Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg.
2005, 11(2): 141-146

Gebelik Periyodu Boyunca Çinko Verilen Koyunlarda Redükte Glutatyon (GSH), Malondialdehit (MDA) ve Nitrik Oksit (NO) Düzeylerinin Araştırılması[1]

Onur ATAKİŞİ* Ayla ÖZCAN*

[1] Bu çalışma KAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenen doktora tezinden özetlenmiştir (Proje No: 2004-VF-07)

* Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Kars - TÜRKİYE

Yayın Kodu: 2005/35-A

Özet

Çalışmada gebelik periyodu boyunca koyunlara çinko verilmesinin, redükte glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı.

Çalışmada materyal olarak yaklaşık 3 yaşlı 20 adet Tuj ırkı koyun kullanıldı. Koyunlar deneme (n=10) ve kontrol (n=10) olmak üzere iki eşit gruba ayrıldı. Deneme grubundaki koyunlara gebelik periyodu süresince (ortalama 150 gün) her gün 30 mg çinko ağız yolu ile verildi. Gebe kalmadan önce bir kez ve gebelik süresince her ay kan numuneleri alındı. Numunelerde tam kan GSH düzeyleri ile plazma MDA ve NO derişimleri spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Gebelik öncesine göre gebelik boyunca her iki grupta da MDA düzeyleri artarken, GSH düzeyleri azaldı ($p<0.001$). Gebeliğin ikinci ayından itibaren çinko verilen grupta kontrole göre MDA düzeyleri azalırken, GSH düzeyleri artış gösterdi ($p<0.01$). Gebelikle birlikte artmaya başlayan NO değerinin gebeliğin 3. ayında en yüksek düzeyde olduğu saptandı. Çinko verilen grupta ise NO düzeylerinin gebeliğin 5. ayında kontrol grubuna göre düşük olduğu tespit edildi ($p<0.05$).

Sonuç olarak; gebe koyunlara ağız yolu ile verilen çinkonun gebelikte değişen antioksidan sisteminin güçlenmesine ve gebeliğin son döneminde artan NO düzeyinin azaltılmasına olumlu katkılar sağladığı sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: Gebelik, Çinko, Redükte Glutatyon, Malondialdehit, Nitrik Oksit.

Investigation of Reduced Glutathione (GSH), Malondialdehyde (MDA) and Nitric oxide (NO) Levels in Ewes Receiving Zing During the Period of Pregnancy

Summary

This study was aimed to investigate the effect of zinc on reduced glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) levels of ewes during pregnancy.

Twenty Tuj breed ewes at 3 years of age were used as animal material. The animals were divided into 2 equal groups including control (n=10) and experimental group receiving 30 mg/kg of zinc daily for average of 150 days (n=10). The blood samples from the groups were monthly collected before (once) and during the pregnancy (for five months). The whole blood GSH, plasma MDA and NO levels were spectrophotometrically determined.

Ewes in both groups had higher MDA and decreased GSH levels during the pregnancy as compared to the period before pregnancy ($p<0.001$). As of the second month of pregnancy, ewes receiving zinc had lower MDA but higher GSH concentrations for the 4 consecutive months compared to control ($p<0.01$) until the end of experiment (5th month). Nitric oxide level of both groups which was raised with the beginning of pregnancy reached to its peak level on the third month of pregnancy. In the zinc-received group, the NO levels were found to be lower than that of control group on the fifth month of pregnancy ($p<0.05$).

In conclusion, oral administration of zinc to pregnant ewes could improve altered antioxidant status and contribute to the reduced levels of NO elevated during the last stage of pregnancy.

Keywords: Pregnancy, Zinc, Reduced Glutathione, Malondialdehyde, Nitric Oxide.

İletişim (Correspondence)
Dr. Onur ATAKİŞİ
Tel: +90 412 2426801 - 1160
e-mail: onuratakisi@hotmail.com

GİRİŞ

Çinko canlıların büyüme, üreme, immun sistem ve antioksidan fonksiyonlarını içeren birçok fizyolojik olay için gerekli bir iz elementtir[1,2]. Hayvansal organizma fazla miktarlarda kullanabileceği çinko depolarına sahip olmadığından, besinlerle sürekli olarak yeterli miktarda alınması gerekmektedir. Sadece karaciğerdeki metallotiyonein (MT) ve süperoksit dismutaz (SOD) depo bileşiklerdir ve gereksinim olunca buralardan kolayca mobilize olabilmektedir[3,4].

Çinko düzeyi gebelik süresince azalmaktadır[5]. Gebelikteki eksikliği normal embriyonal gelişimi, fetal büyümeyi ve gebelik süresini etkilemektedir. Prematüre ve düşük ağırlıklı doğan yavruların sayısının çinko takviyesi ile azaltılabileceği bildirilmektedir[5,6].

Çinko ile aktive olan hücre ve nöronlarda bulunan MT izoformları düşük molekül ağırlığına sahip bileşiklerdir[7-9]. MT'deki nükleofilik sülfidril grupları elektrofilik toksinlerle reaksiyona girerek hücre içi indirgenme-yükseltgenme olaylarını düzenleyerek zarların kararlılığını sağlamış olurlar[9-12].

Aerobik nitrik oksit (NO) MT'lerde bulunan metal sülfidril kompleksine etki ederek çinko ve bakır gibi çift değerlikli metallerin serbest bırakılmasına, metalsiz sülfidril gruplarının da kolayca oksitlenebilmesine neden olmaktadır[8]. Nitrik oksit renksiz, küçük moleküllü, yağda çözünen, yarı ömrü oldukça kısa olan ve hücre zarlarından kolaylıkla geçebilen reaksiyon yeteneği oldukça yüksek olan toksik etkili nörotransmitter bir maddedir[13,14]. Birçok nitrik oksit sentetaz (NOS) izoformu tanımlanmış olmakla birlikte üç tanesi hakkında daha çok bilgi bulunmaktadır. Bunlar; uyarılabilen NOS (iNOS), endotel NOS (eNOS) ve nöronal NOS (nNOS)'tur. Endotel NOS sinir ve endotel hücreleri ile endokard, miyokard ve trombositlerde sürekli bulunur. Hücre içi ve hücreler arası iletişimde fizyolojik olarak aracılık yapar.[15-19]. Nöronlar, kan damarları ve immun sistem hücreleri üreme organlarının önemli birer parçaları olduğu için nöronlar tarafından üretilen ve bir nörotransmitter gibi rol oynayan NO'nun üreme sistemi fizyolojisi ve biyolojisinin düzenlenmesinde önemli bir rolünün olabileceği düşünülmektedir. Gebelikte uterus önemli yapısal değişimlere uğrar. NO düz kas hücrelerinin kasılmasını düzenler ve gebelikte uterusun kasılmasına ve gevşemesine neden olur[20]. Normal gebelikte, uterustaki kan akımı artar ve damarsal direnç azalır. Gebelikte, uterusa ait damarlarının genişlemesinde NO'nun önemli rol oynadığına dair bilgiler giderek artmaktadır[21,22]. Gebelik vücudun birçok fonksiyonları için yüksek enerji gerektiren fizyolojik bir durum olduğundan[23], oksijen ihtiyacında da bir artış meydana gelmektedir. Fazla tüketilen oksijen de reaktif oksijen türlerinin (ROT) artışına neden olmaktadır[24,25]. Bu şekilde meydana gelen aşırı ROT' da hücre zarındaki lipidlerle reaksiyona girerek lipid peroksidasyon (LPO) ürünlerini oluşturmaktadır[26]. Küçük molekül ağırlıklı suda eriyebilir bir molekül olan glutatyon (GSH), genetik bilgiye ihtiyaç olmaksızın karaciğerde sentezlenebilen ve yapısında g-glutamin, sistein ve glisin amino asitlerini bulunduran bir tripeptitdir. GSH memelilerde hücreleri oksidatif hasara karşı koruyan en önemli sülfidril bileşiğidir[27-29]. Çinko lipid peroksidasyonunu inhibe ederek glutatyon kullanılabilirliğini artırmakta ve antioksidan sistemin güçlenmesine katkı sağlamaktadır[30].

Bu bilgiler ışığında yapılan çalışmada, gebelik süresince ilave çinko verilmesinin antioksidan özellik gösteren redükte glutatyon, lipid peroksidasyon ürünlerinden biri olan malondialdehit (MDA) ve NO düzeyine herhangi bir etkisinin olup olmadığını, ayrıca gebe koyunlardaki normal NO düzeylerinin aylara göre nasıl değişim gösterdiğini araştırmak amaçlanmıştır.

MATERYAL ve METOT

Araştırma materyalini Kars'ın Arpaçay ilçesi civar köylerinden satın alınan ve Kıraç köyünde beslenen Tuj ırkı koyunlar oluşturdu. Çalışmada canlı ağırlık ortalaması 47.64 ± 2.84 kg, yaklaşık 3 yaşlı 25 adet koyun kullanıldı. Çalışmada koyunların toplu bir şekilde östrüs göstermelerini sağlamak için vajinal süngerler kullanıldı. Bu amaçla koyunların vajinasına 40 mg florogeston asetat (FGA) içeren vajinal süngerler özel aparatlarla yerleştirildi. Süngerler 14. günde çıkartılarak her koyuna 400 IU gonadotropin (PMSG) kas içi enjekte edildi (FGA ve PMSG İntervet'den satın alındı). Enjeksiyondan 24 saat sonra östrüs gösteren koyunları saptamak için arama koçu kondu. Östrüs gösteren 20 adet koyun deneme ve kontrol olmak üzere 10'arlı iki gruba ayrıldı.

Gebelik periyodu boyunca tüm hayvanların besin madde ve enerji ihtiyaçları NRC (Nutrient Requirements of Sheep, 1985)'ye göre belirlenerek, kuru ot ve konsantre yemle beslendi. Deneme grubundaki hayvanlara ilave olarak gebelik periyodu süresince (ortalama 150 gün) günlük 30 mg çinko (%2.64'lük $ZnSO_4.7H_2O$'dan 5 ml/koyun/gün) oral yolla verildi. Gebe kalmadan önce bir kez ve gebelik süresince her

ay V. jugularis'ten heparinli tüplere kan numuneleri alındı. Alınan kan örneklerinden bir kısmı glutatyon düzeylerinin saptanması amacıyla hiçbir işleme tabi tutulmadan tam kan olarak eppendorf tüplere konuldu. Geriye kalan numuneler 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilerek plazmaları elde edildi. Tam kan glutatyon düzeyleri Beutler ve ark.[31], plazma MDA Yoshioka ve ark.[32] ve plazma NO düzeyleri Miranda ve ark.[33]'nın bildirdikleri yönteme göre spektrofotometrik olarak ölçüldü. Elde edilen verilerin istatistik analizlerinin hesaplanmasında SPSS Windows 10,0 paket programından yararlanıldı. Sonuçlar; ortalama±standart hata (x±Sx) olarak verildi.

BULGULAR

Çalışma sonunda elde edilen plazma MDA, plazma NO ve tam kan GSH düzeylerine ait bulgular sırası ile Tablo 1, 2 ve 3' te verildi. Kontrol grubu MDA düzeyi gebelik öncesi döneme göre gebelik periyodu boyunca önemli derecede artış gösterdi ($p<0.001$). Deneme grubundaki MDA düzeyleri gebeliğin 1, 2, 3 ve 5. aylarında gebelik öncesi döneme ve gebeliğin 4. ayına göre yüksek saptandı ($p<0.001$). Her iki gruptaki MDA düzeyleri aylara göre karşılaştırıldığında, gebeliğin 2. ayından itibaren çinko verilen grupta istatistik olarak azalma tespit edildi ($p<0.01$). Kontrol ve deneme grubundaki GSH düzeyleri gebelik periyodu boyunca gebelik öncesi döneme göre azalma ($p<0.001$) gösterdi. Kontrol ve deneme grupları aylara göre karşılaştırıldığında gebeliğin 2. ayından itibaren deneme grubunda artış tespit edildi ($p<0.01$). Kontrol grubundaki NO düzeyleri gebeliğin 2, 3 ve 5. ayında, gebelik öncesi döneme ve gebeliğin diğer aylarına göre artış gösterdi ($p<0.001$). Deneme grubunda ise kontrolden farklı olarak gebeliğin 1, 2, 3 ve 5. ayında elde edilen NO düzeylerinin gebelik öncesine göre arttığı tespit edildi ($p<0.001$). Deneme ve kontrol grubundan elde edilen NO düzeyleri karşılaştırıldığında sadece gebeliğin 5. ayında çinko verilen grupta bir azalma saptanırken ($p<0.05$), diğer aylarda herhangi bir fark bulunamadı.

Tablo 1. Gebelik Öncesi ve Gebelik Boyunca Kontrol ve Deneme Gruplarındaki MDA düzeyleri (mmol/L).
Table 1. MDA levels of Control and Experimental Groups Before and During the Period of Pregnancy (mmol/L).

Gruplar	G. öncesi (x±Sx)	1. Ay (x±Sx)	2. Ay (x±Sx)	3. Ay (x±Sx)	4. Ay (x±Sx)	5. Ay (x±Sx)
Kontrol (n=10)	7.07± 0.30^{d}	11.55± 0.25^{b}	^{A}12.66± 0.39^{a}	^{A}11.67± 0.29^{b}	^{A}8.84± 0.18^{c}	^{A}12.0± 0.41^{ab}
Deneme (n=10)	6.93± 0.31^{b}	10.44± 0.46^{c}	^{B}10.25± 0.34^{a}	^{B}9.53± 0.24^{a}	^{B}7.63± 0.30^{b}	^{B}9.39± 0.61^{a}

Tablo 2. Gebelik Öncesi ve Gebelik Boyunca Kontrol ve Deneme Gruplarındaki NO düzeyleri (mmol/L).
Table 2. NO levels levels of Control and Experimental Groups Before and During the Period of Pregnancy (mmol/L).

Gruplar	G. öncesi (x±Sx)	1. Ay (x±Sx)	2. Ay (x±Sx)	3. Ay (x±Sx)	4. Ay (x±Sx)	5. Ay (x±Sx)
Kontrol (n=10)	12.33± 0.52^{c}	16.72± 1.05^{c}	25.08± 1.4^{b}	44.75± 4.27^{a}	18.56± 1.35^{c}	^{X}25.39± 1.70^{b}
Deneme (n=10)	12.12± 0.64^{d}	16.84± 0.88^{c}	22.50± 0.98^{b}	38.13± 2.94^{a}	16.28± 0.99^{cd}	^{Y}20.44± 1.20^{bc}

Tablo 3. Gebelik Öncesi ve Gebelik Boyunca Kontrol ve Deneme Gruplarındaki GSH düzeyleri (mg/dl).
Table 3. GSH levels of levels Control and Experimental Groups Before and During the Period of Pregnancy (mg/dl).

Gruplar	G. öncesi (x±Sx)	1. Ay (x±Sx)	2. Ay (x±Sx)	3. Ay (x±Sx)	4. Ay (x±Sx)	5. Ay (x±Sx)
Kontrol (n=10)	18.14± 0.92^{a}	8.84± 0.34^{bc}	^{B}7.17± 0.45^{d}	^{B}8.25± 0.42^{d}	^{B}10.70± 0.38^{b}	^{B}10.02± 0.66^{bc}
Deneme (n=10)	18.08± 0.89^{a}	10.21± 0.40^{c}	^{A}9.35± 0.43^{c}	^{A}10.06± 0.38^{c}	^{A}13.26± 0.57^{b}	^{A}12.76± 0.52^{b}

a,b,c,d:Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir ($p<0.001$).
A,B: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir ($p<0.01$).
X,Y: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir ($p<0.05$).

TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada, gebelik periyodu boyunca ağız yolu ile verilen çinkonun antioksidan sistemi güçlendirerek MDA düzeylerinde azalmaya neden olduğu, özellikle gebeliğin son ayında NO düzeyini azalttığı gözlendi. Çalışmada kontrol grubunda gebelik periyodu boyunca LPO ürünlerinden biri olan MDA düzeyinde önemli artışların olduğu saptandı. Gebelik boyunca LPO'nun artış nedeni tam olarak bilinmemesine rağmen[34], olası nedenler şöyle açıklanabilir; gebelik vücudun birçok fonksiyonları için yüksek enerji gerektiren fizyolojik bir durum olduğundan[23], uterus kütlesi ve içeriğindeki belirgin artışa paralel olarak oksijen ihtiyacında da bir artış meydana gelmektedir. Fazla tüketilen oksijen de ROT'un artışına neden olmaktadır[24, 25]. Bu şekilde meydana gelen aşırı ROT' da hücre zarındaki lipidlerle reaksiyona girerek LPO ürünlerini oluşturmaktadır[26]. Gebelikte yüksek saptanan MDA düzeyinin başka bir sebebinin de perokside olmuş lipidlerin çoğunlukla plasentada üretilmesinden kaynaklanabileceği bildirilmektedir[26,35,36]. Ayrıca spontan olarak otookside olabilen serum trigliseritlerinin gebelik periyodu boyunca artmasının, LPO ürünü olan MDA düzeyini arttırabileceği bildirilmektedir[34,37,38].

Loverro ve ark.[39], gebeliğin son döneminde LPO düzeyind e önemli bir artış tespit etmişler ve bu artışın nedeni olarak gebelikteki koruyucu mekanizmaların yetersizliğini ileri sürmüşlerdir. Sugino ve ark.[40] ratlarda yaptıkları bir araştırmada LPO ürünlerinden olan MDA düzeyinin gebeliğin 15. gününden itibaren bir artış gösterdiğini ve bu artışın gebeliğin sonlarına kadar devam ettiğini bildirmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada ise Sugino ve ark.[40], ve Loverro ve ark.[39]'nın bildirdiklerinden farklı olarak MDA düzeyinin her iki grupta da (deneme grubu 4 ay hariç) gebeliğin başlangıcından itibaren artış göstermeye başladığı ve bu artışın doğuma kadar devam ettiği gözlenmiştir. Çalışmada kontrol ve deneme gruplarında LPO'nun bir belirteci olan MDA düzeyinde gebelik süresince gebelik öncesine göre istatistik olarak anlamlı artışlar tespit edildi. Bu sonuçlar, özellikle gebeliğin son dönemlerinde LPO ürünlerinin arttığını ortaya koyan bulgular ile uygunluk göstermektedir[39,40].

Gebelik boyunca kontrol grubunda yüksek olan MDA düzeylerinin çinko ilavesi ile düşürülebileceği çalışmada açıkça görülmektedir. Canlılar için esansiyel bir element olan çinkonun organizmadaki önemli bir görevi hücre zarlarının stabilizasyonunu sağlamasıdır[11,12]. Süperoksit anyonunun katalizlenmesini sağlayarak hücrelerin oksidatif hasara karşı korunmasına katkıda bulunan SOD'un yapısında da çinko bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda[41,42] çinko eksikliğinin hücre bileşenlerinde oksidatif hasara neden olduğu kaydedilmiştir.

Yapılan bu çalışmada gebelik süresince plazma MDA düzeyi artarken (deneme grubu 4. ay hariç) tam kan GSH düzeylerinin her iki grupta istatistik olarak önemli azalma gösterdiği tespit edildi. Gebelikte ROT'un artışına paralel olarak[24,25] artan serbest radikaller GSH tarafından etkisiz hale getirildiğinden dolayı GSH düzeyinde azalma meydana gelmektedir[43]. Al-Gubory ve ark.[44], ROT ve oksidatif strese karşı GSH'ya bağlı antioksidan enzimlerin önemli bir rol oynadığını bildirmişlerdir.

Farinati ve ark.[30] yaptıkları çalışmada çinkonun LPO ürünlerini inhibe ederek glutatyonun kullanılabilirliğini artırdığını bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmada çinko verilen deneme grubunda saptanan yüksek GSH düzeyi, çinkonun GSH'ın etkinliğinin artırmasından kaynaklanabilir. Gebelik süresince kontrol ve deneme grupları karşılaştırıldığında gebeliğin ikinci ayından itibaren deneme grubundan elde edilen değerlerin kontrole göre yüksek olduğu gözlemlendi (Tablo 3; A,B). Çalışma bulgularına göre çinko ilavesinin antioksidan sistemi güçlendirdiği açıkça görülmektedir. Elde edilen bu bulgular çinkonun GSH'ın etkinliğini arttırdığını bildiren sonuçlarla uyum göstermektedir[29,30].

Bu çalışmada, gebelikte NO derişiminde istatistik olarak önemli artışlar saptandı. Bu artışın nedeninin gebelikte NO üretiminin artmasıyla uterusun hareketsizliğinin sağlanarak gebeliğin devamının sorunsuz şekilde sağlanması[45] gösterilmektedir. NO vasküler endotelde sentez edilen, gebelik boyunca vasküler basıncın düzenlenmesini ve kontrolünü sağlayan önemli bir aracı[46] olduğundan dolayı, gebelik süresince NO düzeyinde değişimler meydana gelir. Gebelikte endojen NO üretiminde bir artış olduğundan kan dolaşımındaki NO metabolitlerinin (nitrat ve nitrit) arttığı[47-49] çeşitli araştırıcılar tarafından bildirilmektedir. Yang ve ark.[50] yaptıkları bir çalışmada, gebeliğin son dönemlerindeki koyunlarda NO'in bir metaboliti olan nitrat düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlardır. Zhang ve ark.[51] gebeliğin 30. günündeki koyunlarda nitrat düzeylerini 17.4 ± 0.3 mM ve gebe olmayan koyunlarda 6.8 ± 0.4 mM olarak tespit etmişlerdir. Yapılan araştırmada, gebeliğin 30 gününde NO düzeyleri sırasıyla kontrol ve deneme gruplarında 16.72 ± 1.05 mmol/L ile 16.84 ± 0.88 mmol/L olarak saptandı. Çalışma bulguları, Zhang ve ark[51]'nın gebe koyunlardaki nitrik oksit metabolitleri (NOx) düzeyleri ile uygunluk göstermektedir.

Gebeliğin sonunda sancı için gerekli olan kasılmaları sağlamak için NO üretiminin azaltılmasının gerekli olduğu bildirilmektedir[45]. Kontrol ve deneme grupları gebelik süresince kendi aralarında karşılaştırıldığında sadece gebeliğin 5. ayında deneme grubundan elde edilen NO düzeylerinin kontrole göre önemli ölçüde düşük olduğu gözlendi ($p<0.05$). Elde edilen bu sonuç çinkonun NO üretiminin azaltılmasına katkıda bulunarak sancı için gerekli olan kasılmalara yardımcı olabileceğini göstermektedir. Uterus kasılmaları üzerine çinko ve NO ilişkisi ile ilgili olarak daha ileri çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak gebelik süresince koyunlara ağız yolu ile verilen çinkonun;

- Gebelik periyodu boyunca strese bağlı olarak artış gösteren MDA seviyelerini önemli derecede düşürdüğü, buna paralel olarak azalan GSH miktarını arttırarak

antioksidan sistemi güçlendirebileceği,

- Gebelik süresince ve özellikle de son döneminde NO düzeylerinin aşırı artışını engelleyerek serbest radikal oluşumunu azaltabileceği, bunun yanında NO'nun uterus kasılmaları üzerine olan etkilerini daha düzenli hale getirerek, doğum anında oluşabilecek patolojik durumların ortadan kaldırılmasına yardımcı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1 **Langley A, Mangas S:** Zinc, Report of an international meeting 12-13 September, Adelaide, 1996.

2 **Yousef MI, El Hendy HA, El-Demerdash FM, Elagamy EI:** Dietary zinc deficiency induced-changes in the activity of enzymes and the levels of free radicals, lipids and protein electrophoretic behavior in growing rats. *Toxicol*, 175: 223-234, 2002.

3 **Bartnikas TB, Gitlin JD:** Mechanisms of biosythesis of mammalian copper/zinc superoxide dismutase. *J Biol Chem*, 278(35): 33602-33608, 2003.

4 **McDowell LR:** Minerals in animal and human nutrition. Academic Press Inc, 265-293, 1992.

5 **George SS, Swaminathan S, Seshadri L:** Zinc levels in pregnancy. *Int J Gynecol Obstr*, 55:175-176, 1996.

6 **Castillo-Durán C, Marín VB, Alcazar LS, Iturralde H, Ruz MO:** Controlled trial of zinc supplementation in Chilean pregnant adolescents. *Nutr Res*, 21: 715-724, 2001.

7 **Cai L, Cherian MG:** Zinc-metallothionein protects from DNA damage induced by radiation better glutathione and copper- or cadmium metallothioneins. *Toxicol Letters*, 136: 193-198, 2003.

8 **Katakai K, Liu J, Nakajima K, Keefer LK, Waalkes M:** Nitric oxide induces metallothionein (MT) gene expression apparently by displacing zinc bound to MT. *Toxicol Letters*, 119: 103-108, 2001.

9 **Sakaguchi S, Lizuka Y, Furusawa S, Ishikawa M, Satoh S, Takayanagi M:** Role of Zn+2 in oxidative stress caused by endotoxin challenge. *Eur J Pharmacol*, 451: 309-316, 2002.

10 **Ebadi M, Leuschen MP, El Refay H, Hamada M, Rojas P:** The antioxidant properties of zinc and metallohionein. *Neurochem Int*, 29(2): 159-166,1996.

11 **Jourdan E, Emonet-Piccardi N, Didider C, Beanai JC, Favier A, Richard MJ:** Effects of cadmium and zinc on solar-simulated light-irradiated cells: potential role of zinc-metallothionein in zinc-induced geneoprotection. *Arch Biochem Biophy*, 405:170-177, 2002.

12 **Kurt D, Denli O, Kanay Z, Güzel C, Ceylan K:** Diyarbakır yöresindeki Akkaraman koyunlarında kan serumunda Cu, Zn, Se ve yünde Cu, Zn düzeylerinin araştırılması. *Tr J Vet Anim Sci*, 25: 431-436, 2001.

13 **Garthwaite J:** Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system, *Elsevier Sci Pub Tins*, 14(2):60-67, 1991.

14 **Tuna R, Çağlayan B:** Nitrik oksit-I-.Sendrom, 25-28, 1995.

15 **Feldman PL, Stuehr DJ, Griffith OW, Fukuto JM:** Mechanisms of mammalian nitric oxide biosynthesis. In, Weisman BA, Allon N, Shapira S (Eds): Biochemical, pharmacological and clinical aspects of nitric oxide. Plenum Press, New York, 14-20, 1995.

16 **Griffith OW:** Nitric Oxide Synthase Inhibitors: Mechanisms of Action and in Vivo Studies. In, Weisman BA, Allon N, Shapira S (Eds): Biochemical, Pharmacological and Clinical Aspects of Nitric Oxide. Plenum Press, New York, 21-36, 1995.

17 **Hecker M, Fleming I, Ayajiki K, Busse R:** Mechanism of Shear Stress-Dependent Endothelial Nitric Oxide Release: Cardiovasculer Implications. In, Weisman BA, Allon N, Shapira S (Eds): Biochemical, Pharmacological and Clinical Aspects of Nitric Oxide. Plenum Press, New York, 49-56, 1995.

18 **Stuehr DJ:** Mammalian nitric oxide syntheses. *Biochim Biophy Acta*, 1411:217-230, 1999.

19 **Wang PG, Xian M, Tang X, Wu X, Wen Z, Cai T, Janczuk AJ:** Nitric oxide donors: chemicals activites and biological applications. *Chem Rev*, 102:1091-1134, 2002.

20 **Rosselli M, Paul JK, Dubey KR:** Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Human Reproduction*, 4(1):3-24, 1998.

21 **Lucca JJD, Adeagbo ASO, Alsip NL:** Oestrus cycle and pregnancy alter the reactivity of the rat uterine vasculature, *Human Reproduction*, 15(12): 2496-2503, 2000.

22 **Nelson SH, Steinsland OS, Wang Y, Yallampalli C, Dong YL, Sanchez J:** Increased nitric oxide synthase activity and expression in the human uterine artery during pregnancy. *Circulation Res*, 87:406-411, 2000.

23 **Ladipo OA:** Nutrition in pregnancy: Mineral and vitamin supplements. *Am J Clin Nutr*, 72:280-290, 2000.

24 **Casanueva E, Viteri FE:** Iron and oxidative stress in pregnancy. *J Nutr*, 133:1700-1708, 2003.

25 **Mover-lev H, Ar A:** Changes in enzymatic antioxidant activity in pregnant rats exposed to hyperoxia or hypoxia. *Comp Biochem Physiol*, 118(3): 353-359, 1997.

26 **Sainz RM, Reiter RJ, Mayo JC, Cabrera J, Tan DX, Qi W, Garcia J:** Changes in lipid peroxidation during pregnancy and after delivery in rats: Effect of pinealectomy. *J Reprod Fertil*, 119: 143-149. 2000.

27 **Akkuş İ:** Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza Yay., Konya. 1995.

28 **De Matos DG, Gasparrini B, Pasqualini SR, Thompson JG:** Effect of glutathione synthesis stimulation during in vitro maturation of ovine oocytes on embryo development and intracelluler peroxide content. *Theriogen*, 57:1443-1451, 2002.

29 **Sidhu P, Gard ML, Dhawan DK:** Protective effects of zinc on oxidative stres enzymes in liver of protein deficient rats. *Nutr Host*, 19(6): 341-347, 2004.

30 **Farinati F, Cardin R, D'inca R, Naccarato R, Sturniolo GC:** Zinc treatment prevents lipid peroxidation and increases glutathione availability in Wilson's disease. *J Lab Clin Med*, 141 (6):372-7, 2003.

31 **Beutler E, Duran O, Kelley BM:** Improved method for determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med*, 61: 882-888, 1963.

32 **Yoshioka T, Kawada K, Shimada T, Mori M:** Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism aganist actived-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol*, 135: 372-376, 1979.

33 **Miranda KM, Espey MG, Wink DA:** A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide: Biol Chem*, 5(1): 62-71, 2001.

34 **Nakai A, Oya A, Kobe H, Asakura H, Yokota A, Koshino T, Araki T:** Changes in metarnal lipid peroxidation levels and antioxidant enzymatic activites before and after delivery. *J*

Nippon Med Sch, 67(6): 434-439, 2000.

35 **Myatt L, Cui X:** Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol,* 122: 369-382, 2004.

36 **Poston L, Raijmakers MTM:** Trophoblast oxidative stres, antioxidant and pregnancy outcome. *Placenta,* 25(18):72-78, 2004.

37 **Hubel CA, McLaughlin MK, Evans RW, Hauth BA, Sims CJ:** Fasting serum triglycerides, free fatty acids, and malondialdehyde are increased in preeclampsia, are positively correlated, and decrease within 48 hours post partum. *Am J Obstet Gynecol,* 174(3):975-982,1996.

38 **Ishihara M:** Studies on lipoperoxide of normal pregnant women and of patients with toxemia of pregnancy. *Clin Chim Acta,* 84(1-2): 1-9, 1978.

39 **Loverro G, Greco P, Capuano F, Carone D, Cormio G, Selvaggi L:** Lipoperoxidation and antioxidant enzymes activity in pregnancy complicated with hypertension. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol,* 70:123–127, 1996.

40 **Sugino N, Nakamura Y, Takeda O, Ishimatsu M, Kato H:** Changes in activities of superoxide dismutase and lipid peroxide in corpus luteum during pregnancy in rats. *J Reprod Fertil,* 97(2):347-351, 1993.

41 **Hyeok YK, Choi S, Won MH, Kang TC, Kang JH:** Oxidative modification and inactivation of Cu,Zn-superoxide dismutase by 2,2'-azobis(2-aminopropane) dihydrochloride. *Biochim Biophy Acta,* 1543: 69-76, 2000.

42 **Zago MP, Oteiza PI:** The antioxidant properties of zinc: interactions with iron and antioxidants. *Free Radical Biol Med,* 31(2): 266-274, 2001.

43 **Wang W, Ballatori N:** Endogenous glutathione conjugates: occurrence and biological functions. *Pharmacol Rew,* 50(3): 336-355, 1999.

44 **Al-Gubory K, Bolifraud P, Germain G, Nicole A, Ceballos-Bicot I:** Antioxidant enzymatic defence systems in sheep corpus luteum throughout pregnancy. *Reproduction,* 128:767-774, 2004.

45 **Maul H, Longo M, Sade GR, Garfield RE:** Nitric oxide and its role during pregnancy: From ovulation to delivery. *Curr Pharm Des,* 9: 359-380, 2003.

46 **Pandhi P, Saha L, Malhotra S:** Prolonged blockade of nitric oxide synthesis in pregnant rats as a model of pre-eclampsia. *Indian J Pharmacol,* 33:92-95, 2001.

47 **Conrad KP, Joffe GM, Kruszyna H, Kruszyna R, Rochelle LG, Smith RP, Chavez JE, Mosher MD:** Identification of increased nitric oxide biosynthesis during pregnancy in rats. *FASEB,* 7: 566-571, 1993.

48 **Magness RR, Sullivan JA, Ti Y, Phemetton TM, Bird IM:** Endothelial vasodilator production by uterine and systemic arteries. VI. Ovarian and pregnancy effects on eNOS and NOx. *Am J Physiol Heart Circ Physiol,* 280:1692-1698, 2001.

49 **Diejomaoh MFE, Omu AE, Taher S, Al-Busiri N, Fatinikun T, Fernandes S, Al-Othman S:** Nitric oxide metabolites in preterm and induced labor. *Gynecol Obstest Invest,* 56: 197-202, 2003.

50 **Yang D, Lang U, Greenberg SG, Myatt L, Clark K:** Elevation of nitrate levels in pregnant ewes and their fetuses, *Am J Obstet Gynecol,* 174:573-577, 1996.

51 **Zhang L, Xiao D, David B, Bouslough B:** Long-term high-altitude hypoxia increases plasma nitrate levels in pregnant ewes and their fetuses. *Am J Obstet Gynecol,* 179:1594-1598, 1998.