.6. İstatiksel Analiz**

İstatistiksel analizler Sigma Plot 12.0 yazılımı kullanılarak yapıldı. Gruplar arasındaki fark One-Way ANOVA, ardından post-hoc Tukey testi ile belirlendi. Veriler ortalama  $\pm$  standart ortalama hatası (SEM) olarak ifade edildi;  $P < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



## 4. BULGULAR

### 4.1. Grupların Beyin MDA düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 15. Beyin MDA düzeylerinin (nmol/g protein) karşılaştırılması

\*\*\*p<0,001 Normoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Salin ve Hiperoksi+Ü100 grubu

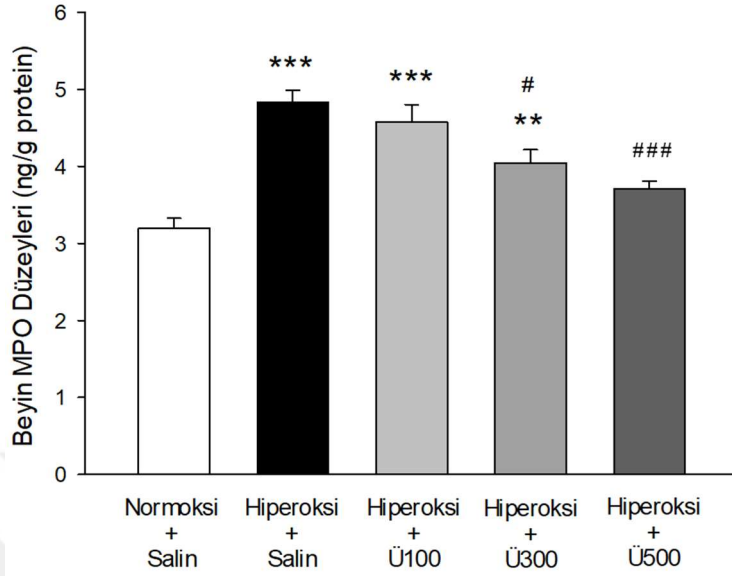
#p<0,01 Hiperoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Ü300 grubu

###p<0,001 Hiperoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Ü500 grubu

Hiperoksi+Salin ve Hiperoksi+Ü100 gruplarının beyin MDA düzeyleri Normoksi+Salin grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (\*\*p<0,001). Hiperoksi+Salin grubunun beyin MDA düzeyleri Hiperoksi+Ü300 grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (#p<0,01). Hiperoksi+Salin grubunun beyin MDA düzeyleri Hiperoksi+Ü500 grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (###p<0,001). Hiperoksi+Ü100 grubunun beyin MDA düzeyleri Hiperoksi+Ü500 grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (p<0,01).

Hiperoksi+Ü300 ve Hiperoksi+Ü500 gruplarının Normoksi+Salin grubuna göre; Hiperoksi+Ü100 grubunun Hiperoksi+Salin grubuna göre; Hiperoksi+Ü300 grubunun Hiperoksi+Ü100 grubuna göre; Hiperoksi+Ü500 grubunun Hiperoksi+Ü300 grubuna göre beyin MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

## 4.2. Grupların Beyin MPO düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 16. Beyin MPO düzeylerinin (ng/g protein) karşılaştırılması

\*\*\*p<0,001 Normoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Salin ve Hiperoksi+Ü100 grubu

\*\*p<0,01 Normoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Ü300 grubu

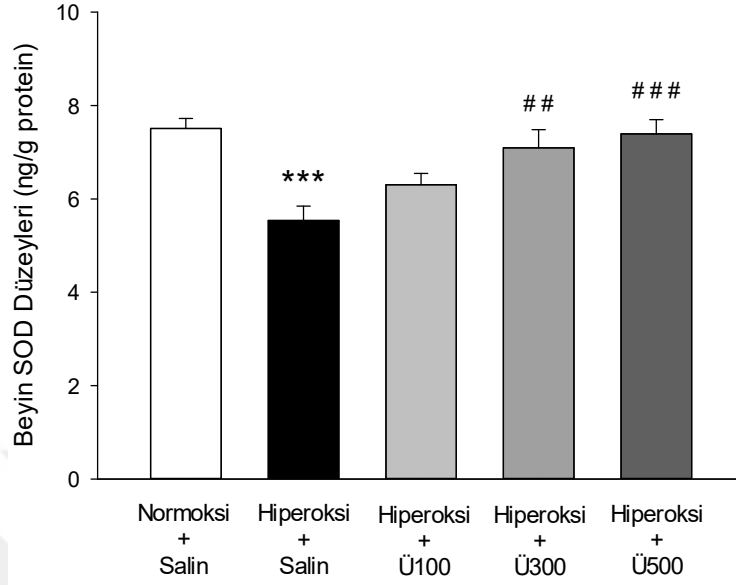
#p<0,05 Hiperoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Ü300 grubu

###p<0,01 Hiperoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Ü500 grubu

Hiperoksi+Salin ve Hiperoksi+Ü100 gruplarının beyin MPO düzeyleri Normoksi+Salin grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (\*\*p<0,001). Hiperoksi+Ü300 grubunun beyin MPO düzeyleri Normoksi+Salin grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (\*\*p<0,01). Hiperoksi+Salin grubunun beyin MPO düzeyleri Hiperoksi+Ü500 grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (###p<0,001). Hiperoksi+Ü100 grubunun beyin MPO düzeyleri Hiperoksi+Ü500 grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (p<0,01). Hiperoksi+Salin grubunun beyin MPO düzeyleri Hiperoksi+Ü300 grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (#p<0,05).

Hiperoksi+Ü500 grubunun Normoksi+Salin grubuna göre; Hiperoksi+Ü100 grubunun Hiperoksi+Salin grubuna göre; Hiperoksi+Ü300 grubunun Hiperoksi+Ü100 grubuna göre; Hiperoksi+Ü500 grubunun Hiperoksi+Ü300 grubuna göre beyin MPO düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

### 4.3. Grupların Beyin SOD düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 17. Beyin SOD düzeylerinin (ng/g protein) karşılaştırılması

\*\*\* $p < 0,001$  Normoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Salin grubu

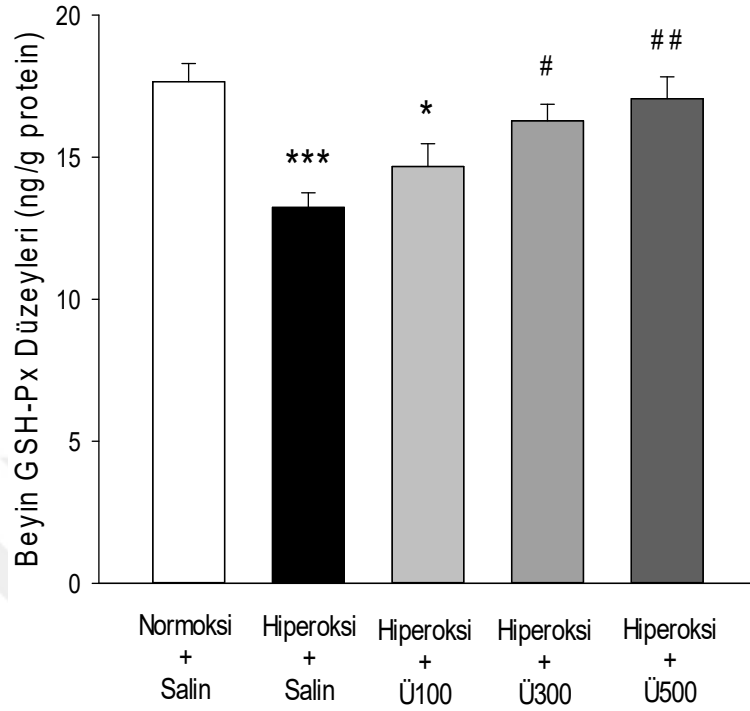
## $p < 0,01$  Hiperoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Ü300 grubu

### $p < 0,001$  Hiperoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Ü500 grubu

Normoksi+Salin grubunun beyin SOD düzeyleri Hiperoksi+Salin grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (\*\* $p < 0,001$ ). Hiperoksi+Ü500 grubunun beyin SOD düzeyleri Hiperoksi+Salin grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (### $p < 0,001$ ). Hiperoksi+Ü300 grubunun beyin SOD düzeyleri Hiperoksi+Salin grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (## $p < 0,01$ ).

Hiperoksi+Ü100, Hiperoksi+Ü300 ve Hiperoksi+Ü500 gruplarının Normoksi+Salin grubuna göre; Hiperoksi+Ü100 grubunun Hiperoksi+Salin grubuna göre; Hiperoksi+Ü300 ve Hiperoksi+Ü500 gruplarının Hiperoksi+Ü100 grubuna göre; Hiperoksi+Ü500 grubunun Hiperoksi+Ü300 grubuna göre beyin SOD düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

#### 4.4. Grupların Beyin GSH-Px düzeylerinin karşılaştırılması

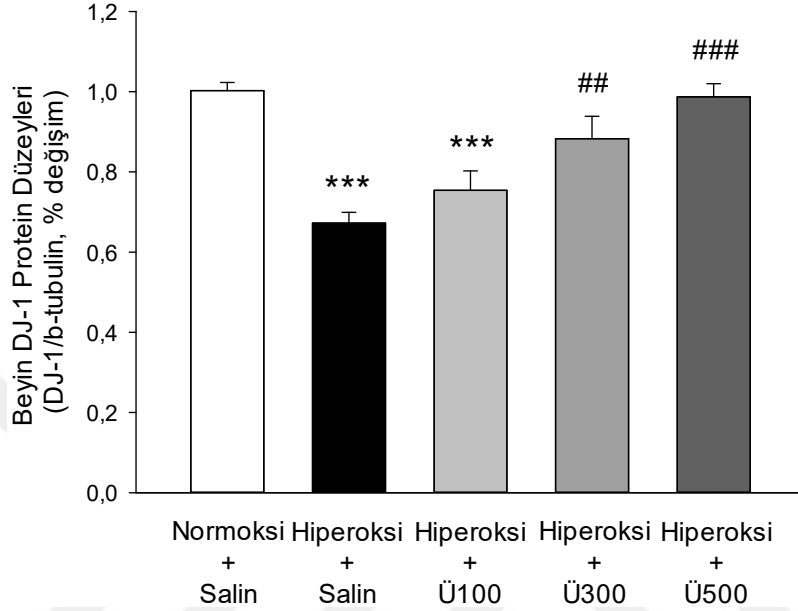
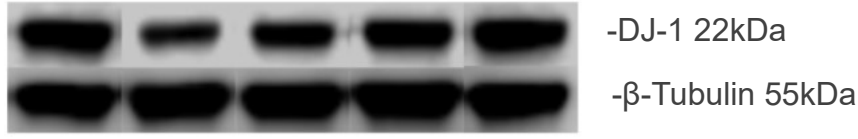


**Şekil 18.** Beyin GSH-Px düzeylerinin (ng/g protein) karşılaştırılması  
\*\*\*p<0,001 Normoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Salin grubu  
\*p<0,05 Normoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Ü100 grubu  
#p<0,05 Hiperoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Ü300 grubu  
##p<0,01 Hiperoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Ü500 grubu

Normoksi+Salin grubunun beyin GSH-Px düzeyleri Hiperoksi+Salin grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (\*\*p<0,001). Normoksi+Salin grubunun beyin GSH-Px düzeyleri Hiperoksi+Ü100 grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (\*p<0,05). Hiperoksi+Ü300 grubunun beyin GSH-Px düzeyleri Hiperoksi+Salin grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (#p<0,05). Hiperoksi+Ü500 grubunun beyin GSH-Px düzeyleri Hiperoksi+Salin grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (##p<0,01).

Hiperoksi+Ü300 ve Hiperoksi+Ü500 gruplarının Normoksi+Salin grubuna göre; Hiperoksi+Ü100 grubunun Hiperoksi+Salin grubuna göre; Hiperoksi+Ü300 grubunun Hiperoksi+Ü100 grubuna göre; Hiperoksi+Ü500 grubunun Hiperoksi+Ü300 grubuna göre beyin GSH-Px düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

#### 4.5. Grupların Beyin DJ-1 Protein düzeylerinin karşılaştırılması



Şekil 19. Beyin DJ-1 (DJ-1/ β-tubulin, % değişim düzeyleri) Protein düzeylerinin karşılaştırılması

\*\*\*p<0,001 Normoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Salin ve Hiperoksi+Ü100 grubu

##p<0,01 Hiperoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Ü300 grubu

###p<0,001 Hiperoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+Ü500 grubu

Normoksi+Salin grubunun beyin DJ-1/β-tubulin düzeyleri, Hiperoksi+Salin ve Hiperoksi+Ü100 gruplarına göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (\*\*p<0,001). Hiperoksi+Ü300 grubunun beyin DJ-1/β-tubulin, Hiperoksi+Salin grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (##p<0,01). Hiperoksi+Ü500 grubunun beyin DJ-1/β-tubulin, Hiperoksi+Salin grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (###p<0,001). Hiperoksi+Ü500 grubunun beyin DJ-1/β-tubulin, Hiperoksi+Ü100 grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur (p<0,01).

Hiperoksi+Ü300 ve Hiperoksi+Ü500 gruplarının Normoksi+Salin grubuna göre; Hiperoksi+Ü100 grubunun Hiperoksi+Salin grubuna göre; Hiperoksi+Ü300 grubunun Hiperoksi+Ü100 grubuna göre; Hiperoksi+Ü500 grubunun Hiperoksi+Ü300 grubuna göre beyin DJ-1/β-tubulin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, hiperoksi ile indüklenen yenidoğan beyin hasarında üridinin oksidatif stres parametreleri üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada elde edilen bulgular ile üridin tedavisinin; hiperoksi uygulamasını takiben düşen SOD, GSH-Px ve oksidatif stresin intrasellüler sensörü olan DJ-1 proteininin seviyelerini arttırırken, artmış MDA ve MPO seviyelerini azalttığı ve bu etkisini doza bağlı olarak gösterdiği literatürde ilk defa gösterilmiştir.

Perinatal ve neonatal tıptaki son gelişmelere rağmen, preterm yenidoğanların sağkalım oranları Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitelerinin gelişmesiyle artmakta ancak morbidite oranları aynı hızda artmamaktadır (Marlow ve ark., 2005; Mutinati ve ark., 2014; Wood ve ark., 2000). Manuck ve ark. (2016) yaptığı kohort çalışmasında %1.4 yenidoğan ölümü, %7.9 ve %37.6 majör ve minör morbidite bildirilmiştir.

Güncel kanıtlara göre prematüre bebeklerde hedef oksijen saturasyonunun %90-94 aralığında olması önerilmektedir. Yoğun Bakım Ünitelerinde preterm yenidoğana oksijen uygulamasının saturasyon aralığı halen tartışılmaya devam edilmekle birlikte, yapılan NeOProm (Neonatal Oxygenation Prospective Meta-analysis) meta-analizinde, saturasyonu %85-89 aralığında izlenen bebeklerde oksidatif hasar ile ilişkili olduğu literatürde kabul gören bronkopulmoner displazi, prematüre retinopatisi sıklığında bir azalma olmadığı aksine cerrahi gerektiren nekrotizan enterokolit ve mortalite riskini arttırdığı, saturasyonu %91-95 aralığında izlenen bebeklerde ise 18-24. ay nörogelişimsel sonuçlarda engellilik açısından fark olmadığı gösterilmiştir (Saugstad ve Aune, 2014; Stevens ve ark., 2014).

Preterm yenidoğanlara perinatal dönemde yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde ek suprafizyolojik oksijen tedavisi uygulanmasının (Sola ve ark., 2014); özellikle akciğer (Gien ve Kinsella, 2011), retina (Perrone ve ark., 2009, Saugstad, 2006), barsak (Giannone ve ark., 2007; Perrone ve ark., 2014) ve beyin gibi dokularla ilişkili

morbiditelere katkıda bulunduğu literatürde gösterilmiştir (Collins ve ark., 2001; Felderhoff-Mueser ve ark., 2004; Reich ve ark., 2016).

Bronkopulmoner displazi, prematüre retinopatisi, nekrotizan enterokolit, patent duktus arteriozus, periventriküler lökomalazi, solunum sıkıntısı sendromu, intrauterin gelişme geriliği ve konjenital malformasyonun oksidatif strese bağlı Neonatolojik Oksijen Radikal Hastalığı olarak tanımlaması Saugstad tarafından 1989'da yapılmış olmasına ve ilgili deneysel çalışmalar hız kazanmasına rağmen terapötik olarak bu sistemleri hedeflemeye yönelik girişimler tutarsız sonuçlar vermiştir (Marseglia ve ark., 2014; Paracha ve ark., 2013; Rokicki ve ark., 2003; Sapieha ve ark., 2010; Saugstad, 1989; Zhang ve ark., 2014).

İntraventricüler kanama veya periventriküler lökomalazi gibi belirgin intrakraniyal patolojinin yokluğunda bile, preterm bebeklerin nörogelişimsel hasar riski yüksektir. Hayatta kalanların çoğunda diffüz beyaz madde hasarı ve kortikal gri madde hacminde azalma görülür ve sıklıkla bilişsel bozukluk, dikkat eksikliği, otizm ve ileri dönemde psikiyatrik hastalığın gelişimi ile de ilişkilidir (Doyle ve Anderson, 2010; Monson ve ark., 2016; Thompson ve ark., 2008; Woodward ve ark., 2006).

24. gebelik haftasında doğan preterm bebeklerin, nöronal göç işlemleri tamamlanmış olmasına rağmen, glial hücre olgunlaşması, büyümesi ve bağlantı oluşumu hala devam etmektedir (Back, 2006; Volpe, 2001).

Kullanılan deneysel modeldeki yenidoğanların beyin gelişimi, P6; 28-32. gebelik haftasındaki insan fetal beynine karşılık geldiği için bu model yaygın olarak tercih edilmektedir (Dobbing ve Sands, 1979; Endesfelder ve ark., 2017a; Ikonomidou ve Kaindl, 2011).

Doğumu takiben intrauterin ortamdan (20–25 mmHg) ekstrauterin ortama (PO<sub>2</sub> 85 mmHg) geçişte arteriyel oksijen basıncı 4 kata kadar arttığından (Castillo ve ark., 2008), bu artan oksijenizasyonu taklit etmek amacıyla P6 yenidoğanlar 48 saat boyunca %80 oksijenle inkübe edildiler (Reich ve ark., 2016; Schmitz ve ark., 2011; Sifringer ve ark., 2015).

P6'da 2, 6, 12, 24 ve 48 saatlik süreler boyunca hiperoksi uygulaması, korteks, bazal ganglionlar, hipotalamus, striatum, beyaz madde ve hipokampus bölgelerinde

fizyolojik apoptoz ile karşılaştırıldığında yaygın nöronal apoptozun olduğu görülmüştür (Felderhoff-Mueser ve ark., 2004; Felderhoff-Mueser ve ark., 2005).

Uygulanan hiperoksi, beyindeki gelişimsel süreçleri değiştirebilir, beyin olgunlaşmasının kritik aşamasında nöral plastisite ve miyelinsasyonun bozulmasına neden olabilir; immatur sıçanlara doğumdan sonraki ilk 5 günde yüksek dozda oksijen tedavisinin apoptotik hücrelerde önemli bir artışa ve beyin ağırlığının düşmesine neden olduğu (Kurul ve ark., 2009; Yis ve ark., 2008a); 14 günlük sıçanlarda hiperoksiye karşı direnç olduğu, sadece hipokampusun dentat bölgesinde apoptotik hücre ölümünün arttığı ve bu nedenle oksijen hassasiyetinin olgunlaşmaya bağlı olduğu sonucuna varılmıştır (Felderhoff-Mueser ve ark., 2004).

Hiperoksinin neden olduğu apoptoz, intrinsik (Sifringer ve ark., 2012) ve ekstrinsik (Dzietko ve ark., 2008) yollar tarafından indüklenir ve pro-inflamatuar sitokinler (Felderhoff-Mueser ve ark., 2005), matriks metaloproteinazların indüksiyonu (Sifringer ve ark., 2009) ve oksidatif stres ile tetiklenir (Sifringer ve ark., 2010).

Suprafizyolojik oksijen tedavisi, artmış enflamasyon, oksidatif stres ve otofajinin eşlik ettiği matriks metalloproteinaz aktivitesi, beyindeki artmış apoptotik hücre ölümü ve beyinde nöro-glial gelişimin azalması ile ilişkilidir (Brehmer ve ark., 2012; Endesfelder ve ark., 2017a; Sifringer ve ark., 2009; Sifringer ve ark., 2010; Sifringer ve ark., 2012). Neonatal farelerde oligodendrosit progenitör hücre kaybı ve azalmış olgun oligodendrosit popülasyonu ile oligodendrosit gelişiminin bozulmasına neden olur (Schmitz ve ark., 2014) ve oligodendrosit ölümünü tetiklerken, lipopolisakarit oligodendrosit olgunlaşmasını bozar (Brehmer ve ark., 2012).

Hiperoksi uygulaması beyinde, interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ve interlökin-18 (IL-18) gibi pro-inflamatuar sitokinlerin tetiklediği enflamasyon, artan, GSSG, MDA (Sifringer ve ark., 2009; Sifringer ve ark., 2010), tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile ilişkilidir (Endesfelder ve ark., 2017a).

İnsandaki olgun oligodendrositler olgunlaşmamış beyinde mevcut olan oligodendrosit öncülleriyle karşılaştırıldığında daha az miktarda antioksidan enzim sistemi taşır ve bu durum erken doğan bebeklerin beyaz cevher hasarına karşı



duyarlılığını kısmen açıklayabilir (Baud ve ark., 2004; Haynes ve ark., 2005; Volpe, 1997).

Yenidoğan döneminde hem nöronların, (Sorce ve Krause, 2009) hem de oligodendroglial hücrelerin gelişiminin etkilendiği (Brill ve ark., 2017; Buonocore ve ark., 2001; Gerstner ve ark., 2006; Halliwell, 2006; Schmitz ve ark., 2014) deneysel çalışmalarda bildirilmiştir.

Scheuer ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada P6'da 24 saat %80 oksijen uygulamasının astrosit sayısını %50 azalttığı gösterilmiştir (Scheuer ve ark., 2019). Aynı zamanda beyaz cevher hasarlanması ve serebellar bozulmanın ileri yaşlara kadar devam ettiği bildirilmektedir (Scheuer ve ark., 2015; Scheuer ve ark., 2017; Serdar ve ark., 2016).

Preterm yenidoğanlardaki toplam GSH-Px aktivitesi olgun beyin ile karşılaştırıldığında, 18. embriyonik gün (E18) ve P1 arasında arttığı ancak yine de daha düşük seviyelerde olduğu bildirilmiştir (Khan ve Black, 2003).

Hiperoksiye maruz kalan sıçanların beyininde, oda havasına maruz kalanlara kıyasla anlamlı ölçüde GSH oranının arttığı gözlenmiştir (Ikonomidou ve Kaindl, 2011). Bizim sonuçlarımızda bu çalışmayı desteklemektedir. Hiperoksi sonrasında Normoksi+Salin grubuna göre anlamlı olarak azalan Hiperoksi+Salin grubu (\*\*p<0.001) GSH-Px düzeyi, Hiperoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+U500 grubu anlamlı olarak fazla çıkmıştır (#p<0.01).

Sifringer ve ark. (2010) P6 yenidoğanlara 2, 6, 12, 24 ve 48 saat süreyle %80 O<sub>2</sub> uygulamasının gelişmekte olan beyindeki oksijene bağlı hücre ölümünün glutatyonun azalmış olduğuna ve okside glutatyon seviyelerinin 12-48 saat hiperoksi uygulaması ile arttığını bulmuşlardır.

Oksidatif stres, serbest radikal oluşumunun fazlalığı ve/veya reaktif oksijen türlerinin aşırı üretimi nedeniyle preterm doğum sonrası nörolojik sekele yol açan önemli hasar faktörlerinden biridir (Chua ve ark., 2010; Waldbaum ve Patel, 2010). GSH-Px, katalaz ve SOD'lar gibi anti oksidatif enzimler, hücrelerin oksidatif strese maruz kalmaktan korunmaları için gereklidir (Zaghloul ve ark., 2012). Antioksidanlardan SOD, katalaz ve GSH-Px'in, gebelik süresinin son %15'lik periyodunda %150 artmaktadır (Davis ve Auten, 2010). Bizim sonuçlarımızda da,

hiperoksi uygulaması sonrasında Normoksi+Salin grubuna göre anlamlı olarak azalan Hiperoksi+Salin grubu (\*\*p<0.001) SOD düzeyi, Hiperoksi+Salin grubuna göre Hiperoksi+U500 grubu anlamlı olarak fazla çıkmıştır (##p<0.01).

Nöroproteksiyon, beyin hasarına sebep olan bir olaydan sonra hem akut hem de geciken nöronal hasarını sağaltım amacıyla uygulanan strateji bütünüdür. Yenidoğanlarda hiperoksi kaynaklı beyin hasarını düzeltmek; oksidatif stres, iltihaplanma ve apoptozu önlemek için; eritropoietin (Hoerber ve ark., 2016; Kaindl ve ark., 2008; Sifringer ve ark., 2009; Sifringer ve ark., 2010; Yis ve ark., 2008b), kafein (Endesfelder ve ark., 2017a), zonisamid (Topçu ve ark., 2014), topiramet (Kurul ve ark., 2009), asetilkolinesteraz inhibitörleri (Sifringer ve ark., 2013), deksmedetomidin (Endesfelder ve ark., 2017b; Sifringer ve ark., 2015), fingolimod (Serdar ve ark., 2016), mezenkimal kök hücreler (Kim ve ark., 2016), üridin (Gören 2017b) deney hayvanlarında; melatonin (Gitto ve ark., 2004), allopurinol (Benders ve ark., 2006), nitrik oksit (Ballard ve ark., 2006) ise insanlarda test edilmiştir. Klinik ve deneysel yaklaşımlarda birçok antioksidan ilaç kullanılmış olmasına rağmen, sonuçlar hala belirsizdir.

Nöroprotektif tedavi stratejileri, klinik çalışmaların yapılmasındaki zorluklar nedeniyle sınırlıdır. Uygulanan tedavi tek başına hasar görmüş hücredeki serbest oksijen radikallerinin tamamını temizleyemese de endojen antioksidan mekanizmaların başa çıkabileceği düzeylere indirebilir.

Literatürde oksidatif stres parametreleri; lipid peroksidasyonu için son ürün olan MDA (Wispe ve ark., 1985); protein oksidasyonu için ise; SOD, GSH-Px gibi antioksidan enzimlerin ölçümü ile belirlenir. Lipid peroksitler kararsız bileşikler olup hızlıca bozunma eğilimi gösterdikleri için kısa zincirli alkanlar, aldehitler gibi çeşitli ürünlere dönüşebilirler. Dolayısı ile deneysel çalışmalarda MDA ölçümü tercih edilmektedir (Meagher ve Fitzgerald, 2000).

MPO enzimi katalizörlüğünde, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'den, oksidasyon reaksiyonları başlatarak birkaç saniyede yok edebilen potent bir oksidan olan HOCl oluşmaktadır (Marcinkiewicz, 1997; Weiss ve ark., 1982). Yenidoğan sıçanlarda hipoksik-iskemik hasar sonrası Taurin (Zhu ve ark. 2016) ve hipoksik önkoşullamanın (Alkan ve ark., 2008) artan MPO aktivitesini anlamlı ölçüde azalttığı bulunmuştur. Bizim

sonuçlarımız da hiperoksi maruziyeti sonrasında artan MPO aktivitesini üridin uygulamasının doz bağımlı olarak düşürdüğü bulunmuştur.

SOD, GSH-Px, MDA ve MPO verilerimiz, deney hayvanları yenidoğan hiperoksik beyin hasarı modelinde antioksidan stratejilerin nöroproteksiyon sağladığını bildiren önceki çalışmalarla uyumludur (Endesfelder ve ark., 2017a; Sifringer ve ark., 2009; Sifringer ve ark., 2010; Sifringer ve ark., 2015).

Literatür ışığında DJ-1 proteini ekspresyonunu artıran tedavilerin oksidatif stresi önleyebileceği ve nöroproteksiyon açısından fayda sağlayabileceği öngörüsü ile çalışmamızda üridin tedavisi kullanılmıştır. DJ-1, dokuları oksidatif strese ve hücre ölümüne karşı korumak için redoks duyarlı bir şaperon işlevi görür (Bonifati ve ark., 2003; Jin ve ark., 2005; Lev ve ark., 2008; Lev ve ark., 2009). Dolayısıyla, hidroperoksite duyarlı bir protein olan DJ-1 seviyelerinin azaldığı durumlar, oksidatif stres tetiklenmesiyle -nöronal hücrelerde veya hiperoksi maruziyetinden sonra olgunlaşmamış beyinde gösterildiği gibi- hücre ölümüne katkıda bulunur (Bendix ve ark., 2012b). Biz de çalışmamızda DJ-1'in %80 oksijen uygulamasının ardından normoksi grubuna göre %33 azaldığını gösterdik.

İnsanlarda dolaşımındaki temel pirimidin olan üridin; membran fosfolipidlerinin öncüsüdür (Cansev, 2006; Kennedy ve Weiss, 1956; Wurtman ve ark., 2000). Üridin tedavisinin hipoksik iskemik enselelopati modelinde apoptotik hücre ölümünü azaltarak (Cansev ve ark., 2013) ve histon deasetilaz (HDAC) aktivitesini (Koyuncuoğlu ve ark., 2015) inhibe ederek, nöroproteksiyon sağladığı ve periadolesan dönemdeki uzun dönem bilişsel eksiklikleri düzelttiği (Gören ve ark., 2017a) görülmüştür. Ek olarak, hiperoksik beyin hasarı modelinde, P0-P5 boyunca hiperoksi uygulamasını takiben üridin tedavisinin yenidoğan beyninde apoptotizisi inhibe ettiği ve uzun dönem kognitif eksikliklere karşı korunduğunu göstermiştir (Goren ve ark. 2017b). Deneysel Parkinson modelinde üridin tedavisinin nörodejeneratif etkinliği incelendiğinde, üridin içeren gıdalarla beslenen sıçanların rotasyonel davranışlarında azalma, striatum'daki dopamin seviyeleri gibi dopaminerjik parametrelerde iyileşme görülmüştür (Cansev ve ark., 2008). Üridin akciğer hastalıkları modellerinde (Cicko ve ark., 2015; Evaldsson ve ark., 2007) ya da kolitlerde (Jeengar ve ark., 2017) anti-enflamatuar etkiler görülmesine rağmen, üridinin oksidatif stres üzerindeki etkisi henüz çalışılmamıştır.

Hipoksik-iskemik beyin hasarı modelinde, 7 günlük sıçanlara üridin 100/300/500 mg/kg i.p. 3 gün uygulanmış sonuçta 300 ve 500 mg/kg dozlarının apoptotik aktiviteyi baskılayarak nöroproteksiyon sağladığı bulunmuştur (Cansev ve ark. 2013). Bu çalışmada da üridinin doza bağlı olarak nöroprotektif etkisi nedeniyle üridinin 3 dozu kullanılmıştır.

Bu veriler ile ilk kez, üridinin yenidoğan hiperoksik beyin hasarı modelinde nöroprotektif etkisinin SOD ve GSH-Px seviyelerinde hiperoksinin neden olduğu düşüşleri ve MDA ve MPO seviyelerinde artışları önleyerek, oksidatif strese duyarlı bir protein olan DJ-1'nin azalmış seviyelerini artırarak antioksidan özellikler sergilediğini göstermektedir.

Oksijen, yenidoğan resüsitasyonu ve tedavisinin önemli bir bileşeni olduğu için uzamış ek oksijen tedavisinin ve tekrarlayan hipoksi-hiperoksi dönemlerinin yenidoğanlarda birçok hastalığın patogenezinde rol oynadığı kabul görmektedir. Kanıtlar hem oksidan türlerin oluşumunun hem de antioksidanların eksikliğinin bir rol oynayabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, yenidoğan hastalıklarının patogenezinde oksidatif hasarın potansiyel rolü ile ilgili mekanizmalar açıklık kazanmamıştır.

Yenidoğanlarda oksidatif doku hasarını azaltabilmek için onaylanmış oksidatif stres biyobelirteçlerinin tanımlanması, nöroprotektif tedavi seçenekleri geliştirebilmek için oksidatif stres kaynaklı hastalıkların yönetiminde antioksidan sistemlerin desteklenmesi gelecekteki klinik ve deneysel araştırmaların muhtemel hedefi oluşturduğu görülmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

Abbracchio MP, Burnstock G, Boeynaems JM et al (2006) International union of pharmacology LVIII: update on the P2Y G protein-coupled nucleotide receptors: from molecular mechanisms and pathophysiology to therapy. *Pharmacol Reviews* 58(3): 281-341.

Abuja PM, Albertini R (2001) Methods For Monitoring Oxidative Stress, Lipid Peroxidation and Oxidation Resistance of Lipoproteins. *Clinica Chimica Acta* 306:1-17.

Albert JL, Boyle JP, Roberts JA et al (1997) Regulation of brain capillary endothelial cells by P2Y receptors coupled to Ca<sup>+2</sup> phospholipase C and mitogen-activated protein kinase. *British Journal of Pharmacology* 122:935-41.

Allan SM, Rothwell NJ. (2001) Cytokines and acute neurodegeneration. *Nat Reviews in the Neurosciences* 2(10):734-44.

Alkan T, Gören B, Vatansever E et al (2008) Effects of hypoxic preconditioning in antioxidant enzyme activities in hypoxic-ischemic brain damage in immature rats. *Turkish Neurosurgery* 18(2):165-71.

Andrews PC, Krinsky NI (1986) Human myeloperoxidase and hemimyeloperoxidase. *Method Enzymology* 132 369-370.

Arslan G, Filipeanu CM, Irenius E et al (2000) P2Y receptors contribute to ATP-induced increase in intracellular calcium in differentiated but not undifferentiated PC12 cells. *Neuropharmacology* 39:482-96.

Aydemir B, Karadağ SE (2009) Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. *Kocatepe Veterinary Journal* 2(2): 56-60.

Back SA, Gan X, Li Y et al (1998) Maturation-dependent vulnerability of oligodendrocytes to oxidative stress-induced death caused by glutathione depletion. *J Neurosci* 18: 6241–6253.

Back SA (2006) Perinatal white matter injury: the changing spectrum of pathology and emerging insights into pathogenetic mechanisms. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 12:129-140.

Back SA, Riddle A, McClure MM (2007) Maturation-dependent vulnerability of perinatal white matter in premature birth. *Stroke*. 38:724–30.

Bader V, Ran Zhu X, Lübbert H (2005) Expression of DJ-1 in the adult mouse CNS." *Brain research* 1041(1): 102-111.

Ballard RA, Truog WE, Cnaan A et al (2006) Inhaled nitric oxide in preterm infants undergoing mechanical ventilation. *N Engl J Med*. 27;355(4):343–353.

Bandopadhyay R, Kingsbury AE, Cookson MR et al (2004) The expression of DJ-1 (PARK7) in normal human CNS and idiopathic Parkinson's disease. *Brain* 127(2): 420-430.

Barnes LA, Scriver CR, Beaudet AL et al (1995) The metabolic and molecular bases of inherited disease. 7th edition. New York: McGraw-Hill; 4605.

Baud O, Li J, Zhang Y et al (2004) Nitric oxide-induced cell death in developing oligodendrocytes is associated with mitochondrial dysfunction and apoptosis-inducing factor translocation. *Eur J Neurosci*. 20(7):1713–1726.

Benders MJ, Bos AF, Rademaker CM et al (2006) Early postnatal allopurinol does not improve short term outcome after severe birth asphyxia. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*. 91(3): F163–165.

Bendix I, Weichelt U, Strasser K et al (2012b) Hyperoxia changes the balance of the thioredoxin/peroxiredoxin system in the neonatal rat brain. *Brain Resource* 1484: 68-75.

Benzi G, Villa RF, Dossena M (1984) Cerebral endogenous substrate utilization during the recovery period after profound hypoglycemia. *Journal Neuroscience Resource* 11:437-50.

Blackinton J, Kumaran R, Brug MP et al (2009) Post-transcriptional regulation of mRNA associated with DJ-1 in sporadic Parkinson disease. *Neuroscience letters* 452(1): 8-11.

Bonifati V, Rizzu P, Baren MJ et al (2003) Mutations in the DJ-1 gene associated with autosomal recessive early-onset parkinsonism. *Science* 299(5604): 256-259.

Bourget PA, Tremblay GC (1972) Pyrimidine biosynthesis in rat brain. *Journal of Neurochemistry* 19:1617-24.

- Brill C, Scheuer T, Bühner C et al (2017) Oxygen impairs oligodendroglial development via oxidative stress and reduced expression of HIF-1 $\alpha$ . *Scientific Reports* 7, 43000.
- Brehmer F, Bendix I, Prager S et al (2012) Interaction of inflammation and hyperoxia in a rat model of neonatal white matter damage. *PLoS One*. 7(11): e49023.
- Brown NC, Inder TE, Bear MJ et al (2009) Neurobehavior at term and white and gray matter abnormalities in very preterm infants. *J Pediatr* 2009; 155: 32– 38.
- Bulte DP, Chiarelli PA, Wise RG et al (2007) Cerebral perfusion response to hyperoxia. *J Cereb Blood Flow Metab* 27: 69–75.
- Buonocore G, Zani S, Perrone S et al (1998) Intraerythrocyte nonprotein-bound iron and plasma malondialdehyde in the hyperoxic newborn. *Free Radic Biol Med* 25: 766–770.
- Buonocore G, Perrone S, Bracci R (2001) Free radicals and brain damage in the newborn. *Biology of the Neonate* 79:180–186.
- Canet-Avilés RM, Wilson MA, Miller DW et al (2004) The Parkinson's disease protein DJ-1 is neuroprotective due to cysteine-sulfinic acid-driven mitochondrial localization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101(24): 9103-9108.
- Cansev M, Watkins CJ, Van Der Beek EM et al (2005) Oral Uridine 5-monophosphate (UMP) increases brain CDP-choline levels in gerbils. *Brain Resource* 1058: 101–108.
- Cansev M (2006) Uridine and cytidine in the brain: Their transport and utilization. *Brain Resource Review* 52 (2): 389-97.
- Cansev M (2007) Involvement of uridine-nucleotide-stimulated P2Y receptors in neuronal growth and function. *Central Nervous System Agents in Medicinal Chemistry* 7: 223- 229.
- Cansev M, Ulus IH, Wang L et al (2008) Restorative effects of uridine plus docosahexaenoic acid in a rat model of Parkinson's disease. *Neurosci Res*, 62: 206-209.
- Cansev M, Minbay Z, Gören B et al (2013) Neuroprotective effects of uridine in a rat model of neonatal hypoxicischemic encephalopathy. *Neuroscience Letters* 542, 65–70.

Caretti A, Bianciardi P, Ronchi R et al (2008) Phosphodiesterase-5 inhibition abolishes neuron apoptosis induced by chronic hypoxia independently of hypoxia-inducible factor-1alpha signaling. *Exp. Biol. Med.* (Maywood) 233(1222–30).

Cash TP, PAN Y, Simon MC (2007) Reactive oxygen species and cellular oxygen sensing. *Free Radical Biology & Medicine* 43, 1219–1225.

Castillo A, Sola A, Baquero H et al (2008) Pulse oxygen saturation levels and arterial oxygen tension values in newborns receiving oxygen therapy in the neonatal intensive care unit: is 85-93% an acceptable range? *Pediatrics* 121:882-889.

Chambers JK, Macdonald LE, Sarau HM et al (2000) G protein –coupled receptor for UDP-glucose. *J Biol Chem* 275:10767-71.

Chauhan A, Chauhan V, Brown WT et al (2004) Oxidative stress in autism: Increased lipid peroxidation and reduced serum levels of ceruloplasmin and transferrin-the antioxidant proteins. *Life Sciences* 75: 2539–2549.

Chen CT, Green JT, Orr SK et al (2008) Regulation of brain polyunsaturated fatty acid uptake and turnover. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acid* 79:85-91.

Cherubini A, Ruggiero C, Polidori MC et al (2005) Potential markers of oxidative stress in stroke. *Free Radical Biology & Medicine* 39(7): 841-852.

Chua CO, Vinukonda G, Hu F et al (2010) Effect of hyperoxic resuscitation on propensity of germinal matrix haemorrhage and cerebral injury. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 36, 448–458.

Christou H, Brodsky D (2005) Lung injury and bronchopulmonary dysplasia in newborn infants. *J Intensive Care Med* 20(2):76-87. (2, 48).

Cicko S, Grimm M, Ayata K et al (2015) Uridine supplementation exerts anti-inflammatory and anti-fibrotic effects in an animal model of pulmonary fibrosis. *Respir. Res.* 16, 105–115.

Ciana P, Fumagalli M, Trincavelli ML et al (2006) The orphan receptor GPR17 identified as a new dual uracil nucleotides/cysteinyl-leukotrienes receptor. *Embo J.* 25:4615-27.

Cnubben NHP, Rietjens IMCM, Wortelboer H et al (2001) The Interplay of Glutathione Related Processes in Antioxidant Defense. *Environ Toxicol Pharmacology* 10(4): 141- 152.



Collins MP, Lorenz JM, Jetton JR et al (2001) Hypocapnia and other ventilation-related risk factors for cerebral palsy in low birth weight infants. *Pediatr Res* 50: 712–719. pmid:11726729.

Czech C, Berndt P, Busch K et al (2012) Metabolite profiling of Alzheimer's disease cerebrospinal fluid. *PLoS One* 7:e31501.

Cetinkaya M1, Alkan T, Ozyener F et al (2011) Possible neuroprotective effects of magnesium sulfate and melatonin as both pre- and post-treatment in a neonatal hypoxic-ischemic rat model. *Neonatology*. 2011;99(4):302-10.

Çetinkaya M, Cansev M, Kafa IM et al (2013) Cytidine 5'-diphosphocholine ameliorates hyperoxic lung injury in a neonatal rat model. *Pediatr Res*. 74(1):26-33.

D'Angio CT, Maniscalco WM (2004) Bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Paediatr Drugs* 6(5): 303-330.

Davis JM, Auten RL (2010) Maturation of the antioxidant system and the effects on preterm birth. *Semin Fetal Neonatal Med*;15:191–195.

Davies KJ (1995) Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochemical Society Symposium* 61,1–31.

Davies KJ (2000) Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems. *IUBMB Life* 50, 279–289.

Dawn BM, Allan DM, Colleen MS (1996) *Basic Medical Biochemistry a Clinical Approach*. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland.

Deuber C, Terhaar M (2011) Hyperoxia in very preterm infants: a systematic review of the literature. *Journal of Perinatal & Neonatal Nursing* 25:268-274.

Devasagayam TPA, Boloor KK, Ramsarma T (2003) Methods for estimating lipid peroxidation: Analysis of merits and demerits (minireview). *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics* 40(5), 300-308.

Devasagayam TPA, Tilak JC, Boloor KK et al (2004) Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *Journal of the Association of Physicians of India* 52, 794-804.

Dobbing J, Sands J (1979) Comparative aspects of the brain growth spurt. *Early Human Development* 3:79-83.

Domingues HS, Portugal CC, Socodato R et al (2016) Oligodendrocyte, astrocyte, and microglia crosstalk in myelin development, damage, and repair. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* 4, 71.

Doyle LW, Anderson PJ (2010) Adult outcome of extremely preterm infants. *Pediatrics* 126:342-351.

Droge W (2002) Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, vol. 82, no. 1, pp. 47–95.

Dzietko M, Boos V, Sifringer M et al (2008) A critical role for Fas/CD-95 dependent signaling pathways in the pathogenesis of hyperoxia-induced brain injury. *Ann Neurol* 64: 664–673.

Endesfelder S, Weichelt U, Strauss E et al (2017a) Neuroprotection by caffeine in hyperoxia-induced neonatal brain injury. *International Journal of Molecular Sciences* 18, E187.

Endesfelder E, Makki H, von Haefen C et al (2017b) Neuroprotective effects of dexmedetomidine against hyperoxia-induced injury in the developing rat brain. *PLoS One*. 2017; 12(2): e0171498.

Evaldsson C, Ryden I, Uppugunduri S (2007) Anti-inflammatory effects of exogenous uridine in an animal model of lung inflammation. *Int. Immunopharmacol*, 7, 1025–1032.

Fan J, Ren H, Jia, N et al (2008) DJ-1 decreases Bax expression through repressing p53 transcriptional activity. *Journal of Biological Chemistry* 283(7): 4022-4030.

Felderhoff-Mueser U, Bittigau P, Sifringer M et al (2004) Oxygen causes cell death in the developing brain. *Neurobiology of Disease* 17, pp. 273-282.

Felderhoff-Mueser U, Sifringer M, Polley O et al (2005) Caspase-1-processed interleukins in hyperoxia-induced cell death in the developing brain. *Annals of Neurology* 57: 50–59.

Finkel T, Holbrook NJ (2000) Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature*, 408:239-247.

Fridovich I (1975) Superoxide dismutases. *Annual Review of Biochemistry* 44:147 - 59.

Fridovich I (1995) Superoxide Radical and Superoxide Dismutase. *Annual Review of Biochemistry* 64: 97-112.

Fridovich I (1999) Fundamental aspects of reactive oxygen species, or what's the matter with oxygen? *Annals of the New York Academy of Sciences* 893: 13–18.

Garewal HS (1997) *Antioxidants and disease prevention*. CRC Press LLC, 3-19.

Gao YX, Li P, Jiang CH et al (2015) Psychological and cognitive impairment of long-term migrators to high altitudes and the relationship to physiological and biochemical changes. *Eur. J. Neurol.* 22:1363–1369.

Genestra M (2007) Oxy radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. *Cellular Signalling*, vol. 19, no. 9, pp. 1807– 1819.

Geiger A, Yamasaki S (1956) Cytidine and uridine requirement of the brain. *Journal of Neurochemistry* 1:93-100.

Georgeson GD, Szony BJ, Streitman K et al (2002) Antioxidant enzyme activities are decreased in preterm infants and in neonates born via cesarean section. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 103:136-139.

Gerstner B, Bühner C, Rheinländer C et al (2006) Maturation-dependent oligodendrocyte apoptosis caused by hyperoxia. *Journal of Neuroscience Research* 84, 306–315.

Gerstner B, DeSilva TM, Genz K et al (2008) Hyperoxia causes maturation-dependent cell death in the developing white matter. *J Neurosci.* 30;28(5):1236-45.

Giaime E, Yamaguchi H, Gautier CA et al (2012) Loss of DJ-1 does not affect mitochondrial respiration but increases ROS production and mitochondrial permeability transition pore opening. *PloS one* 7(7): e40501.

Giannone PJ, Bauer JA, Schanbacher BL et al (2007) Effects of hyperoxia on postnatal intestinal development. *Biotech Histochem.* 82(1):17-22.

Gien J, Kinsella JP (2011) Pathogenesis and treatment of bronchopulmonary dysplasia. *Current Opinion in Pediatrics* 23 pp. 305-313.

Gitto E, Reiter RJ, Cordaro SP et al (2004) Oxidative and inflammatory parameters in respiratory distress syndrome of preterm newborns: beneficial effects of melatonin. *American Journal of Perinatology.* 21(4):209–216.

Gitto E, Pellegrino S, D'Arrigo S et al (2009) Oxidative stress in resuscitation and in ventilation of newborns. *European Respiratory Journal*, pp. 1461– 1469.

Gopinathan V, Miller NJ, Milner AD et al (1994) Bilirubin and ascorbate antioxidant activity in neonatal plasma,” *FEBS Letters*, pp. 197–200.

Gören B, Cakir A, Öcalan B et al (2017a) Long-term cognitive effects of uridine treatment in a neonatal rat model of hypoxic-ischemic encephalopathy. *Brain Resource* 1659: 81-87.

Gören B, Cakir A, Sevinc C (2017b) Uridine treatment protects against neonatal brain damage and long-term cognitive deficits caused by hyperoxia. *Brain Resource* 1676, pp. 57-68.

Greenwald RA (1990) Superoxide dismutase and catalase as therapeutic agents for human diseases. A critical review. *Free Radical Biology & Medicine* 8(2): 201-209.

Guemouri L, Artur Y, Herbeth B et al (1991) Biological Variability of Superoxide Dismutase, Glutathione peroxidase, and Catalase in Blood. *Clinical Chemistry* 37(11): 1932- 1937.

Gutteridge JMC (1994) Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chemico-Biological Interactions* 91:13340.

Gutteridge JMC (1995) Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clinical Chemistry* 41(12):1819-1828.

Gürkan AS, Bozdağ-Dündar O (2005) Coenzyme Q10. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara*. 34(2): 129-154.

Haugaard ES, Frantz KB, Haugaard N (1977) Effect of uridine on cellular UTP and glycogen synthesis in skeletal muscle: stimulation of UTP formation by insulin. *Proc Natl Acad Sci* 74:2339-42.

Halliwell B, Gutteridge JMC (1989) *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford, Clarendon Press 10-21. (1999) 3rd edn. Oxford University Press, New York, (2007) (4th edition) Oxford University Press, USA.

Halliwell B, Gutteridge JC (1992) Biologically relevant metal iondependent hydroxyl radical generation—an update. *FEBS Lett* 307:108–12.

Halliwell B (1993) Free radicals and vascular disease: how much do we know? *BMJ* 307(6909):885-6.

Halliwell B (2006) Oxidative stress and neurodegeneration: where are we now? *Journal of Neurochemistry* 9:1634-58.

Halliwell B, Gutteridge JMC (2007) *Free Radicals in Biology and Medicine*. Clarendon Press, Oxford, UK, 4th edition.

Hayashi T, Ishimori C, Takahashi-Niki K (2009) DJ-1 binds to mitochondrial complex I and maintains its activity. *Biochemical and biophysical research communications* 390(3): 667-672.

Haynes RL, Baud O, Li J et al (2005) Oxidative and nitrative injury in periventricular leukomalacia: a review. *Brain Pathol.* 15(3):225–233.

Heo JH, Han SW, Lee SK (2005) Free radicals as triggers of brain edema formation after stroke. *Free Radic Biol Med*, 39:51-70.

Hevia D, Mayo JC, Tan DX et al (2014) Melatonin Enhances Photo-Oxidation of 2',7'-Dichlorodihydrofluorescein by an Antioxidant Reaction That Renders N1-Acetyl-N2-Formyl-5-Methoxykynuramine (AFMK). *PLoS ONE* 9(10): e109257.

Higuita JC, Thelestam M, Katz A (2004) Glucose starvation results in UDP-glucose deficiency and inactivation of glycogen synthase. *Arch Biochem Biophys* 425:242-8.

Hoeber D, Sifringer M, van de Looij Y et al (2016) Erythropoietin restores long-term neurocognitive function involving mechanisms of neuronal plasticity in a model of hyperoxia-induced preterm brain injury. *Oxid Med Cell Longev* 9247493.

Hoehn T, Felderhoff-Mueser U, Maschewski K et al (2003) Hyperoxia causes inducible nitric oxide synthase-mediated cellular damage to the immature rat brain. *Pediatr Res* 54:179–184.

Holmström KM, Finkel T (2014) Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 15(6):411-21.

Howson CP, Kinney MV, McDougall L et al (2013) Born Too Soon Preterm Birth Action Group: Born too soon: preterm birth matters. *Reprod Health* 10(suppl 1):S1.

Ikonomidou C, Kaindl AM (2011) Neuronal death and oxidative stress in the developing brain. *Antioxidants & Redox Signaling* 14, 1535–1550.

Irani K, Xia Y, Zweier JL et al (1997) Mitogenic signaling mediated by oxidants in Ras-transformed fibroblasts. *Science*. Mar 14;275(5306):1649-52.

Jeengar MK, Thummuri D, Magnusson M et al (2017) Uridine Ameliorates Dextran Sulfate Sodium (DSS)-Induced Colitis in Mice. *Scientific Reports*, 7, 3924.

Jensen A, Garnier Y, Middelanis J et al (2003) Perinatal brain damage-from pathophysiology to prevention. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2003;110: S70-9.

Jin J, Meredith GE, Chen L et al (2005) Quantitative proteomic analysis of mitochondrial proteins: relevance to Lewy body formation and Parkinson's disease. *Brain Res. Mol. Brain Res*, 134, pp. 119-138.

Kaindl AM, Sifringer M, Koppelstaetter A et al (2008) Erythropoietin protects the developing brain from hyperoxia-induced cell death and proteome changes. *Annals of Neurology* 64: 523–534.

Kato I, Maita H, Takahashi-Niki K (2013) Oxidized DJ-1 inhibits p53 by sequestering p53 from promoters in a DNA-binding affinity-dependent manner. *Molecular and cellular biology* 33(2): 340-359.

Kayton A, Timoney P, Vargo L (2018) A Review of Oxygen Physiology and Appropriate Management of Oxygen Levels in Premature Neonates. *Adv Neonatal Care*. 18(2): 98–104.

Keller M, Felderhoff-Mueser U, Lagercrantz H et al (2010) Policy benchmarking report on neonatal health and social policies in 13 European countries. *Acta Paediatr* 99:1624-1629.

Kennedy EM, Weiss SB (1956) The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipids. *Journal of Biological Chemistry* 222, pp. 193-214.

Khan JY, Black SM (2003) Developmental changes in murine brain antioxidant enzymes. *Pediatric Resource* 254(1):77–82.

Kim Y, Kim DC, Cho ES et al (2014) Antioxidant and anti inflammatory effects of selenium in oral buccal mucosa and small intestinal mucosa during intestinal ischemia-reperfusion injury. *Journal of Inflammation* 11(36) .

Kim YE, Park WS, Sung DK (2016) Intratracheal transplantation of mesenchymal stem cells simultaneously attenuates both lung and brain injuries in hyperoxic newborn rats. *Pediatric Resource* 80 pp. 415.

Klinger G, Reichman B, Sirota L (2005) Risk factors for delayed discharge home in very-low-birthweight infants: a population-based study. *Acta Paediatr.* 94(11):1674-9.

Kontos HA, Wei EP, Ellis EF et al (1985) Appearance of superoxide anion radical in cerebral extracellular space during increased prostaglandin synthesis in cats. *Circulation Research* 57:142–151.

Kovacic P, Pozos RS, Somanathan R et al (2005) Mechanism of mitochondrial uncouplers, inhibitors, and toxins: Focus on electron transfer, free radicals, and structure-activity relationships. *Current Medicinal Chemistry* 12(22), 2601-2623.

Koyuncuoglu T, Turkyilmaz M, Goren B et al (2015) Uridine protects against hypoxic-ischemic brain injury by reducing histone deacetylase activity in neonatal rats. *Restor Neurol Neurosci.* 33(5):777-84.

Krebiehl G, Ruckerbauer S, Burbulla LF et al (2010) Reduced basal autophagy and impaired mitochondrial dynamics due to loss of Parkinson's disease-associated protein DJ-1. *PLoS One* 5(2): e9367.

Kumar VH, Patel A, Swartz DD et al (2010) Exposure to supplemental oxygen and its effects on oxidative stress and antioxidant enzyme activity in term newborn lambs. *Pediatric Resource* 67:66–71.

Kurul SH, Yis U, Kumral A et al (2009) Protective effects of topiramate against hyperoxic brain injury in the developing brain. *Neuropediatrics*, 40 pp. 22-27.

Kurutas EB (2016) The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutr J.* 25;15(1):71.

Laemmli UK (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-689.

Lai MKP, Tan MGK, Kirvell S et al (2008) Selective loss of P2Y2 nucleotide receptor immunoreactivity is associated with Alzheimer's disease neuropathology. *J Neural Transm* 115:1165-1172.

Lander HM (1997) An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB Journal* 11(2), 118-124.

Lecca D, Ceruti S (2008) Uracil nucleotides: from metabolic intermediates to neuroprotection and neuroinflammation. *Biochem Pharmacology* 75: 1869-1881.

Lee JW, Davis JM (2011) Future applications of antioxidants in premature infants. *Current Opinion in Pediatrics*. 23(2):161–166.

Lev N, Ickowicz D, Melamed E et al (2008) Oxidative insults induce DJ-1 upregulation and redistribution: implications for neuroprotection. *Neurotoxicology* 29, pp. 397-405.

Lev N, Ickowicz D, Barhum Y et al (2009) DJ-1 protects against dopamine toxicity. *J. Neural Transm*, 116, pp. 151-160.

Lloyd RV, Hanna PM, Mason RP (1997) The origin of the hydroxyl radical oxygen in the Fenton reaction. *Free Radic Biol Medical* 22(5), 885-888.

Li HM, Niki T, Taira T et al (2005) Association of DJ-1 with chaperones and enhanced association and colocalization with mitochondrial Hsp70 by oxidative stress. *Free radical research* 39(10): 1091-1099.

Limon-Pacheco J, Gonsebatt ME (2009) The role of antioxidants and antioxidant-related enzymes in protective responses to environmentally induced oxidative stress. *Mutation Research* 674(1-2): 137-147.

Limperopoulos C, Chilingaryan G, Guizard N et al (2010) Cerebellar injury in the premature infant is associated with impaired growth of specific cerebral regions. *Pediatric Research* 68, 145–150.

Liu T, Stern A, Roberts LJ (1999) The isoprostanes: Novel prostaglandin-like products of the free radical catalyzed peroxidation of arachidonic acid. *Journal of Biomedical Science* 6, 226–35.

Lobo V, Patil A, Phatak A et al (2010) Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. *Pharmacognosy Review* 118-126.

Lodygensky GA, Vasung L, Sizonenko SV et al (2010) Neuroimaging of cortical development and brain connectivity in human newborns and animal models. *J Anat*. 217(4):418-28.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL et al (1951) Protein measurement with the folin-phenol reagents. *The Journal of Biological Chemistry* 193: 265-275.

Mandal S, Yadav S, Yadav S et al (2009) Antioxidants: A Review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 1, 1, 102-104.



Mansouri A, Muller FL, Liu Y et al (2006) Alterations in mitochondrial function, hydrogen peroxide release and oxidative damage in mouse hind-limb skeletal muscle during aging. *Mechanisms of Ageing and Development* 127(3), 298-306.

Manuck TA, Rice MM, Bailit JL et al (2016) Preterm neonatal morbidity and mortality by gestational age: a contemporary cohort. *Am. J. Obstet. Gynecol*, 215.

Marcinkiewicz J (1997) Neutrophil chloramines: missing links between innate and acquired immunity. *Immunol Today* 18, 577-80.

Marklund SL (1990) Expression of extracellular superoxide dismutase by human cell lines. *Biochemical Journal* 266:213–219.

Marlow N, Wolke D, Bracewell MA et al (2005) Neurologic and developmental disability at six years of age after extremely preterm birth. *New England Journal Of Medicine* 352: 9–19. pmid:15635108.

Marseglia L, D'Angelo G, Manti S et al (2014) Oxidative stress-mediated aging during the fetal and perinatal periods. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2014:8.

Marseglia L, D'Angelo G, Manti S et al (2015) Oxidative stress-mediated damage in newborns with necrotizing enterocolitis: a possible role of melatonin. *American Journal of Perinatology*. 32(10):905–909.

McCord JM, Edeas MA (2005) SOD, oxidative stress and human pathologies: a brief history and a future vision. *Biomed Pharmacother* 59(4): 139-42.

Meagher EA, Fitzgerald GA (2000) Indices of lipid peroxidation in vivo: strengths and li-mitations. *Free Radic Biol Med*. 28(12);1745-1750.

Merz TM, Bosch MM, Barthelmes D et al (2013) Cognitive performance in high-altitude climbers: a comparative study of saccadic eye movements and neuropsychological tests. *Eur. J. Appl. Physiol*. 113:2025–2037.

Miras-Portugal MT, Queipo MJ, Gil-Redondo JC et al (2018) P2 receptor interaction and signalling cascades in neuroprotection. *Brain Research Bulletin* Dec 26. pii: S0361-9230(18)30724-X.

Monson BB, Anderson PJ, Matthews LG et al (2016) Examination of the pattern of growth of cerebral tissue volumes from hospital discharge to early childhood in very preterm infants. *JAMA Pediatr* 170:772-779.

Moore DJ, Zhang L, Troncoso J (2005) Association of DJ-1 and parkin mediated by pathogenic DJ-1 mutations and oxidative stress. *Human molecular genetics* 14(1): 71-84.

Morris D, Khurasany M, Nguyen T et al (2013) Glutathione and infection. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—General Subjects*. 1830(5):3329–3349.

Mruk DD, Silvestrini B, Meng-Yun MO et al (2002) Antioxidant Superoxide Dismutase - a Review: Its Function, Regulation in the Testis, and Role in Male Fertility. *Contraception*. 65(4): 305- 311.

Muller FL, Liu Y, Van Remmen H (2004) Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane. *Journal of Biological Chemistry* 279(47), 49064-49073.

Mutinati M, Pantaleo M, Roncetti M et al (2014) Oxidative stress in neonatology: a review. *Reproduction in Domestic Animals*. 49(1):7–16.

Narin B (2012) Oksidatif Stres Ve Antioksidanlar. *Oksante Ar Ge Laboratuari*.

Niki E (1987) Antioxidant in relation to lipid peroxidation. *Chemistry and Physics of Lipids* 44(2-4), 227-253.

Nordberg J, Arner SJ. (2001) Reactive Oxygen Species, Antioxidant, And The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biology & Medicine* 31(11): 1287-1312.

Nozik-Grayck E, Suliman HB, Piantadosi CA (2005) Extracellular superoxide dismutase. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 37(12):246671.

Nycyk JA, Drury JA, Cooke RW (1998) Breath pentane as a marker for lipid peroxidation and adverse outcome in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 79: F67–F69.

Ozsurekci Y, Aykac K (2016) Oxidative Stress Related Diseases in Newborns. *Oxid Med Cell Longev*. 2016:2768365.

Ozyener F, Çetinkaya M, Alkan T et al (2012) Neuroprotective effects of melatonin administered alone or in combination with topiramate in neonatal hypoxic-ischemic rat model. *Restor Neurol Neurosci*. 2012;30(5):435-44.

Packer L, Kraemer K, Rimbach G (2001) Molecular Aspects of Lipoic Acid in the Prevention of Diabetes Complications. *Nutrition*. 17: 888-895.

Paracha UZ, Fatima K, Alqahtani M et al (2013) Oxidative stress and hepatitis C virus. *Virology Journal*. 10, article 251.

Patel A, Lakshminrusimha S, Ryan RM et al (2009) Exposure to supplemental oxygen downregulates antioxidant enzymes and increases pulmonary arterial contractility in premature lambs. *Neonatology* 96:182–92.10.1159/000211667.

Peng TI, Yu PR, Chen JY et al (2006) Visualizing common deletion of mitochondrial DNA-augmented mitochondrial reactive oxygen species generation and apoptosis upon oxidative stress. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1762(2), 241-255.

Perez M, Robbins ME, Revhaug C et al (2019) Oxygen radical disease in the newborn, revisited: Oxidative stress and disease in the newborn period. *Free Radic Biol Med*. 5. pii: S0891-5849(18)32520-6.

Perrone S, Vezzosi P, Longini M et al (2009) Biomarkers of oxidative stress in babies at high risk for retinopathy of prematurity. *Frontiers in Bioscience* 1:547–52.

Perrone S, Tataranno ML, Santacroce A et al (2014) The role of oxidative stress on necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Current Pediatric Reviews*. 10(3):202–207.

Perrone S, Bracciali C, Virgilio ND et al (2017) Oxygen Use in Neonatal Care: A Two-edged Sword. *Front. Pediatrics* 4:143.

Peters GJ, Van Groeningen CJ, Laurensse EJ et al (1987) Uridine-induced hypothermia in mice and rats in 60 relation to plasma and tissue levels of uridine and its metabolites. *Cancer Chemother Pharmacol* 20:101-8.

Pham-Huy LA, He H, Pham-Huy C (2008) Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, vol. 4, no. 2, pp. 89–96.

Pisochi AM, Pop A (2015) The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, vol. 5, no. 97, pp. 55–74.

Porter NA (1984) Chemistry of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 105:273-283.

Raha S, Robinson BH (2000) Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends in Biochemical Sciences* 25:502-507.

Reich B, Hoeber D, Bendix I et al (2016) Hyperoxia and the immature brain. *Developmental Neuroscience* 38:311–30.

Reiter RJ, Melchiorri D, Sewerynek E (1995) A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Journal of Pineal Research* 18(1): 1-11.

Reiter RJ, Acuna-Castroviejo D, Dun-Xian T et al (2006) Free Radical-Mediated Molecular Damage. Mechanisms for the Protective Actions of Melatonin in the Central Nervous System. *Annals of the New York Academy of Sciences* 939(1).

Rice-Evans C (1995) Free Radicals and Antioxidants in Normal and Pathological Processes. In: Rice-Evans C, Bruckdorfer KR, editors. *Oxidative Stress, Lipoproteins and Cardiovascular Dysfunction*. Cambridge: Portland Press Ltd. s.1-33.

Rizzo A, Roscino MT, Binetti F et al (2012) Roles of reactive oxygen species in female reproduction. *Reproduction in Domestic Animals*. 47(2):344–352.

Robertson NJ, Faulkner S, Fleiss B et al (2013) Melatonin augments hypothermic neuroprotection in a perinatal asphyxia model. *Brain*. 136(1):90–105.

Roche M, Rondeau P, Singh NR et al (2008) The antioxidant properties of serum albumin. *FEBS Letters* 582(13): 1783-1787.

Rogers MS, Mogelli JM, Tsang KH et al (1998) Lipid peroxidation in cord blood at birth: the effect of labour. *Br J Obstet Gynaecol* 105: 739–744.

Rokicki W, Strzałkowski A, Kłapcińska B et al (2003) Antioxidant status in newborns and infants suffering from congenital heart defects. *Wiadomości Lekarskie*. 56(7-8):337–340.

Saugstad OD (1989) The oxygen radical disease in neonatology. *The Indian Journal of Pediatrics*, vol. 56, no. 5, pp. 585–593.

Saugstad OD (2001) Is oxygen more toxic than currently believed? *Pediatrics*. 108(5):1203-5.

Saugstad OD (2005) Oxidative stress in the newborn—a 30-year perspective,” *Biology of the Neonate*, 88(3): 228–236.

Saugstad OD (2006) Oxygen and retinopathy of prematurity. *Journal of Perinatology* 26 (Suppl 1), pp. S46-50.

Saugstad OD, Aune D (2014) Optimal oxygenation of extremely low birth weight infants: a meta- analysis and systematic review of the oxygen saturation target studies. *Neonatology*. 105(1):55-63.

Sapieha P, Joyal JS, Rivera JC et al (2010) Retinopathy of prematurity: understanding ischemic retinal vasculopathies at an extreme of life. *The Journal of Clinical Investigation*. 120(9):3022–3032.

Sarma AD, Mallick AR, Ghosh AK (2010) Free radicals and their role in different clinical conditions: an overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research* 1(3), 185-192.

Scheuer T, Brockmöller V, Blanco Knowlton M et al (2015) Oligodendroglial maldevelopment in the cerebellum after postnatal hyperoxia and its prevention by minocycline. *Glia*, 63, 1825–1839.

Scheuer T, Sharkovska Y, Tarabykin V et al (2017) Neonatal hyperoxia perturbs neuronal development in the cerebellum. *Molecular Neurobiology* 55, 3901–3915.

Scheuer T, Klein LS, Bühner C et al (2019) Transient improvement of cerebellar oligodendroglial development in a neonatal hyperoxia model by pdgfa treatment. *Developmental Neurobiology* Jan 23.

Schmitz T, Ritter J, Mueller S et al (2011) Cellular changes underlying hyperoxia-induced delay of white matter development. *J Neurosci* 31: 4327–4344.

Schmitz T, Krabbe G, Weikert G et al (2014) Minocycline protects the immature white matter against hyperoxia. *Experimental Neurology*, 254, 153–165.

Sen S, Chakraborty R, Sridhar C et al (2010) Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: Current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 3(1): 91-100.

Sen S, Chakraborty R (2011) The role of antioxidants in human health. *American Chemical Society, Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention and Therapy*. Chapter 1: 1-37.

Serdar M, Herz J, Kempe K et al (2016) Fingolimod protects against neonatal white matter damage and long-term cognitive deficits caused by hyperoxia. *Brain Behav Immun* 52:106-119.

Sheldon M (2006) Reactive Oxygen Species: Toxic Molecules or Spark of Life. *Critical Care*. 10 (1): 208.

Shinbo Y, Taira T, Niki T (2005) DJ-1 restores p53 transcription activity inhibited by Topors/p53BP3. *International journal of oncology* 26(3): 641.

Sies H (1997) Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology* 82, 291–295.

Siesjö BK, Nilsson L (1971) The influence of arterial hypoxemia upon labile phosphates and upon extracellular and intracellular lactate and pyruvate concentrations in the rat brain. *Scand J Clin Lab Invest* 27:83-96.

Sifringer M, Genz K, Brait D et al (2009) Erythropoietin attenuates hyperoxia-induced cell death by modulation of inflammatory mediators and matrix metalloproteinases. *Developmental Neuroscience* 31, 394–402.

Sifringer M, Brait D, Weichelt U et al (2010) Erythropoietin attenuates hyperoxia-induced oxidative stress in the developing rat brain. *Brain, Behavior, and Immunity* 24 pp. 792-799.

Sifringer M, Bendix I, Börner C (2012) Prevention of neonatal oxygen-induced brain damage by reduction of intrinsic apoptosis. *Cell Death & Disease* 3, p. e250.

Sifringer M, Bendix I, von Haefen C et al (2013) Oxygen toxicity is reduced by acetylcholinesterase inhibition in the developing rat brain. *Developmental Neuroscience* 35: 255–264. pmid:23445753.

Sifringer M, von Haefen C, Krain M et al (2015) Neuroprotective effect of dexmedetomidine on hyperoxia-induced toxicity in the neonatal rat brain. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 530371.

Smith CM, Marks AD, Lieberman MA et al (2005) Marks' basic medical biochemistry: a clinical approach. 2nd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 439-457.

Sofroniew MV (2014) Multiple roles for astrocytes as effectors of cytokines and inflammatory mediators. *The Neuroscientist* 20, 160–172.

Sola A, Golombek SG, Montes Bueno et al (2014) Safe oxygen saturation targeting and monitoring in preterm infants: can we avoid hypoxia and hyperoxia? *Acta Paediatrica* 103 (10): 1009 -1018.

Sorce S, Krause KH (2009) NOX enzymes in the central nervous system: from signaling to disease. *Antioxidants & Redox Signaling* 11:2481–2504.

Stevens TP, Finer NN, Carlo WA, et al (2014) Respiratory outcomes of the surfactant positive pressure and oximetry randomized trial (SUPPORT). *J Pediatr* 165:240.

Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF et al (2010) Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics*. 126(3):443-56.

Taher A, Pilehvari Z, Poorolajal J et al (2016) Effects of normobaric hyperoxia in Traumatic Brain Injury: a randomized controlled clinical trial. *Trauma Monthly* 21:e26772.

Takahashi K, Taira T, Niki T et al (2001) DJ-1 positively regulates the androgen receptor by impairing the binding of PIAS $\alpha$  to the receptor. *Journal of Biological Chemistry* 276(40): 37556-37563.

Tang B, Xiong H, Sun P et al (2006) Association of PINK1 and DJ-1 confers digenic inheritance of early-onset Parkinson's disease. *Human molecular genetics* 15(11): 1816-1825.

Terraneo L, Paroni R, Bianciardi P et al (2017) Brain adaptation to hypoxia and hyperoxia in mice. *Redox Biol.* 11:12-20

Thompson DK, Wood SJ, Doyle LW et al (2008) Neonate hippocampal volumes: prematurity, perinatal predictors, and 2-year outcome. *Ann Neurol* 63:642-651.

Tietz NW (1995) *Clinical Guide to Laboratory Tests*. W.B. Saunders Company. Philadelphia, Pennsylvania.

Topçu Y, Bayram E, Ozbal S et al (2014) Zonisamide attenuates hyperoxia-induced apoptosis in the developing rat brain. *Neurological Sciences* 35(11):1769-75.

Torres-Cuevas I, Cernada M, Nuñez A et al (2016) Oxygen Supplementation to Stabilize Preterm Infants in the Fetal to Neonatal Transition: No Satisfactory Answer. *Front Pediatr.* 19;4:29.

Townsend DM, Tew KD, Tapiero H (2003) The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 57(3-4): 145- 155.

Tran L, Huening BM, Kaiser O et al (2017) Cerebellar-dependent associative learning is impaired in very preterm born children and young adults. *Scientific Reports*, 7, 18028.

Traut TW (1994) Physiological concentrations of purine and pyrimidines. *Molecular and Cellular Biochemistry* 140:1-22.

Traut TW, Jones ME (1996) Uracil metabolism UMP synthesis from orotic acid or uridine and conversion of uracil to beta-alanine: enzymes and cDNAs. *Progress in Nucleic Acid Research and Molecular Biology* 53:1-78.

Twilhaar ES, Wade RM, De Kieviet JF et al (2018) Cognitive outcomes of children born extremely or very preterm since the 1990s and associated risk factors: a meta-analysis and meta-regression. *JAMA Pediatrics*, 172, 361–367.

Valko M, Morris H, Cronin MTD (2005) Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry*, vol. 12, no. 10, pp. 1161–1208.

Valko M, Rhodes CJ, Moncol J et al (2006) Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, vol. 160, no. 1, pp. 1–40.

Valko M, Leibfritz D, Moncola J (2007) Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 39, 44-84.

Van Marter LJ (2005) Strategies for preventing bronchopulmonary dysplasia. *Curr Opin Pediatr* 17:174-180.

Vannucci SJ, Hagberg H (2004) Hypoxia-ischemia in the immature brain. *J Exp Biol*. 207(Pt 18):3149-54.

Vottier G, Pham H, Pansiot J et al (2011) Deleterious effect of hyperoxia at birth on white matter damage in the newborn rat. *Dev Neurosci* 33:261-269.

Volpe JJ (1997) Brain injury in the premature infant. *Neuropathology, clinical aspects, pathogenesis, and prevention*. *Clin Perinatol*. 24(3):567–587.

Volpe JJ (2001) Perinatal brain injury: from pathogenesis to neuroprotection. *Mental retardation and developmental disabilities research reviews* 7, 56–64.



Volpe JJ (2009) Brain injury in premature infants: a complex amalgam of destructive and developmental disturbances. *Lancet Neurology* 8:110–124. pmid:19081519.

Waldbaum S, Patel M (2010) Mitochondrial dysfunction and oxidative stress: A contributing link to acquired epilepsy? *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 42, 449–455.

Waring WS (2002) Uric acid: an important antioxidant in acute ischaemic stroke. *QJM* 95(10): 691-693.

Weaver J, Liu KJ (2015) Does normobaric hyperoxia increase oxidative stress in acute ischemic stroke? A critical review of the literature. *Medical Gas Research* 5:11.

Weiss SJ, Klein R, Slivka A et al (1982) Chlorination of taurine by human neutrophils. Evidence for hypochlorous acid generation. *Journal of Clinical Investigation* 70, 598-607.

Wilhelm J, Vytasek R, Uhlik J et al (2016) Oxidative stress in the developing rat brain due to production of reactive oxygen and nitrogen species. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*:5057610.

Wispe JR, Bell EF, Roberts RJ (1985) Assessment of lipid peroxidation in newborn infants and rabbits by measurements of expired ethane and pentane: influence of parenteral lipid infusion. *Pediatr Res* 19: 374–379.

Wood NS, Marlow N, Costeloe K et al (2000) Neurologic and developmental disability after extremely preterm birth. EPICure Study Group. *The New England Journal of Medicine* 343: 378–384. pmid:10933736.

Woodward LJ, Anderson PJ, Austin NC et al (2006) Neonatal MRI to predict neurodevelopmental outcomes in preterm infants. *N Engl J Med* 355:685-694.

Wurtman RJ, Regan M, Ulus I et al (2000) Effect of oral CDP-choline on plasma choline and uridine levels in humans. *Biochemical Pharmacology* 60(7): 989-92.

Xu J, Zhong N, Wang H et al (2005) The Parkinson's disease-associated DJ-1 protein is a transcriptional co-activator that protects against neuronal apoptosis. *Human molecular genetics* 14(9): 1231-1241.

Xu F, Liu P, Pascual JM et al (2012) Effect of hypoxia and hyperoxia on cerebral blood flow, blood oxygenation, and oxidative metabolism. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 32:1909–1918.

Yalçın AS (1992) Serbest radikaller ve patolojik etkileri. Sendrom, 4: 40-43.

Yalçın AS (1998) Antioksidanlar. Klinik Gelisim II 342-6.

Yis U, Kurul S H, Kumral A et al (2008a) Hyperoxic exposure leads to cell death in the developing brain. *Brain & Development* 30 (9) pp. 556-562.

Yis U, Kurul SH, Kumral A et al (2008b) Effect of erythropoietin on oxygen-induced brain injury in the newborn rat. *Neuroscience Letters* 448, pp. 245-249.

Yokota T, Sugawara K, Ito K (2003) Down regulation of DJ-1 enhances cell death by oxidative stress, ER stress, and proteasome inhibition. *Biochemical and biophysical research communications* 312(4): 1342-1348.

Young IS, Woodside JV (2001) Antioxidants in Health and Disease. *Journal of Clinical Pathology* 54(3): 176-186.

Yuan J, Yankner BA (2000) Apoptosis in the nervous system. *Nature* 407:802-809.

Zaghloul N, Nasim M, Patel H et al (2012) Overexpression of extracellular superoxide dismutase has a protective role against hyperoxia-induced brain injury in neonatal mice. *FEBS Journal* 279(5):871–81.

Zhang L, Shimoji M, Thomas B et al (2005) Mitochondrial localization of the Parkinson's disease related protein DJ-1: implications for pathogenesis. *Human molecular genetics* 14(14): 2063-2073.

Zhang Y, Wang Z, Chen H et al (2014) Antioxidants: potential antiviral agents for Japanese encephalitis virus infection. *International Journal of Infectious Diseases*. 24:30–36.

Zhong N, Kim CY, Rizzu P (2006) DJ-1 transcriptionally up-regulates the human tyrosine hydroxylase by inhibiting the sumoylation of pyrimidine tract-binding protein-associated splicing factor. *Journal of Biological Chemistry* 281(30): 20940-20948.

Zhong N, Xu J (2008) Synergistic activation of the human MnSOD promoter by DJ-1 and PGC-1 $\alpha$ : regulation by SUMOylation and oxidation. *Human molecular genetics* 17(21): 3357-3367.

Zhou W, Freed CR (2005) DJ-1 up-regulates glutathione synthesis during oxidative stress and inhibits A53T  $\alpha$ -synuclein toxicity. *Journal of Biological Chemistry* 280(52): 43150-43158.

Zhu XY, Ma PS, Wu W et al (2016) Neuroprotective actions of taurine on hypoxic-ischemic brain damage in neonatal rats. *Brain Research Bulletin* 124:295-305.



## 7. SİMGELER VE KISALTMALAR

Cu/Zn SOD: Bakır ve Çinko içeren Süperoksit Dismutaz

CDP: sitidin difosfat

CTP: Sitidin-5'-trifosfat

EC-SOD: Ekstraselüler Süperoksit Dismutaz

FGF-2: Fibroblast Büyüme Faktörü-2

GSH: Glutasyon

GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz

GSSG: Okside Gulutasyon

GR: Glutasyon Redüktaz

HOCl: Hipokloröz Asit

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hidrojen Peroksit

IGF-1: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1

IL-1 $\beta$ : İnterlökin-1 $\beta$

IL-18: İnterlökin-18

LOO $\bullet$ : Lipid Peroksil Radikali

LOOH: Lipid Hidroperoksil

MDA: Malondialdehit

MPO: Myeloperoksidaz

Mn-SOD: Manganez Süperoksit Dismutaz

NaCl: Serum Fizyolojik

O<sub>2</sub> $\bullet$ : Süperoksit Radikali

OH $\bullet$ : Hidroksil Radikali

SOD: Süperoksit Dismutaz

UDP: Üridin-5'-Difosfat

UMP: Üridin -5'-Monofosfat

UTP: Üridin-5-trifosfat

## 8. TEŞEKKÜR

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Kasım ÖZLÜK hocama; bu tez konusunu bana öneren, her açıdan yol gösteren, desteğini esirgemeyen, bilimsel görgü ve tecrübelerini hep örnek aldığım sayın danışmanım Prof. Dr. Tülin ALKAN hocama; çalışmalarımın her aşamasında yardımı ve desteğini esirgemeyen Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Mehmet CANSEV hocama; çalışmalarımda çok büyük katkıları olan ve bilgilerini cömertçe paylaşan, özveri ile çalışan Öğr. Gör. Ayşen ÇAKIR ve Doktora öğrencisi Cansu KOÇ'a, Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve çalışanlarına, beni bugünlere getiren aileme; hayatımı anlamlı kılan sabrı ve sevgisiyle her zaman beni destekleyen, motive eden eşim Necip AL'a ve sevgili oğlum Utku Efe AL ve sevgili kızım Zeynep AL'a; bana desteğini esirgemeyen herkese teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenmiştir (Destek No: HDP (T)-2017/24 - BAP).

## 9. ÖZGEÇMİŞ

10 Eylül 1984 yılında Muğla'nın Yatağan ilçesinde doğdu. Lise öğrenimini Yatağan Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2002 yılında Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü'nü kazandı. 2006 yılında mezun olduktan sonra 2009 yılına kadar Ankara Başkent Üniversite Hastanesi'nde hemşire olarak görev yaptı. 2009 yılından 2018 yılına kadar Uludağ Üniversitesi Genel Cerrahi ve Beyin Cerrahi Yoğun Bakım Ünitelerinde hemşirelik görevini yürüttü. Evli ve iki çocuk annesidir.



BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ  
TEZ ÇOĞALTMA VE ELEKTRONİK YAYIMLAMA İZİN FORMU

Yazar Adı Soyadı	Nevin AL
Tez Adı	Üridinin Yenidoğan Hiperoksik Beyin Hasarı Modelinde Serbest Oksijen Radikalleri Üzerine Etkisinin Araştırılması
Enstitü	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Tıp-Fizyoloji
Tez Türü	Yüksek Lisans
Tez Danışman(lar)ı	Prof. Dr. Tülin ALKAN
Çoğaltma (Fotokopi Çekim) izni	<input type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input type="checkbox"/> Tezimin sadece içindekiler, özet, kaynakça ve içeriğinin % 10 bölümünün fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin vermiyorum
Yayımlama izni	<input type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin veriyorum

Hazırlamış olduğum tezin belirttiğim hususlar dikkate alınarak, fikri mülkiyet haklarım saklı kalmak üzere Bursa Uludağ Üniversitesi Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı tarafından hizmete sunulmasına izin verdiğimi beyan ederim.

Tarih :

İmza :