

SERBEST RADİKALLER, ÇEŞİTLERİ, KAYNAKLARI ve HEDEFLERİ

Şermin TETİK
Enver ÇIRACI

40.1. Giriş ve Tarihçe

Son yıllarda fizyolojik koşullarda ve çeşitli hastalıklardaki rolleri nedeniyle, serbest radikaller ile ilgili araştırmalar giderek artmaktadır. Bu alanda bildirilen ilk çalışmalar 1900'de ilk kez, Michigan Üniversitesi'nde kimya profesörü olan Moses Gomberg'in canlı sistemde organik bir serbest radikal olan trifenil metil kökünün varlığından bahsetmesi sayılabilir. Ardından 1954'te Gershman, oksijen toksisitesinin serbest radikalleri oluşturma kabiliyetine bağlı olarak "serbest radikal oksijen toksisitesi teorisini" ileri sürmüştür. Aynı yıl Commoner ve arkadaşları tarafından elektron paramanyetik rezonans (EPR) çalışmaları yapılarak biyolojik materyallerde serbest radikallerin varlığı doğrulanmıştır. Kısa süre sonra Denham Harman, 1956'da, yaşlanma sürecinde serbest radikallerin merkezi bir rol oynadığını belirten "yaşlanma radikal teorisini" ileri sürmüştür. 1969'da, süperoksit anyonuna karşı ilk enzimatik savunma sistemi olan süperoksit dismutazı keşfeden Mc Cord ve Fridovich tarafından serbest radikal araştırmalarının ikinci dönemi başlatılmıştır. 1971'de ilk kez Loschen, reaktif oksijen türlerinin (ROS) hücrel metabolik solunumda üretildiğini belirtmiş ve bu söylem Nohl ve Hegner (1978) tarafından desteklenmiştir. Mittal ve Murad, 1977'de hidroksil radikalinin (OH[•]), guanilat siklaz enzimini aktive ederek ikinci haberci siklik GMP oluşumuna neden olduğunu bildirmişlerdir. Daha sonra 1989 yılında Halliwell ve Gutteridge; reaktif oksijen türlerinin, oksijenin serbest radikal ve radikal olmayan türevlerini içerdiğini açıklamıştır. Bu tarihten itibaren, çeşitli patofizyolojik koşullarda serbest radikallerin rolü üzerine birçok çalışma yapılarak önemli veriler elde edilmiştir ve bu çalışmalar devam etmektedir.

40.2. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, normal hücrel metabolizmanın ürünleridir. Bir serbest radikal, dış yörüngede bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içeren atom veya moleküller olarak tanımlanmaktadır. Serbest radikalın eşleşmemiş elektronu veya elektronları onun kararsız, kısa ömürlü ve oldukça reaktif hale geçmesine yol açar. Reaktivitesi yüksek olduğundan diğer bileşikler de etkiler. Böylece molekül elektronunu kaybederek serbest bir radikal haline gelir ve canlı hücrelere zarar veren zincir reaksiyonun başlamasına neden olur. Hem reaktif oksijen türleri (ROS) hem de reaktif nitrojen türleri (RNS) birlikte serbest radikalleri ve diğer radikal olmayan reaktif türlerini oluşturur. ROS/RNS, canlı sistemlerde hem yararlı hem de zararlı özelliklere sahip bileşikler olarak bilinmektedirler. Orta veya düşük ROS/RNS düzeyleri yararlı olarak kabul edilmektedir. Yüksek ROS/RNS düzeyleri ise oksidatif stres ve nitrozatif stres oluşturarak biyomoleküllere zarar vermektedir. ROS/RNS üretimi fazlaştığında ve/veya enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanların eksikliğinde, oksidatif stres ve nitrozatif stres meydana gelmektedir. Özellikle ROS; romatoid artrit, katarakt, kardiyovasküler hastalıklar, solunum yolu hastalıkları, kanser ve buna benzer çeşitli kronik hastalıklara yol açmaktadır. Ayrıca yaşlanmaya bağlı olarak oksidatif stres artmakta ve lipid, protein ve DNA gibi çeşitli biyomoleküller zarar görmektedir.

40.3. Reaktif Oksijen Türleri ve Reaktif Nitrojen Türleri

Genelde pro-oksidanlar ve oksidanlar, ROS/RNS olarak sınıflandırılmaktadır. Metabolik reaksiyonlar sırasında üretilen en önemli serbest radikaller oksijenden türeyen radikallerdir. Hem ROS hem

etkilerini göstermektedir. Proteinlerin ROS ve/RNS tarafından klasik oksidasyonunun yanısıra indirgeyici şekerlerin etkisiyle modifiye olmaları mümkün olmaktadır. Bu nonenzimatik glikasyon / glikoksidasyon süreçleri Maillard reaksiyonları veya nonenzimatik glikolizasyon olarak da bilinmektedir. Nonenzimatik reaksiyonlarda indirgeyici şekerler proteinlerle reaksiyona girerler ve genellikle bu reaksiyonla Schiff baz oluşumuna öncülük edilir, yani şekerin aldehid grubu ve proteinin amino grubu arasında (genellikle lizin kalıntısının epsilon amino grubu) oluşan bir çift bağ (imin) meydana gelmektedir. İmin yapı hızlıca bir ketoamin yapısına dönmektedir ve bu ürün Amadori ürünü olarak isimlendirilir. Amadori ürünlerinin daha ileri reaksiyonları irreversible ileri glikasyon son ürünlerinin (AGEs) oluşmasına yol açmaktadır. Reaksiyonların pek çoğu bölge spesifiktir ve demir ve bakır gibi metallere ihtiyaç duyulan oksidasyon-redüksiyon (redoks) basamaklarından etkilenmektedir. Genel olarak oksidatif modifikasyonların sınıflandırması peptid bağlarını kıran ve okside eden reaksiyonların ayrılmasıyla yapılmaktadır. Oksidatif protein modifikasyonları spesifik ve global olarak bölünmektedir. Ditirozin oluşumu gibi spesifik modifikasyonlarda daha az olarak rezidüel ve proteinler etkilenmektedir, global olanlarda ise karbonil grupları oluşur ve örnekteki proteinin substantial fraksiyonları daha az veya daha çok olmak üzere etkilenebilirler.

Proteinler, organizmada yüksek oranda bulunmaları nedeniyle oksidatif hasarın en önemli hedeflerindedir. Protein oksidasyonu $O_2^{\cdot -}$, OH^{\cdot} peroksil, alkoksil, hidroperoksil gibi radikal türler ve aynı zamanda H_2O_2 , O_3 , $HOCl$, singlet oksijen, $OONO^{\cdot}$ gibi radikal olmayan türler tarafından indüklenebilir. ROS, proteinlerde bulunan farklı

amino asitleri oksitlemekte, protein-protein çapraz bağlarının oluşumuna neden olmakta, proteinlerin denatüre edilmesine ve kaybına neden olmakta, enzim aktivitesinin kaybolması, reseptörlerin ve taşıma proteinlerinin işlev kaybına neden olmaktadır. Metiyonin ve sistein gibi kükürt içeren amino asitler sırasıyla ROS'un oksidasyonuna daha duyarlıdır ve sırasıyla disülfidlere ve metiyonin sülfoksitlerine dönüştürülür.

Proteinlerdeki karbonil gruplarının varlığı ROS aracılı protein oksidasyonunun işaretçisi olarak düşünülmüştür. Protein oksidasyonunun diğer belirteçleri O-tirozin (hidroksil radikali için bir belirteç) ve 3-nitrotirosin (RNS için bir belirteç)dir.

Pek çok proteinin oksidasyonu rastgele bir olmaktadır ancak bazı proteinler veya protein bölgeleri tercihen okside olmakta ve okside formunda kolaylıkla birikmektedirler.

Protein karbonillerin seviyesindeki artışlar, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, kas distrofisi, romatoid artrit, diyabet, ateroskleroz, solunum distensi sendromu, Werner sendromu ve yaşlanma gibi bir dizi patolojik koşulda gözlenmektedir.

Serbest radikaller normal metabolizma reaksiyonları sonucunda oluşarak çeşitli fizyolojik ve patolojik koşullara katılırlar. Antioksidanlar ve oksidanlar arasında bir dengesizlik olduğunda, radikaller birikir ve nükleik asitler, proteinler ve lipitler gibi makromoleküllerin yapısının bozulmasına neden olur. Bu durum, diabetes mellitus, nörodejeneratif hastalıklar, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, kataraktlar, romatoid artrit, astım vb. gibi çeşitli hastalıklardadoku hasarına yol açar ve hastalığın ilerlemesini ciddi biçimde hızlandırır.

40.6. Kaynaklar

- Floyd R A. Neuroinflammatory processes are important in neurodegenerative diseases: An hypothesis to explain the increased formation of reactive oxygen and nitrogen species as major factors involved in neurodegenerative disease development. *Free Radical Biology and Medicine* 1999;26(9-10), 1346-1355.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in biology and medicine*. 2. Oxford: Clarendon Press; 1989.
- Halliwell B. Biochemistry of oxidative stress. *Biochem Soc Trans* 2007;35: 1147-1150.
- Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev* 2010;4(8):118-26.
- Monaghan P, Costantini D. *Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants Free radicals-an evolutionary perspective*. Editor: Laher I. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2014.
- Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J Clin Biochem* 2014;30(1):11-26.

- Pourahmad J, Salimi A, Seydi E. *Role of Oxygen Free Radicals in Cancer Development and Treatment, Free Radicals and Diseases*, Editor: Ahmad R. IntechOpen, 2016.
- Stadtman E R. Protein oxidation and aging. *Free Radic Res* 2006;40: 1250-1258.
- Stadtman ER, Levine RL. Protein oxidation. *Ann N Y Acad Sci* 2000;899:191-208.
- Stief, T.W. The physiology and pharmacology of singlet oxygen. *Med. Hypotheses* 2003;60: 567-572
- Takayama F, Egashira T, Yamanaka Y. Singlet oxygen generation from phosphatidylcholine hydroperoxide in the presence of copper. *Life Sci* 2001; 68: 1807-1815
- Tetik S, Kaya K, Yardimci KT. Effect of Oxidized Fibrinogen on Haemostatic System: in vitro Study. *Clin Appl Thromb Hemost* 2011; 17(3), 259-63.
- Tetik S, Kılıç A, Ahmad S, Aksoy H, Yardımcı KT. Oxidative stress causes plasma protein modification. *IJEB* 2015; 53: 25-30.
- Tetik S, Uras F, Yardimci KT. Protein Oxidation: Basic Weiev On Characterization, Detection And Consequences. *Adv Mol Med* 2007;3:63-67.