

Piyodermalı köpeklerde idrarda 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) düzeyleri*

Nazlı ERCAN¹, Ulvi Reha FİDANCI²

¹Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Sivas; ²Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara.

Özet: Bu çalışmada, köpeklerin önemli bir deri hastalığı olan piyoderma ile antioksidatif metabolizma arasındaki ilişkinin incelenmesi ve oksidatif hasarın boyutunun 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) üzerinden gösterilmesi amaçlanmıştır. 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 malondialdehit (MDA) ve idrarda LC/MS/MS ile 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin düzeyleri ölçülmüştür. Piyoderma tanısı konmuş erkek ve dişi köpeklerde MDA ve 8-OHdG düzeylerinin yükseldiği saptanmıştır. Bu artış, istatistik olarak da anlamlı bulunmuştur ($p \leq 0.05$). Sonuç olarak piyodermaların, tedavi edilmediği takdirde DNA hasarına yol açabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar sözcükler: Köpek, piyoderma, oksidatif stres, MDA, 8-OHdG

Urine 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine (8-OHdG) Levels of Dogs in Pyoderma

Summary: In this study, it is aimed to investigate correlation between antioxidative metabolism and the significant skin disease pyoderma in dogs and to demonstrate the extent of oxidative damage with 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) levels. Healthy (n=13), females diagnosed as pyoderma (untreated) (n=16), healthy (n=14) males and males diagnosed as pyoderma (untreated) (n=12) consisted the four study groups. In this aspect two control and two diseased groups were formed according to gender. Blood and urine samples were obtained from all the groups and bacterial swabs were collected from the diseased groups as well. Plasma malondialdehyde (MDA) besides urine 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine levels measured with LC/MS/MS. MDA and 8-OHdG levels were increased in diseased groups. Differences among groups were found to be significant ($p \leq 0.05$). In conclusion in our opinion untreated pyoderma cases could result in DNA damage.

Key words: Dog, pyoderma, oxidative stress, MDA, 8-OHdG

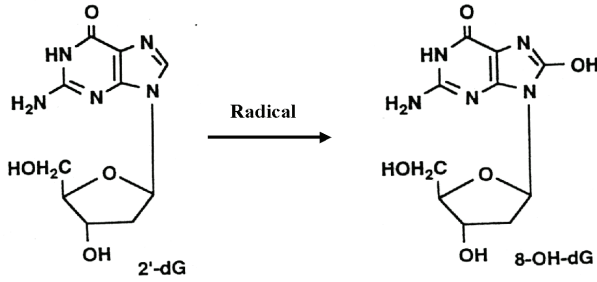
Giriş

Sağlıklı bireylerde normal metabolizma sonucunda oluşan reaktif oksijen türevleri (ROT), vücudun antioksidatif savunma sistemi tarafından etkisiz hale getirilir. Sağlıklı organizmada, oksijen radikalleri ile antioksidatif savunma sistemi arasında bir denge vardır. Bu dengenin, radikallerin lehine bozulmasıyla ortaya çıkan duruma oksidatif stres denir (16). Kanser, aterosklerozis, Alzheimer hastalığı, artrit ve diyabeti kapsayan birçok hastalık ve yaşlanma; protein, lipid, karbonhidrat, DNA gibi biyolojik maddeler üzerinde, oksidatif stresin yarattığı bozukluklarla ilişkilidir. Biyolojik maddelerdeki oksidatif stresin çoğunluğu DNA baz oksidasyonu olup, bu hastalıkların başlamasında ve ilerlemesinde rolü olduğu kabul edilmiştir (19).

Süperoksit radikalleri ve hidrojen peroksit oluşumunda, metal iyon bağlı hidroksil (OH) radikalleri yer

almaktadır. İyonize radyasyon ve hücrel su arasındaki etkileşim neticesinde OH radikalleri ve diğer serbest radikaller oluşur (4). Hidroksil radikalleri gibi serbest radikallerin, DNA'da oluşturduğu oksidatif hasar; baz ve şeker hasarına, zincir kırıklarına ve DNA protein çapraz bağlanması gibi çoklu bozuklukları içeren değişikliklere neden olur. Pürinden üretilmiş hasarlı yapı 8-hidroksiadenin (8-OH-Ade) olup DNA'daki adeninin C-8 pozisyonuna hidroksil radikallerinin eklenmesiyle ve oksidatif C8-OH ekleme radikallerinin devamıyla oluşmaktadır. Bu içerik, deneysel koşullar altında in vitro ve in vivo olarak serbest radikallerin DNA hasarındaki tanımlandığı başlıca ürünüdür (13). Birçok farklı oksidatif hasar ürününün tanımlanmasına rağmen guanin türevi hasarı olan 8-OHGua ve ona bağlı deoksintükleosid 8-OHdG (Şekil 1) birçok çalışmaya konu olmuştur (7). 8-OHdG'nin idrar seviyeleri, DNA'nın endojenik oksidatif hasarının önemli belirteçidir (18).

* Bu çalışma aynı başlıklı doktora tezinden özetlenmiştir. Tez çalışması etik kurallara uygun olarak yapılmıştır.



Şekil 1. 8-OHdG (7)
Figure 1. 8-OHdG (7)

İnsanda 8-OHdG'in ölçümü için HPLC-ECD, GC-MS, LC-MS ve immunokimyasal yöntemler önerilmiştir (22). LC/ECD (elektrokimyasal deteksiyonla kombine yüksek performanslı sıvı kromatografisi) ve LC/MS/MS (tandem kütle spektrometresi) 8-OHdG ölçümünde kullanılan başlıca metottur (5).

Reaktif oksijen türleri ve serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonu, doku hasarlı birçok hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır. Bir lipid peroksidasyon ürünü olan malondialdehit ölçümü, oksidatif stresin değerlendirilmesinde önemli bir belirteç olarak uzun süredir kullanılmaktadır. Malondialdehit gibi sekonder ürünlerin ölçümü, indirekt olarak lipid peroksidasyon göstergesi olarak değerlendirilmiştir (25).

Piyoderma, derinin bakteriyel enfeksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Piyoderma, köpeklerde kedilere oranla daha fazla görülmektedir (1). 1980'lerde köpek piyoderması ile ilişkili olan organizmalar olarak *Staphylococcus intermedius* ve *S. aureus* tesbit edilmiştir (9). Fakat *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *E.coli*, *Actinomyces spp.*, *Actinobacillus spp.*, *Fusobacterium spp.* ve *Mycobacterium spp.* piyodermaya neden olabilmektedir (24). Bakteriyel kültür ve duyarlılık testleri için alınan svap örnekleri, tanıyı doğrulamakta ve antibiyotik seçiminde yol gösterici olmaktadır (10).

Son yıllarda, deri hastalıklarında antioksidatif metabolizmanın rolüne ilişkin çalışmalarda önemli sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada, köpeklerde gözlenen deri hastalıkları içerisinde önemli bir yere sahip olan piyoderma ile antioksidatif metabolizma arasındaki ilişkinin incelenmesi ve oksidatif hasarının boyutunun 8-OHdG üzerinden gösterilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışma, Ankara Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun (18.02.2008 tarih ve 16-5622 sayılı yazı eki) 23.01.2008 tarih ve 2008-17-66 sayılı izni ile gerçekleştirildi.

Çalışmaya dahil edilen hasta köpekler, çeşitli deri hastalıkları nedeniyle Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Kliniği ile özel veteriner kliniklerine getirilen köpekler arasından seçildi. Klinik muayene ve mikrobiyolojik bulguların değerlendirilmesi sonucunda piyoderma teşhisi kesinleştirilen

köpekler, erkek ve dişi olarak ayrıldı ve çalışmanın hasta grubuna alındı. Kontrol grubu ise, herhangi bir deri hastalığı olmayan, yapılan klinik muayene sonucunda sağlıklı kabul edilen sahipli köpeklerden oluşturuldu.

Piyodermalı köpeklerin deri yüzeylerinden alınan svaplardan sırasıyla kanlı agar ve MacConkey agara ekimler yapılarak besiyerleri 37°C'de 24 saat inkube edildi. Bu besiyerlerinden kanlı agarda üreyen kolonilerden Gram boyama, katalaz, koagülaz ve DNase testleri yapıldı. Gram pozitif kok şeklindeki mikroorganizmalar Microbact Staphylococcal 12S identifikasyon sistemi (Oxoid) ile değerlendirildi. Kanlı agar ve MacConkey'de üreyen kolonilere, ayrıca Gram negatif etkenlere yönelik identifikasyon testleri (Gram boyama, oksidaz, katalaz, oksidasyon fermentasyon, hareket muayenesi, indol, vb.) uygulandı.

Köpeklerde kan örnekleri *Vena cephalica antebraçhii*'den heparinli tüpler kullanılarak alındı. İdrar örneklerinin toplanmasında köpek idrar kateteri kullanıldı. Alınan kan ve idrar örnekleri ise Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Klinik Biyokimya Laboratuvarına getirildi. Heparinli tüplere alınan kan örnekleri 4000 rpm de 10 dakika santrifüj edildikten sonra plazma numuneleri alınarak önce -20 °C'de, daha sonrada -80 °C'de analizler gerçekleştirilinceye kadar saklandı. İdrar örnekleri de -80 °C'de analiz gününe kadar herhangi bir işleme tabii tutulmadan muhafaza edildi. Örneklerde malondialdehit ve 8-OHdG analizleri üç ay içerisinde tamamlandı.

Plazma malondialdehit düzeyi Janero (12), Jentzsh ve ark. (14) ve Jo ve ark. (15) tarafından bildirilen yöntem kullanılarak belirlendi (27).

İdrar 8-OHdG ölçümünde Crow ve ark. (3) tarafından bildirilen yöntem kullanıldı ve LC/MS/MS cihazından yararlanıldı. Kolon sıcaklığı 40-55 °C'ye ayarlandı ve örnekler otomatik örnekleyici ile cihaza yüklendi. Sisteme 20 µl örnek verildi. Çalışmada iki farklı mobil fazdan faydalanıldı. Mobil faz A olarak metanol ve mobil faz B olarak ise 40 µl/dl formik asit içeren ultra saf su sisteme 0,5 ml/dakika akış hızı ile gönderildi. Analitleri kolondan almak için metanol gradienti kullanıldı. Yıkama hızı 15,0 µL/saniye olarak ölçüldü. 4-5 dakikalar arasında 8-OHdG piklerinin gözlenmesi sonrasında, 5-6 dakikalar arasında B'den % 80'lik metanol, 6 dakikadan sonra % 30'luk metanol ile gradient uygulandı ve 7. dakikada her bir örnek için analiz tamamlandı. Analiz sonrasında kolon % 50'lik metanol ile yıkama işlemine tabii tutuldu.

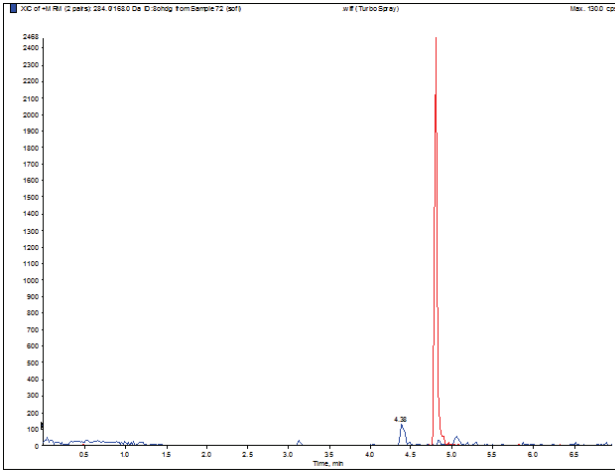
İdrar örneklerinin sistem için hazırlanmasında; önce örnekler çözdürüldü ve 13000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Her bir örnekten 1 ml süpernatant alınarak mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı ve üzerlerine 100 µl % 30 trikloroasetik asit ilave edilip proteinleri çöktürüldü. Örneklerin üzerine 10 µl internal standart ilave edilerek 10-15 saniye vortekste karıştırıldıktan sonra 13000 rpm de tekrar 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işleminden sonra, süpernatantlar alınarak cihaza yüklendi.

Elde edilen sonuçların gruplar arasında göstermiş olduğu farklılık ve bu farklılıkların istatistik önemlerinin gösterilmesi için Kruskal-Wallis varyans analizi ve Mann-Whitney U analizlerinden faydalanıldı (17).

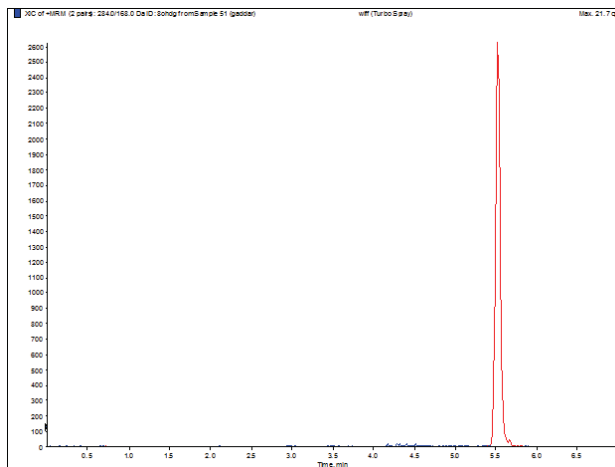
Bulgular

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na etken izolasyonu için gönderilmiş olan ve bu tez çalışmasına dahil edilen piyodermal köpeklerden alınan svapların sonuçlarında üreme gösteren etkenlere göre, 11 hastada (% 48) *Staphylococcus aureus*, 8 hastada (% 35) koagülaz negatif stafilokokkus (KNS), 2 hastada (% 8.5) *Escherichia coli* ile 2 hastada (% 8.5) KNS ve *E. coli* birlikte izole edildi. Biyokimyasal çalışmalarda bu etkenlere göre bir sınıflandırmaya gidilmedi.

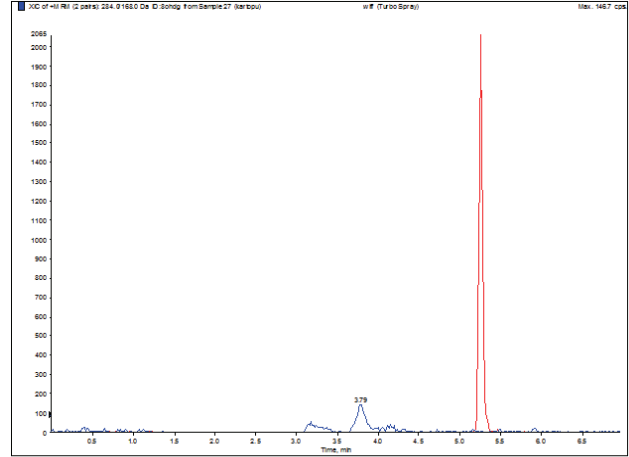
Çalışma standartları ve deneme için verilmiş örneklerin cihazda çalışılmasından sonra bu çalışmadaki hasta ve kontrol grubundaki bazı köpeklerin 8-OHdG kromatogramları aşağıda gösterilmektedir (Şekil 2, 3, 4 ve 5).



Şekil 2. Dişi kontrol grubundan 23 nolu köpeğe ait kromatogram
Figure 2. Chromatogram of the 23rd sample representing the Female Control group

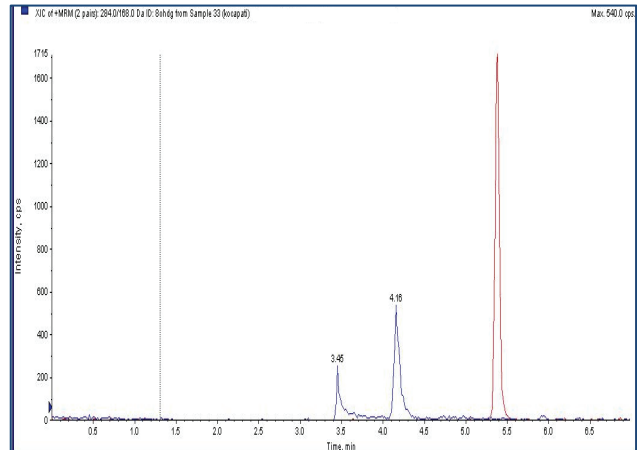


Şekil 3. Erkek kontrol grubundan 3 nolu köpeğe ait kromatogram
Figure 3. Chromatogram of the 3rd sample representing the male control group



Şekil 4. Dişi hasta grubundan 15 nolu dişi köpeğe ait kromatogram

Figure 4. Chromatogram of the 15th sample representing the female patient group



Şekil 5. Erkek hasta grubundan 7 nolu köpeğe ait kromatogram
Figure 5. Chromatogram of the 7th sample representing the male patient group

Tablo 1. Sağlıklı ve piyodermal köpeklerde plazma MDA ve idrar 8-OHdG düzeyleri

Table 1. Plasma MDA and urine 8-OHdG levels of healthy and diseased dogs.

	MDA (nmol/ml)	8-OHdG (nmol/L)
Sağlıklı	1.42 ± 0.19 n=27	22.44 ± 3.09 n=26
Piyodermalı	2.19 ± 0.33 n=28	65.35 ± 19.89 n=28
Sig.	p ≤ 0.05	p ≤ 0.05

Kontrol ve hasta gruplarına ait sonuçlar incelendiğinde (Tablo 1); piyodermal köpeklerin plazma MDA (2.19 ± 0.33 nmol/ml) ve idrar 8-OHdG düzeylerinin ($65,35 \pm 19,89$ nmol/L), sağlıklı köpeklere göre arttığı ve

bu artışın her iki parametre için de istatistik olarak anlamlı olduğu görülmektedir ($p \leq 0.05$).

Tablo 2. Sağlıklı ve piyodermalı dişi ve erkek köpeklerde plazma MDA ve idrar 8-OHdG düzeylerinin karşılaştırılması
Table 2. Comparison of plasma MDA and urine 8-OHdG levels in healthy and diseased female and male dogs with pyoderma

		MDA (nmol/ml)	8-OHdG (nmol/L)
Sağlıklı	Dişi	0.98 ± 0.15 n=13	25.87 ± 4.49 n=12
	Erkek	1.82 ± 0.31 n=14	19.50 ± 3.86 n=14
	Sig.	$p \leq 0.05$	$p \geq 0.05$
Piyodermalı	Dişi	2.25 ± 0.39 n=16	27.85 ± 5.69 n=16
	Erkek	2.14 ± 0.57 n=13	115.34 ± 42.56 n=12
	Sig.	$p \geq 0.05$	$p \leq 0.01$

Sağlıklı dişi ve erkek köpekler arasında, 8-OHdG düzeyleri yönünden gözlenen fark istatistik olarak anlamlı değildir (Tablo 2). Ancak, 8-OHdG düzeyi bakımından piyodermalı dişi ve erkek köpekler arasında 4 kat fark vardır ve piyodermalı erkek köpeklerde gözlenen bu artış istatistik olarak da önemlidir ($p \leq 0.01$).

Tablo 3. Cinsiyetlerine göre sağlıklı ve piyodermalı köpeklerde plazma MDA ve idrar 8-OHdG düzeylerinin karşılaştırılması
Table 4. Comparison of plasma MDA and urine 8-OHdG levels of healthy and diseased dogs with pyoderma according to gender.

		MDA (nmol/ml)	8-OHdG (nmol/L)
Dişi	Sağlıklı	0.98 ± 0.15 n=13	25.87 ± 4.49 n=12
	Piyodermalı	2.25 ± 0.39 n=15	27.85 ± 5.69 n=16
	Sig.	$p \leq 0.01$	$p \geq 0.05$
Erkek	Sağlıklı	1.82 ± 0.31 n=14	19.50 ± 3.86 n=14
	Piyodermalı	2.14 ± 0.57 n=13	115.34 ± 42.56 n=12
	Sig.	$p \geq 0.05$	$p \leq 0.01$

Tablo 3'de cinsiyetlerine göre sağlıklı ve piyodermalı köpeklere ait sonuçlar görülmektedir. Sağlıklı ve piyodermalı dişi köpekler arasında istatistik olarak anlamlı fark sadece MDA düzeyinde tesbit edilmiştir ($p \leq 0.01$). Sağlıklı dişi köpeklerde $0,98 \pm 0,15$ nmol/ml olarak ölçülen MDA düzeyi, piyodermalı köpeklerde $2,25 \pm 0,39$ nmol/ml olarak ölçülmüştür ($p \geq$

0.05). Dişi köpeklerde kontrol ve piyodermalı grup arasında 8-OHdG düzeyleri bakımından önemli fark gözlenmezken; erkek köpeklerde sağlıklı grupta $19,50 \pm 3,86$ nmol/L olan 8-OHdG düzeyi, piyodermalı erkek köpeklerde $115,34 \pm 42,56$ nmol/L düzeyine yükselmiş ve istatistik olarak da önemli bulunmuştur ($p \leq 0.01$). Erkek köpeklerde gruplar arasında MDA düzeyleri yönünden gözlenen fark önemli değildir ($p \geq 0.05$).

Tartışma ve Sonuç

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 (6).

Metabolik aktivitedeki oksidanlar, inflamasyon, radyasyon ya da toksinler nükleik asitlerde hasara yol açarak yaşlanma ve kansere katkıda bulunur. Yaklaşık 20 önemli oksidatif DNA hasar ürünü karakterize edilmiştir (8). Reaktif oksijen türlerinin ürettiği DNA hasar ürünlerinden 8-OHdG, ROT ile ilişkili hasarda geniş olarak kullanılan belirteçtir (28).

DNA'daki ve idrardaki 8-OHdG düzeyi insanlarda oksidatif stres belirteci olarak sıklıkla ölçülmektedir. Lökosit 8-OHdG ölçümü ile idrar 8-OHdG ölçümü kıyaslandığında; idrardaki ölçümü bazı avantajlar sunmaktadır. Bunlar; metodun invaziv olmaması, örnek hazırlamada ve derivatize işlemleri sırasında artifaktlar oluşturmamasıdır. 8-OHdG idrarda stabildir. Oksidatif DNA hasarının ve organizmadaki hücrelerin onarımı en çok 8-OHdG atılımına yansımaktadır. HPLC sistemi tandem kütle spektrofotometresi ve üçlü kütle spektrofotometresi ile kombine edilmektedir. İdrarda 8-OHdG ölçümü için tandem kütle spektrofotometresi ile kombine izotop dilüsyon sıvı kromatografisi yüksek hassasiyete ve spesifikliğe sahiptir (23).

Nakai ve ark. (2009) psoriasisli ve atopik dermatitisli hastalarda oksidatif stres değerlendirilmesi yapmışlardır. 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 (21). Tsuboi ve ark. (1998) atopik dermatitisli hastalarda yaptıkları bir çalışmada; 8-OHdG seviyesinin kontrol grubuna göre

($P < 0.001$) anlamlı olarak yükseldiğini gözlemlemiştir (26).

Kutanöz neoplazinin de içinde olduğu deri hastalıklarının patogenezinde reaktif oksijen türlerinin kontrolsüz salınımı rol almaktadır (2). Murtas ve ark. (2010) yaptıkları çalışma sonucunda, melanomun patogenezinde oksidatif DNA hasarının olduğu ve primer kutanöz melanomalı hastalarda tümör hücrelerinin çekirdeklerinde 8-OHdG'nin tespiti erken prognostik belirteç olabileceğini bildirmişlerdir (20).

Onsekiz vitiligolu farede oksidatif stres parametreleri olarak, katalaz, süperoksit dismutaz ve malondialdehid düzeyleri incelenmiştir. MDA seviyeleri vitiligolu farelerde kontrol grubundaki farelere göre anlamlı ($p < 0.001$) olarak yüksek bulunmuştur. SOD ve CAT seviyeleri ise kontrole göre düşük tespit edilmiştir. Sonuç olarak; vitiligonun patogenezinde oksidatif stresin rol oynadığı ve melanosit hasarında oksidatif stres kaynaklı olduğu düşünülmüştür (11).

Deri hastalıkları ile oksidatif hasar ilişkisinin araştırılması için yapılmış olan bu çalışmalarda, oksidatif stresin deri hastalıklarının patogenezinde rol almış olduğu tespiti ile bu çalışmada incelenen diğer bir deri hastalığı olan piyodermanın oksidatif hasar ürünü olan 8-OHdG ilişkilendirilmesinden sağlanan sonuçlar arasında paralellik gözlenmektedir.

Sonuçlar incelendiğinde, piyodermalı köpeklerde, sağlıklı gruba göre istatistiksel olarak da anlamlı yüksek 8-OHdG düzeyi saptanmıştır ($p \leq 0.05$). Oksidatif hasar ürünü olan 8-OHdG düzeylerinde gözlenen bu artış deri hastalıklarından olan piyodermanın organizmaya vermiş olduğu oksidatif hasarın bir göstergesi olarak düşünülmüştür. Yine piyodermalı köpeklerde MDA düzeylerindeki önemli artış ($p \leq 0.05$) bu bulguyu desteklemektedir.

8-OHdG düzeylerine göre, piyoderma özellikle erkek köpekleri etkilemektedir. Dişi köpeklerde piyodermanın etkisi oksidatif hasar yönü ile sınırlı kalmış ve dişi köpeklerde sadece MDA düzeylerinde önemli artış gözlenmiştir. Sağlıklı erkek ve dişi köpekler arasında 8-OHdG yönünden önemli fark tesbit edilememiş olması ve sağlıklı ve piyodermalı dişi köpekler arasında 8-OHdG yönünden farklılığın önemsiz bulunması, piyoderma ve cinsiyet ilişkisini vurgulamaktadır.

Piyodermalı köpeklerde oksidatif stresin etkilerinin bir DNA hasarı markeri olarak 8-OHdG üzerinden gösterildiği başka çalışmaya rastlanmamıştır. Piyodermalı köpekler üzerinde gerçekleştirilen bu çalışmada, piyoderma ile oksidatif DNA hasarının bir ürünü olan 8-OHdG'in idrardaki düzeyleri arasında özellikle ciddi bir ilişki olduğu görülmektedir. Dişi köpeklerde bir veya birçok koruyucu faktör rol oynamakta ve 8-OHdG düzeyleri erkek köpeklerde olduğu üzere bir artış kaydetmemektedir. Sonuç olarak piyodermanın yalnızca hayvanın derisinde hasara yol açmadığı, piyodermalı bu hayvanların tedavi edilmediği

durumlarda hasarın hücresel boyutta ve DNA üzerinde değişimlere yol açabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Köpeklerde deri hastalıkları ile antioksidatif metabolizma arasındaki ilişkinin gösterilmesi için yeni çalışmaların gerçekleştirilmesi gerekli görülmektedir.

Kaynaklar

1. **Aiello SE** (1998): *The Merck Veterinary Manual*. Eighth Edition. U.S.A.
2. **Bickers DR, Athar M** (2006): *Oxidative stress in the pathogenesis of skin diseases*. *J Invest Dermatol*, **126**, 2565-2575.
3. **Crow B, Bishop M, Kovalcik K, Norton D, George J, Bralley A** (2008): *A simple and cost effective method for the quantification of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine from urine using liquid chromatography tandem mass spectrometry*. *Biomed Chromatogr*, **22**, 394-401.
4. **Dizdaroğlu M, Gajewski E** (1990): *Selected-Ion Mass Spectrometry: Assays of Oxidative DNA Damage*. *Method Enzymol*, **186**, 530-544.
5. **Dizdaroğlu M, Jaruga P, Rodriguez H** (2001): *Measurement of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in DNA by high-performance liquid chromatography-mass spectrometry: comparison with measurement by gas chromatography-mass spectrometry*. *Nucleic Acids Res*, **29**, E12.
6. **Fidancı UR, Turgay F, Zengin S, Kargın F, Çelik S, Taşdemir U** (2001): *Genotipin Ankara Keçilerinde antioksidatif Metabolizma Üzerine Etkisi*. *Turk J Vet Anim Sci*, **25**, 975-981.
7. **Hattori Y, Nishigori C, Tanaka T, Uchida K, Nikaido O, Osawa T, Hiai H, Imamura S, Toyokuni S** (1996): *8-hydroxy-2'-deoxyguanosine is increased in epidermal cells of hairless mice after chronic ultraviolet B exposure*. *J Invest Dermatol*, **107**, 733-737.
8. **Helbock HJ, Beckman KB, Shigenaga MK, Walter PB, Woodall AA, Yeo HC, Ames BN** (1998): *DNA oxidation matters: The HPLC-electrochemical detection assay of 8-oxo-deoxyguanosine and 8-oxo-guanine*. *Proc Natl Acad Sci*, **95**, 288-293.
9. **Hill PB, Moriello KA** (1994): *Canine Pyoderma*. *Javma*, **204**, 334-340.
10. **Horvath C, Neuber A** (2007): *Management of canine pyoderma*. *Uk Vet*, **12**, 1-7.
11. **Jalel A, Yassine M, Hamdaoui M** (2009): *Oxidative stress in experimental vitiligo C57BL/6 mice*. *Indian J Dermatol*, **54**, 221-224.
12. **Janero D** (1998): *Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury*. *Free Radical Biol Med*, **9**, 515-540.
13. **Jaruga P, Rodriguez H, Dizdaroğlu M** (2001): *Measurement of 8-hydroxy-2'-deoxyadenosine in DNA by liquid chromatography/mass spectrometry*. *Free Radical Biol Med*, **31**, 336-344.
14. **Jentzsh AM, Bachmann H, Furst P, Biesalski HK** (1996): *Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids*. *Free Radical Biol Med*, **20**, 251-6.
15. **Jo C, Ahn DU** (1998): *Fluorometric analysis of 2-thiobarbituric acid reactive substances in turkey*. *Pout Sci March*, **77**, 475-80.

16. **Karaca Ş, Güder H** (2009): *Dermatolojide Antioksidan Sistem*. Turk J Dermatol, **3**, 32-39.
17. **Kutsal A, Alban O, Arpacık R**, (1990): *İstatistik Uygulamalar*. X+231. Bizim Büro Basımevi. Ankara.
18. **Lin H, Jenner A, Ong C, Huang S, Whiteman M, Halliwell B** (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 J, **380**, 541-548.
19. **Matsufuji H, Ochi H, Shibamoto T** (2006): *Formation and inhibition of genotoxic malonaldehyde from DNA oxidation controlled with EDTA*. Food Chem Toxicol, **44**, 236-241.
20. **Murtas D, Piras F, Minerba L, Ugalde J, Floris C, Maxia C, Demurtas P, Perra MT, Sirigu P** (2010): *Nuclear 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as survival biomarker in patients with cutaneous melanoma*. Oncol Rep, **23**, 329-35.
21. **Nakai K, Yoneda K, Maeda R, Munchiro A, Fujita N, Yokoi I, Moriue J, Moriue T, Kosaka H, Kubata Y** (2009): *Urinary biomarker of oxidative stress in patients with psoriasis vulgaris and atopic dermatitis*. J Eur Acad Dermatol Venerol, Dec; **23**,1405-1408.
22. **Pietta PG, Simonetti P, Gardana C, Cristoni S, Bramati L, Mauri PL** (2003): *LC-APCI-MS/MS analysis of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine*. J Pharmaceut Biomed, **32**, 657-661.
23. **Pilger A, Rudiger HW** (2006): *8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a marker of oxidative DNA damage related to occupational and environmental exposures*. Int Arch Occup Environ Health, **80**, 1-15.
24. **Şentürk S, Özel E, Şen A** (2005): *Clinical Efficacy of Rifampicin for Treatment of Canine Pyoderma*. Acta Vet Brno, **74**, 117-122.
25. **Tüközkan N, Erdamar H, Seven I** (2006): *Measurement of total malondialdehyde in plasma and tissues by high-performanced liquid chromatography and thiobarbituric acid assay*. Fırat tıp dergisi, **11**,88-92.
26. **Tsuboi H, Kouda K, Takeuchi H, Takigawa M, Masamoto Y, Takeuchi M, Ochi H** (1998): *8-Hydroxydeoxyguanosine in urine as an index of oxidative damage to DNA in the evaluation of atopic dermatitis*. Brit J Dermatol, **138**, 1033-1035.
27. **Zeptomatrix TBARS Assay Kit** (2010): Erişim Tarihi: 13.06.2010. Erişim adresi: <http://www.zeptomatrix.com/0801192.pdf>
28. **Zhang F, Stott WT, Clark AJ, Schisler MR, Grundy JJ, Gollapudi BB, Bartels MJ** (2007): *Quantitation of 8-hydroxydeoxyguanosine in DNA by liquid chromatography/positive atmospheric pressure photoionization tandem mass spectrometry*. Rapid Commun Mass Spectrom, **21**, 3949-3955.

Geliş tarihi: 25.12.2011 / Kabul tarihi: 14.03.2012

Yazışma adresi:

Nazlı Ercan
Cumhuriyet Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Biyokimya Anabilim Dalı
Sivas