

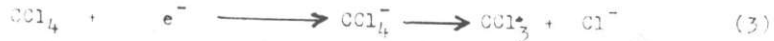
SERBEST RADİKALLERİN BİYOLOJİK ETKİLERİ

Mustafa Akpoyraz İlker Durak

Bu gün, serbest radikallerin canlı hücre için toksik oldukları bilinmektedir. Bu nedenle, hücredeki etkileri, kapsamlı bir şekilde çalışılmıştır. Serbest radikallere karşı vücut savunma sisteminin önemli bir bileşeni olan süperoksit dizmutaz enziminin bulunması ile bu alandaki çalışmalar daha da hız kazanmıştır. Süperoksit dizmutaz enzimi, radikal savunma sisteminin çok önemli bir üyesidir.

SERBEST RADİKAL TANIMI : Serbest radikal, bir veya birden fazla tek elektron içeren yüksek reaktiviteli molekül veya gruplardır. Ortaklanmamış tek elektron, serbest radikallere karakteristik kimyasal özellikler kazandırır. Bir molekülün veya bir grubun tek elektronunu, yani serbest radikal olduğunu göstermek için sağ önüne bir nokta konur. Örneğin (R.) gibi (8).

Serbest radikaller, tek elektronu ile birlikte pozitif yüklü, negatif yüklü veya yüksüz olabilirler.



Denklem (1) de, fenotiyazin ilaçlarındaki prometazin (Pr), hidroksil radikalleri yardımı ile prometazin radikal katyonuna yükseltgenir. Denklem (2) de, oksijen, süperoksit radikal anyonuna indirgenir. Denklem (3) de ise, nötr triklor karbon radikali oluşmaktadır.

Serbest radikaller, homolitik bağ kırılması (bağı oluşturan iki elektrondan herbirinin tek olarak bir atom üzerinde kalması) veya elektron transfer reaksiyonları sonucu oluşurlar.



Genel olarak radikal veren bu tür reaksiyonlar, radyasyonun absorblanması (iyonlaşma, u.v., görünür, termal) ve redoks reaksiyonları (nonenzimatik elektron transferleri, metal katalizli reaksiyonlar, enzim katalizli reaksiyonlar) sonucu meydana gelirler.

İyonize radyasyonu, başlıca H., HO. ve e- (sulu ortam) gibi serbest radikalleri oluşturur. Böylece oluşan primer radikaller ve sulu ortamda bulunan elektronlar kolaylıkla biyomoleküllerle reaksiyona girerler. İyonlaşmamış radyasyon, kovalent bağları homolitik olarak parçalayabilecek enerjiye sahipse, serbest radikaller meydana gelir. (C-C bağının homolitik kırılması için gerekli enerji, yaklaşık 350 k.joul/mol'dür. Buna denk U.V. radyasyonun dalga boyu ise yaklaşık 300 nm dir).

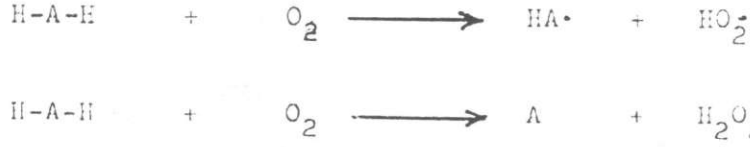
Termal enerji de, serbest radikal oluşturabilir. Genel olarak, kovalent bağı kırmak için yüksek sıcaklık gerekir. Fakat bazı bağlar, dayanıksızdır ve 30 - 50 °C de bile kolaylıkla homolitik olarak kırılırlar. Bu tür bileşikler, serbest radikal reaksiyonları için başlatıcı olarak kullanılan azobisizobütironitril ve peroksit gibi maddelerdir.



Azo(bis)izobütironitril

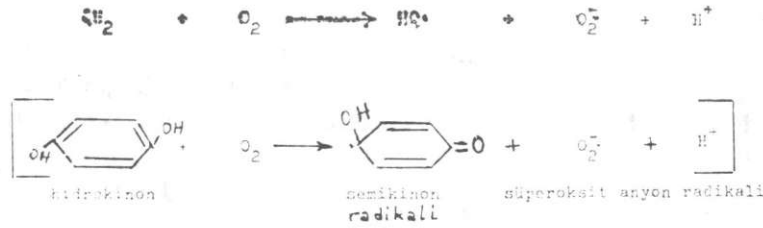
Yüksek sıcaklığa maruz kalmış organik maddeler, serbest radikallerin kompleks bir karışımının oluşumuna neden olurlar. Bundan dolayı, sigara dumanında serbest radikal miktarı oldukça fazladır.

SERBEST RADİKALLERİN NONENZİMATİK OLUŞUMU : Nonenzimatik karakterdeki redoks reaksiyonlarında, serbest radikal oluşumu ile ilgili bir çok çalışma yapılmıştır. Bir serbest radikal, iki bağlı bir molekülün bir tek bağlı bir molekül yardımı ile yükseltgenmesi veya indirgenmesi sonucu meydana gelir. Örneğin, bir divalent (iki bağlı) indirgen olan AH₂'nin oksidasyonu aşağıda gösterilmiştir.



Görüldüğü gibi, birinci reaksiyonda H. radikali, oksijen molekülünün tek elektronu ile birleşerek, geriye HO₂. radikalini bırakmıştır.

Hidrokinonun, oksijen ile reaksiyonunda serbest radikal ara ürünleri olarak semikinon radikali ve süper oksit anyon radikali meydana gelir.

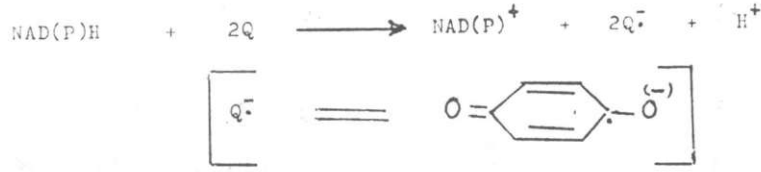


Süper oksit radikallerinin oluşumu, flavinlerin, pirogallolün, adenalin ve askorbik asidin oksidasyonu reaksiyonlarında ortaya çıkar. Süperoksit anyon radikali konsantrasyonu, ESR spektrofotometresi ile tayin edilmektedir (9,6,12).

SERBEST RADİKALLERİN ENZİMATİK OLUŞUMU : Enzimatik reaksiyonlarda, elektron transfer mekanizması, enzimin içerdiği prostetik grupta proteinin etkileşmesi sonucu ortaya çıkan enzimin geometrik yapısına büyük ölçüde bağlıdır. Örneğin, askorbatoksidaz, laccaz ve tyrosinazlar bakır proteinleridir. İlk iki enzim, verici moleküllerin bir-elektronlu oksidasyonlarını kataliz eder. Tyrosinaz enzimi ise, katekolün iki-elektronlu oksidasyonlarını kataliz eder. Bu metalobakır-enzimlerinden ayrılan oksijen suya indirgenir.

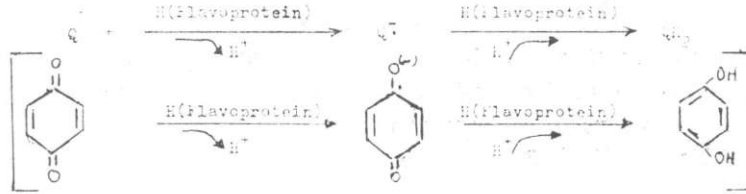
Biyolojik sistemlerde, bir molekül aktive olursa, enzimin aktif bölgesinde zincir reaksiyonları başlar. Oksido-redüktazların aktif bölgeleri, prostetik gruplar ve fonksiyonel amino asitlerdir. Serbest radikallerin oluşumunu katalizleyen iki büyük enzim grubu vardır. Birincisi, elektron transport sisteminde flavin içeren enzimler ve ikincisi, «hem» içeren peroksidazlar ve peroksidaz benzeri enzimlerdir.

Elektron transfer sisteminde, görev alan flavoproteinler, bir elektronu sitkromlara veya kinonlara transferini kataliz ederler. Elektron alıcısı olarak kinonlar kullanıldığı zaman elektron geçişi % 100 dür.



Anyonik yapıdaki semikinon radikali (Q^{•-}), çok kuvvetli bir indirgendir. Onun için sitokromları ve moleküler oksijeni hızlı bir şekilde indirger. Eğer solunum zincirinde, kinonlar oksijene maruz kalırlarsa, elektronlar oksijene akacak ve süper oksit anyon radikalleri oluşacaktır.

Kinon mitokondrial solunum zincirinin bir bileşenidir. Çözeltide olduğu gibi, membranda da kinon, semikinona indirgenir. Solunum zincirinde kinon halkasının, hidrokinona indirgenmesi reaksiyonu aşağıda gösterilmiştir.



Birçok hücrel enzimlerin katalitik etkisi ve elektron transfer reaksiyonları, serbest radikal ara ürünleri veren tek elektronlu geçişleri içerirler. Aerobik organizmalarda oksijenin çok yaygın olarak bulunması ve ayrıca çok kolay bir şekilde elektron alması nedeni ile oksijen-merkezli serbest radikaller, hücrel serbest radikalik reaksiyonların araçlarıdır.

Serbest radikallerin hücre içi kaynakları değişiktir. Nötral sulu ortamda çözünebilir küçük moleküllü bileşiklerin bir çoğu oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına katılarak hücre içi serbest radikal oluşumuna yol açarlar. Otoksidasyona katılan bu küçük moleküller, tioller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler ve tetrahydropterinlerdir. Bu tür bileşiklerin yardımı ile oksijenin indirgenmesi sonucu primer bir radikal olan anyonik yapıdaki süperoksit radikali O₂⁻ oluşur.

Aynı zamanda Fe⁺³-kompleksi, tiyoller, askorbatlar, v.s. yardımı ile Fe⁺² iyonuna indirgenir. Daha sonra Fe⁺², moleküler oksijene bir elektron vererek Fe⁺³ yükseltgenir ve bu arada O₂⁻ radikali oluşur.



Tek elektronlu otooksidasyon sonucu oluşan önemli bir ürün de H_2O_2 dir.



Buna, O_2^- nin kendiliğinden dismutasyonu denir. Yukarıdaki dismutasyon reaksiyonunun pH = 7.4 de reaksiyon hızı $k = 2.10^{-5} \text{ M}^{-1} \text{ san.}^{-1}$ dir. Bu reaksiyon süperoksit dismutaz tarafından katalizlendiğinde reaksiyonun 10^4 kat daha hızlı yürüdüğü tesbit edilmiştir. Şu halde O_2^- radikali veren hücrel reaksiyonlar, bir taraftan da yan ürün olarak H_2O_2 verirler (1).

Mitokondrial elektron transportlu zincirinde de radikaller oluşabilmektedir. H_2O_2 nin, mitokondrial oluşumu ilk kez 1966 da Jensen tarafından tesbit edilmiştir. Daha sonraki çalışmalarda H_2O_2 nin O_2^- nin dismutasyonundan oluştuğu gözlenmiştir. Hidroksil radikalının ($\text{HO}\cdot$) oluşması için, yalnız O_2^- ve H_2O_2 in varlığı yetmez, Fe gibi bir geçiş elementi de gereklidir. Bu reaksiyonlar, demir-katalizli Haber-Weis reaksiyonuna göre yürürler.



Askorbat gibi indirgenler de Fe^{+3} ü, Fe^{+2} ye indirgerler. Bu durumda, geçiş elementleri yanında bir H_2O_2 kaynağı varsa, O_2^- radikali olmaksızın $\text{HO}\cdot$ üretilmesi mümkün olmaktadır.

SERBEST RADİKALLERİN BİYOLOJİK ETKİLERİ : Biyolojik ortamlarda meydana gelen radikallerin ortalama difüzyon yarıçapları çok küçük olanlar son derece aktiftir. Ayrıca $\text{Cl}_2\text{C}\cdot$ ve $\text{HO}\cdot$ gibi radikallerin biyolojik ortamlardaki yarı ömürlerinin bir kaç mikrosaniye olduğu tesbit edilmiştir. Düşük aktiviteli radikallerin, difüzyon hızlarının yüksek olmasına karşılık, bunlar anlamlı hücrel tahribatlara yol açamazlar (3).

Radikalik reaksiyonlar, zincir reaksiyonlar olup, genel olarak üç basamakta incelenirler. Başlama safhası, radikalın oluşumunu kapsar. Sonra ilerleme basamağı gelir. İlerleme basamağı, ara ürün ola-

larak ortaya çıkan serbest radikaller üzerinden yürür. Bu arada hücrel tahribatlar meydana gelir. Tablo 1. İlerleme reaksiyonları, ya sonsuz devam eder veya radikal yakalayıcı maddeler yardımı ile sonlanır. Radikal yakalayıcı maddeler, hücrenin sağlıklı gelişimi için gereklidirler. Eğer, serbest radikaller, radikal yokediciler tarafından yakalanamazlar ise, sitotoksisite ortaya çıkar (10,7).

Tablo 1 - Hücrel serbest radikallerin etkilediği moleküller

Etkilenen bileşik	Sonuçlar
1. Doymamış amino asitler ve kükürt içeren amino asitler	a) Protein denaturasyonu b) Çapraz bağlanma c) Enzim inhibitasyonu d) Organ ve hücre geçirgenliğinde değişimler
2. Nükleik asit bazları	a) Hücre gelişiminde değişimler b) Mutasyon
3. Karbohidratlar	a) Hücre yüzey reseptörlerinde değişim
4. Doymamış lipitler	a) Kolesterol ve yağ asitlerinin oksidasyonu
5. Kofaktörler	a) Nikotinamid ve flavin içeren kofaktörlerin aktifliğinde azalma b) Askorbat ve porfirin oksidasyon
6. Antioksidanlar	a) α -tokoferol ve β -karoten gibi antioksidanların aktifliğinin azalması
7. Proteinler	a) Denaturasyon b) Peptit zincirinde kırılmalar
8. DNA	a) Baz modifikasyonları b) Zincirde kırılmalar
9. Hyaluronik asit	a) Synovial sıvının vizkozitesinde değişim

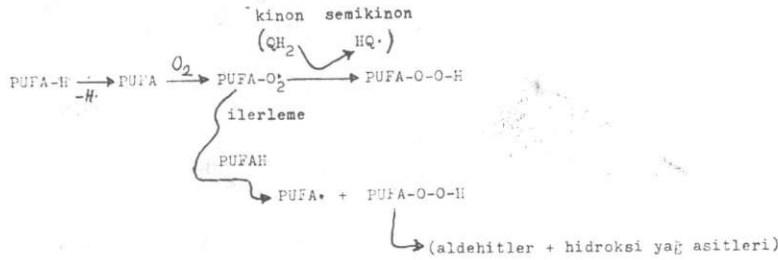
Serbest radikallerin, hücrel moleküller üzerine olan etkileri aşağıda kısaca özetlenmiştir.

1. PROTEİNLER : Kükürt içeren aminoasitler ve doymamış aminoasitlerin (triptofan, tyrozin, fenilalanin, metiyonin, sistein, histidin) serbest radikallerle reaksiyonları sonucu kimyasal değişiklikler ortaya çıkar. Aktifliği, yukarıdaki aminoasitlere bağlı olan papain ve gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz gibi enzimler, radikallere maruz kal-

dıkları zaman inhibe olurlar. Stoplazmik ve membran proteinleri, çapraz bağlanma sonucu dimerleşirler. Çok aktif olan HO. radikalleri, peptit ve aminoasitlerde hidroksilasyona neden olarak onların yapı ve fonksiyonlarını bozarlar.

2. NÜKLEİK ASİTLER ve DNA : Her türlü radyasyon (u.v., görünür ışık, ısı ve X ışınları v.b.) hücrelerde iyonların, serbest radikallerin ve enerji kazanmış moleküllerin oluşmasına neden olur. Hidroksil radikalleri, DNA daki heterosiklik bazlarla ve deoksiriboz-fosfatlarla reaksiyon verirler. Reaksiyon sonucu, DNA bazlarını modifiye eder ve riboz-fosfat zincirinin kırılmasına yol açar. İnvitro olarak sulu çözeltilerde yapılan çalışmalarda, HO. radikalinin, deoksi-riboz ve tetrasiklik bazlarla kolaylıkla reaksiyon verdiği gözlenmiştir. Fakat, çift zincirli DNA molekülünde, heterosiklik bazlar HO. radikallerine karşı sterik olarak çok iyi korunmuşlardır. Ayrıca, enzimatik radikal yakalayıcılar, öncü HO. radikallerinin konsantrasyonunu düşürerek DNA'yı korurlar.

3. ZAR YAPISINDAKİ LİPİTLER : Membran kolesterolü ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle reaksiyona girerek, peroksidasyona uğrarlar. Radikallerin reaksiyonu sonucu, lipit peroksitler, lipit alkoller ve aldehit yapısında yan ürünler oluşur. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu, malondialdehit meydana gelir. Lipitlerin genel peroksidasyon şeması aşağıda gösterilmiştir (4).

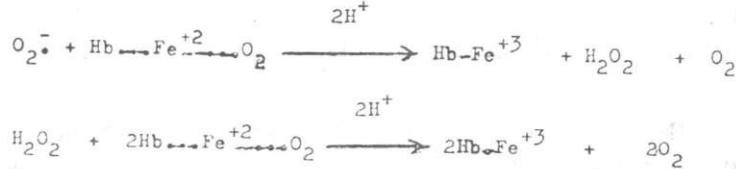


Yukarıda görüldüğü gibi, bu tip reaksiyonlarda, polidoymamış yağ asitlerinden (PUFAH) radikal başlatıcıların yardımı ile H. ve PUFA. radikalleri oluşur. Bunun, moleküler oksijenle (O₂) reaksiyona girmesi sonucunda lipit peroksit ara ürünleri (PUFA-O-O.) meydana gelir. Radikalik reaksiyonun bitiminde, aldehitler ve hidroksi-yağ asitleri ile membran yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu kısa zincirli ürünler oluşur. Bunlar, malondialdehit (OHC-CH₂-CHO), ROOH, RCOOH, RCHO ve ROH yapısındaki bileşiklerdir. Bu bileşikler, memb-

ranın geçirgenliğini ve mikrovizkozitesini önemli derecede değiştirirler. Bunlardan, malondialdehit, membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına yol açar. Bu durum, membran iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitelerinin değişmesine ve benzer daha birçok olumsuz durumun ortaya çıkmasına neden olur (9,3,1).

Küçük bir molekül olan malondialdehit, kolay difüzlenebildiği için DNA bazları ile rahatlıkla reaksiyona girer. Bütün bu olumsuz etkiler, malondialdehite mutajenik genotoksik ve kanserojenik bir özellik verir.

4. SİTOSOLİK MOLEKÜLLER : Çözünür karakterli birçok hücre bileşeni, serbest radikalleri yokediciler görev yaparlar. Örneğin, oksihemoglobin gibi hemoproteinleri, O_2^- ve H_2O_2 ile reaksiyona girerek met-hemoglobin oluştururlar.



Bu reaksiyon, hemoproteinlerin, oksijen radikalleri tarafından kolaylıkla tahrip edilebileceğini göstermektedir. Diğer önemli bir sitoplazmik hemoprotein, katalaz enzimidir. Katalaz O_2^- radikali tarafından aynı şekilde tahrip edilmektedir. Bu tür bir reaksiyon katalaz aktivitesinin düşmesine ve hücrenin, daha çok radikal ve hidrojen peroksit tahribatına maruz kalmasına yol açmaktadır.

5. HÜCRE DIŞI ETKİLER : Osteoartritlerde, serbest radikallerin, kollagen ve hyalüranik asit üzerine etkileri sonucu, dejenerasyon ve buna bağlı olarak iltihabi bir durum olduğu gözlenmiştir. Sinoviyal sıvıya vizkozite sağlayan hyalüranik asit, O_2^- radikal ile etkileşince depolimerizasyona uğrar. Süper oksit dismutaz ve katalaz, hücre dışı sıvılarda çok düşük aktiviteli olduklarından az miktardaki oksijen radikalleri bile büyük hasarlara yol açabilmektedir (1,2,5).

ÖZET

Bu derlemede, serbest radikallerin tanımı, oluşumu, fiziksel ve kimyasal özellikleri özetlenmiştir. Serbest radikallerin biyolojik ortamlardaki reaksiyonları, hücresel moleküller üzerine olan etkileri kısa ve öz olarak anlatılmıştır.

Anahtar kelimeler ; Serbest radikaller

SUMMARY**Biological Effects of Free Radical**

In this article, definition, formation processes and some physical and chemical properties of free radicals were summarized. The reactions of free radical in living cells and their effects on cellular molecules were explained.

Key words : Free radicals

LİTERATÜR

1. Barry Halliwell, Free Radicals, Reactive Oxygen Species and Human Disease, Br. J. Exp. Path. 70, 737, 1989.
2. Barry Halliwell and John M.C. Gutteridge, Oxygen Toxicity, Oxygen Radicals, Transition Metals and Diseases, Biochem. J. 219, 1, 1984.
3. Diel Maestro RF : An Approach to Fre Radicals in Medicine and Biology. Acta Physiol. Scand., 492, 153, 1980.
4. Diplock AT : Gutteridge JMC and Shukie VKS, Antioxidant, Free radical and polyunsaturated fatty acids in biology and medicine. Richeliven Press, Landon 437, 1993.
5. Dormandy TL : Free Radical Oxidation and Antioxidants, Lancet 1, 647, 1978.
6. Fridovich I : Biological Effects of the Supperoxide Radicals, Arch of Biochem. and Biophys., 247, No 1, 1-15, 1986.
7. Goldstein S Czapski G Cohen H and Meyerstein D : Free redicals induced peptide damage in the presence of transition metal ions. Free Radical Biology and Medicine, 17 (1), 11, 1994.
8. Mc Murry John : Organic Chemistry, Second Edition, California 93950, 1988.
9. Peter AS Garty P : Free Radicals in Medicine, I. Chemical Nature and Biologic Reactions Mayo Clin. Proc. 63, 381, 1988.
10. Poli G : Liver damage due to free radicals, Britsch Medical Bulletin 49 (3), 604, 1993.
11. Pryor WA : Oxy-radicals and Related Species, Their Formation, Lifetimes and Reactions, Annu Rev Physiol, 48, 657, 1986.
12. Roginsky VA Stegman HB : Kinetics of the reaction between ascorbate and free radical from vitamine E as studied by ESR steady-state method. Chem. Phys. 65, 103, 1993.