

Gebelikte Demir Tedavisiyle Serbest Radikal Oluşumu ve Antioksidan Tedaviyle Karşılanması

Hakan Kaya¹ Namık Delibaş² Yasemin Babar³ Mustafa Serteser⁴
Veysel Tahan⁵ Fatma Filiz Arı⁶

¹Yrd.Doç.Dr. SDÜ Tıp Fak. Kadın Hast.ve Doğum Anabilim Dalı,ISPARTA.

²Yrd.Doç.Dr. SDÜ Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı, ISPARTA.

³Arş.Gör.Dr. SDÜ Tıp Fak Kadın Hast. ve Doğum Anabilim Dalı, ISPARTA.

⁴Arş. Gör.Dr. Akdeniz Üniv. Tıp Fak Biyokimya Anabilim Dalı.ANTALYA.

⁵Arş Gör. Dr. SDÜ Tıp Fak Biyokimya Anabilim Dalı, ISPARTA.

⁶Yrd. Doç.Dr.SDÜ Tıp Fak.Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, ISPARTA.

Özet

Kadınlarda anemi, gebelik esnasında artmakta ve maternal-fetal morbidite ve mortaliteyi etkilemektedir. Serbest transisyon metallere olan Fe varlığında serbest radikal (OH^{\cdot}) oluşumu artmaktadır.

Bu çalışmamızda, 3. trimestirdeki anemili 32 kadında 1 ay süreyle 225 mg/gün ferroglicin sülfat, 28 kadında ise 1 ay süreyle 225 mg/gün ferroglicin sülfat ve 1500 İÜ/gün Vitamin A, 300 mg/gün vitamin C içeren polivitamin kombinasyonu kullandık. 3. trimestirde, gebeliğinde hiç ilaç tedavisi almayan, sağlıklı 23 kadın da kontrol grubu olarak alındı.

Fe kullanımı ile malondialdehid (MDA) düzeyinde anlamlı olmayan artma ve Fe ile beraber antioksidan kullanımı ile MDA'da anlamlı azalma görüldü. Glutasyon peroksidaz'ın (GPx) Fe kullanımıyla değişmediği, süperoksid dismutazın (SOD) yalnız demir kullanan gruba göre demir + antioksidan kullanan grupta anlamlı ölçüde azaldığı görüldü.

Sonuçta: Gebelikte demir tedavisinin yalnız anemi varlığında yapılması ve bunun antioksidan vitaminlerle desteklenmesi gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Maternal anemi, Fe, MDA, SOD, GPx.

Free Radicals Generation In Pregnancy and Compore With Antioxidant Therapy

Abstract:

Anemia is increase in pregnancy period in women life and thus maternal-fetal morbidite ve mortality is increase. Free radicals generation is increase with presence of the iron which was a free transition metals.

In this study, we used 225mg/day ferroglycin sulfate during one mounth in 32 women and other 28 women were used 225mg/day ferroglycin sulfate, 1500U/day vitA and 300mg/day vit C who had iron-deficiency anemia in their pregnancies.In 23 women had taken as control group who were in third trimestr, given any medication and healthy women.

We determinate that MDA levels were decrease meaninfully with using Fe + antioxidants when we used Fe alone, MDA levels were meaninglessly increased. SOD levels were decrease using Fe+antioxidants treatment group than using only Fe treatment group.GPx levels were not change during Fe treatment.

Results: When we treatment anemia in pregnancy period we must support this medication with polivitamin combination.

Key Words:Maternal anemia, Fe, MDA, SOD, GPx..

Gebelikte Fe tedavisi sıkça kullanılmaktadır. Gebelikteki fizyolojik hemodilüsyon anemi olarak kabul edilmekte ve Fe tedavisine başlanmakta bazen de labaratuvar çalışması

yapılmadan rutin Fe tedavisi gebelik boyunca sürdürülmektedir. Gebeliğin son yarısında maternal Fe ihtiyacı 6-7 mg/dl' dir. Gebelikte Fe tedavisi Hb düzeyi 11 gr/dl altına düştüğünde yapılmalıdır (1).

Oksidatif stres organizmada çeşitli patolojik değişikliklere yol açabilir (2). Oksijenin ünivalan redüksiyon ile suya dönüşümü sırasında bir çok serbest radikal ürünü ve reaktif maddeler oluşur (3).

Dokularda açığa çıkan SR'ler antioksidan defans mekanizmalarıyla ortadan kaldırılmadığında hücre duvarındaki lipidler, proteinler ve DNA hasarı ortaya çıkmakta bu hücre ve doku hasarıyla sonuçlanmaktadır (4-8).

Vit. E, vit C ve beta-karoten yanında Se, Cu, Zn ve Mn gibi eser elementlerinde antioksidan özellikleri vardır (9,10).

Serbest transisyon metalleri (Fe, Cu, Mg) varlığında, H₂O₂ bilinen en reaktif oksijen radikali olan hidroksil radikalini (OH-) oluşturabilir. Bu reaksiyona Fenton reaksiyonu denir (11,12).

Organizmada hipoksi, hiperoksi, Cu ve Fe toksitesi ve antioksidan defans mekanizmalarındaki azalma SR oluşumunu önemli ölçüde artırmaktadır (13).

MATERYAL ve METOT

Çalışmaya Isparta Doğum ve Çocuk Bakımevi'ne antenatal takip için başvuran 3. trimestirdeki toplam 83 kadın alındı. Gebelerin tamamına fizik ve obstetrik muayene yapıldı. Son adet tarihi ile gestasyonel yaş arasında uygunsuzluğu olan gebeler ve ikiz gebelikler çalışmaya alınmadı. Tam kan sayımı, tam idrar tetkiki ve obstetrik ultrasonografi uygulandı. Çalışmaya alınan tüm gebeler kontrol grubu dahil hemoglobin değeri 11 gr/dl'den düşüktü.

Gebelerden 32'sine ferroglinis sülfat 225 mg/gün 1 ay süreyle, 28'ine 225 mg/gün ferroglinis sülfat ve 1500 Ü/gün vit A, 300 mg/gün vit C 1 ay süreyle verildi. Kontrol grubu olarak alınan 23 gebeye ilaç kullanılmadı.

Çalışmaya alınan 83 gebenin hepsi gebeliğinde herhangi bir ilaç almayan, sigara içmeyen, sistemik hastalığı olmayan, normotansif özellikteydi. Kontrol grubunda ve diğer iki gruptaki belirtilen tedaviyi 1 ay süreyle alan gebelerden alınan kan örnekleri ikiye ayrıldı. Biri santrifüj edilerek ayrılan serum

MDA çalışması için -20°C'de saklandı. Diğer sıtrath tüplere alınan örnekler bekletilmeden Gpx ve SOD çalışması için hazırlandı.

SOD ve GPx Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda spektrofotometrik, MDA ise Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda florometrik yöntemle bakıldı. SOD aktivitesi Sun ve ark'nun yöntemiyle belirlendi (14). Bu metotta superoksid radikallerinden oluşan ksantin ve ksantin oksidazın nitrobluetetrazolium (NBT) ile reaksiyonu sonucu oluşan formazan kullanılarak çalışıldı. Superoksid dismutaz aktivitesi, 560 nm'de bu reaksiyonun inhibisyon derecesine göre tayin edildi. Bir SOD ünitesi, NBTH2 redüksiyon oranında %50 inhibisyona yol açan enzim miktarı olarak tanımlandı ve SOD aktivitesi aynı zamanda her bir mililitre eritrosit sedimentindeki üniterler olarak tarif edildi. GPx aktivitesi Paglia ve Valentine metoduyla belirlendi (15). Bu metot, glutatyonun glutatyon redüktaz ve NADPH varlığında hidroperoksit tarafından oksidasyonunun Gpx ile katalize olmasına dayanır. Okside glutatyon NADPH'nın NADP+ 'ya dönüşümü sırasında hızla redükte forma döndürür. Bu redüksiyon 340 nm'deki absorbansta ölçülür. GPx aktivitesi litrelik eritrosit sedimenti başına IU olarak tanımlandı. MDA Wasowicz ve ark'nın 1,1,3,3 tetrametoksiopropan kullanılarak tarif ettikleri yöntemle göre çalışıldı. 50 mikrolitre örnek 1 ml distile su içeren tüpe alındı. Asetik asit içinde 29 mmol/l TBA içeren 1ml'lik solüsyon eklendikten sonra örnek su banyosu içine konulup 1. saat 95-100°C derecede ısıtıldı. Soğutulduktan sonra soğuk su altında 25 mikrolitre 5 mol/l'lik HCL eklendi ve karışım reaksiyonu 3.5 ml' lik n-butanol ile 5 dk süreyle hızlandırıldı. Santrifüj edilip butanol fazı ayrıldı, butanolün floresansı spektrofloremetrede (Shimatzu RF-5000, Kyoto, Japan) ölçüldü (16).

Bulgular t-testi ve varyans analizi kullanılarak karşılaştırıldı.

BULGULAR

Üç grubun yaş, parite, gestasyonel yaş ve hemoglobin değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Belirtilen parametreleri açısından aralarında fark yoktur.

Kontrol grubuna göre Fe tedavisi uygulanan grupta MDA düzeyinde anlamlı olmayan artış mevcuttur (p>0.05). Fe + antioksidan tedavisi alan gebelerin MDA düzeyleri yalnız Fe tedavisi alan gebelere göre anlamlı ölçüde azalmıştır (p<0.05).

Her üç grubun GPx değerlerinde anlamlı farklılık

yoktur.

SOD düzeyinde Fe tedavisi alan grupta, kontrol grubuna göre anlamlı olmayan artış mevcuttur ($p>0.05$). Fe + antioksidan tedavi

alan gebelerde SOD düzeyleri yalnız Fe tedavisi alan gruba göre anlamlı ölçüde azalmıştır ($p<0.05$). Grupların MDA, Gpx ve SOD düzeyleri Tablo 2'de ve Grafik 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Hasta gruplarının yaş, Hb, parite, gestasyonel yaşları.

	Kontrol (n=23)	Fe (n=32)	Fe + antioksidan (n=28)
Yaş	31.3 ± 6.7	33.4 ± 5.9	30.8 ± 6.4
Hb (% gr)	10.3 ± 0.6	10.2 ± 0.7	10.2 ± 0.6
Parite	3.0 ± 2.2	2.8 ± 2.6	3.1 ± 2.2
Gestasyonel Yaş	33.5 ± 4.7	32.1 ± 5.2	34.1 ± 5.0

Tablo 2. Hasta gruplarının MDA, GPx, SOD değerleri.

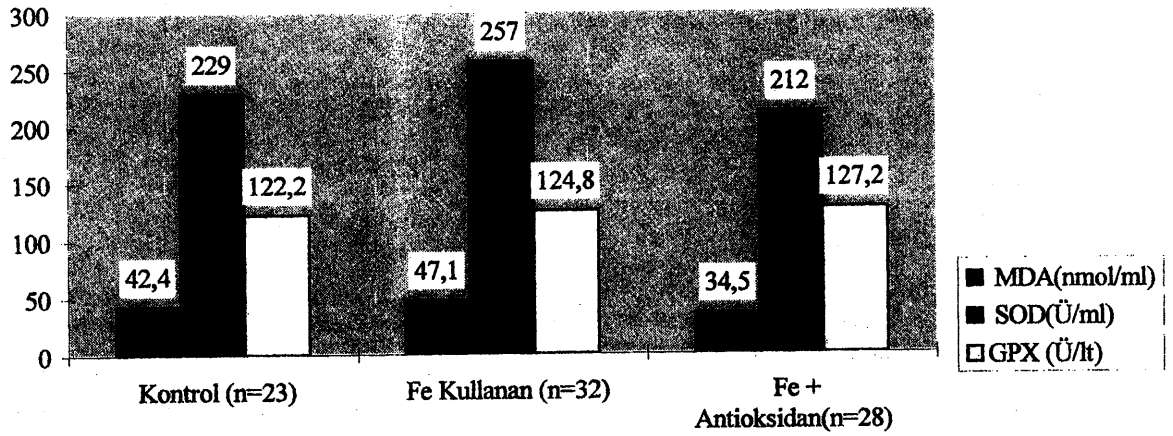
	Kontrol (n=23)	Fe Kullanan (n=32)	Fe + antioksidan (n=28)
MDA(nmol/ml)	42.4 ± 5.3	47.1 ± 6.4 •	34.5 ± 6.0 •
GPx (U/L)	122.2 ± 9.1	124.8 ± 12.3	127.2 ± 8.5
SOD(U/ml)	229 ± 58	257 ± 42*	212 ± 38 *

• $p<0.05$

* $p<0.05$

Grafik 1

Kontrol ve Çalışma Gruplarında MDA, SOD ve GPx Değerleri



Kontrol ve Çalışma Grupları

TARTIŞMA

Elektronların transferi ile normalde oluşan SR'lerden, mitokondri, endoplazmik retikulum ve diğer hücre organellerinde bulunan SOD, GPx ve katalaz gibi enzim sistemleriyle korunulur. Mitokondrilerde serbest Fe ve Cu yoktur fakat süperoksit anyonu Fe S'li dehidratlarda Fe⁺⁺ salınımına yol açabilir. Bu metal katyonları DNA veya hücre zarına

bağlanırsa, buralarda OH⁻ radikali oluşabilir. Artmış transisyon metalleri SR üretiminin artışıyla paralel olabilir (10-13,17).

Gebelikte hem lipid peroksidasyonu hem de antioksidan aktivite artmıştır(17).

Tarakhousky ve ark'ı gebe anemik ratlarda toksik olmayan dozlarda Fe verilmesiyle lipid hidroperoksitlerinin ve MDA'nın kanda arttığı ve

bunun enterosorbent olarak uvesorb kullanımıyla belirgin olarak azaldığını göstermişlerdir (18).

Sugina ve ark'ı ise gebe ratlarda gebeliğin 15. günündeki korpus luteum hücrelerinde $FeSO_4$ 'ın lipid peroksidasyonunu artırdığı ve bunun da progesteron sentezini azalttığını göstermişlerdir (19).

Diyetle alınan Fe^{++} 'in yüksekliğinin eksperimental çalışmalarda karsinojenik etki gösterdiği ve bunun Fe emilimini engelleyen Fitik asid ile engellendiği gösterilmiştir (20).

Çalışmamızda Fe tedavisi yalnız 3. trimesterde ve bir ay süreyle verilmiştir. Tedavi verdiğimiz hastalar anemik olmalarına rağmen anlamlı olmayan bir MDA artışı tespit ettik. Pratikte Fe tedavisi çoğu zaman anemisi olmayan gebelere de başlanmakta ve tüm gebelik boyunca kullanılmaktadır. Çalışmamızdaki SR oluşumunun artışı anlamlı olmamasına rağmen literatür ile uyumludur. Fe ile birlikte antioksidan kullanımı MDA düzeyini anlamlı ölçüde düşürmüştür.

Metallo enzim olan SOD düzeyi çalışmamızda Fe kullanımıyla birlikte anlamlı olmayan ölçüde artmasına karşılık, Fe ve antioksidan birlikte kullanımı yalnız Fe kullanılan grubtaki düzeyinden anlamlı ölçüde düşük çıkmıştır. SOD, SR hasarında kompensasyon amacıyla reaksiyonel olarak artmaktadır. Buradan indirek olarak Fe tedavisinin SR oluşumunu arttırabileceği sonucuna varılabilir.

Çalışmamızda hem vaka sayıları az hem de Fe tedavisi yalnızca 1 ay süreyle ve sadece anemik hastalarda verilmiştir. Bu çalışmayı preliminier bir çalışma olarak kabul edip, daha fazla vaka içeren ve Fe tedavisinin daha uzun süreli ve Hb düzeyinin 11gr/dl'den daha fazla olduğu gebelerde kullanımıyla SR oluşumunun ve bunun vit A ve vit E ile ayrı ayrı antioksidan olarak kullanımıyla karşılanma durumunu araştırmayı düşünmekteyiz.

Sonuç olarak; gebelikte Fe tedavisinin yalnızca anemi varlığında ve aneminin derinliğine göre kullanılması ve bununla birlikte antioksidan tedavinin eşlik ettirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

Kaynaklar

- 1-Erden AC. Gebelikte kardiyak, hematopoitik, pulmoner ve üriner bozukluklar. In: Obstetrik Jinekolojik Teşhis Tedavi. Barış Kitabevi, İstanbul 1994.
- 2-Mooradian AD. Antioxidant properties of steroids. *J Steroid Biochem Molec Biol.* 1993; 45 (6): 509-11.
- 3- Thompson LU. Antioxidants and Hormone-Medicated Health Benefits of Whole Grains. *Critical Reviews in Food Science and nutrition.* 1994; 34(5-6):473-97.
- 4-Diplock AT. Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview, *Am J Clin Nutr*, 1991; 53,189.
- 5-Halliwell B. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol.* 1989; 70,737.
- 6-Diplock AT. The role of antioxidant nutrients in disease. *Inform.* 1992; 3,1214..
- 7-Kubow S. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in food. *Free Rad Biol Med* 1992; 12,63.
- 8-Luc G, Fruchart JC. Oxidation of lipoproteins and atherosclerosis. *Am J Clin Nutr.* 1991; 53,2065.
- 9-Weisburger JH. Nutritional approach to cancer prevention with emphasis on vitamins, antioxidants and carotenoids. *Am J Clin Nutr* 1991; 53, 226.
- 10- Namiki M. Antioksidants/antimutagens in foods, *CRC. Crit Rev Food Sci Nutr.* 1990; 29, 273.
- 11- Bucher JR, Tein M, Aust SD. The requirement for ferric in the initiation of lipid peroxidation by chelated ferrous iron. *Biochem Biophys Res Commun.* 1983; 11,777-84.
- 12-Tein M, Aust SD. Comparative aspects of several model lipid peroxidation systems. In: Yagi K, ed. *Lipid peroxides in biology and medicine, Orlando, Florida: Academic Press.* 1982; 23-39.
- 13- Dillard CA, Downey JE, Tappel AL. Effect of antioxidants on lipid peroxidation of iron-loaded rats. *Lipids.* 1984; 19,127-33.
- 14-Sun Y, Oberley LW, Ying L. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34:497-500.

- 15- Paglia D, Valentine WN. *Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med, 1967; 70: 158-69.*
- 16- Wasowichz W, Jean N, Peratz A. *Optimized steps in fluorometric determination of thiobarbituric acid-reactive substances; importance of extraction pH and influence of sample preservation and storage. Clin Chem 1993; 38(12),2522-26.*
- 17- Hubel CA, Roberts JM, Taylor RN, Musci TJ, Rogers GM, Laughlin MK. *Lipid peroxidation in pregnancy: New perspectives on preeclampsia. Am J Obstet Gynecol, 1989; 161:1025-34.*
- 18-Tarakhovskiy MA, Ovchar TT, Soroka IN. *Experimental study on efficiency of enterosorbents in the combined treatment of iron-deficiency anemia in pregnancy. Fizilogicheskii Zhurnal. 1992; 38(6):49-54.*
- 19- Sugino N, Nakamura Y, Takeda O, Ishimatsu M, Katott. *Changes in activities of superoxide dismutase and lipid peroxide in corpus luteum during pregnancy in rats. Journal of Reproduction Fertility. 1993; 97 (2) 347-51.*
- 20- Thompson LU, Zhang L. *Phytic acid and minerals: effect on early markers of risk for mammary and colon carcinogenesis. Carcinogenesis, 1991; 12,2041.*
- 21-Semuels P, Main EK, Mennut MT, Gabbe SG. *The origin of increased serum iron in pregnancy-induced hypertension. Am J Obstet Gynecol 1987; 157:721-5.*
- 22- Taylor GW, Morris HR. *Lipoxygenase pathways. Br Med Bull. 1983; 39:219-22.*

Yazışma Adresi:

Yrd Doç Dr. Hakan Kaya

SDÜ Tıp Fakültesi

Kadın Hast. ve Doğum Anabilim Dalı,

ISPARTA.