

Oksidatif DNA Hasarı ve Kromatografik Yöntemlerle Tespit Edilmesi

Enes ATMACA Abdurrahman AKSOY

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji-Toksikoloji AD, Samsun, Türkiye

Geliş tarihi: 16.04.2009

Kabul Tarihi: 16.07.2009

ÖZET

Serbest radikaller, hücresel metabolizma sırasında veya ekzojen ajanlarla meydana gelen kimyasal ürünlerdir. Bu ürünler hücrelerde DNA, protein, lipid, karbonhidratlar gibi biyomoleküllerle etkileşime girmekte ve sonuçta meydana gelen oksidatif DNA hasarı mutajenite, karsinojenite ve yaşlanmaya yol açmaktadır. Bu hasar mekanizması, karbon merkezli şeker radikallerinin ve OH- veya H- bağlanmış heterosiklik baz radikallerinin oluşumuna yol açan, serbest radikallerin ayrılma ve birleşme tepkimelerinden ibarettir. Bu radikallerin daha fazla tepkimeye girmesi ise çok sayıda hasarlı ürünün oluşmasına yol açar. Oksidatif DNA hasarının önemini ve mekanizmasını anlayabilmek için doğru ve kesin ölçümlerin yapılması gereklidir. Bu amaçla, geçmişten günümüze; immunokimyasal teknikler, kapillar elektroforez, tek hücre jel elektroforezi (Comet testi), alkalın elüsyon testi ve kromatografi gibi çeşitli analitik yöntemler kullanılmıştır. Bu yöntemlerden gaz kromatografi kütle spektrometresi (GC-MS) ve likit kromatografi kütle spektrometresi (LC-MS) çok sayıda hasarlı ürünün tanımlanması ve miktarının ölçülmesinde günümüzde yaygın olarak kullanılırlar. Hazırlanan bu derlemede oksidatif DNA hasarının oluşum mekanizması, hasara neden olan etmenler ve hasarın tespitinde kullanılan kromatografik yöntemler hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler

Oksidatif DNA Hasarı, 8-OHdG, GC-MS

Oxidative DNA Damage and its Chromatographic Determination

SUMMARY

Free radicals are produced in cells by cellular metabolism and exogenous agents. These specie reacts with biomolecules in cells, including DNA, proteins, lipids and carbohydrates. The resulting oxidative damage to DNA, is implicated in mutagenesis, carcinogenesis, and aging. Mechanism of damage involve abstractions and addition reactions by free radicals leading to carbon-centered sugar radicals and OH- or H- adduct radicals of heterocyclic bases. Further reactions of these radicals yield numerous products. To understand the importance and mechanism of DNA damage it is necessary to carry out accurate and precise measurements. For this purpose from past until today; different analytical techniques such as immunochemical techniques, capillary electrophoresis, single-cell gel electrophoresis (comet assay), alkaline elution assay and chromatographic techniques have been used. Techniques that employ gas chromatography (GC) and liquid chromatography (LC) with mass spectrometry (MS) measure numerous products, and provide identification and accurate quantification. This review evaluated mechanism of DNA damage, DNA-damaging factors and determination methods.

Key Words

Oxidative DNA damage, 8-OHdG, GC-MS

GİRİŞ

Serbest radikaller, vücutta metabolizma sırasında meydana gelen son derece etkin kimyasal ürünlerdir. Biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir ve bunlara **reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species, ROS)** adı verilmektedir (Gülbahar, 2007).

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar. Endojen etmenler organizmada normal olarak meydana gelen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları ile oluşurlar. Ekzojen kaynaklı etmenler arasında stres, virüsler, enfeksiyon, parakuat, alloksan gibi kimyasalların etkisi altında kalma, pestisidler, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler, sisplatin, nitrofurantoin, bleomisin,

doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar, hiperbarik oksijen, trisiklik antidepresanlar, demir, bakır, kadmiyum, nikel, krom, civa gibi metal iyonları, asbest lifleri, mineral tozlar, ozon, karbon monoksit, silika, aflatoksin B₁ ve PCB (poliklorlubifenil)'ler sayılabilir (Fraga ve ark., 1990; Halliwell, 2000; Williams ve Jeffrey, 2000; Ates ve ark., 2004; Burçak ve Andican, 2004; Siomek ve ark., 2006).

Vücutta doğal metabolik yollarla oluşan serbest radikaller normalde radikal parçalayan antioksidan sistemlerle ortadan kaldırılmaktadır. Ancak, çeşitli nedenlerle reaktif oksijen türlerinin artması ve antioksidan mekanizmaların yetersiz kalması sonucu **oksidatif stres** adı verilen bir dizi patolojik olay meydana gelmektedir. Oksidatif stresin, farklı mekanizmalar ile DNA üzerinde baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, abazik bölgeler, DNA-protein çapraz bağlanması gibi bir takım

lezyonlara neden olarak hasara yol açtığı bilinmektedir (Williams ve Jeffrey, 2000; Cooke ve ark., 2003).

Çeşitli nedenlere bağlı olarak çekirdek DNA'sının yanı sıra mitokondriyal DNA (mtDNA)'da da oksidatif hasar şekillendiği belirtilmektedir. Memeli hücrelerindeki önemli ROS kaynaklarından biri mitokondriyal elektron taşıma zinciridir (Hofmann ve ark., 2003). Çekirdek DNA'sının aksine mtDNA mitokondride serbest radikal oluşturan bölgelere çok yakın yerleşim gösterir ve histonlar tarafından korunmaz (Lim ve ark., 2005).

Çekirdek DNA'sına göre mitokondriyal DNA'da oksidatif baz hasarının fazla şekillenmesinin olası nedenleri, mtDNA'nın en önemli hücre içi ROS kaynağı olması, DNA hasarı onarım sisteminin çekirdek DNA'sına göre yetersiz olması ve yaşa bağlı olarak mtDNA'da mutasyonlarda artış görülmesi olarak bildirilmektedir (Lim ve ark., 2005). Ancak yapılan çalışmalarda mitokondrinin çekirdek DNA'sındaki endojen oksidatif hasar oluşumuna katkısının önemsiz düzeyde olduğu gösterilmiştir (Valavanidis ve ark., 2009).

Oksidatif DNA hasarı birçok yöntemle belirlenebilmektedir. Ancak bu tekniklerin çoğu ile yalnızca bir hasar ürünü ölçülebilmekte, bunun yanında kütle spektrometrik tekniklerle ise hem tanımlama hem de oluşan baz hasar ürünlerinin miktar tayini yapılabilmektedir (Dizdaroglu ve ark., 2002).

Oksidatif Strese Bağlı DNA Hasarının Oluşum Mekanizması

DNA Hasarı ve Nedenleri

Genetik materyalin moleküler bütünlüğünde endojen veya ekzojen faktörlerin etkisiyle meydana gelen tüm değişiklikler **DNA hasarı** olarak adlandırılır. Genomik DNA'nın bütünlüğü çevresel faktörlerin etkisiyle sürekli olarak tehdit altındadır. DNA replikasyonu ve DNA rekombinasyonu gibi hücresel olaylar sırasında da endojen olarak DNA'nın yapısında değişiklikler oluşabilir (Kulaksız ve Sancar, 2007).

DNA hasarı, hücrenin yaşamı boyunca yaygın olarak görülen ve mutasyon, kanser, yaşlanma ve sonuçta hücre ölümüne yol açabilen bir olaydır. DNA, yaşam boyunca hücresel metabolitler (ROS) ve ekzojen ajanlar tarafından sürekli olarak değişimlere maruz kalır. Bu değişimler sonuçta tek hücreli organizmalarda hücresel ölüme veya çok hücreli organizmalarda dejenerasyon ve yaşlanmaya sebep olabilir (Sancar ve ark., 2004; Rupp, 2006).

Reaktif oksijen türleri DNA'da 20'den fazla oksidatif baz hasar ürününün oluşmasına yol açar (Dizdaroglu, 1998). Bu hasara uğrayan bazlar arasında **8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)** oldukça duyarlı ve en sık karşılaşılan oksidatif DNA hasarı belirtecidir (De Martinis ve De Lourdes Pires Bianchi, 2002).

Veteriner hekimlikte antineoplastik olarak kullanılan sisplatinin reaktif oksijen türlerinin oluşumuna yol açtığı ve renal dokuda antioksidan enzim aktivitesini engellediği, gram negatif bakteriyel enfeksiyonlara karşı yaygın olarak kullanılan gentamisin'in ise renal dokularda antioksidan enzim düzeylerini etkilemediği veya azalttığı bildirilmiştir (De Martinis ve De Lourdes Pires Bianchi, 2001; Siomek ve ark., 2006). Antikarsinojenik olarak kullanılan tirapazaminin çift zincirli DNA'da pürin ve primidin rezidülerinin oluşumuna yol açarak önemli derecede DNA hasarı yaptığı, bir antrasiklin türevi olan doksorubisinin topoizomeraz II ve RNA polimeraz II enzimlerinin inhibisyonuna yol açıp, yanlış yazılım ve kopyalamaya neden olarak serbest oksijen radikalleri oluşturduğu

bildirilmiştir (Müller ve ark., 1997; Kotandeniya ve ark., 2002). Yine veteriner hekimlikte yaygın olarak kullanılan, penisilin türevi bir antibakteriyel olan amoksisilinin, 5 mM (milimolar) düzeyde hamster hücre kültürüne uygulandığı ve hücre içi reaktif oksijen türlerinin oluşumuna yol açarak ilk 1 saatte DNA hasarının en yüksek seviyeye ulaştığı ve 6 saatin sonunda bazal düzeye indiği bildirilmiştir (Li ve ark., 2007). Veteriner hekimlikte kliniklerde yaygın olarak kullanılan bir antibiyotik olan basitrasinin fare eritrolökemi (MEL hücre kültürü) hücrelerinde DNA hasarına yol açtığı gösterilmiştir (Foresti ve Migliore, 1993). Çevre sağlığı uygulamalarında, haşere mücadelesinde yaygın olarak kullanılan bazı pestisidlerin DNA hasarına yol açtığı, 18 pestisid uygulayıcısı ve 18 kişilik kontrol grubundan oluşan çalışmada, bazı organik fosforlu insektisitlere (fenitrotiyon, diklorvos, klorprifos ve diazinon) maruz kalan uygulayıcıların idrar 8-OHdG düzeylerinin kontrol grubundan çok yüksek düzeylerde saptandığı bildirilmiştir (Lee ve ark., 2007). Sıçanlara tek doz 400 mg/kg DEET (*N,N*-diethyl-*m*-toluamide), 1,3 mg/kg permetrin ve bunların kombinasyonu dermal yolla uygulandığında, permetrinin idrarda önemli düzeyde 8-OHdG artışına yol açmadığı, DEET ile kombinasyon halinde uygulandıklarında idrarda önemli düzeyde 8-OHdG artışı tespit edilmiştir (Abu-Qare ve Abou-Donia, 2000). Global pestisid kullanımının % 30'undan fazlasını oluşturan sentetik piretroid pestisitlerden Tip II piretroid pestisid olan sipermetrinin beyin, böbrek, karaciğer, dalak, kemik iliği ve lenfositlerde DNA hasarı yapıcı etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla sipermetrin erkek albino farelere 12,5, 25, 50, 100 ve 250 mg/kg/vücut ağırlığı dozlarında beş gün boyunca periton içi yolla uygulanmış ve tüm organlarda doza bağlı olarak DNA hasarında artışa yol açtığı bildirilmiştir (Patel ve ark., 2006). İtalya'da gıdalarda yaygın olarak bulunan 15 pestisid (ditiyokarbamat, benomil, prosimidon, metidatyon, klorprifos-etil, paratyon-metil, klorpropam, paratyon, vinklozolin, klorfenvinfos, primifos-etil, tiabendazol, fenarimol, difenilamin, klorotalonil) karışım halinde ve alt gruplara ayrılarak toplam 1 mg/kg/gün dozunda sıçanlara ağız yolu ile uygulanmış ve bunlardan difenilamin ve klorotalonilin doza bağlı olarak karaciğerde 8-OHdG düzeyinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Lodovici ve ark., 1997). Karbamat grubu pestisidlerden karbofuran ve dört metaboliti (karbofuranfenol, 3-ketokarbofuran, 3-hidrokarbofuran, nitrozokarbofuran) farelere 0,1, 0,2 ve 0,4 mg/kg dozlarında periton içi yolla iki enjeksiyon halinde uygulanmış ve periferik kan lenfositlerinde DNA hasarı yapıcı etkisi araştırılmıştır. Comet testi ile yapılan çalışma sonucunda 3-ketokarbofuranın önemli düzeyde DNA hasarına neden olduğu rapor edilmiştir (Pei ve ark., 2005). Sıçan karaciğer mikrozomlarında oluşan etilbenzen metabolitlerinin oksidatif DNA hasarına yol açtığı gösterilmiştir (Midorikawa ve ark., 2004). P450 redüktazla muamele edildiğinde serbest nitrozin ve nitrozin peptidlerinin bakıra dayalı DNA hasarına neden olduğu gösterilmiştir (Murata ve Kawanishi, 2004). Ferritin ve hemosiderinin hidroksil radikali oluşumuna iştirak ettiği, farmakolojik dozlarda uygulanan melatonin hormonunun DNA hasarına yol açtığı bildirilmiştir (Oteiza ve ark., 1995; Sakano ve ark., 2004).

8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) ve 8-hidroksiguanozin (8-OHGua)'in Oluşum Mekanizması

Guanin, DNA bileşenleri içerisinde en düşük iyonizasyon potansiyeline sahip olan ve oksidasyona en yatkın olan bazdır (McDorman ve ark., 2005). Modifiye bir baz olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin, reaktif oksijen türlerinin DNA'da yaptığı 20'den fazla oksidatif baz hasar ürününden

biri olup guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları sonucu oluşan, oksidatif DNA hasarının duyarlı bir göstergesidir. ROS'un DNA'da yaptığı bu baz hasar ürünlerinden en sık karşılaşılan ve mutajenitesi en iyi bilinen 8-OHdG'dir. Bu ürün, normal oksidatif metabolizma sırasında üretilen endojen ROS veya ekzojen kaynaklı ROS tarafından DNA'da şekillenen bir mutajendir. OH radikali, guaninin 4, 5 ve 8. pozisyonlarındaki karbon atomları ile reaksiyona girer ve DNA ürün radikallerini oluşturur. OH-radikalının C-8'e katılması ile oluşan katılma ürünü radikali (C8-OH) bir elektron ve proton kaybederek 8-OHGua'e okside olur (De Martinis ve De Lourdes Pires Bianchi, 2002; Yokuş ve Çakır, 2002). DNA replikasyonu sırasında G-C'den A-T'ye dönüşüme neden olarak mutasyona eğilimi artırır (McDorman ve ark., 2005). Bu nedenle 8-OHdG ölçümü, DNA'daki oksidatif hasarın doğrudan göstergesi olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarını belirlemede en sık kullanılan yöntem olarak uygulanmaktadır (Helbock ve ark., 1999).

Oksidatif Strese Bağlı DNA Hasarı Tespit Yöntemleri

Son 20 yılda hücre DNA'larında gerçekleşen oksidatif baz hasarını tanımlamak amacıyla çok sayıda kimyasal ve biyokimyasal testler geliştirilmiştir. Çeşitli DNA lezyonlarının ölçümünde birtakım analitik teknikler; immunokimyasal teknikler, kapiller elektroforez, tek hücre jel elektroforezi (Comet testi), ³²P post labeling ölçüm teknikleri, alkalın elusyon testi ve kromatografik teknikler (HPLC-ECD, GC-MS, LC-MS, LC-MS-MS) kullanılmaktadır. Genel olarak kütle spektrometrenin (MS) kullanılmadığı teknikler hasar sonucu şekillenen 20'den fazla lezyonlu DNA ürünleri arasında sadece birini (8-OHdG) ölçebilirler ve bu molekülün kimyasal yapısı ve iyon değerleriyle ilgili bilgiler sağlanamaz (Dizdaroglu ve ark., 2002).

Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografi - Elektrokimyasal Detektör (HPLC-ECD) kullanılarak kantitatif 8-OHdG analizi, oksidatif DNA hasarının tespitinde son derece duyarlı, seçici ve laboratuvarlarda en sık kullanılan yöntemdir. Bu teknik DNA'daki enzim hidrolizini takiben oluşan 8-OHGua ve 8-OHdG nükleozidlerini ölçer. Bu metod ile 8-OHdG 20 fmol (femtomol)'e kadar ölçülebilmektedir. Çalışmaların bu nükleozidlerin ölçümü üzerinde yoğunlaşmasının nedeni ise mutajenik özelliklerinin olduğunun bilinmesidir. Ölçümlerde yanlış bir sonuca gitmemek için sadece 8-OHdG değil bu iki ürünün miktarlarının birlikte değerlendirilmesi gerekmektedir (Dizdaroglu ve ark., 2002; Guetens ve ark., 2002; Shigenaga ve Ames 1991).

Serbest radikallerin neden olduğu DNA baz hasarları ölçümünde yaygın olarak kullanılan diğer bir kromatografik teknik GC-MS'tir. Şimdiye kadar kullanılan ölçümler içerisinde GC-MS, in vitro ya da hasara uğramış DNA'da ve doğrudan kromatinin kendisinde, dört bazda da oluşan hasar ürünlerinin belirlenmesine olanak sağlayan tek tekniktir (Yokuş ve Çakır, 2002). Ayrıca GC-MS, DNA onarım enzimlerinin eksizyon (kesip çıkarma) kinetiğini ve hücre DNA onarım düzeyini ölçmede kullanılabilir. GC-MS ile analizde öncelikle DNA, sağlam ve modifiye bazları elde etmek için asitle hidrolize edilmeli veya sağlam ve modifiye nükleozidler elde etmek için endo ve ekzonükleazlarla muamele edilmelidir. Asidik hidroliz yerine *Escherichia coli* Fpg proteini ve *Escherichia coli* Nth proteini gibi onarım enzimleri kullanılabilir. Hidroliz aşamasında bu DNA onarım enzimlerinin kullanılmasının avantajı ise asidik hidrolize nazaran ortama hiçbir sağlam bazın salınmamasıdır. Elde edilen hidrolizatlar trimetilsilil çözeltilisiyle türevlendirilip uçucu formlarına dönüştürülerek analizleri yapılır. GC-MS' in dezavantajı ise,

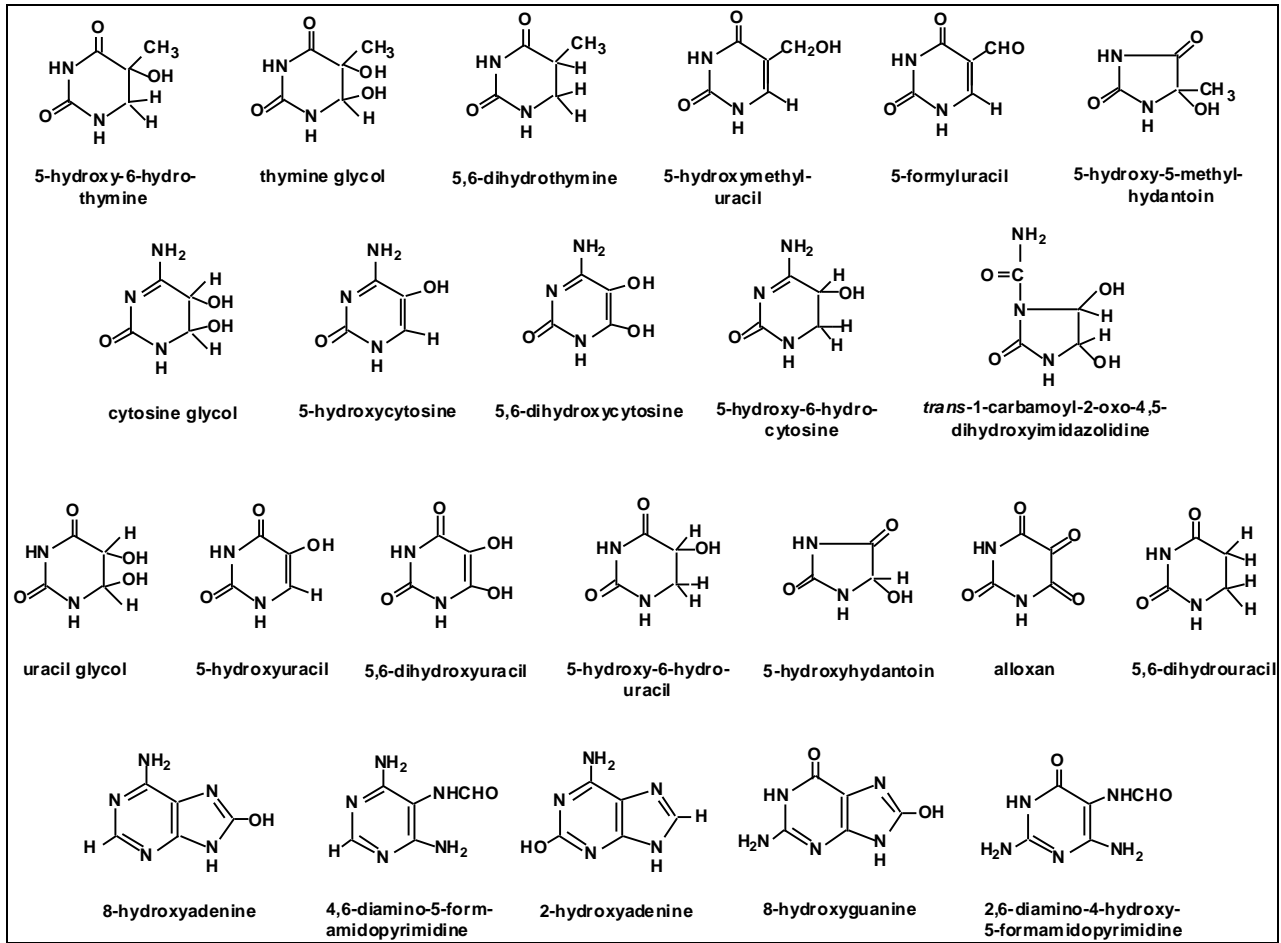
türevlendirme işlemi sırasında guaninin de aralarında bulunduğu bazlardan bir bölümünde yapay oksidasyonların oluşmasıdır. GC-MS ile SIM (selected-ion monitoring) modunda DNA hasar ürünlerinin düşük konsantrasyonlarını ölçmek mümkündür. GC-MS ile ölçülebilen modifiye baz yapıları Şekil 1'te gösterilmiştir. Bu teknik ile 5 fmol'dan daha düşük miktarlarda 8-OHdG düzeyi belirlenebilmektedir (Dizdaroglu ve ark., 2002).

GC-MS ve LC-MS ile 8-OHdG ölçümünün karşılaştırılmasında, GC-MS'in daha hassas olduğu belirtilmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda DNA ekstraksiyon şartlarının modifiye olmayan bazların yapay oksidasyonuna sebep olarak hatalı sonuçlara neden olabileceği gösterilmiştir. DNA ekstraksiyonu sırasında fenol kullanımının yapay oksidasyona neden olduğu, kontaminasyon durumunda ölçümde kullanılan DNA miktarının az olmasının hata yüzdesini arttırabileceği, DNA'nın enzimatik hidrolizinde inkubasyon süresinin ve enzim miktarının deoksinükleozid hidrolizini değiştirerek farklı sonuçlara neden olabileceği belirtilmiştir (Yokuş ve Çakır, 2002).

HPLC-ECD ile analiz sırasında ortaya çıkabilecek hataların en aza indirgenmesi, analizi yapan kişilerden kaynaklanan hataların tespit edilmesi ve laboratuvar sonuçları arasındaki farklılığın elimine edilmesi, herkes tarafından kabul edilen protokollerin hazırlanmasını gerektirmektedir. Bu amaçla ESCODD (European Standarts Committee for Oxidative DNA Damage) 8-OHdG ölçümlerine bir standardizasyon getirmeye çalışmış bu amaçla buzağı timus DNA'sı stok olarak kullanılmış ve bunu 8-OHdG seviyesinin belirlenmesi için farklı laboratuvarlara göndermiştir. Gelen sonuçların birbirlerinden oldukça farklı olduğu gözlemlenmiş ve bunun nedeninin farklı laboratuvarların ve farklı analiz tekniklerinin kullanılmış olması sonucuna varılmıştır. Standardizasyonla ilgili çalışan ESCULA (European Standarts Committee of Urinary DNA Lesion Analysis)'nın ise idrarda 8-OHdG ve kreatinin konsantrasyonu ölçümlerinde farklı metodları karşılaştırmak, idrardaki diğer lezyonlarla 8-OHdG düzeylerini karşılaştırmak ve böylece laboratuvarlar arası bir fikir birliği sağlamak gibi amaçları vardır (Collins, 2002).

SONUÇ

Serbest radikaller, özellikle de OH- radikali çeşitli mekanizmalarla DNA'da şeker ve baz modifikasyonları, zincir kırıkları, DNA-protein çapraz bağları gibi çok sayıda modifikasyon oluşturur. Meydana gelen tüm bu ürünlerin ölçümü güçlük arz eder. Bu amaçla avantajlarının yanında dezavantajları da bulunan birtakım analitik teknikler kullanılır. Henüz DNA hasarı ölçümü açısından özellikle 8-OHdG olmak üzere laboratuvarlar arasında bir fikir birliği oluşturulamamıştır. GC-MS, LC-MS, LC-MS-MS gibi kromatografik ve kütle spektrometrik yöntemlerin birlikte kullanılmasıyla sadece doğrulama ve kesin miktar tayini değil aynı zamanda çok sayıda hasar ürününün eş zamanlı ölçümleri yapılabilmektedir. Bu yöntemlerle DNA'daki modifiye baz düzeyleri 1 lezyon/10⁶ DNA bazı seviyesinde veya daha düşük seviyelerde ölçülebilmektedir. Bu yöntemin dezavantajı ise DNA izolasyonu sırasında varolan modifiye bazlara ilave olarak sağlam bazların da okside olmasıdır. Bu durumu önlemek amacıyla asidik hidrolizasyon yerine onarım enzimleri kullanılarak hidrolizasyon yapılabilir. Bununla birlikte uygun deneysel koşulların kullanılmasıyla çoğu artefaktların önüne geçilebilir. Ayrıca oksidatif DNA hasarı ölçümünde deneysel koşullar ve teknikler açısından laboratuvarlar arası bir fikir birliği sağlanması gerekmektedir.



Şekil 1. GC-MS ile ölçülebilen modifiye DNA baz yapıları (Dizdaroğlu 1994).

Figure 1. Structures of modified DNA bases that can be measured by GC-MS (Dizdaroğlu, 1994).

KAYNAKLAR

- Abu-Qare A, Abou-Donia M (2000).** Increased 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a biomarker of oxidative DNA damage in rat urine following a single dermal dose of DEET (N, N-diethyl-m-toluamide), and permethrin, alone and in combination. *Toxicol Lett*, 117 (3): 151-160.
- Ates I, Suzen HS, Aydin A, Karakaya A (2004).** The oxidative DNA base damage in testes of rats after intraperitoneal cadmium injection. *Biometals*, 17 (4): 371-7.
- Burçak G, Andican G (2004).** Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. *Cerrahpasa J Med*, 35 (4): 159-169.
- Collins A (2002).** Comparative analysis of baseline 8-oxo-7,8-dihydroguanine in mammalian cell DNA, by different methods in different laboratories: An approach to consensus. *Carcinogenesis*, 23 (12): 2129-33.
- Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J (2003).** Oxidative DNA damage: Mechanism, mutation and disease. *FASEB J*, 17(10): 1195-214.
- De Martinis BS, De Lourdes Pires Bianchi M (2001).** Effect of vitamin C supplementation against cisplatin-induced toxicity and oxidative DNA damage in rats. *Pharmacol Res*, 44 (4): 317-20.
- De Martinis BS, De Lourdes Pires Bianchi M (2002).** Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by hplc with electrochemical detection. *Pharmacol Res*, 46 (2): 129-31.
- Dizdaroğlu M (1994).** Chemical determination of oxidative DNA damage by gas chromatography-mass spectrometry. *Methods Enzymol*, 234, 3-16.
- Dizdaroglu M (1998).** Facts about the artifacts in the measurement of oxidative DNA base damage by gas chromatography-mass spectrometry. *Free Radic Res*, 29 (6): 551-63.
- Dizdaroglu M, Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H (2002).** Free radical-induced damage to DNA: Mechanism and measurement. *Free Radic Biol Med*, 32 (11): 1102-15.
- Foresti M, Migliore L (1993).** Effect of bacitracin on erythroid differentiation of mel cells. *Cell Biol Toxicol*, 9 (4), 377-84.
- Fraga CG, Shinenaga MK, Park JW, Degan P, Ames BN (1990).** Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc Natl Acad Sci USA*, 87 (12): 4533-7.
- Gueters G, De Boeck G, Highley M, Van Oosterom AT, De Bruijn EA (2002).** Oxidative DNA damage: Biological significance and methods of analysis. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 39 (4-5): 331-457.
- Gülbahar Ö (2007).** Protein oksidasyonunun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilişkisi. *Turkish Journal of Geriatrics*, 10 (1): 43-48.
- Halliwell B (2000).** Why and how should we measure oxidative DNA damage in nutritional studies? How far have we come?. *Am J Clin Nutr*, 72 (5): 1082-7.
- Helbock HJ, Beckman KB, Ames BN (1999).** 8-hydroxydeoxyguanosine and 8-hydroxyguanine as biomarkers of oxidative DNA damage. *Methods Enzymol*, 300, 156-66.
- Hoffmann S, Spitkovsky D, Radicella P, Epe B, Wiesner RJ (2003).** Reactive oxygen species derived from the mitochondrial respiratory chain are not responsible for the basal levels of oxidative base modifications observed in nuclear DNA of mammalian cells. *Free Radic Biol Med*, 36 (6): 765-773.
- Kotandeniya D, Ganley B, Gates KS (2002).** Oxidative DNA base damage by the antitumor agent 3-amino-1,2,4-benzotriazine 1,4-dioxide (tirapazamine). *Bioorg Med Chem Lett*, 12 (17): 2325-9.
- Kulaksız G, Sancar A (2007).** Nükleotid eksizyon onarımı ve kanser. *Turk J Biochem*, 32 (3): 104-111.

- Lee CH, Kamijima M, Kim H, Shibata E, Ueyama J, Suzuki T, Takagi K, Saito I, Gotoh M, Hibi H, Naito H, Nakajima T (2007).** 8-Hydroxydeoxyguanosine levels in human leukocyte and urine according to exposure to organophosphorus pesticides and paraoxonase 1 genotype. *Int Arch of Occup Environ Health*, 80 (3): 217-27.
- Li PY, Chang YC, Tzang BS, Chen CC, Liu YC (2007).** Antibiotic amoxicillin induces DNA lesions in mammalian cells possibly via the reactive oxygen species. *Mutat Res*, 629 (2): 133-9.
- Lim KS, Jeyaseelan K, Whiteman M, Jenner A, Halliwell B (2005).** Oxidative damage in mitochondrial DNA is not extensive. *Ann N Y Acad Sci*, 1042, 210-20.
- Lodovici M, Casalini C, Briani C, Dolara P (1997).** Oxidative liver DNA damage in rats treated with pesticide mixtures. *Toxicology*, 117 (1): 55-60.
- McDorman KS, Pachkowski BF, Nakamura J, Wolf DC, Swenberg JA (2005).** Oxidative DNA damage from potassium bromate exposure in long-evans rats is not enhanced by a mixture of drinking water disinfection by-products. *Chem Biol Interact*, 152 (2-3): 107-17.
- Midorikawa K, Uchida T, Okamoto Y, Toda C, Sakai Y, Ueda K, Hiraku Y, Murata M, Kawanishi S, Kojima N (2004).** Metabolic activation of carcinogenic ethylbenzene leads to oxidative DNA damage. *Chem Biol Interact*, 150 (3): 271-81.
- Murata M, Kawanishi S (2004).** Oxidative DNA damage induced by nitrotyrosine, a biomarker of inflammation. *Biochem Biophys Res Commun* 316 (1): 123-8.
- Müller I, Jenner A, Bruchelt G, Niethammer D, Halliwell B (1997).** Effect of concentration on the cytotoxic mechanism of doxorubicin-apoptosis and oxidative DNA damage. *Biochem Biophys Res Commun*, 230 (2): 254-7.
- Oteiza PI, Olin KL, Fraga C G, Keen CL (1995).** Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes. *J Nutr*, 125 (4): 823-9.
- Patel S, Pandey AK, Bajpayee M, Parmar D, Dhawan A (2006).** Cypermethrin-induced DNA damage in organs and tissues of the mouse: Evidence from the comet assay. *Mutat Res*, 607 (2): 176-83.
- Pei Z, Baofeng L, Yitong L (2005).** DNA damaging effects of carbofuran and its main metabolites on mice by micronucleus test and single cell gel electrophoresis. *Sci China C Life Sci*, 48 (1): 40-7.
- Rupp DW (2006).** Molecular mechanism of DNA damage, October 2006, Web erişim: http://radonc.yale.edu/training/pdf/molecular_mechanisms.pdf Erişim Tarihi: 10 Mart 2008
- Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Ünsal-Kaçmaz K, Linn S (2004).** Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the damage checkpoints. *Annu Rev Biochem*, 73, 39-85.
- Shigenaga MK, Ames BN (1991).** Assays for 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine: A biomarker of in vivo oxidative DNA damage. *Free Radic Biol Med*, 10 (3-4): 211-6.
- Sakano K, Oikawa S, Hiraku Y, Kawanishi S (2004).** Oxidative DNA damage induced by a melatonin metabolite, 6-hydroxymelatonin, via a unique non-o-quinone type of redox cycle. *Biochem Pharmacol*, 68 (9): 1869-78.
- Siomek A, Tujakowski J, Gackowski D, Rozalski R, Foksinski M, Dziaman T, Roszkowski K, Olinski R (2006).** Severe oxidatively damaged DNA after cisplatin treatment of cancer patients. *Int J Cancer*, 119 (9): 2228-30.
- Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C (2009).** 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health C Environ Carcinog Ecotoxicol Rev*, 27 (2): 120-39.
- Yokuş B, Çakır DÜ (2002).** In vivo oksidatif DNA hasarı biyomarkeri; 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine. *T Klin J Med Sci*, 22, 535-543.
- Williams GM, Jeffrey AM (2000).** Oxidative DNA damage: Endogenous and chemically induced. *Regul Toxicol Pharmacol*, 32 (3): 283-92.