

SERBEST RADİKALLER
ve
ANTİOKSİDAN SAVUNMA
MEKANİZMALARI

Prof. Dr. Erdinç DEVRİM
Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya AD
devrim@ankara.edu.tr

DERSİN ÖĞRENME KAZANIMLARI

- Serbest radikali tanımlar.
- Reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen-oksijen türlerini sıralar.
- Serbest radikallerin ve reaktif türlerin organizmada oluşma mekanizmalarını açıklar.
- Serbest radikallerin ve reaktif türlerin organizmadaki etkilerini açıklar.
- Antioksidan savunma mekanizmalarını açıklar.
- Oksidatif stresi açıklar.
- Oksidatif stres ile hastalıkları ilişkilendirir.

Oksijen (O₂)

- Soluduğumuz hava ile edindiğimiz O₂ insan yaşamı için olmazsa olmaz bir moleküldür.
- ATP üretimi, biyosentez ve detoksifikasyon yollarındaki oksidatif tepkimelerde O₂'ye bağımlıyız.

SERBEST RADİKALLER

- Son yörüngesinde bir veya daha çok sayıda eşlenmemiş elektron bulunan atom ya da moleküle **serbest radikal** (veya **radikal**) denir.
- Süperoksit anyon radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($OH\cdot$).
- Çok reaktif maddelerdir, çeşitli tepkimelerde oksidan ve redüktan olarak görev yapabilirler.

Serbest radikaller 3 değişik yolla oluşabilirler:

- Bir molekülün kovalen bağının molekülün her bir parçasında eşleşmiş elektronlardan bir tanesinin kalacak biçimde (homolitik) bölünmesiyle
($A \cdot B \rightarrow A \cdot + B \cdot$)
- Bir molekülden tek bir elektron kaybıyla
($A \rightarrow A^{+\cdot} + e^{-}$)
- Bir moleküle tek bir elektron eklenmesiyle
($A + e^{-} \rightarrow A^{-\cdot}$)

Reaktif Oksijen Türleri (ROT) ve Reaktif Nitrojen Oksijen Türleri (RNOT)

- Serbest radikal olan veya hücrede serbest radikallere çevrilen oksijen içeren yapılar ROT olarak bilinirler ($O_2^{\cdot-}$, OH^{\cdot} , H_2O_2).
- Tükettiğimiz oksijenin % 3-5 kadarı oksijen serbest radikallerine dönüşür.
- Oksijenle birlikte nitrojen de içeren reaktif yapılar RNOT olarak adlandırılırlar (NO , $ONOO^-$).

Süperoksit radikali kaynakları

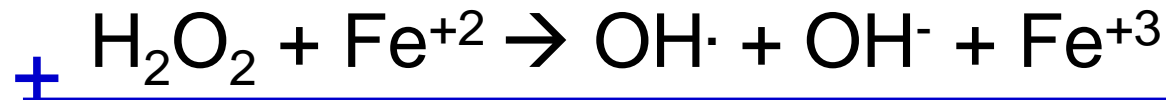
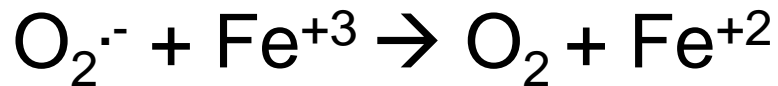
- Süperoksit anyon radikalinin **hücre içi en önemli kaynağı elektron taşıma zincirindeki (ETZ) kaçak elektronlar** olmakla birlikte, moleküler oksijenden çeşitli yollar aracılığıyla oluşabilir.
 - NADPH'ın NADPH oksidaz ile oksitlenmesi sırasında,
 - Ksantin ve hipoksantin'in ksantin oksidaz tarafından oksitlenmesi sırasında,

Süperoksit radikali kaynakları-2

- İndirgeyici ajanların mitokondriyal ETZ tarafından oksitlenmesiyle,
- Geçiş metallerinin varlığında monoaminler, flavinler ve hemoglobinin otooksidasyonuyla,
- Moleküler oksijenin P450 enzim sisteminde tek elektronla indirgenmesiyle,
- Moleküler oksijenin nitrik oksit sentaz (NOS) tarafından arginin ya da tetrahidrobiopterin eksikliğinde tek elektronla indirgenmesi sırasında oluşabilir.

OH· radikali oluşumu

- (Haber-Weiss tepkimesi)



- (Fenton tepkimesi)



O₂ serbest radikallerinin hücresel yapılarla girdiği etkileşimler

- Hücre ve organel zarlarına saldırarak lipit peroksidasyonuna neden olabilirler.
- Protein ve peptitler hidroksil radikalinin etkilerine maruz kalarak parçalanabilir ve amino asit kalıntıları başka amino asitlerle çapraz bağlar yapabilirler.
- DNA hasarına yol açabilirler.

LİPİT PEROKSİDASYONU

- Başlangıç
- İlerleme
- Yıkım (*Malondialdehit "MDA" oluşumu*)
- Sonlanma

Nitrik Oksit (NO)

- Serbest radikaldir.
- Fizyolojik olarak bir *nörotransmitter* ve vazodilasyona yol açan bir hormon olarak görev yapar.
- Yüksek konsantrasyonlarda oksijen veya süperoksitle birleşerek RNOT oluşumuna yol açar.

NO Sentaz (NOS)

- NOS enziminin 3 farklı izoformu vardır:
 - nöronal NOS (nNOS, NOS I)
 - indüklenebilen NOS (iNOS, NOS II)
 - endotelyal NOS (eNOS, NOS III)
- NOS I ve III kalsiyum (Ca^{+2}) bağımlı, fizyolojik NO düzeylerinden sorumludurlar.
- NOS II ise Ca^{+2} konsantrasyonundan etkilenmeden, makrofaj gibi *immün* sistem hücrelerinde yüksek miktarda NO oluşumuna yol açar.

Solunum Patlaması

1. NADPH oksidaz aktivasyonu ile $O_2^{\cdot-}$ üretilir.
2. $O_2^{\cdot-}$ kendiliğinden ya da enzimatik olarak H_2O_2 oluşturur.
3. Miyeloperoksidaz hipokloröz asit (HOCl) üretir.
4. H_2O_2 Fenton tepkimesiyle hidroksil radikali oluşturur.
5. iNOS aktiflenerek NO üretir.
6. NO süperoksitle birleşerek RNOT oluşturur.

ANTIOKSİDAN SAVUNMA MEKANİZMALARI

- Radikal reaksiyonlarının sonlandırılması (Örn., E vitamini)
- Radikal oluşumunun sınırlandırılması (Örn., Serüloplazmin, ferritin)
- Radikalin detoksifikasyonu (Örn., Enzimler; süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz)
- Oksidatif hasara uğramış yapıların onarımı veya ortamdan uzaklaştırılması

Antioksidan Enzimler

- Süperoksit dismutaz (SOD)
- Katalaz (KAT)
- Glutasyon peroksidaz (GSH-PO)
- Glutasyon redüktaz

SOD

- SOD enziminin Cu-Zn, Mn ve Fe içeren izoenzimleri vardır.
- İnsanda ise SOD enziminin 2 farklı yapıda 3 farklı yerleşim gösteren izoenzimleri bulunur:
 - Bakır ve çinko içeren sitozolik $\text{Cu}^+\text{Zn}^{+2}$ -SOD ve ekstrasellüler $\text{Cu}^+\text{Zn}^{+2}$ -SOD
 - Mangan içeren mitokondriyal Mn^{+2} -SOD

Demir içeren Fe-SOD ökaryotlarda bulunmaz.

Katalaz

- Katalaz (KAT) enzimi H_2O_2 'in su ve moleküler oksijene çevrildiği reaksiyonu katalizleyen bir hemoproteindir.
- Dört tane hem grubu içerir.
- Hücre içindeki asıl yerleşim yeri peroksizomdur.

GSH-PO

- İndirgenmiş glutatyon (GSH) varlığında H_2O_2 ve lipit peroksitlerin parçalanmasında rol alır.
- Enzimin aktif bölgesinde 4 tane selenyum atomu vardır.
- Hücre içinde esas olarak sitozol ve mitokondride bulunur.
- Bu enzim lipit peroksitleri de indirgeyebilir ve bu nedenle lipit peroksidasyonunun önlenmesinde önemli role sahiptir.

GSH-Redüktaz

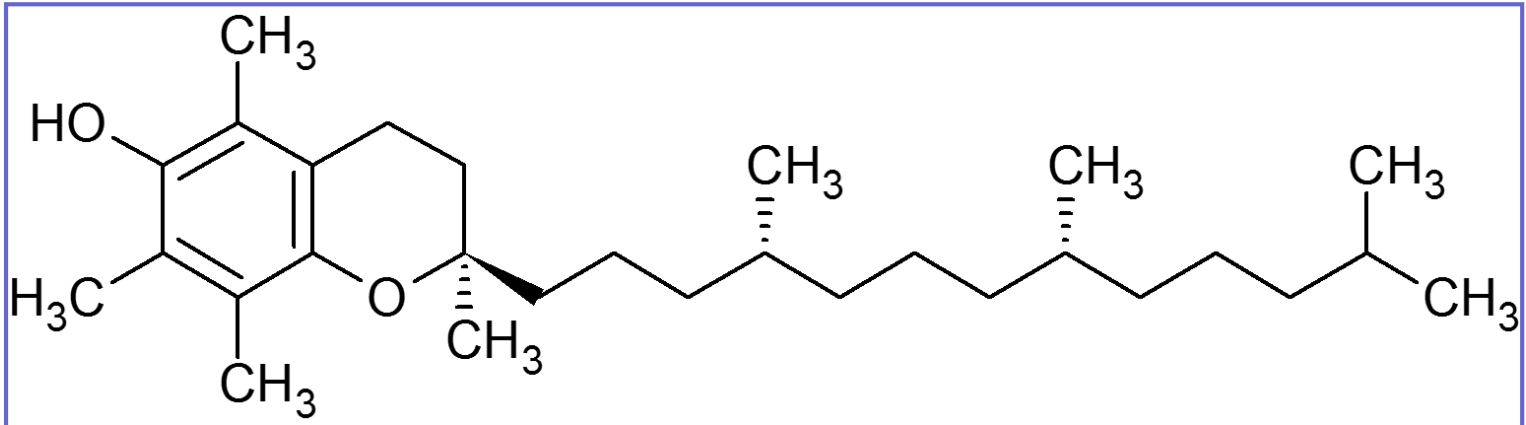
- Hidrojen peroksitin indirgenmesi sırasında GSH oksitlenir.
- GSH-PO'nun etkisinin sürebilmesi için oksitlenmiş glutatyonun (GS-SG) yeniden indirgenmesi gerekir.
- Bu reaksiyon NADPH bağımlı bir flavoprotein olan GSH redüktaz tarafından katalizlenir.
- NADPH kaynağı pentoz fosfat yoludur.

Enzim Olmayan Antioksidanlar

- E vitamini
- C vitamini
- Glutasyon (GSH)
- Karotenoidler
- Flavonoidler
- Ürik asit
- Melatonin
- Bilirubin

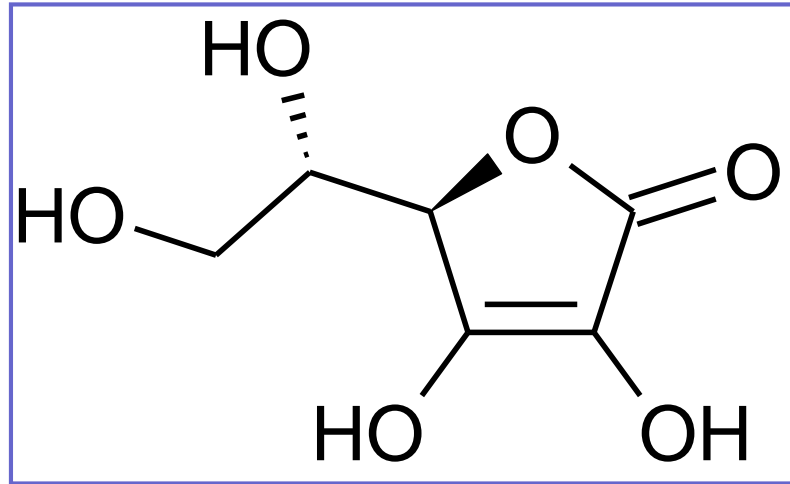
E Vitamini (α -Tokoferol)

- E vitamini yağda çözünen en güçlü antioksidandır.
- Peroksinitritten türeyen serbest radikalleri temizler.
- ÇDYA'den lipit hidroperoksitlerinin oluşumunu önler (zincir reaksiyonunu kırıcı özellik).
- LDL'nin yapısında yüksek konsantrasyonlarda bulunması itibarıyla LDL'yi oksidasyona karşı korur.

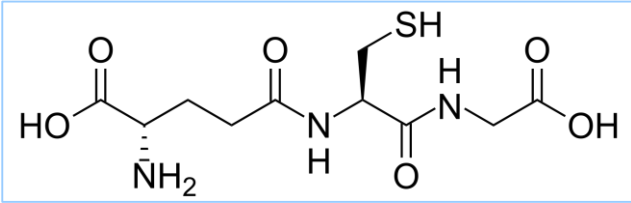


C Vitamini (Askorbik Asit)

- C vitamini önemli bir suda çözünen antioksidandır .
- İki ana özelliği C vitaminini ideal bir antioksidan kılar:
 - Birincisi; hem askorbat hem de ondan türeyen askorbil radikalinin düşük tek-elektron indirgeyici potansiyele sahip olmasıdır.
 - İkinci temel özelliği ise, kendisinden türeyen askorbil radikalinin kararlı yapısı ve düşük reaktivitesidir.



GSH



Glutasyon (GSH); glisin, glutamat ve sistein amino asitlerinden meydana gelen bir tripeptittir.

<https://en.wikipedia.org/wiki/Glutathione>

- Ekzojen ve endojen bir antioksidandır.
- GSH'tan oluşan glutasyon radikali (GS·) bir prooksidan olmakla birlikte başka bir GS· ile birleşerek yükseltgenmiş (okside) glutasyonu (GSSG) oluşturur, o da NADPH bağımlı GSH redüktaz tarafından GSH'a indirgenir.
- Çeşitli ksenobiyotiklerle GSH transferazın katalizlediği reaksiyonlara girer.
- GSH doğrudan (GSH-PO) ya da dolaylı enzimatik reaksiyonlarla ROT'ni temizler.
- Hücresel oksidasyon-redüksiyon dengesinin düzenlenmesinde önemli roller oynayan tiyol proteinleriyle etkileşime girer.

Ürik Asit

Pürin metabolizmasının son ürünüdür. Üst hava yollarında önemli bir endojen antioksidandır.

Melatonin

Pineal bezden salinan bir nörohormon olup, aynı zamanda endojen bir antioksidandır.

Oksidatif Stres

- Reaktif oksijen türlerinin oluşumu aerobik (oksijenli) ortamda yaşamın kaçınılmaz bir sonucudur.
- Sağlıklı bir organizmada ROT ya da RNOT oluşumu ile enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri arasında bir denge vardır.
- Bu dengenin ROT ya da RNOT üretiminin artması ve/veya antioksidan savunma sistemlerinin zayıflaması nedeniyle okside edici ajanlar lehine bozulması durumunda **oksidatif stres** denilen durum ortaya çıkar.

Oksidatif Stresle İlişkili Hastalıklara Örnekler

- Ateroskleroz
- İskemi-Reperfüzyon hasarı
- Yaşlanma (*Aging*)
- Diabetes mellitus
- Preeklampsi
- Serebrovasküler bozukluklar
- Akut böbrek yetmezliği
- Multiple skleroz
- Parkinson hastalığı
- Alzheimer hastalığı

Serbest Radikallerin Biyolojik Ortamlarda Ölçümü

Serbest radikallerin biyolojik ortamlardaki aktivitelerini ölçen altın standart bir yöntem olmamakla birlikte, kullanılan ve kabul gören bir çok yöntem vardır.

Bunlar 3 ana grup altında toplanabilir:

- Antioksidan düzeylerinin ölçümü (antioksidan enzim miktarları ve aktiviteleri, C ve E vitamini konsantrasyonları)
- Serbest radikal aktivitesinin dolaylı göstergeleri (lipit peroksidasyon ürünleri, DNA oksidasyon ürünleri, protein oksidasyon ürünleri)
- Serbest radikal aktivitesinin doğrudan ölçümü (elektron spin rezonans [ESR] çalışmaları)

KAYNAKLAR

- “Oxygen Toxicity and Free Radical Injury”. *Marks’ Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach*. Smith C, Marks A, Lieberman M (ed.). 2005; 439-457.
- Sözmen EY. “Radikal Kavramı ve Oksijen Serbest Radikalleri”. *İnsan Biyokimyası*. Onat T, Emerk K, Sözmen EY (ed.). 2002; 666-674.