

## Oksidatif Stres

**Nodira Alakbarova\***

**A. Süha Yalçın\***

Oksijen kaynaklı serbest radikallerin çoğu, normal aerobik metabolizmasında veya radyasyon ve çevre kirliliğine maruz kalma gibi durumlarda düşük miktarlarda üretilir. Bunun sonucu olarak da hücrede antioksidan sistem tarafından sürekli düzeltilmesi gereken bir tahribat vardır. Reaktif türlerin miktarının ve etkisinin mevcut antioksidanlardan fazla olması oksidatif strese neden olur. Oksidatif stres terimi yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak bu durumun tam olarak tanımlanması ve belirlenmesi zordur. Bu terim ilk kez 1991 yılında Helmut Sies tarafından kullanıldığında “prooksidan-antioksidan dengesinin prooksidanlar lehine bozukluğunun potansiyel hasara yol açması” olarak tanımlanmıştı. Sonraki yıllarda, Helmut Sies ve Dean Jones oksidatif stres tanımını geliştirdiler Buna göre oksidatif stres temelde oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengesizliktir. Oksidanlar lehine olan artış, redoks düzenlemenin bozulmasına ve sonuçta moleküler hasara neden olur. Yüksek seviyedeki oksidatif hasar sadece oksidatif stres yüzünden değil, onarım veya değiştirme sistemlerinin bozukluğundan da meydana gelebilir. <sup>1</sup>

Oksidatif stres olarak adlandırılan durumda reaktif türlerin miktarı ve etkisi ortamda mevcut antioksidanlardan fazladır. Aerob organizmalarda oksijen kaynaklı reaktif türlerin üretimi antioksidan savunma sistemi ile dengelenmeye çalışılmış olmasına karşın bu her zaman sağlanamaz. Bu nedenle de reaktif türlerden kaynaklanan sürekli bir hasar durumu mevcuttur. Antioksidan savunma sistemi reaktif türleri tamamen ortadan kaldırmak yerine onları belirli bir seviyede tutmayı ve kontrol etmeyi yeğlemektedir. Bunun nedenleri aşağıda sıralanmıştır:

---

\* Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

1 Sies, H. (2019). Chapter 13 – Oxidative Stress: Eustress and Distress in Redox Homeostasis. In G. Fink (Ed.), *Stress: Physiology, Biochemistry, and Pathology* (pp. 153-163). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813146-6.00013-8>.

- Aşırı miktarda antioksidan üretiminin enerji maliyeti vardır, onun yerine hasarlanmış molekülleri tamir etmek daha az enerji gerektirir.
- Bazı reaktif türlere karşı antioksidan savunma yetersiz kalabilmektedir. Örneğin, suyun homolitik fisyonu yoluyla sürekli bir  $\cdot\text{OH}$  üretimi gerçekleşir. Bunu durdurmak neredeyse imkânsızdır. Onun yerine hasarın onarılması veya hasarlı moleküllerin değiştirilmesi tercih edilir.
- Reaktif türlerin *in vivo* düzenleyici rolü bir başka önemli faktördür. Son yıllarda, hücresel düzenlemede redoks dengesinin önemi ortaya konmuştur. Hücresel metabolizmanın düzenlenmesinde, fosforilasyon ve defosforilasyon aracılığı ile bazı transkripsiyon faktörlerinin ve enzimlerin görev aldığı da gayet iyi bilinmektedir. İki sistemin karşılıklı etkileşimi söz konusudur. Hücrenin redoks durumu fosforilasyonu etkilemekte ya da tam tersi gerçekleşmektedir.

## Oksidatif stresin sonuçları

Oksidatif stresin hücresel sonuçları aşağıdakilerin herhangi birini veya birkaçını kapsayabilir. Bunlar incelenen hücreye ve dokuya, hasarın ciddiyetine ve oksidatif stresin zamanla oluşan şiddetine bağlı olarak değişkenlik gösterebilir.

**Proliferasyon:** Birçok hücre hafif oksidatif strese çoğalarak tepki gösterir. Düşük seviyeli oksidatif stres, hücre kültürü ortamına  $\text{H}_2\text{O}_2$  veya 4-hidroksinonenal (HNE) gibi aldehitlerin eklenmesi gibi durumlarda çeşitli hücre türlerinin çoğalmasına sebep olur. Reaktif türlerin seviyesini azaltılması hücre çoğalmasını baskılayabilmektedir.

**Adaptasyon:** Genellikle hücreler ılımlı oksidatif strese dayanıklıdır. Antioksidan savunma sistemi hücre hasarını önlemek üzere devreye girer. Hücrenin oksidatif strese tepkisi hasara karşı tamamen koruma, hasara karşı belirli derecede koruma, aşırı koruma gibi birkaç şekilde olur. Aşırı korumadan sonraki tepki hücrenin yüksek seviyedeki oksidatif strese direnç göstermesidir.

**Göç ve yapışma:** Hücre hareketi ve hücrelerin ekstrasellüler matrikse yapışması embriyonik gelişim için gereklidir. Yaralanma ve iltihaplanmaya yanıt olarak gelişen doku yenilenmesinde de göç ve hareket vardır. Reaktif türlerin adezyon moleküllerinin seviyelerini düzenlemede rol oynadığı ve malignan hücrelerin metastazını desteklediği bilinmektedir.

**Hücre yaralanması:** Yaralanma, kimyasal veya fiziksel uyarının ya da geçici olarak hücrenin homeostazının değişmesi sonucu olabilir. Oksidatif hasar tersine çevrilebilirse hücre ölümüne yol açmaz, hatta

bir süre sonra hücre normal haline geri dönebilir. İlmli oksidatif stres seviyeleri hücre proliferasyonunu durdurma eğilimindedir. Geçici olarak hücre döngüsü kontrol noktalarını tetikler.

**Hücre yaşlanması:** Yüksek seviyedeki reaktif türler tarafından uyarılmış hücrelerde kalıcı bir bölünmeme durumu ortaya çıkabilir. Örneğin, insan fibroblastlarının 100-300  $\mu\text{M}$   $\text{H}_2\text{O}_2$ 'e maruz bırakıldığında yaşlanmış bir fenotip geliştirdiği ve hücre döngüsünü engelleyen protein seviyelerinin arttığı gösterilmiştir.

**Hücre ölümü:** Hücre yaralandıktan sonra, oksidatif hasarlı molekülleri tamir ederek veya değiştirerek ve oksidatif hasara dayanıklılık göstererek hayatta kalabilir. Ancak oksidatif hasar, özellikle DNA'da ise hücre ölüm mekanizmaları harekete geçerek apoptoz veya nekroz yolu ile ölümü tetikleyebilir.<sup>2</sup>

## Oksidatif stres ve iyonlar

Reaktif türler iyon hareketlerini çeşitli yollarla etkileyebilir:

- Redoks düzenleme yolu ile iyon kanalı olarak görev yapan proteinleri kodlayan genlerin ekspresyonuna neden olabilir.
- Redoks düzenlemeyle bir iyon kanalının açılması, hücrenel iyon dengesizliğine ya da membran potansiyelindeki ikincil değişikliklere sebep olabilir.
- Esansiyel tiyol gruplarının glutatyon (GSH) ile ve nitrozilleme ile değişmesi veya tirozin kalıntılarının nitratlama yoluyla oksitlenmesi ve indirgenmesi gibi değişiklikler gerçekleşebilir. Bu değişikliklerden bazıları iyon kanalı proteinlerinin yıkımına yol açabilir.
- **$\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz:** Oksidatif stres, hücre içi ve hücre dışı sıvı arasındaki iyon dengesini koruyan proteinlere zarar verebilir. Plazma zarındaki  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPaz enzimi (sodyum pompası olarak da adlandırılır) ATP'nin hidrolizinden oluşan enerjiyi kullanarak 3  $\text{K}^+$  iyonunu hücre içine alırken ve 2  $\text{Na}^+$  iyonunu hücre dışına çıkarır. Böylece hücre içinde  $\text{K}^+$ , hücre dışında da  $\text{Na}^+$  konsantrasyonunun yüksek tutulması sağlanır. Bu enzim katalitik aktivite için gerekli olan ancak oksidatif saldırıya duyarlı –SH grupları içermektedir. Reaktif türlerden  $\cdot\text{OH}$  ve GSH bu gruplar üzerinde değişiklik yaparak pompa aktivitesini azaltabilir. Ayrıca, hem  $\text{K}^+$  hem de  $\text{Na}^+$  kanalları reaktif türlerden ve lipit peroksidasyonu ürünü olan aldehitlerden etkilenir.

2 Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, USA.

**Kalsiyum iyonları:** Genelde hücre içi serbest  $Ca^{2+}$  konsantrasyonu düşük buna karşılık total  $Ca^{2+}$  konsantrasyonu çok daha yüksektir.  $Ca^{2+}$  büyük ölçüde mitokondride ve endoplazmik retikulum içinde tutulmaktadır. Serbest  $Ca^{2+}$  seviyelerindeki geçici değişimler hücre proliferasyonu ve nörotransmitterlerin salınması gibi birçok fizyolojik süreci kontrol eder. Hücre içi  $Ca^{2+}$  konsantrasyonu çeşitli sistemlerin uyumlu çalışması ile korunmaktadır. Ancak, oksidatif stres  $Ca^{2+}$  metabolizmasını düzensizleştirerek hücre içi serbest  $Ca^{2+}$  seviyesinin artışına neden olur. Kalsiyum iyonlarının miktarındaki değişiklikler düşük seviyedeki oksidatif stresin pro-proliferatif etkileriyle ve yüksek seviyelerdeki sitotoksositeyle yakından ilişkilidir. Reaktif türler, plazma membranında ve endoplazmik retikulümda bulunan  $Ca^{2+}$  akış sistemlerini bozabilir, transmembran kanallardaki - SH gruplarının oksidasyonuna ve nitrozilasyonuna neden olabilir. Ayrıca, oksidatif stres sonucunda membran potansiyelinin azalması ve plazma zarında bulunan voltaj-kapılı kanalların açılması söz konusudur. Artan  $Ca^{2+}$  seviyeleri fosfolipaz  $A_2$  enzimini aktive eder. Bu enzim, membran fosfolipitlerini parçalar, lökotrienleri ve prostaglandinleri üretmek üzere araşidonik asidi serbestleştirir. Serbest yağ asitlerinin ve eikozanoidlerin üretimi  $Ca^{2+}$  seviyeleri yükseldiği zaman artmaktadır. Bu durum membran organizasyonunu bozan lipit hidroliz ürünlerinin birikmesine yol açar. Kalsiyum iyonlarının artışı  $Ca^{2+}$  bağımlı-endonükleazları aktive ederek nükleusta DNA fragmentasyonuna neden olur. Bu olay apoptoz açısından çok önemlidir. Transglutaminaz ailesinden transglutaminaz-2 enzimi de  $Ca^{2+}$  tarafından aktive edilir. Bunun sonucunda proteinlerdeki bazı lizin ve glutamin kalıntıları birleşerek çözünmez agregatlar oluşturur.<sup>3</sup>

## Hücre ölümü

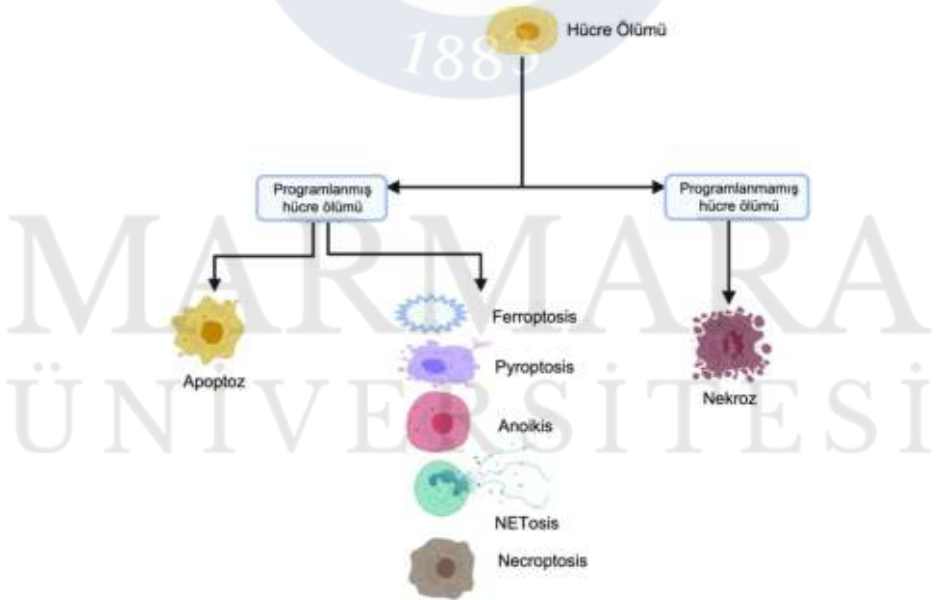
Aşırı oksidatif stres hücrelerin ölümü ile sonuçlanır.<sup>4</sup> Ölüm birbiriyle örtüşen birkaç farklı mekanizmadan kaynaklanabilir. Bunlar çeşitli yöntemlerle ölçülerek, hangisinin hücre ölümüne sebep olduğu aydınlatılmaya çalışılır. Hücre ölümünün çoğunlukla iki temel mekanizma sonucunda olduğu gözlenir: Apoptoz ve nekroz. Ancak sıklıkla ölüm her iki yolağın özelliklerine sahip mekanizmalarla gerçekleşir (Şekil 1). Nekroptoz, programlanmış hücre nekrozu veya düzenlenmiş nekroz olarak anılan bir olaydır. Burada genellikle çeşitli sinyal ileti yolları, özellikle de reseptörler ile etkileşen protein kinazlar aracılığıyla apoptoza karışan bazı

3 Ermak, G., & Davies, K. J. (2002). Calcium and oxidative stress: from cell signaling to cell death. *Molecular Immunology*, 38(10), 713-721.

4 Battistelli, M., Malatesta, M., & Meschini, S. (2016). Oxidative Stress to Promote Cell Death or Survival. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 2054650. <https://doi.org/10.1155/2016/2054650>.

proteinler inaktive edilir. Ferroptoz serbest demir iyonları ve reaktif türlerin varlığında gerçekleşen ve apoptotik olmayan hücre ölümüdür. Piroptoz (Yunanca gökten düşen ateş) hücre ölümü mekanizması nekrozun bazı özelliklerine sahip olan ve HIV enfeksiyonu sonrası lenfosit ölümüne katkı yapan bir süreçtir. Embriyonik gelişimde programlanmış hücre yaşlanması ile hücre ölümü önemlidir.

Nekroz ve apoptoz oksidatif strese bağlı olarak veya daha birçok nedenle gelişir. Memeli hücrelerinde  $H_2O_2$ 'in mM seviyeleri nekroza neden olurken, çok daha düşük konsantrasyondaki  $H_2O_2$  apoptotik hücre ölümünü başlatmaktadır. İyon kanallarının  $H_2O_2$  ile aktivasyonu ve hücre içi  $Ca^{2+}$  artışı, hücre ölüm mekanizmalarının hangisinin seçileceğinin belirlenmesinde önemlidir. Nekroz ile hücre ölümünde hücre organellerinin şişmesi, mitokondriyal bütünlüğün kaybı, peroksizomal ve lizozomal membranların yanı sıra plazma membranının yapısının tamamen bozulması ve hücre içi içeriğin dışarıya çıkması söz konusudur. Bu süreçte antioksidan enzimler ile çevredeki hücreleri olumsuz etkileyebilecek özellikteki hem, demir ve bakır gibi prooksidanlar salınır. Ayrıca aktifleşen kalpain ve peroksiredoksinler gibi bazı bileşenler enflamasyona yol açabilir.



Şekil 1. Hücre ölüm mekanizmaları<sup>5</sup>

5 Deshpande, R., & Zou, C. (2020). Pseudomonas Aeruginosa Induced Cell Death in Acute Lung Injury and Acute Respiratory Distress Syndrome. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 5356. <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/15/5356>.

Apoptoz çevredeki hücrelere etkisi olmayan bir hücre ölüm şeklidir. Burada hücre kendi intihar mekanizmasını aktive eder ve sonrasında hücre içeriğini sindirerek dışarıya atmaksızın yok eder. Apoptozda en erken görülen değişiklikler, hücre yoğunlaşması, kondensasyon ve kromatin parçalanmasıdır. Bu durum genellikle DNA çift sarmal yapısının bozulması ile ilişkilidir. Diğer değişiklikler hücre iskelet yapısının bozulması, nükleer parçalanma ve nihayetinde tüm hücre içeriğinin zar yapısı bozulmaksızın organel parçalarını içeren apoptotik cisimlere dönüşümüdür. Apoptotik cisimler makrofajlar tarafından fagosite edilir, bu süreç efferositoz (Latince cesedin mezarlığa taşınması) olarak adlandırılır. Fagositlerin yüzeyindeki reseptörler apoptotik hücreleri “beni ye” sinyalleri yardımı ile tanır. Bu sinyallerden biri olan fosfotidilserinin reseptörlere bağlanması, makrofajlar tarafından proinflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltırken anti-inflamatuvar moleküllerin üretimini artırır.

Oksidatif stres apoptozun sebebi olabilir: Pro-apoptotik faktörlerin salgılanmasına yol açan mitokondriyal permeabilite geçiş poru oluşumunu indükler. Bir diğer mekanizma ise aşırı miktarda GSH tüketimidir. Apoptoz sürecinde oksidatif ajanlara maruz kalan proteinlerin – SH grupları reaktif türler tarafından inaktive edilebilir. Reaktif türlerin yüksek seviyeleri apoptozu geciktirebilir veya durdurabilir. Genellikle hücre ölümü nekroptozu geçerek devam eder.

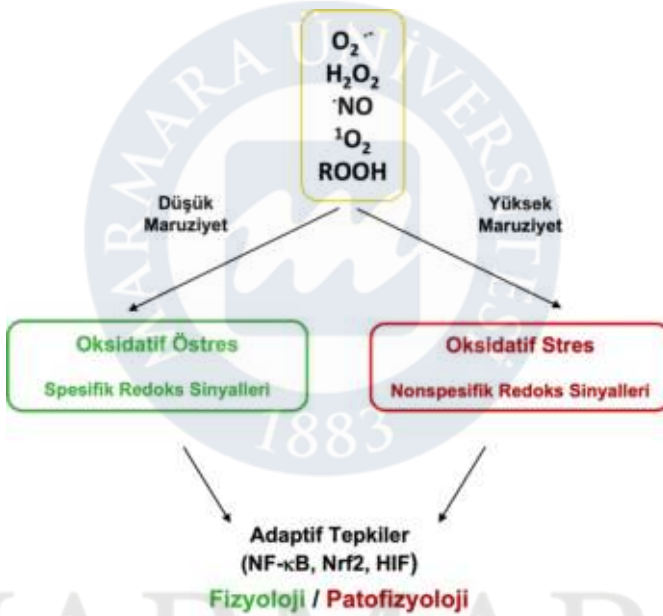
## Redoks düzenleme

Redoks reaksiyonları hücre içi ve hücreler arası sinyal iletiminde, hücrenin hormon ve büyüme faktörlerine cevabında, mitokondri ve diğer organeller arası haberleşmede ve strese karşı organ ve dokulardaki yanıtların düzenlenmesinde kilit rol oynar.<sup>6</sup> İyon kanalları, p53, kaspaz, akonitaz gibi bazı proteinler direkt olarak redoks dengesiyle düzenlenmektedir. Diğer bazı proteinlerin sinyalleri ise redoks duyarlı transkripsiyon faktörleri kullanılarak gen transkripsiyonu üzerinden kontrol edilir. Hücrede en az iki tür redoks düzenleme mekanizması vardır. Birincisi – SH gruplarının yükseltgenmesi ve indirgenmesidir. Glutasyon ile etkileşme ve nitrozilleme başlıca modifikasyonlardır. Diğer redoks düzenleme mekanizması ise Fe-S kümelerinde bulunan demir iyonlarının indirgenmesi ve yükseltgenmesiyle gerçekleşir.

Memeli hücrelerinin en önemli özelliklerinden biri otokrin, parakrin ve endokrin sinyallere yanıt vermeleridir. Bir sinyal molekülü reseptörüne bağlandığında, hücredeki çoğalma, farklılaşma, hareket, metabolizma ve hücreSEL davranış gibi çeşitli olayların

6 Forman, H. J., Ursini, F., & Maiorino, M. (2014). An overview of mechanisms of redox signaling. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 73, 2-9.

düzenlenmesinde görevli bir dizi hücre içi yanıtı başlatır. Hücreye dışarıdan gelen sinyaller hücre içindeki çeşitli moleküller aracılığıyla çekirdeğe kadar iletilir. Böylece gelen sinyale bağlı olarak bazı genlerin transkripsiyonunda ve hücre içi moleküllerin davranışında değişiklikler olur. Protein kinaz ve protein fosfatazlar sinyal iletiminin başlıca bileşenleridir. Reaktif türlerin etkisi genellikle fosforilasyonu artırmak ve defosforilasyonu inhibe etmek şeklindedir. Ayrıca belirli konsantrasyon aralığında sinyal ileti yollarının bileşenleri üzerinde doğrudan etkileri vardır. Ancak yüksek miktarlarda üretildikleri zaman patolojik durumlar ortaya çıkmaktadır (Şekil 2).



Şekil 2. Reaktif türler, oksidatif stres ve redoks sinyalleri arasındaki ilişki<sup>7</sup>

Elektron taşıma zincirinin bazı bileşenleri mitokondriyal DNA tarafından kodlanmakla birlikte mitokondri için gerekli olan genlerin çoğu nükleer DNA'da bulunur. Bundan dolayı nükleer ve mitokondriyal gen ekspresyonunu hem normal durumda hem de stres durumunda koordine edilmelidir. Örneğin, PGC-1 $\alpha$  çeşitli transkripsiyon faktörlerini aktive ederek mitokondriyal biyogenezini indükler. Bu faktörlerin en önemli iki tanesi olan Nrf1 ve Nrf2 mitokondriyal proteinlere ilişkin nükleer genlerin ekspresyonunu kontrol eder. Ancak, esansiyel -SH gruplarının oksidasyonundan dolayı Nrf2'nin DNA'ya bağlanması reaktif türler tarafından inhibe edilir.

7 Sies, H. (2020). Oxidative Stress: Concept and Some Practical Aspects. *Antioxidants*, 9(9), 852. <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/9/852>.

Transkripsiyon faktörü AP-1 hücre içi redoks durumunu algılar. AP-1'in DNA'ya bağlanması redoks sisteminin kontrolü altındadır. Oksidasyon AP-1'in DNA'ya bağlanmasını azaltır. Stres tepkisinde yer alan çoklu genlerin ekspresyonu, hücre büyümesi ve farklılaşması bazı sitokinler ile büyüme faktörüne yanıt olarak AP-1 tarafından regüle edilir.

Antioksidan yanıt elemanları (ARE), Nrf1 ve Nrf2'nin bağlanabileceği DNA üzerinde yer alan dizilerdir. Nrf2'nin ARE'lere bağlanması bazı transkripsiyon genlerinin ekspresyonunu artırır. Bunlar ksenobiyotik metabolizmasıyla ilgili enzimlerden NAD(P)H kinon oksiredüktaz, GST, UDP-glukuronil transferazlar ile CYP2A5, P-glikoprotein ve çoklu ilaç direnciyle ilişkili diğer proteinlerdir. Ek olarak, Nrf2 aktivasyonu HO-1 kodlayan genlerin ekspresyonunu ve GPx2, Prx1, tiyoredoksin,  $\gamma$ -GCS gibi antioksidan savunma seviyelerini artırır. Bu değişiklikler ksenobiyotik metabolizmasında artışa neden olur ve hücrenin oksidatif strese karşı daha dayanıklı olmasını sağlar.

## Sitokinler ve hormonlar

Redoks düzenleme sistemlerinin çoğu hücre içindedir. Çok hücreli organizmalarda hücreler arası haberleşmede nitrik oksit rol oynadığı uzunca bir süredir bilinmektedir. Diğer reaktif türlerin hücreler arası haberleşmedeki rolleri için de yeni kanıtlar ve bilgiler elde edilmektedir. Hücreler strese maruz kaldıkları zaman reaktif türleri salgılayarak çevreye mesaj gönderebilir. Bununla ilgili en iyi örnek apoptoz sürecidir. Apoptotik hücredeki oksitlenmiş lipitler çevredeki diğer komşu hücreleri etkileyebilir. Hücreler arası haberleşme hücre-hücre teması ile meydana gelir. Reaktif türlerden  $H_2O_2$ , yakın mesafede olan veya bitişik hücrelerde enflamasyonu tetikleyebilir. Oksidatif stres ise  $H_2O_2$ , indirgenmiş/yükseltgenmiş glutatyon (GSH/GSSG) veya tiyoredoksin değişimi gibi yollarla çevreye bilgi aktarımını sağlar. Ancak farklı organlarda yerleşik olan hücreler arasındaki haberleşmede, reaktif türler kısa yarı ömürleri nedeniyle doğrudan aracılık edemez. Bu tür mesajlar hormonlar yardımı ile verilir. İnsülin, tiroid hormonları, adrenalin, östrojen ve testosteron gibi hormonlar kana salındıktan sonra farklı hücrelerde çeşitli hücre içi sinyal yollarının yardımı ile etki gösterir. Diğer bir sinyal mekanizması sitokinler tarafından sağlanır. Sitokinler, hayvan ve bitki hücrelerinde üretilen, hücrelerin birbirleriyle iletişimini sağlayan bir grup protein ve peptidlerdir. Organizmadaki varlıkları genellikle geçicidir ve kesinlikle kontrol altındadır. Sitokinler normal büyümede, enflamasyon gelişiminde, yaralanma zamanı, doku onarımı ve yenilenmesi gibi süreçlerde kilit rol oynar. Bazı sitokinler pro-enflamatuar, bazıları da anti-enflamatuardır.

Pro-enflamatuar sitokinler oksidatif strese yanıt olarak sentezlenir ve hedef hücrelerde etki gösterir. Örneğin, hücrede NF- $\kappa$ B aktif olduğu zaman bazı sitokinler üretilir. Anti-enflamatuar sitokinler ise oksidatif stresi ve ROS üretimini azaltır.

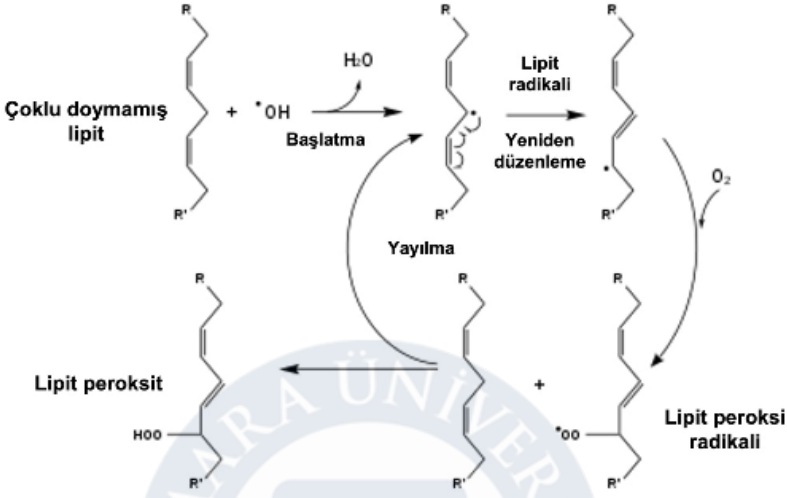
## Hücre sel hedefler

Antioksidan savunma sistemlerine rağmen vücutta açığa çıkan serbest radikaller makromoleküllerde hasara sebep olabilir. Hasar gören moleküllerden DNA'nın yapısındaki nükleotitler değişime uğrayarak buldukları hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesine yol açabilir. Bazı reaktif türler DNA yapısında direkt hasar oluşturmanın yanında sinyal iletimi üzerinden etki ederek hücre proliferasyonu, yaşlanma ve hücre ölümüne neden olur. DNA yapısındaki direkt hasar, purin ya da pirimidin bazları ile 2-deoksiriboz üzerinde oluşur. İndirekt olarak ise  $\text{Ca}^{2+}$  bağımlı endonükleazların aktivasyonu yoluyla hasar meydana gelebilir. Fizyolojik pH koşullarında fosfat gruplarının varlığı nedeniyle DNA negatif yüklüdür. Bundan dolayı da  $\text{Na}^+$  ve  $\text{K}^+$  gibi katyonların yanı sıra  $\text{Fe}^{2+}$  ve  $\text{Cu}^{2+}$  iyonlarının DNA'ya bağlanma affinitesi yüksektir. Oksidatif stres demir ve bakır iyonlarının serbestleşmesine neden olur. Bu süreçte [Fe-S] proteinleri ile bakır içeren proteinler DNA'ya bağlanarak molekölü  $\text{H}_2\text{O}_2$  saldırısı için hedef haline getirir. DNA ayrıca lipid peroksidasyonunun ve glikooksidasyonun son ürünleri ile de modifiye olabilir. Riboz ve 2-deoksiriboz yapısı  $\text{OH}^\bullet$  radikali tarafından parçalanır, karbon merkezli radikaller oluşturarak  $\text{O}_2$  varlığında hızla şeker peroksil radikallerine dönüşür. Böylece çeşitli reaksiyonlara giren karbonil ürünleri oluşur. Bazı amino asitler özellikle de histidin,  $\text{H}_2\text{O}_2$  tarafından oluşturulan DNA hasarını arttırır. UV ışınları da DNA'da hızla hasar oluşturur. Bu etkilerde  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'den  $\text{OH}^\bullet$  radikali üretimi ve pirimidinlerin çapraz kovalent bağlanmasıyla oluşan siklobutan pirimidin dimerleri önemlidir. Ayrıca in vitro olarak hücre kültürü ortamlarına  $\text{H}_2\text{O}_2$  eklenmesi, DNA zincirinin kopmasına ve baz modifikasyonunda artışa neden olmaktadır. DNA diziliminde oluşan değişimlere mutasyon adı verilir. DNA'da oksidatif stres ya da başka türlü oluşan hasar sonrası tamir tamamlanana kadar DNA replikasyonu ve hücre bölünmesi durdurulur. RNA'nın oksidatif modifikasyonu protein sentezinde azalmaya ve sentez

sürecinde bazı hataların oluşmasına neden olur. Bu durum hücre ölümü ile sonuçlanabilir.<sup>8, 9</sup>

Lipitler bütün biyolojik moleküller içerisinde serbest radikallere karşı en hassas olan ve onlardan en çok etkilenen yapılardır. Lipit peroksidasyonu (Şekil 3) yıllar önce A.L. Tappel tarafından tanımlanan bir biçimde yapısında çoklu doymamış yağ asitlerini (*polyunsaturated fatty acids*, PUFA) bulunan lipitlerin oksidatif bozulmasıdır.<sup>10</sup> Yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon ürünlerini oluşturur. Ayrıca reaktif oksijen türleri diğer bileşiklerden olduğu gibi lipitlerden de elektron kopararak lipit radikallerini oluşturur. Bu durum yeni radikaller üreterek zincir reaksiyonlara neden olduğu için çok zararlıdır. Meydana gelen hasar geri dönüşümsüzdür. Örneğin mitokondri membranındaki lipitlerin peroksidasyonu yaşlanmaya bağlı bazı hastalıklar oluşturur. Travmatik beyin hasarındaki sekeller ve apoptoz sırasında membrandan sitokrom c ayrılması da lipitlerin oksidasyonu ile ilişkili süreçlerdir. Lipit peroksitleri vücut sıcaklığında kararlıdır, ancak demir iyonu varlığında bileşenlere ayrılırlar. Demir ve bazı demir şelatları lipit peroksitleri ile reaksiyona girerek O-O bağlarını kırar ve alkoksil radikalini üretirler. Bakır iyonu da peroksit parçalanmasının güçlü bir aktifleştiricisi olarak bilinir. Özellikle de LDL'nin peroksidasyonunda etkilidir. Lipit peroksidasyonu membran akışkanlığını azaltır. Lipit çift tabakanın iki yarısı arasında fosfolipitlerin değiş tokuşu kolaylaşır ve asimetri bozulur. Membran proteinlerinin çapraz bağlanmaları lateral ve rotasyonel hareketleri azaltır. Proteinlerin inaktivasyonu ile reseptör ve enzim fonksiyonlarını kaybetmeleri kolaylaşır. Oksidatif stres sonucunda hücre içinde  $Ca^{2+}$  iyonu artması, fosfolipaz  $A_2$ 'yi aktive ederek araşidonik asitin serbestleşmesine neden olur. Endoplazmik retikulum ve Golgi membranında lipit peroksidasyonu sonucu oluşan hasar, protein katlanması, glikozillenme ve protein eksportu gibi bazı hücresel yeteneklerin azalmasına neden olur. Membran lipitlerinde ve lipoproteinlerde bulunan kolesterol halkasının veya kolesteroldeki ester bağının da oksitlenmesi mümkündür.

- 
- 8 Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M., & Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage: mechanisms, mutation, and disease. *FASEB Journal*, 17(10), 1195-1214.
- 9 Srinivas, U. S., Tan, B. W. Q., Vellayappan, B. A., & Jeyasekharan, A. D. (2019). ROS and the DNA damage response in cancer. *Redox Biology* 25, 101084. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2018.101084>.
- 10 Tappel, A., & Zalkin, H. (1960). Inhibition of lipid peroxidation in microsomes by vitamin E. *Nature*, 185(4705), 35-35.



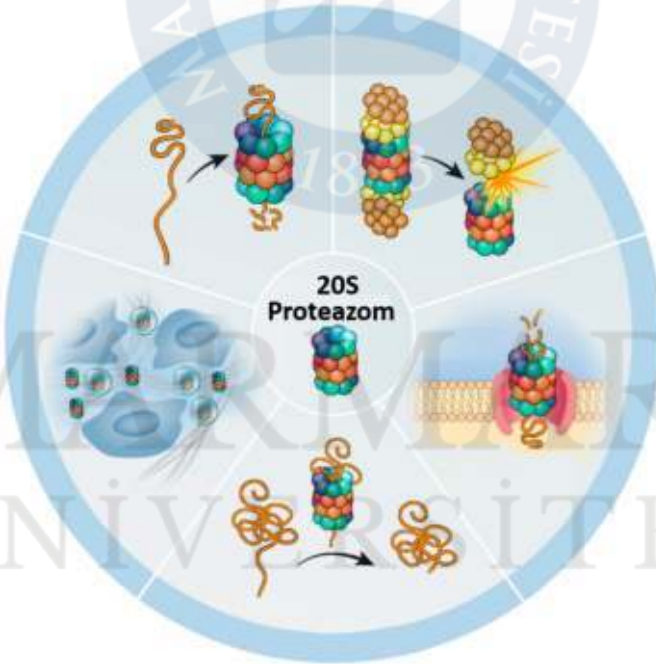
Şekil 3. Lipit peroksidasyonunun aşamaları

Proteinlerin oksidatif hasarı ile üstlendikleri reseptör, enzim, antikor, sinyal iletisi, transport ve yapısal fonksiyonlar etkilenir. <sup>11</sup> Herhangi bir proteinde meydana gelen hasar, etkileştiği diğer protein ve biyomoleküllerde ikincil hasarlar oluşturabilir.  $\text{Ca}^{2+}$  iyonlarının artması kalpainler, nükleazlar ve lipazlar gibi enzimleri aktive eder. Öte yandan, oksitlenmiş veya aldehitlerle modifikasyona uğramış olan proteinler bağışıklık sistemi tarafından yabancı olarak tanınır. Bunun sonucu olarak organizmadaki otoimmün reaksiyonlar artabilir. Protein hasarı, bazı radikallerin direkt etkisiyle (örneğin  $\text{OH}\cdot$ ) veya  $\text{HOCl}$ ,  $\text{ONOOH}$  gibi radikal olmayan moleküllerden ya da lipid peroksidasyonunun son ürünlerinden (MDA ve HNE gibi) kaynaklanabilir. Proteinler glikasyon veya glikoksidasyondan etkilenerek de hasarlanabilir. Artmış protein hasarı ise kanser, sarkopeni, otoimmün bozukluklar gibi bazı hastalıklarla ilişkilendirilmektedir. Tirozin kalıntıları üzerine  $\text{ONOOH}$ ,  $\text{NO}_2$ ,  $\text{HOCl}$ ,  $\text{HOBr}$  ve  $\text{NO}_2\text{Cl}$  gibi çeşitli reaktif türlerin saldırısı kalıcı hasarlar oluşturabilir. Proteinlerdeki peptit bağları da saldırıya maruz kalabilir. Fizyolojik seviyelerdeki  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{NO}$  ve  $\text{O}_2$  proteinler üzerinde çok az etkilidir. Ancak,  $\text{H}_2\text{O}_2$  kolay oksitlenebilen  $-\text{SH}$  gruplarını etkileyebilir. Protein peroksiditleri  $-\text{SH}$  grubu içeren enzimlerde hasar oluştururken metiyonin oksidasyondan dolayı inhibe olan proteinleri tekrar aktifleyebilir.

11 Davies, M. J. (2016). Protein oxidation and peroxidation. *Biochemical Journal*, 473(7), 805-825.

Otofaji evrimsel olarak korunmuş bir katabolik süreç olup otofagozom olarak adlandırılan çift zarlı vezikül içinde gerçekleşir. Otofaji protein sentezi ve organel dönüşümü gibi homeostatik fonksiyonlar için çok önemlidir. Hücrelerin bulunduğu ortamdan gerekli besini alamaması durumunda ortaya çıkarak hücrenin varlığını sürdürmesini sağlar. Ayrıca patojenler ile enfeksiyon, hipoksi gibi olaylardan ya da reaktif oksijen türlerinden kaynaklanan hücresel stres ile tetiklenebilir.<sup>12</sup>

Oksidatif hasarlı proteinleri proteazom adı verilen yapılar uzaklaştırır (Şekil 4). Bu yapının çekirdeğini oluşturan 20S proteazomdur. Silindirik yapısı her biri 7 tane protein altbirim içeren 4 tane halkadan oluşmuştur. Silindirik yapının 3 deliği bulunur. Merkezdeki delik proteolitik bölgeleri içerir, diğer ikisi kontrol fonksiyonuna sahiptir. Yaşlanmayla birlikte proteazom aktivitesi de azalmaktadır.



Şekil 4. Proteazom yapısı<sup>13</sup>

12 Majeski, A. E., & Dice, J. F. (2004). Mechanisms of chaperone-mediated autophagy. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 36(12), 2435-2444.

13 Kumar Deshmukh, F., Yaffe, D., Olshina, M. A., Ben-Nissan, G., & Sharon, M. (2019). The contribution of the 20S proteasome to proteostasis. *Biomolecules*, 9(5), 190. <https://www.mdpi.com/2218-273X/9/5/190>.

Bir başka proteolitik sistem olan Lon proteaz ise mitokondriyal ve peroksizomal proteinlerin kalite kontrol sistemidir. Lon proteaz sistemi ATP tarafından uyarılır. Bu sistem mitokondride oksitlenen proteinlerden akonitazı, peroksizomlarda ise katalazı parçalamaktadır. Lon proteaz seviyesi strese tepki olarak artar.

Reaktif türler tarafından karbonhidratlar da hasara uğratılabilir.<sup>14</sup> Örneğin monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucunda hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelir. Bir okzoaldehit olan glioksal, DNA ve RNA arasında çapraz bağ oluşturma özelliğinden dolayı antimitotik etkilidir. Süperoksit radikalinin ve hidrojen peroksitin *in vitro* koşulda hiyalüronik asidi parçaladıkları da gösterilmiştir.



MARMARA  
ÜNİVERSİTESİ

---

14 Morelli, R., Russo-Volpe, S., Bruno, N., & Lo Scalzo, R. (2003). Fenton-dependent damage to carbohydrates: free radical scavenging activity of some simple sugars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(25), 7418-7425.