

İkinci trimesterde amniyotik sıvıda oksidatif stres belirteçlerinin düzeyleri ile preeklampsi gelişimi ve erken doğum arasındaki ilişkinin araştırılması

Ebru Çelik¹, Abdullah Karaer¹, Ercan Yılmaz¹, Iğın Türkçüoğlu¹, Önder Çelik¹, Yavuz Şimşek¹, Pınar Kırıcı¹, Elif Özerol², Kevser Tanbek²

¹İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Malatya

²İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp Merkezi, Biyokimya Anabilim Dalı, Malatya

Özet

Amaç: Oksidatif stres belirteçlerinin amniyon sıvısındaki konsantrasyonlarının sağlıklı gebeler ile preeklampsi veya 34 haftadan önce erken doğum komplikasyonu gelişen gebeler arasında karşılaştırmak.

Yöntem: Bu çalışma Nisan 2011 ve Mayıs 2012 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Turgut Özal Araştırma Merkezi'nde klinik endikasyonu (ilerlemiş anne yaşı, trizomiler için anormal görüntüleme testleri veya anne isteği) olan gebelere midtrimester amniyosentez yapıldı. Tekiz gebeliği olan toplam 182 kadını içeren retrospektif bir kohort çalışması olan bu çalışmada hastalar, araştırma amaçlı olarak amniyotik sıvı bağışlamaya davet edildiler. Gebelik sonucu, hastane dosyalarından veya hastalara telefon ile ulaşarak toplandı. Çalışma dışında kalma kriterleri; (i) gebeliğin sonucu hakkında eksik veri, (ii) fetal veya kromozomal anomaliler, (iii) intrauterin enfeksiyon varlığı, (iv) kronik hipertansiyon gibi maternal sistemik hastalıklar veya gestasyonel diyabet gelişmesi idi. Amniyotik sıvı örnekleri ultrasonografi eşliğinde transabdominal yolla alındı ve araştırma amacıyla 4-5 mL toplandı ve analiz için -80°C'de saklandı. Preeklampsi tanısı, "International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy" kriterlerine göre yapıldı.

Bulgular: SOD, ADA, MPO, XO ve MDA'nın ortalama amniyotik sıvı konsantrasyonları preeklampsi grubunda kontrol grubuna göre farklı değildi. Buna ek olarak, SOD, ADA, MPO, XO ve MDA'nın ortalama konsantrasyonları erken doğum grubunda da normal sağlıklı gebelerle benzer olarak bulundu.

Sonuç: Oksidatif stres belirteçleri gruplar arasında farklı bulunmadı. Erken doğum ve preeklampsi ile oksidatif stresin amniyotik çevredeki etkisi, başka çalışmalarla incelenmelidir.

Anahtar sözcükler: Oksidatif stres, preeklampsi, erken doğum, amniyotik sıvı.

Investigation of the relationship between levels of oxidative stress markers in the second trimester amniotic fluid with preeclampsia and preterm delivery

Objective: To determine whether concentrations of oxidative stress markers of amniotic fluid are different in healthy pregnant women from pregnant women with either preeclampsia or preterm birth before 34 weeks gestation.

Methods: This was a retrospective cohort study consisting of consecutive 182 pregnant women with singleton gestations undergoing midtrimester amniocentesis for clinical indications (advanced maternal age, abnormal screening tests for trisomies or maternal request) in İnönü University, Turgut Özal Research Center between April 2011 and May 2012. Patients were invited to donate amniotic fluid for research purposes. The pregnancy outcome was collected by reviewing the charts of hospital or by contacting the patients. Exclusion criteria from the study were: (i) incomplete data about the outcome of pregnancy, (ii) confirmed fetal abnormalities or chromosomal abnormalities, (iii) presence of intrauterine infection, (iv) maternal systemic diseases such as chronic hypertension or diagnosis of gestational diabetes mellitus. Amniotic fluid samples were obtained by transabdominal amniocentesis and 4-5 mL was collected for research purposes. Amniotic fluid samples were stored at -80°C for the future analysis. Diagnosis of preeclampsia was made according to the criteria of International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy.

Results: The mean amniotic fluid concentrations of SOD, ADA, MPO, XO and MDA were not different in the preeclampsia group from the control group. Further, the mean concentrations of SOD, ADA, MPO, XO and MDA in the preterm group were also similar to those in the normal healthy pregnant women.

Conclusion: The oxidative stress markers appear not to be different among the groups. The relation of preterm birth and preeclampsia with oxidative stress and its implication in amniotic environment need to be addressed in further studies.

Key words: Oxidative stress, preeclampsia, preterm birth, amniotic fluid.

Yazışma adresi: Dr. Ebru Çelik, İnönü Üniversitesi
Turgut Özal Tıp Merkezi, Malatya.
e-posta: ecelik05@googlemail.com

Geliş tarihi: 18 Ekim 2012; **Kabul tarihi:** 13 Aralık 2012

Bu yazının çevrimiçi İngilizce sürümü:
www.perinataljournal.com/20120203002
doi:10.2399/prn.12.0203002
Karekod (Quick Response) Code:



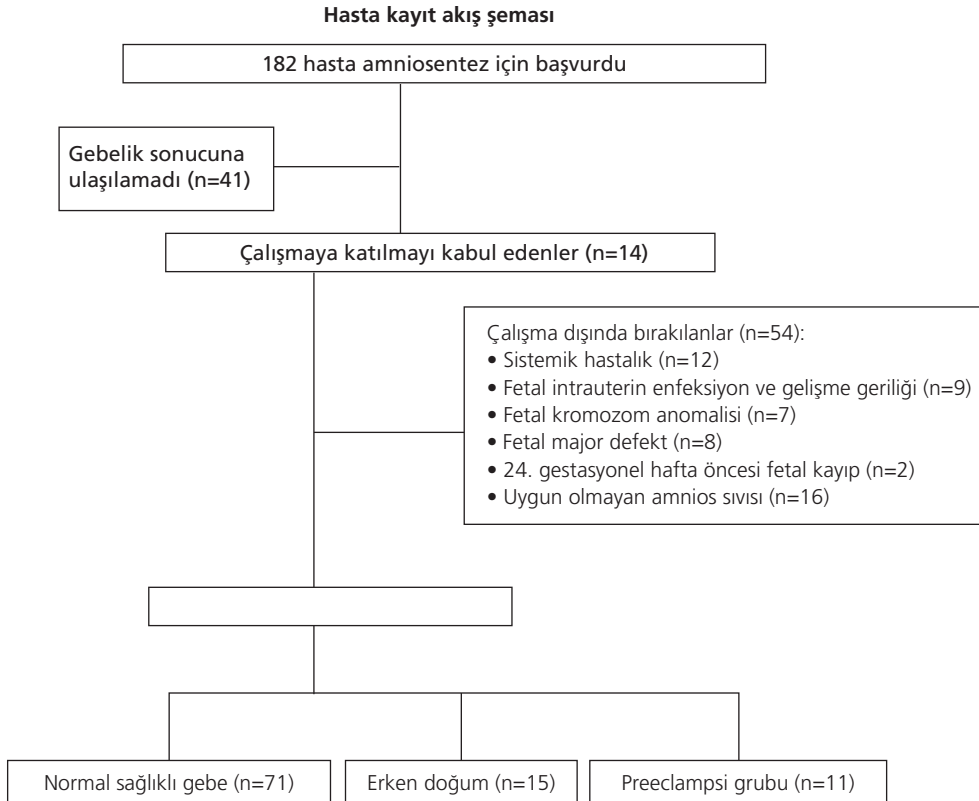
Giriş

Oksidatif stresin plasenta ilişkili hastalıkların patofizyolojisinde, özellikle preeklampsi (PE) ve erken doğumda anahtar rol oynadığı düşünülmektedir.^[1] Artmış prenatal ve maternal mortalite ve morbidite ile ilişkili olan preeklampsi, kadınların yaklaşık olarak %2'sinde görülmektedir.^[2,3] Preeklampsinin patogenezinin hala açık olmamasına rağmen, bozulmuş antioksidan aktivitenin damar endoteline zarar verdiği ve preeklampsinin klinik semptomlarına yol açabileceği üzerinde durulmaktadır.^[4] Plazmada artmış oksidatif stres ve suda düşük çözünür ve yağda çözünür antioksidan seviyelerinin preeklampsi ve erken doğum gibi gebelik hastalıklarının patogenezinde yer aldığı gösterilmiştir.^[5,6] Erken doğumda, oksidatif stresin artmış reaktif oksijen türleri veya antioksidan tükenmesi yoluyla kollajen dokusunda bozulmaya yol açtığı öne sürülmüştür.^[7] Oksidatif stresin, anormal plasentasyondan sorumlu olan plasental iskemi ile ilişkili gebelikte ortaya çıkan hastalıkların patogenezinde rol oynadığına dair artan kanıtlar bulunmaktadır.^[8,9]

Bu çalışmanın amacı oksidatif stresin derecesini normal sağlıklı gebeler ile preeklampsi ve 34 haftadan önce erken doğum komplikasyonu gelişen gebeler arasında karşılaştırmaktır. Antioksidan enzim aktivitesini (süperoksit dismutaz, adenosin deaminaz, myeloperoksidaz, ksantin oksidaz) ve serbest radikalleri (malondi-aldehit) ölçüldü. Oksidatif stres değerlendirmesi ile doğumsal komplikasyon riski olan gebe kadınları belirlemeyi amaçladık.

Yöntem

Bu çalışma, Nisan 2011 ve Mayıs 2012 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Turgut Özal Araştırma Merkezi'nde klinik endikasyonu (ilerlemiş anne yaşı, trizomiler için anormal görüntüleme testleri veya anne isteği) olan gebelere midtrimester amniyosentez yapılan, tekiz gebeliği olan toplam 182 kadını içeren retrospektif kohort çalışmasıdır. Hastaların takip çizelgesi **Şekil 1**'de verilmiştir.



Şekil 1. Hasta kayıt şeması.

Hastalar, araştırma amaçlı olarak amniyotik sıvı bağışlamaya davet edildiler. Gebelik sonucu, hastane dosyalarından veya hastalara telefon ile ulaşarak toplandı. Örnek toplanması ve klinik verilerin toplanması, İnönü Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onaylandı (Protokol no: 2012/113, 17/07/2012). Tüm hastalardan imzalı rıza formları alındı. Çalışma dışında kalma kriterleri; (i) gebeliğin sonucu hakkında eksik veri, (ii) fetal anomaliler veya kromozomal anomaliler, (iii) intrauterin enfeksiyon varlığı, (iv) kronik hipertansiyon gibi maternal sistemik hastalıklar veya gestasyonel diabetes mellitus idi.

Amniyotik sıvı örnekleri ultrasonografi eşliğinde transabdominal yolla alındı ve araştırma amacıyla 4-5 mL toplandı. Alınan amniyotik sıvı örnekleri analiz için -80°C'de saklandı. Preeklampsi tanısı, "International Society for the Study of Hypertension in Pregnancy" kriterlerine göre yapıldı.^[10] Bunlar, daha önceden normotansif olan gebelerde; 20. gebelik haftası sonrasında 4 saat arayla yapılan en az iki ölçümde sistolik kan basıncının ≥ 140 mmHg ve diastolik kan basıncının ≥ 90 mmHg ile birlikte 24 saatlik idrarda protein miktarının 300 mg'ın üstünde (24 saatlik idrar birikimi yok ise, orta akım idrar örneklerinin ölçme çubuğunda en az 2 pozitif) olması ile karakterizedir. Spontan doğum, doğumun spontan başlamasından sonra indükleme olmadan veya sezaryen operasyon olmadan vajinal doğum olarak tanımlanmıştır. Her ne kadar erken doğum klasik olarak gebeliğin 37. haftasından sonrası olarak tanımlansa da, fetal akciğer gelişimi 34. gebelik haftasında büyük ölçüde tamamlandığı için, biz 34. gebelik haftasından önce olan doğumları erken doğum olarak kabul ettik.

Biyokimyasal analizler

Biyokimyasal analizler prooksidan-antioksidan dengesini değerlendirmek için, serbest radikal üretimi lipid peroksidasyon (MDA) seviyelerini ölçerek belirlendi. Biyokimya uzmanı klinik bilgiye kör idi. Amniyotik sıvı eş hacimli etanol/kloroform karışımı (5:3, hacim:hacim [v/v]) ile elde edildi. 5000 x g'de 30 dakika santrifüjden sonra, daha açık üst tabaka (etanol fazı) toplandı ve SOD aktivite analizinde kullanıldı. Tüm preparat prosedürleri 4°C'de yapıldı. Toplam (Cu-Zn ve Mn) SOD (EC 1.15.1.1) aktivitesi Sun yöntemine göre belirlendi.^[11] Amniyotik sıvı adenozin deaminaz (ADA) aktivitesi adenozin fazlalığında ADA devreye girdiğinde üretilen ammonia oluşumunun indirek ölçümüne dayanan Giusti yöntemi ile spektrofotometrik olarak hesaplan-

dı.^[12] Ksantin oksidaz (XO) (EC 1.2.3.2) aktivitesi, 293 nm'de soğurmadaki artış ile ksantinden ürik asit oluşumu yoluyla spektrofotometrik olarak değerlendirildi.^[13] Bir birim aktivite pH 7.5 iken 37°C'de 1 µmol ürik asit oluşumu olarak tanımlandı. Malondialdehit seviyesi 90-100°C'de tiobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona dayanan Cheeseman ve Esterbauer yöntemleri ile belirlendi.^[14] TBA test reaksiyonunda, malondialdehit (MDA) veya MDA-benzeri maddeler ve TBA 532 nm'lik soğurma maksimumu ile pembe pigment üretimi ile etkileşir. Reaksiyon 15 dakika boyunca 90°C'de pH 2-3'te yapıldı. Proteini çöktürmek için örnek iki hacim soğuk /10 (w/v) trikloroasetik asit içinde karıştırıldı. Çöküntü santrifüj ile pelletlendi ve süpernatantın bir parçası 10 dakika boyunca kaynar su banyosunda %0.67 (w/v)'lik eş TBA hacmi ile reaksiyona sokuldu. Soğutmadan sonra, absorbans 532 nm olarak okundu. Sonuçlar standart solüsyondan hazırlanan bir standart grafiğe göre ifade edildi (1, 1, 3, 3-tetrametoksipropen).

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz veri dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi kullanılarak test edildi. Gruplar (kontrol grubu ile preterm doğum gelişen grup; kontrol grubu ile preeklampsi gelişen grup arasındaki) arasındaki karşılaştırma kategorik değişkenler için ki-kare testi ve sürekli değişkenler için Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Veriler, sürekli değişkenler için ortalama ve standart sapma (SD) ve kategorik değişkenler için n (%) olarak sunuldu. İstatistiksel yazılım paketi SPSS 19.9 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) veri analizleri için kullanıldı.

Bulgular

Normal sağlıklı gebeliğe sahip kadınların (kontrol, n=71), preeklampsi gelişen (n=15) ve prematür doğum yapanların (n=11) klinik ve gebelik özellikleri **Tablo 1**'de gösterilmiştir. Beklenildiği gibi, kontrol grubunda, preeklampsi grubu (sırasıyla p<0.001 ve p<0.001) ve erken doğum grubuna (sırasıyla p<0.001 ve p<0.001) göre gestasyonel yaş ve doğum ağırlığı daha fazla idi (**Tablo 1**). Demografik karakteristikler bakımından gebelik komplikasyonları olan ve olmayan kadınlar arasında anlamlı bir fark yoktu. Preeklampsi gelişen ve erken doğum yapan gebelerin amniyotik sıvıdaki ADA, SOD, MDA ve XO değerleri istatistiksel olarak kontrol grubundakilerden farklı değildi (**Tablo 2**). Patolojik gebeliklerde ve erken doğumdaki MPO değerleri de kontrol grubu ile benzer olarak bulundu (p=0.59).

Tablo 1. Gebelik komplikasyonu gelişen gruplarla kontrol grubunun klinik ve obstetrik özelliklerinin karşılaştırılması.

	Preeklampsi grubu (n=11)	Normal gebelikler (n=71)	Erken doğum (n=15)
Anne yaşı	33.18±5.36	32.66±5.69	35.07±2.58
Nuliparite	7 (%63.6)	21 (%29.6)	2 (%13.3)
Amniyosentezdeki gebelik yaşı (hafta)	18.55±1.21	18.30±1.21	18.75±1.29
Doğumdaki gebelik yaşı (hafta)	32.36±3.20	37.85±1.70	30.47±2.59
Doğum ağırlığı (g)	1959.55±836.96	3114.30±461.30	1680.73±562.38
Erkek yenidoğanlar	6 (%54.5)	33 (%46.5)	7 (%46.7)

Tablo 2. Çalışma ve kontrol gruplarında oksidatif stres biyo-belirteçlerinin karşılaştırması.

Oksidatif stress belirteçleri	Preeklampsi (n=11)	Erken doğum (n=15)	Kontrol (n=71)	P ₁	P ₂
MPO (mU/g protein)	12.57±6.36	11.14±2.89	12.92 ±8.22	0.77	0.85
SOD (U/mg protein)	0.29±0.18	0.33±0.28	0.28±0.17	0.91	0.80
XO (U/g protein)	0.96±0.59	0.85±0.55	1.07±0.73	0.95	0.64
ADA (U/g protein)	0.09±0.09	0.07±0.10	0.05±0.035	0.34	0.39
MDA (nmol/g protein)	0.49±0.42	0.52±0.40	0.43±0.38	0.65	0.82

Amniyotik sıvıdaki SOD, MPO, XO, ADA ve MDA aktivitesi de dahil birçok oksidatif stres belirteçlerinin gebelik komplikasyonları gelişen ve gelişmeyen kadınların gebeliklerinin 16-21 haftalarındaki ölçümü. Değerler ortalama ve standart sapma şeklinde sunulmuştur. P₁ değeri komplike olmayan gebelikler ile preeklampsi olanlar arasındaki karşılaştırma için verilmiştir. P₂ değeri komplike olmayan gebelikler ile erken doğum yapanlar arasındaki karşılaştırma için verilmiştir.

Tartışma

Bu çalışmada, gebeliğin ilerleyen döneminde preeklampsi gelişen ve prematür doğum yapan kadınlar ile gebelik komplikasyonu gelişmeden doğum yapan kadınlar arasında midtrimesterde alınan amnios sıvı örneklerinde oksidatif stres belirteçlerinin benzer olduğu bulundu. Benzer şekilde, komplike gebelikleri olan grup ile kontrol grubu arasında benzer amniyotik sıvı miyeloperoksidaz konsantrasyonları olduğu gözlemlendi. Komplike gelişmeyen sağlıklı gebelikler, serbest antioksidanlar ile oksidatif stres arasındaki denge ile karakterize bir pro-oksidan durumdur. Oksidatif stres daha önceden erken doğum için bir yolak olarak gösterilmişti ama oksidatif stresin biyobelirteçleri erken ve normal gebeliklerde amniyotik sıvı içerisinde bulunamadı. Her ne kadar gebelik ilerledikçe antioksidan aktivite ile oksidatif stres arasında bir dengesizlik oluşsa da, gestasyon terme ulaştığında antioksidan üretimi azalmaktadır.^[15,16] Bu sebeple, bu çalışmada amniyotik sıvıdaki oksidatif stres biyobelirteçlerinin patolojik gebelikler için bir göstere olabileceğini kanıtlamaya çalıştık. Ancak, preeklampsi gelişen ve erken doğumla so-

nuçlanan gebelikler ile normal sağlıklı sonuçlanan gebelikler arasında oksidatif stres konsantrasyonları arasında bir fark bulamadık.

Antioksidanların amniyotik sıvıda ölçülebileceği ama serumla kıyaslandığında daha az konsantrasyonlarda olduğu gösterilmişti.^[17] Bulgularımızın önceki çalışmalarla çelişkili olmasının sebebi, antioksidanların serum konsantrasyonlarını değerlendirmemiş olmamız olarak açıklanabilir. Birçok çalışma, erken gebelikteki maternal oksidatif stres biyobelirteçleri ile gebelik komplikasyonları arasındaki ilişkiden bahsetmiştir. Gebeliğin 18-22. haftasından bebek doğana kadar 4 haftalık aralıklarla alınan birbiri ardına analiz serum örnekleri üzerindeki bir çalışma, preeklampsi gelişen gebelerde oksidatif stres belirteçlerinin konsantrasyonlarının artan bir eğilime sahip olduğunu göstermiştir.^[17]

Yakın zamanda yapılan bir meta analiz, lipid peroksidasyonunun bir son ürünü olan MDA'nın serum konsantrasyonlarının normal gebelikler ile karşılaştırıldığında preeklampsi gelişen gebelerde belirgin şekilde artmış olduğunu bildirmiştir.^[18] Bununla birlikte, Boga-

vac ve ark. MDA seviyelerinin preeklampsi gelişen kadınların amniyotik sıvılarında daha düşük olması gibi çelişkili bir sonuç yayınlamıştır.^[19] Komplikasyon gelişen gebelerde MDA ve XO konsantrasyonlarının normal sağlıklı gebeler ile benzer olduğunu bulduk, bu da preeklampsi gelişen gebelerdeki oksidatif stres değişimi ile bir korelasyon içinde değildi.^[18,19] Ayrıca, antioksidatif savunmanın hücre içi enzimi olan SOD seviyeleri de, daha önceki çalışma ile uyumlu olarak, komplike gebeliklerde benzer olarak bulundu.^[19,20] İnsan dokularında bulunan hücreyel inflamatuvar belirteç olarak düşünülen ADA konsantrasyonları normal sağlıklı gebeliklere göre preeklampsi gelişen kadınların plazmalarında daha yüksek bulunmuştu.^[21] Bununla birlikte, bizim sonuçlarımız yayınlanmış literatür verileri ile uyumlu değildi. Bu çelişkili sonuç, ADA plazma seviyelerini ölçmemiş olmamız ve örnek toplanmasının önceki çalışmadan farklı bir gebelik haftasında yapılmış olması olarak açıklanabilir.

Oksidatif stres, erken membran rüptüründe (EMR) rol alan ana patolojik süreçlerden biri olarak gösterilmiştir. Endojen antioksidan durumunun membranın prematür olarak yırtılması ile ilişkisi çalışılmıştır. Erken doğum gelişen gebelerde sağlıklılara göre, MDA plazma seviyeleri daha yüksek ve SOD ve GSH seviyeleri daha düşük bulunmuştur.^[22] Bununla birlikte, Hsieh ve ark. komplikasyon gelişmeyen gebelikler ile erken doğumla sonuçlanan gebelikler arasında SOD aktivitesinin plazma seviyeleri arasında bir fark olmadığı gibi aksi bir sonuç birdirmiştir.^[20] Ayrıca, biz bu çalışmada antioksidan seviyesi ve lipid peroksidasyon seviyesini, önceki verilerle uyumlu olarak prematür doğum grubu ile kontrol grubu arasında benzer olarak bulduk.

Bu çalışmanın bazı eksik yönleri mevcuttur. Birincisi, bu çalışmada, erken doğum için incelenen 19-21 haftalık gebeleri seçtik. Bu zamanlamanın erken doğum patofizyolojisini araştırmak için erken olabileceği tartışılabilir. İkinci olarak, gebeliklerin plasentalarını değerlendirmedik. Bununla birlikte, tüm amniyotik sıvı hastanede toplandı, ama çalışma popülasyonunun büyük bir kısmı aynı yerde doğumu gerçekleştirmedik ve bunun sonucu olarak komplikasyon gelişen gebeliklerin altında yatan patolojide oksidatif stresin rolünü araştırmak için yeterli sayıda plaseenta örneği elde etmek mümkün değildi. Üçüncü sınırlama olarak ise, göreceli olarak sık rastlanan bir bulgunun (oksidatif stres artışı) çalışma ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmaması bu çalışmada tip I (alfa) istatistiksel hata olabileceği olasılığını arttırmaktadır.

Aynı zamanda, çalışma gruplarında 11 ve 15 olmak üzere az sayıda hasta bulunması ve çalışmanın %80 güç için hedeflenen hasta sayısının altında kalması da oksidatif stres belirteçleri arasında farklılık saptanamamasının nedeni olabilir.

Sonuç

Özet olarak, komplike olmayan gebeliklerle daha sonra gebelik komplikasyonu gelişenler arasında oksidatif stres biyobelirteçleri arasında bir fark bulamadık. Bu çalışma gebelik gelişimi ile ilişkili komplikasyonların gelişiminde oksidatif stres belirteçlerinin erken bir etkisinin olmadığını gösterebilir ama bulgularımızı göz önünde bulundurursak, gebelik ile ilişkili komplikasyonların patogeneğinde yüksek oksidatif stresin etkilerini belirtmek zor olacaktır. Yine de, amniyotik sıvıdaki oksidatif stres biyobelirteçlerinin bu komplikasyonlar için yüksek risk altında olan kadınları belirlemek için bir test olarak kullanılıp kullanılamayacağını belirlenmesi için daha fazla çalışma gerekmektedir.

Çıkar Çakışması: Çıkar çakışması bulunmadığı belirtilmiştir.

Kaynaklar

1. Gupta S, Agarwal A, Banerjee J, Alvarez J. The role of oxidative stress in spontaneous abortion and recurrent pregnancy loss: a systematic review. *Obstet Gynecol Survey* 2007;62:335-47.
2. WHO. Make every mother and child count. Geneva: WHO; 2005.
3. Cantwell R, Clutton-Brock T, Cooper G, et al. Saving Mothers' Lives: reviewing maternal deaths to make motherhood safer: 2006–2008. The Eighth Report of the Confidential Enquiries into Maternal Deaths in the United Kingdom. *BJOG* 2011;118 Suppl 1:S1-S203.
4. Sağol S, Ozkinay E, Ozşener S. Impaired antioxidant activity in women with preeclampsia. *Int J Gynaecol Obstet* 1999;64:121-7.
5. Krishna Mohan S, Venkataramana G. Status of lipid peroxidation, glutathione, ascorbic acid, vitamin E and antioxidant enzymes in patients with pregnancy-induced hypertension. *Indian J Physiol Pharmacol* 2007;51:284-8.
6. Longini M, Perrone S, Vezzosi P, et al. Association between oxidative stress in pregnancy and preterm premature rupture of membranes. *Clin Biochem* 2007;40:793-7.
7. Wall PD, Pressman EK, Woods JR Jr. Preterm premature rupture of the membranes and antioxidants: the free radical connection. *J Perinatal Med* 2002;30:447-57.
8. Abrahams VM, Kim YM, Straszewski SL, Romero R. Mor G. Macrophages and apoptotic cell clearance during pregnancy. *Am J Reprod Immunol* 2004;51:275-82.

9. Sargent IL, Germain SJ, Sacks GP, Kumar S, Redman CW. Trophoblast deportation and the maternal inflammatory response in preeclampsia. *J Reprod Immunol* 2003;59:153-60.
10. Davey DA, MacGillivray I. The classification and definition of the hypertensive disorders of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1988;158:892-8.
11. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988;34:497-500.
12. Giusti G. Adenosine deaminase. In: Bergmeyer MV, editor. *Methods of enzymatic analysis*. 2nd ed. New York: Academic Press; 1974. p. 1092-8.
13. Prajda N, Weber G. Malignant transformation-linked imbalance: decreased xanthine oxidase activity in hepatomas. *FEBS Lett* 1975;59:245-9.
14. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 1990;186:407-21.
15. Gitto E, Reiter RJ, Karbownik M, Tan DX, Gitto P, Barberi S, et al. Causes of oxidative stress in the pre- and perinatal period. *Biol Neonate* 2002;81:146-57.
16. Watson AL, Palmer ME, Jauniaux E, Burton GJ. Variations in expression of copper/zinc superoxide dismutase in villous trophoblast of the human placenta with gestational age. *Placenta* 1997;18:295-9.
17. Chappell LC, Seed PT, Briley A. A longitudinal study of biochemical variables in women at risk of preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol* 2002;187:127-36.
18. Gupta S, Aziz N, Sekhon L. Lipid peroxidation and antioxidant status in preeclampsia: a systematic review. *Obstet Gynecol Surv* 2009;64:750-9.
19. Bogavac M, Lakic N, Simin N, Nikolic A, Sudji J, Bozin B. Biomarkers of oxidative stress in amniotic fluid and complications in pregnancy. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2012;25:104-8.
20. Hsieh TT, Chen SF, Lo LM, Li MJ, Yeh YL, Hung TH. The association between maternal oxidative stress at mid-gestation and subsequent pregnancy complications. *Reprod Sci* 2012;19:505-12.
21. Karabulut AB, Kafkasli A, Burak F, Gozukara EM. Maternal and fetal plasma adenosine deaminase, xanthine oxidase and malondialdehyde levels in pre-eclampsia. *Cell Biochem Funct* 2005;23:279-83.
22. Yin B, Zhen M. Lipid peroxidation in plasma and the activity of superoxide dismutase (SOD) in pregnant women with premature rupture of membrane. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 1995;75:463-5, 509.