

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

**MİADINDA NORMAL SPONTAN VAJİNAL YOLLA VE ELEKTİF  
SEZARYENLE DOĞAN BEBEKLERDE OKSİDATİF DURUM VE DNA  
HASARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Halil KAZANASMAZ**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç. Dr. Mahmut ABUHANDAN**

**ŞANLIURFA**

**2014**

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

**MİADINDA NORMAL SPONTAN VAJİNAL YOLLA VE SEZARYENLE  
DOĞAN BEBEKLERDE OKSİDATİF DURUM VE DNA HASARININ  
DEĞERLENDİRİLMESİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Dr. Halil KAZANASMAZ**

**DANIŞMAN  
Yrd. Doç. Dr. Mahmut ABUHANDAN**

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 06.02.2013 tarih ve 13068 proje numarasıyla desteklenmiştir.

**ŞANLIURFA**

**2014**

## TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinde, çalışmaların planlanması ve yürütülmesi esnasında destek ve yardımlarını gördüğüm değerli tez hocam Yrd. Doç. Dr. Mahmut ABUHANDAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniğindeki uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği geçen, her konuda desteğini esirgemeyen, tecrübe ve deneyimlerinden çok şey kazandığım değerli hocalarım; Prof. Dr. C.Dost ZEYREK'e, Doç. Dr. Alpay ÇAKMAK, Doç. Dr. Ali ATAŞ, Doç. Dr. Kabil SHERMATOV, Doç. Dr. Mustafa ÇALIK ve Doç. Dr. Bülent KOCA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımındaki yardım ve desteklerinden dolayı Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki sevgili hocam Prof. Dr. Nurten AKSOY, Araş. Gör. Dr. Selçuk AKIN, Biyolog Abdullah TAŞKIN ve laboratuvar çalışmaları esnasında yardımlarından dolayı Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına gönülden teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim süresince klinikteki çalışmalarım ve tezimde yardımlarını esirgemeyen ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, sıkıntılı ve güzel günleri paylaştığım değerli arkadaşlarım Çocuk Kliniği asistanlarına, hemşirelerine ve personeline ayrıca teşekkür ederim.

Dr. Halil KAZANASMAZ

# İÇİNDEKİLER

# SAYFA NO

<b>TEŞEKKÜR</b>	I
<b>İÇİNDEKİLER</b>	II
<b>TABLO LİSTESİ</b>	V
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	VI
<b>KISALTMALAR</b>	VIII
<b>ÖZET</b>	IX
<b>SUMMARY</b>	X
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	2
<b>2.1. Normal Doğum</b>	2
<b>2.1.1. Tanım</b>	3
<b>2.1.2. Normal Doğumun Fazları</b>	4
<b>2.1.3. Normal Doğumda Başın Esas Hareketleri</b>	5
<b>2.1.4. Normal Doğum Komplikasyonları</b>	8
<b>2.1.5. Epizyotomi</b>	10
<b>2.2. Sezaryen</b>	11
<b>2.2.1. Tanım</b>	11
<b>2.2.2. Sezaryen sıklığı</b>	11
<b>2.2.3. Sezaryen Endikasyonları</b>	12
<b>2.2.4. Komplikasyonlar</b>	14
<b>2.2.5. Abdominal İnsizyon</b>	15
<b>2.2.6. Uterus İnsizyonu</b>	16
<b>2.2.7. Sezaryen Histerektomi</b>	16
<b>2.3. DNA Hasarı</b>	16
<b>2.3.1. DNA'nın Yapısı ve Fonksiyonu</b>	17
<b>2.3.2. DNA Hasarı Oluşum Nedenleri</b>	20
<b>2.3.3. DNA Hasarı Tipleri</b>	21
<b>2.3.3.1. Deaminasyon</b>	22
<b>2.3.3.2. Depürinasyon</b>	23

2.3.3.3. Alkilasyon	23
2.3.3.4. T-T ve T-C dimerleri oluşumu	24
2.3.3.5. Replikasyon Hataları	24
2.3.3.6. Çift İplik Kırıkları Oluşumu	24
2.3.3.7. Oksidatif Stresin Neden Olduğu DNA Hasarı	25
2.3.4. DNA Tamiri	27
2.4. Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Kapasite ve Oksidatif Stres İndeksi	28
2.4.1. Serbest Radikaller	29
2.4.1.1. Süperoksit Radikali ( $O_2^-$ )	30
2.4.1.2. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )	30
2.4.1.3. Hidroksil Radikali ( $HO^-$ )	30
2.4.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri	31
2.4.2.1. Membran Lipidlerine Etkisi (Lipid Peroksidasyonu)	31
2.4.2.2. Proteinlere Etkisi	32
2.4.2.3. Nükleik asitlere Etkileri	32
2.4.2.4. Karbonhidratlara Etkileri	33
2.4.3. Antioksidan Mekanizmalar	33
2.4.3.1. Enzim Olan Antioksidanlar	34
2.4.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	34
2.4.3.1.2. Katalaz	34
2.4.3.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)	34
2.4.3.1.4. Glutatyon-S-Transferaz (GST)	35
2.4.3.1.5. Glutatyon Redüktaz (GR)	36
2.4.3.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz	36
2.4.3.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar	36
2.4.3.2.1. Glutatyon (GSH)	36
2.4.3.2.2. Vitamin C (Askorbik Asit)	36
2.4.3.2.3. Vitamin E (Tokoferol)	37
2.4.3.2.4. $\beta$ Karoten	37
2.4.3.2.5. Seruloplazmin	38
2.4.4. Total Antioksidan Kapasite	38
2.4.5. Oksidatif Stres	38
	40

<b>3. MATERYAL VE METOD</b>	
<b>3.1. Yöntem</b>	41
<b>3.1.1. Toplam Antioksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TAS)</b>	41
<b>3.1.2. Toplam Oksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TOS)</b>	41
<b>3.1.3. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü (OSİ)</b>	42
<b>3.1.4. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu</b>	42
<b>3.1.5. Comet Assay Yöntemi ile DNA Hasar Tayini</b>	42
<b>3.1.5.1. Yöntemin Prensibi</b>	42
<b>3.1.5.2. Yönteminin Uygulanışı</b>	42
<b>3.1.5.2.1. Slaytların Hazırlanması</b>	43
<b>3.1.5.2.2. Lizis aşaması</b>	43
<b>3.1.5.2.3. Elektforez Tamponu</b>	43
<b>3.1.5.2.4. Elektforezde Yürütme</b>	43
<b>3.1.5.2.5. Nötralizasyon</b>	43
<b>3.1.5.2.6. Boyama</b>	44
<b>3.1.5.2.7. Analiz</b>	44
<b>3.2. Yapılan İstatistiksel Analizler</b>	45
<b>4. BULGULAR</b>	46
<b>5. TARTIŞMA</b>	55
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	61
<b>KAYNAKLAR</b>	62

**TABLO LİSTESİ****SAYFA NO**

<b>Tablo 1.</b> Oksijen türevi bileşikler	30
<b>Tablo 2.</b> NSVD ve C/S grubundaki demografik veriler	46
<b>Tablo 3.</b> DNA Hasarı, TAS, TOS, OSI'nin gruplar arası ortalama değerleri	47
<b>Tablo 4.</b> NSVD grubunda DNA hasarıyla TAS, TOS, OSI'nin korelasyon değerleri	48
<b>Tablo 5.</b> C/S grubunda DNA hasarıyla TAS, TOS, OSI'nin korelasyon değerleri	48

## ŞEKİLLERİN DİZİNİ

## SAYFA NO

Şekil 1. Doğum Mekanizmasının şematik açıklaması	7
Şekil 2. DNA'nın çift sarmallı yapısı	18
Şekil 3. DNA'da replikasyon oluşumu	19
Şekil 4. Deaminasyon oluşumu	22
Şekil 5. Depürinasyon oluşumu	23
Şekil 6. Guanindeki kimyasal hasar bölgeleri (alkilasyon, oksidasyon, radyasyon)	24
Şekil 7. Çift İplik Kırıkları	25
Şekil 8. 8-hidroksiguanin ve FapyGuo'nun oluşum mekanizmaları	26
Şekil 9. DNA Hasarı sonucu oluşan süreç	27
Şekil 10. Serbest radikallerin hasar oluşturma mekanizmaları	32
Şekil 11. DNA hasarları sonucu meydana gelen hasarların elektroforez migrasyonu sonrası DNA'ların fleuresan mikroskop altındaki görüntüleri	44
Şekil 12. Gruplara göre TAS dağılımı	49
Şekil 13. Gruplara göre TOS dağılımı	49
Şekil 14. Gruplara göre OSİ dağılımı	50
Şekil 15. Gruplara göre DNA Hasarı dağılımı	50



## KISALTMALAR

<b>Cm</b>	: Santimetre
<b>Gr</b>	: Gram
<b>Hg</b>	: Civa
<b>Mm</b>	: Milimetre
<b>Na</b>	: Sodyum
<b>IU</b>	: İnternational Unit
<b>ACOG</b>	: American College of Obstetricians and Gynecologists
<b>SGA</b>	: Small for gestatinoal age
<b>GK</b>	: Glukokortikoidler
<b>NSVD</b>	: Normal spontan vajinal doğum
<b>C/S</b>	: Sezaryen section
<b>ROM</b>	: Reaktif oksijen molekülleri
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen türü
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>TG</b>	: Triglisericid
<b>CHOL</b>	: Kolesterol
<b>VLDL</b>	: Çok düşük yoğunluklu lipoprotein
<b>IDL</b>	: Ara yoğunluklu lipoprotein
<b>8-OHdG</b>	: 8-hidroksi deoksiguanozin
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>TOS</b>	: Total oksidan seviyesi
<b>TAS</b>	: Total antioksidan seviyesi
<b>OSİ</b>	: Oksidatif stres indeksi
<b>HO<sup>-</sup></b>	: Hidroksil
<b>RO<sup>-</sup></b>	: Alkoksil
<b>ROO<sup>-</sup></b>	: Peroksil
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit Redikali
<b>NO<sub>2</sub></b>	: Azot dioksit
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen Peroksit
<b>O<sub>2</sub><sup>↑↓</sup></b>	: Singlet Oksijen
<b>O<sub>3</sub></b>	: Ozon

<b>HOCl</b>	: Hipoklorid
<b>LOOH</b>	: Lipidhidroperoksit
<b>ONOO</b>	: Peroksinitrit
<b>GR</b>	: Glutasyon Redüktaz
<b>SOD</b>	: Süperoksit Dismutaz
<b>GSH</b>	: Glutasyon
<b>GSH-Px</b>	: Glutasyon Peroksidaz
<b>GST</b>	: Glutasyon S Transferaz
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>GST</b>	: Glutasyon-S-transferaz
<b>OS</b>	: Oksidatif Stres
<b>RAGE</b>	: İleri reseptör glikasyon ürünleri
<b>SOR</b>	: Serbest oksijen Radikali
<b>R<sub>1</sub></b>	: Reaktif 1
<b>İ.V.</b>	: İntravenöz
<b>Dr.</b>	: Doktor
<b>SPSS</b>	: Statistical Package for the Social Sciences
<b>USA</b>	: United States of America

## ÖZET

# MİADINDA NORMAL SPONTAN VAJİNAL YOLLA VE ELEKTİF SEZARYENLE DOĞAN BEBEKLERDE OKSİDATİF DURUM VE DNA HASARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

**Dr. HALİL KAZANASMAZ**

**Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi**

**Amaç:** Bu çalışma ile elektif sezaryen ve NSVD ile doğan bebeklerin doğum şeklinin DNA hasarı, total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviye (TOS) ve oksidatif stres indeksinin (OSİ) birlikte çalışılması ve aralarındaki ilişkinin araştırılması amaçlandı.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmaya 36 NSVD ile 36 elektif C/S ile doğan sağlıklı miad bebekler alındı. DNA hasar tayini, Comet Assay (alkali mononükleer hücre elektroforezi) yöntemi ile taze heparinize kandan çalışıldı. Periferik venöz kandan TOS ve TAS Ö. Erel yöntemi ile çalışıldı ve OSİ değerleri hesaplandı. İstatistiksel analizler SPSS 11,5 kullanılarak yapıldı. *p* değerinin <0,05 olması anlamlı olarak kabul edildi.

**Bulgular:** NSVD ile doğan bebeklerde TOS, OSİ seviyeleri ve DNA hasarı elektif C/S ile doğan gruba göre anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla *p*=0,001, *p*=0,003, *p*<0,001). Serum TAS seviyelerinde NSVD ve C/S grupları arasında anlamlı fark saptanmadı (*p*=0,124).

**Sonuç:** NSVD ile doğan bebeklerde sezaryenle doğanlara göre oksidatif stres ve DNA hasarının kontrol grubuna göre yüksek olduğunu saptadık. Bu bize doğum şekliyle oksidatif stres arasında bir ilişki olabileceğini düşündürdü. Oluşan DNA hasarı ve oksidatif stresin potansiyel sonuçları için uzun süreli takip çalışmaları gerekmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Yenidoğan, Sezaryen, Normal spontan vajinal doğum, DNA Hasarı, Oksidan- Antioksidan sistem.

## SUMMARY

### IN INFANTS WITH BORNED TIMELY NORMAL SPONTANEOUS VAGINAL ROADS AND ELECTIVE CAESAREAN, EVALUATION OF THE OXIDATIVE SITUATION AND DNA DAMAGE

HALIL KAZANASMAZ, MD

Speciaty Thesis, Department of Medical Pediatrics

**Objectives:** At this study, it is aimed to reseach DNA damage, total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and oxidative stress index (OSI) in infants with borned timely normal spontaneous vaginal roads and elective caesarean.

**Materials and Methods:** In this study, 36 NSVD with 36 elective C / S taken by healthy full-term babies born. Determination of DNA damage was studied in fresh heparinized blood by the Comet Assay (mononuclear cell alkaline electrophoresis) method. Peripheral venous blood TOS and TAS were measured by Ö Erel method and OSI values were calculated. Statistical analysis was performed using SPSS 11.5. A p value <0.05 was considered to be significant.

**Results:** Infants born by NSVD; TOS, DNA damage levels and oxidative status index were significantly higher than those of the C/S group (respectively  $p=0,001$ ,  $p=0,003$ ,  $p<0,001$ ). Serum TAS levels was not different from that of the control between NSVD and C/S groups ( $p=0,124$ ).

**Conclusion:** We found that infants born by NSVD higher oxidative stress and DNA damage according to the Caesarian-born. This was suggestive of an association between oxidative stress by mode of delivery. Long-term potential for DNA damage and oxidative stress results in follow-up studies are required.

**Keywords:** Newborn, Caesarean section, normal spontaneous vaginal delivery, DNA damage, Oksidan- antioxidant system.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bu çalışmada miadında sezaryen ve normal spontan vajinal yolla doğan bebeklerde DNA hasarı ve oksidatif durumun karşılaştırılması ve aralarındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Normal spontan vajinal yolla doğan bebekler kademeli olarak artan strese maruz kalmakta ve buna karşı adaptasyon sağlamaktadırlar. Elektif sezaryenle doğan bebeklerde bu strese doğrudan maruz kalan bebeğin metabolizması bu strese hızlı yanıt veremeyip DNA'sında hasar meydana geldiği tezi üstünde durulmaktadır (1).

Materyalin moleküler bütünlüğünde ekzojen veya endojen faktörlerin etkisiyle meydana gelen tüm değişiklikler "DNA hasarı" olarak adlandırılır. Genom, DNA hasarına neden olan sayısız farklı etkene maruz kalır. Hücre tüm bu DNA hasarlarına farklı metabolik yollar ile cevap verir (2). Ağır DNA hasarları hücrenin apoptozis yolunu aktive ederek hücreyi ölüme götürür. Hücre, DNA hasarlarını "DNA tamir mekanizmaları" ile tamir edebilir. DNA hasarı tamir edilemezse mutasyona ve sonuç olarak genomik kararsızlığa, malignensi ve yaşlanmaya neden olur.

Stabil bir molekül olan DNA da lipidler, karbohidratlar ve proteinler gibi spontan kimyasal-oksidatif hasara uğrayabilmektedir. İnsan vücudunun her hücresinde DNA'nın günde bin kez oksidatif hasara maruz kaldığı öne sürülmüştür. DNA hasarı ve onarımı arasındaki denge nedeniyle, çok düşük düzeylerde hasar, sağlıklı bireylerde de saptanmaktadır. Yenidoğan sıçanlarda dahi oksidatif baz modifikasyonunun (8OHdG) olduğu gösterilmiştir. ROM oluşumundaki artma, antioksidan enzim düzeylerindeki azalma ve/veya DNA onarım mekanizmalarında defekt olması oksidatif DNA hasarının artmasına yol açmaktadır (2-4).

DNA çeşitli farklı mutagenler tarafından hasara uğrayabilir. Bunun sonucunda DNA dizisi değişebilir. Mutagenler arasında, yükseltgen (oksitleyici) etmenler, alkilleyici etmenler ve yüksek enerjili elektromanyetik ışınlar (morötesi ışık ve X ışınları gibi) sayılabilir. DNA'da meydana gelen hasarın tipi mutagenin tipine bağlıdır. Örneğin, mor ötesi ışık timin ikilileri (timin dimerleri) oluşturarak DNA'ya hasar verir. Buna karşın, serbest radikaller veya hidrojen peroksit gibi yükseltgen etmenler farklı türden hasar oluşturabilirler; baz değişimi

(zellikle guanozin) ve iki iplikcikli kırımlar gibi. Her bir insan hücresinde günde 500 baz yükseltgeyici zarar görür. Bu yükseltgeyici hasarlardan en zararlısı çift zincirli kırımlardır. Çünkü bunların onarımı zordur. Bunlar DNA dizilerinde noktasal mutasyonlara, insersiyonlara ve delesyonlara ayrıca kromozomal translokasyonlara yol açabilir (5-7).

Endojen serbest radikallerin her bir hücrede, günde 200.000 kadar bazı hasara uğrattığı tahmin edilmektedir. Serbest radikaller, DNA atakları, mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açmaktadır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşıır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar. Bu nedenle DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür (8-10).

Oksidatif stres basit bir Şekilde, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir (11).

Biz bu çalışmada normal spontan vajinal doğum ile elektif sezaryenle doğan bebekler arasında doğum esnasında oluşan oksidatif stresin mononükleer lökosit DNA hasarına sebep olabileceği tezi üzerinde durduk. Bununla birlikte oksidatif strese bağlı oluşabilecek DNA hasarının doğum Şekliyle olan ilişkisini inceledik.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Normal Doğum

#### 2.1.1 Tanımlar

Genel olarak doğum denildiğinde ağırlığı 500 gr'ın üzerinde olan ya da baş-topuk mesafesi 25 mm ve üzerinde olan fetusların doğumu anlaşılmaktadır. Dünya sağlık örgütü 20. gebelik haftasından önce sonlanan gebeliklere abortus, 20. gebelik haftasından sonra sonlanan gebeliklere de doğum tanımlamasını getirmiştir (12).

#### Gravida Parite

Gravida gebelik sayısını, parite ise doğum sayısını ifade etmek amacı ile kullanılan terimlerdir. Gravida abortus, mol, ektopik gebelik dahil olmak üzere gebelik anlamına gelir. Nulligravida şimdiye kadar hiç gebe kalmamış ve halen gebe olmayan kadındır. Primigravida ilk kez gebe kalan kadındır. Multigravida daha önce hamile kalmış ve şu anda da hamile olan kadındır. Nullipara gebeliğini hiçbir zaman abortusun ötesine götürememiş yani 20. gebelik haftasından büyük ya da 500 gramın üzerinde hiç doğum yapmamış kadındır. Primipara viabilite dönemine ulaşmış fetus veya fetusları bir kez doğurmuş olan kadındır. Multipara iki ya da daha fazla gebeliğini viabilite dönemine ulaştırmış olan kadındır. Pariteyi belirleyen doğurtulmuş olan fetusların sayısı değil viabiliteye ulaşan gebeliklerin sayısıdır (13).

#### 2.1.2. Doğum Eyleminin Fazları

**Faz 0:** Gebeliğin 36-38 haftalardan önceki normal durumudur. Bu dönemde uterus kontraksiyonları inhibe olur. Serviks serttir. Uterusta kasılmayı uyaran maddelere karşı bir cevapsızlık durumu söz konusudur. Burada esas görev yapan hormonun progesteron olduğuna inanılır (14). Yanı sıra relaksin, prostasiklin, paratiroid hormon ile ilişkili peptid, nitrik oksid ve Corticotropin Releasing Hormone (CRH) rol oynar (13).

**Faz 1:** Uterusun doğuma hazırlık dönemidir. Uterotropinler etkisi ile oluşan bu dönemde; serviks olgunlaşır ve yumuşar, uterusun irritabilitesi artar, myometrium hücrelerinde hem oksitosin reseptörlerinin sayısı ve hemde gap junctionların sayısı artar, uterusun uterotoninlere verdiği kontraktıl cevapta bir artış olur ve ağrısız uterus kasılmaları sıklaşır (13).

**Faz 2:** Aktif doğum eylemi ve doğum için güçlü kasılmaların olduğu devredir. Bu dönemde uterotoninler (prostaglandin ve oksitosin) ve CRH tarafından uterus kasılmaları uyarılır (13). Güçlü ve ağırlı uterus kontraksiyonları olur, servikste silinme ve açılma başlamasıyla fetus doğar.

Bu faz da kendi arasında üç döneme ayrılır.

**1. Silinme ve Açılma dönemi:** Servikal kanalda silinmenin ve 1 cm'den 10 cm'ye kadar açılmanın olduğu devredir. Primigravidlerde 8-12 saat, multiparlarda 6-8 saat sürer. Oniki saatten fazla ise ve 2 saat boyunca açılma ilerlemiyorsa bir abnormalite söz konusudur (13).

**2. Atılma (Expulsion) Dönemi:** Fetusun doğum kanalından çıktığı devredir. Serviksin açılmasının tamamlanması ile başlar. Bebeğin doğumu ile sona erer. Primigravidlerde 1-2 saat, multiparlarda 1-2 dk. ile 1/2 saat arasında sürer. İki saatten uzun olursa abnormal doğum geliyor demektir (13).

**3. Halas (Kurtulma) Dönemi:** Plasentanın atıldığı dönemdir. Bebek doğduğu andan itibaren başlar. Placenta ve fetal membranların doğumu ile sona erer. 1/2-1 saatten uzun olmamalıdır (13).

**Faz 3:** Puerperal hemostazın ve uterus involusyonunun olduğu dönemdir. Bu dönemde; puerperal kanamayı önlemek için uterus kasılır, laktasyon başlar ve emzirme olayı gerçekleşir, uterus involusyonu olur, bu dönemin sonunda fertilitate geri döner. Bu dönemin düzenlenmesinde oksitosin ve endotelin-1 önemli görevler görürler (14).

### **2.1.3. Normal Doğumda Başın Esas Hareketleri**

Termdeki fetusların doğumunda fetus doğum kanalının boşluklarından en iyi şekilde yararlanmalıdır. Bu amaçla da fetus doğum kanalından çıkarken 5 esas hareket yapar. Bunları şu şekilde özetleyebiliriz (13).

#### **1-Angajman**

Prezente olan kısmın en geniş çapı ile pelvis girimine girmesine angajman adı verilir. Fetus başının ilk kardinal hareketidir. Başın en geniş düzlemi olan suboksipito-bregmatik planı ile pelvis girimine girmesi durumunda angajman tamamlanmış olur. Bu durumda klavuz nokta spina ischiadica'lar hizasına kadar yani 0 düzlemine inmiş olur. Klinik açıdan



prezente olan kısmın 0 düzlemine kadar inmiş olması, prezente olan kısmın pelvise girdiğini ve orta pelvis ve pelvis çıkımında herhangi bir darlık yok ise vaginal doğumun mümkün olabileceğini gösterir. Spina ischiadicalar arasından geçen düzlemin 1,2,3 cm üzeri -1, -2, -3 olarak; 1,2,3 cm altı ise +1, +2, +3 olarak adlandırılır (Şekil-1).

### **Descensus**

Aslında ayrı bir kardinal hareket değildir. Doğum eyleminin başlangıcından itibaren devam eder. Prezente olan kısmın doğum kanalı içerisinde pelvis çıkımına kadar inmesi ile tamamlanır. Başın descensusu aşağıda belirtilen 4 kuvvetten biri veya birkaçının etkisi ile olmaktadır:

1. Amniotik sıvısının baskısı,
2. Uterus fundusunun makat üzerine olan baskısı ve itme gücü,
3. Karın ön duvarını oluşturan adalelerin kasılması,
4. Fetus vücudunun gerilmesi.

### **2- Fleksiyon**

Baş pelvis girimini geçerken önce bir fleksiyon hareketi yapar. Çünkü başın ilerlemesine karşı doğum kanalının ve yumuşak kısımların yaptığı bir sürtünme direnci vardır. Kafa kaidesi, kolumna vertebralis üzerine oturmuş bir kaldıraç ya da manivela gibi düşünülebilir. Kaldıraçın kısa kolu oksiput, uzun kolu ise yüz tarafındadır. Doğum yolunun başa karşı yaptığı direnç kaldıraçın uzun kolu tarafında daha ağır bastığı için kafa bir fleksiyon hareketi yapar. Çene göğüse dayanır. Levye kaidesi olarak da bilinen bu manevra sonunda baş suboksipito-bregmatik çapı ile pelvise girmiş olur (Şekil-1).

### **3-Dış Rotasyon**

Baş en geniş geçiş düzlemi olan suboksipitobregmatik-biparietal planı ile pelvis girimini geçtikten sonra descensusuna devam eder. Bu en geniş plan orta pelviste spina ischiadicalar arasından geçerken kemik pelvis ve huni şeklinde daralan musculus levator ani'nin sürtünme direncine uyarak iç rotasyon yapar. Dış rotasyon, baş spina ischiadicalar arasındaki düzleme geldiğinde başlar. Bu esnada klavuz nokta çıkımdadır (+2,+3). Suboksipitobregmatik-biparietal plan çıkıma ulaştığında iç rotasyon hareketi tamamlanmış olur. Bu rotasyon normalde 90

derecelik bir açı ile küçük fontanel öne gelecek şekilde olur. Yani oksiput transvers pozisyonda iken iç rotasyonun tamamlanması ile oksiput anterior pozisyona döner. Bu sırada omuzlar geniş olan transvers çaplarını pelvis giriminin transvers çapına prezente etmiş olur (Şekil-1).

#### **4- Defleksiyon**

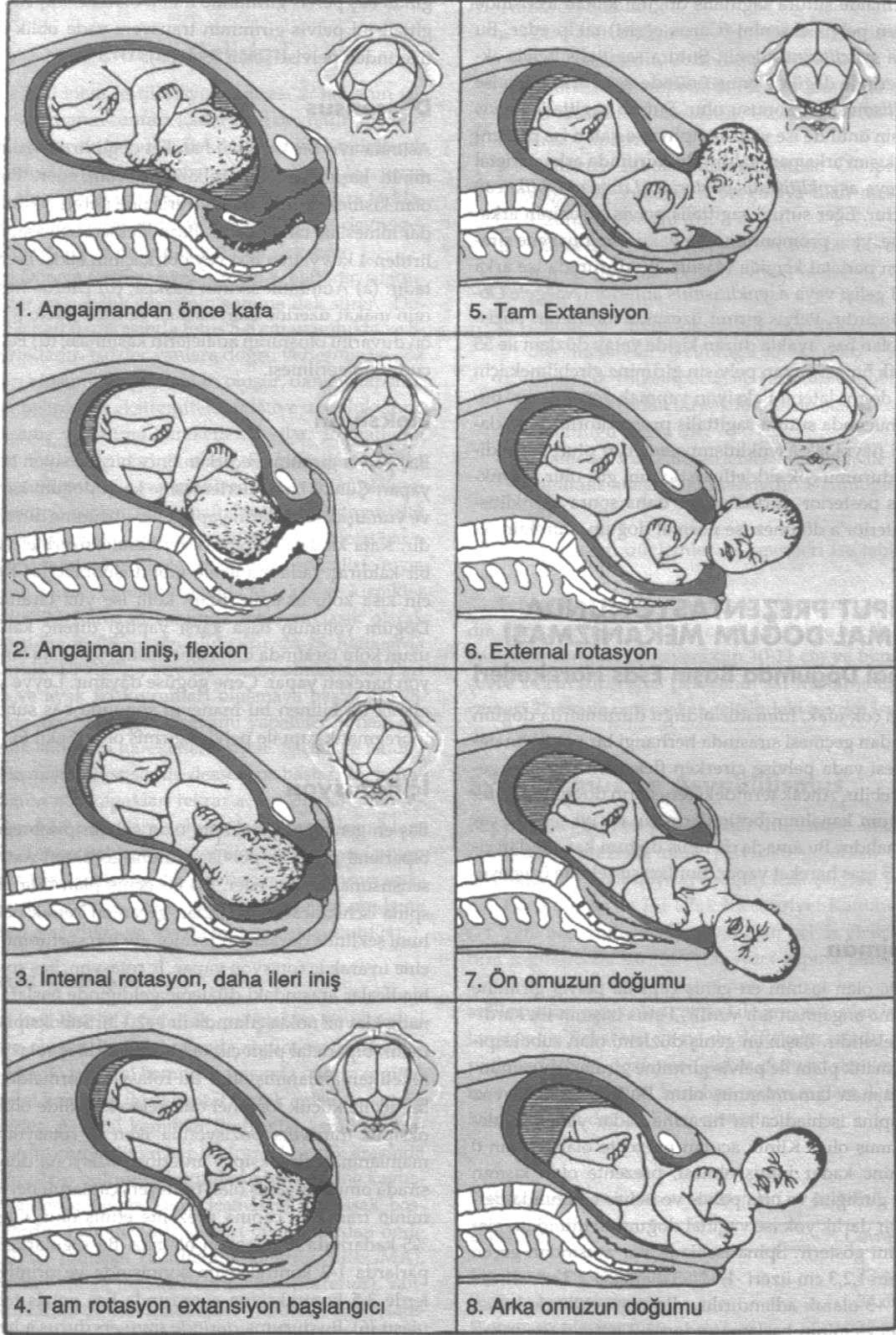
Oksiput kemiği öne dönerek doğum kanalı çıkımına gelen baş sadece habitus değişikliği yaparak doğum kanalından çıkar. Selheim'e göre fetus vücudunun belirli bükülebilme kolaylıkları (Facillimum) ve bükülme zorlukları (difficillimum) vardır (8). Pelvis tabanına kadar bütün yol boyunca fleksiyon habitusunda bulunan baş, ensedeki saçlı deri hududunu kalkış noktası olarak symphysis altına dayayarak defleksiyon yapar ve doğum kanalından çıkar (Şekil-1).

#### **5-Dış Rotasyon**

Baş pelvis çıkıntından çıktıktan sonra bir kez daha rotasyon yapar.

#### **Ekspulsiyon**

Başın doğumundan ve dış rotasyonunu yapmasından sonra gövdeye lateral fleksiyon yaptırılarak önce öndeki omuz symphysis altından ve daha sonra arka omuz sakrum boşluğundan doğar (Şekil-1).



Şekil 1. Doğum Mekanizmasının şematik açıklaması

#### **2.1.4. Normal Doğum Komplikeasyonları**

**1-Distosi(Zor Doğum):** Distosi kelime anlamı olarak zor doğum demektir. Annenin doğum kanalı, fetus ve rahimdeki anormalliklere bağılı olarak gelişebilir (16).

##### **a- Uterus'a bağılı distosiler**

**I- Uzamış latent faz:** Doğum ağrılarının başladıktan sonra etkili hale gelmemesi,

**II-Uzamış aktif dönem:** Ağrılar yeterli sıklık ve şiddette olmasına rağmen eylemin ilerlememesi açılmanın olmaması,

**III-Eylemde duraklama:** Eylemin aktif döneminin herhangi bir anında ağrı ve açılmanın durması

##### **b- Doğum yoluna bağılı distosiler**

**Kemik pelvis distosileri:** Annenin kemik yapısı dardır ve buna bağılı olarak bebek doğamaz.

##### **c- Bebeğe bağılı distosiler**

İri bebek, duruş anomalileri, bebekte anomali, yapışık ikizler, ikiz doğumda kilitlenme vb.

#### **2- Omuz Takılması**

Bebeğin başının doğduktan sonra omuzlarının kemik yapılarına takılarak sıkışmasıdır. Annede diabet, iri bebek, şişmanlık.

#### **3- Rahim yırtılması (uterus rüptürü)**

Uterus adelesinin eylem sırasında ya da daha önce yırtılmasıdır. Sebepleri arasında sancıların yeterli olmasına rağmen açılmanın olmaması, geçirilmiş rahim ameliyatları (sezaryen), uterusu yönelik direk travmalar, doğum esnasında dışarıdan rahime fazla miktarda basınç uygulanması, baş pelvis uygunsuzluğu olmasına rağmen suni sancı verilmesi (16).

#### **4- Kordon sarkması**

Bebeğin zarları açıldıktan sonra göbek kordonunun buradan sarkmasıdır.

#### **5- Akut Fetal Distres**

Eylemin herhangi bir safhasında bebeğin sıkıntıya girmesi ve kalp seslerinin yavaşlamasıdır. Plasentanın erken ayrılması (ablasyo), baş pelvis uygunsuzlukları, kordon sarkması, başın normal pozisyonunda olmaması, plasenta previa, gereksiz ve yanlış uygulanan suni sancı

#### **6- Plasentanın ayrılmaması**

#### **7- Uterus İnversonu**

Doğumdan sonra rahimin içinin dışa doğru dönmesidir.

#### **8- Uterus Atonisi**

Doğumdan sonra rahmin yeteri kadar kasılmamasıdır. Çok ciddi ve ani kanamalara neden olur. Doğumda en sık anne ölüm sebebidir. Özellikle doğum sonrası ilk 24 saat uyanık olmak gerekir.

#### **9- Doğum kanalının laserasyonları:**

Vagina ve perine laserasyonları 1., 2., 3. ve 4. derece olarak sınıflanır.

**a.** Birinci derece laserasyonlar forşet, perineal cilt ve vaginal müköz membranlar.

**b.** İkinci derece laserasyonlar cilt ve müköz membrana ek olarak perineal bölgenin faysa ve kaslarını içerir ama anal sfinkteri içermez.

**c.** Üçüncü derece laserasyonlar cilt, müköz membran, perineal gövde ve anal sfinkteri içerir.

**d.** Dördüncü derece laserasyonlar rektumun lümenini içerecek şekilde rektum mukozaya ulaşırlar (16).

## **10- Pelvikrelaksasyon**

Tekrarlayan normal doğumlardan sonra pelvik relaksasyon (sistosel, rektosel ve üriner inkontinans) olabilmektedir.

### **2.1.5. Epizotomi**

Kaba anlamda pudendanın insizyonudur. Amacı olası laserasyonlar yerine düz ve temiz bir cerrahi insizyon oluşturmaktır. Ayrıca bilinen ama kanıtlanmamış bir diğer faydası pelvik relaksasyonları önlemesidir (16).

**Epizyotomi zamanlaması:** Erken yapılırsa, doğuma kadar insizyondan fazla kanama olabilir. Geç yapılırsa, laserasyonlar önlenemez. Doğru zamanı, üç-dört cm çaplı bir kontraksiyon sırasında baş görülür haldeyken epizyotomi yapmaktır.

**Epizyotomi Tipleri:** Medial, lateral ve mediolateral epizyotomi diye 3 tipi vardır. En çok kullanılan mediolateral epizyotomidir. İyileşme, cerrahi onarım, kanama ve ağrı açısından en avantajlı olan lateral epizyotomidir. Fakat epizyotomi hattı uzayarak 3. ve 4. derece laserasyonlara neden olabileceğinden dolayı genelde mediolateral epizyotomi tercih edilir. Genelde kullanılan sütür materyali 3-0 krome katgüttür (16).

## **2.2. Sezaryen**

### **2.2.1. Tanım**

**Sezaryen doğum:** fetus, plasenta ve membranların abdominal ve uterus duvarlarındaki insizyon yoluyla doğması şeklinde tanımlanır (16). Ancak aşağı uterus segmentinin ve serviksin ön dudağının insizyonu ile fetusun transvajinal olarak vajinal sezaryen operasyonu ile doğmasını bu tanım içermez. Bir de fetusun sekonder implantasyon sonucu veya uterus rüptürü nedeniyle abdominal boşluktan abdominal insizyon yoluyla alınmasını tanımlamaz (16).

### **2.2.2. Sezaryen Sıklığı**

1970-1990 yılları arasında sezaryen sıklığı %5'lerden %20-25 düzeylerine çıkmış, 1997'lere kadar inişe geçmişse de bu tarihten itibaren sıklığı tekrar artmıştır. Her ne kadar bu oranlar ülkeden ülkeye farklılık gösterse de sezaryen operasyon sıklığı genel olarak bütün dünyada önemli artış göstermiştir (16).

### **Bu artışın sebepleri arasında**

1- Paritede azalma söz konusudur ve gebe kadınların neredeyse yarısı nullipardır. Dolayısıyla nullipar kadınlarda daha sık görülen şartlara bağlı olarak sezaryen doğum sayısında artış beklenebilir (16).

2- Daha yaşlı kadınlar çocuk sahibi olmaktadır. Son 20 yılda 30-39 yaş arası nullipar doğumlar iki katına çıkmış, 40-44 yaş arası ise %50 artmıştır (16-18).

3- 1970'lerin başlarından itibaren elektronik fetal monitorizasyon yaygın olarak kullanılmaktadır. Fetal kalp trasesi ile ilgili kuşkular doğum eylemi durmasının bazı formlarını tarif eden endikasyonlarla operatif doğuma yönelmeye yol açmaktadır (16).

### **2.2.3. Sezaryen Endikasyonları**

Genel olarak sezaryen doğumların % 85'ten fazlası şu sebeplerden ötürü yapılmaktadır (16);

1. Geçirilmiş sezaryenler

2. Distosi

3. Fetal Distres

4. Makat prezentasyonu.

Sezaryen endikasyonları 5 sınıfta incelenebilir:

Anneyle ilgili

Bebekle ilgili

Fetus ekleriyle ilgili

Sosyal

Diğerleri

**Anneyle İlgili Endikasyonlar:** Geçirilmiş sezaryen: Klasik vertikal insizyon yapılan 1916'larda ortaya atılan "Bir kez sezaryen, her zaman sezaryen" kavramı, Kerr transvers insizyonunun kullanılmaya başlanması ile ve yapılan çalışmalarda uygun

vakaların güvenli bir şekilde vajinal doğum yaptırılabilirliğinin gösterilmesiyle geçerliliğini yitirmiş gözükmektedir (16).

**Sefalopelvik uyumsuzluk (CPD):** Pelvis yapısı bebeğin doğumu için çok küçük veya anormaldir ya da bebek çok iridir. Doğumdan önce tesbit edilebilir ancak bebeğin iri olduğu durumlarda eylemin başlaması ve membran rüptüründen sonra 2. fazda 3 saatlik etkin kasılmalara rağmen ilerleme olmamasının görülmesi gerekir (16). Pelvis girişinde, midpelviste ve çıkışta uyumsuzluklar olabilir.

**Dinamik distosi:** Serviksin 1 cm/saatlik hızla açılmaması disfonksiyonel eylemi hatırlatmalıdır. Genellikle oksitosin infüzyonu ile açılma sağlanır. Ancak buna rağmen 2-3 saat boyunca hiç ilerleme olmazsa hastanın durumu tekrar gözden geçirilmelidir (16).

**Yumuşak doğum yolu ile ilgili sebepler:** Bölgede önceden geçirilmiş operasyonlar, enflamatuvar veya neoplazik hastalıklar, enfeksiyonlar, konizasyon, koterizasyon ya da kollumun rijid olması gibi sebepler vajinal doğumu imkansız kılabilir.

#### **Annenin sistemik hastalıkları**

##### **b. Bebekle İlgili Endikasyonlar:**

#### **Prezantasyon, situs, habitus anormallikleri**

**Fetal Distres:** 1970'lerde elektronik fetal kalp hızı monitörlerinin gelişmesine bağlı olarak fetal oksijenizasyon ve asid-baz durumu ile fetal kalp hızı paterni arasındaki ilişkiler gündeme geldi. Uteroplasental yetmezliğe bağlı nörolojik sekelleri önlemek amacıyla elektronik monitörizasyon yapılmasının aralıklı yapılan kalp hızı oskültasyonuna bir üstünlüğü olmadığını saptanmasına rağmen fetal distres endikasyonu ile sıklıkla sezaryen yapılmaktadır. Ancak sürekli anormal kalp hızı paterni olanlarda yapılmalıdır (16).

**Miad Aşımı:** 42 hafta aşılmasına rağmen eylem başlamamışsa sürmatürasyondan bahsedilir. Postmatürite sendromu gelişip gelişmediği önemlidir.

**Fetus anormallikleri:** Hidrosefali, anensefali, yapışık kizlik gibi durumlardır.

**Rh uygunsuzluğu:** Ağır formlarında hidrops gelişebilir.



### **c. Fetus Ekleriyle İlgili Endikasyonlar**

Plasenta previa, ablasyo plasenta, plasenta insersiyon anormallikleri, kordon prolapsusu ya da prezantasyonu sezaryen endikasyonu oluşturabilir.

### **d. Sosyal Endikasyonlar**

Annenin isteğine bağlı olarak ya da kıymetli bebek olması dolayısı ile sezaryen yapılabilir.

### **e. Diğerleri**

Bu sınıfların hiçbirine sokulamayan endikasyonları oluşturur.

## **2.2.4. Komplikasyonlar**

### **A. Potansiyel Komplikasyonlar**

**1. Pelvik yapıların operatif yaralanması:** mesane, barsak ve ureter gibi

**2. Fistül Formasyonu:** Vezikouterin, ureterouterin, uteroabdominal

**3. İnsizyonun Uzaması:** Vajina, mesane, uterin damarları

**4. İnfeksiyon:** Üriner traktus, endoparametrit, yara yeri

**5. Transfüzyon ihtiyacı:** Kanama, anemi

**6. Histerektomi**

**7. Hematom**

**8. Septik pelvik tromboflebit**

**9. Pulmoner emboli**

**10. Nekrotizan fasyitis**

**11. Evisserasyon**

**B. Maternal Mortalite:** Sezaryen doğum ile ilişkili maternal mortalite için 7 kat artmış bir relatif risk bildirilmiştir. Bildirilen çoğu ölümlerin komplike olmuş elektif olmayan işlemlerle ilişkili olduğu gözlemlenmiştir (15,16).

**C. Maternal Morbidite:** Vaginal doğum ile karşılaştırıldığında sezaryen doğumda maternal morbiditede artmıştır. Morbiditeyi oluşturan temel durumlar endometriozis, hemoraji, idrar yolu infeksiyonu ve tromboembolizmdir(16). Obez kadınlarda, sezaryen doğuma bağlı morbidite dramatik bir şekilde artmaktadır(19,20).

**D. Perinatal Mortalite ve Morbidite:** Sezaryenle doğumun perinatal mortalite ve morbiditeyi azalttığı konusunda net bir sonuç gösterilememiştir. Bunun nedeni de perinatal mortalite ve morbiditede etkili olan faktörlerin prematür doğum, fetal anomaliler ve antepartum olaylar gibi doğum şeklinden etkilenmeyen hadiselerin olmasıdır(13,21).

### **2.2.5. Abdominal İnsizyon**

Vertikal insizyon, infra umbilikal orta hat vertikal insizyon en hızlı yapılan insizyondur. İnsizyon bebeğin zorlanmadan çıkabileceği uzunlukta olmalıdır(21).

Transvers insizyonlar, modifiye edilmiş pfannenstiel insizyonu ile cilt ve subkutan doku alt transvers, hafifçe eğri bir çizgi şeklinde insize edilir. Transvers cilt insizyonunun kozmetik avantajı aşıkardır (21).

### **2.2.6. Uterus İnsizyonu**

Klasik sezaryen insizyonu olarak adlandırılan alt uterin segmentin üzerinden fundus uteriye ulaşan vertikal insizyon bugün nadir olarak kullanılır. Neredeyse daima insizyon alt uterin segmente transvers olarak yapılan kerr insizyonu veya çok daha az sıklıkla vertikal Krönig insizyonu kullanılır (11,22). Transvers insizyon daha kolay tamir olması, bir sonraki gebelikte daha az rüptür riski olması, kalın barsak ve omentumun insizyon hattına yapışmasına izin vermemesi açısından tercih edilmektedir (16).

### **2.2.7. Sezaryen Histerektomi**

Bazı durumlarda ve genellikle ağır obstetrik hemoraji ile komplike olan durumlarda, post partum histerektomi hayat kurtarıcı olabilir. Operasyonların büyük bir kısmı inatçı uterin atoni, alt segment kanaması, uterin damarların laserasyonu, büyük myomlar, ağır servikal displazi veya karsinoma insituya bağlı hemorajiyi durdurmak için yapılır. Plesental implantasyon bozuklukları plasenta previa, plasenta akreta varyasyonları da dahil olmak üzere, sıklıkla mükerrer sezaryen ile ilgili olan bu durumlar günümüzde sezaryen histerektominin en yaygın endikasyonlarıdır (23). Elektif postpartum histerektomiye göre

acil histerektomi yapılan kadınlarda kan kaybı, operasyon zamanı, infeksiyon morbiditesi ve transfüzyon oranlarında artış bildirilmiştir (24).

### **2.3. DNA Hasarı**

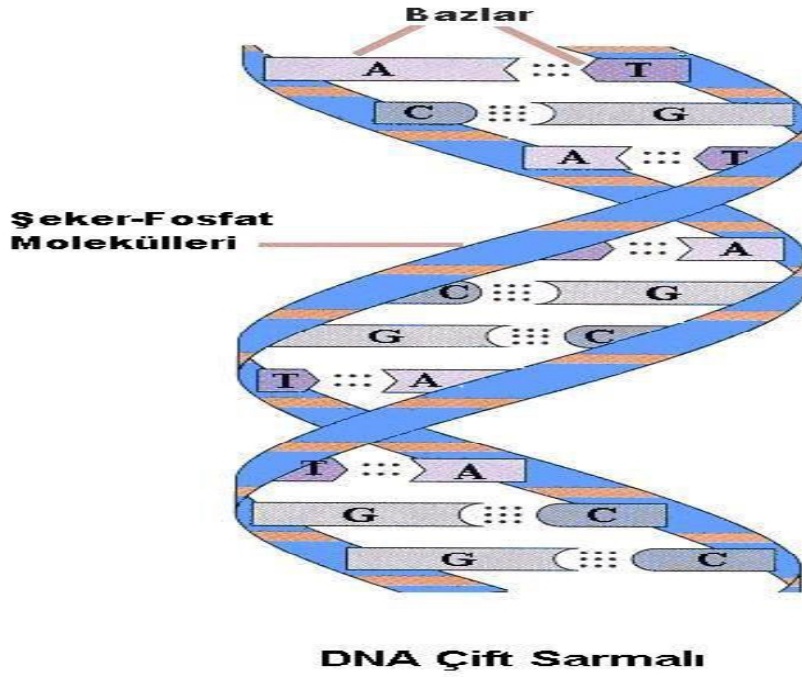
Canlının bütün genetik bilgilerini deoksiribonükleik asit (DNA) molekülü ihtiva eder. DNA'da meydana gelen olumsuz değişiklikler kendisinden sonra gelen nesillere aktarılan genetik bilgiyi de değiştirebilir. İçinde bulunduğumuz ortamda meydana gelen olumsuzluklar, canlılara ait DNA moleküllerinde hasara, oluşan hasar tamir edilemediği takdirde kontrollü hücre ölümüne veya kansere kadar giden hastalıklara neden olabilmektedir. DNA hasarını oluşturan nedenlerin en başında, çevresel şartlar, sürekli artan sanayi ve teknolojik atıklar, eksoz dumanı, sigara gibi faktörler gelmektedir. Çevresel faktörlerle birlikte alınan diyetel faktörlerin de DNA hasarı oluşumunda önemli rollerinin olduğu bilinmektedir. Diyetle alınan bazı gıdalar DNA hasar oluşumunu artırırken, bazı gıdaların DNA hasar oluşumunu önlediği bilinmektedir.

Canlının her bir hücresinde günde onbinlerce DNA molekülü hasara uğramakla birlikte oluşan hasar, DNA tamir mekanizmaları ile tamir edilmektedir. Normalde hasar ve tamir denge halindedir. Denge hasar lehine bozulduğunda tamir mekanizmaları yetersiz kalmakta, neticede hücre ölümü veya mutasyon, delesyon, insersiyon ve kanser oluşumu gibi DNA molekülünde kalıcı değişiklikler olabilmektedir. DNA hasarını önlemenin yolu bir taraftan DNA molekülünü hasara uğratan etkenlerden uzak dururken diğer taraftan DNA hasar oluşumunu önleyici tedbirler almaktır.

#### **2.3.1. DNA'nın Yapısı ve Fonksiyonu**

İlk defa A.F.Miescwer adlı bir araştırmacı 19. yüzyılın sonlarında hücre çekirdeğini incelerken DNA molekülünü fark etmiştir. J Watson, Cambridge Üniversitesinden Francis Crick ile giriştiği çalışmalar sonuç vermiş ve 1953 yılında Nature dergisinde 900 kelimeden oluşan makalelerinin yayınlanmasıyla bilim adına önemli bir karanlık bölüm aydınlanmıştır. Ancak bu keşif içinde İngiltere King's Kolejinde Kristalograf olarak çalışan Rosalinda Franklin'in de katkısı büyüktür. DNA'nın çift sarmal olduğunun bulunmasında Rosalinda Franklin'in X ışını resimleri kilit rol oynamıştır (25). James Watson 1956'da Harvard Üniversitesi'nde Moleküler Biyoloji ve Biyokimya Profesörlüğüne getirilmiş ve bugün halen hayattadır. 1962 yılında Dr. Crick'le DNA'nın 3 boyutlu yapısını keşfetmelerinden dolayı Nobel ödülüne layık bulunmuştur (26).

Kimyasal olarak DNA, nükleotit olarak adlandırılan basit birimlerden oluşan iki uzun polimerden oluşur (25,28). Bu polimerlerin omurgaları, ester bağları ile birbirine bağlanmış şeker ve fosfat gruplarından oluşur. Merdiven basamaklarının arasında gevşek hidrojen bağlarıyla birbirini çeken pürin ve pirimidin denilen azotlu bazlar bulunur. Bu basamaklar merdivenin kenarındaki şeker moleküllerine bağlıdır. Her bir şeker grubuna baz olarak adlandırılan dört tip molekülden biri bağlıdır (Şekil 2).



**Şekil 2.** DNA'nın çift sarmallı yapısı

Bu birimlere, timin (T), adenin (A), sitozin (C) ve guanin (G) denir. Bunlar DNA molekülünün bir iplikçliğini oluşturur. İki iplikçik, yani merdivene benzer yapının iki kolu, karşılıklı gelen baz çiftleriyle birbirine bağlanır. Bu iki iplikçik birbirlerine ters yönde giderler. Her baz çifti tek bir şekilde eşleşebilir: Her zaman T ile A ve G ile C birleşir. Sarmaşık dalına benzer her molekül, bir DNA "ipliği"dir. Bu iplikler birbirlerine kimyasal olarak bağlanmış nükleotitlerden oluşur. Nükleotitler ise bir şeker, bir fosfat ve bir de dört çeşit azotlu bazlardan birisinden oluşur. İşte bu nükleotitlerin DNA üzerinde sıralanışı, DNA dizilimini belirler. Genetik şifre de bu dizilimde yer alır.

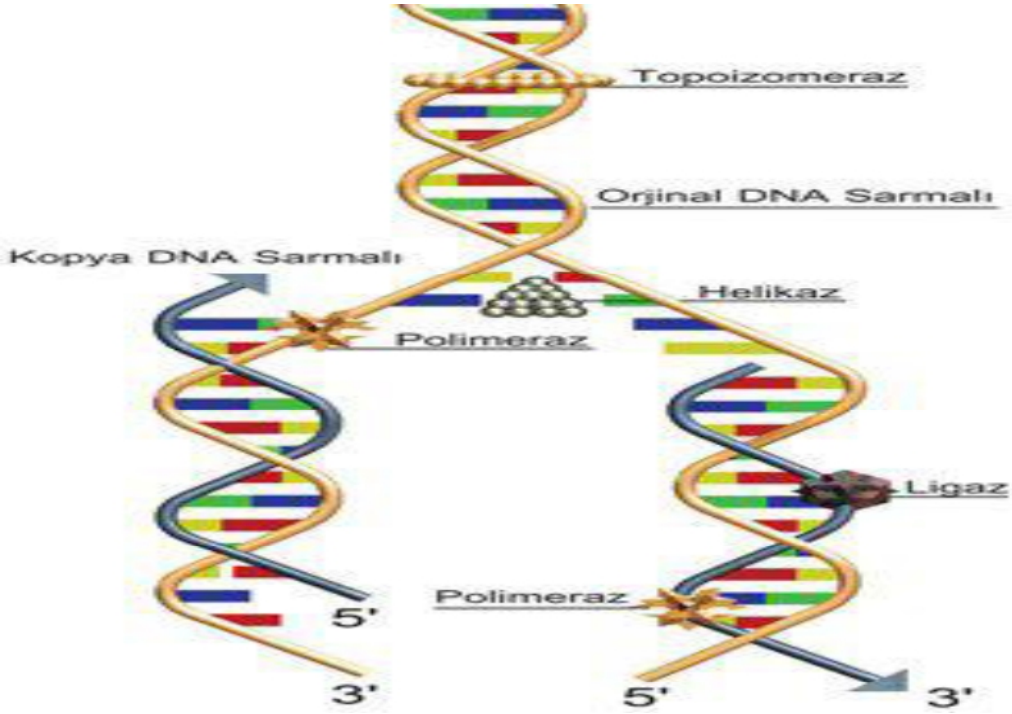
DNA, ökaryotlarda doğrusal kromozomlar, prokaryotlarda ise dairesel kromozomlar içinde bulunur. Kromozomlarda bulunan genler DNA yapısındadır. Her canlı bireyin ve soyunun hayat planı hücre hafızasını meydana getirir. DNA molekülleri şifrelerle

kodlanmıştır. DNA'nın yapısına giren bazların (A,T,G,C) her biri şifre sembolü olarak kullanılır. Hayatın dili bu dört harfli alfabeyle DNA moleküllerinde yazılmaktadır. DNA'nın ipliklerinde ard arda gelen üç nükleotit bazı bir mana (şifre) ifade eder. Dört farklı nükleotitle arka arkaya 64 şifre kodlanabilir (AAA, AAS, AAG, AGS, vb.). Şifrelerin DNA'daki sıralanışlarının değişmesiyle binlerce mana ifade edilebilir. DNA'nın omurgası boyunca bu bazların oluşturduğu dizi, genetik bilgiyi kodlar. Protein sentezi sırasında bu bilgi, genetik kod aracılığıyla okununca proteinlerin amino asit dizisini belirler. Bu süreç sırasında DNA'daki bilgi, DNA'ya benzer yapıya sahip başka bir nükleik asit olan RNA'ya kopyalanır. Bu işleme transkripsiyon denir.

Bir hücredeki kromozomlar kümesine onun genomu denir. İnsan genomu 46 kromozom içinde yer alan yaklaşık 3 milyar baz çiftinden oluşur (29).

Protein ve diğer işlevsel RNA molekülleri kodlayan bilgi, gen adı verilen DNA parçalarının dizisinde yer alır. Genlerdeki genetik bilginin aktarılması baz eşleşmesi ile gerçekleşir. Örneğin, transkripsiyon sırasında bir DNA dizisinin ona komplementer bir RNA dizisi olarak kopyalanması, DNA ile doğru RNA nükleotitler arasındaki çekim ile mümkün olur. Protein çevrimi (translasyon) denen süreç sırasında bu RNA dizisine kaşılık gelen bir protein sentezlenirken, RNA nükleotitleri arasında gen ile baz eşleşmesi olur.

DNA hücre bölünmesinin hazırlıkları sırasında kendi kopyasını yapar. Kromozomların ikiye bölünmesi sırasında DNA molekülü kendisinin bir kopyasını yapar, buna replikasyon veya duplikasyon denir. Bu olay yavru kromozomda aynı kısımların bulunabilmesi için gereklidir. DNA'nın kendini eşlemesi esnasında, iki sarmal ipliği bir arada tutan hidrojen bağları adeta bir fermuar gibi açılır (Şekil 3).



**Şekil 3.** DNA’da replikasyon oluşumu

Açıkta kalan pürin ve pirimidin nükleotitlerin uçları, hücrede önceden sentezlenmiş nükleotitlerle tamamlanır. Böylece birbirinin aynı olan iki DNA meydana gelmiş olur. Hücre bölünmesinde her biri bir hücreye gider. Hücre mekanizması DNA ikili sarmalını birbirinden ayırıp her iki DNA ipliğini de yeni birer ipliği sentezlemek için şablon olarak kullanma yeteneğine sahiptir. Yeni üretilen iplikler öncekilerle hemen hemen tamamen aynıdır, ancak mutasyon adı verilen hatalar oluşabilir. Hücrenin bu özelliğini laboratuvar ortamında taklit eden işleme de polimeraz zincirleme tepkimesi (PCR) adı verilir.

### 2.3.2. DNA Hasarı Oluşum Nedenleri

Genetik materyalin moleküler bütünlüğünde ekzojen veya endojen faktörlerin etkisiyle meydana gelen tüm değişiklikler “DNA hasarı” olarak adlandırılır. Genom, DNA hasarına neden olan sayısız farklı etkene maruz kalır. Ekzojen kaynaklar içerisinde, güneşten gelen ultraviyole radyasyon, radon bozunumundan kaynaklanan iyonize radyasyon, mantar kaynaklı aflatoksin, yanmış tütün ve birçok kemoterapötüğü sayabiliriz. Endojen kaynaklara örnek olarak, oksidatif metabolizma, DNA’nın spontan değişimleri, immünolojik çeşitliliği oluşturan V(D)J rekombinasyon mekanizmasını (antijen tanıma bölgelerini kodlayan ekson V,D ve J şeklinde üç segmentten oluşur ve bu segmentlerin birçoğu farklı kombinasyonlarla bir araya gelebilir) verebiliriz.

## **DNA Hasarına Neden Olan Etkenler;**

### **1. Spontan veya kalıtsal oluşan gen mutasyonları**

### **2. Çevresel faktörler**

a. Ultraviyole Işık

b. İyonize radyasyon

c. Elektromanyetik dalgalar

d. Kimyasal ajanlar: Aflotoksin, benzopren, kemoterapi ilaçları, alkilleyici ajanlar, vinilklorid, v.b

e. Sigara, alkol kullanımı

f. Hava kirliliği

g. Kötü beslenme alışkanlığı

### **3. Doğal hücresel metabolizmadan kaynaklanan faktörler**

a. Mitokondriden enerji üretim esnasında oluşan Serbest Radikaller

b. Enflamasyon

c. Detoksifikasyon işlemleri

Hücre tüm bu DNA hasarlarına farklı metabolik yollar ile cevap verir. Ağır DNA hasarları hücrenin apoptozis yolunu aktive ederek hücreyi ölüme götürür. Hücre, DNA hasarlarını "DNA tamir mekanizmaları" ile tamir edebilir. DNA hasarı ikileşme sırasında tamir edilemezse mutasyona ve sonuç olarak genomik kararsızlığa, kanser ve yaşlanmaya neden olur. DNA tamir sisteminde 100'den fazla gen rol oynar ve bu genlerin kodladığı proteinler tamir mekanizmalarında görev alırlar. Her bir insan hücresinin DNA'sında günde yaklaşık olarak 500.000 adet kodlanmayan veya yanlış kodlamaya neden olabilen hasar meydana gelmektedir.

DNA Hasarı sonunda DNA'nın yapısı ve dahası diğer nesillere aktarılan genetik bilgi değişir. Küçük hasarlar çoğunlukla DNA onarım sistemleri tarafından onarılabilirken, orta derecedeki hasarların birikimi ise mutasyon ve kanser ile sonuçlanabilir.

Yüksek düzeydeki hasarlar ise apoptozisi uyararak "hücre ölümüne" yol açabilir ve böylelikle organizma kendini korumuş olur.

### **2.3.3. DNA Hasarı Tipleri**

DNA çeşitli farklı mutagenler tarafından hasara uğrayabilir. Bunun sonucunda DNA dizisi değişebilir. Mutagenler arasında, yükseltgen (oksitleyici) etmenler, alkilleyici etmenler ve yüksek enerjili elektromanyetik ışınlar (morötesi ışık ve X ışınları gibi) sayılabilir. DNA'da meydana gelen hasarın tipi mutagenin tipine bağlıdır. Örneğin, mor ötesi ışık timin ikilileri (timin dimerleri) oluşturarak DNA'ya hasar verir (30). Buna karşın, serbest radikaller veya hidrojen peroksit gibi yükseltgen etmenler farklı türden hasar oluşturabilirler; baz değişimi (özellikle guanozin) ve iki iplikçikli kırılmalar gibi (31). Her bir insan hücresinde günde 500 baz yükseltgeyici zarar görür (32, 33). Bu yükseltgeyici hasarlardan en zararlısı çift zincirli kırılmalardır. Çünkü bunların onarımı zordur. Bunlar DNA dizilerinde noktasal mutasyonlara, insersiyonlara ve delesyonlara ayrıca kromozomal translokasyonlara yol açabilir (34).

#### **Başlıca DNA hasar tipleri;**

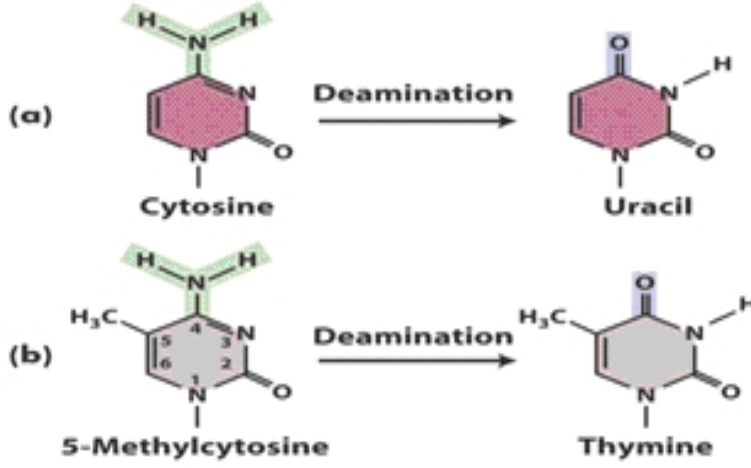
1. Deaminasyon
2. Depurinasyon
3. Alkilasyon
4. T-T and T-C dimerleri oluşumu
5. Replikasyon hataları
6. Çift iplik kırıkları (DSB)
7. Oksidatif hasardır.

#### **2.3.3.1. Deaminasyon**

Deaminasyonda, Adenin (A) ve Sitozin (C)'deki bir amino grubu, keto grubuna dönüştürülmektedir. HNO<sub>2</sub> (nitroz asit) deaminasyon yoluyla Sitozin (C) => Urasil (U) ve



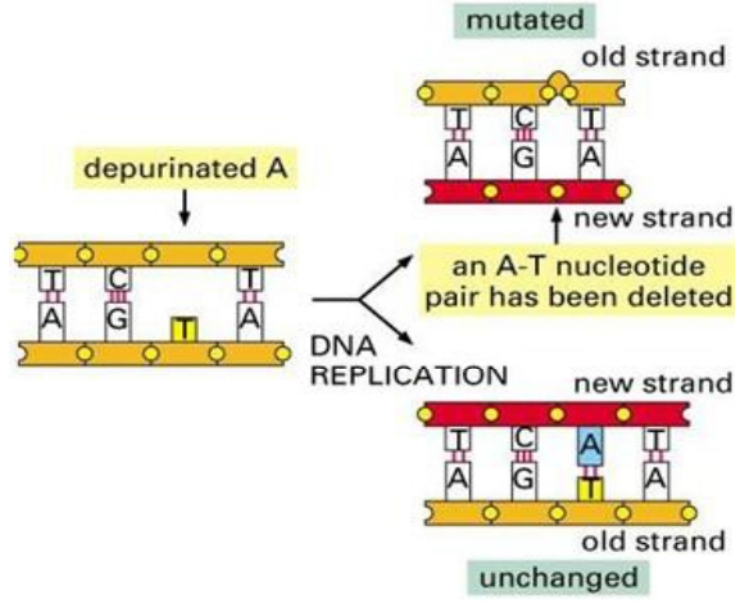
Adenin (A) => hipoksantine dönüşmesine neden olur. Adenin deaminasyonu ile oluşan hipoksantin sitozinle yanlış eşleşir (Şekil 4).



Şekil 4. Deaminasyon oluşumu

### 2.3.3.2. Depürinasyon

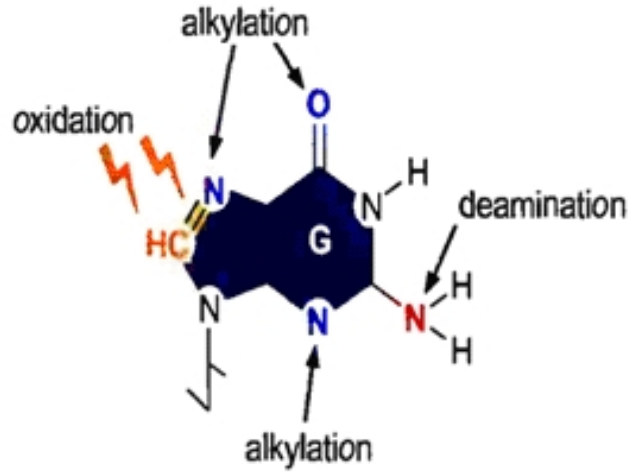
Memeli hücreleri spontan olarak 37 derecede 20 saatlik bir üreme periyodunda yaklaşık 10 000 purinini kaybeder. Aflatoksin depürinasyonu indükler (purin bazı kaybı) ancak depürinasyon spontan da olabilir. Depurine dizideki tamir eksikliği delesyonlara neden olabilir. Eğer bu mutasyonlar varsa replikasyon sırasında önemli DNA kayıplarına neden olur. Baz olmayan yerin karşısına baz eklenemez veya buraya bir baz eklenir fakat bu baz, mutant bir baz olur.



Şekil 5. Depürinasyon oluşumu

### 2.3.3.3. Alkilasyon

Alkilasyon, nükleotidlerdeki amino ve keto gruplarına metil (CH<sub>3</sub> - ) ya da etil (CH<sub>3</sub> - CH<sub>2</sub> ) gibi bir alkil grubu eklenmesi işlemidir. Nitrozaminler, etilmetilsülfonat ve N metil- N1 -nitrosoguanidin en önemli alkilleyici ajanlardır. En önemli alkilasyon bölgesi, guaninin 6. karbon atomundaki oksijendir (35). Alkilasyon sonucunda oluşan O6 -etilguanin (ya da O6-metilguanin), adeninin baz analogu gibi davranarak timinle eşleşir. Bunun sonucunda hasarlı DNA replike olduğunda G:C baz çifti yerine A:T baz çifti geçer. Birçok kimyasal mutajen bazlarda modifikasyonlara neden olur. Bu ajanlar genellikle küçük alkollerdir (örneğin metil grupları). Aynı zamanda birçok mutajen polisiklik bileşenlerden oluşur.



**Şekil 6.** Guanindeki kimyasal hasar bölgeleri (alkilasyon, oksidasyon, radyasyon)

#### 2.3.3.4. T-T ve T-C dimerleri oluşumu

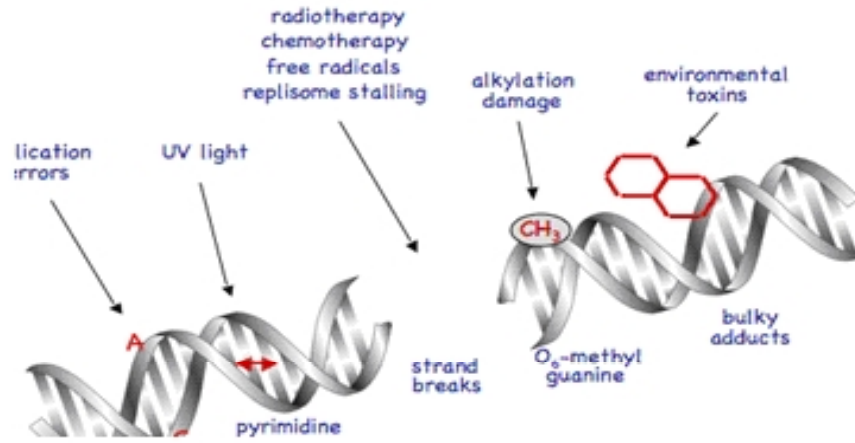
Nükleik asit bazlarının UV ışığı absorblaması sonucu sıklıkla yakın pirimidin bazlarının birer zincirleri arasındaki bağ oluşumu sonucu dimerler oluşur (siklobütan pirimidin dimerleri). DNA hasarı güneş yanığına ve melanin üretiminin artmasına neden olur ve tüm melanomaların %8 inden de sorumludur.

#### 2.3.3.5. Replikasyon Hataları

DNA replikasyonu esnasında yanlış nükleotlerin eklenmesiyle oluşan hatalardır. DNA polimerazın hata yapma (yanlış bazı ekleme) sıklığı spontan mutasyon oluşumunu etkiler. Polimerazın doğruluk oranını etkileyen en önemli faktör, hata okuma (proofreading) 3'-5' ekzonükleaz aktivitesidir. Bu aktivite, polimeraz tarafından yanlış eklenen bazların çıkarılmasına, böylece replikasyon esnasında mutasyon oluşumunu engellemeye yarar.

#### 2.3.3.6. Çift İplik Kırıkları Oluşumu

İyonize radyasyon, transpozonlar, topoizomerazlar, endonükleazlar, kromozomlar üzerindeki mekanik stres, tek iplikli bölgede tek iplik kesimi ile (örneğin replikasyon ve transkripsiyon sırasında ) oluşurlar. DSB'ler bir hücrenin yaşamı boyunca sürekli olarak ortaya çıkan en tehlikeli DNA lezyonu türleridir. DSB'ler hem endojen hem de ekzojen unsurlardan kaynaklanabilir ve mutasyon oluşumuna, onkojenik dönüşüme ya da hücre ölümüne yol açabilecekleri için, genom için önemli bir tehlikedirler.



**Şekil 7.** Çift İplik Kırıkları

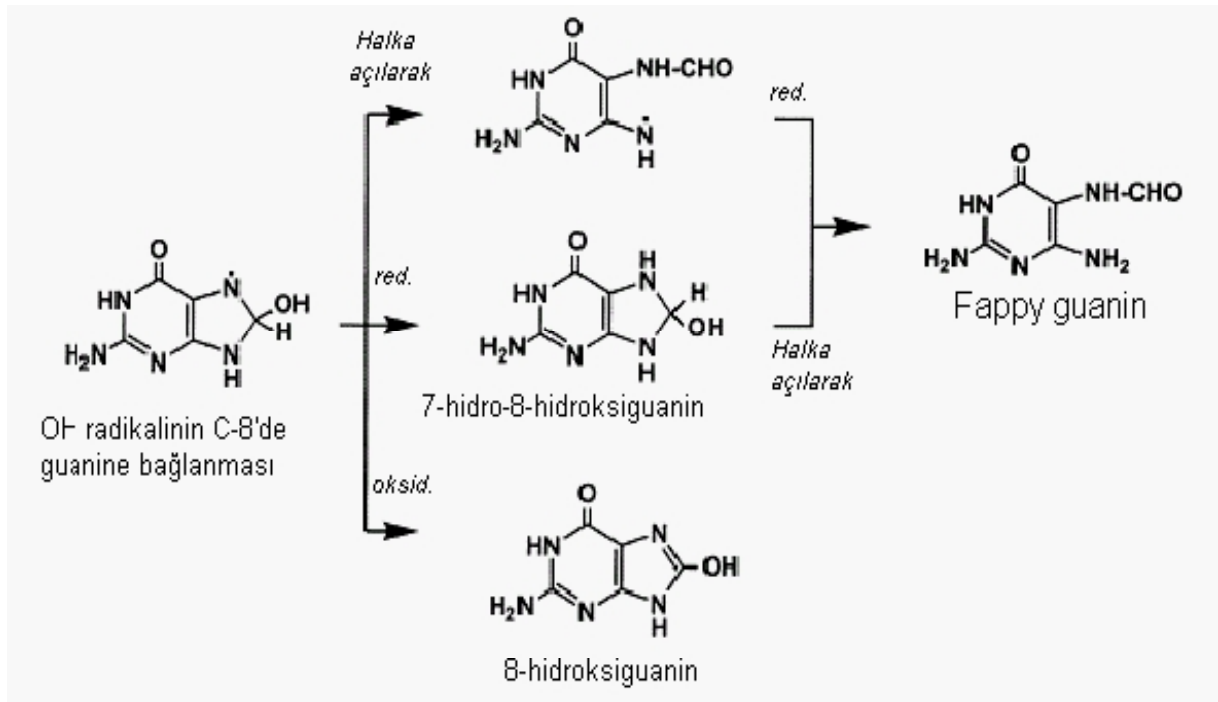
### 2.3.3.7. Oksidatif Stresin Neden Olduğu DNA Hasarı

Endojen serbest radikallerin her bir hücrede, günde 200.000 kadar bazı hasara uğrattığı tahmin edilmektedir. Serbest radikaller, DNA atakları, mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açmaktadır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar. Bu nedenle DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür (36,37).

ROS (Reaktif Oksijen Türleri) ve RNS (Reaktif Nitrojen Türleri) ile DNA hasarlarının çok az bir kısmı doğal olarak meydana gelmektedir (38). DNA hasarlarının oluşumunda yer alan endojen reaksiyonlar; oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonlarıdır. Nitrik oksid veya nitrojen dioksit (NO<sub>2</sub>), peroksinitrit (ONOO<sup>-</sup>), dinitrojen trioksit (N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) ve nitrikasid (HNO<sub>3</sub>) gibi reaktif ürünleri, nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler. Farklı ROS türleri farklı yollardan DNA hasarlarına neden olurlar. Örneğin O<sub>2</sub> ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hiçbir zaman bazlarla reaksiyona girmezken OH radikali DNA'daki dört bazdan herhangi birine bağlanarak farklı reaktif ürünlerin oluşmasına yol açmaktadır. Singlet oksijen ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (36,37).

Hidroksil radikali pürin bazları ile C4, C5 ve C8 pozisyonlarından reaksiyona girerek sırasıyla C4-OH-, C5-OH-, ve C8-OH- pürin radikallerini oluşturmaktadır (98). C4-OH- ve C5-OH-pürin radikalleri dehidrasyona uğrayarak okside pürin radikallerini oluştururlar. C8-OH pürin radikallerinin bir elektronlarının oksidasyonu ve bir elektronlarının redüksiyonu ile sırasıyla 8-hidroksipürinler (7,8-dihidroksi-8-oxopürinler) ve formamidopirimidinler oluşur (98). Şekil 9’da 8-hidroksiguanin (7,8 – dihidroksi – 8 - oxoguanin: 8 – OH - Gua) ve 2,6 – diamino – 4 – hidroksi –5 -formamidopirimidin (FapyGua) oluşum mekanizmaları görülmektedir. Her ikisi de hem oksijenli hem de oksijensiz ortamlarda meydana gelebilmektedir.

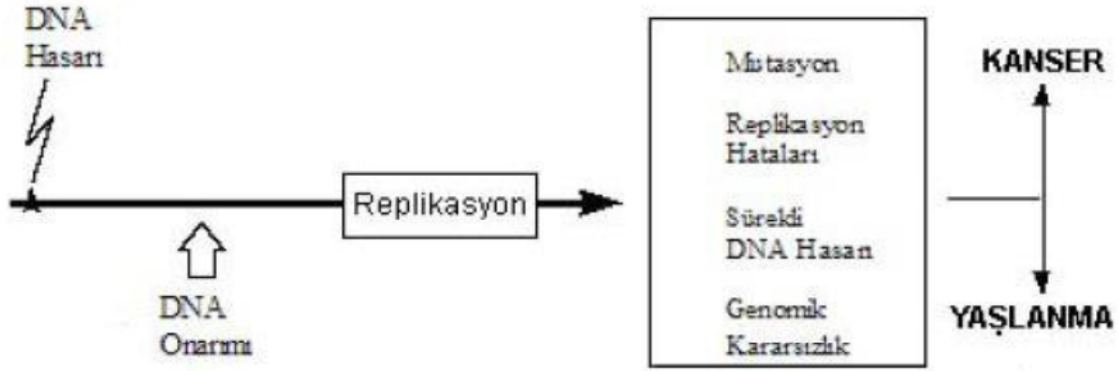
İndirgeyici ajanlar formamidopirimidinlerin oluşumunu arttırırken 8-OH-pirimidinlerin oluşması için oksijenli ortam uygun görülmektedir. 8-OH-guanin çok yaygın olarak meydana gelen bir baz hasar ürünü olduğundan oksidatif DNA hasarlarının ölçülmesinde hasar indeksi olarak kullanılmaktadır. Çoğu zaman 8 hidroksideoksiguanozin (8-OH-dGua) nükleoziti şeklinde ölçülmektedir.



Şekil 8. 8-hidroksiguanin ve FapyGuo'nun oluşum mekanizmaları

### 2.3.4. DNA Tamiri

DNA'da oluşan küçük hasarlar çoğu zaman DNA onarım sistemleri tarafından onarılır. Bu cevaplardan herhangi birinin işlev görmemesi, hücre düzeyinde genomik kararsızlıkla, organizma düzeyinde ise genetik hastalıklar, kanser veya yaşlanma ile sonuçlanır.



Şekil 9. DNA Hasarı sonucu oluşan süreç

DNA tamir sisteminde 100'den fazla gen rol oynar ve bu genlerin kodladığı proteinler tamir mekanizmalarında görev alırlar.

DNA Tamir Mekanizmaları;

#### 1. Direkt Tamir ya da Hasarın Geri Döndürülmesi (Reversal of Damage)

- A- Fotoreaktivasyon
- B- O6-metilguanin tamiri
- C- Basit tek zincir kırıklarının ligasyonu

#### 2. Eksizyon (kesip-çıkarma) Tamiri

- A-Baz eksizyon tamiri (BER) (base excision repair)
- B- Nükleotid eksizyon tamiri (NER) (nucleotide excision repair)
- C- Mismatch (yanlış eşleşme) eksizyon tamiri (MER)

#### 3. Replikasyon sonrası (post-replikasyon) tamiri

4. SOS Tamiri

5. Çift Zincir Kırıklarının Tamiri

A- Serbest Uçların Non-homolog Bağlanması ( NHEJ )

B- Homolog Rekombinasyon ( HR )

#### **2.4. Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Kapasite ve Oksidatif Stres İndeksi**

Reaktif oksijen türleri, metabolik ve fizyolojik süreçlerde üretilir ve organizmada zararlı oksidatif reaksiyonlar meydana gelmesine sebep olurlar. Bunlar enzimatik ve nonenzimatik antioksidan mekanizmalarla uzaklaştırılır. Bazı durumlarda oksidanlardaki artış ve antioksidanlarda azalma önlenemez. Oksidan/antioksidan denge, oksidatif taraf lehine kayar. Sonuç olarak, 100'den fazla hastalığa neden olan oksidatif stres meydana gelir (39). Oksidatif stresin rol oynadığı düşünülen süreçler (40,41):

Sigara içimiyle ilişkili hastalıklar

Nörodejeneratif süreçler

Sistemik amiloidoz

Romatoid artrit

Respiratuar distress sendromu

Kardiyovasküler hastalıklar

Obezite

Ateroskleroz

Diyabetes mellitus

Multipl skleroz

Yaşlanma

Gastrik ülser

Katarakt

Aerob organizmalar hayatta kalabilmek için kendilerini oksijen toksisitesinden koruyan antioksidan savunma sistemlerine sahiptir. Bu organizmalar ayrıca oksijeni ( $O_2$ ), enerji üretiminde (aerob hücreler için gerekli olan ATP'nin %80'inin üretildiği mitokondrial elektron transport zincirinde;  $O_2$ , son elektron alıcısıdır) ve metabolik transformasyonlarda (oksidaz, hidroksilaz enzimleri örnek; sitokrom p450) kullanma yolları geliştirmiştir. Yani aeroblar, bir yandan kendilerini  $O_2$ 'nin zararlı etkilerinden korurken bir yandan da hayati fonksiyonlarında  $O_2$ 'den oldukça faydalanmaktadır. Ancak, aeroblar kendilerini sadece havadaki %21'lik  $O_2$ 'den koruyabilen antioksidan savunma mekanizmalarına sahip oldukları için, daha yüksek konsantrasyonlardaki  $O_2$  organizmaya zarar vermektedir (42).

#### 2.4.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, en dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla çiftleşmemiş elektron içeren reaktif moleküllerdir. Oksijen türevi radikaller, biyolojik sistemin en iyi bilinen serbest radikalleridir ve canlı hücrelerde, normal süreçte fizyolojik miktarlarda üretilirler. Aşırı oluştuklarında hücre ve dokuların hasarına neden olurlar. Yapılarındaki ortaklanmamış elektrolitlerden dolayı oldukça reaktifirler ve tüm hücre bileşenleri ile kolayca etkileşimle özelliği gösterirler (43,44).

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler:

- 1- Kovalent bağlı radikal olmayan bir molekülün bağlarının koparılması ile iki ayrı radikal oluşumu ile,
- 2- Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün bölünmesi ile,
- 3- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile.

Organik veya inorganik moleküller, elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü, nötral şekilde olabilirler. Oksijen atom numarası 8 olan, doğada dioksijen olarak bulunan kararsız bir elementtir. Bu kararsız konumu, enerji düzeylerinde bulunan elektronlarının yapısıyla ilişkilidir. Oksijen molekülündeki aynı yöne dönen iki elektrona sahip 2P son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde veya farklı yönde döndüğünde “singlet oksijen” oluşur. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse “oksijen radikali” elde edilir (43).



Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle çok dengesizdir ve hızla ortamdan kaybolur. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta non radikal yapıyı radikal bir şekle dönüştürebilirler.

**Tablo 1.** Oksijen türevi bileşikler

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Hidroksil ( $\text{HO}^\cdot$ )	Hidrojen Peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )
Alkoksil ( $\text{RO}^\cdot$ )	Singlet Oksijen ( $\text{O}_2^{\uparrow\downarrow}$ )
Peroksil ( $\text{ROO}^\cdot$ )	Ozon ( $\text{O}_3$ )
Süperoksit ( $\text{O}_2^\cdot$ )	Hipoklorid ( $\text{HOCl}$ )
Nitrik oksit ( $\text{NO}^\cdot$ )	Lipidhidroperoksit( $\text{LOOH}$ )
Azot dioksit ( $\text{NO}_2^\cdot$ )	Peroksinitrit ( $\text{ONOO}^\cdot$ )

#### 2.4.1.1. Süperoksit Radikali ( $\text{O}_2^\cdot$ )

Canlılarda olduğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit radikali hasarlandırıcı özelliği fazla olmayan bir serbest radikal türevi olup  $\text{H}_2\text{O}_2$  kaynağıdır. Oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkisi vardır. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanmaktadır. Aktive edilen fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatmaktadır (44,45). Daha sonra bu radikaller, Hidrojen Peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e dönüşür.  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'in kendisi serbest radikal olmasa da en reaktif serbest radikal türlerinden hidroksil radikaline ( $\text{HO}^\cdot$ ) otooksidasyon yolu ile dönüşebilir.

#### 2.4.1.2. Hidrojen Peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksitlerin enzimatik ve enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucunda

oluşmaktadır. Dismutasyon spontan olarak veya süperoksit dismutaz enzimi aracılığıyla olabilir.  $H_2O_2$  membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir.  $H_2O_2$  özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturabilmektedir. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipit peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (44,46).

#### **2.4.1.3. Hidroksil Radikali ( $HO\cdot$ )**

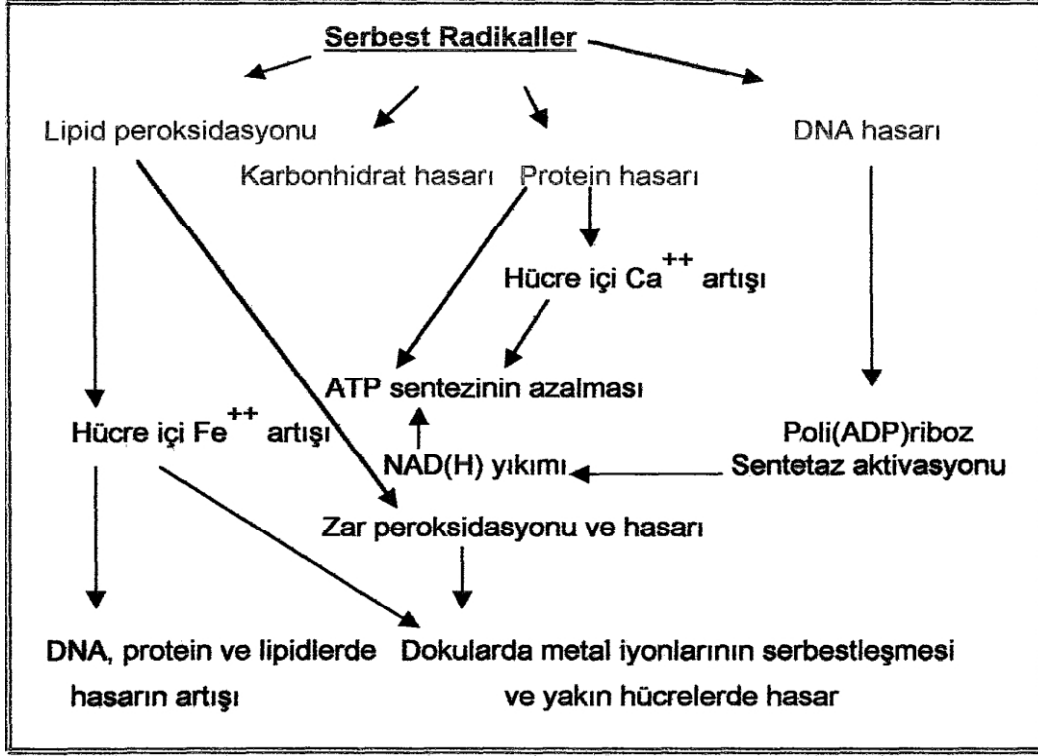
Hidroksil radikali, biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikaldir. Dokular radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından emilir ve radyasyon oksijen ve hidrojen arasında kovalent bağa neden olur. Sonuçta iki radikal meydana gelir. Bu radikallerden biri hidrojen ( $H\cdot$ ) ve diğeri ise hidroksil radikalidir ( $HO\cdot$ ).



Yine  $OH\cdot$ leri aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiklerinden DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna neden olurlar. Bir dizi reaksiyona katılabilen  $OH\cdot$  radikalleri DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına neden olurlar. Hasar çok kapsamlı olursa hücrel koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda çeşitli mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir (47).

#### **2.4.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri**

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşenlerine etki ederler. Mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller geçirgenliği bozarak, bir yandan hücrenin potasyum kaybına neden olurken öte yandan trombosit agregasyonunu arttırlar (şekil 10) (48).



Şekil 10. Serbest radikallerin hasar oluşturma mekanizmaları

#### 2.4.2.1. Membran Lipidlerine Etkisi (Lipid Peroksidasyonu)

Lipidler, serbest oksijen radikallerine karşı en hassas olan vücut bileşenleridir. Membrandaki kolesterol ve doymamış yağ asitleri, serbest radikaller tarafından kolayca perokside edilirler ki bu hasar geri dönüşümsüzdür. Hasar ile membran geçirgenliğinin değişmesi, anormal kalsiyum iyonu girişine yol açarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve oksidasyon ile fosforilasyonun ayrılmasına neden olur. Ayrıca ortamdaki demir ve bakır gibi metal iyonları, lipid peroksidasyonunun sitotoksik ürünlere dönüşümünü hızlandırır.

Lipid hiperoksidleri yıkımı ile biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur ki bu maddeler, hücre içine yayılarak, hasarın hücrenin diğer bölümlerine de yansımaya neden olurlar. Lipid peroksidasyonunun sonunda MDA oluşur. Oluşan MDA, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerini değiştirerek mutajenik, genotoksik ve karsinojenik etkilere yol açabilir (49).

#### **2.4.2.2. Proteinlere Etkisi**

Serbest radikallerin proteinlere etkisi proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Protein molekülleri üzerindeki sülfhidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır:

- 1- Aminoasitlerin modifikasyonu,
- 2- Proteinlerin fragmentasyonu,
- 3- Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalarıdır (50).

Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize hassasiyete yol açabilir. Radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girebilirler ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler. Serbest radikallerin etkisiyle IgG ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle okside olmuş hemoglobinin O<sub>2</sub> veya H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olmaktadır (49).

#### **2.4.2.3. Nükleik asitlere Etkileri**

Nükleik asitler, serbest radikallere bağlı değişikliklere duyarlıdır. Hidroksil radikallerin DNA ile tepkimesi sonucunda baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilmektedir.

Oksijen radikalleri, oksidatif yarıma ile DNA hasarına yol açabilmektedir. Özellikle pirimidinlerden olan timin en hassas yapıdır. DNA halatlarının kopması, DNA çift sarmalı ayrılması sonucu hücrede mutasyonlar ve ölüm gelişebilmektedir. 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OhdG), oksidatif DNA hasarının bir göstergesidir. Yenidoğan ve hipokside kalan bebeklerde oranın yüksek olduğu bildirilmektedir (51).

#### **2.4.2.4. Karbonhidratlara Etkileri**

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu katarakt, diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıkların, inflamatuvar eklem hastalıklarının oluşumuna katkıda bulunabilirler (43).

### 2.4.3. Antioksidan Mekanizmalar

Yükseltgenebilir bir substratla (protein, lipid, karbonhidrat ve nükleik asitler) karşılaştırıldığında daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu zaman o substratın oksidasyonunu belirgin biçimde geciktiren/önleyen maddeye antioksidan denir (52). İkinci bir tanıma göre diyetel antioksidan normal fizyolojik fonksiyonların varlığında reaktif oksijen ve nitrojen türleri gibi reaktif türlerin yan etkilerini belirgin biçimde azaltan ve yiyeceklerde var olan maddeler olarak tanımlanır (53). Ancak bu tanım yeniden gözden geçirilmiş ve genişletilerek membran stabilitesini devam ettirme özelliğinin de antioksidanların fonksiyonlarından biri olduğu belirtilmiştir (54).

#### **Antioksidan savunma mekanizmaları etkilerini aşağıdaki yollarla gösterebilirler:**

- 1- Hasarlı hedef moleküllerin yerini alarak,
- 2- Reaktif oksijen türleri oluşumunu minimumda tutarak,
- 3- Hasarlı hedef molekülleri onararak,
- 4- Yüksek derecede reaktif türlerin oluşumunda görev alan metal iyonlarını bağlayarak,
- 5- Reaktif türleri enzim kullanarak yahut bizzat kendisinin yer aldığı reaksiyonlarla temizleyerek (55).

Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), glutatyon-S- transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise; bilirubin, albümin, ürik asit,  $\alpha$ - tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (56,57).

Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antiinflamatuvar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (58).

### **2.4.3.1. Enzim Olan Antioksidanlar**

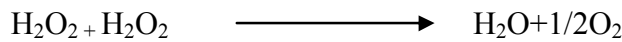
#### **2.4.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)**

SOD enziminin bakır-çinko, mangan ve demir içeren üç tip izoenzimi bulunur. Bakır ve çinko içeren Cu-Zn-SOD sitoplazmada, mangan içeren Mn-SOD mitokondride aktivite gösterir. Cu-Zn-SOD ve Mn-SOD aynı mekanizma üzerinden etki gösterirler ancak Mn-SOD pH 7'nin üzerinde aktivitesini kaybederken Cu-Zn-SOD'un aktivitesi pH 5.5-10 aralığında değişmez.

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerini kullanan ve süperoksiti hidrojen peroksite çeviren bir metalloenzimdir. Bu reaksiyon "oksidatif strese karşı ilk savunma" olarak da adlandırılmaktadır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, müsküler distrofi, respiratuar distres sendromu, böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir. Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD'nin ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (60).

#### **2.4.3.1.2. Katalaz**

Katalaz enzimi hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene çevrildiği reaksiyonu katalizler. Enzim hücre içinde peroksizomlarda yerleşmiştir ve bir hemoproteindir. Dört tane hem grubu içerir. Katalaz'ın etkisi de SOD'a benzerdir.

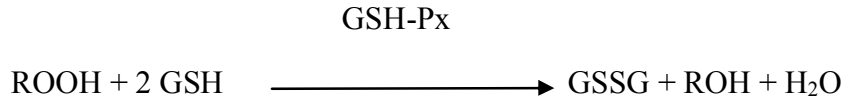


Bu reaksiyon  $\text{H}_2\text{O}_2$  konsantrasyonları yükseldiğinde önem kazanırken düşük  $\text{H}_2\text{O}_2$  konsantrasyonlarında diğer peroksidazlar  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'lerin daha az reaktif olan alkollere ve suya parçalanmasını katalizler. Kanda, böbrek ve karaciğerde ayrıca mukoz membranlarda bulunur. Granulomatoz hücreleri solunumsal patlamaya karşı korur (54).

#### **2.4.3.1.3. Glutatifon Peroksidaz (GSH-Px)**

GSH-Px, pek çok hücrenin sitozollerinde bulunan bir enzimdir ve hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan  $\text{H}_2\text{O}_2$

ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Düşük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementinin kullanır.



Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutatyon, glutatyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (60).

GSH-Px, fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Yapılan çalışmalarda kord kanı GSH-Px ve total antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı ifade edilmiştir (61).

#### 2.4.3.1.4. Glutatyon-S-Transferaz (GST)

Lipid peroksitlerine karşı selenyumdan bağımsız glutatyon peroksidaz aktivitesi göstermektedir.



Antioksidan aktivitesine ek olarak başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup bilirubin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadır (60).

#### 2.4.3.1.5. Glutasyon Redüktaz (GR)

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> indirgenmesi esnasında GSH oksitlenir. Glutasyon peroksidazın fonksiyonunun devamlılığı için okside glutasyon tekrar indirgenmelidir. Reaksiyon GSH redüktaz tarafından katalizlenir. Enzim NADPH bağımlı bir flavoproteindir (60).



#### 2.4.3.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Süperoksit anyonunun suya dönüştüğü reaksiyonu katalizler. Bakır içerir. Mitokondrideki elektron taşıma zincirinin son basamağında yer alır.

#### 2.4.3.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar

##### 2.4.3.2.1. Glutasyon (GSH)

Glutamat, sistein ve glisin aminoasitlerinden sentezlenen ve hücrede en fazla tiyol içeren bileşiktir. GSH sentezinde kullanılan sisteinin kaynağı N-asetilsisteindir. Glutaminin glutaminaz ile hidrolizi ve  $\alpha$ -ketoglutarat ile dallı zincirli aminoasitlerin transaminasyonu GSH sentezinde kullanılan glutamatın temel kaynaklarıdır. GSH'dan kaynaklanan glutasyon radikali (GS<sup>-</sup>) bir prooksidandır. Ancak iki GS<sup>-</sup> birleşerek okside glutasyonu (GSSG) oluştururlar bu da GSH redüktaz tarafından GSH'ya indirgenir. Doğrudan veya dolaylı yollarla reaktif oksijen türlerini temizler. Hücresel oksidasyon-redüksiyon dengesinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan tiyol proteinleriyle etkileşime girer (62).

##### 2.4.3.2.2. Vitamin C (Askorbik Asit)

C Vitamini pek çok biyolojik fonksiyon için gerekli suda çözünebilen bir mikronutrienttir. Birçok enzimin kofaktörü olarak görev yapar. Bunlar; kollajenin post-translasyonel hidroksilasyonu, karnitin biyosentezi, dopaminin norepinefrine dönmesi, peptid amidasyonu ve tirozin metabolizmasında görev alan enzimlerdir.

Anti-skorbutik fonksiyonu yanında C vitamini potent bir indirgeyici ajan ve biyolojik sistemlerde serbest radikal toplayıcısıdır (63). Biyolojik sıvılarda en çok bulunan ve suda çözünen bir antioksidandır. Süperoksit, hidroperoksit radikalleri ve singlet oksijen ile peroksinitrit, nitrojen dioksit ve nitroksit radikallerini toplayabilme özelliğine sahiptir. Paradoksik olarak C vitamini in vitro koşullarda bir prooksidan gibi davranabilir. C



vitamininin demir ve bakır ile birlikteliği lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif modifikasyonunu indüklemek için kullanılmaktadır (52). C vitamini oksidatif strese ferrik demiri ferroz demire indirgeyerek ve sonrasında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'in hidroksil radikale dönüşümünü sağlayarak neden olabilir. Ancak genel olarak bu C vitamini aracılı Fenton reaksiyonları insanda ferritin ve transferin gibi metal bağlayıcı proteinlerin etkin demir sekestrasyonu sayesinde kontrol edilir. Prooksidan etkinin in vivo koşullarda gerçekleşip gerçekleşmediği net değildir (52,64). İnsan plazmasının in vitro inkübasyonu yöntemiyle yapılan çalışmalar C vitamininin aktive redoks geçiş metalleri ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenmesi durumunda bile lipid peroksidasyonunu engellediğini göstermiştir (65).

Plazma askorbik asit havuzunda sigara kullanımıyla ilişkili düşüş ilk olarak 1930'larda tanımlanmıştır (66). Sonraki çalışmalarda da sigara içenlerde içmeyenlere göre plazma/serum/lökosit C vitamini konsantrasyonlarının yaklaşık olarak %40 daha düşük olma eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Son çalışmalarda sigara içen erkek ve kadınlarda plazma, lökositler ve idrarda gözlenen düşük askorbik asit konsantrasyonlarının nötrofillerin aktivite ve sayılarında artışla ilişkili olduğu bunun da C vitaminin artmış kullanımı, düşük alımı veya azalmış biyoyararlılığıyla açıklanabileceği söylenmiştir (67).

#### **2.4.3.2.3. Vitamin E (Tokoferol)**

Alfa tokoferol yağda çözünen lipit zincirini kıran bir antioksidandır. Mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi membrandan zengin hücre kısımlarında vitamin E konsantrasyonu artmıştır. Çok güçlü bir antioksidan olan alfa tokoferol hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal ataklarına karşı korur, oluşan radikalleri temizler, lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Askorbik asit E vitaminin etkisini artırır. E vitamini ve GSH-Px serbest radikal etkisine karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. E vitamini, sentezlerini engeller iken GSH-Px, oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırır (68).

#### **2.4.3.2.4. β Karoten**

A vitaminin metabolik bir ön maddesi olan ve yağda çözünen bir antioksidan olan beta karoten son derece güçlü bir oksijen temizleyicisidir. Serbest radikalleri direkt olarak yakalayabilir ve aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikalleri oluşumunu engeller (69).

#### **2.4.3.2.5. Seruloplazmin**

Plazma antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmı, bakır içeren ve taşıyan akut faz proteini seruloplazminden kaynaklanır. Demir ve bakır bağımlı lipid peroksidasyonu inhibe eder. Daha az önemli olmakla birlikte süperoksit radikali ile reaksiyona da girer

#### **2.4.4. Total Antioksidan Kapasite**

Antioksidan savunma sistemleri, özgül etkiler dışında bir ortak etkiler ve ilişkiler ağı oluşturur. Örneğin; vitamin C ve glutatyon, vitamin E'nin rejenerasyonunu sağlayarak; ürik asit, vitamin C'nin otooksidasyonunu engelleyerek sinerjistik etki gösterirler. Böylece antioksidan durumu göstermede tek tek antioksidan ölçümü yanında değişik antioksidanları ortak etkilerinin ölçümüne yani "total antioksidan kapasite"nin bilinmesine ihtiyaç doğar. Sonuçta plazmanın total antioksidan kapasitesinin her antioksidanın tek başına etkilerine ek olarak değişik antioksidanlar arasındaki ilişkilere bağlı olduğu söylenebilir (70).

#### **2.4.5. Oksidatif Stres**

Organizmada normal şartlarda da oluşan serbest radikal üretimi, değişik savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılır. Bu nedenle patolojik bir durum oluşmaz. Serbest radikal oluşum hızı ve serbest radikal miktarı savunma mekanizmalarının gücünü aştığı zaman oksidan stres ortaya çıkar. Sonuç olarak serbest radikallerinin hücre fonksiyonlarına net etkisi, radikal ürünleri ile koruyucu sistemler arasındaki dengeye bağlıdır.

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. 'Oksidatif stres' olarak adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (71).

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1. Yöntem

Bu çalışmaya Şubat 2013 – Şubat 2014 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın ve Doğum Hastalıkları polikliniğinde gebelik için takipte olan; herhangi bir hastalık durumları bulunmayan; sosyokültürel durumları benzer olan 20-30 yaş arası ve üçten az doğum yapmış; 38 – 42 haftalık gestasyonunu tamamlamış; 36 normal spontan vajinal yola ve 36 sezeryen secsio ile doğum yapmış, annelerin yenidoğan bebekleri çalışmaya seçildi. Bebekler; Apgar skoru 8 üzerinde olan, her hangi bir konjenital anomalisi, perinatal ve natal dönemde hipoksisi olmayan 2.5 - 4 kg arasında fizik muayene ve laboratuvar incelemeleri sonucunda tamamen sağlık olanlar çalışmaya dahil edildi. Çalışma için Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulunun onayı alındı. Çalışmaya alınan bebeklerin ailelerine proje hakkında bilgi verildikten sonra gönüllü onay formu imzalatıldı.

**Çalışmadan çıkarılma kriterleri:** Çalışma başında çalışmaya katılmak istemeyen anneler, konjenital anomalisi olanlar, prenatal ve neonatal dönemde asfiksi olan, apgar skoru 8'in altında olan bebekler ile kronik hastalık, diabetes mellitus, hipertansiyon, oligohidroaminoz, polihidroaminoz, gebelik süresince ciddi enfeksiyon geçiren, derin anemi, obezite, sigara ve alkol kullanan annelerin bebekleri çalışmaya alınmadı.

**Kan örnekleri:** Çalışmanın başında tüm grubtaki çocuklardan otomatik kan sayımı cihazı (Abbot Celldyn 3700 III, USA) ile tam kan sayımları yapıldı. Kan örnekleri heparin ile yıkanmış tüplere alınan 3 cc'lik kan örnekleri mononükleer lökosit seperasyonu DNA hasarı çalışılmak üzere işleme konulurken biyokimyasal analiz ve oksidanlar için alınan kan örnekleri 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra şekilli elemanlar tüp ile birlikte atıldı. Üstteki serum örneklerin bir kısmı -80 °C'de saklandı. Kalan serum örnekleri ile elektrolitler, böbrek ve karaciğer fonksiyon testleri (Abbott Aeroset, Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA) için aynı gün, -80 °C'de saklanan serum ise çalışma günü Erel yöntemi ile TOS ve TAS oto-analizörde (Abbott Aeroset, Abbott Diagnostics, Abbott Park, IL, USA) kolorimetrik olarak ölçüldü.

Bebeklerden heparin ile yıkanmış tüplere alınan 3 cc'lik kan örnekleri mononükleer lökosit DNA hasarı çalışılmak üzere işleme konuldu. EDTA lı kan örneklerinde Harran Üniversitesi Araştırma Hastanesi Biyokimya laboratuvarındaki otomatik kan sayım cihazı ( celldyn 3700 ) ile tam kan sayımı ve retikülosit tayini yapıldı. Heparinli tüplere alınan kan

örnekleri DNA analizlerinde kullanılacak mononükleer lökositlerin seperasyonu için kullanıldı. Bir ml histopaque –1077 üzerine bir ml taze heparinize kan yavaşça konup 2100 rpm ve 25 °C’de 30 dakika santrifüj edildi (6,7). Orta tabakada biriken mononükleer lökositler pipet yardımıyla alınıp bir ml tuzlu fosfat tamponu (pH=7.4) ile karıştırıldıktan sonra 1600 rpm ve 25 °C’de 10 dakika santrifüj edilerek iki kez yıkandı. Üstteki süpernatant atılıp pellet tuzlu fosfat tamponu (pH=7,4) ile 10<sup>6</sup> mononükleer lökosit /µl olacak şekilde dilüe edildi. Bu yöntemde DNA migrasyonu vizüel olarak değerlendirildi. Oluşan hasarın derecesine göre DNA’lar beş kategoriye ayrıldı. Hiç hasar bulunmayan DNA’lar Class 0, maksimum hasar olan DNA’lar ise Class 4 olarak değerlendirildi. Değerlendirilen 50 hücreye ait DNA’lardaki hasar dereceleri tespit edilip çıkan sonuç 2 ile çarpılıp ve değerlendirme 100 üzerinden yapıldı. Dolayısıyla bu değerlendirmede en yüksek değer 400 olabilmıştır.

### **3.1.1. Toplam Antioksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TAS)**

Örneklerin total antioksidan status düzeyi (TAS), Ö. Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir methoddur (72). Ölçüm yöntemi, örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS\* katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikali antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Eqiv/L olarak ifade edildi.

### **3.1.2. Toplam Oksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TOS)**

Örneklerin total oksidan status (TOS) düzeyi, Ö. Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülen tam otomatik bir yöntem olup testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyonla kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanılır (73). Kalibratör olarak Hidrojen Peroksit kullanılır. Sonuçlar µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eqiv./L olarak ifade edilir.

**Prensip:** örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferik iyonla oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenele orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir.

### **3.1.3. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü (OSİ)**

Örneklerin oksidatif stres indeksi (OSİ), örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeylerinin, örneklerin toplam antioksidan status (TAS) oranına yüzdesi olarak belirtilir (74). Hesaplamadan önce TAS testinin birimindeki mmol değeri TOS testindeki gibi mikromol birimine çevrilir. Sonuçlar Arbitrary Units olarak ifade edildi.

### **3.1.4. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu**

Bir ml histopaque-1077 üzerine bir ml taze heparinize kan yavaşça konup 2100 rpm ve 25°C'de 30 dakika santrifüj edildi. Orta tabakada biriken mononükleer lökositler pipet yardımıyla alınıp bir ml tuzlu fosfat tamponu (pH=7.4) ile karıştırıldıktan sonra 1600 rpm ve 25°C'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant atılıp pellet tuzlu fosfat tamponu (pH=7,4) ile  $10^6$  mononükleer lökosit olacak şekilde dilüe edildi.

### **3.1.5. Comet Assay (alkali mononükleer hücre elektroforezi) yöntemi ile DNA Hasar Tayini**

#### **3.1.5.1. Yöntemin Prensipleri**

Comet Assay yöntemi alkali pH'da farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüküne sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda farklı göç etmeleri esasına dayanmaktadır. Tek hücreler agarozta yerleştirilir ve lizisten sonra zarar görmemiş DNA'lar taşınma sırasında comet (kuyruk) oluşturmazlar. Oysa DNA fragmente olmuşsa fragmentler (nükleik asitler) farklı moleküler ağırlıklara ve farklı elektrik yüklerine sahip olacaklarından elektriksel alanda farklı hızlarda hareket ederek kuyruk şeklinde bir görüntü oluştururlar (75-79).

#### **3.1.5.2. Yönteminin Uygulanışı**

##### **3.1.5.2.1. Slaytların Hazırlanması**

NMP agaroz jel % 1,0 'lik olarak hazırlandı ve 80<sup>ml</sup> jel kenarları buzlanmış lam üzerine damlatıldı ve üzeri lamel ile kapatılarak buzdolabında (2-4 °C) 5 dakika bekletildikten sonra lamelleri kaldırıldı. Hazırlanan lameller nemli kutularda bekletildi. PBS (Fosfat buffered saline) ile mm<sup>3</sup>'te  $10^4$  hücre olacak şekilde dilüe edilmiş mononükleer hücrelerden 10 jil alınarak 80 jil %0,5'lik Low Melting Point (LMP) agaroz jel (37°C) ile karıştırılarak birinci tabaka üzerine tabakalandırıldı ve tekrar lamel ile kapatılarak buzdolabında donması için 5 dakika bekletildi. Üçüncü aşamada ise aynı konsantrasyonda LMP agaroz jel hazırlanarak

ikinci tabakanın üzerine ince bir tabaka halinde tabakalandırılarak slayt hazırlanması tamamlandı (75-79).

### **3.1.5.2.2. Lizis aşaması**

Agaroz jel kuruduktan sonra slaytlar yaklaşık bir saat süre ile yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren soğuk lizis solüsyonunda bekletildi. Lizis solüsyonunun içeriği 100 mM EDTA, 2,5 M Sodyum klorid, 10 mM Trizma base ve %1 oranında Triton X-100'den oluşmaktadır. Bu solüsyonun pH 'sı 10'a ayarlandı. Lizis tamponu ile hücre ve çekirdek zarı lizise uğratıldı (75-79).

### **3.1.5.2.3. Elektforez Tamponu**

Elektroforezde yürütmeden önce DNA zincirlerinin ayrılması için slaytlar alkali elektroforez tamponunda 20-30 dakika inkübasyona bırakıldı. Alkali çözeltisi 1mM EDTA ve 300 mM sodyum hidroksit içermektedir (pH <13) (63-67).

### **3.1.5.2.4. Elektroforezde Yürütme**

Alkali elektroforez tamponunda inkübasyon tamamlandıktan sonra DNA'lar bu tampon çözeltisi içerisinde 300 mA, 14 volt'luk elektriksel alanda ve 5-25 °C'de 30 dakika yürütüldü (75-81).

### **3.1.5.2.5. Nötralizasyon**

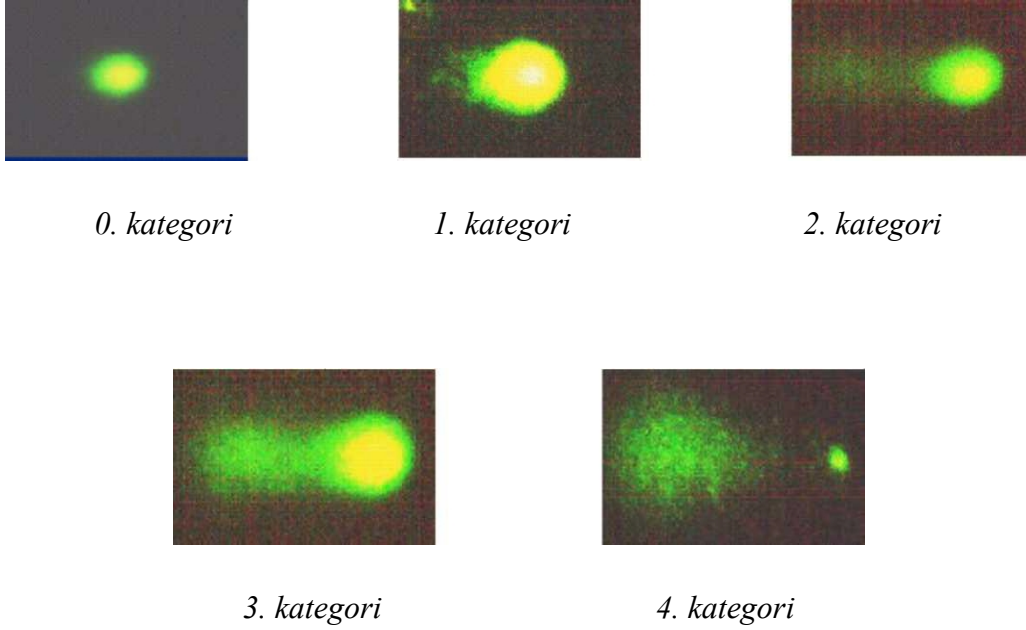
Elektroforezde yürütme işlemi tamamlandıktan sonra alkali tampon çözeltisini ortamdan uzaklaştırmak için slaytlar 3 dk süre ile 3 kez nötralizasyon tamponu ile (0.4 M Tris-HCL, pH 7.5) yıkandı (75-81).

### **3.1.5.2.6. Boyama**

Nötralizasyon tamamlandıktan sonra boyama yapılarak cometler sayılır veya jel oda sıcaklığında kurutulularak slaytlar nemli ortamda en fazla bir hafta depolanabilir. Boyama işlemi için floresan boya olan etidyum bromit boyası (5 µg/ml) kullanıldı. Her bir slayt için 80 µL boya slayt üzerine damlatıldıktan sonra lamel ile üzeri kapatılarak 20 büyütmeli floresan mikroskop ile (Eksitasyon DB: 546 nm, Emisyon DB: 580 nm) 50 adet DNA görüntüsü değerlendirildi.

### 3.1.5.2.7. Analiz

Bu yöntemde DNA migrasyonunu vizüel olarak değerlendirildi. Oluşan hasarın derecesine göre DNA'lar beş kategoride değerlendirildi. Şekilde de görüldüğü gibi, hiç hasar bulunmayan DNA'lar 0, maksimum hasar olan DNA'lar 5 kategoride değerlendirildi.



**Şekil 11.** DNA hasarları sonucu meydana gelen hasarların elektroforez migrasyonu sonrası DNA'ların floresan mikroskop altındaki görüntüleri

Migrasyonun uzunluğu fragmentlerin miktarına, DNA zincir kırılmalarına ve alkali labil bölgelerin seviyelerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (75-81).

### 3.2. Yapılan İstatistiksel Analizler

SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, version 11.5 for Windows, SPSS® Inc, Chicago, IL) istatistik analizi programı kullanıldı. *One-sample Kolmogorov-Smirnov* test ile parametrelerin dağılımlarına bakıldı ve dağılımın iyi olduğu görüldü. Sonuçlar Mean  $\pm$  standart sapma (SD) olarak verildi. Gruplar arasındaki parametrelerin karşılaştırılmasında **Independent Samples t test and Chi-Square Test** kullanıldı. Parametrelerin arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için ise **sperman korelasyon** analizi yapıldı. P değeri 0.05 den küçük olanlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen NSVD grubunda % 50'si (n=18) erkek , % 50'si (n=18) kız iken, C/S grubunda % 47,2'si erkek (n=17), % 52,8'i kız ( n=19) idi. NSVD grubunun ortalama kilo değerleri  $3243,3 \pm 160,7$  gram iken C/S grubunun ortalama kilo değerleri  $3316,7 \pm 157,9$  gram olarak bulundu. Bu iki grup cinsiyet ve doğum ağırlığı açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak arada anlamlı fark bulunmadı ( $p>0,05$ , Tablo 2).

NSVD grubunda bebeklerin ortalama boylar  $49,7 \pm 1,2$  cm olup C/S ile doğan bebeklerin ortalama boyları  $49,9 \pm 1,1$ cm olarak ölçüldü. Bu iki grubun boylarının karşılaştırılmasında istatistiksel anlamlılık bulunmadı ( $p>0,05$ , Tablo 2).

Baş çevresi değerleri oranı NSVD grubundaki bebeklerin ortalama baş çevresi  $35,5 \pm 0,4$  cm iken C/S grubundaki bebeklerin  $35,4 \pm 0,4$  cm olup iki grubun baş çevrelerinin karşılaştırılmasında istatistiksel anlamlılık bulunmadı ( $p>0,05$ , Tablo 2) .

NSVD grubundaki bebeklerin ortalama doğum haftası  $38,3 \pm 0,9$  iken C/S grubundaki bebeklerin ortalama doğum haftası  $38,1 \pm 0,4$  olarak bulundu. Bu iki grubun karşılaştırılmasında istatistiksel anlamlılık bulunmadı ( $p>0,05$ , Tablo 2).

NSVD grubundaki bebeklerin annelerinin yaşı ortalaması  $24,8 \pm 2,7$  yıl iken C/S grubundaki bebeklerinin annelerin ortalama yaşı  $25,3 \pm 2,7$  yıl olup iki grubun anne yaşı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0,05$ , Tablo 2).

NSVD grubundaki annelerin ortalama gebelik sayısı  $2 \pm 0,7$  iken, C/S grubundaki annelerin ortalama gebelik sayısı  $2 \pm 0,6$  idi. Annelerin gebelik sayıları açısından karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılık bulunmadı ( $p>0,05$ , Tablo 2).



**Tablo 2.** NSVD ve C/S grubundaki demografik veriler

Parametreler	NSVD	C/S	<i>p</i>
	n=36	n=36	
Bebek Cinsiyet (Kız/Erkek)	18/18	19/17	>0,05
Gestasyon haftası (hafta)	38,3 ± 0,9	38,1 ± 0,4	>0,05
Bebek Boy (cm)	49,7 ± 1,2	49,9 ± 1,1	>0,05
Bebek Kilo (Gram)	3243,3 ± 160,7	3316,7 ± 157,9	>0,05
Anne yaşı (yıl)	24,8 ± 2,7	25,3 ± 2,7	>0,05
Baş çevresi (cm)	35,5 ± 0,5	35,4 ± 0,4	>0,05
Annenin gebelik sayısı	2 ± 0,7	2 ± 0,6	>0,05

\* Değerler ortalama ± SS olarak verilmiştir.

NSVD ile dünyaya gelen gruptaki bebeklerin ortalama DNA hasarı  $5,9 \pm 5$  Arbitrary Unit iken C/S ile doğan gruptaki bebeklerin ortalama DNA hasarı  $1,11 \pm 1$  Arbitrary Unit olarak bulundu. Bu iki grubun DNA hasarı açısından karşılaştırıldığında NSVD ile doğan bebeklerin ortalama DNA hasarı C/S ile doğan bebeklere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p < 0,001$ , Tablo 3).

NSVD ile dünyaya gelen gruptaki bebeklerin ortalama TAS değerleri  $1,2 \pm 1,2$  mmol Trolox Eqv./L iken C/S ile doğan gruptaki bebeklerin ortalama  $1,15 \pm 1,14$  mmol Trolox Eqv./L olarak bulundu. Bu iki grubun karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel anlamlılık bulunmadı ( $p = 0,124$ , Tablo 3).

NSVD ile dünyaya gelen gruptaki bebeklerin ortalama TOS değerleri  $40,5 \pm 35,5$   $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Eqv./L iken C/S ile doğan gruptaki bebeklerin ortalama  $28,2 \pm 26,7$   $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Eqv./L bulundu. Bu iki grubun TOS değerleri açısından karşılaştırıldığında NSVY ile doğan bebeklerin ortalama TOS değerleri C/S ile doğan bebeklere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p=0,001$ , Tablo 3).

NSVD ile dünyaya gelen gruptaki bebeklerin ortalama OSI değerleri  $3,3 \pm 3,2$  Arbitrary Unit iken C/S ile doğan gruptaki bebeklerin ortalama  $2,5 \pm 2,3$  Arbitrary Unit bulundu. Bu iki grubun TOS değerleri açısından karşılaştırıldığında NSVY ile doğan bebeklerin ortalama OSI değerleri C/S ile doğan bebeklere göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p=0,003$ , Tablo 3).

**Tablo 3.** DNA Hasarı, TAS, TOS, OSI'nin gruplar arası ortalama değerleri

	NSVD vakaları(n=36)*	C/S vakaları (n:36) *	<i>p</i>
DNA hasarı(Arbitrary Unit)	$5,9 \pm 5$	$1,11 \pm 1$	$<0,001$
TOS ( $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqv./L)	$40,5 \pm 35,5,$	$28,2 \pm 26,7$	$0,001$
TAS (mmol Trolox Eqv./L)	$1,2 \pm 1,2$	$1,15 \pm 1,14$	$0,124$
OSI (Arbitrary Unit)	$3,3 \pm 3,2$	$2,5 \pm 2,3$	$0,003$

\* Değerler ortalama  $\pm$  SS olarak verilmiştir.

Çalışmamızda NSVD ile doğan bebeklerin DNA hasarıyla TAS, TOS, OSI arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı. Gruplar arası korelasyon değerleri tablo 4'te belirtilmiştir.

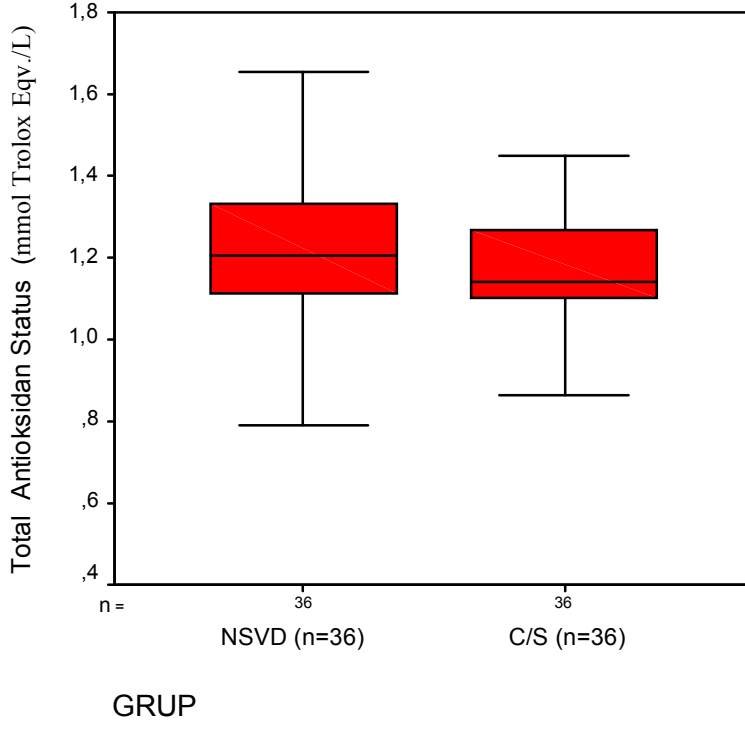
**Tablo 4.** NSVD grubunda DNA hasarıyla TAS, TOS, OSİ'nin korelasyon değerleri

NSVD		DNA Hasarı	TAS	TOS	OSİ
DNA	r	---	-0,18	-0,1	0,062
hasarı	p	---	0,310	0,597	0,745

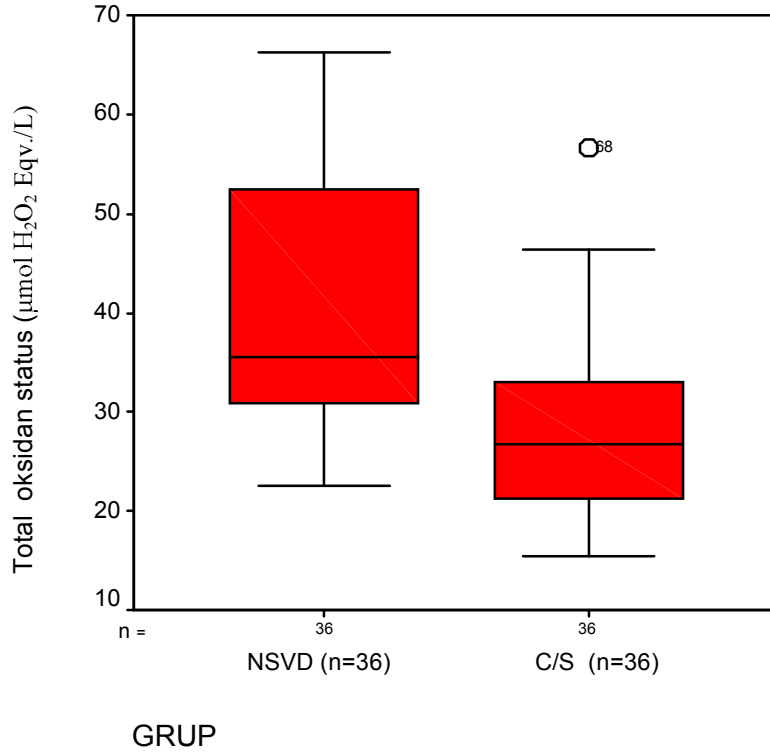
Yine C/S ile doğan bebeklerin DNA hasarıyla TAS, TOS, OSİ arasındaki korelasyon incelendiğinde herhangi bir ilişki görülmemiştir. Gruplar arası korelasyon değerleri tablo 5'de belirtilmiştir.

**Tablo 5.** C/S grubunda DNA hasarıyla TAS, TOS, OSİ'nin korelasyon değerleri

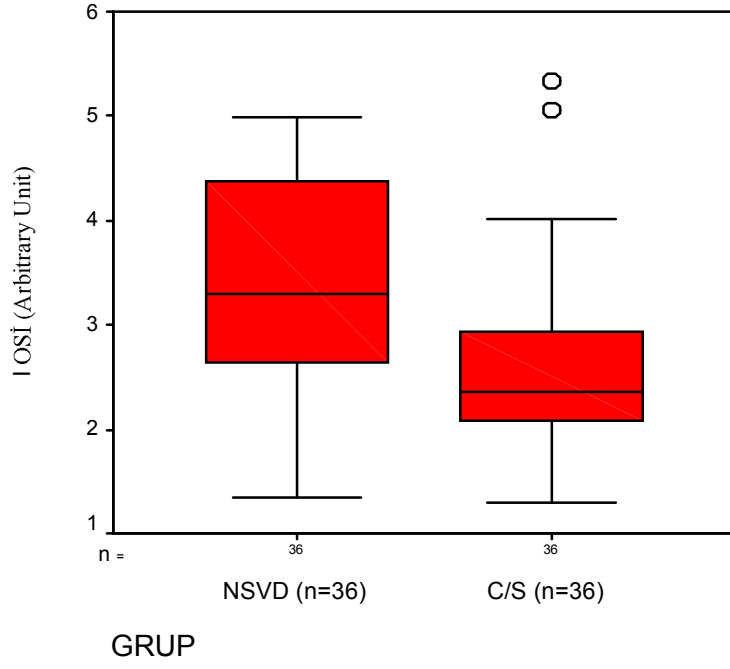
C/S		DNA Hasarı	TAS	TOS	OSİ
DNA	r	---	-0,107	-0,112	-0,002
hasarı	p	---	0,535	0,536	0,992



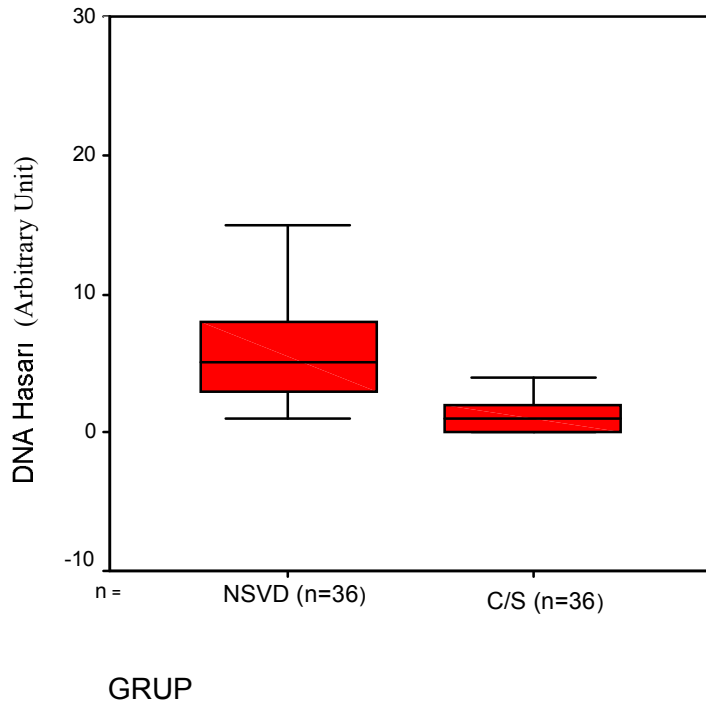
Şekil 12. Gruplara göre TAS dağılımı



Şekil 13. Gruplara göre TOS dağılımı



Şekil 14. Gruplara göre OSI dağılımı



Şekil 15. Gruplara göre DNA Hasarı dağılımı

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Amerikan Kadın Doğumcular Birliği (ACOG) deklarasyonunda; eğer doktor hastanın genel iyilik hali açısından daha iyi olacağını düşünürse isteğe bağlı sezaryen doğumu yaptırmasının etik açıdan doğru olacağını bildirmiştir. Buna karşılık Uluslararası Kadın Doğum Birliği (FIGO) bildirgesi ise medikal endikasyon olmaksızın sadece hastanın isteği üzerine sezaryen doğum yaptırmanın gösterilmiş faydası olmadığından etik açıdan doğru olmadığını bildirmiştir (82). Ülkemizde isteğe bağlı sezaryen yasal olarak mümkün olmayıp hekimin tibben gerekli gördüğü durumda elektif sezaryen yapılmaktadır.

Literatür tarandığında sezaryen doğumların tercihinde belirgin bölgesel farklılıklar göze çarpmaktadır (83-86). İngiltere ve Kuzey İrlanda da elektif sezaryen oranı % 7 olarak bildirilmiştir(87). Latin Amerika ülkelerinde bu oran daha yüksek olup örneğin Şili'de elektif sezaryen oranı % 40 olduğu görülmüştür (88). Bir başka çalışmada Brezilyada elektif sezaryen oranı % 36 ve özel hastanelerde ki sezaryen oranı %80-90 olarak bildirilmiştir (89). 2008 yılında yapılan Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırmasına (TNSA) göre doğum şekli ülkemizdeki tüm bölgeler baz alındığında 20-34 yaş arasındaki kadınlarda %36,7 oranında sezaryen olup 2013 yılı itibariyle oran, % 36,4 olarak açıklanmıştır (84). 2013 yılındaki çalışmada 20-34 yaş arasındaki kadınlarda bölgesel olarak doğum şeklini incelediğimizde sezaryen doğum oranı Batı Marmarada % 54,7'iken Güneydoğu Anadolu'da % 14,4' dür (84). Yine kırsal bölgelerde aynı yaş grubunda sezaryen oranı % 24,3 olup kentsel yerleşim bölgesinde % 41,7 dir (84). Görüldüğü gibi doğum şekli tercihinde bölgeler arasında belirgin farklar vardır. Irk, etnik köken, kültür farkları, ülkelerin sağlık politikaları gibi sebepler bu farklılığın sebepleridir.

Serbest oksijen radikallerinin (SOR), doku hasarı ve değişik hastalıkların etyopatogenezindeki rolü, son yıllarda tıpta giderek artan ilgi alanı oluşturmaktadır (90). Serbest radikaller biyolojik sistemlerde sürekli olarak üretilmekte olup vücutta lipid, protein ya da DNA oksidasyonu gibi etkiler yapabilirler (91-99).

Pakistan'da yapılan bir çalışmada; gebe kadınlarla gebe olmayan kadınların karşılaştırılmasında gebe kadınlarda serum TOS'de önemli bir artış olduğunu bulmuştur. Oksidatif stres gebe olan kadınlarda gebe olmayan kadınlara göre % 40 oranında artış bulunmuştur (100). Abuhandan M. ve ark. (101) yaptığı başka bir çalışmada ileri yaşlı ve genç annelerin TOS ve OSİ değerlerinin karşılaştırılmasında ileri yaşlı annelerin, genç

annelere göre TOS ve OSI değerlerinde anlamlı artış bulunmuş ve bu durum ileri yaşlı annelerde; yaşlanmaya bağlı oksidatif durumun artması, daha fazla çevresel faktörlere, metabolik toksinlere maruz kalma, doğum sayısının fazla olması gibi nedenlere bağlı olabileceği düşünölmüştür. Bizim alışmamızda ise NSVD ve C/S doğum şekli karşılaştırmasında TOS ve OSI; C/S grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Buna sebep olarak da doğum eyleminin oluşturduğu stresten kaynaklanabileceği düşünölmüştür. Bildiğimiz kadarıyla sadece doğum şeklinin oksidatif stres üzerine olan etkisini inceleyen ilk çalışmadır.

Vlachos GD. ve ark. (102) yaptığı bir çalışmada sezaryen doğumlarda doğum öncesi annelerden ve doğum sonrası kordondan alınan serum örneklerinde TAS normal olarak bulunmuş olup bu durumun antioksidan yanıt gelişebilmesi için doğum olayının kısa olmasına ve/veya sezaryen doğumda iskelet ve uterus kaslarının katılımının olmamasıyla ilgili olabileceği düşünölmüştür. Georgeson GD. ve ark. (103) Macaristandan yaptığı bir çalışmada NSVD ve elektif C/S ile doğan term ve prematür yenidoğanları karşılaştırdıkları bir çalışmada doğum şekliyle TAS arasında anlamlı fark olmayıp prematür bebeklerde her iki doğum şeklinde de TAS düzeyi anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bizim alışmamızda da NSVD ve C/S ile doğan bebeklerin TAS seviyeleri karşılaştırıldığında arada anlamlı bir fark bulunamamış olup bunun uterus kaslarının olaya katılmamasıyla birlikte oksidatif sürece karşı anlamlı antoksidan yanıt oluşabilmesi için doğum eyleminin kısa oluşundan kaynaklanabileceği düşünölmüştür.

Aerobik organizmaların, mutasyonlardan korunabilmeleri ve yaşamlarını devam ettirebilmeleri için DNA onarım enzimlerinin doğru fonksiyon yapmaları mutlaka gereklidir. Düşük düzeylerde oksidatif DNA hasarı minimal hata riski ile etkin bir şekilde onarılabilir ancak DNA onarım enzimleri ve DNA polimeraz'ın oksidatif stres altında hasarlanmaları doğru replikasyon ve transkripsiyon olasılığını azaltmaktadır. Onarım tamamlanıncaya kadar, hücreler bölünmelerini genellikle durdurarak kendilerini korumaktadırlar. DNA'daki oksidatif hasar yaşam ile bağdaşmayan yüksek düzeylere ulaştığında hücre ölümlü (apoptoz) veya genotoksik hasarlar gerçekleşmektedir (104-109).

Sağlıklı insanlarda; oksidatif ve antioksidatif denge korunduğu için oluşan DNA hasarı tamir edilirken, hamilelikte bu denge oksidatif stres lehine kolaylıkla kayabilir ve DNA hasarına sebep olabilir (110). Bu DNA hasarının muhtemel nedenleri arasında gebelikte

oksidatif stresin artmış olması (110,111), hormonal değişikliklerin olması (111), uterus ve içeriğinin kütleli olarak büyümesi sonucunda meydana gelen oksijen ihtiyacındaki artış (112,113), fetus ve anne tarafında oksijen kullanımının artması (28), lipid peroksidasyonun artmış olması (112,113), gebelik ortaya çıktıktan sonra kadınların önemli bir kısmında fiziksel aktivitelerinin kısıtlanmış olması (114,115), nutrisyonel ihtiyacın artmış olması (116), folat ve vitamin B12 ihtiyacının artması (117,118) gibi nedenlere bağlı gelişmiş olabilir. Abuhandan M. ve ark. (101) yaptığı bir çalışmada ileri yaşı ve genç annelerin bebeklerinde DNA hasarı değerlerinin karşılaştırılmasında ileri yaşı annelerin bebeklerinin, genç annelerin bebeklerine göre DNA hasarı değerlerinde anlamlı artış bulunmuş ve bu durum ileri yaşı annelerde; yaşlanmaya bağlı oksidatif durumun artması, daha fazla çevresel faktörlere, metabolik toksinlere maruz kalma, doğum sayısının fazla olması gibi nedenlere bağlı olabileceği düşünülmüştür. Bizim çalışmamızda NSVD ve C/S doğum şekli karşılaştırılmasında DNA hasarı, NSVD grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur.

Sonuç olarak bizim bu çalışmamız literatürde DNA hasarı ve oksidatif durumu doğum şekline göre birlikte inceleyen ilk çalışmadır. Bizim çalışmamızda da DNA hasarı NSVD grubunda C/S grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuş olup bununla birlikte TOS ve OSİ seviyeleri de NSVD grubunda anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda DNA hasarı, OSİ, TOS değerleri NSVD grubunda C/S grubuna göre ileri düzeyde anlamlı olarak daha yüksek bulunması doğumun doğal sürecinde meydana gelen oksidatif stresin artmasına bağlı olarak oluştuğu düşünülebilir. Bununla birlikte TAS seviyeleri arasındaki farkın anlamlı olmayışı numunelerin doğum sonrası 4. saatte alınıp yeterli antioksidan cevap oluşmasına zaman olmadığından olduğu düşünülebilir. Bu DNA hasarının çocuklarda ileride ne gibi sonuçlara yol açabileceği ve ne seviyede seyredeceğini görmek için daha geniş kapsamlı ve uzun süre takipli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



## 6. SONUÇLAR

1. Bildiğimiz kadarıyla doğum şeklinin oksidatif stres ve buna bağlı oluşabilecek DNA hasarının üzerine etkisini birlikte inceleyen ilk çalışmadır.

2. Miadında NSVD ve C/S'la doğan sağlıklı bebekler çalışmaya dahil edilmiştir.

3. NSVD ve C/S grubundaki bebekler; anne yaşı, baş çevresi, anne gebelik sayısı, cinsiyet, gestasyon haftası, boy, baş çevresi, doğum ağırlığı açısından kıyaslandığında istatistiksel olarak arada anlamlı bir fark bulunmamıştır.

4. NSVD grubunda C/S grubuna göre DNA hasarı düzeyi istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Buna sebep olarak da doğum sürecinde meydana gelen oksidatif stresin üzerinde durulmuştur.

5. TOS düzeyi NSVD grubunda C/S grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek bulunmuştur.

6. TAS düzeyi NSVD ve C/S grubunda kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bunun nedeni olarak da uterus kaslarının doğum olayına katılmasıyla birlikte oksidatif sürece karşı anlamlı antioksidan yanıt oluşabilmesi için doğum eyleminin kısa oluşundan kaynaklanabileceği düşünülmüştür. OSİ düzeyi NSVD grubunda C/S grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek bulunmuştur.

7. Çalışmamızda DNA hasarı, OSİ, TOS değerleri NSVD grubunda C/S grubuna göre ileri düzeyde anlamlı olarak daha yüksek bulunması doğumun doğal sürecinde meydana gelen oksidatif stresin artmasına bağlı olarak oluştuğu düşünülebilir. Bununla birlikte TAS seviyeleri arasındaki farkın anlamlı olmayışı numunelerin doğum sonrası 4. saatte alınıp yeterli antioksidan cevap oluşmasına zaman olmadığından olduğu düşünülebilir.

8. DNA hasarının çocuklarda ileride ne gibi sonuçlara yol açabileceği ve ne seviyede seyredeceğini görmek için daha geniş kapsamlı ve uzun süre takipli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## **KAYNAKLAR**

- 1.** Kruszewski M, Green MH, Lowe JE, Szumiel I. DNA strand breakage, cytotoxicity and mutagenicity of hydrogen peroxide treatment at 4 °C and 37°C in L5178Y sublines. 1994; 16; (308) 233-41
- 2.** Collins AR. Investigating oxidative DNA damage and its repair using the comet assay. *Mutat Res.* 2009; 681: 24-32.
- 3.** Fleck O, Nielsen O. DNA repair. *J Cell Sci.* 2004; 117: 515-7.
- 4.** Sideris EG, Papageorgiou GC, Charalampous SC, Vitsa EM. A spectrum response study on single strand DNA breaks, sister chromatid exchanges, and lethality induced by phototherapy lights. *Pediatr Res.* 1981; 15: 1019-23.
- 5.** Betti C, Davini T, Giannessi L, Loprieno N, Barale R. Comparative studies by comet test and SCE analysis in human lymphocytes from 200 healthy subjects. *Mutat Res.* 1995; 343: 201-7.
- 6.** Rossner P, Boffetta P, Ceppi M, Bonassi S, Smerhovsky Z, Landa K, Juzova D, Srám RJ. Chromosomal aberrations in lymphocytes of healthy subjects and risk of cancer. *Environ Health Perspect.* 2005; 113: 517-20.
- 7.** Kocyigit A, Keleş H, Selek S, et al. Increased DNA damage and oxidative stress in patients with cutaneous leishmaniasis. *J. Mutation Res.* 2005; 124: 47-59.
- 8.** Singh NP, Danner DB, Tice RR, et.al. DNA damage and repair with age in individual human lymphocytes. *J. Mutat Res.* 1990; 237: 123-30
- 9.** Schwartz J, Weiss ST. Host and environmental factors influencing the peripheral blood leukocyte count. *Am. J. Epidemiol.* 1991; 134: 1402-09.
- 10.** Aktips S. DNA: The replicative process and repair. *Textbook of Biochemistry.* 3rd ed. T.M. Devlin. New York. 1992:607-80
- 11.** Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med.* 1987; 107: 526-45.

12. Notzon FC, Cnattingius S, Bergsjö P, Cole S, Taffel S, Irgens L, Daltveit AK: Cesarean section delivery in the 1980s: International comparison by indication. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 170: 495.
13. Çiçek MN, Akyürek C, Çetin Ç, Haberal A: Normal doğum: Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. 2006; 217- 37
14. Lilford RJ, van Coeverden de Groot HA, Moore PJ, Bingham P. The relative risks of caesarean section (intrapartum and elective) and vaginal delivery: a detailed analysis to exclude the effects of medical disorders and other acute pre-existing physiological disturbances. *Br J Obstet Gynaecol*. 1990; 97: 883-92.
15. Perlow JH, Morgan MA. Massive maternal obesity and perioperative cesarean morbidity. *Am J Obstet Gynecol*. 1994; 170: 560-5.
16. Wu JM, Hundley AF, Visco AG. Elective primary cesarean delivery: attitudes of urogynecology and maternal-fetal medicine specialists. *Obstet Gynecol*. 2005; 105: 301-6.
17. Adashek JA, Peaceman AM, Lopez-Zeno JA, Minogue JP, Socol ML. Factors contributing to the increased cesarean birth rate in older parturient women. *Am J Obstet Gynecol*. 1993; 169: 936-40.
18. Peipert JF, Bracken MB. Maternal age: an independent risk factor for cesarean delivery. *Obstet Gynecol*. 1993; 81: 200-5.
19. Isaacs JD, Magann EF, Martin RW, Chauhan SP, Morrison JC. Obstetric challenges of massive obesity complicating pregnancy. *J Perinatol*. 1994; 14: 10-4.
20. Perlow JH, Morgan MA: Massive maternal obesity and perioperative cesarean morbidity. *Am J Obstet Gynecol*. 1994; 170: 560-5.
21. Habiba M, Kaminski M, Da Fre M, Marsaal K, Bleker O, Librero J, Grandjean H, Gratia P, Guaschino S, Heyl W, Taylor D, Cuttini M: Cesarean section on request: a comparison of obstetricians attitudes in eight european countries. 2006; 113: 647-56.
22. Chigbu CO, Ezeome IV, Iloabachie GC. Cesarean section on request in a developing country. *Int J Gynaecol Obstet*. 2007; 96: 54-6.

- 23.** Miller DA, Chollet JA, Goodwin TM. Clinical risk factors for placenta previa-placenta accreta. *Am J Obstet Gynecol.* 1997; 177: 210-4.
- 24.** Seago DP, Roberts WE, Jhonson VK, Martin RW, Morrison JC, Martin JN: Planned cesarean hysterectomy: A Preferred alternative to separate operations. *Am J Obstet Gynecol* 1999; 180: 1385-93.
- 25.** Watson Jd, Crick Fh. Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature.* 1953; 171: 737-8.
- 26.** The Nobel Prize in Physiology or Medicine Nobelprize. org Accessed 1962; 22: 06-7.
- 27.** Altindag O, Karakoc M, Kocyigit A, Celik H, Soran N. Increased DNA damage and oxidative stres in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Biochem* 2007; 40: 167-71.
- 28.** Berg J., Tymoczko J. and Stryer L. (2002) *Biochemistry.* W. H. Freeman and Company ISBN 0-7167-4955-6.
- 29.** Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG et al. "The sequence of the human genome". *Science.* 2001; 297: 1304–51.
- 30.** Douki T, Reynaud-Angelin A, Cadet J, Sage E. Bipyrimidine photoproducts rather than oxidative lesions are the main type of DNA damage involved in the genotoxic effect of solar UVA radiation. *Biochemistry.* 2003; 42: 9221-6.
- 31.** Cadet J, Delatour T, Douki T, Gasparutto D, Pouget JP, Ravanat JL, Sauvaigo S. Hydroxyl radicals and DNA base damage. *Mutat Res.* 1999; 424: 9-21.
- 32.** Shigenaga MK, Gimeno CJ, Ames BN. Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage. *Proc Natl Acad Sci.* 1989; 86: 9697-701.
- 33.** Cathcart R, Schwiens E, Saul RL, Ames BN. Thymine glycol and thymidine glycol in human and rat urine: a possible assay for oxidative DNA damage. *Proc Natl Acad Sci.* 1984; 81: 5633-7.
- 34.** Valerie K, Povirk LF. Regulation and mechanisms of mammalian double-strand break repair. *Oncogene.* 2003; 22: 5792-812.

- 35.** Cartier Y, Kavanagh PV, Johkoh T, Mason AC, Müller NL. Bronchiectasis: accuracy of high-resolution CT in the differentiation of specific diseases. *AJR Am J Roentgenol.* 1999; 173: 47-52.
- 36.** Ababou M, Dutertre S, Lécluse Y, Onclercq R, Chatton B, Amor-Guélet M. ATM-dependent phosphorylation and accumulation of endogenous BLM protein in response to ionizing radiation. *Oncogene.* 2000; 19: 5955-63.
- 37.** Steenken S. Electron-transfer-induced acidity/basicity and reactivity changes of purine and pyrimidine bases. Consequences of redox processes for DNA base pairs. *Free Radic Res Commun.* 1992; 16: 349-79.
- 38.** Halliwell B, Dizdaroglu M. Free radicals and the oxidant/antioxidant balance J. *Free Radical Res.* 1992; 16: 75–87.
- 39.** Yanik M, Erel O, Kati M. The relationship between potency of oxidative stress and severity of depression. *Acta Neuropsychiatr.* 2004; 16: 200-3.
- 40.** Berliner JA, Heinecke JW. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic Biol Med.* 1996; 20: 707-27.
- 41.** Asami S, Manabe H, Miyake J, Tsurudome Y, Hirano T, Yamaguchi et al. Cigarette smoking induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis.* 1997; 9: 1763-6.
- 42.** Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr.* 1996; 16: 33-50.
- 43.** Kuppusamy UR, Dharmani M, Kanthimathi MS, Indran M. Antioxidant enzyme activities of human peripheral blood mononuclear cells exposed to trace elements. *Biol Trace Elem Res.* 2005; 106: 29-40.
- 44.** Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995; 41: 1819-28.
- 45.** Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993; 49: 481-93.
- 46.** Meister A. Glutathione, ascorbate, and cellular protection. *Cancer Res.* 1994; 54: 1969-75.

47. Southorn PA, Powis G. Free radicals in medicine. I. Chemical nature and biologic reactions. *Mayo Clin Proc.* 1988; 63: 381-9.
48. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp Dergisi.* 2002; 33: 110-8.
49. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993; 26: 351-7.
50. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. Oxidative Stress Study Group. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997; 156: 341-57.
51. Asad SF, Singh S, Ahmad A, Khan NU, Hadi SM. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. *Chem Biol Interact.* 2001; 137: 59-74.
52. Halliwell B. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo? *Free Radic Res.* 1996; 25: 439-54.
53. Johnson LJ, Meacham SL, Kruskall LJ. The antioxidants--vitamin C, vitamin E, selenium, and carotenoids. *J Agromedicine.* 2003; 9: 65-82.
54. Chaudière J, Ferrari-Iliou R. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol.* 1999; 37: 949-62.
55. Gutteridge JMC, Halliwell B. Antioxidants in nutrition, health and disease. 1st ed. New York. Oxford University Press. 1994; 1: 43-56
56. Buonocore G, Perrone S, Bracci R. Free radicals and brain damage in the newborn. *Biol Neonate.* 2001; 79: 180-6.
57. Buhimschi IA, Buhimschi CS, Pupkin M, Weiner CP. Beneficial impact of term labor: nonenzymatic antioxidant reserve in the human fetus. *Am J Obstet Gynecol.* 2003; 189: 181-8.
58. Scandalios JG. The rise of ROS. *Trends Biochem Sci.* 2002; 27: 483-6.
59. Makarov VG, Makarova M, Selezneva AI. Studying the mechanism of antioxidant effect of vitamins and flavonoids. *Vopr Pitan.* 2005; 74: 10-13.

- 60.** Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya; Mimoza yayınları, 1995; 42-45.
- 61.** Zhao J, Liu XJ, Ma JW, Zheng RL. DNA damage in healthy term neonate. *Early Hum Dev.* 2004; 77; 89-98.
- 62.** Fang YZ, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition.* 2002; 18; 872-9.
- 63.** Rose RC, Bode AM. Biology of free radical scavengers: an evaluation of ascorbate. *Faseb J.* 1993; 7; 1135-42.
- 64.** Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological Conditions *Faseb J.* 1999; 13; 1007-24.
- 65.** Suh J, Zhu BZ, Frei B. Ascorbate does not act as a pro-oxidant towards lipids and proteins in human plasma exposed to redox-active transition metal ions and hydrogen peroxide. *Free Radic Biol Med.* 2003; 34; 1306-14.
- 66.** Northrop-Clewes CA, Thurnham DI. Monitoring micronutrients in cigarette smokers. *Clin Chim Acta.* 2007; 377; 14-38.
- 67.** Chow CK. Vitamin C and cigarette smoke exposure. In: Packer L, Fuchs J, editors. *Vitamin C in health and disease.* New York: Marcel Dekker Inc. 1997; 413-24.
- 68.** Rüfer CE, Kulling SE. Antioxidant activity of isoflavones and their major metabolites using different in vitro assays. *J Agric Food Chem.* 2006; 54: 2926-31.
- 69.** Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoids. *J. Nutr.* 1989; 119; 109-11
- 70.** Polidori MC, Stahl W, Eichler O, Niestroj I, Sies H. Profiles of antioxidants in human plasma. *Free Radic Biol Med.* 2001; 30; 456-62.
- 71.** Serafini M, Del Rio D. Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the Total Antioxidant Capacity the right tool? *Redox Rep.* 2004; 9; 145-52.
- 72.** Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.* 2004; 37; 277-85.

- 73.** Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005; 38; 1103-11.
- 74.** Harma M, Harma M, Erel O. Oxidative stress in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 2005; 192; 656-7.
- 75.** Higami Y, Shimokawa I, Okimoto T, Ikeda T. Vulnerability to oxygen radicals is more important than impaired repair in hepatocytic deoxyribonucleic acid damage in aging. *Lab Invest.* 1994; 71: 650-6.
- 76.** Ostling O, Johanson KJ. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 123; 291-8.
- 77.** Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H, Dizdaroglu M. Mass spectrometric assays for the tandem lesion 8,5-cyclo-2-deoxyguanosine in mammalian DNA. *J. Biochemistry* 2002; 41; 73-88.
- 78.** Kaya M, Boleken ME, Memetoglu E, Celik H, Kanmaz T, Kocyigit A, Yucesan S. Evaluation of systemic oxidative status and mononuclear leukocytes DNA damage in children with caustic esophageal stricture. *Dis Esophagus.* 2006; 19: 280-4.
- 79.** Demirbag R, Yilmaz R, Gur M, Kocyigit A, Celik H, Guzel S et al. Lymphocyte DNA damage in patients with acute coronary syndrome and its relationship with severity of acute coronary syndrome *J. Mutation Research* 2005; 135; 22-35.
- 80.** Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem.* 2004; 37; 112-9.
- 81.** Bou R, Codony R, Tres A, Decker EA, Guardiola F. Determination of hydroperoxides in foods and biological samples by the ferrous oxidation-xylenol orange method: a review of the factors that influence the method's performance. *Anal Biochem.* 2008; 377: 1-15.
- 82.** American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Committee Opinion. Surgery and patient choice: the ethics of decision making. *Obstet Gynecol.* 2003; 102; 1101-6.



- 83.** Bettles BA, Coleman VH, Zinberg S, Spong CY, Portnoy B, DeVoto E, Schulkin J. Cesarean delivery on maternal request: obstetrician-gynecologists' knowledge, perception, and practice patterns. *Obstet Gynecol.* 2007; 109; 57-66.
- 84.** Yaşar Ö, Şahin FK, Coşar E, Köken GN, Cevrioğlu AS: Primipar Kadınların Doğum Tercihleri ve Etkileyen Faktörler. *J Gynecol Obstet* 2007; 17; 414-20
- 85.** Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması TNSA-2003-2013 <http://www.hips.hacettepe.edu.tr/tnsa>
- 86.** Chong ES, Mongelli M. Attitudes of Singapore women toward cesarean and vaginal deliveries. *Int J Gynaecol Obstet.* 2003; 80; 189-94.
- 87.** Penna L, Arulkumaran S. Cesarean section for non-medical reasons. *Int J Gynaecol Obstet.* 2003; 82; 399-409.
- 88.** Belizán JM, Althabe F, Barros FC, Alexander S. Rates and implications of caesarean sections in Latin America: ecological study. *BMJ.* 1999; 319; 1397-400.
- 89.** Hopkins K. Are Brazilian women really choosing to deliver by cesarean? *Soc Sci Med.* 2000; 51; 725-40.
- 90.** Horváth I, Donnelly LE, Kiss A, Kharitonov SA, Lim S, Chung KF, Barnes PJ. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 158; 1042-6.
- 91.** Vural H, Uzun K, Erel U. Antioxidant status and lipid peroxidation in asthma. *Solumum Hastalıkları* 1999; 10; 77-83.
- 92.** Minnet C. Çocukluk çağında B12 vitamin eksikliğinin oksidan antioksidan sistem ve DNA hasarı ile ilişkisi. Uzmanlık tezi, 2006: 1; 25-36
- 93.** Romay C, Pascual C, Lissi EA. The reaction between ABTS radical cation and antioxidants and its use to evaluate the antioxidant status of serum samples. *Braz J Med Biol Res.* 1996; 29; 175-83.
- 94.** Valko M, Morris H, Cronin MT. Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem.* 2005; 12: 1161-208.

- 95.** Yumru E, Davas I, Baksu B, Altıntaş A, Altın A, Mert M. 1995–1999 Yılları Arasında Sezaryen Operasyonları Endikasyonları ve Oranları. *Perinatoloji Dergisi* 2000; 8; 94–8.
- 96.** Corrocher R, Casaril M, Bellisola G, Gabrielli GB, Nicoli N, Guidi GC, et al Severe impairment of antioxidant system in human hepatoma. *Cancer*. 1986; 58; 1658-62.
- 97.** Mantha SV, Prasad M, Kalra J, Prasad K. Antioxidant enzymes in hypercholesterolemia and effects of vitamin E in rabbits. *Atherosclerosis*. 1993; 10; 135-44.
- 98.** McCoy RN, Hill KE, Ayon MA, Stein JH, Burk RF. Oxidant stress following renal ischemia: changes in the glutathione redox ratio. *Kidney Int*. 1988; 33; 812-7.
- 99.** Shacter E. Protein oxidative damage. *Methods Enzymol*. 2000; 319; 428-36.
- 100.** Bukhari SA, Rajoka MI, Ibrahim Z, Jalal F, Rana SM, Nagra SA. Oxidative stress elevated DNA damage and homocysteine level in normal pregnant women in a segment of Pakistani population. *Mol Biol Rep*. 2011; 38; 2703–10.
- 101.** Abuhandan M, Çakmak A, Taksın A, Karakaya E, Koçyiğit A, Calık M. Genç ve ileri yaşlı gebelikler ile bu gebelerin bebeklerinde DNA hasarı, yaşın DNA hasarına etkisi ve oksidatif durum. 55. Milli pediatri kongresi, 12- 16 Ekim 2011, Antalya.
- 102.** Schulpis KH, Papakonstantinou ED, Vlachos GD, Vlachos DG, Antsaklis A, Papassotiropoulou I, et al. The effect of the mode of delivery on the maternal-neonatal carnitine blood levels and antioxidant status. *Clin Chem Lab Med*. 2008; 46; 680-6.
- 103.** Georgeson GD, Szony BJ, Streitman K, Varga IS, Kovacs L, Laszlo A. Antioxidant enzyme activities are decreased in preterm infants and in neonates born via caesarean section *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2002; 103; 136-9.
- 104.** Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press. Inc, London 1999; 3: 87-103
- 105.** Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Lett*. 1991; 281; 9-19.
- 106.** Winyard PG, Perrett D, Blake DR, Harris G, Chipman JK. Measurement of DNA oxidation products. *Anal Proceedings* 1990; 27; 224- 7.

- 107.** Li Y, Trush MA. Reactive oxygen-dependent DNA damage resulting from the oxidation of phenolic compounds by a copper-redox cycle mechanism. *Cancer Res.* 1994; 54; 1895-8.
- 108.** J.Cole, T.R. Skopek, international commission for protection against environmental mutagens and carcinogens. Working paper no.3. Somatic mutant frequency, mutation rates and mutational spectra in the human population in vivo. 1994; 304; 33-105
- 109.** Møller P. Genotoxicity of environmental agents assessed by the alkaline comet assay. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2005; 96: 1-42.
- 110.** Verit FF, Erel O, Sav M, et al. Oxidative stress is associated with clinical severity of nausea and vomiting of pregnancy. *AmJ Perinat* 2007; 24; 545 – 8.
- 111.** Casanueva E, Viteri, F.E.,. Iron and oxidative stress in pregnancy. *J. Nutr.* 2003; 133; 1700 – 8
- 112.** Myatt L, Cui XL. Oxidative stress in the placenta. *Histochem Cell Biol* 2004; 122; 369 – 82.
- 113.** Wang J, Mimuro S, Lahoud R, Trudinger B, Wang XL. Elevated levels of lipoprotein(a) in women with preeclampsia. *AmJ Obstet Gynecol* 1998; 178; 146 - 9.
- 114.** Melzer, K., Schutz, Y., Boulvain, M., Kayser, B. Physical activity and pregnancy: cardiovascular adaptations, recommendations and pregnancy outcomes. *Sports Med.* 2010; 40; 493 – 507.
- 115.** Vladutiu CJ, Evenson KR, Marshall SW. Physical activity and injuries during pregnancy. *J. Phys. Act Health* 2010; 7; 761–9.
- 116.** Fenech M. Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nat. Protoc.* 2007; 2; 1084–104.
- 117.** Crott JW, Mashiyama ST, Ames BN, Fenech M. The effect of folic acid deficiency and MTHFR C677T polymorphism on chromosome damage in human lymphocytes in vitro. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2001; 10; 1089 – 96.
- 118.** Fenech M, Nutritional treatment of genome instability: a paradigm shift in disease prevention and in the setting of recommended dietary allowances. *Nutr. Res. Rev.* 2003; 16; 109–22.

