

## DNA HASARI

Yıldız DİNÇER<sup>1</sup> ve Tülay AKÇAY<sup>1</sup>

### DNA DAMAGE

**Summary:** DNA molecule including all genetic specialities of individuals is exposed to damage as spontaneously and by environmental factors. Minor lesions are generally repaired by DNA repair systems. Major lesions induces programmed cell death, therefore organism conserves itself. Accumulation of moderate lesions on DNA causes mutations. Recent investigations have been shown that autoimmune diseases, aging and carcinogenesis are related with DNA damage as strongly. The aim of this review is to examine the pathways of DNA damage..

**Key Words:** DNA damage

**Özet:** Bir canlıya ait tüm genetik bilgiyi taşıyan DNA molekülü spontan olarak veya çevresel faktörlerin etkisiyle sürekli hasara maruz kalmaktadır. Küçük hasarlar çoğunlukla DNA onarım sistemleri tarafından onarılır. Yüksek düzeydeki hasarlar apoptozisi uyarak hücre ölümüne yol açar. Böylelikle organizma kendini korumuş olur. Orta derecedeki hasarların birikimi ise mutasyonlara neden olur. Son yıllarda yapılan çalışmalar, DNA hasarı ile inflamatuvar otoimmün hastalıklar, yaşlanma ve karsinogenez arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bu derlemenin amacı DNA üzerinde hasarın hangi yollarla oluştuğunu incelemektir.

**Anahtar Kelimeler:** DNA hasarı

### GİRİŞ

Genetik bilgiyi taşıyarak, nesilden nesile aktarılmasını sağlayan DNA üzerinde sürekli olarak hasar oluşmaktadır. Oluşan hasar DNA onarım sistemleri tarafından onarılmakla birlikte, hasarın çok fazla olduğu veya onarım sistemlerinin yetersiz kaldığı durumlarda DNA üzerinde oluşan hasar hücre ölümüne veya mutasyona neden olur (1). Her bir insan hücresinin DNA'sında günde yaklaşık olarak 104 adet kodlanmayan veya yanlış kodlamaya neden olan hasar meydana gelmektedir (2). DNA hasarının çeşitli hastalıkların etyolojisinde ve yaşlanmada önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir. Mitokondrial DNA'da nokta mutasyonlarının birikiminin yaşa bağlı olarak arttığı, bu nedenle özellikle mitokondrideki oksidatif DNA hasarının yaşlanma ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir (3). DNA bazlarından guaninin oksidatif modifikasyonu sonucu oluşan 8-OH guanin ile karsinogenez arasında güçlü bir korelasyon bulunduğu öne sürülmüştür (4). Çevresel karsinojenlerden biri olan nitrozaminlerin DNA

bazlarını alkilleyerek karsinojenik etki gösterdiği (5); N-nitrozo bileşiklerinin mide, özefagus, mesane kanserlerinin etyolojisinde önemli rol oynadığı (6); romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus gibi inflamatuvar otoimmün hastalıklarda DNA alkilasyon hasarının onarımının yetersiz olduğu (7) bildirilmiştir.

DNA üzerinde oluşan hasar iki grupta incelenebilir:

1. Kendiliğinden değişimler sonucu oluşan hasar
2. Çevresel hasar

#### 1. Kendiliğinden Değişimler Sonucu Oluşan Hasar

**Yanlış eşleşme:** Normal DNA metabolizması sırasında oluşan DNA hasarının en önemli nedeni DNA sentezi sırasında bazların yanlış eşleşmesidir. Ökaryotlarda sentezi yürüten DNA Polimeraz ve dışında tüm DNA polimerazların 3'-5' ekzontükleaz aktivitesi vardır. Buna rağmen DNA replikasyonu



sırasında normalde A=T, G=C eşleşmesi gerekirken, her 104 bazda bir yanlış baz yerleştirilmektedir. Ayrıca, onarım ve rekombinasyon işlemleri sırasında da yanlış baz yerleştirilir (8).

**Bazların kimyasal yapısında kendiliğinden meydana gelen değişimler:** Pürin ve pirimidin bazları keto-enol tautomerizm ve deaminasyon sonucu kendiliğinden değişime uğrarlar:

**Keto-enol tautomerizm:** Herhangi bir bazın yapısal izomerinin oluşumu o bazın eşleşme özelliğini değiştirir. Pürin ve pirimidinlerdeki azot atomları genelde -NH<sub>2</sub> formunda olduğu halde bazen tautomerik formuna (-NH) dönüşebilirler. Çok sık olmamakla birlikte timin veya guanin enol formda olduklarında birbirleriyle eşlenirken, adenin veya sitozin de -NH formunda iken kendi aralarında eşlenebilirler. Aynı şekilde guaninin C-6 oksijen atomu ya da timin çoğu zaman keto (C=O) formunda iken, nadiren enol (C-OH) formuna dönüştüğünde yeni konumları yanlış baz eşleşmesine uygun bir şekilde bulunur (9).

**Bazların deaminasyonu:** Sitozin ve adeninin spontan olarak deaminasyona uğraması sonucu sırasıyla urasil ve hipoksantin oluşmaktadır. DNA yapısında urasil oluşumu biyolojik açıdan büyük önem taşır. Urasili uzaklaştırma yeteneği olmayan E. Coli türlerinde kendiliğinden mutasyon hızının arttığı ve G≡C→A=T transisyonunun olduğu görülmüştür (10). DNA yapısındaki hipoksantin potansiyel olarak mutajeniktir. Replikasyon sırasında hipoksantin sitozin ile eşlenir ve A=T→G≡C mutasyonuna neden olur. Daha nadir olarak guaninin deaminasyonu ile de ksantin oluşmaktadır. Ksantin ne sitozin ne de timin ile eşleşemez ve DNA sentezi durur (9). Adenin deaminasyonu ile oluşan hipoksantin, guaninin deaminasyonu ile oluşan ksantin ve sitozinin deaminasyonu ile oluşan urasil DNA onarım sistemleri tarafından onarılrken, DNA metilasyonu ile oluşan 5-metil sitozinin deaminasyona uğraması sonucu oluşan timin, normal bir DNA bazı olduğu için onarım sistemleri tarafından gözden kaçırılır. Sonuçta C≡G→T=A mutasyonu meydana gelir (6, 11, 12).

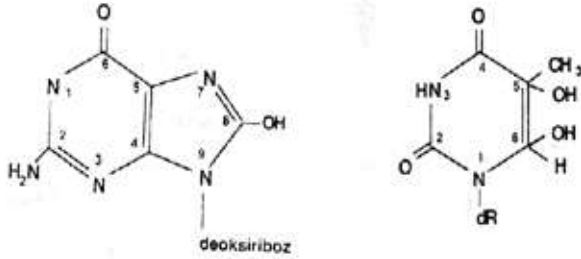
**Baz Kaybı:** DNA yapısında bulunan pürin ve pirimidin bazlarının termal dayanıklılığına bağlı olarak hidrolitik baz kaybı olur ve sonuçta pürin veya pirimidinleri uzaklaştırılmış bölgeler oluşur. Baz kaybı replikasyonu etkileyeceği gibi pürin veya pirimidinleri uzaklaştırılmış bölgede 3' fosfodiester bağının kolayca hidroliz olmasıyla zincir kırıkları da oluşur (9). Pirimidin nükleozidleri, pürin nükleozidlerinden daha karardır. Ancak enflamatuar dokularda aşırı olarak üretilen nitrik oksit (NO), 5-metil sitozinin deaminasyonuna ve DNA zincir kırıklarına yol açtığı bildirilmiştir (11).

**Oksidatif hasar:** Hücresel DNA serbest oksijen radikalleri (SOR) tarafından hasara uğratılır. SOR hücresel solunum, hücre yaralanması, fagositoz ve bazı enzimatik reaksiyonlar sırasında endojen olarak üretilebildiği gibi, çeşitli kimyasallar, hava kirliliği, sigara dumanı ve iyonizan radyasyon gibi çevresel faktörler tarafından da organizmada oluşturulmaktadır. SOR, DNA yapısındaki deoksiriboz fosfat iskeletinde hasara, pürin ve pirimidin bazlarının spesifik modifikasyonuna ve DNA-protein çapraz bağlarının oluşumuna neden olur (13, 14). Deoksiriboz iskeletinin oksidasyonu baz salınımını ve DNA zincir kırıklarını indüklerken, oksidatif baz modifikasyonları mutasyona yol açar (15, 16). Yapılan çeşitli araştırmalar (17, 18) süperoksit anyonunun ve onun dismutasyonu ile oluşan hidrojen peroksitin doğrudan DNA ile etkileşerek baz oksidasyonuna veya zincir kırıklarına yol açmadığı ancak, geçiş metal iyonları varlığında Fenton reaksiyonu ile oluşan ve daha aktif bir tür olan hidroksil radikalinin (OH) DNA hasarı oluşturduğunu göstermişlerdir.

Diğer taraftan endotel hücrelerinde ve beyinde argininden sentezlenen ve kan basıncının kontrolünde önemli rol oynayan NO, süperoksit anyonu ile reaksiyona girerek önemli bir oksidan olan peroksinitriti oluşturur. Peroksinitrit anyonunun kendisi karardır, fakat protonlanmış formu olan peroksinitroz asidin güçlü bir oksidan olduğu ve DNA hasarı oluşturduğu bilinmektedir (19).

DNA oksidasyon ürünleri içinde en çok oluşan ve en mutajenik olan 8-OH guanindir. Normal DNA

metabolizası sırasında bir günde her hücrede 178 adet 8-OH guanin kalıntısının oluştuğu belirlenmiştir (20). DNA yapısında bulunan 8-OH guaninin G=C→T=A mutasyonuna yol açtığı bilinmektedir (15, 21). 8-OH guanin oluşumu ile karsinogenez arasında doğrudan bir korelasyon olduğu in vivo olarak gözlenmiştir (4, 22). Günümüzde hassas yöntemlerle düzeyi belirlenebilen 8-OH guanin serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu DNA hasarının belirlenmesinde en çok kullanılan belirteçtir (19, 23). Diğer bir oksidasyon (hidroksilasyon) ürünü olan timin glikol hücre içinde oluştuğundan 24 saat sonra kandan temizlenerek idrara geçer. İdrarda bulunan deoksitimin glikol diyet kaynaklı değildir. İdrar timin glikol düzeyi de oksidatif DNA hasarının göstergesi olarak değerlendirilmektedir (24), (Şekil 1).



Şekil 1. 8-OH guanin ve timin glikol

Son yıllarda membran fosfolipidlerinin SOR tarafından oksitlemesi sonucu oluşan peroksidasyon ürünlerinin de DNA bazları ile etkileşerek ekzosiklik DNA baz ürünleri oluşturduğu belirlenmiştir. Bunlardan en fazla oluşan ve M1G olarak adlandırılan ekzosiklik pirimido-purinon, lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan malondialdehidin DNA üzerindeki guanin bazlarına kovalent bağlanmasıyla oluşmaktadır (25, 26). M1G sitotoksik ve mutajenik bir hasar olup kararsız yapıdadır. Molekülün yeniden düzenlenmesiyle halkanın açılmasına neden olur. (27). Diğer taraftan malondialdehide ek olarak yine lipid peroksidasyonu sonucu oluşan akrolein ve krotonaldehid, organizmada metabolik olarak epoksitlere dönüştürülürler ve bu epoksitler yine DNA üzerinde ekzosiklik baz ürünleri oluştururlar (26).

## 2. Çevresel Hasar

DNA hasarına yol açan çevresel faktörler fiziksel ve kimyasal olarak iki grupta incelenir:

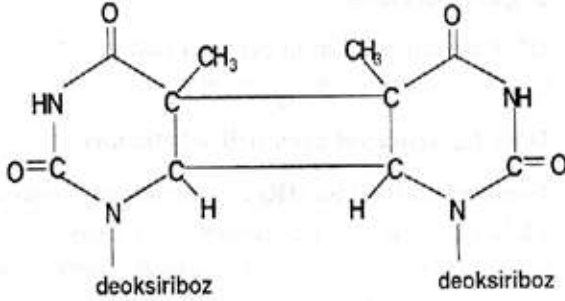
### DNA hasarına yol açan fiziksel etkenler:

**İyonizan radyasyon (İR) :** İyonizan radyasyonun (İR) DNA üzerine etkisi doğrudan veya dolaylı yolla olabilir. Doğrudan etki radyasyon enerjisinin doğrudan DNA ile etkileşimi sonucu oluşurken, dolaylı etki radyasyonla açığa çıkan enerji ile uyarılan moleküllerin DNA ile etkileşimi sonucu ortaya çıkar (28). İR etkisiyle, DNA'yı çevreleyen suyun O-H bağlarının hidrolitik ayrılması sonucu oluşan OH radikali (OH) DNA ile etkileşir (29). Sonuçta, baz hasarı ve zincir kırıkları meydana gelir. Oksijen varlığında İR sonucu doymuş halkalı baz türevleri oluşur. Bunların en önemlileri timin glikol, metil tartranil üre, 5-OH hidantoin, 5-OH metil urasil, 8-OH guanin, 4,6 diamino 5-formamido pirimidindir. Bu hasarlı bazların bir kısmı replikasyon sırasında eşlenmez ve transkripsiyon sırasında da çerçeve kayma mutasyonuna neden olurken, bir kısmı ise yanlış eşleşerek nokta mutasyonuna yol açar (29). Diğer taraftan, İR doğrudan zincir kırıkları oluşturmak yoluyla da replikasyonu durdurabilir (30).

**Ultraviyole (UV) :** 240-400 nm dalga boyunda olan UV ışınları DNA üzerinde iki tip hasara yol açabilir:

**1) Pirimidin dimerleri oluşumu:** UV ışınlarına maruz kalan DNA'da komşu pirimidinler arasında kovalent bağlar oluşur. En çok siklobütan pirimidin dimerleri oluşmaktadır (31). Daha az olmak üzere timin glikol, pirimidin hidratlar gibi siklobütan tipinde olmayan dipirimidin foto ürünleri de tesbit edilmiştir, (Şekil 2).

**2) DNA çapraz bağları ve zincir kırıkları:** UV radyasyon DNA-protein ve daha az olmak üzere DNA-DNA çapraz bağlarının oluşumuna neden olur (31). Ayrıca, UV'ye maruz kalan DNA'da zincir kırıkları oluştuğu da bilinmektedir (32).



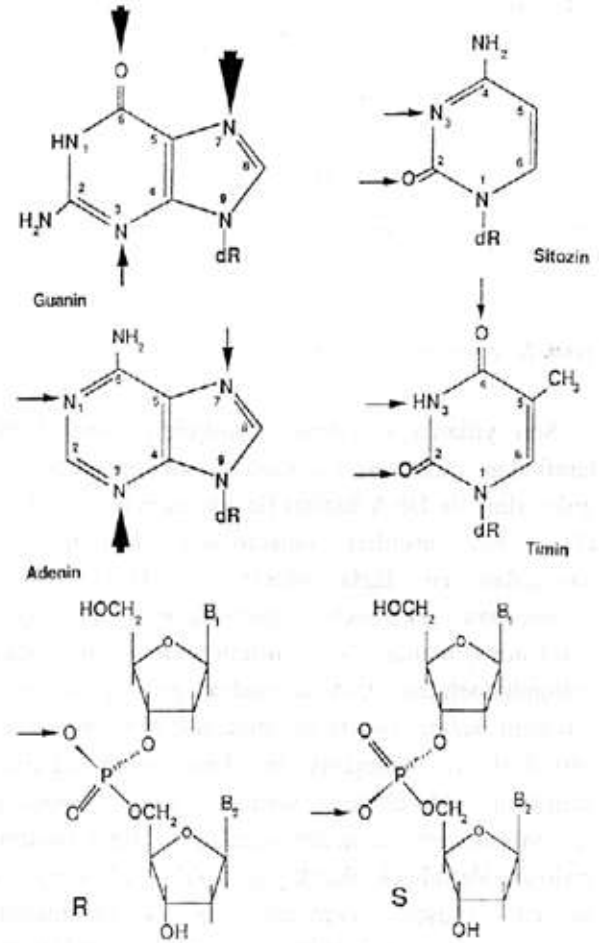
Şekil 2. Timin dimeri

### DNA hasarına yol açan kimyasal etkenler:

**Alkilleyici maddeler:** Alkilleyici maddeler çevresel mutajen ve karsinojenlerin en geniş grubu olup, pek çoğu anti-kanser ilaç olarak da kullanılır (33). Çeşitli gıda maddelerinde, bazı ilaçlarda ve tütünde bulunan alkilleyici maddelerin bir kısmı insan organizmasında sitokrom P450 sistemi tarafından metabolik aktivasyona uğrayarak, bir kısmı da enzimatik olmayan yolla elektrofilik bir yapı kazanırlar. Çok kısa yaşam süresi olan bu aktif ara ürünler DNA yapısındaki nükleofilik merkezlere büyük ilgi gösterirler. Bu bölgelere atak yaparak DNA alkilasyonuna neden olurlar. Deoksiribozla glikozil bağı oluşturan azot ve ekzosiklik -NH<sub>2</sub> grupları dışında polinükleotid yapısındaki tüm azot ve oksijenler alkilenebilirler, (Şekil 3). Metillenmiş pirimidin kalıntıları az görülen hasarlardır (34). Yalnız O<sup>4</sup> alkil timin hasarının replikasyon sırasında A→G geçişine yol açtığı düşünülmektedir (35). 5'-3' fosfodiester bağında yer almayan iki oksijen atomunun alkilasyonu sonucu alkil fosfotriester stereoizomerleri oluşur. Fakat bunların sitotoksik veya mutasyona yol açan hasarlar olmadığı bilinmektedir (36). En fazla alkilasyon, guaninin 6 numaralı oksijen atomu ile 7 numaralı azot atomu ve adeninin 3 numaralı karbon atomunda olmaktadır (35, 37). Guaninde 7 numaralı azot üzerine bağlanan bir etil veya metil grubu guaninin kodlama spesifikliğini değiştirmediği gibi replikasyonu da etkilemez. Bu hasar ya dikkate alınmaz ya da çok yavaş olarak onarılır (35). Fazla miktarda 7-metil

guanin içeren DNA'da esas potansiyel sorun, modifiye guaninin bir kısmında imidazol halkasının kendiliğinden açılması ve guaninin formamidopirimidin (Fapy) formuna dönüşmesidir. 7-metilguaninin tersine Fapy kalıntıları hasara bir baz kala DNA polimerazı durdurarak in vitro DNA sentezini inhibe etmektedir (38). DNA onarılmadığı takdirde bu sitotoksik bir hasar olarak kalır, fakat mutasyona neden olmaz.

Bir diğer sitotoksik hasar 3-metil adenindir. Adenin üzerindeki alkil grubu çift sarmal heliks DNA'nın minör oluğuna çıkıntı yapar ve bu durumda DNA polimeraz için blok oluşturduğundan replikasyonu durdurur (35).



Şekil 3. DNA üzerinde alkilasyon bölgeleri (Koyu oklar en sık alkilenen bölgeleri gösterir)



Alkilleyici maddelerin mutajenik ve karsinojenik etkilerinden en fazla sorumlu olan hasar O<sup>6</sup>-metil guanindir (O<sup>6</sup>-MG) (37). DNA yapısında normal olarak keto formunda bulunan guanin alkillenince anormal form olan enol formuna dönüşür. DNA polimeraz O<sup>6</sup>-MG'ni yeni sentezlenen kolda sitozin veya timin ile eşleştirir. Eğer O<sup>6</sup>-MG timin ile eşleşirse G=C→A=T mutasyonu olur (35,37,39,40).

En önemli alkilleyici maddeler dimetil nitrozamin, N-metil N-nitrozoüre, 1,2 dimetil hidrazin, metil metan sülfonat, dietilnitrozamin, N-etil N-nitrozoüre'dir. Alkilleyici maddeler organizmada endojen olarak da sentezlenebilirler. Endojen alkilleyiciler, organizmada bulunan pirimer aminlerin NO'den türeyen nitroz anhidrit, nitrat gibi nitrozolayıcı bileşikler tarafından nitrozolanması sonucu oluşurlar (19). Özellikle infeksiyöz ve inflamatuvar şartlarda artmış endojen nitrat oluşumu ve nitrozamin düzeyinin çeşitli kanser türleri için bir risk faktörü olduğu ileri sürülmektedir (6, 12, 41). DNA üzerinde oluşan başlıca alkilasyon ürünleri: 7-metil guanin, 3-metil guanin, O<sup>6</sup>-metil guanin, 7-metil adenin, O<sup>6</sup>-metil timin, O<sup>4</sup>-metil timin ve metil fosfotriesterlerdir.

**Çapraz bağlayıcılar:** Nitroz asit, mitomycin, nitrojen mustard, kükürt mustard, çeşitli platinyum türevleri, diamin diklorid, fotoaktif olmuş psoralenler DNA üzerinde zincir içi ve zincirlerarası çapraz bağlar oluştururlar. Bu, en önemli hasarlardan biridir. Çünkü çapraz bağlar oluştuğunda zincirler ayrılmaz, replikasyon ve transkripsiyon durur (9).

**Elektrofilik reaktanlara metabolize edilen kimyasallar:** Ksenobiotik olarak tanımlanan polar olmayan moleküller insan organizmasında metabolize edilerek suda çözünür (polar) moleküllere dönüştürülüp, idrarla atılırlar. Bu maddeler mikrozomal sitokrom P<sub>450</sub> sistemi ile metabolize olurken epoksitlere dönüşerek elektrofilik özellik kazanırlar ve DNA üzerindeki nükleofilik merkezlerle etkileşirler. Aromatik aminler (N-2 asetil 2-aminofluoran), polisiklik aromatik hidrokarbonlar (benzopren), bazı toksinler (aflatoksin), bazı alkilleyici maddeler (dimetil nitrozamin), fenitoin,

warfarin, rifampin bu gruba örnek olarak verilebilirler (34).

## SONUÇ

Kendiliğinden veya çevresel etkenlerle oluşan DNA hasarları kısa dönemde deoksiribonükleozid trifosfat havuzunun miktar ve bileşiminde değişikliklere, replikasyonun durmasına, transkripsiyon ve protein sentezinin inhibisyonuna, prolitik aktivitenin induksiyonuna; uzun vadede ise mutasyona ve kromozom anormalilerine neden olur. Son yıllarda yaşlanmanın, küçük DNA hasarlarının birikimi sonucu genomun bozulması ile ilişkili olduğu görüşü ağırlık kazanmakta ve DNA hasarı-kanser ilişkisini destekleyen araştırmaların sayısı günden güne artmaktadır. DNA hasarlarını özet olarak inceleyen bu derlemenin gelecekteki çalışmalara ışık tutacağını ümit ediyoruz.

## KAYNAKLAR

1. Halliwell, B., Aruoma, OI. (1991) DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *Febs Lett.* 281 (1,2), 9-19.
2. Lindahl, T. (1990) Repair of intrinsic DNA lesions. *Mutat Res.* 238, 305-311.
3. Michikawa, Y., Mazzucchelli, F., Bresolin, N., Scarlato Attardi, G. (1999) Aging- depended large accumulation of point mutations in the human mtDNA control region on replication. *Science.* 22;286 (5440), 774-779.
4. Floyd, R.A. (1990) The role of 8-hydroxyguanine in carcinogenesis. *Carcinogenesis.* 11(9), 1447-1450.
5. Bartsch, H., Montesano, R. (1984) Relevance of nitrosamines to human cancer. *Carcinogenesis.* 5 (11), 1381-1393.
6. Mirvish, S.S. (1995) Role of N-nitroso compounds (NOC) and N-nitrosation in etiology of gastric, esophageal, nasopharyngeal and bladder cancer and contribution to cancer of known exposures to NOC. *Cancer Lett.* 93, 17-48.
7. Harris, G., Asbery, L., Lawley P.D., Denman, A.M. (1982) Defective repair of O<sup>6</sup>-methyl-guanine in autoimmune diseases. *Lancet.* ii, 952-956.
8. Osheroff, W.P., Jung, H.K., Beard, W.A., Wilson, S.H., Kunkel TA. (1999) The fidelity of DNA polymerase during distributive and processive DNA synthesis. *J. Biol. Chem.* 274, 3642-3650.



9. Friedberg, E.C., Walker, G.C., Siede, W. (1995) DNA Repair and Mutagenesis, s. 6-42, ASM Press, Washington.
10. Duncan, B.K. (1980) Mutagenic deamination of cytosine residues in DNA. *Nature*. 287 (9), 560-561.
11. Nguyen, T., Brunson, D., Crespi, C.L., Penman, B.W., Wishnok, J.S., Tannenbaum, S.R. (1992) DNA damage and mutation in human cells exposed to nitric oxide in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89, 3030-3034.
12. Ohshima, H., Bartsch, H. (1994) Chronic infections and inflammatory processes as cancer risk factors: possible role of nitric oxide in carcinogenesis. *Mutat. Res.* 305, 253-264.
13. Dizdaroğlu, M. (1991) Chemical determination of free radical-induced damage to DNA. *Free Radic. Biol. Med.* 10, 225-242.
14. Shigenaga, M.K., Ames, B.N. (1991) Assays for 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine: A biomarker of in vivo oxidative DNA damage. *Free Radic. Biol. Med.* 10, 211-216.
15. Cheng, K.C., Cahill, D.S., Kasai, H., Nishimura, S., Loeb, L.A. (1992) 8-Hydroxy-guanine, an abundant form of oxidative DNA damage, causes G T and A C substitutions. *J. Biol. Chem.* 267 (1), 166-172.
16. Kuchino, Y., Mori, F., Kasai, H., Inoue, H., Iwai, S., Miura, K., Ohtsuka, E., Nishimura, S. (1987) Misreading of DNA templates containin 8-hydroxy deoxyguanosine at the modified base and at adjacent residues. *Nature*. 327, 77-79.
17. Aruoma, O.I., Halliwell, B., Dizdaroğlu, M. (1989) Iron ion-dependent modification of bases in DNA by the superoxide radical-generating system hypoxanthine/xanthine oxidase. *J. Biol. Chem.* 264 (22), 13024-13028.
18. Aruoma, O.I., Halliwell, B., Gajewski, E., Dizdaroğlu, M. (1989) Damage to the bases in DNA induced by hydrogen peroxide and ferric ion chelates. *J. Biol. Chem.* 264 (34), 20509-20512.
19. Thomas, S., Lowe, J.E., Knowles, R.G., Green, I.C., Green, M.H.L. (1998) Factors affecting the DNA damaging activity of superoxide and nitric oxide. *Mutat. Res.* 402, 77-84.
20. Shigenaga, M.K., Gimeno, C.J., Ames, B.N. (1989) Urinary 8-hydroxy-2'-deoksi-guanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 9697-9701.
21. Collins, A.R., Duthie, S.J., Fillion, L., Gedik, C.M., Vaughan, N., Wood, S.G. (1997) Oxidative DNA damage in human cells: the influence of antioxidants and DNA repair. *Biochem. Soc. Trans.* 25, 326-331.
22. Ronai, Z.A., Gradia, S., Peterson, L.A., Hecht, S.S. (1993) G to A transversions in codon 12 of the K-ras oncogene isolated from mouse lung tumors induced by 4-(N-metil-N-nitrozamino)-1-(3-piridil)-1-bütanon (NNK) and related DNA methylating and pyridyloxobutylating agents. *Carcinogenesis*. 14, 2419-2422.
23. Feig, D.I., Reid, T.M., Loeb, L.A. (1994) Reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cancer Res.* 54 (suppl), 1890s-1894s.
24. Cathcart, R., Schwiers, E., Saul, R.L., Ames, B.N. (1984) Thymine glycol and thymidine glycol in human and rat urine: A possible assay for oxidative DNA damage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 5633-5637.
25. Mao, H., Schnetz-Boutaud, N.C., Weissenseel, J.P., Marnett, L.J., Stone, M.P. (1999) Duplex DNA catalyses the chemical rearrangement of a malondialdehyde deoxyguanosine adduct. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96, 6615-6620.
26. Nath, R.G., Ocando, J.E., Chung, F.L. (1996) Detection of 1,N2-propanodeoxyguanosine adducts as potential endogenous DNA lesions in rodent and human tissues. *Cancer Res.* 56, 452-456.
27. Fink, S.P., Reddy, G.R., Marnett, L.J. (1997) Mutagenicity in escherichia coli of the major DNA adduct derived from the endogenous mutagen malondialdehyde. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 8652-8657.
28. Cadet, J., Berger, M. (1985) Radiation-induced decomposition of the purine bases within DNA and related model compounds. *Int. J. Radiat. Biol.* 47 (2), 127-143.
29. Janssen, Y.M.W., Houten, B.V., Borm, P.J.A., Mossman, B.T. (1993) Biology of disease. Cell and tissue responses to oxidative damage. *Lab. Invest.* 69 (3), 261-274.
30. Ford, M.D., Lavin, M.F. (1981) Ataxia telangiectasia: an anomaly in DNA replication after irradiation. *Nucleic Acids Res.* 9 (6), 1395-1404.
31. Marmur, J., Grossman, L. (1961) Ultraviolet light induced linking of deoksiribonucleic acid strands and its reversal by photoreactivating enzyme. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 47, 778-787.
32. Rosenstein, B.S., Ducore, J.M. (1983) Induction of DNA strand breaks in normal human fibroblasts exposed to monochromatic ultraviolet and visible wavelenghts in the 240-546 nm range. *Photochem. Photobiol.* 38 (1), 51-55.
33. Laval, F. (1990) Induction of proteins involved in the repair of alkylated bases in mammalian cells

- by DNA-damaging agents. *Mutat. Res.* 233, 211-218.
34. Wells, P.G., Winn, L.M., (1996) Biochemical toxicology of chemical teratogenesis. *Critical Reviews in Biochem. Mol. Biol.* 31 (1), 1-40.
35. Karran, P., Lindahl, T. (1985) Cellular defence mechanisms against alkylating agents. *Cancer Surv.* 4 (3), 583-599.
36. McCarthy, T.V., Lindahl, T. (1985) Methyl phosphotriesters in alkylated DNA are repaired by the Ada regulatory protein of E coli. *Nucleic Acids Res.* 13 (8), 2683-2698.
37. Saffhill, R., Margison, G.P., O'Connor, P.J. (1985) Mechanisms of carcinogenesis induced by alkylating agents. *Biochim. Biophys. Acta.* 823, 111-145.
38. Boiteux, S., O'Connor, T.R., Lederer, F., Gouyette, A., Laval, J. (1990) Homogenous Escherichia coli FPG protein. *J. Biol. Chem.* 265 (7), 3916-3922.
39. Ceccotti, S., Dogliotti, E., Gannon, J., Karran, P., Bignami, M. (1993) O<sup>6</sup>-Methylguanine in DNA inhibits replication in vitro by human cell extracts. *Biochemistry.* 32, 13664-13667.
40. Eadie, J.S., Conrad, M., Toorchen, D., Topal, M.D. (1984) Mechanism of mutagenesis by O<sup>6</sup>-methylguanine. *Nature.* 308 (8), 201-203.
41. Cooney, R.V., Hatch-Pigott, V., Ross, P.D., Ramseyer, J. (1992) Carcinogenic N-nitrosamine formation: A requirement for nitric oxide. *J. Environ. Sci. Health A.* 27 (3), 789-801.