

**T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI**

**PRETERM, TERM VE TERM DÜŞÜK DOĞUM AĞIRLIKLI  
YENİDOĞANLARIN KORD KANINDA OKSİDATİF STRES  
BELİRTEÇLERİ**

**(UZMANLIK TEZİ)  
DR. ORHAN KÖKSAL**

**TEZ YÖNETİCİSİ  
PROF. DR M. CELAL DEVECİOĞLU**

**DİYARBAKIR - 2006**

**T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI**

**PRETERM, TERM VE TERM DÜŞÜK DOĞUM AĞIRLIKLI  
YENİDOĞANLARIN KORD KANINDA OKSİDATİF STRES  
BELİRTEÇLERİ**

**(UZMANLIK TEZİ)  
DR. ORHAN KÖKSAL**

**TEZ YÖNETİCİSİ  
PROF. DR M. CELAL DEVECİOĞLU**

**DİYARBAKIR**

-

**2006**

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli hocalarım; Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. M. Ali TAŞ'a, Prof. Dr. Kenan HASPOLAT, Prof. Dr. Celal DEVECİOĞLU, Prof. Dr. Murat SÖKER, Prof. Dr. Aydın ECE, Prof. Dr. M. Fuat GÜRKAN, Doç. Dr. Ahmet YARAMIŞ, Doç. Dr. Mehmet KERVANCIOĞLU, Doç. Dr. Mehmet BOŞNAK, Doç. Dr. Bünyamin DİKİCİ, Yrd. Doç. Dr. Selahattin KATAR, Yrd. Doç. Dr. Fatma ÇELİK, Yrd. Doç. Dr. Sultan ECER ve Yrd. Doç. Dr. M. Nuri ÖZBEK'e şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmamın planlanması, yönlendirilmesi ve hazırlanmasındaki katkılarından dolayı tez hocam Prof. Dr. Celal DEVECİOĞLU'na, tezimde emeği geçen Yrd. Doç. Dr. Selahattin KATAR'a, tezimin istatistiksel verilerinin değerlendirilmesine yardımlarını esirgemeyen Dr. Ünal Öztürk'e ve biyokimyasal tetkiklerin çalışılmasında katkıları olan Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Özcan Erel'e ve Dr. Şahabettin Selek'e, örneklerin toplanmasında emeği geçen başta Bedriye Değertekin olmak üzere Kadın Doğum ve Hastalıkları hemşerileri ve doktorlarına teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca maddi ve manevi her konuda destek olan aileme, çalışmamda her zaman için her türlü fedakarlığa katlanan ve beni destekleyen eşime ve kızım Şevin'e, hastanede birlikte zevkle çalışma imkanı bulduğum tüm mesai arkadaşlarım olan doktor arkadaşlarıma, hemşirelerimize, sekreterlerimize ve diğer tüm personelerimize teşekkür ederim.

Dr. Orhan Köksal

Diyarbakır-2006

## ÖZET

### TERM, PRETERM, TERM DÜŞÜK DOĞUM AĞIRLIKLI YENİDOĞANLARIN KORD KANINDA OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİ

Dr.Orhan Köksal

Prematürite ve intrauterin gelişme geriliği yenidoğan morbidite ve mortalitesinin iki ana nedenidir. Başta prematürelde olmak üzere bir çok yenidoğan hastalığının patogeneğinde serbest radikal hasarı ileri sürülmüştür. Çalışmanın amacı term, preterm ve term düşük doğum ağırlıklı bebeklerin kord kanında oksidatif stres durumunu belirlemek ve bulunan sonuçları gruplar arasında karşılaştırmaktır.

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Doğum ve Hastalıkları Kliniği'nde doğan 48 term (grup 1), 34 preterm (grup 2) ve 27 term düşük doğum ağırlıklı (grup 3) olmak üzere toplam 109 hasta çalışmaya dahil edildi. Serum total peroksit konsantrasyonu (TPK), total antioksidan kapasite (TAK), malondialdehit (MDA), katalaz, paraoksanaz, total thiol grubu (TTG), serüloplazmin ve myeloperoksidaz (MPx) ölçümü için kan örneği doğumdan hemen sonra umbilikal venden alındı. Serum total peroksit konsantrasyonu ve total antioksidan kapasiteden oksidatif stres indeksi (OSI) saptandı.

Grup 1 ile grup 2'nin sonuçları karşılaştırıldığında grup 2'de düşük katalaz, paraoksanaz, TTG, serüloplazmin, ve yüksek MDA, TPK değeri saptandı. OSI değeri grup 1'de daha yüksek saptandı. Grup 1 ile karşılaştırıldığında grup 3'te düşük katalaz, paraoksanaz ve yüksek MDA, TPK, OSI değeri saptandı. Serüloplazmin dışında grup 2 ile grup 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Serüloplazmin grup 3'te yüksek saptandı.

Sonuç olarak preterm ve term düşük doğum ağırlıklı yenidoğanlar daha fazla serbest radikal hasarı ile karşılaşmaktadır ve bu iki grupta görülen hastalıkların patogeneğinde serbest radikal hasarının rolü olabilir.

Anahtar sözcükler: Serbest radikaller, oksidatif stres, prematürite, antioksidanlar intrauterin gelişme geriliği,

## SUMMARY

### OXIDATIVE STRESS MARKERS IN THE CORD BLOOD OF TERM, PRETERM, AND TERM SMALL FOR GESTATIONAL AGE INFANTS.

Orhan Köksal MD.

Prematurity and intrauterine growth retardation are two main cause of neonatal morbidity and mortality. Free radical damage or oxidative stress has been postulated in the pathogenesis of many neonatal conditions, especially in preterm delivery. The aim of this study is to determine oxidative stress marker in the cord blood of three main groups; preterm , full term and full term small for gestationel age (FT-SGA) and compare these marker between groups.

The study include 48 full term (group 1), 34 preterm (group 2), and 27 FT-SGA (group 3) infant delivered in the Obstetric & Gynecology Clinic of Dicle University, tertiary hospital, between March 2006 and July 2006. The serum total peroxide concentration (TPC), total antioxidant capacity (TAC), total thiol group, malondialdehyde (MDA), catalaz, paraoxanase, myeloperoxidase, and ceruloplasmin were assesed in the cord umbilical vein blood of infants. Total peroxide concentration/ total antioxidant capacity ratio was admitted as oxidative stres index (OSI).

When results of group 1 and group 2 compared , there were low catalase, paraoxanase, cerüloplasmin, total thiol group and high malondialdehyde, total peroxide levels in the group 2. Oxidative stres index was determined high in the preterm group. Low catalaz, paraoxanase and high MDA, TPC, OSI values were found in the group 3 when compared to those of group 1. There were not any statically significant differences between group 2 and group 3 except ceruloplasmin. Ceruloplasmin was measured high in group 3.

Our result suggested high oxidative stress exposure in preterm and term SGA group when compared with term infant. This condition may be related to neonatal disease in the premature and infant with intrauterine growth retardation.

**Key words:** free radicals, oxidative stres, prematurity, antioxidants, intrauterine growth retardation

## İÇİNDEKİLER

1. ÖNSÖZ .....	I
2. ÖZET .....	II
3. SUMMARY .....	III
4. İÇİNDEKİLER .....	IV
5. TABLOLAR LİSTESİ .....	V
6. ŞEKİLLER LİSTESİ .....	VI
7. KISALTMALAR .....	VII
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
1. SERBEST RADİKALLER .....	5
2. ANTİOKSİDAN SİSTEMLER .....	13
3. OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİ .....	18
4. YENİDOĞAN, PREMATURİTE VE OKSİDATİF STRES .....	20
3. MATERYAL METOD .....	25
4. BULGULAR .....	27
5. TARTIŞMA .....	29
6. SONUÇ .....	32
7. KAYNAKLAR .....	33

## TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Oksidatif stres ile ilgili terimler .....	4
Tablo 2: Biyolojik olarak önemli serbest radikaller .....	6
Tablo 3: Anti-oksidan maddeler .....	14
Tablo 4: Oksidatif stresin biyolojik ölçümleri .....	19
Tablo 5: Yenidoğanların özellikleri .....	27
Tablo 6: Grupların karşılaştırılması .....	28

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Serbest radikallerin yapıları .....	5
Şekil 2: Oksijenin moleküler orbital konfigrasyonu .....	7
Şekil 3: Oksijen molekülünün suya kadar indirgenmesi ve antioksidan enzimler .....	15
Şekil 4: Bronkopulmoner Displazinin patogenezi .....	21

## KISALTMALAR

<b>BPD</b>	Bronkopulmoner displazi
<b>GPx</b>	Glutatyon peroksidaz
<b>GSH</b>	Redükte glutatyon
<b>GSSH</b>	Okside glutatyon
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Hidrojen peroksit
<b>H<sub>2</sub>O</b>	Su molekülü
<b>HOCl</b>	Hipoklorik asit
<b>İVK</b>	İntraventriküler kanama
<b>İUGR</b>	İntra uterin gelişme geriliği
<b>MDA</b>	Malondialdehit
<b>MPx</b>	Myeloperoksidaz
<b>NEK</b>	Nekrotizan enterokolit
<b>NSVY</b>	Normal spontan vajinal yol ile doğum
<b>NO·</b>	Nitrik Oksit
<b>O<sub>2</sub><sup>·-</sup></b>	Superoksit radikali
<b>1O<sub>2</sub></b>	Tekli oksijen (singlet oksijen)
<b>·OH</b>	Hidroksil radikali
<b>ONOO<sup>-</sup></b>	Peroksinitrit
<b>PVL</b>	Periventriküler lökomalazi
<b>ROO·</b>	Peroksil radikali
<b>ROS</b>	Reaktif oksijen türleri
<b>TBAR</b>	Tiobarbitürik reaktan substans

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Serbest radikaller, en dış yörüngelerinde bir yada daha fazla çiftleşmemiş elektron içeren oldukça reaktif moleküllerdir. Kolektif olarak reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılan oksijen türevi radikaller biyolojik sistemin en iyi bilinen serbest radikalleridir ve normal metabolizmanın bir parçası olarak canlı hücrelerde fizyolojik miktarlarda oluşmaktadır. Aşırı oluştuklarında hücre ve doku hasarının önemli medyatörleridir (1-2). Serbest radikaller oldukça kararsız moleküllerdir ve kendileri veya etkileri, antioksidan yeteneği olan bir çok enzim ve düşük molekül ağırlıklı moleküller tarafından engelenir (3). Normalde serbest radikal oluşumu ile antioksidan defans sistemi arasında hemostatik bir denge vardır (4). Bu denge bozulduğu zaman antioksidan sistem tarafından inaktive edilemeyen serbest radikaller lipitlerin, proteinlerin, polisakkaritlerin oksidasyonu ve DNA hasarına (fragmantasyon, apoptoz, baz modifikasyonu ve zincir kırıkları) yol açarlar (5,6). Bu yüzden biyolojik olarak çok geniş bir toksik etki yelpazesine sahiptirler.

Biyolojik sistemde çok geniş bir toksik yelpazeye sahip olmaları, travma, infeksiyon, inflamasyon gibi immün sistem hücrelerinin aktivasyonu ile sonuçlanan durumlarda (7), iskemi-reperfüzyon doku hasarında (8) ve suprafizyolojik konsantrasyonlardaki oksijen kullanımında (9) aşırı oluşmaları, serbest radikal hasarının birçok hastalığın patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Sepsis (10), inflamatuvar hastalıklar (11-13), adult respiratuvar distress sendromu (14), diabetes mellitus (15), kardiyovasküler hastalıklar (16), astım (17) gibi bir çok hastalığın patogenezinde serbest radikal hasarı suçlanmıştır.

Yenidoğanlar, özellikle prematürel hayatın diğer dönemlerine göre yüksek oksijen konsantrasyonlarına maruz kalmaları, infeksiyon ve inflamasyonla sık karşılaşmaları ve ayrıca düşük antioksidan defans mekanizmasına sahip olmaları nedeniyle daha fazla oksidatif strese maruz kalırlar (18). Neonatal morbidite ve mortalitenin nedeni olan bir çok yenidoğan hastalığının patogenezinde serbest radikal hasarı suçlanmıştır. Bronkopulmoner displazi (BPD), prematür retinopatisi (ROP), intraventriküler kanama (İVK), periventriküler lökomalazi (PVK), nekrotizan enterokolit (NEK), patent duktus arteriosus (PDA) radikal hasarı ile ilişkili düşünülen hastalıklardır (19).

Çalışmamızda yenidoğan döneminde oksidatif hasar açısından risk gruplarının belirlenmesi amaçlandı. Bu sebeple term, preterm, ve term düşük doğum ağırlıklı yenidoğanların kord kanlarında total oksidan kapasite ve total antioksidan kapasite Erel tarafından geliştirilen yeni otomatize bir metodla ölçüldü (20,21). Ayrıca, malondialdehit

(MDA), serüloplazmin, total tiol grubu (TTG), myeloperoksidaz (MPx), paraoksanaz ve katalaz gibi oksidatif stres belirteçleri de çalışılarak, ölçülen düzeyler gruplar arasında karşılaştırıldı.

## 2. GENEL BİLGİLER

Atomlar kararlı hallerinde oldukça stabildirler ve serbest enerjileri yoktur. Bir atom en dış yörüngesinde orbita denilen yapılar içerisinde birbirine zıt yönde hareket eden, birbirini tamamlayan çift elektronlar içeriyorsa kararlı halde kabul edilir. En dış yörüngesinde en az bir çiftleşmemiş elektrona sahip bağımsız hareket edebilme kabiliyeti olan herhangi bir atom yada molekül serbest radikal olarak adlandırılır (22). Ana iskeletinde oksijen içeren radikallere serbest oksijen radikalleri denir. Serbest radikaller insan metabolizmasının bir parçası olarak fizyolojik miktarlarda oluşabilmektedir(23). Oluşan serbest radikallerin etkileri antioksidan adı verilen maddeler tarafından nötralize edilir. Fizyolojik koşullar altında reaktif oksidan oksijen türlerinin oluşumu ile bunların etkilerini ortadan kaldıran endojen antioksidanlar arasında hemostatik bir denge vardır.(24). Bu denge oksidatif denge olarak adlandırılmaktadır Oksidatif stres serbest radikal oluşumu ile bu radikallerin inaktivasyonda görev alan antioksidanlar arasındaki dengesizliğin bir sonucu olarak oluşur(25). Etkileri ortadan kaldırılamayan serbest oksijen radikalleri DNA, proteinler, poliansature yağ asitleri ve karbonhidratlar gibi makromolekülleri hasara uğratma yeteneklerine sahiptir.(26-29).

Birçok hastalıkta aşırı serbest radikal oluşumunun ve meydana getirdikleri hasarın gösterilmesi, serbest radikal hasarının birçok hastalığın patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Son 20 yılda bununla ilgili giderek artan sayıda çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalarda 100' ün üzerinde hastalığın patogenezinde serbest radikal hasarı suçlanmıştır (30).

Yenidoğan dönemi kendine has özelliklerinden dolayı oksidatif stres için bir hedef oluşturur. Anneyle olan ilişkilerinden dolayı gebelikte metabolizmanın ve oksijen tüketiminin artması, plasentanın bir serbest radikal kaynağı olması, rölatif olarak hipoksik bir ortamdan hiperoksik ortama geçiş; intrauterin hayattan gerçek dünyaya gelişi, doğum olayının başlı başına bir travma olması ve özellikle prematürite ve bazı hallerde olmak üzere antioksidan sistemlerin yetersiz ve kısıtlı olması yenidoğanı oksidatif stres için bir hedef oluşturmaktadır

Oksidatif stres, serbest radikal oluşumu ile antioksidan sistemler arasındaki hemostatik dengenin bozulması sonucu oluşur. Antioksidan defans mekanizması tarafından etkileri ortadan kaldırılamayan serbet radikallerin hücreler üzerinde oluşturduğu etki oksidatif stres olarak tariflendirilirse hadiseyi kavramak açısından dengenin iki yönünü iyi bilmek gerekir.

Bu anlamda serbest radikalın tanımı, yapısı, kimyası, türleri, oluşumları, etki mekanizmaları, ölçümleri, antioksidan sistemleri ve etki mekanizmaların bilinmesi önemlidir. Oksidatif stres ile ilişkili tanımlar tablo 1 de gösterilmiştir.

**Tablo 1. Oksidatif stres ile ilgili terimler ve açıklamaları**

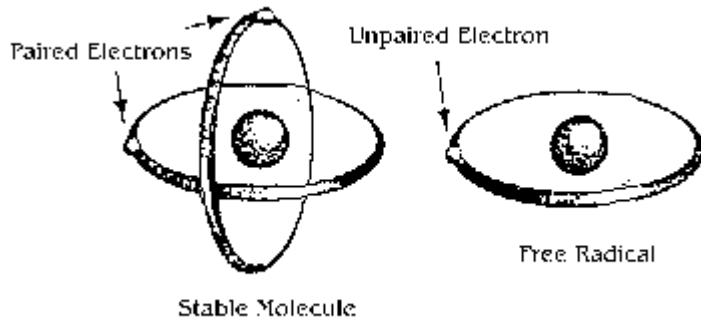
<b>Terim</b>	<b>Tanımı</b>
<b>Serbest radikal</b>	En dış orbitalarında bir veya birden fazla çiftleşmemiş elektron ihtiva eden birçok maddelerle reaksiyona girebilme yeteneğine sahip yapılardır. Vucutta hücrel hasara yol açabilen birçok kimyasal reaksiyondan sorumludur
<b>Reaktif oksijen türleri</b>	Oksijenin indirgenmesi sonucu oluşan serbest radikal olabilen. veya serbest radikal olmayabilen atom yada moleküllere denir.En iyi bilinenleri süperoksit( O <sub>2</sub> ), hidrojen peroksit(H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), ve hidroksil radikalidir (OH).
<b>Oksidasyon</b>	Kimyasal reaksiyonlarda elektron kaybı
<b>Redüksiyon</b>	Kimyasal reaksiyonlarda elektron alımı
<b>Redüksiyon-Oksidasyon(Redox)</b>	Kimyasal reaksiyonlarda elektronların alış verişini içeren redüksiyon- oksidasyon reaksiyonlardaki denge
<b>Oksidatif stres</b>	Serbest radikallerin birikimi yada antioksidanların serbest oksijen radikallerin birikimini engeleyememesi, serbest radikal oluşumu ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıkan durum
<b>Antioksidan</b>	Serbest radikalleri ortamdaki uzaklaştırmak yada onların hücre üzerindeki etkilerini engeleyerek serbest radikallerin birikimini azaltabilen diyet kaynaklı maddeler.

## 2.1.SERBEST RADİKALLER:

En dış yörüngesinde çiftleşmemiş elektrona sahip ve bağımsız hareket edebilme kabiliyetleri olan atom yada moleküllere serbest radikal adı verilir. Serbest enerjileri olan ve bu serbest enerjilerinden dolayı hücrenin birçok ana yapıtaşına zarar verebilme özellikleri vardır.

### 2.1.1.Serbest radikallerin yapıları

Serbest radikal en dış yörüngesinde eşleşmemiş elektrona sahiptir ve şekil 1 de gösterilmiştir.



Şekil 1: Serbest radikalın yapısı (Reiter & Jo Robenson 1995) . En dış yörüngesinde eşleşmemiş elektron görülmektedir

### 2.1.2. Serbest radikallerin oluşumu

Serbest radikaller aşağıdaki üç ana mekanizmadan biri yoluyla oluşur.

1. Radikal olmayan bir bileşikteki kovalan bağların hemolitik ayrışma ile koparılmasıyla iki ayrı radikal oluşumu. Biyolojik sistemlerde hemolitik ayrışma çok az görülür. Böyle bir işlem ultraviyole ışını, ısı, iyonize radyasyon gibi yüksek enerji gerektirir.
2. Normal bir mollekülden elektron kaybı.

### 3. Normal bir molleküle elektron transferi.

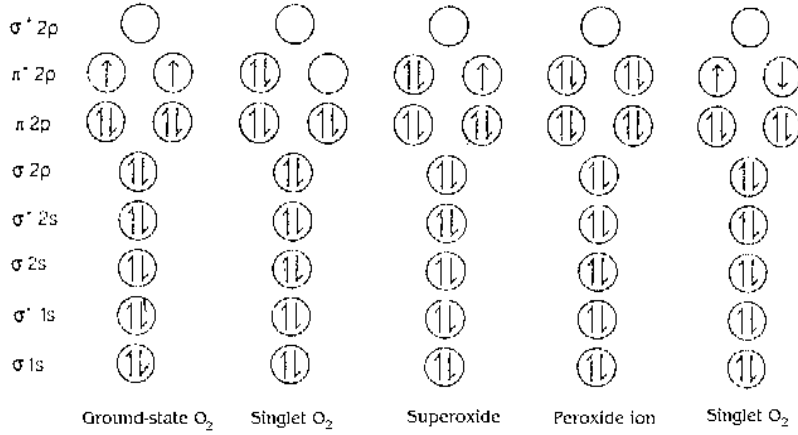
Serbest radikallerle ilgili bir prensip te en dış yörüngesinde çiftleşmemiş elektron, sonuç itibariyle oluşan serbest radikalin yükünü değiştirmez. Serbest radikaller elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü yada nötral olabilirler. Çünkü elektriksel yük proton ve elektron sayılarıyla ilişkilidir. Bununla beraber serbest radikal sadece en dış yörüngedeki elektronun konumsal dizilimi ile ilişkilidir.

#### 2.1.3. Vucutta serbest radikal tipleri

Vucutta en önemli serbest radikaller Reaktif Oksijen Türleri(ROS) olarak bilinen oksijen kaynaklı serbest radikallerdir . Bunlar üçlü konumda bulunan oksijen ( $3O_2$ ) yada tekli konumda olan oksijen ( $1O_2$ ), superoksit anyonu ( $O_2^{\cdot-}$ ), hydroxyl radikal ( $\cdot OH$ ), nitrik oksit ( $NO\cdot$ ), peroksinitrit ( $ONOO^-$ ), hipoklorik asid ( $HOCl$ ), hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), alkoksil radikal ( $LO\cdot$ ), ve peroksil radikaldir ( $LOO\cdot$ ). Vucutta karbon ve azot kaynaklı radikallerde oluşmaktadır. Önemli reaktif oksijen türleri tabloda gösterilmiştir.

**Tablo 2: Biyolojik olarak önemli serbest radikaller.**

Reaktif Oksijen Türleri	
$O_2^{\cdot-}$	Superoksit radikali
$\cdot OH$	Hidroksil radikali
$ROO\cdot$	Peroksil radikali
$H_2O_2$	Hidrojen peroksit
$1O_2$	Tekli oksijen
$NO\cdot$	Nitrik oksit
$ONOO^-$	Peroksinitrit
$HOCl$	Hipoklorik asid



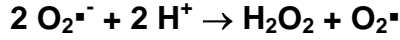
**Şekil 2: Oksijenin moleküler orbital konfigrasyonu.** Ground-state olarak adlandırılan ana halinde oksijen en dış yörüngesinde iki orbitalde çiftleşmemiş elektron içermektedir. Bu yüzden ana halde oksijen bir serbest radikal özelliği gösterir. Tekli halde oksijende bu iki orbital çiftleşmiş elektron içermektedir ve bu özelliğiyle tekli oksijen (singlet O<sub>2</sub>) serbest radikal değildir. Superoksit iyonunun (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) bir orbitasında çiftleşmemiş elektron bulunmaktadır, dolayısıyla serbest radikaldir. Ancak peroksit iyonu çiftleşmiş orbitallere sahiptir ve serbest radikal değildir.

**Superoksit:** Süperoksit serbest radikal anyonu, oksijenin en dış yörüngesine elektron transfer edildiğinde oluşur. Superoksitin in vivo olarak en önemli kaynağı mitokondrilerde bulunan electron transfer zincirinden kaynaklanan elektron sızıntılarıdır.

Superoksitin kendisi özellikle çok fazla hasar oluşturmaz. Bununla beraber süperoksit radikal anyonu birçok reaktif ara ürünlerin oluşumunda önemli rol oynar. Asıl önemli oldukları nokta hidrojen peroksit için bir ana kaynak olması ve letal hidroksil radikallerin oluşumunda prekursor olan geçiş elementleri için redüktan bir madde olmasıdır. Aynı zamanda nötrofillerce hidroklorik asit oluşumunda rol alır.

**Hydrogen peroksit:** Hidrojen peroksit bir serbest radikal değildir ancak reaktif oksijen türü grubuna dahil edilir. Esas önemleri geçiş metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin ana kaynağı olmasından gelir.

Hidrojen peroksit, oksijenin iki elektron ile indirgenmesinden oluşur. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksit kaynağını süperoksit radikalinden alır. İki süperoksit birleşerek hidrojen peroksit ve oksijen oluşturur.

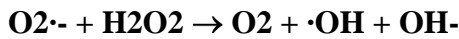


Yukarıdaki reaksiyon dismutasyon reaksiyonu olarak adlandırılır, reaktanlardan radikal olmayan ürünler oluşur ve bu basamağı süperoksit dismutaz(SOD) enzimi katalizler

**Tekli oksijen ( singlet oxygen) :** Radikal olmayan bir reaktif oksijen türüdür ve güçlü oksidan aktivitesi nedeniyle serbest oksijen radikalleriyle ilişkilidir. Tekli oksijen elektronik olarak uyarılmıştır ve oksijenin mutajenik bir formudur. Oluşumları için radyasyon gibi enerji gerekir. Bununla beraber peroksidaz , lipoksigenazların etkisiyle enzimatik olarak oluşabilmektedir (31).

**Hidroksil radikali:** Hidroksil radikali oldukça reaktif oksidan radikaldır ve diffüzyon kontrollü oranlarda birçok moleküle reaksiyona girerler ve etkileşime girdiklerinde birçok reaksiyonu başlatır.

1933 te Fritz Haber ve Joseph Weiss ilk defa serbest hidroksil radikalini( $\cdot OH$ ), süperoksit iyonunun hidrojen peroksit ile etkileşime girdiğinde oluştuğunu ortaya koydular.



Bu reaksiyon Haber –Weiss reaksiyonu olarak adlandırılmıştır.

Yaklaşık 100 yıl önce Henry Fenton indirgeyici bir ajan olan ferröz demirin( $Fe^{2+}$ ) hidrojen peroksitle beraber bazı organik bileşikleri oksitlediğini gözlemledi. Bu reaksiyonla hidrojen peroksit 2 değerlikli demirle birleşerek hidroksil radikali oluşmaktadır ve demir 3 değerlikli olmaktadır



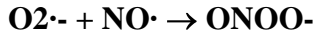
Yukarıdaki reaksiyon belirtildiğinden daha komplikedir ve sıklıkla demir ile katalizlenen Haber-Weiss reaksiyonu yada süperoksit kaynaklı Fenton reaksiyonu olarak adlandırılmıştır.

Normal koşullar altında vucutta hidrojen peroksitten hidroksil oluşum reaksiyonu katalizleyecek serbet demir havuzu oldukça kısıtlıdır(32). Kırmızı kan hücreleri vucutaki demirin

çoğunu oluştururlar ancak iyi tarafı vucutta Haber-Weiss reaksiyonunu başlatacak serbest demir salınımını önleyen birçok demir taşıyıcısının olmasıdır.

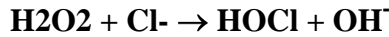
**Nitrik oksit:** Gaz yapısında ensik görülen serbest radikaldir. Vasküler fizyolojide rol oynadıkları belirtilmiştir ve endotelyum kaynaklı gevşetici factor olarak bilinmektedir. Vasküler endotel nitric oksit üretmektedir. Nötrofiller ve makrofajda nitric oksit sentetaz enzimini kullanarak arjininden nitric oksit oluşturabilmektedir. Bu durum sitokinler, tümör nekrozis factor, yada interlökinlerce stimüle olabilmektedir (33,34). Üretmelerini inhibisyonunun makrofajların mikrobisidal ve tümorisidal aktivitesini inhibe ettiği bilinmektedir.

**Peroksinitrit:** Nitrik oksitin süperoksit ile reaksiyonu ile oluşur. Sonuç radikal radikal etkileşimidir ve peroksinitrit(ONOO-) oluşur



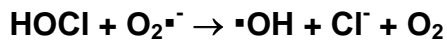
Peroksinitrit te güçlü bir serbest radikaldir.

**Hipoklorik asit:**Aktive polimorf nuclear hücreler major bakterisidal ajan olarak hipoklorik asit oluştururlar. Klor iyonlarının hidrojen peroksit varlığında myeloperoksidaz enzimi etkisiyle etkileşime girmesiyle oluşur.



Bu reaksiyon, nötrofil fagositik vakoulerinin myeloperoksidaz içeren lizozomal veziküllerle birleşme sonrasında görülür.

Hipoklorik asit hücre membranlarını geçebilir ve geçiş elementlerin varlığında hidroksil radikali oluştururlar (35,36). Oldukça reaktif hidroksil radikalleri HOCl/OCl- in bir electron vericisi olarak bir redüktan ile etkileşime girmesiyle oluşur. En önemli electron vericisi süperoksit radikali ve 2 değerlikli demirdir.



Hipoklorik asit lipit peroksidasyonu başlatma yeteneğine sahiptir (36) ve hidrojen peroksitle beraber olduğunda DNA ya zarar verebilir, DNA onarım yeteneğini bozabilir (37) ve intra sellüler ve serbest kalsiyum düzeyini değiştirebilir(38). Hipoklorik asit inflamatuvar işlem

sırasında doku hasarına katkıda bulunabilir. Bu olay kolajenaz aktivasyonu yada alpha-1 antiproteinase inaktivasyonu sonucu olabilir (39).

#### **2.1.4. Serbest radikallerin kaynakları**

##### **Endojen kaynaklar:**

**Oto-oksidasyon:** Oto-oksidasyon aerobik metabolizmadan kaynaklanan ürünlerdir. Katekolamin, haemoglobin, miyoglobin, indirgenmiş sitokrom c, ve tiollerin otooksidasyonu sonucu endojen radikaller oluşur. Yukarıdaki molleküllerden birinin oto-oksidasyonu oksijen diradikalinin indirgenmesiyle sonuçlanır ve sonuçta reaktif oksijen türlerinin oluşumuyla sonuçlanır. Süperoksit primer oluşan radikaldir. Ferroz demirde bu molleküllerden electron alarak superoksit oluşturur ve 3 değerlikli demire dönüşür (40).

**Enzimatik oksidasyon:** Birçok enzim sistemi önemli miktarda serbest radikal oluşturabilme yeteneğine sahiptir. Bu enzimler ksantin oksidaz (iskemi-reperfüzyonda active olur), prostaglandin sentaz, lipooksijenaz, aldehit oksidaz, amino asit oksidazdır. Myeloperoksidaz active nötrofiller tarafından oluşturulur ve güçlü bir oksidan olan hipoklorik asit oluşturmak üzere hidrojen peroksit ve klor iyonlarını kullanır.

**Respiratuvar Patlama( respiratory burst):** Bu terim, fagositik hücrelerin fagositoz esnasında fazla miktarda oksijen tüketimini ifade etmektedir. Kullanılan oksijenin % 70 ile % 90'ı süperoksite dönüşmektedir (41). Bu fagositik hücreler yapılarında membrane bağlı flavoprotein sitokrom-b-245 NADPH oksidaz sistemini barındırırlar. NADPH oksidaz hücre membrane enzimleri inactive formda bulunurlar. İmmünglobülin kaplı bakteriler, immü kompleksler, kompleman 5a, yada lökotrienler ile maaruhiyet NADPH oksidaz enziminin aktivasyonu ile sonuçlanır. Bu aktivasyon sonucu hücre membranında respiratuvar patlama olarak adlandırılan durum meydana gelir, bol miktarda süperoksit radikali oluşur. Süperoksit dismutasyonla hidrojen peroksite dönüşür. Klor iyonlarıyla birleşen hidrojen peroksit sonuçta hipoklorik asit ve hidroksil radikali gibi güçlü radilaller oluşturur (42).

**Subselluler organeller:**Mitokondri, mikrozoimler, peroksizomlar ve çekirdek gibi organellerin  $O_2^-$  oluşturdukları gösterilmiştir(43). Mitokondriyer hücreyel oksidasyon için özelleşmiş organellerdir ve hücrelerdeki esas indirgenmiş oksijen kaynağıdır. Mitokondriyal electron transport sistemindeki sızıntılar  $O_2$  nin  $O_2^-$  oluşturmak üzere tek bir electron almasına olanak sağlar(44). Mitokondriyelerde süperoksit yapımındaki artışın 2 durumda meydana geldiği

gösterilmiştir: oksijen konsantrasyonunun aşırı artışı ve respiratuvar zincirin tümüyle indirgendiği durumlar (iskemi esnasında olduğu gibi).

Mikrozomlar % 100 lük hiperoksi durumlarında in vivo hidrojen peroksit oluşumunun % 80 ninden sorumludur(45). Peroksizomlar fizyolojik koşullarda hidrojen peroksit oluşturabilirler ancak süperoksit radikali oluşturmazlar.

**Geçiş elementlerin iyonları:** Demir ve bakır serbest radikal hasarının oluşumunda ve lipid peroksidasyonun kolaylaştırmada ana rol oynarlar. Geçiş elementleri Haber-Weiss reaksiyonuna neden olurlar ve sonuçta süperoksit ve hidrojen peroksitten hidroksil radikali oluşur.



Haber-Weiss reaksiyonu epinefrin ve glutatyon gibi mollekülerin enzimatik olmayan oksidasyonunu hızlandırarak süperoksit ve hidrojen peroksit oluşumunu ve nihayetinde hidroksil iyonu oluşumuna yol açarlar.

**İskemi re-perfüzyon hasararı:**İskemi serbest radikal oluşumuna katkıda bulunabilen bir çok etkiye sahiptir. Normalde ksantin oksidaz hipoksantinden ksantin oluşum reaksiyonunun katalizleyicisi olarak bilinir.ve sonuçta ksantinden ürik asit meydana gelir. Bu reaksiyon bir ko-faktör olarak bir electron akseptörüne ihtiyaç duyar. İskemi esnasında iki durum meydana gelir.

Birincisi ksantin ve ksantin oksidaz oluşumu büyük miktarda artar. İkincisi süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidanların kaybı vardır. Molleküler oksijen ksantin oksidaz için kofaktör olarak electron akseptör görevi görür ve buda süperoksit ve hidrojen peroksitin oluşumuna yol açar.

### **Ekzojen kaynaklar:**

**İlaçlar:** Artmış oksijen basıncında birçok ilaç serbest radikal oluşturabilir. Bleomisin, Antrasiklinler, metoteraksat gibi antineoplastik ilaçlar, nitrofurantoin pensilamin ve sulfazalasinin bazı komponentleri verilebilecek örneklerdir.

**Radyasyon:** Radyoterapi serbest radikaller aracılığı ile doku hasarına yolaçabilir. Elektromagnetik yada partiküle radyasyon kendi enerjilerini su gibi hücrel komponentlere transfer ederek radikal oluştururlar..

**Sigara içimi:** Sigara içerisinde gaz yapısında solunum yoluna zarar verebilecek birçok oksidan maddeye sahiptir. Bunlar aldehitler, epoksitler, peroksitler ve peroksil radikallerdir.

**İnorganik partiküller:** Asbest, silica gibi mineral tozlar olarak bilinen inorganic maddelerin inhalasyon ile alımı serbest radikallerin oluşumuna yol açabilir.

**Gazlar:** Ozon bir serbest radikal değildir ancak güçlü bir oksidan maddedir. İn vitro olarak lipit peroksidasyonuna yol açtıkları gösterilmiş ancak in vivo olarak gösterilememiştir.

### 2.1.5. Serbest radikallerin etkileri

**Membran lipitleri peroksidasyonu:** Serbest radikallerin canlı hücre üzerine bilinen en önemli etkileridir. Lipid peroksidasyonu adı verilen işlemde hücre membranında bulunan poliansature yağ asitleri oksitlenir. Lipid peroksidasyonu direkt etkiyle hücre membran akışkanlığını, permabilitesini, ve bütünlüğünü bozduğu gibi hücre DNA'sı ve diğer molekülleri bozabilecek zincir reaksiyonu başlatırlar(5,6,47,48). Lipit peroksitler aldehit yada alkoxil radikal gibi oldukça sitotoksik ürünlere dönüşebilen siklik peroksidler oluşturabilir. Oluşan bu ürünler diğer membran lipitlerine dağılarak diğer hücrelerde zarar verir.

**Protein oksidasyonu:** Hücrel düzeyde proteinler, serbest oksijen türlerine maruz bırakıldıklarında aminoasit yan zincirinde modifikasyonlar oluşur ve sonuçta protein yapısı bozulur. Bu modifikasyonlar fonksiyonel değişikliklere yol açar. Bu durum hücrel metabolizmayı bozar. Okside proteinleri birikimi ve bozulmuş sellüler metabolizma nörodejeneratif hastalıklar, diabetes, arteroskleroz gibi birçok patolojik durumun ve yaşlanmanın patogenezinde sorumlu tutulmuştur.

**DNA hasarı:** Birkaç DNA hasar tipinin ROS'a bağlı olduğu düşünülmektedir. ROS deoksiriboz molekül yada purin yada primidin bazın herhangi bir yerine zarar verebilir. Şeker kısmına zarar verirse şekerin fragmantasyonu, baz kaybı ve zincir kırıklarına yol açar. Bazlara saldırı nükleotid bazlarının modifikasyonuna yol açar(49)DNA hasarını onaracak mekanizmalatr mevcuttur (6,50). Bununla beraber ortaya çıkan hatalı DNA her zaman onarılmayabilir. Bulgular bazı reaktif oksijen türlerinin DNA polimeraz aktivitesini değiştirdiğini göstermektedir. DNA da

meydana gelen hasarın az ama sürekli bir biçimde oluştuğu , yılda yaklaşık olarak 10000 baz oksidasyonunun gerçekleştiği göstermektedir(50). Farklı memeli hücrelerinde ve bakterilerde oksidatif strese sekonder gelişen DNA hasarının mutajenik etkilere sahip olduğu ileri sürülmüştür. Bilinen diğer DNA hasarı mekanizması, bozulmuş DNA replikasyonuna bağlı azalmış hücre proliferasyonu ve protein sentezidir.

### **2.1.6. Serbest radikallerin ölçümü**

Serbest radikaller oldukça kısa yarı ömre sahiptir. Bu özellikleri laboratuvar şartlarında ölçümlerini zorlaştırmaktadır. Radikaller direk olarak elektron spin rezonans ve spin trapping metotlarla ölçülebilir( 51,52,53). Ancak bu metodlar yapılması güç metotlardır. Bu metotlardan ziyade serbest radikallere bağlı oluşan ürünlerin ölçümü daha pratik ve daha kolaydır. Serbest radikallerin en iyi bilinen etkileri lipit peroksidasyonudur. Yağ asitler peroksidasyona uğradığında aldehitlere dönüşür ve bu aldehitler çeşitli yollardan vucuttan atılır. Thiobarbituricasit reacting substance ( TBARS), gibi aldehitler günümüzde serbest radikal ölçümünün en kabul gören ve en yaygın kullanılan belirteci veya markırıdır (54). En sık ölçülen TBARS ise MDA'dır.

## **2.2. ANTIOKSİDAN SİSTEMLER**

Serbest radikallere karşı vucutta “antioksidanlar” olarak adlandırılan savunma sistemleri mevcuttur. Antioksidanlar çeşitli mekanizmalarla etkilerini göstermektedir.

1. Radikal oluşumunun sınırlandırılması
2. Tetiklenen biyokimyasal reaksiyonların kırılması
3. Radikal reaksiyonlarının sona erdirilmesi
4. Oluşan radikallerin detoksifikasyonu
5. Hasarlı moleküllerin ortadan kaldırılması

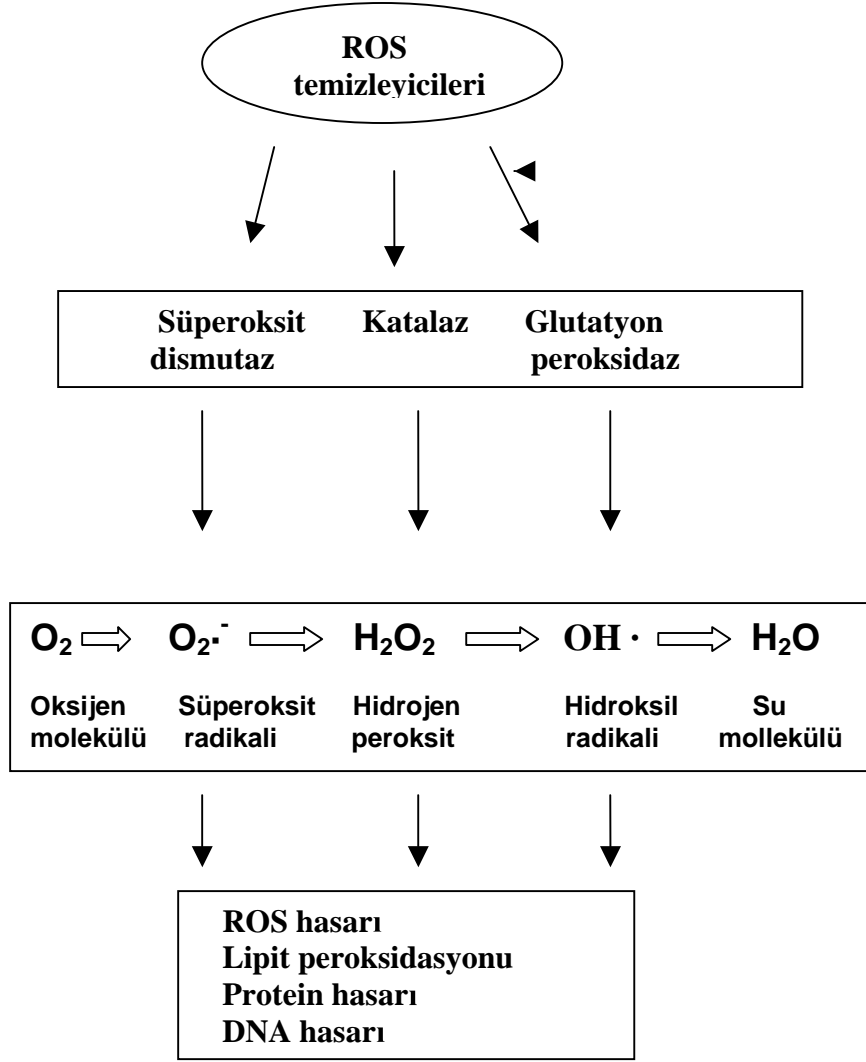
Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak iki başlık altında incelenebilir ve tabloda özetlenmiştir. Yerleşim yerine göre antioksidanlar: hücre içi antioksidanlar, membranda bulunan antioksidanlar, hücre dışı antioksidanlar olmak üzere üç başlık halinde ele alınabilir.

**Tablo 3: Antioksidan maddeler**

<b>ANTIOKSİDANLAR</b>	
<b>1. Doğal kaynaklı ( endojen) antioksidanlar</b>	
<b>Enzimatik olanlar</b>	<b>Enzimatik olmayanlar</b>
Süperoksit dismutaz	Vitaminler
Glutasyon peroksidaz	A-vitamini
Katalaz	C- vitamini
Fosfolipit hidroperoksidglutasyon peroksidaz	E- vitamini
Glutasyon S-transferaz	Vitamin olmayanlar
Mitokondriyal sitokrom oksidaz	Hb, Mb, ferritin, transferin
	Metionin, sistein, albumin
	Ürat, serüloplazmin, laktoferrin
	Bilirubin, glutasyon, sitokinler
<b>2. Eksojen ( ilaçlar) antioksidanlar</b>	
<b>1. Enzim inhibitörleri</b>	<b>4. NADPH oksidaz inhibitötleri.</b>
Ksantin oksidaz inhibitörleri	Adenozin
Tungsten	Lokal anestezikler
Allopurinol- oksopurinol	Ca-kanal blokörleri
Pterin aldehit	NSAİ
<b>2. Rekombinant süperoksit dismutaz</b>	Setiedil
<b>3. Trolox C= E vitamini analogu</b>	Difenilin
	İodonyum

### **2.2.1. Hücre içi antioksidanlar**

Süperoksit dismutaz, katalaz, glutasyon peroksidaz, sitokrom oksidaz hücre içinin iyi bilinen enzimatik antioksidanlarıdır. Elektron transport zincirinde oksijenin suya indirgenmesine kadar olan ara reaksiyonlarda beraber rol alırlar( şekil..). serbest radikallerin ortadan kaldırılmasında beraber çalışırlar.



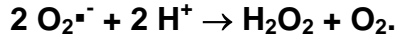
Şekil 3. Oksijen molekülünün suya kadar indirgenmesi antioksidan enzimler

**Süperoksit dismutaz(SOD):** Süperoksit radikalini dismutasyona uğratarak hidrojen peroksit'e dönüştürür. Vucutta substrat olarak serbest radikal kullanan tek enzimdir.

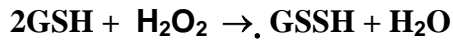


SOD' un Cu-Zn ve Mn kapsayan iki ayrı izoenzimi bulunmaktadır. Bakır ve çinko içeren tipi sitozolde, Manganez içeren tipi ise mitokondride yerleşim gösterir.

**Katalaz:** Yüksek konsantrasyonda oluşan hidrojen peroksitin detoksifikasyonunun sağlar. SOD ile başlayan reaksiyonun detoksifikasyonu tamamlanmış olur. Sıradaki reaksiyonu katalizler



**Glutasyon Peroksidaz( GPx):** Düşük konsantrasyonda oluşan hidrojen peroksitin detoksifikasyonunu sağlar.GSH-Px'in diğer enzimlerden atıran önemli özelliği selenyum gerektiren tek enzim olmasıdır. Enzimin aktif bölgesinde bir selenosistein rezidusu vardır. (-SH yerine -SeH yan zinciri vardır). Selenyumun insanlarda bilinen biricik görevi GSH-Px için bir kofaktör olmasıdır. GSH-Px redükte glutasyonu okside glutatyona dönüştürmek suretiyle hidrojen peroksitin suya indirgenmesine yol açar.



**Sitokrom oksidaz:** Oksijenin suya indirgenmesi sırasında radikal oluşumunu engeller.

**Glutasyon:** Glutasyon hücrelerde bulunan ve protein yapısında olmayan, düşük molekül ağırlıklı redükte thiollerin % 90'ında fazlasını oluşturur. Glutasyon bir serbest radikal temizleyicisi ve GSH redoks döngüsünde bir substrat olarak normal hücreleri oksidatif hasardan koruyan en önemli intrasellüler mekanizmalardan biridir. GSH reaktif oksijen türlerine karşı hücre içinin en önemli antioksidan molekülüdür. Tri peptid yapıdadır (Glutamil-sistein- glisin). GSH antioksidan sistemi hücrelerin temel koruyucu mekanizması ve immün yanıtın gelişiminde zorunlu bir faktördür. Temel etki mekanizması aktif bir thiol grubunu reversible oksidasyonu yoluyla gösterir. Deneysel veriler sisteinden zengin protein konsantrelerin, immün yanıt esnasında GSH depolanması için etkili bir sistein kaynağı olduğunu göstermiştir(55).

N-Asetil sistein bir sülfidril dönörüdür ve GSH için bir sistein kaynağıdır. Ancak GSH sentezi için sistein ile beraber ortamda GSH sentez eden enzimlerin olması gerekir. GSH-bağımlı redoks hemostaz hücrel metabolizma esnasında devamlı ortaya çıkan ROS düzeylerini kontrol eder.Antioksidan GSH vucutta bir çok biyolojik işlemde önemli roller oynar ve immün fonksiyonların ve inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde görev aldıkları gösterilmiştir(56,57). N-asetil sistein direkt antioksidan etkiye sahiptir (58). Son 20 yıldır asetaminofenin aşırı doz kullanımlarında güvenle kullanılmıştır.

### 2.2.2. Membranda bulunan antioksidanlar

**Vitamini E:** E vitamini iyi bilinen bir antioksidandır. Koruyucu etkisi sellüler ve subsellüler membranda bulunan uzun zincirli poliansature yağ asitleri üzerinedir(59,60). Vitamin E eksikliğinde antioksidan defansta yetersizlik görülür ve serbest radikallere bağlı membran lipit peroksidasyonu daha kolay görülür. Bir çok yayınlanmış bilgi E vitamininin lipit peroksidasyonunu inhibe ettiği ve böylece başta prematürler olmak üzere yenidoğanın hemolitik anemisi ve diğer birçok patolojiyi azalttığı sonucuna varmıştır Birkaç çalışma sigara içicilerinin beslenme durumunun yetersiz diyetten dolayı tehlike altına girdiği , sigara içiminin özellikle E vitamini olmak üzere az antioksidan alımı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Sigara içen annelerin dokularında suboptimal vitamin E düzeyleri tespit edilmiştir(60). Sigara içen annelerin bebeklerinde de anneye benzer sonuçlar elde edilmiştir ( 61). Düşük Vitamin E konsantrasyonunun oksidatif stres bulgularıyla ilişkili olduğu bir çok hastalıkta rapor edilmiştir

**Vitamin C:** Vitamin C güçlü bir elektron dönörüdür ve süperoksit ve hidroksil radikali ile etkileşime girer. Vitamin C özellikle lökositler olmak üzere oksidatif hasara karşı önemli bir rol oynar. Organizmada vitamin C'nin esas rolü bir redüktör olarak görev almasıdır (62). Aynı zamanda immun hücrelerin normal metabolizmaları için zorunlu olan bazı kompleks biyokimyasal yollarda modülatör görevi görür (63).

**Vitamin A:** Radikal toplayıcı etkisi bulunmaktadır.

### 2.2.3. Hücre dışı antioksidanlar:

Transferrin, laktoferrin, haptoglobülin ve hemopeksin, serüloplazmin, askorbik asit, bilürbin, albümin bilnen hücre dışı antioksidan maddelerdir. Genelde etkilerini serbest demir veya bakır iyonlarını bağlayarak gösterirler

### 2.3. OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİ

Oksidatif stresi gösteren birçok metot vardır. Bunlarda birisi aşırı serbest radikal oluşumunun gösterilmesidir. Serbest radikal ler oldukça kısa yarı ömre sahiptir. Bu yüzden laboratuvar şartlarında ölçümleri zordur. Serbest radikaller magnetik rezonans teknikleriyle ölçülebilir (51). Ancak bu teknikler kulanımı zor ve kulanışsızdır. Bir çok laboratuvar da bu tetkikler yoktur. Serbest radikal hasarı, serbest radikal in hücrelerle etkileşime girdikte sonra

oluşan ürünlerin vucut sıvılarında ölçümüyle gösterilebilir. Lipit peroksidasyon ürünleri (TBAR yada MDA gibi) literatürlerde en çok çalışılan metotlardır. Bunlar dışında superoksit dismutaz, katalaz, and glutatyon perodaz gibi enzimler, albumin, seruloplasmin, and ferritin gibi makromoleküler ve askorbik asit,  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, ubiquinol-10, redukte glutatyon (GSH), methionine, urik asit, and bilirubin küçük molekülerde ölçülebilecek antioksidanlardır (64). Tablo 4'te kullanılan oksidatif stres belirteçlerini göstermektedir.

Son zamanlarda farklı metotlarla bir çok örnekte total antioksidan ve total oksidan durum belirlenebilmektedir (65-71). Son zamanlarda Erel (20,21) tarafından geliştirilen otomatize bir metotla total oksidan kapasite ve total antioksidan kapasite kolay bir şekilde ölçülebilmektedir.

**Total oksidan kapasite (TOK):** Çözeltide bulunan serbest radikallerin plazmada bulunan antioksidanlarca supresyonunun kalorimetrik olarak ölçümüne dayanır.

**Total antioksidan kapasite (TAK):** Örneklerde bulunan radikallerin ortamdaki kaldırılmasına dayanır. Kalorimetrik yöntemlerle ölçülebilmektedir.

**Paraoksanaz:** Paraoksanaz -1 enziminin bir ögesidir. Paraoksanaz-1 ilk defa 1961 yılında insan kanında elektroforez çalışıldıktan sonra yüksek dansiteli proteinlerde (HDL) bir immünopresipitat olarak saptandı (72). Paraoksanaz-1 üç aktivitesi olan HDL ilişkili bir enzimdir. Bunlar paraoksanaz, aril esteraz, ve diyazooksanazdır(73). Bir çok organofosfat ve aromatik karboksilik asit esterlerinin hidrolizini katalizlediğinden, paraoksanazın insektisitler (paraokson, diazoxon) ve sinir gazları ( sarin, soran, tabun) gibi ksenobiotiklerin metabolizmasında önemli rol aldıkları düşünülmüştür (74). Paraoksanaz HDL ile birlikte antioksidan bir enzimdir ve düşük dansiteli proteinlerin (LDL) oksidasyonunu engeler ve lipit peroksidlerin birikimini önlemiş olur.

**Serüloplazmin:** Serüloplazminin antioksidan özelliği serbest halde bulunan demir ve bakır gibi geçiş elementleri iyonlarını bağlamasından ileri gelir.

**Total thiol grubu:** Thiol grubu içeren maddeler antioksidan özelliklere sahiptir. Bunun en iyi örneği glutatyonudur. Redükte glutatyon serbest radikallerden bir elektron alarak glutatyonil radikali oluşturur. İki glutatyonil radikali birleşerek okside glutatyonu (GSSH) oluşturur.

**Tablo 4 : Oksidatif stresin biyolojik ölçümleri**

<b>Örnek materyal</b>	<b>Ölçülen madde</b>
<b>Serum</b>	Redükte veya total glutatyon Glutatyon peroksidaz Süperoksit dismutaz, Katalaz Lipit peroksitler Protein karboniller Malondialdehit Tokoferol, Karoten Selenium Askorbat Paraoksanaz Serüloplazmin Total peroksidaz konsantrasyonu Total antioksidan kapasite
<b>İdrar</b>	F2-izoprostanlar Thiobarbiturik asit-reaktan substans(TBARS) 8-Oxo-7,8-dihidro-2-deoxyguanosin
<b>Ekshalasyon havası</b>	Hydrojen peroksit Alkanlar metilen alkan eğrisi pentan etan 8-izoprostanlar TBARS

## 2.4. YENİDOĞAN, PREMATURE VE OKSİDATİF STRES

### 2.4.1. Prenatal ve perinatal dönemde oksidatif stres nedenleri:

Gebelik yüksek metabolik ihtiyaç ve doku oksijeni için artmış gereksinimlerin eşlik ettiği fizyolojik bir durumdur (75). Bu artmış oksijen ihtiyacı beraberinde serbest radikal oluşumundaki bir artışı getirmektedir (76). Normal gebe kadınlarda oksidatif stres ve lipit peroksidasyonu gebe olmayan kadınlara göre artmıştır. Lipit peroksidasyonu önemlidir . Çünkü kontrolsüz oluşumları ilave bir oksidatif stres ile sonuçlanır ki bu hücre yapısında hasara yol açar ve major maternal ve fetal morbiditeye yol açar. Yapılan iki çalışmada (77,78) gebe kadınların kanlarında SOD ve GPx düzeyleri düşük bulunmuştur.

Plasenta majör serbest radikal kaynağıdır. Ancak gebeliğin ilerleyişi ile beraber SOD, katalaz, GPx, GSH gibi antioksidanlar da artmaktadır ve böylece serbest radikaller kontrol altına alınabilmektedir (79-81). Pre-eklampsi prematür doğum ve intrauterin gelişim geriliğinin başlıca nedenidir (82). Pre-eklampsinin etyolojisinde mekanizmalardan biri olarak serbest radikal hasarı suçlanmıştır.

Perinatal asfiksi sırasında hipoksi ve iskemiye bağlı olarak beyin dokusu yeterli baslenemez ve yeterli oksijen alamaz ve sonuç olarak nöronal hücre hasarı görülür. Re-perfüzyona bağlı olarak serbest oksijen radikalleri aşırı miktarda oluşur. Hipoksi esnasında özellikle prematürlerde olmak üzere serbest demir miktarında artış olur. Bu da serbest radikal hasarını artırır.

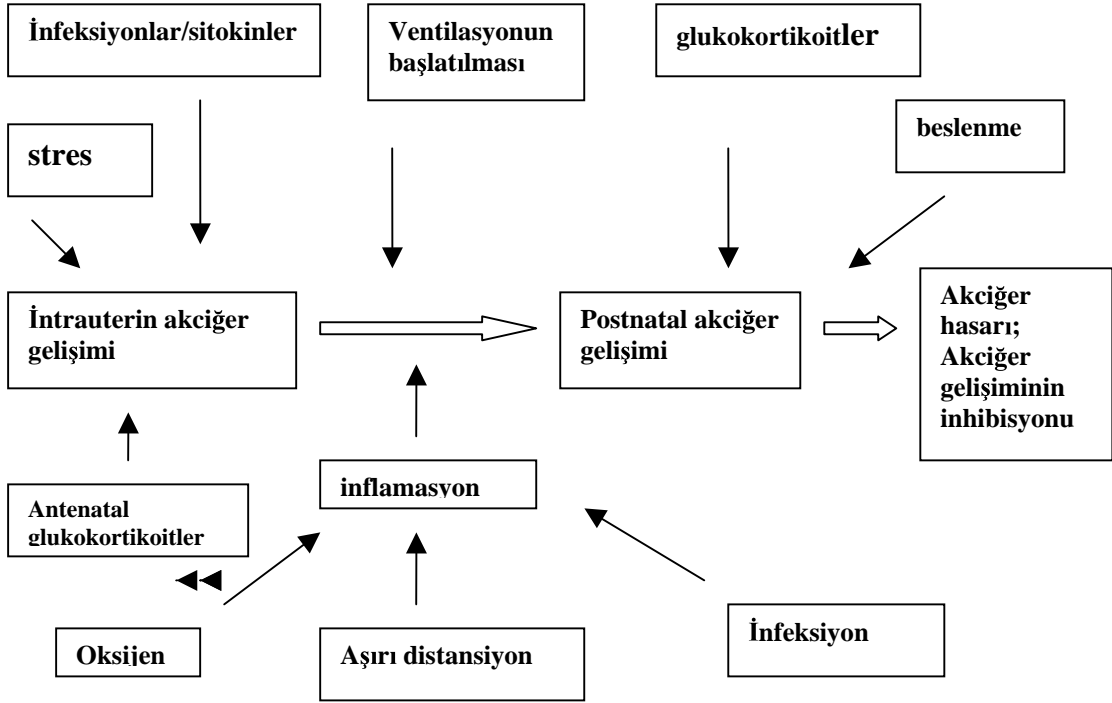
### 2.4.2. Premature

Tüm doğumların yaklaşık % 12' sini prematür doğumlar oluşturmaktadır. Prematürite ve prematürite sorunları hala dünyada yenidoğanda en önemli morbidite ve mortalite nedenidir. Yenidoğanlar, özellikle prematür doğan infantlar daha fazla oksidatif strese maruz kalırlar. Hipoksik bir ortamdan-intrauterin hayattan- rölaf olarak dış dünyaya gelişlerinde hiperoksik ortamla karşılaşmaları, yüksek oksijen konsantrasyonlarına maruz kalmaları, infeksiyon ve enflamasyonlarla sık karşılaşmaları ve de antioksidan defans sistemlerinin zayıf olmaları, prematürleri serbest radikal hasarıyla karşı karşıya getirmektedir.

Bronkopulmoner displazi (BPD), Prematür retinopatisi (ROP), İntravetriküler kanama (İVK), Periventriküler lökomalazi, Nekrotizan enterokolit (NEK) gibi preterm infantlarda sık görülen hastalıklar serbest radikal hasarı ile ilişkilendirilen hastalıklardır(83-85). Prematürlerin bu sık görülen problemleri ve oksidatif stres ile olan ilişkileri daha detaylı anlatılmıştır.

### 2.4.3. Bronkopulmoner displazi:

Bronkopulmoner displazi (BPD) preterm infantlarda en sık görülen kronik akciğer hastalığıdır(86). Bronkopulmoner displazinin patogenezinde antenatal dönemden başlayarak postnatal döneme kadar devam eden süreçte birçok etken suçlanmıştır. İnfeksiyonlar, sitokinler, stres, antenatal glukokortikoidler suçlanan antenatal faktörler iken enfeksiyon,inflamasyon, yüksek konsantrasyonlarda oksijen alımı, barotravma olarak mekanik ventilasyon, glukokortikoidler, beslenme ise suçlanan postnatal döneme ait faktörlerdir. BPD'nin patogenezi Şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4: BPD' nin patogenezinde bakıldığında pre-natal ve post-natal faktörlerin etkili olduğu görülmektedir (93).

BPD genelde prematür infantlara ait bir hastalıktır. Teorik olarak enfeksiyon, inflamasyon, travma, yüksek konsantrasyonlarda oksijen alımı serbest radikallerin aşırı oluşumları ile ilişkilidir. Yapılan birçok çalışma prematürlerde antioksidan defans mekanizmasının tam gelişmediği ve yetersiz olduğu gösterilmiştir. Oksidatif stres serbest radikal oluşumu ile antioksidan sistemler arasındaki hemostatik dengenin bozulması; aşırı

serbest radikal oluşumu ve antioksidan defans sisteminin yetersizliği sonucu meydana geldiği düşünülürse, oksidatif stres BPD'nin patogeneğinde en önemli mekanizmalarından biri olarak kabul edilebilir.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda(87,88) oksidatif stres BPD ile ilişkili bulunmuştur. Ogihara(88) ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, hayatın ilk günlerinde artmış lipid peroksidasyon ürünleri ile gösterilen oksidatif stressin kronik akciğer hastalığı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Aynı şekilde yapılan başka iki çalışma(89,90) yüksek konsantrasyonda oksijene maruziyet ile BPD gelişimi arasında yakın bir ilişki saptanmıştır.

Van Marter ve arkadaşları(90) solunan oksijen konsantrasyonunun BPD'li infantlarda olmayanlara göre daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. % 100'lük solunan fraksiyonel oksijen miktarının bronkopulmoner riskini iki kat artırdığı gösterilmiştir. Buna karşılık KAH gelişen ile gelişmeyen infantların arteriyel oksijen basınçları ile oksijen saturasyonları farklı tespit edilmemiştir. Otörler aşırı oksijen verilisinin yada barotravmanın KAH riskini artırabileceği ancak yüksek oksijen basıncının KAH'tan ziyade başka durumlar için risk teşkil edebileceği sonucuna varmıştır.

Buss ve arkadaşları(91) ile Winterborn ve arkadaşları(92) tarafından yapılan iki ayrı çalışmada 1500 gr altı infantların trakeal aspiratları daha büyük infantlarınkıyla karşılaştırıldığında oksidan belirteçlerin düzeyleri ile KAH gelişimi arasında önemli bir ilişki bulunmamıştır. Buss ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada protein oksidasyonu ile nötrofil aktivasyonu arasında yakın ilişki bulunmuştur. Winterburn ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada da BPD yada ROP gelişen ve gelişmeyen infantlar arasında protein ve lipid peroksidasyonu yönünden anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Bu iki çalışma, daha önceki çalışmalardan farklı olarak oksidatif stres-BPD ilişkisinden ziyade prenatal inflamasyon ile KAH gelişimi arasında bir ilişkiyi desteklemektedir.

#### **2.4.4. Prematür retinopatisi (ROP=Retinopathy of prematurity)**

ROP gelişmiş ülkelerde infantlarda görülen körlüğün ana nedenlerinden biridir. Retinanın ana vaskularizasyon bozukluğu olan bu hastalık daha önceleri retrolental displazi olarak adlandırılmakta idi. ROP sıklıkla yüksek oksijen konsantrasyonuna maruz kalan prematür infantlarda görülür. 1000 gram altı bebeklerin yaklaşık % 82'sinde 1000-1500 arası

bebeklerin % 43'nde ROP gelişmekte ve bu bebeklerin sırasıyla % 9.3 ve % 2.2'si kalıcı körlükle sonuçlanmaktadır (94).

ROP'un patogeneğinde prematurite, suplemental oksijen ve immatür retinal damarların vazokonstrüksiyonuna yol açan nedenler suçlanmıştır. Hardy ve arkadaşları(95), araştırma makalesinde ROP'a yol açan bazı mekanizmaları özetlemiş ve şöyle açıklamıştır: Koroid retinanın ana oksijen kaynağıdır. Yenidoğanda otoregülasyon zayıftır. Dolayısıyla hiperoksijenizasyonu sıklıkla oluşur ve preterm infantların retinasında antioksidan defans yetersiz olmsından ötürü hiperoksijenizasyon oksidatif hasar ile sonuçlanmaktadır. Hiperoksijenizasyon vazoaktif isoprostanların peroksidasyonuna yol açar. Bu da vazokonstrüksiyon ve iskemiye yol açan vasküler toksisiteye yol açar. Bu durum ROP gibi vazoproliferatif retinopati gelişimine predispozisyon oluşturur. Prostonoidler ile NO arasında bir feed-back ilişki vardır. Çünkü bazı protoglandinlerin etkileri NO bağımlıdır. Bu yüzden immatür retinanın dolaşım kontrolü üzerine prostonoidler, NO, peroksidasyon ürünlerini içeren kompleks bir etkileşimin olduğu görülmektedir.

Glutasyon en önemli intrasellüler antioksidanlardan biridir. Fetal hayata ve pretermelerde glutasyon seviyesi düşüktür. ROP gelişim riski yüksek olan infantların vitröz sıvılarında yüksek potansiyel radikal kaynağı ve hipoksantin düzeyine sptanmıştır (96). Papp ve arkadaşları(97) ROP'lu 50 hastayı 6 haftadan 6 aya kadar glutasyon düzeyi yönünden incelediler. Üçüncü ayında en düşük glutasyon (GSH) ve en yüksek okside glutasyon(GSSH) seviyelerini saptadılar. ROP gelişen hastalarda GSSH/GSH oranını 2 kat daha yüksek buldular. Bu da oksidatif stressin ROP ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

#### **2.4.5. Periventriküler lökomalazi (PVL):**

Periventriküler lökomalazi lateral ventriküle bitişik beyaz cevherin iskemik enfarktı sonucu gelişir. 1500 gram altı infantların % 2 ile % 22'sinde PVK bildirilmiştir(98). Bir çok kanıt patogeneşte üç ana mekanizmayı suçlamıştır: arteriyel uç zonun beyaz cevherde sonlanması, serebral kan akımının serebrovasküler oto-regülasyonunda maturasyon-bağımlı bozukluğu ve prematür oligodendrositlerin serbest radikallere duyarlılığıdır(99-101).

Beyin dokusu yüksek PUFA konsantrasyonuna ve düşük SOD ve GPx düzeylerine sahiptir. Bundan dolayı beyin özellikle serbest radikal hasarı için yüksek risk oluşturur. İskemi-repersüzyon hasarında prematürlerin beyin dokusunda yüksek oranda serbest demir düzeyleri tespit edilmiştir(102,103). Reperfüzyonun erken safhasında süperoksit ve hidrojen peroksit oluşumunda artış görülür. Bunlar serbest demir varlığında hidrosil radikallerine

dönüşürler ve hidroksil radikalleri lipit peroksidasyonunu başlatırlar. Bu durum sonuç itibariyle beyin dokusunda oligodendrosit kaybıyla sonuçlanır.

İmmatür oligodendrositler matür olanlara göre serbest radikal hasarına daha az dayanıksız oldukları görülmüştür (104). Bu durum PVL'nin prematürlerde daha fazla görülmesinin nedenini açıklayabilir.

#### **2.4.6. Nekrotizan enterokolit (NEK):**

NEK prematürlerde en sık görülen gastrointestinal problemlerden biridir. Patogenezinde esas olay vasküler hasardır. İnfeksiyöz ajanlar, inflamatuvar mediatörler, dolaşım yetersizliği, ve aşırı beslenme, formül mamalar vasküler hasara yol açmaktadır (105). Bir çok çalışmada patogenezinde önemli bir faktör olarak serbest radikal hasarı suçlanmıştır ve prematüritenin radikal kaynaklı hastalığın bir parçası olarak görülmüştür(106-109). Patogenezindeki faktörlerin çoğunluğu aşırı serbest radikal oluşumu ile ilgili durumlardır. İskemi, prematurite, inflamasyon, infeksiyon oksidatif stres için predispozisyon oluşturur.

### 3. MATERYAL METOD

**Hastalar ve özellikleri:** Mart 2006 ile temmuz 2006 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Doğum ve Hastalıkları Kliniği'nde doğan 48'i term, 34'ü preterm ve 27'si term düşük doğum ağırlıklı olmak üzere toplam 109 yenidoğan çalışmaya alındı. Yenidoğanların gebelik haftaları son adet tarihi, New Ballard skoru ve ultrasonografik ölçümlerle saptandı. Gebelik haftası 37 haftanın üzerinde olan yenidoğanlar term (grup 1), 37 haftanın altında olanlar preterm (grup 2), 37 haftanın üzerinde ve ağırlık persentili 10'un altında olanlar (Lubchenco'nun intrauterin büyüme eğrisine göre) term düşük doğum ağırlıklı (grup 3) olarak kabul edildi. Annede sistemik bir hastalığı tespit edilen, 5. dakika APGAR'ı 7'nin altında ve anomalisi olan yenidoğanlar çalışmaya alınmadı. Örnek alımından önce aileden sözlü ve yazılı onay alındı.

**Örneklerin toplanması:** Doğumdan hemen sonra göbek kleplendikten sonra klempin anne tarafında olan 10-15 cm'lik kısmından umbilikal venden 2 cc'lik kord kanı alındı, düz biyokimya tüpüne aktarıldı ve 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstte kalan serum epend-off tüpüne bırakılarak 1 saat içerisinde -80 °C'de saklandı.

**Total peroksit konsantrasyonun (TPK) ölçümü:**Total oksidan kapasitenin bir göstergesi olarak TPK minör modifikasyonlarla (109) FOX2 metodu (110) kullanılarak ölçüldü. FOX2 test sistemi plazma örneklerinde bulunan farklı peroksitlerin ferröz demiri (Fe<sup>++</sup>) ferrik demire (Fe<sup>+++</sup>) oksidasyonu temelindedir. Oluşturulan ferrik demir renksiz xylenol oranj ile reaksiyona girerek renkli ferrik-xylenol kompleksi oluşturur ve bunun absorbanısı ölçülür. Otomatize sistemlere uyarlanarak plazma total peroksit konsantrasyonunun kalorimetrik ölçümü elde edildi.

**Total antioksidan kapasitesinin (TAK) ölçümü:** Plazma TAK düzeyi Erel (20) tarafından geliştirilen otomatize kalorimetrik bir metodla ölçüldü. Bu metodla en potent biyolojik radikal olan hidroksil radikali Fenton Reaksiyon'u ile oluşturuldu ve parlak sarı-kahverengi olan

dianysil radikal oluşturmak üzere renksiz substrat O-dianysil ile mumele edildi. Plazma örneklerinin ilavesiyle reaksiyon karışımında bulunan hidroksil radikallerin başlattığı oksidatif reaksiyonlar plazmada bulunan antioksidanlar baskılanır ve renk değişimini engeleyerek plazma total antioksidan kapasitesinin güvenilir ölçümünü verir (111). Bu ölçüm mmol Trolox eq/L olarak ifade edilir

**Oksidatif stres indeksi (OSI):** Total peroksit konsantrasyonunun total antioksidan kapasiteye bölümü oksidatif stresin bir göstergesi olarak oksidatif stres indeksini vermektedir.

**Total sülfidril gruplarının (TSF) ölçümü:** TSF, Hu ve arkadaşları (112) tarafından modifiye edilen Ellman (113) metoduyla ölçüldü. Bu spektrofotometrik ölçümde sülfidril grup konsantrasyonu serbest sülsidril grup standardı olarak redükte glutatyon kullanılmasıyla ölçüldü ve sonuçlar millimolar olarak ifade edildi.

**Paraoksanaz enzim aktivitesi ölçümü:** Paraoksanaz enzim aktivitesi ölçümünde substrat olarak paraokson ve bunun enzimatik hidrolizi sonucu oluşan 4-nitrofundinin spektrofotometrik ölçümü esas alındı.

**Serüloplazmin aktivitesinin ölçümü:** Serüloplazminin enzimatik aktivitesi Erel (114) metoduyla ölçüldü. Bu metota ferröz iyonlar serüloplazmin ferroksidaz aktivitesiyle ferik iyonlara okside edilir. Okside olan demir miktarı enzimatik aktivite ile ilişkilidir. Serüloplazminin enzimatik aktivitesi sodyum azid ile inhibe edilir.

**İstatistiksel analiz:** İstatistiksel analiz SPSS 11.0 versiyonu kullanılarak yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında ANOVA ve gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılığı belirlemede Post Hoc Bonferroni testi kullanıldı.

#### 4. BULGULAR

Çalışma kapsamına toplam 109 yenidoğan alındı ve 3 ayrı gruba ayrıldı. Grup 1; 48 term, grup 2; 34 preterm ve grup 3; 27 term düşük doğum ağırlıklı yenidoğandan oluştu. Grup 1, grup 2, grup 3'teki yenidoğanların ortalama gebelik haftaları sırasıyla  $39.4 \pm 0.9$ ,  $32.38 \pm 2.28$ ,  $37.7 \pm 0.81$  hafta ve ortalama vucut ağırlıkları  $3502 \pm 487$ ,  $1789 \pm 434$ ,  $2055 \pm 461$  gram idi. Grup 1 yenidoğanların 27'si erkek 21'i kız, grup 2'nin 21'i erkek 14'ü kız, grup 3'ün 17'si erkek 10'u kız idi. Yenidoğanların özellikleri Tablo 5'te gösterilmiştir.

**Tablo 5 . Yenidoğanların özellikleri**

	<b>Grup 1(n=48)</b>	<b>Grup 2(n=34)</b>	<b>Grup 3(n=27)</b>
<b>Gebelik haftası</b>	$39.04 \pm 0.9$ hafta	$32.38 \pm 2.3$ hafta	$37.7 \pm 0.81$ hafta
<b>Vucut ağırlığı</b>	$3500 \pm 487$ gram	$1789 \pm 434$ gram	$2055 \pm 416$ gram
<b>Erkek/kız</b>	27 / 21	21 / 14	17 / 10
<b>Sezeryan / NSVY</b>	32 / 16	18 / 16	18 / 9
<b>Ortalama anne yaşı</b>	$30.5 \pm 5.4$ yıl	$26.5 \pm 4.8$ yıl	$27.5 \pm 5.7$ yıl
<b>Gebelik sayısı</b>	$4 \pm 2.8$	$3 \pm 2$	$4 \pm 3.1$
<b>Gebelikte sigara içen anne sayısı</b>	6	9	9

**NSVY:** Normal spontan vajinal yolla doğum

Grupların ortalama değerleri, karşılaştırmaları ve istatistiksel farklılıkları Tablo 6'da gösterilmiştir. Grup 1 ile grup 2 karşılaştırıldığında total antioksidan kapasite, myeloperoksidaz yönünden farklılık yoktu. Total tiol grubu, serüloplazmin, MDA düzeyi term infantlarla karşılaştırıldığında pretermelerde daha düşüktü, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( sırasıyla,  $p= 0.19$ ,  $p= 0.06$ ,  $P=0.298$ ). Katalaz, TPK, Paraoksanaz ve OSI yönünden her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı (sırasıyla  $p<0.001$ ,  $p=0.04$ ,  $p=0.001$ ,  $p=0.048$ ). Katalaz ve paraoksanaz grup 1'de daha düşük iken TPK ve OSI daha yüksek idi.

**Tablo 6. Sonuçlar ve sonuçların gruplar arasında karşılaştırılması.**

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 1-2	Grup 1-3	Grup 2-3
TPK	22,167±2,682	40,118±7,289	36,042±7,056	p<0,05	p=0,272	p=1,00
TAK	1,070 ± 0,029	1,054 ± 0,031	1,121 ± 0,043	p=1,00	(p=0.88)	p=0,594
OSI	25,730±2,881	43,845±7,451	40,039±7,429	p<0,05	p=0,278	p=1,00
MDA	7,816 ±0,792	13,65± 2,312	17,282±5,736	p=0,29	(p=0,055)	p=1,00
Katalaz	207,09±6,306	68,54 ± 7,076	82,04 ± 6,563	p<0.001	p<0.001	p<0.001
TTG	0,284 ± 0,011	0,255 ±0,014	0,268 ± 0,005	p=0.188	p=1,00	p=1,00
Paraoksanaz	58,17 ± 3,783	38,14 ± 3,769	41,48 ± 3,461	p=0,001	p=0,016	p=1,00
MPx	92,733 ±9,279	84,603±4,162	114,94±17.63	p=1,00	p=0.75	p=0,421
Serüloplazmin	399,63 ±7,722	366,57±0,128	443,42±17,87	p=0,060	p=016	p<0.001

Not: P<0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

**TPK:** total peroksit konsantrasyonu, **TAK:** total antioksidan kapasite (mmol Trolox eq/L), **OSI:** oksidatif stres indeksi, **MDA:** malondialdehit, **TTG:** total tiol grubu, **Mpx:** myeloperoksidaz

Grup 1 ile grup 3 karşılaştırıldığında total tiol grubu, TAK, myeloperoksidaz yönünden anlamlı farklılık yoktu (sırasıyla p=1.00, p=0.88, 0.715). Malondialdehit, TPK, OSI değerleri grup 3'te daha yüksekti ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (p sırasıyla p=0.055, p=0.272, p=0.278). Katalaz, paraoksanaz ve serüloplazmin düzeyleri iki grup arasında farklı ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı idi (sırasıyla p<0.001, p=0.016, p=0.016). Term infantlarla karşılaştırıldığında term düşük doğum ağırlıklı infantlarda katalaz ve paraoksanaz düzeyi düşük iken serüloplazmin düzeyi daha yüksek idi.

Grup 2 ile grup 3 karşılaştırıldığında total tiol grubu, paraoksanaz, MDA, TPK, OSI yönünden anlamlı bir farklılık yoktu (p sırasıyla p=1.00, p=1.00, p=1.00, p=1.00, p=1.00). Pretermle karşılaştırıldığında, term düşük doğum ağırlıklı infantlarda katalaz, TAK ve myeloperoksidaz değerleri daha yüksek, ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi (p sırasıyla p=0.652, p=0.594, p=0.421). Serüloplazmin düzeyi grup 2'ye göre grup 3'te daha yüksek ve bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı tespit edildi.

## 5. TARTIŞMA

Fizyolojik koşullar altında serbest radikal oluşumu ile antioksidanlar arasında hemostatik bir denge vardır (24). Oluşan serbest radikaller vucutta üretilen veya dışarıdan alınan bir çok antioksidan tarafından inaktive edilir. Reaktif oksijen türlerinin aşırı oluşumu yada antioksidan defans sistemindeki yetersizlik bu dengenin bozulmasına yol açmaktadır. Serbest radikal oluşumunun göstergesi olarak total peroksit konsantrasyonu ve antioksidan defans sistemini yansıtmaya açısından da total antioksidan kapasitesi ölçüldüğü çalışmamızda oksidatif stres göstergesi olarak oksidatif stres indeksi belirlendi ( TPK/TAK oranı). OSI değerinin oksidatif stresi yansıtmada güvenilir bir değer olduğu gösterilmiştir (109). Çalışmamızda gruplara bakıldığında en yüksek TAK değeri term düşük doğum ağırlıklı bebeklerde saptandı. Ancak term bebeklerle karşılaştırıldığında bu grubun daha yüksek OSI değerlerine sahip olduğu görüldü. Bu bulgu oksidatif stres durumunun belirlenmesinde total antioksidan kapasite yanında total oksidan kapasitesi ölçümünün daha doğru olacağını göstermektedir.

Antioksidanların birbirleri arasında etkileşime sahip ve sürekli yapılanma içerisinde oldukları iyi bilinmektedir (24). Farklı antioksidanlar oksidatif durum üzerine additif etki gösterirler. Her antioksidanın tek başına ölçülmesi antioksidan defans sistemini tam anlamıyla yansıtmayabilir (115). Dolayısıyla yüksek riskli gruplarda eş zamanlı tüm antioksidan panelinin çalışılması gerekir. Pratikte eş zamanlı tüm antioksidanları kullanımı zor, zaman alıcı ve pahalıdır. Bu anlamda total antioksidan kapasitenin ölçümü antioksidan statünün saptanmasında önemli bir ölçüm metodudur (20).

Bronkopulmoner displazi, prematür retinopatisi, intraventriküler kanama, nekrotizan enterokolit, periventriküler lökomalazi gibi yenidoğan morbiditelerin çoğunluğu prematür bebeklerde görülmekte olup serbest radikal hasarı ile ilişkilendirilmiştir (83-85). Bu hastalıkların serbest radikal hasarı ile ilişkilendirilmesinde bir gerekçe olarak prematür bebeklerde antioksidan defans mekanizmasının yetersiz olması gösterilmiştir ve yapılan bir kaç çalışmada SOD, katalaz, GPx gibi bazı enzimatik antioksidanlar ile E vitamini, A vitamini, serüloplazmin gibi enzimatik olmayan antioksidanların prematürlerde düşük olduğu ve bu antioksidanların gebelik yaşıyla orantılı olarak arttığı bildirilmiştir(116-119). Paraoksanaz, katalaz, serüloplazmin, total tiol grubu, myaloperoksidaz düzeyi ve total antioksidan kapasite ölçümlerinin kullanıldığı çalışmamızda term bebeklerle karşılaştırıldığında preterm bebeklerde bu antioksidanlar daha düşük tespit edildi.

Thiol grubu serbest radikallerle etkileşime girdiklerinde bir elektron alarak serbest radikalleri etkileşimsizleştirir (120). Glutasyon yapısında thiol grubu içeren protein yapıda olmayan hücrel antioksidan defans sisteminin en önemli elemanlarından biridir. Ancak vucutta protein yapısında olmayan ve thiol grubu içeren pek çok maddelerin olduğu iyi bilinmektedir. Çalışmamızda total thiol grubu çalışıldı ve sağlıklı term bebeklerle karşılaştırıldığında preterm ve term düşük doğum ağırlıklı bebeklerde daha düşük total thiol grubu tespit edildi.

Katalaz, SOD, GPx antioksidan defans sisteminin ana enzimatik antioksidanlarıdır. Katalaz ve GPx bereber hidrojen peroksite suya indirgenmesinde rol oynar. Paraoksanaz yüksek dansiteli proteinlerin (HDL) yapısında yer alan ve düşük dansiteli lipoproteinlerde yağ oksidasyonunu engelleyerek antioksidan özelliği gösteren bir enzimdir (74). Myeloperoksidaz aşırı serbest radikallerin olduğu “repiratuvar burst” olarak adlandırılan olayda oluşan hipoklorik asitin suya indirgenmesinde rol oynamaktadır. Çalışmamızda paraoksanaz, katalaz, total thiol grubu preterm ve term düşük doğum ağırlıklı bebeklerde düşük tespit edildi. Myeloperoksidaz düzeyi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermedi. Lee ve arkadaşları (121) yaptıkları çalışmalarında term bebeklerle karşılaştırıldığında preterm bebeklerde daha düşük katalaz düzeyini tespit ettiler. Ancak term AGA ile term SGA’lıları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulamadılar. Çalışmamızda katalaz düzeyi hem prematürlerde hemde term düşük doğum ağırlıklı bebeklerde düşük bulundu ve bu düşüklük istatistiksel olarak anlamlı idi (sırasıyla  $p<0.001$ ,  $p<0.001$ ).

İntrauterin gelişme geriliği perinatal morbidite ve mortaliteyi etkileyen faktörlerden biridir. İntrauterin gelişme geriliği ile oksidatif stres ilişkisini gösteren çok az çalışma mevcuttur (121-123). Hindistan’da yapılan iki çalışma (122,123 ) İUGR’li bebeklerin kord kanında artmış oksidatif stres bulgularını göstermiştir. Gupta ve arkadaşları (122) kord kanında serumda MDA ve eritrositlerde SOD, katalaz, redükte glutasyonu çalıştılar ve term normal kiloda olan bebeklerle karşılaştırdıklarında yüksek MDA düşük SOD, katalaz ve redükte glutasyon düzeylerini saptadılar. Kamath ve arkadaşları (123) term düşük doğum ağırlıklı yenidoğanların kord kanlarında eritrositlerde artmış MDA düzeyini saptadılar. Çalışmamızda term düşük doğum ağırlıklı bebeklerde katalaz, paraoksanaz, total thiol grubu düşük saptandı. Ancak term bebeklerle karşılaştırıldığında total antioksidan kapasite daha yüksek bulundu. Bununla beraber, TPK ve MDA düzeylerinde artış saptandı. Oksidatif stressin bir göstergesi olarak oksidatif stres indeksi yüksek bulundu.

## 6. SONUÇ

Sonuçlarımız prematür ve intrauterin gelişme geriliği olan yenidoğanların doğum sırasında daha fazla oksidatif strese maruz kaldıklarını göstermektedir. Eş zamanlı total oksidan kapasite ve total antioksidan kapasite ölçümünün, oksidatif stresi yansıtmada daha doğru bir ölçüm metodu olabileceği inancındayız. Prematür ve intrauterin gelişme geriliği olan bebeklerde sık görülen hastalıkların patogenezinde oksidatif stres rol oynayabilir. Bu iki risk grubunda serbest radikal oluşumuna katkıda bulunan infeksiyon ve inflamasyon gibi durumların engelenmesi, suprafizyolojik miktarlarda oksijen kullanımının minimize edilmesi patogenezinde serbest radikal hasarı düşünülen hastalıkların sıklığını azaltabilir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Halliwell B: Free radicals, antioxidants and human disease: Curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 1994; 721-724
2. Fridovich I: Oxygen toxicity: A radical explanation. *J Exp Biol* 1998; 201:1203-1209
3. Jankow RP, Negus A, Tanswell AK. Antioxidants as therapy in the newborn: some words of caution. *Pediatr Res* 2001; 50:681-687
4. Gutteridge JM, Mitchell J. Redox imbalance in the critically ill. *Br Med Bull* 1999; 55:49-75
5. Sugstad OD: Mechanism of tissue injury by oxygen radicals: implications for neonatal disease. *Acta Paediatr* 1996; 85:1-4
6. Sarker AH, Watanabe S, Seki S, Akiyama T, Okada S. Oxygen radical-induced single strand DNA breaks and repair of the damage in cell-free system. *Mutat Res* 1995; 337:85-95
7. Victor VM, Rocha M, De la Fuente M. Immune cells: free radicals and antioxidants in sepsis. *Int Immunopharmacol* 2004; 4:327-347
8. Gori T, Lisi M, Farkoni S. Ischemia and reperfusion: The endothelial perspective. A radical view. *Clin Hemorheol Microcirc* 2006; 35(1-2):31-34
9. Jamieson D, Chance B, Cadenas E, Boveris A: The relation of free radical production to hyperoxia. *Annu Rev Physiol* 1986; 48:703-719
10. Zimmerman JJ. Defining the role of oxyradicals in the pathogenesis of sepsis. *Crit Care Med* 1995; 23:616-617
11. Miesel R, Mutphy MP, Kroger H. Enhanced mitochondrial radical production in patients with rheumatoid arthritis correlates with elevated levels of tumor necrosis factor alpha in plasma. *Free Radic Biol Med* 1996; 25:161-169
12. Moham IK, Das UN. Oxidant stress, anti-oxidants and essential free acids in the systemic lupus erythomatosis. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997; 56:193-198
13. Grisham MB. Oxidants and free radicals in inflammatory disease. *Lancet* 1994; 344:859-861
14. Richard C, Lemonier F, Thibault M, Cauturier M, Auzepy P. Vitamin E deficiency and lipoperoxidation during adult respiratory distress syndrome. *Cri Care Med* 1990; 18:4-9

15. Santini SA, Marra G, Giardina B, et al. Defective plasma antioxidant defenses and enhanced susceptibility to lipid peroxidation in uncomplicated IDDM. *Diabetes* 1997;46:1853-1856
16. Hensrud DD, Heimburger DC. Antioxidant status, fatty acids, and cardiovascular disease. *Nutrition* 1994; 10:170-175
17. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, MacNee W. Systemic oxidative stress in asthma, COPD, and smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:1055-1060
18. Saugstad OD. Oxidative stress in the newborn- a 30 years perspective . *Biol Neonate* 2005; 88(3):228-236
19. Saugstad OD: Update on oxygen radical disease in neonatology. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2001; 13:147-153
20. Erel O: A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004, 37:112-119.
21. Erel O: A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005, xx:xxx-xxx.
22. K. H. Cheeseman and T. F. Slater. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49:481-493
23. Chance B, Sies H, Boveris A: Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 1979, 59:527-605.
24. Gutteridge JM, Mitchell J. Redox imbalance in the critically ill. *Br Med Bull* 1999; 55:49-75
25. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as a biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41:1819-1828
26. Wang, W., Pang, C., Rogers, M. and Chang, A. Lipid peroxidation in cord blood at birth. *Am. J. Obstet. Gynecol* 1996; 174 : 62-65.
27. Pitkanen, O., Haliman, M. and Andersson, S. Correlation of free oxygen radical induced lipid peroxidation with outcome in very low birth weight infants. *J. Pediatr* 1990; 116 : 760-764.
28. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 2nd ed. Oxford: Clarendon Press 1989.

29. Dizdaroglu, M. (1993). Chemistry of free radical damage to DNA and nucleoproteins. In: Halliwell B, Aruoma O. 1.eds. DNA and free radicals. Chichester:Ellis Harwood, 19-39
30. Wolff, S.P, Garner, A. and Dean, R.T. Free radicals, lipids and protein degradation. Trends Biochem Sci 1986; 11:27-31
31. Halliwell B, Gutteridge JC. Free Radicals in Biology and Medicine , 3rd ed. London, England : Oxford University Press ; 1999
32. Martinez GR, Gasparutto D, Ravananat JL, et al. Identification of main oxidation products of 8-methoxy-2'-deoxyguanosine by singlet molecular oxygen. Free Radic Biol Med. 2005 Jun 1;38(11):1491-500
33. Schaich KM, Borg DC. Fenton reactions in lipid phases: iron solubility, .OH production, and initiation of lipid oxidation. Basic Life Sci. 1988;49:153-6.
34. Bogdan C, Rollingshoff M, Diefenbach A. The role of nitric oxide in innate immunity. Immunol Rev 2000; 173:17-26
35. Forman HJ, Torres M. Signaling by the respiratory burst in macrophage. IUBMB Life 2001; 51:365 -367
36. Borg DC, Schain KM. Prooxidant action of desferrioxamine: Fenton-like production of hydroxyl radicals by reduced ferrioxamine. J Free Radic Biol Med. 1986;2(4):237-43.
37. Panasenko OM, Chekanov AV, Arnhold J, Sergienko VI, Osipov AN, Vladimirov YA. Generation of free radicals during decomposition of hydroperoxide in the presence of myeloperoxidase or activated neutrophils. Biochemistry (Mosc). 2005 Sep;70(9):998-1004.
38. Van Rensburg DC, Van Staden AM, Anderson R, Van Rensburg EJ. Hypochlorous acid potentiates hydrogen peroxide-mediated DNA-strand breaks in human mononuclear leucocytes. Mutat Res. 1992 Feb;265(2):255-61.
39. Kuroda R, Hirata K, Kawashima S, Yokoyama M. Unsaturated free fatty acids inhibit Ca<sup>2+</sup> mobilization and NO release in endothelial cells. Kobe J Med Sci. 2001 Oct;47(5):211-9.
40. Ching TL, de Jong J, Bast A. A method for screening hypochlorous acid scavengers by inhibition of the oxidation of 5-thio-2-nitrobenzoic acid: application to anti-asthmatic drugs. Anal Biochem. 1994 May 1;218(2):377-81

41. Liochey SI, Fridovich I. Superoxide and nitric oxide: consequences of varying rates of production and consumption: a theoretical treatment. *Free Radic Biol Med.* 2002; 1;33(1):137-41
42. Babior BM, Lambeth JD, Nauseef W. The neutrophil NADPH oxidase. *Arch Biochem Biophys.* 2002 Jan 15;397(2):342-4.
43. Rosen H, Crowley JR, Heinecke JW. Human neutrophils use the myeloperoxidase-hydrogen peroxide-chloride system to chlorinate but not nitrate bacterial proteins during phagocytosis. *J Biol Chem.* 2002 Aug 23;277(34):30463-8. Epub 2002 Jun 11.
44. Asada K, Kiso K, Yoshikawa K. Univalent reduction of molecular oxygen by spinach chloroplasts on illumination. *J Biol Chem.* 1974 Apr 10;249(7):2175-81
45. Kalra N, Prasad S, Shukla Y. Antioxidant potential of black tea against 7,12-dimethylbenz(a)anthracene- induced oxidative stress in Swiss albino mice. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 2005;24(2):105-14.
46. Jamieson DJ, Stephen DW, Terriere EC. Analysis of the adaptive oxidative stress response of *Candida albicans*. *FEMS Microbiol Lett.* 1996 Apr 15;138(1):83-8
47. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species: its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett* 1991; 281:9-19
48. Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radic Biol Med.* 1990; 9:515-540
49. Dizdaroğlu M. Chemical determination of free radical-induced damaged to DNA. *Free Radic Biol Med* 1991;10:225-242
50. Loft S, Fischer-Nilsen A, Jeding IB, Vistisen K, Paulsen HE. 8-Hydroxydeoxyguanosine as a urinary biomarker of oxidative DNA damage. *J Toxicol Environ Health.* 1993; 40:391-404
51. Nilges MJ, Swartz HM, Riley PA. Identification by electron spin resonance of free radicals formed during the oxidation of 4-hydroxyanisole catalyzed by tyrosinase. *J Biol Chem.* 1984 Feb 25;259(4):2446-51.
52. Traverse JH, Nesmelov YE, Crampton, M, Lindstrom P, Thomas DD, and. Bache RJ. Measurement of myocardial free radical production during exercise using EPR spectroscopy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, June 1, 2006; 290(6): H2453 - H2458
53. Jay L. Zweier and Periannan Kuppusamy. Electron Paramagnetic Resonance Measurements of Free Radicals in the Intact Beating Heart: A Technique for Detection

- and Characterization of Free Radicals in Whole Biological Tissues. PNAS, Aug 1988; 85: 5703 - 5707.
54. Halliwell B, Gutteridge JMC: Free Radicals in Biology and Medicine. 3rd edition. Oxford; Oxford Science Publications; 1999.
  55. Bounous G, Molson JH. The antioxidant system. Anticancer Res 2003; 23:1411-1415
  56. Victor VM, Rocha M, De la Fuente M. N-Acetylcysteine protects mice from lethal endotoxemia by the regulating redox state of immune cells. Free Radic Res 2003; 37:919-929
  57. Meydani SN, Wu D, Santos MS, Hayek MG. Antioxidants and immune response in aged person : overview of present evidence. Am J Clin Nutr 1995; 62:1462-1476
  58. Auroma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of N-Acetylcysteine : its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. Free Radic Med 1989;6:593-597
  59. Farrel PM, Roberts RJ: Vitamin E; in Shils ME, Olson JA, Shike m(eds):Modern Nutrition in Health and Disease. Philadelphia, Lea and Febiger 1994,pp326-341
  60. Preston AM: Cigarette smoking –nutritional implications. Prog Food Nutr Sci 1991; 15:183-217
  61. Chen HW, Li CK, Ou CC, et al. Plasma Vit A and E and red blood cell fatty acid profile in newborn and their mothers. Eur J Clin Nutr 1996; 50:556-559
  62. Jariwalla RJ, Harakech S. Ascorbic Acids: Biochemistry and Biomedical Cell Biology. New York: Plenum; 1996
  63. Ball SS, Weindruch R, Walford RL. Free radicals, ageing, and degenerative disease. In: Jhonson JJE, Walford R, Harman D, Mikuel J, editor. Antioxidants and the immune process. New York : Liss; 1996 p.427-456
  64. Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. Physiol Rev 1994;74:139-162.
  65. Wayner DDM, Burton GW, Ingold KU, Locke S. Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capacity of human blood plasma by controlled peroxidation. FEBS Lett 1985;187:33-37.
  66. Ghiselli A, Serafini M, Maiani G, Assini E, Ferro-Luzzi A. A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. Free Rad Biol Med 1994;18:29-36

67. Miller NJ, Rice-Evans C, Davies MJ, Gopinathan V, Milner A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin Sci* 1993;84:407-412.
68. Janaszewska A, Bartosz G. Assay of total antioxidant capacity: comparison of four methods as applied to human blood plasma. *Scand. J Clin Lab Invest* 2002; 62:231–236.
69. Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996;239:70-76.
70. Koracevic D, Koracevic G, Djordjevic V, Andrevejcic S, Cosic V. Method for the measurement of antioxidant activity in human fluids. *J. Clin. Pathol.* **54** 5 (2001), pp. 356–361.
71. Kampa M, Nistikaki A, Tsaousis V, et al. A new automated method for the determination of the total antioxidant capacity (TAC) of human plasma, based on the crocin bleaching assay. *BMC Clin. Pathol* 2002; 28:3.
72. B. Mackness, P.N. Durrington and M.I. Mackness, Human Serum. Paraoxonase, *Gen Pharmacol* 39 (2004), pp. 59–66.
73. Canales A, Sanchez-Muniz FJ. Paraoxanase, something more than an enzyme? *Med Clin (Barc)* 121 (2003), pp. 537–548.
74. Kosaka T, Yamaguchi M, Motomura T, Mizuno K. Investigation of the relationship between atherosclerosis and paraoxonase or homocysteine thiolactonase activity in patients with type 2 diabetes mellitus using a commercially available assay. *Clin Chim Acta* 2005; 359:156–162.
75. Spatling L, Fallenstein F, Huch A, Rooth G. The variability of cardiopulmonary adaptation to pregnancy at rest and during exercise. *BrObs gynecol* 1992; 99:1-40
76. Halliwell B, GutteridgeJMC: Role of free radicals and catalytic metal ions in the human disease: An overview. *Metal Enzymol* 1990; 186:1-85
77. Widsom SJ, Wilson SR, Mckillop JR, Walker JJ. Antioxidant in normal pregnancy and in pregnancy hypertension. *Am J Obstet Gynecol* 1991;6:1701-1705
78. Wals SW, Wang Y, : Secretion of lipit peroxide by the humman placenta. *Am J Obstet Gynecol* 1993; 169: 1462-1466
79. Wang Y, Walsh SH. Antioxidant activities and m RNA expression of superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase in normal and pre-eclamptic plasenta. *J Soc Gynecol Invest* 1996;3:179-184

80. Van Hien P, Kovack S, Matkovic P: Properties of enzymes.1. Study of superoxide activity change in human placenta of different ages. *Enzyme* 1974; 18:341-347
81. Guthenberg C, Mannervic B: Glutathion S- Trasferase (transferase p) from human placenta is idetical or closely related to glutathion S- Trasferase from erythrocytes. *Biochim Biophys Acta* 1981;661:255-260
82. Lim KH, Friedman SA. Hypertension in pregnancy. *Curr Opin Obstet Gyneacol* 1993; 5:40-49
83. Saugstad OD. Oxidative stres in the newborn. *Biol Neonate* 2005; 88:228-236
84. Sullivan JL. Iron, plasma antioxidant, and the "oxygen radical disease of prematurity". *Am J Dis Child* 1998; 142:1341-1344
85. Saugstad OD. Hypoxantine as an indicator of hypoxia: its role in health and disease through free radical production. *Pediatr Res* 1983; 18:501-504
86. Bernhaum J: In Avery's Neonatology-pathophysiology and management of newborn. Lippincott Williams&Wilkins. AWolters Kluver Company 6th ed. ch. 59 p.1625
87. Saugstad OD. Chronic lunf disease: the role of oxidative stres. *Biol Neonat* 1998; 74(Suppl. 1):21-28
88. Ogliharu T, Hirano K, Morinobo T, et al. Raised concentration of aldehyde lipit peroxide cation product in premature infant with chronic lung disease.*Arch Dis Child Fetal Neonatal ed* 1999; 80: F21-F25
89. The STOP-ROP Multicenter Study Group. Supplemental therapeutic oxygen for prethresold retinopathy of prematurity. a randomised, controlled trial. Primary outcomes. *Pediatrics* 2000; 105:295-310
90. Van Marter LJ, Allred EN, Pagano M, et al. Do clinical marker of baurotrauma and oxygen toxicity explain interhospital variation in rates of chronic lung disease? *Pediatrics* 2000; 105:1194-1201
91. Buss IH, Darlow BA, Winterbourn CC. Elevated Carbonyl and lipid peroxidation product correlating with myeloperoxidase in trakeal aspirates from premature infants. *Pediatr Res* 2000; 47:640-645
92. Winterbourn CC, Chan TT, Buss IH, et al. Carbonyl and lipid peroxidation product as oxidation markers in preterm infant plasma: association with chronic lung disease. and retinopathy and effects of selenium supplementation. *Pediatr Res.* 2000; 48:84-90
93. Jobe AH. The new BPD: an arrest of lung development . *Pediatr res* 1999;46:641
94. Sherwin JJ: In Avery's Neonatology-pathophysiology and management of newborn. Lippincott Williams&Wilkins. AWolters Kluver Company 6th ed. ch. 54p.1479

95. Hardy P, Dummont I, Bhattacharya M, et al. Oxidants, nitric oxide and prostanooids in developing ocular vasculature: a basis for ischemic retinopathy. *Cardivas Res* 2000; 47:489-509
96. Saugstad OD, Ragnum TO. High post-mortem vitreous hypoxantine levels in newborn with the respiratory distress syndrome. *Pediatrics* 1988;81:395-398
97. Papp A, Nameth I, Karg E, Papp E. Glutathion status in retinopathy of prematurity. *Free Rad Biol Med* 1999; 27:738-743
98. Blaymore-Bier J, Pezzulla J, Kim E, et al. Outcome of extremely low birth-weight infants between 1980 and 1990. *Acta Paediatr* 1994;83:1244-1248.
99. Tsuji M, Saul LP, du Plessis A, et al. Cerebral intravascular oxygenisation correlates with mean arteriel pressure in critically ill premature infants. *Pediatrics* 2001; 106:625-632
100. Volpe JJ. Neurobiology of periventricular leukomalacia in the premature infants. *Pediatr Res* 2001; 50:553-562.
101. Back SA, Volpe JJ. Celluler and mollecular pathogenesis of periventricular white matter injury. *MRDD Research Reviews* 1997;3;96
102. Domergues MA, GallegoJ, Evrard P, Gressens P. Iron supplementation aggravates periventricular cystic white matter lesion in the neonatal rats. *Eur J Pediatr Neurol* 1998; 2: 213-218
103. Palmer C, Menzies SL, Roberts RL. Changes in iron histochemistry after hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats. *Neurosci Lett* 2000; 282:113-116
104. Baud O, Grene AE, Li J, Wang H, Volpe JJ, Rosenberg PA. Glutathion peroxidase-catalase cooperativity is required for resistance to hydrohen peroxide by matture rat olygodendrocytes. *J Neurosci* 2004 ;24:1531-1540
105. Richter A, Gortner L, Moller JC, Tegtmeyer FK. Pathogenetic concepts of neonatal necrotizing enterocolitis. *Klin Padiatr.* 1993 Sep-Oct;205(5):317-24.
106. O'Donovan DJ, Fernandes CJ. Free radicals and diseases in premature infants. *Antioxid Redox Signal.* 2004 Feb;6(1):169-76.
107. Saugasted OD. Update on oxygen radical disease in neonatology. *Curren Opinion in Obstetric and Gynecology* 2001; 13:147-153
108. Rodrigues FP. The importance of oxygen free radicals in the neonatal period. *J Pediatr (Rio J).* 1998 Mar-Apr;74(2):91-8.
109. Harma M, Harma M, Erel O. Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. *Swiss Med Wkly.* 2003;133:563-566.

110. Miyazawa T. Determination of phospholipid hydroperoxides in human blood plasma by a chemiluminescence-HPLC assay. *Free Radic Biol Med.* 1989;7:209–217.
111. Horoz M, Bolukbas C, Bolukbas FF, et al. Measurement of the total antioxidant response using a novel automated method in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *BMC Gastroenterol.* 2005; 5: 35.
112. Hu, S. Louie, C.E. Cross, P. Motchnik and B. Halliwell, Antioxidant protection against hypochlorous acid in human plasma. *J. Lab. Clin. Med.* 1993; 121:257–262
113. G.L. Ellman, Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys* 1959; 82:70–77.
114. Harma MI, Harma M. Erel O. The FORT test-A novel oxidative stress marker or a well-known measure of ceruloplasmin oxidase activity? *Atherosclerosis.* 2006 Aug;187(2):441-2.
115. Cao G, Prior RL. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. *Clin Chem.* 1998;44:1309–1315.
116. Rogers S, Witz G, Anwar M, Hiatt M, Hegyi T. Antioxidant Capacity and Oxygen Radical Diseases in the Preterm Newborn. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2000;154:544-548
117. Varga SJ, Matkovics B, Pataki L, Molnar A, Novak Z: Comparison of antioxidant red blood cell enzyme in preterm and fullterm neonates. *Clin Chim Acta* 1985; 147:191-195
118. Phylactos AC, Leaf AA, Costeloe K, Crawford MA. Erythrocyte cupric/zinc superoxide dismutase exhibits reduced activity in preterm and low-birthweight infants at birth. *Acta Paediatr* 1995; 84:1421-1425
119. Lindeman JH, van Zoeren-Grobbe D, Schrijver J, Speek AJ, Poorthuis BJ, Berger HM. The total free radical trapping ability of cord blood plasma in preterm and term babies. *Pediatr Res.* 1989 Jul;26(1):20-4.
120. Arrigo AP. Gen expression and the thiol redox state. *Free Radic Biol Med* 1999; 27:936-944.
121. Lee YS, Chou YH. Antioxidant profiles in full term and preterm neonates. *Chang Gung Med J* 2005; 28:846-851.
122. Gupta G, Narang M, Banerjee BD, Basu S. Oxidative stress in term small for gestational age neonates born to undernourished mother s: a case control study. *BMC pediatrics* 2004;4:14
123. Kamath U, Rao G, Kamath SU, Rai L. Maternal and fetal indicators of oxidative stress during intrauterine growth retardation. *Indian J Clin Biochem* 2006; 21:111-115

