

Oksidatif DNA Hasar Ürünleri ve Hastalıklar

Nazlı ERCAN¹, Ulvi Reha FİDANCI²

¹Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Sivas;

²Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara.

Özet

Organizmada, çeşitli yollarla oluşan serbest radikallerle antioksidan savunma sistemi denge halindedir. Bununla beraber serbest radikallerin organizmadan yeterince temizlenemediği durumlarda DNA'da hasara yol açmakta ve hasar ürünleri şekillenmektedir. Bu hasar ürünleri çeşitli metabolik hastalıklara, yaşlanmaya, kansere ve hatta genetik materyal olan DNA yapısındaki modifikasyonlara neden olabilmektedir. Mutajenitesi en çok bilinmekte olan hasar ürünlerinden bir tanesi de 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG)'dir.

Anahtar Kelimeler: DNA, Hastalıklar, Oksidatif Hasar, 8-OHdG

Oxidative DNA Damage Products and Diseases

Abstract

The free radicals formed with many ways and antioxidant defence mechanism is in a balance within the organism. In cases when the free radicals are not cleaned enough from the organism, it causes damage to the DNA and damage products are formed. These damage products can lead to many metabolic diseases, to aging, to cancer and even modifications in the structure of DNA which is a genetic material. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) is a damage product whose mutagenity is most known.

Key Words: DNA, Diseases, Oxidative Damage, 8-OHdG

Giriş

Yüksek miktarda oksijen türevi serbest radikallerin meydana gelmesi biyolojik sistemlerdeki yapı taşları üzerinde olumsuz etki yapmaktadır. Bu maddelerin çoğunluğunun normal hücresel işlevlerin sonucu meydana gelmesine karşın söz konusu maddelerin vücuttaki oranlarının artışı ve antioksidan sistem olarak adlandırılan savunma mekanizmalarının

yetersiz oluşu; hücrelerin yapısında, işlevlerinde ve genetik aktivitelerinde önemli hasarlara neden olmaktadır. Olaylar yalnız hücreleri etkilemeyip, aynı zamanda hücre dışı molekülleri de etkisi altına almaktadır (25).

İn vivo olarak çeşitli reaktif oksijen türleri (ROT) ve nitrojen türleri (RNS) biyomoleküller de toksine ya da iyonize radyasyona maruz kalmayı içeren çeşitli mekanizmalarla sürekli

hasar oluşturmaktadır. Bu türlerin birçoğu pirimidin ve pürin bazlarında kimyasal değişikliklere, DNA'da hasara uğrar ki bunlar diğer lezyonlar kadar önemli olan tek ve çift zincir kırıklarına, abazik bölgelere, DNA protein çapraz bağlanmaları ve değiştirilmiş şekerler gibi hasarlara neden olabilecek kabiliyettedir. Onarım sistemlerindeki bu lezyonların sıklığı ve etkileri mutasyonlarda ve karsinojenite gelişiminde en az diğer dejeneratif hastalıklar kadar önemlidir (60).

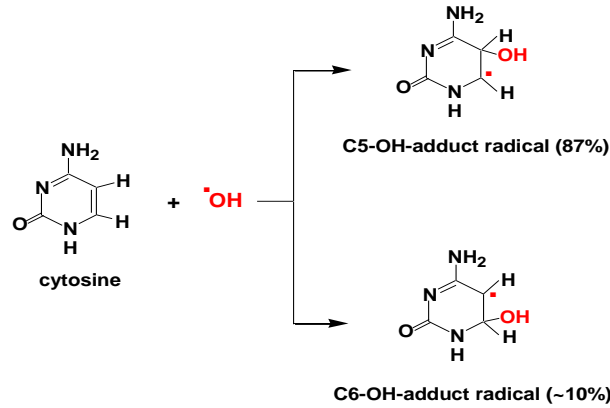
Metabolik aktivitedeki oksidanlar, inflamasyon, radyasyon ya da toksinler nükleik asitlerde hasara yol açarak yaşlanma ve kansere katkıda bulunur. Yaklaşık 20 major oksidatif DNA hasar ürünü karakterize edilmiştir (35). Reaktif oksijen türlerinin (ROT) ürettiği DNA hasar ürünlerinden 8-OHdG, reaktif oksijen türleri ile ilişkili hasarda geniş olarak kullanılan belirteçtir (72).

DNA Baz Ürünleri

OH, e_{aq}^- ve H atomunun DNA bazlarıyla reaksiyonları bu moleküllerin çift bağlarına

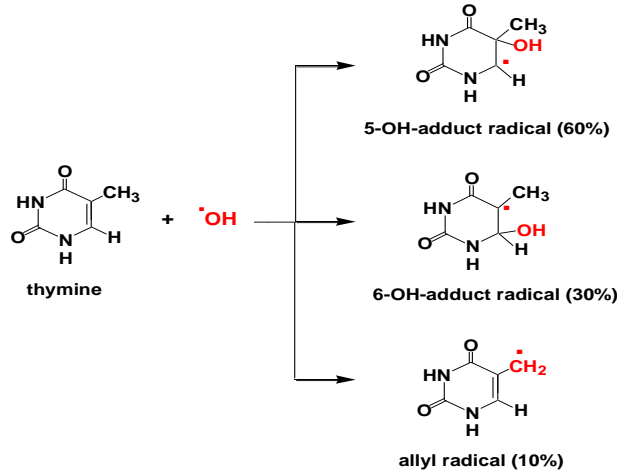
eklenmesiyle karakterizedir ve bu da bazların ekleme radikallerini vermektedir ki; timinin metil grubundan OH ile H atomunun ayırma reaksiyonu sonucunda oluşur. Oksijen varlığında pirimidin radikallerine oksijen eklenerek peroksil radikallerine dönüşür. Zıt olarak pürin ekleme radikalleri oksijen varlığında reaksiyonla oluşmaz. Baz radikallerinin sonraki reaksiyonları DNA bazlarının her bir ürünlerinin oluşmasına yol açar (14).

Timin ve sitozinin C5- ve C6- pozisyonlarına hidroksil radikalının eklenmesiyle C5-OH- ve C6-OH- ekleme radikalleri şekillenir (Şekil-1). Sitozin ve timine OH $^{\cdot}$ eklenmesiyle C5-OH- ekleme radikallerinin oksidasyon reaksiyonları ve deprotonasyonu ile sitozin glikol ve timin glikol formasyonuna dönüştürür. C5-OH- ekleme radikaline oksijen eklenmesiyle 5-hidroksi-6-peroksil radikalleri (OH $^{\cdot}$ eklenmesi) ile izleyen reaksiyonlarla elimine etmesi ile sitozin glikol ve timin glikole yükseltgenir (6,16, 21).



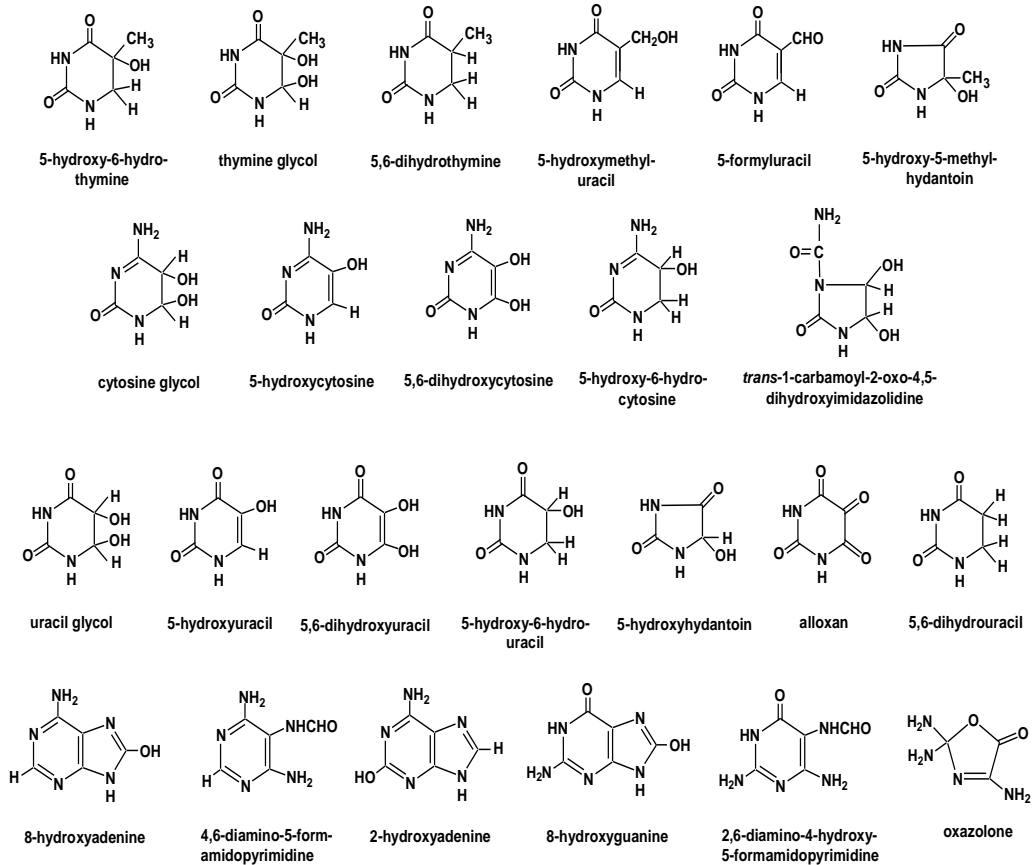
Şekil 1. Hidroksil Radikalının Pirimidinlerle Reaksiyonu (20)

Bu hidroksihidroperoksitler kararsızdırlar ve ayrışarak 4-amino-5-hidroksi-2,6(1H,5H)-pirimidindiyon ve 4-amino-6-hidroksi-2,5(1H,6H)-pirimidindiyon yapılarını oluştururlar. C5=C6 çift bağları sonuç olarak sitozin ve timinin C5-OH ve C6-OH ekleme radikallerini oluşturur. H'nin çıkarılması timinin alil radikalının oluşumuna neden olur (Şekil-2) (26). Timinin alil radikali ile oksidasyonu 5-(hidroksimetil) urasil (5-OHMeUra) ve 5-formilurasil oluşur (16, 18).



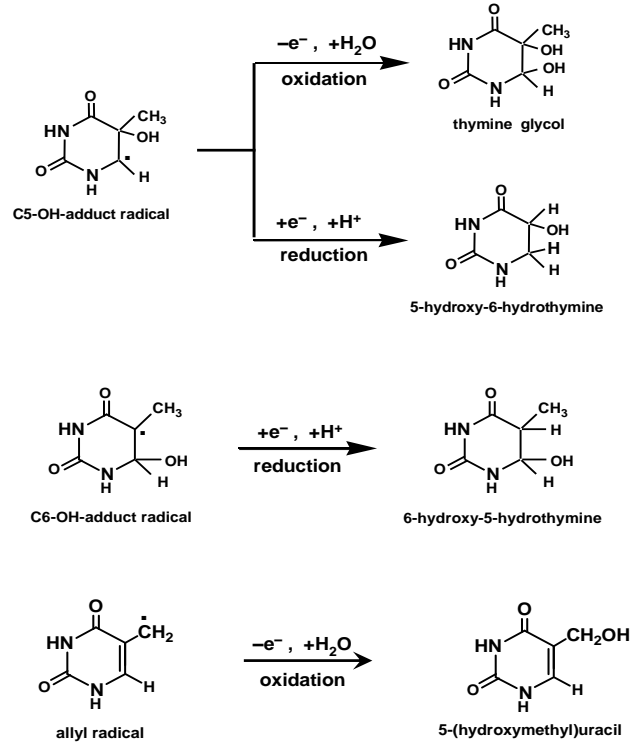
Şekil 2. Hidroksil Radikalinin Pirimidinlerle Reaksiyonu (20)

4-amino-5-hidroksi-2,6-pirimidindiyon deaminasyonu ile oluşan dialürük asit yükseltgenmesi ile alloxanı meydana getirir. Alloxanın dekarboksilasyonu ile 5-hidroksihidantion (5-OH-Hyd) oluşur (Şekil-3). İzodialürük asit 4-amino-6-hidroksi-2,5 (1H,5H)-pirimidindiyonun deaminasyonu ile şekillenir (17,19).



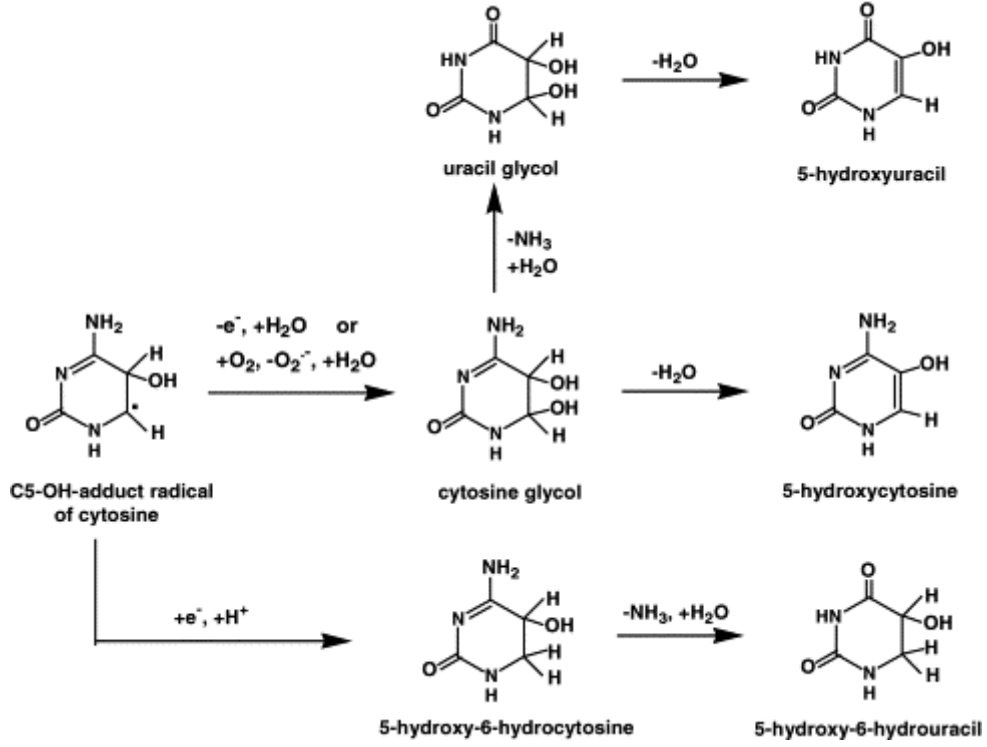
Şekil 3. DNA'daki Heterosiklik Bazların Serbest Radikal Ürünleri (16)

Pirimidin radikalleri çeşitli mekanizmalarla sayısız ürünler oluşturmaktadır. Pirimidinler OH ekleme radikalleri ve alil radikali gibi ürün çeşitlilikleri indirgenme ya da yükseltgenmeleri redoks özelliklerine, redoks ortamına ve reaksiyon ortaklarına bağlıdır. Ürün oluşumu oksijen varlığında ve yokluğunda ya da diğer koşullara bağlı olarak oluşurlar. Oksijen yokluğunda, C5-OH ekleme radikallerine OH eklenmesi ile sitozin glikol ve timin glikol oluşumuna yol açar. Alil radikalleri 5hidroksimetilurasili oluşturur (Şekil-4). C5-OH ekleme radikallerine oksijen ilavesi ile C5-OH-6 peroksil radikalleri oluşur. C5-OH-6 peroksil radikallerinden O_2^- eliminasyonu ile izlenen reaksiyonlarla (OH eklenmesi) timin ve sitozin glikol oluşur. Timinin alil radikallerinin oksidasyonu 5-hidroksimetilurasil (5-OHMeUra) ve 5-formilurasili (5-FoUra) şekillendirir. Timin glikol, 5-OHMeUra, 5-FoUra ve halka indirgenme ürünü olan 5-hidroksi-5-metilhidantion (5-OH-5MeHyd) timin hidroksiperoksitin ayrışma yapılarıdır (13, 15, 18, 66).



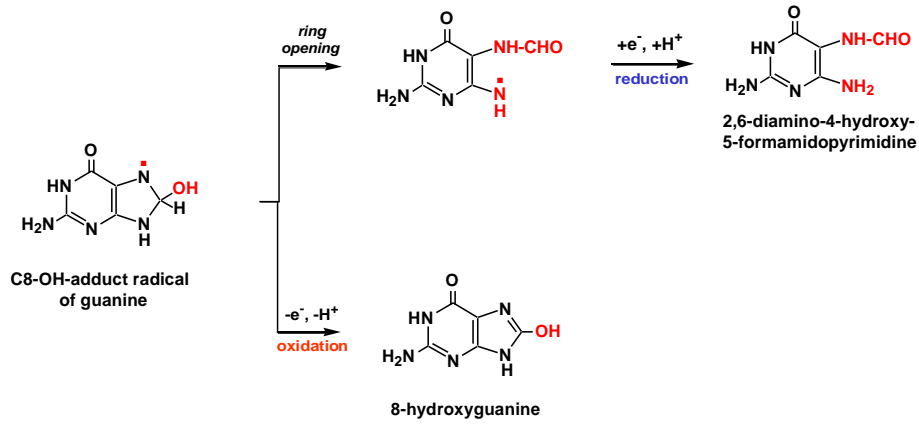
Şekil 4. C5- ve C6-OH- ekleme radikalleri ve timinin alil radikalinin ürün yapıları (20)

Oksijenin yokluğunda pirimidinlerin 5-OH ve 6-OH- ekleme radikalleri ile 5-hidroksi-6hidro- ve 6-hidroksi-5-hidropirimidinler protonasyonla şekillenir. Sitozin ürünleri de uygun koşullarda dehidrate ve deamine olabilirler. Böylece sitozin glikol dehidrasyonla 5-hidroksisitozin'e (5-OH-Cyt) dönüşür, urasil glikol deaminasyonla ve dehidrasyonla 5-hidroksiurasil'e (5-OH-Ura) dönüşür. Bu bileşikler aynı zamanda DNA hasarının da kanıtıdır. Oksijen varlığında protonasyonla C5-OH ekleme radikalleri 5-hidroksi-6-hidropirimidinleri verir. Deamine olan 5-hidroksi-6-hidrositozin 5-hidroksi-6-hidrourasil oluşturur (Şekil-5) (17, 19, 24).



Şekil 5. Oksijen yokluğunda sitozin C5-OH ekleme radikalleri (24)

Pürinlerin C4, C5, C8 pozisyonlarına hidroksil radikali eklenmesiyle C4-OH-, C5-OH- ve C8-OH- ekleme radikalleri oluşur (Şekil-7). C4-OH- ve C5-OH- ekleme radikalleri dehidratasyonla ve redüksiyonla yapılandırılan pürin (-H) radikallerinin oksidasyonu sonucu oluşur. Guaninin ve adeninin C8-OH ekleme radikalleri oksijenle reaksiyona girerler. 8-hidroksipürinler C8-OH ekleme radikallerinin yükseltgenmesiyle yapılırlar. C8-N9 imidazol halkasının açılması ile reaksiyon devam eder. Açık halka bir elektron indirgenmesiyle formamidopirimidinlere uğrar ve guaninden 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin (FapyGua) (Şekil-6) ve adeninden 4,6-diamino-5-formamidopirimidin (FapyAde) oluşur (15, 20, 21).



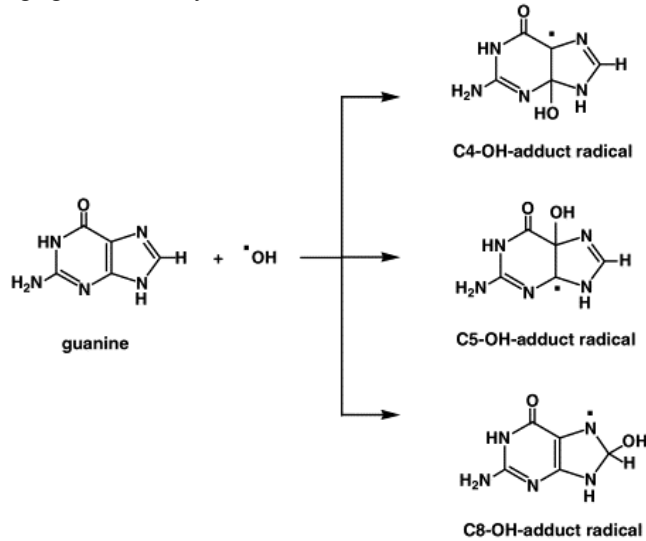
Şekil 6. Guaninin C8 Pozisyonuna OH Ataklarıyla C8-OH Ekleme Radikalinden Oluşan Guanin Ürünleri (21)

Bir elektron yükseltgenmesiyle ve bir elektron indirgenmesiyle ile C8-OH- ekleme radikallerine yükseltgenir ve 8-hidroksipürinler (7,8-dihidro-8-oxopürinler) ve formamidopirimidinler oluşur. Adenin analoglarının reaksiyonu 8-hidroksiadenini (8-OH-Ade) ve 4,6-diamino-5-formadopirimidini (FapyAde) oluşturur. Bütün ürün tipleri oksijenin varlığında ve yokluğunda oluşmasına rağmen oksijen artışı 8-hidroksipürinlerin oluşumunda etkilidir. 8-hidroksipürinler formamidopirimidinlerin indirgeyici ajanların artışında ve oksijen varlığında oluşmayı tercih eder. Oksijen varlığında 8-hidroksipürin oluşurken ajanların azalması formadopirimidinleri artırır. (16, 21).

8-oxoguanin DNA'da oksijen radikallerini üreten sistemler ve maddeleri azaltarak yapılanmaktadır ve sitozinden başka bazlarla hidrojen bağları kurarak mutasyonlara neden olduğu kaydedilmiştir. Mutasyon ve karsinogeneziste de rol aldığı gibi inflamasyon

sırasında oksijen serbest radikallerin genotoksik potansiyelin ürettiği romatoid artrit ve sistemik lupus eritematosus gibi birçok insandaki inflamatuvar hastalıkların patolojisinde önemlidir (36).

1983'te DNA da mutajenik şekerle oluşturulan bağ pişirilmiş gıdalar için bir model oluşturmuştur ki buda deoksiguanozinin C-8 pozisyonunun okside olması ve 8-hidroksideoksiguanozin (8-OH-dG,7,8-dihidro-8-oksodeoksiguanozin) olarak form adlandırılır. Bu modifikasyonun beklenmedik bir araştırmada bulunmasından beri oksidatif DNA hasarı çalışmaları daha da ilerlemiştir. Çünkü oksidatif stres karsinogenezisin mekanizmalarından biridir. Bu son on yılda oksidatif DNA hasarının kimyası, mutajenik etkileri ve onarım mekanizmaları araştırılmıştır. 8-OH-dG düzeyleri lökosit ve idrar gibi insan numunelerinde de oksidatif DNA hasar belirteçlerini analiz etmede kullanılmıştır (42).



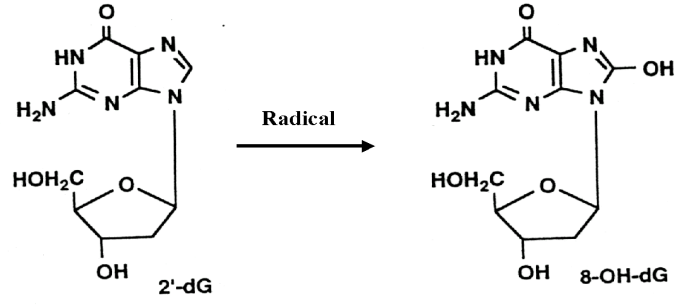
Şekil 7. OH radikalının pürinlerle reaksiyonu (20)

Yirmiden fazla oksidatif DNA değiştirilmiş bazları tanımlanmasına rağmen en çok odaklanılan, duyarlılığı ve mutajenite potansiyeli nedeniyle 8-hidroksiguanin ya da onun deoksinükleotidi olan 8-OHdG olmaktadır (50, 56).

DNA'daki adeninin C-8 pozisyonuna hidroksil radikallerinin eklenmesiyle ve oksidatif C8-OH ekleme radikallerinin devamıyla oluşan, pürinden üretilmiş lezyon 8-hidroksiadenindir (8-OH-Ade). Bu içerik serbest radikallerin DNA

hasarındaki deneysel koşullar altında in vitro ve in vivo olarak tanımlandığı başlıca ürünüdür (41).

Birçok farklı oksidatif hasar ürününün tanımlanmasına rağmen guanin derivate lezyonu olan 8-OHGua ve ona bağlı deoksinükleosid 8-OHdG birçok çalışmaya konu olmuştur. 8-OHdG'nin (Şekil-8) idrar seviyeleri DNA'nın endojenik oksidatif hasarın önemli belirtecidir (47).



Şekil 8. 8OHdG Formülasyonu (31)

En bol DNA'daki bazlardaki oksidatif hasar guaninin C8-hidroksilasyonudur. Böylece hidroksil radikalleri bu dört bazdan çoklu ürünler oluşturur. Singlet oksijen tercihen guanini 8-hidroksilasyonla değiştirir. 8-OHdG DNA'da oluşumu, DNA'nın enzimatik ayrışımı sonrasında genellikle deoksiguanozine oranı ölçülür (48).

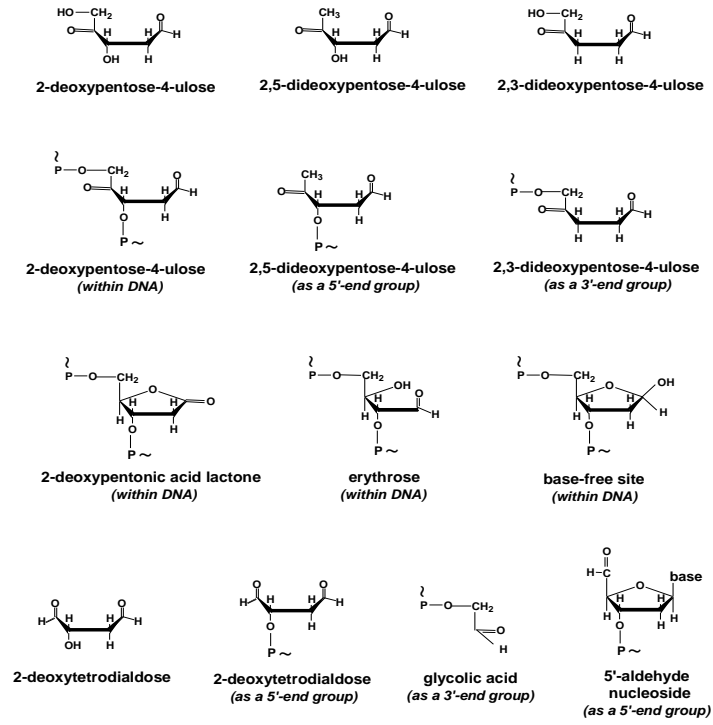
İn vivo DNA hasarı deoksinükleosidler serbestleştirilen ekzonükleazlar ya da glikosilazlarla ya da bazlar ile onarılır. Bu onarım ürünleri suda çözülür ve metabolize olmadan idrarla kolayca atılır. 8-OHdG ve timidin glikol gibi okside deoksinükleosidlerin idrardaki atılımı oksidatif DNA hasarının ve onarımının önerilen belirteçidir (48). 8OHdG'nin mutajenitesi belirlenmiştir. 2-hidroksiadenin, 5-hidroksisitozin, formilurasil ve 5 hidroksiurasil DNA baz ürünlerinden diğer mutajenik olanlardır (29).

DNA Hasar Şeker Ürünleri

DNA'yla hidroksil radikalleri ile çoğunlukla bazların çift bağlarına ekleme reaksiyonları verir. Fakat küçük bir miktar H atomunun şeker

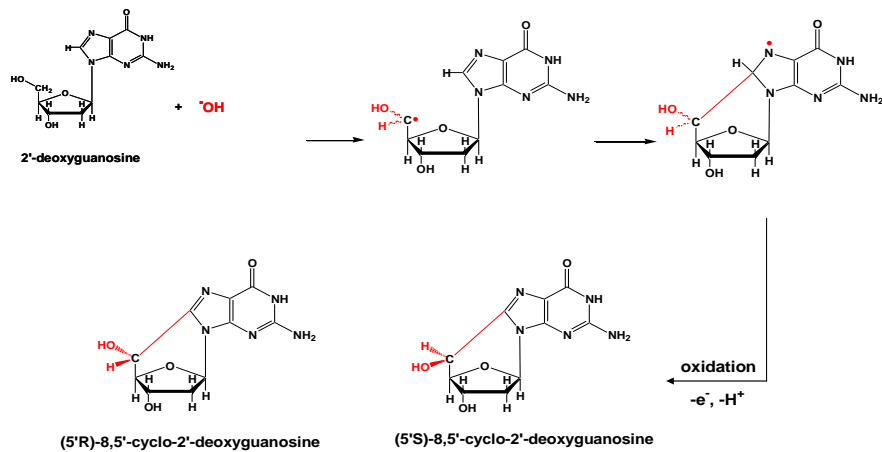
radikallerinden soyutlanmasıyla şeker lezyonları oluşur. Şeker radikallerinin reaksiyonları sağlam bazların salınmasına yol açarak şeker yapısında ve zincir kırıklarında değişiklikler oluşturur (14).

DNA'daki OH atakları sonucu oluşan şeker hasarları mekanizması ve DNA zincir kırıkları dahil aydınlatılamamıştır. Bazı şeker ürünleri DNA'nın değiştirilmiş şekerlerinden salınmaktadır ki bunlar DNA içinde kalan ya da kırık DNA zincirlerinin sonunda oluşurlar. DNA'daki C4'-radikal şeker parçaları OH eklenmesi 2-deoksipentoz-4-uloz ve 2,5-dideoksipentoz-4-uloz parçalarını oluşturur. C4'-radikal reaksiyonlarıyla sonuçlanan DNA zincir kırıkları genelde oksijen yokluğunda oluşur. Diğer radikal reaksiyonları 2-deoksipentoz-4-uloz, 2,3,-dideoksipentoz-4-uloz ve 2,5-dideoksipentoz-4-uloz değiştirilmiş şekerleri verir (Şekil-9). C1'-radikalinin yükseltgenmesiyle ve OH eklenmesi değiştirilmemiş baz salınımı ardından 2-deoksiribonik asit lakton oluşur. Oksijen 2,3-dideoksipentoz-4-uloz ve 2,5-dideoksipentoz-4-uloz (Şekil-9) serbest değiştirilmiş şekerler yapılarını inhibe eder (24).



Şekil 9. Oksijen yokluğunda C4 radikal reaksiyonları şeker ürünleri (21)

DNA'daki şeker kalıntıları ve heterosiklik bazların birçok ürünü izole edilmiş ve tanımlanmıştır. Pürin nükleositlerin ve nükleotidlerin durumunda bir tek intramoleküler siklizasyon oksijen yokluğunda karbon-5' şeker (C-5') ve C-8 pürin arasındaki tepki hidroksil radikalleri tarafından indüklenir. Hidroksil radikallerinin ürettiği 8,5'-siklopürin 2'-deoksinükleositleri'nde pürin 2'-deoksinükleosid kalıntıları içeriğinin tek ve çift zincir kırıklarına eklenerek oluşur (Şekil-10) (12, 20).



Şekil 10. 8,5'-siklo-2'-deoksiguanozin'in Yapısı (20)

Hastalıklar

Reaktif türlerinin artan oluşumu malignitenin gelişmesini arttırabilir ve reaktif türlerin normal oranları yaşlılarda kanser gelişme riskinin artışından sorumlu olabilir. Gerçekten çeşitli antioksidan savunma sistemi enzimlerinin etkisizliği oksidatif hasar seviyelerini arttırır ve hayvanlardaki yaşlılıkla ilgili kanser gelişimini yükseltir. Özellikle reaktif türlerden hidroksil radikali ile oluşturulan DNA oksidatif hasarına çok dikkat edilmelidir. Ancak 8-OHdG gibi artan DNA baz oksidatif hasar ürünlerinin maligniteye her zaman yol açmamasına rağmen malignant tümörleri sıklıkla DNA baz oksidasyon seviyelerinde artış gösterir (30).

Hasar ürünleri endojenik olarak oksijen radikalleri tarafından oluşturulur ki yaşlanma, kanser ve kalp hastalığı gibi dejeneratif hastalıklara neden olduğu önerilir (27). Özellikle son yıllarda kanser gibi kötü prognoza sahip bir hastalığın erken tanısı için belirteç araştırılmasına yönelik pek çok çalışma serbest radikaller ve oksidatif stres üzerine yoğunlaşmıştır. Bu çalışmalar oksidatif stresin malign hastalıklar yanında; akciğer fibrozisi, bronşektazi, astım ve kronik obstruktif akciğer hastalığında (KOA) başta olmak üzere birçok benign akciğer hastalıklarında yükseldiğini göstermektedir (28).

Oksidatif DNA hasar bazlarının sabit seviyelerinin insan inflamatuvar barsak hastalıkları (IBD) dahil olmakla beraber hepatit, romatoid artrit gibi birçok inflamatuvar hastalıklarda artış yaptığı gözlenmiştir. Mesane, akciğer, göğüs ve kolon kanserlerinde DNA'da hasar artışları da görülmüştür (67).

Direk bazların yanlış birleşmesi sırasında genetik replikasyon ya da kimyasal hasar nükleik asitlerde oluşur. DNA polimeraz yüksekliğine rağmen hücre bölünmesi sırasında genomlar kopyalanırken bazların ufak bir yüzdesi hatalı olarak eşlenir. Sonuç olarak yeni ikili de birkaç yanlış eşlenmiş baz çifti bulunur. Ek olarak nükleik asitlerdeki hasar süreci de polinükleotidlerde kimyasal değişikliklere yol açar. Bunlar redoks ve alkilasyon sonucu baz kalıntılarındaki lezyonları da içermektedir. Bazlardaki yanlış eşleşme ve DNA hasarı mutasyonla son bulur (57).

Veteriner Hastalıkları

Böbrek

Spontan böbrek yetmezliğine bağlı 10 kedi (7 dişi, 3 erkek) ve 10 kontrol grubu 4 hafta boyunca normal mama ile beslendikten sonra 4 hafta boyunca vitamin E, C, β -karoten içerikli kuru kedi maması ile beslenmişlerdir. Sağlıklı kedilerle karşılaştırıldığında böbrek yetmezliği olan kedilerin oksidatif strese eğilimli olduğu gözlenmiştir. Antioksidan alınımı böbrek yetmezliği olan kedilerde DNA hasar belirteci olan 8-OHdG serum seviyelerini azalttığı ($p<0.01$) görülmüştür. MDA ölçümü renal yetmezliği olan kedilerde yüksek olmasına rağmen antioksidan ilavesinin bir etkisi olmadığı gözlenmiştir (71).

Sinir sistemi

Marek hastalığı kanatlılarda iç organlarda, kaslarda, periferik sinirlerde lenfoproliferatif infiltrasyonla karakterize herpes virusun oluşturduğu bir hastalıktır. 15 marek hastalığı virusu ile infekte ve 15 sağlıklı aynı yaş, cinsiyette white-lohmann tavuklarında MDA (malondialdehid), NOx (nitrik oksit metabolitleri) ve plazma protein karbonil (PCO) seviyelerine bakılmıştır. Düzeyleri hasta grup da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ($p<0.01$) bulunmuştur (43).

Deri

Çalışmada sağlıklı dişi köpekler ($n=13$) ile piyoderma tanısı konmuş (tedavi almamış) dişi köpekler ($n=16$) ve sağlıklı erkek köpekler ($n=14$) ile piyoderma tanısı konmuş (tedavi almamış) erkek köpekler ($n=12$) olmak üzere cinsiyete göre iki kontrol ve iki hasta grubu oluşturulmuştur. Hasta gruptan kan, idrar ve svap, sağlıklı gruptan kan ve idrar örnekleri alınmıştır. Plazmada malondialdehid (MDA) ve idrarda 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin düzeyleri ölçülmüştür. Piyoderma tanısı konmuş erkek ve dişi köpeklerde MDA ve 8-OHdG düzeylerinin yükseldiği saptanmıştır. Bu artış, istatistik olarak anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Sonuç olarak piyodermanın, tedavi edilmediği takdirde DNA hasarına yol açabileceği kanısına varılmıştır (23).

Kanın visceral leishmaniaasis'in patolojisinde oksidatif stresin rolü araştırılmak üzere yapılan çalışmada asemptomatik 14 köpek, semptomatik 16 köpek hasta, 30 sağlıklı grup dahil edilmiştir. Serum malondialdehid seviyeleri ($p<0.001$) ve serum total antioksidan miktarları ($p<0.001$) semptomatik hasta

grubunda asemptomatik grup ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (33).

Paraziter

Kistik ekinokokkusu develerde serumda lipid peroksidasyon ürünü olan MDA (malondialdehid) seviyelerine bakılmış, sonuçta sağlıklı gruba oranla kistik ekinokokkus teşhisli develerde daha yüksek bulunmuştur. Hepatositlerin harabiyetinde oksidatif stresin rol aldığı düşünülmektedir (34).

1-2 yaşlı doğal olarak *Theileria annulata* ile infekte 50 melez holştayn inek ve 10 sağlıklı kontrol grubu çalışma için oluşturulmuştur. İnfekte inekler enfestasyon oranlarına göre 4 gruba ayrılmışlardır. Hasta ve sağlıklı grupta serum MDA düzeylerine bakılmıştır. Sonuçta infekte hayvanlardaki MDA düzeyleri sağlıklı gruba göre ($p<0.01$) daha anlamlı seyretmiştir (59).

Küçükbaş malignant theileriosis anemi ile seyreden ölümcül bir hastalıktır. 1-2 yaşlı *Theileria sp.* ile infekte 50 iran koyunu ve 10 sağlıklı koyun çalışmaya alınmıştır. MDA seviyeleri infekte koyunlarda daha yüksek ($p<0.001$) seyretmiştir (54).

Diğer çalışmalar

Kan

Şentürker ve arkadaşlarının 1997 yılında yapmış oldukları çalışmada akut lenfoblastik lösemi teşhisi almış dokuz çocukta ve on çocuktan oluşan kontrol grubunda oksidatif DNA baz hasar ürün düzeyleri lenfositte araştırılmıştır. 5-hidroksisitozin (5-OH-Cyt), 5-hidroksiurasil (5-OH-Ura), 5,6-dihidroksiurasil (5,6-diOH-Ura), 5-hidroksi-5-metilhidantion (5-OH-5-MeHyd), 5-hidroksihidantion (5-OH-Hyd), 2,6-diamino-4-hidroksi-5formadopirimidin (FapyGua), 8-hidroksiguanin (8-OH-Gua), 4,6-diamino-5-formamidopirimidin (FapyAde) ve 8-hidroksiadenin (8-OH-Ade) olmak üzere dokuz değiştirilmiş baz hasta ve kontrol grubunda DNA örneklerinde tanımlanmışlardır. Sonuç olarak hasar ürünlerinden FapyGua, 8-OH-Gua, FapyAde, 8-OH-Ade, 5-OH-Cyt, 5-OH-5-MeHyd ve 5-OH-Hyd akut lenfoblastik lösemi teşhisli çocuklarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak ($P<0.05$) daha yüksek bulunmuştur.

13 malignant lenfoma, 11 erişkin T hücre lösemi/lenfoma (ATL), 7 akut miyelid lösemi (AML), 3 akut lenfoid lösemi (ALL) ve 10 miyelodisplastik sendrom (MDS) gibi hematolojik bozukluklardan oluşan 44 hasta grubunda 8-OHdG düzeylerine kemoterapi

öncesi bakılmıştır. İdrar 8-OHdG değerleri ATL hastalarında kontrol grubuna göre ($p<0.05$) anlamlı fark göstermiştir. MDS, lenfoma ve lösemi hastalarında kontrol grubuna göre idrarda yüksek seviyelerde olmasına rağmen anlamlı fark yaratmamıştır (37).

Diyabet

Reaktif oksijen türlerinin ve lipid peroksidasyon ürünlerinin artışı diyabet hastalarında vasküler komplikasyonların artmasına katkıda bulunmaktadır. Yapılan çalışmada insülin bağımlı 12 hasta, insüline bağımlı olmayan 15 hasta ve her gruba 10 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Sonuç olarak insüline bağımlı ve insüline bağımsız hasta gruplarında 8-OHdG konsantrasyonları kontrol gruplarına göre daha anlamlı ($p<0.001$) fark göstermişlerdir. Reaktif oksijen türleri diyabetik hastalarda kontrol gruplarına göre önemli ölçüde daha yüksek ($p<0.01$) bulunmuştur (10).

60 kişi Tip 2 diyabet hastası ile 35 kişi kontrol grubu 8-OHdG düzeyleri bakımından karşılaştırılan çalışmada; hasta grupta kontrol grubuna göre önemli ölçüde artışa ($p<0.05$) neden olmuştur. HbA1c değerleri ile 8-OHdG düzeyleri arasında korelasyon bulunmuştur. Tüm diyabetli hastalarda 8-OHdG düzeyleri proliferatif retinopati hastalarında non proliferatif retinopati yada retinopatisi olmayan gruba oranla önemli ölçüde yüksek bulunmuştur (22).

Beyin ve Sinir sistemi

Parkinson hastalıklı beyin dokularından alınan örneklerde 8-hidroksiguanin (8-OH-Gua) seviyeleri substantia nigra da anlamlı olarak ($p=0.0002$) artış gösterdiği saptanmıştır (2).

Alzheimer hastalarında ve kontrol grubunda 8-OHdG seviyeleri postmortem beyin dokusunda (hipokampal dokuda frontal, occipital ve temporal korteks) tanımlanmıştır. Buna göre 8-OHdG düzeyleri yaş, cinsiyet ve beyin dokusu ayırımı yapmaksızın hasta ve kontrol gruplarında aynı düzeylerde gözlenmiştir (45).

Huntington hastalığı gen defektine bağlı olmasına rağmen patogenezinde mitokondrial fonksiyon bozukluğunun ve oksidatif hasarın rol oynayabileceği düşünülmektedir. Oksidatif hasar belirteci olan 8-hidroksi-2' deoksiguanozin transgenik farede R6/2 Huntington hastalığı modeli oluşturmak suretiyle ölçümü yapılmıştır. İdrar seviyeleri 8-OHdG bakımından kontrol grubuna oranla daha yüksek ($p<0.02$)

bulunmuştur. Ayrıca plazma 8-OHdG seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış ($p<0.01$) göstermiştir (4).

Huntington hastalığı tanısı konulan hastalarda kauda, parietal kortekste ve periferik serum ve lökositlerde yüksek seviyelerde 8-OHdG belirlenmiştir. Hastalık geliştikçe ulaşabilecek değişiklikler ve prodromal hastaların seviyeleri hakkında çok az bilgi olduğundan bir grup katılımcı üzerinde 8-OHdG takip edilmiştir. Katılımcılar huntington hastalığı teşhisinde yakınlık derecesine göre dört gruba ayrılmıştır: kontroller (negatif genli bireyler), düşük (yakın gelecekte düşük ihtimalle teşhis), orta ve yüksek. Sonuçta kontrol grubunda en düşük, yüksek grupta en yüksek oran görülmüştür (49).

Multiple sklerozis hastalığının dejeneratif lezyon oluşum mekanizması tam olarak anlaşılammış olması ile birlikte oksidatif hasar mekanizması ile ilişkisi yönünden araştırılmıştır. Bu amaçla MS hastalarından alınan normal görünümülü beyaz madde (NAWM), serebellanın kortikal bölümlerinde ve plak da 8-OHdG seviyelerine bakılmıştır. Sonuçta MS serebellasındaki plaklardaki oksidasyon seviyeleri normal görünümülü beyaz madde örneklerine göre daha yüksek seviyelerde olduğu belirlenmiştir (65).

Amyotrofik lateral sklerozis (ALS) motor sinir hücrelerinin kayından ileri gelen bir hastalıktır. ALS olgularında yapılan çalışmada 8-OHdG seviyeleri kontrol gruba ve diğer nörojik hastalıklara oranla daha yüksek seyretmiştir (5).

Karaciğer

Kronik karaciğer hastalığına sahip kişilerde idrarda 8-OHdG düzeyleri elli hastada (her iki cinsiyet ve 22-28 yaş aralığında) bakılmıştır. İdrar 8-OHdG düzeyleri sağlıklı grupta ve siroz, kronik hepatitis C, kronik hepatitis B ve otoimmün hepatitis grupları arasında fark gözlenmemiştir. Fakat 8-OHdG düzeyleri içki kullananlarda kullanmayanlara göre daha yüksek ($p<0.05$) bulunmuştur. Aynı zamanda sigara kullanımı içki kullanan kişilerde idrar 8-OHdG düzeylerinin artışına yol açmaktadır. Sonuç olarak içki kullanımı ve sigara kullanımıyla birlikte oksidatif hasarın karaciğer hasarını arttırdığı tespit edilmiştir (39).

Oksidatif stres sıklıkla kronik hepatitis C hastalarında oluşmasına rağmen hepatoselüler karsinomanın gelişimindeki rolü pek bilinmemektedir. 118 kişiden alınan biyopsi örneklerine bakıldığında 36 hastada

hepatoselüler karsinoma teşhis edilmiştir. Bu hastalarda 8-OHdG düzeylerine bakılmış olup kontrol grubuna göre önemli oranda ($p<0.0001$) artış gözlenmiştir. Diğer bir taraftan ise 8-OHdG seviyeleri vücut ve hepatik demir depoları belirteçleri ile de ilgili olarak anlamlı (ferritin, $p<0.0001$, hepatik demir seviyesi, $p<0.0001$) artışlar gözlenmiştir (62).

Karaciğer biyopsi örneklerinde 8OHdG seviyeleri immunohistokimyasal olarak ölçülmüştür. Toplamda Ocak 1987 ve Aralık 2002 arasında karaciğer biyopsisi üzerinde kronik karaciğer enfeksiyonu teşhisi konulan toplamda 104 hastada retrospektif çalışma yapılmıştır. Hepatoselüler karsinomanın (HCC) gelişimine ilişkili olan faktörleri tanımlamak için karaciğer biyopsi örneklerinde tekil ve çoğul analizler, yaşı, cinsiyeti, alkol kullanımı, tütüne maruziyet, diyabetes mellitus serum ALT alanin aminotransferaz seviyesi, kronik hepatitis C virus (HCV) genotipi hepatik fibrozis, enflamasyon, steatozis ve 8-OHdG seviyesi belirlenmiştir. Sonuçta; HCC gelişimi için çoğul analizlerde 8-OHdG ve fibrozis bağımsız önemli ve risk faktörleridir. Dahası yüksek 8-OHdG seviyesine sahip 39 hastanın HCC'nin görülme sıklığı düşük 8OHdG seviyesine sahip 65 hastadan büyük oranda daha fazladır. Buna ek olarak karaciğer 8-OHdG seviyesi hepatik enflamasyonla ilişkilidir. Kronik HCV enfeksiyonuna sahip hastalarda 8-OHdG HCC'nin gelişimi için bir risk faktörüdür. Kronik HCV'ye sahip 8-OHdG seviyesi olan hastalar HCC gelişime karşı dikkatle incelenmelidir (8).

Akciğer

81 primer akciğer kanseri, 9 metastatik akciğer kanseri ve 10 benign akciğer hastalığı olan 62 erkek, 38 kadından oluşan toplam 100 hastanın 24 saatlik idrarları toplanıp 8-OHdG seviyelerine bakılmıştır. İdrar 8-OHdG seviyeleri sigara kullananlarda hiç kullanmayanlara göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Özellikle de halen kullanmakta olanlarda sigarayı bırakalı 1 aydan fazla olanlara oranla daha yüksek bulunmuştur. Sigara kullananlarda 8-OHdG seviyelerinin yüksekliği ne yaşla nede cinsiyetle ilişkili bulunmamakla beraber hastalığın malignitesi etkilemektedir. 8-OHdG seviyeleri primer akciğer hastalığında, metastatik akciğer kanseri ve benign akciğer hastalığı olan kişilerde artış göstermiştir (69).

Serbest radikaller özellikle hidroksil radikalleri DNA'da ve nükleoproteinler de değişimlere, değiştirilmiş bazlara, değiştirilmiş şekerlere, zincir kırıklarına ve DNA-protein çapraz zincirlere neden olur ki bunlar karsinogenezis ve mutajeniteye yol açar. Bu anlamda akciğer kanser hastalarında yapılan çalışmada; 5-OH-Hyd, 5-OH-5-MeHyd, Thy glikol, 5-OHMe-Ura, 5-OH-Ura, 5-OH-Cyt, 5,6-diOH-Ura, 2-OH-Ade, 8-OH-Ade, FapyAde, 8-OH-Gua ve FapyGua hasar ürünlerinin seviyelerine bakılmıştır. Sonuçta 8-OH-Ade beş kanser hastasında, 8-OH-Gua dört hastada, FapyGua üç hastada, 5-OHMe-Ura, 5-OH-Ura, 5-OH-Cyt ve 2-OH-Ade üç hastada, 5-OH-Hyd, Tyh glikol, 5,6-diOH-Ura ve Fapy Ade iki hastada normale oranla artış göstermiştir (40).

Böbrek

35 Renal hücre karsinoma (RCC) vakasında oksidatif hasar parametresi olan 8-OHdG ve 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) DNA değiştirilmiş baz ürünlerine bakılmıştır. 8-OHdG RCC vakasında non-tümör böbrek vakasına göre %54 daha yüksek konsantrasyon içeriği bulunmuştur (55).

Timidin hidroksil radikalleri ile oksidasyonu oksidatif DNA hasar ürünlerinden 5,6-dihidroksi-5,6-dihidrotimidin (timidin glikol) oluşumuna yol açmaktadır. Böbrek transplantasyonu yapılan 6 hasta ile 6 kişiden kontrol grubunda idrarda timidin glikol seviyelerine bakılmıştır. Böbrek transplantasyon sonrasında timidin glikol seviyeleri kontrol grubuna göre yüksek seviyelerde görülmüştür. Böbrek transplantasyonundan sonra timidin glikolün artışı iskemi-reperfüzyonun oksidatif DNA hasarını indüklemesi yol açmaktadır (63).

Kronik böbrek yetmezliği (KBY) de sebep-sonuç ilişkisi bilinmeyen oksidatif stres ile seyreden klinik tablolardan birisidir. Son dönem KBY hastalarının kaçınılmaz tedavilerinden birisi olan hemodiyaliz (HD) oksidatif stresi arttırıcı etki göstermektedir (46).

Meme

22 meme kanseri dokusunda 8-OHdG seviyeleri araştırılan çalışmada DNA 8-OHdG seviyeleri meme kanser dokusuyla kanser olmayan meme dokusu arasında istatistiksel bir fark ($p=0.084$) gözlenmemiştir (52). 1996 yılında Musarrat ve arkadaşları tarafından 1996 yılında yapılan çalışmada 75 meme dokusunda; malignant meme dokusunda 8-OHdG seviyeleri

normal dokudan anlamlı olarak yüksek ($p<0.001$) bulunmakla beraber aynı zamanda kültür meme kanseri hücreleri normal epitelyal hücrelere oranla istatistiksel olarak daha yüksek ($p=0.004$) seviyelerde saptanmıştır. Ek olarak östrojen reseptör pozitif dokularda östrojen negatif dokulara oranla daha yüksek ($p=0.007$) bulunmuştur.

61 meme kanseri hastasını içeren çalışmada kanserli meme dokusunda DNA 8-OHdG seviyeleri kanser olmayan dokulara oranla ($p<0.0001$) daha yüksek bulunmuştur (1).

Deri

Kutanöz leishmaniasis *Leishmania* parazitinin neden olduğu kronik infeksiyöz ve granülatöz bir deri hastalığıdır. 25 Kutanöz leishmaniasis hastalarında DNA hasarı, MDA (Malondialdehid) ve total peroksit (TP) konsantrasyonları kontrol gruba oranla daha yüksek ve istatistiksel olarak daha anlamlı ($p<0.001$, $p<0.01$, $p<0.001$) bulunmuştur. Plazma protein karbonil miktarları yüksek olmasına rağmen istatistiksel anlam oluşturmamıştır (44).

DNA hasarına neden olduğu bilinen UV radyasyon ve güneş ışığı deri kanserinin oluşumundan da sorumludur. Primidin foto ürünlerinin ultraviyole ışınlarının neden olduğu mutasyon ve karsinogenezis de büyük rol oynamaktadır. Beehler ve arkadaşlarının (1992) yaptığı çalışmada UV radyasyonunun kültüre edilmiş fare keratinositlerinde 8-OHdG'nin arttığını göstermişlerdir. Hattori ve arkadaşlarının (1994) yaptıkları çalışmada tek büyük doz UVB'ye maruz kalınmasından sonra tüysüz farelerin epidermisinde 8-OHdG'nin varlığı görülmüştür.

Psoriasisli ve atopik dermatitisli hastalarda oksidatif stres değerlendirilmesi yapılmıştır. 29 psoriasisli hasta, 21 atopik dermatitisli hastadan ve 20 kontrol grubundan idrar örnekleri toplanmıştır. Nitrik oksit metaboliti olarak nitrat, lipid peroksidasyon ürünü olarak malondialdehid ve DNA oksidasyon ürünü olarak 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) ölçümü yapılmıştır. Sonuçta idrar nitrat ve 8-OHdG seviyeleri kontrol grubuna göre psoriasisli hastalarda daha yüksek bulunmuştur. Psoriasisli ve atopik dermatitis de idrar nitrat seviyeleri ve malondialdehid seviyeleri doğru orantılı olmasına rağmen idrar 8-OHdG seviyesi ile bağıntılı bulunmamıştır (53). Tsuboi ve ark. (1998) atopik dermatitisli hastalarda yaptığı

diğer bir çalışmada; 8-OHdG seviyesinin kontrol grubuna göre ($P < 0.0001$) anlamlı olarak yükseldiğini gözlemlemişlerdir.

Atopik dermatitis de oksidatif DNA hasar ürünü olarak idrarda 8-OHdG'ye 17 hasta ve 17 gönüllüye bakılmıştır. Aynı zamanda eozinofil, total IgE ve laktat dehidrogenaz-5 periferik kanda klinik parametre olarak bakılmıştır. 8-OHdG eliza yöntemi ile bakılmış olup, anlamlı olarak kontrol grubuna göre ($p < 0.0001$) yüksek bulunmuştur. Diğer parametrelerde 8-OHdG ile pozitif korelasyon bulunmuştur (64).

Barsak

Ülseratif kolitis (UC) ve Crohn hastalığı (CD) etiyojisi bilinmeyen akut ya da kronik intestinal enfeksiyonla karakterize hastalıklardır. Bu hastalar normal populasyona oranla kolorektal karsinoma gelişiminde risk altındadırlar. Oksidatif DNA hasarı ve endojenik antioksidan savunma inflamatuvar barsak hastalarında tanımlanmıştır. 8-hidroksideoksiguanozin (8-OHdG), nitrik oksit (NO) ve glutatyon peroksidaz (G-Px), süperoksit dismutaz (SOD) plazma seviyelerine IBD hastalarında bakılmıştır. 8-OHdG, NO ve G-Px aktiviteleri hasta grupta kontrol gruba oranla plazma seviyeleri ($p < 0.02$, $p < 0.001$, $p < 0.001$) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (11).

Mide

Yaşları 20-39 arasında değişen 555 sağlıklı kişiyi kapsayan deneklerden oluşan çalışmada eliza yoluyla *Helicobacter pylori* antikor taraması serumdan yapılmıştır. Demografik diyet, sigara ve alkol verileri anket yolu ile elde edilmiştir ve yeni geliştirilmiş eliza kiti ile 8-OHdG için 24 saat boyunca idrar örnekleri incelenmiştir. 281 kişi 8-OHdG için 24 saat içinde yeterli miktarda idrar örneği sağladı ve saptanabilir şekilde 8-OHdG'ye rastlanıldı. 24 saat boyunca idrar kreatinin ve demografik faktörler ayarlandıktan sonra *Helicobacter pylori* enfeksiyonuna sahip olmayanlar bu enfeksiyona sahip olanlara oranla çok daha fazla miktarlarda 24 saatlik idrar 8-OHdG'ye sahiptirler. ($p=0.008$). *Helicobacter pylori* enfeksiyonu yüksek oranda idrardaki azalmış atılımı ile ilişkilendirilmiştir. Beklenmeyen sonuç göstermektedir ki ya DNA onarımı enfeksiyonuna sahip kişilerde azdır ve bu inflamasyon ekleme radikallerini yok eder ya da 8-OHdG gastrik hasarın doğru bir ölçütü olmadığını gösterir (68).

40 gastrik karsinoma örneği cerrahi rezeksiyonla alınmış ve 8-OHdG seviyelerine HPLC-ECD ile bakılmıştır. Sonuçta kanserli dokuda kanserli olmayan dokuya oranla 8-OHdG seviyeleri daha yüksek bulunmuştur. Ek olarak *Helicobacter pylori* ile enfekte kişilerde *Helicobacter pylori* ile enfekte olmayan kişilerden daha yüksek 8-OHdG konsantrasyonlarına rastlanılmıştır. Dahası evre 3 ve 4'de, evre 1 ve 2'den daha yüksek 8-OHdG seviyeleri görülmüştür (7).

Romatoid artrit

8 sağlıklı yaşlı (65-80 yaş) ve 8 sağlıklı genç (22-30 yaş) her iki cinsiyet olmak üzere ve romatoid artritli 8 erişkinde (25-65 yaş) idrarda 8-OHdG düzeylerine bakılmıştır. Bazal 8-OHdG seviyeleri romatoid artrit hastalarda sağlıklı genç gruba ($p < 0.001$) ve yaşlı gruba ($p < 0.05$) göre yüksek seviyelerde tespit edilmiştir (58).

Manyetik alan etkisi

Yokuş ve arkadaşlarının 2008 yılında yaptıkları çalışmada 8-hidroksiguanozin (8-OH-Gua), 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin (FapyGua) ve 4,6-diamino-5-formamidopirimidin (FapyAde) düzeylerine düşük frekanslı magnetik alanların (ELF-MF) rat lökositlerindeki genotoksik etkilerine bakılmıştır. 13 erkek sprague-dawley rat dört gruba ayrılmıştır. Birinci ($n=3$) ve ikinci grup ($n=4$) 10 ay boyunca günde 2 saat olmak üzere 100uT ve 500uT ELF-MF etkisine bırakılmıştır. Üçüncü grupta ($n = 3$) aynı prosedürler uygulanmış ancak ELF jeneratör kapalı tutulmuştur. Sonuç olarak mutajenik memeli hücrelerinde FapyGua, FapyAde ve 8-OHdG'nin artışı kontrol grubuna göre anlamlı olarak gözlenmiştir.

Sigara Kullanımı

Inoue ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptıkları çalışmada kronik sigara içiciliği ve oksidatif hasar ilişkisine bakılmıştır. Oksidatif hasar belirteci serum seviyesi, 8-OHdG 20 sağlıklı erkek içicide ve 8 sağlıklı sigara kullanmayanlarda ölçülmüştür. İçmeyenlere oranla içicilerde 8OHdG seviyesi büyük oranda yüksek çıkmıştır. 20 içiciden 10'u 4 haftalık süreyle sigara kullanımından yoksun bırakılmıştır. Onların 8-OHdG seviyeleri sigara kullanımından yoksun bırakılarak büyük oranda azaltılmıştır. Geri kalan on kişi sadece sigara kullanımından yoksun bırakılmakla kalmamış günde ağızdan 2 gr C vitamini almışlardır. Onlarında 8-OHdG seviyeleri büyük oranda

azalmıştır. Fakat sigaradan yoksun bırakılan grup ile sigaradan yoksun bırakılıp C vitamini alan grup arasında çok fazla bir farklılık yoktur. Bu farklılıklar gösterir ki kronik sigara kullanımı oksidatif DNA hasarını artırır fakat bu hasar sigara kullanımından yoksun bırakılarak tamir edilmiştir ve C vitamini bu tamiri hızlandırmayabilir. DNA hasarının ışığında, sigara kullanılmaması teşvik edilmelidir.

Pasif içiciliğin kanserin gelişiminde rol oynadığına dair birçok veri bulunmaktadır ve fakat bunun için mekanizmalar anlaşılmaz kalmaktadır. Çevresel sigara dumanı maruziyeti ve DNA hasarının intrasellüler serum seviyelerinin ilişkisini 8-OHdG ve geneldeki sigara içenlerle içmeyenler üzerinde araştırılmıştır. Hücre içi 8-OHdG ve DNA hasarı erkeklerde kadınlara oranla daha fazla olmasına rağmen 8-OHdG serum seviyeleri cinsiyetlere göre değişmedi. Ne 8-OHdG DNA hasarı ne de serum seviyeleri maruziyetle ilişkili bulunmamıştır (9).

Sonuç

Organizmada, çeşitli yollarla oluşan serbest radikallerle antioksidan savunma sistemi denge halinde olmakla beraber serbest radikallerin organizmadan yeterince temizlenemediği durumlarda çeşitli metabolik hastalıklara, yaşlanmaya, kansere ve hatta genetik materyal olan DNA yapısındaki modifikasyonlara neden olabilmektedir.

Genel olarak yapılan çalışmalarda hastalıklarla oksidatif hasar belirteçleri ilişkilendirilmekle beraber seviyelerinin hastalıkla paralel seyrettiği de gözlenmiştir. Ancak aynı hastalıklarda ayrı çalışmalarda farklı sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Bu alanda yapılacak olan her yeni çalışma 8-OHdG tanı aracı hastalıkların presemptomatik aşamasında yol gösterici olarak kullanılabilir. Aynı zamanda 8-OHdG ölçümü erken tedavi aşamasında yardımcı bir belirteç olarak da kullanımı fayda sağlayacaktır.

Hayvanlarda yapılan çalışmaların çoğu deneysel olmakla beraber ele alınan diğer çalışmalar da veteriner hastalıkları ile ilgili yeterli veri görülmemektedir. DNA hasar ürününün tespitinde ve Veteriner Hekimlikte diğer hastalıklarla da ilişkilendirilmesinin hastalıkların moleküler düzeyde anlaşılması teşhis ve tedaviye yardımcı unsurların olması kaçınılmaz olacaktır. Veteriner hastalıkları ile oksidatif hasar mekanizması arasındaki ilişkinin

gösterilmesi için yeni çalışmaların gerçekleştirilmesi gerekli görülmektedir.

Kaynaklar

1. Akira M, Ikeda T, Enomoto K et al (2000). Increased formation of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, in human breast cancer tissue and its relationship to GSTP1 and COMT genotypes. *Cancer Lett.* 151: 87-95.
2. Alam Z I, Jenner A, Daniel S E et al (1997). Oxidative DNA damage in the parkinsonian brain: an apparent selective increase in 8-hydroxyguanine levels in substantia nigra. *J Neurochem.* 69: 1196-1203.
3. Beehler, BC, Przybyszewski, J, Box, HB, Kulesz-Martin, F (1992). Formation of 8-hydroxydeoxyguanosine within DNA of Mouse keratinocytes exposed in culture to UVB and H₂O₂. *Carcinogenesis* 13: 2003-2007.
4. Bogdanov M B, Andreassen O A, Dedeoğlu A, Ferrante R J, Beal M F (2001). Increased oxidative damage to DNA in a transgenic Mouse model of Huntington's disease. *J Neurochem.* 79: 1246-1249.
5. Bogdanov M, Brown R H, Matson W et al (2000). Increased oxidative damage to DNA in ALS patients. *Free Radical Bio Med.* 7: 652-658.
6. Breen A P, Murphy J A (1995). Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Radical Bio Med.* 8(6):1033-77.
7. Chang C S, Chen W N, Lin H H, Wu C C, Wang C J (2004). Increased oxidative DNA damage, inducible nitric oxide synthase, nuclear factor B expression and enhanced antiapoptosis-related proteins in Helicobacter pylori-infected non-cardiacgastric adenocarcinoma. *World J Gastroentero.* 10(15):2232-2240.
8. Chuma M, Hige S, Nakanishi M et al (2008). 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine is a risk factor for development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis C virus infection. *J Gastroen Hepatol.* 23: 1431-1436.
9. Collier A C, Dandge S D, Woodrow J E, Pritsos C A (2005). Differences in DNA damage in non smoking men and women exposed to environmental

- tobacco smoke (ETS). *Toxicol Lett.* 158: 10-19.
10. Dandona P, Thusu K, Cook S et al (1996). Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. *Lancet.* 347 (8999):444-445.
 11. Dinçer Y, Erzin Y, Himmetoğlu S, Güneş K N, Bal K, Akçay T (2007). Oxidative DNA damage and antioxidant activity in patients with inflammatory Bowel Disease. *Digest Dis Sci.* 52: 1639-1641.
 12. Dirksen ML, Blakely WF, Holwitt E, Dizdaroğlu M (1988). Effect of DNA conformation on the hydroxyl radical-induced formation of 8,5'-cyclopurine 2'-deoxyribonucleoside residues in DNA. *Int J Radiat Biol.* 54(2): 195-204.
 13. Dizdaroğlu M, Holwitt E, Hagan M, Blakely W (1986). Formation of cytosine glycol and 5,6-dihydroxycytosine in deoxyribonucleic acid on treatment with osmiumtetroxide. *Biochem.* 235:531-536.
 14. Dizdaroğlu M (1991). Chemical determination of free radical-induced damage to DNA. *Free Radical Bio Med.* 10: 225-242.
 15. Dizdaroğlu M (1992). Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. *Mutat Res.* 275:331-342.
 16. Dizdaroğlu, M (1992). Measurement of radiation-induced damage to DNA at the molecular level. *Int J Radiat Biol.* 61(2): 175-183.
 17. Dizdaroğlu M (1993). Quantative determination of oxidative base damage in DNA by stable isotope-dilution mass spectrometry. *Febs Lett.* 315(1):1-6.
 18. Dizdaroğlu M, Laval J, Boiteux S (1993). Substrate specificity of the Escherichia coli endonuclease III: excision of thymine- and cytosine-derived lesions in DNA produced by radiation-generated free radicals. *Biochem.* 32(45):12105-12111.
 19. Dizdaroğlu M, Bauche C, Rodriguez H, Laval J (2000). Novel substrates of Escherichia coli Nth protein and its kinetics for excision of modified bases from Dna damaged by free radicals. *Biochem.* 39: 5586-5592.
 20. Dizdaroğlu, M (2005). Serbest Radikaller, DNA Hasarı, DNA onarımı ve Hastalıklarla ilişkisi. *Kurs Kitabı.*
 21. Dizdaroğlu M, Jaruga P, Birincioğlu M, Rodriguez H (2002). Free Radical-Induced Damaged to DNA: Mechanisms and measurement. *Free Radical Bio Med.* 32(11): 1102-1115.
 22. Dong QY, Cui Y, Chen L, Song J, Sun L (2008). Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine levels in diabetic retinopathy patients. *Eur J Ophthalmol.* 18(1): 94-98.
 23. Ercan N, Fidancı U R (2012). Piyodermal köpeklerde 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyleri. *Ank Üniv Vet Fak Derg.* 59: 163-168.
 24. Evans M D, Dizdaroğlu M, Cooke M S (2004). Oxidative DNA damage and disease induction, repair and significance. *Mutat Res.* 567: 1-61.
 25. Fidancı U R, Turgay F, Zengin S, Kargin F, Çelik S, Taşdemir U (2001). Genotipin Ankara Keçilerinde antioksidatif Metabolizma Üzerine Etkisi. *Turk J Vet Anim Sci.* 25: 975-981.
 26. Fujita S, Steenken S (1981). Pattern of OH radical addition to uracil and methyl- and carboxyl-substituted uracils. Electron transfer of OH adducts with N,N,N',N'-Tetramethyl-p-phenylenediamine and tetranitromethane. *J Am Chem Soc.* 103:2540-2545.
 27. Fraga C, Shigenaga M, Park J, Degan P, Ames B (1990). Oxidative damage to DNA during aging: 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA urine. *Proc Nat Acad Sci.* 87: 4533-4537.
 28. Gencer M, Ceyla E, Aksoy A, Uzun K (2005). Oksidatif stres benign ve malign akciğer hastalıklarının ayırıcı tanısında belirteç olabilir mi? *Akciğer arşivi* 6: 89-92.
 29. Halliwell B (2000). Why and how should we measure oxidative DNA damage in nutritional studies? How far we come? *Am J Clin Nutr.* 72: 1082-1087.
 30. Halliwell B (2007). Oxidative stress and cancer: have we moved forward? *Biochem J.* 401: 1-11.
 31. Hattori Y, Nishigori C, Tanaka T et al (1996). 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine is increased in epidermal cells of hairless mice after chronic ultraviolet B exposure. *J Invest Dermatol.* 107(5):733-737.

32. Hattori-Nakakuki, Y., Nisgiori, C., Okamoto, K., Imamura, S., Hiai, H., Toyokuni, S. (1994). Formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in epidermis of hairless mice exposed to near-UV. *Biochem Biophys Res Commun.* 201: 1132-1139.
33. Heidarpour M, Soltani S, Mohri M, Khoshnegah J (2012). Canine visceral leishmaniasis: relationships between oxidative stress, liver and kidney variables, trace elements, and clinical status. *Parasitol Res.*
34. Heidarpour M, Mohri M, Borji H, Moghdass E (2012). Oxidative stress and trace elements in camel (*Camelus dromedarius*) with liver cystic echinococcosis. *Vet Parasitol.* 187(3-4):459-63.
35. Helbock HJ, Beckman KB, Shigenaga MK et al (1998). DNA oxidation matters: The HPLC-electrochemical detection assay of 8-oxo-deoxyguanosine and 8-oxo-guanine. *Proc Natl Acad Sci.* 95: 288-293.
36. Herbert K A, Evans M D, Finnegan M et al (1996). A novel HPLC procedure for the analysis of 8-oxoguanine in DNA. *Free Radical Bio Med.* 20(3): 467-473.
37. Honda M, Yamada Y, Tomonaga M, Ichinose H, Kamihira S (2000). Correlation of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG), a biomarker of oxidative DNA damage, and clinical features of hematological disorders: a pilot study. *Leukemia Res.* 24: 461-468.
38. Inoue T, Hayashi M, Takayanagi K, Morooka S (2003). Oxidative DNA damage is induced by chronic cigarette smoking but repaired by abstinence. *J Health Sci.* 49(3):217-220.
39. Ishizakai M, Yoshida K, Nishimoto N et al (2004). Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) in patients with chronic liver diseases. *Rinsho Byori.* 52(9):732-736.
40. Jaruga P, Zastwany T H, Skokowski J, Dizdaroğlu M, Olinski R (1994). Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme activities in human lung cancer. *Febs Lett.* 341: 59-64.
41. Jaruga P, Rodriguez H, Dizdaroğlu M (2001). Measurement of 8-hydroxy-2'-deoxyadenosine in DNA by liquid chromatography/mass spectrometry. *Free Radical Bio Med.* 31(3): 336-344.
42. Kasai, H. (2002). Chemistry-based studies on oxidative DNA damage formation, repair and mutagenesis. *Free Radical Bio Med.* 33(4): 450-456.
43. Keleş H, Fidan F, Çiğerci H, Küçükkurt İ, Karadaş E (2010). Increased DNA damage and oxidative stress in chickens with Natural Marek' Disease. *Vet Immunol Immunop.* 133: 51-58.
44. Koçyiğit A, Keleş H, Selek S ve ark (2005). Increased DNA damage and oxidative stress in patients with cutaneous leishmaniasis. *Mutat Res.* 585: 71-78.
45. Koppele J M, Lucassen P J, Sakke A N et al (1996). 8OHdG levels in brain do not indicate oxidative DNA damage in Alzheimer's disease. *Neurobiol aging.* 17(6):819-826.
46. Köken, T, Kahraman, A, Serteser, M, Gökçe, Ç. (2004). Hemodiyaliz ve oksidatif stres. *Kocatepe Tıp Dergisi.* 5: 9-13.
47. Lin H, Jenner A, Ong C et al (2004). A high-throughput and sensitive methodology for the quantification of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine: measurement with gas chromatography-mass spectrometry after single solid-phase extraction. *Biochem.* 380: 541-548.
48. Loft S, Nielsen A, Jeding IB, Vistisen K, Poulsen HE (1993). 8-Hydroxydeoxyguanosine as a urinary biomarker of oxidative DNA damage. *J Toxicol Env Health.* 40(2-3): 391-404.
49. Long D J, Matson W R, Juhl A R et al (2012). 8OHdG as a marker for huntington disease progression. *Neurobiol Dis.* 46: 625-634.
50. Martinis B, Bianchi M (2002). Methodology for urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine analysis by HPLC with electrochemical detection. *Pharmacol Res.* 46(2): 129-131.
51. Musarrat J, Arezina-Wilson J, Wani AA (1996). Prognostic and aetiological relevance of 8-hydroxyguanosine in human breast carcinogenesis. *Eur J Cancer.* 32A(7):1209-1214.
52. Nagashima M, Tsuda H, Takenoshita S et al (1995). 8-hydroxydeoxyguanosine levels in DNA of human breastcancers are not significantly different from those of non-cancerous breast tissues by the HPLC-ECD method. *Cancer Lett.* 90(2):157-162.

53. Nakai K, Yoneda K, Maeda R et al (2009). Urinary biomarker of oxidative stress in patients with psoriasis vulgaris and atopic dermatitis. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 23(12):1405-1408.
54. Nazifi S, Razavi SM, Kiani Amin P, Rakhshandehroo E (2011). Evaluation of erythrocyte antioxidant mechanisms: antioxidant enzymes, lipid peroxidation, and serum trace elements associated with progressive anemia in ovine malignant theileriosis. *Parasitol Res.* 109(2):275-81.
55. Okamoto K, Toyokuni S, Uchida K et al (1994). Formation of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and 4-hydroxy-2-nonenal-modified proteins in human renal cell carcinoma. *Int J Cancer.* 58(6): 825-829.
56. Pilger A, Ivancsits S, Germadnik D, Rudiger HW (2002). Urinary excretion of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine measured by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J Chromatogr B.* 778: 393-401.
57. Rajski S, Jackson B, Barton J (2000). DNA repair: models for damage and mismatch recognition. *Mutat Res.* 447: 49-72.
58. Rall L C, Roubenoff R, Meydani S N, Han S N, Meydani M (2000). Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) as a marker of oxidative stress in rheumatoid arthritis and aging: Effect of progressive resistance training. *J Nutr Biochem.* 11: 581-584.
59. Razavi SM, Nazifi S, Bateni M, Rakhshandehroo E (2011). Alterations of erythrocyte antioxidant mechanisms: antioxidant enzymes, lipid peroxidation and serum trace elements associated with anemia in bovine tropical theileriosis. *Vet Parasitol.* 180(3-4): 209-14.
60. Rehman A, Jenner A, Halliwell B (2000). Gas chromatography-mass spectrometry analysis of DNA: Optimization of protocols for isolation and analysis of DNA from human blood. *Method Enzymol.* 319: 401-417.
61. Şentürker S, Karahalil B, İnal M ve ark (1997). Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme levels in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Febs Lett.* 416: 286-290.
62. Tanaka H, Fujita N, Sugimoto R et al (2008). Hepatic oxidative DNA damage is associated with increased risk for hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C. *Brit J Cancer.* 98: 580-586.
63. Thier R, Brüning T, Kocher K et al (1999). Determination of urinary thymidine glycol using affinity chromatography, HPLC and post-column reaction detection: a biomarker of oxidative DNA damage upon kidney transplantation. *Arch Toxicol.* 73(8-9): 479-484.
64. Tsuboi H, Kouda K, Takeuchi H et al (1998). 8-Hydroxydeoxyguanosine in urine as an index of oxidative damage to DNA in the evaluation of atopic dermatitis. *Brit J Dermatol.* 138(6): 1033-1035.
65. Vladimirova O, O'Connor J, Cahill A et al (1998). Oxidative damage to DNA in plaques of MS brains. *Mult Scler.* 4(5): 413-418.
66. Wagner J R, Lier J E, Berger M, Cadet J (1994). Thymidine hydroxyperoxides: Structural assignment, conformational features and thermal decomposition in water. *J Am Chem Soc.* 116(6): 2235-2242.
67. Wiseman H, Kaur H, Halliwell B (1995). DNA damage and cancer: measurement and mechanism. *Cancer Lett.* 93: 113-120.
68. Witherell H L, Hiatt R A, Replogle M, Parsonnet J (1998). Helicobacter pylori infection and urinary excretion of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, an oxidative DNA adduct. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 7: 91-96.
69. Yano T, Shoji F, Baba H et al (2009). Significance of the urinary 8-OHdG levels as an oxidative stress marker in lung cancer patients. *Lung cancer.* 63: 111-114.
70. Yokuş B, Akdağ MZ, Daşdağ S, Çakır DU, Kızıl M (2008). Extremely low frequency magnetic fields cause oxidative DNA damage in rats. *Int J Radiat Biol.* Oct; 84(10): 789-795.
71. Yu S, Paetau-Robinson I (2006). Dietary supplements of vitamins E and C and β -carotene reduce oxidative stress in cats with renal insufficiency. *Vet Res Commun.* 30(3): 403-413.
72. Zhang F, Stott WT, Clark AJ et al (2007). Quantitation of 8-

hydroxydeoxyguanosine in DNA by liquid chromatography/positive atmospheric pressure photoionization tandem mass spectrometry. Rapid Commun Mass Sp. 21: 3949-3955.

Yazışma Adresi:

Yrd. Doç. Dr. Nazlı Ercan

Adresi: Cumhuriyet Üniversitesi
Veteriner Fakültesi Biyokimya
Anabilim Dalı Sivas

e-mail: nazliercan@yahoo.com

Fax: (0346) 219 18 12