



PROTEİN OKSİDASYONUNUN MEKANİZMASI, ÖNEMİ VE YAŞLILIKLA İLİŞKİSİ

Öz

Reaktif oksijen türlerinin birçok fizyolojik ve patolojik süreçte rol oynadığı bilinmektedir. Reaktif oksijen türleri direk ya da indirek olarak protein, lipid, DNA ve karbohidrat gibi biyomoleküllerin hasarlanmasına yol açabilirler. Proteinler oksidatif hasarın majör hedefleri olarak tanımlanmaktadır. İyonize radyasyon, metal iyon-katalizli reaksiyonlar, fotokimyasal prosesler ve enzim katalizli redoks reaksiyonları tarafından oluşturulan reaktif oksijen türleri ile proteinlerin reaksiyonu sonucu protein oksidasyonu oluşmaktadır. Amino asit yan zincirlerinin hidroksil veya karbonil derivelerine modifikasyonu, protein-protein çapraz bağlarının oluşumu ve polipeptid zincirlerinin fragmentasyonu proteinlerin oksidatif reaksiyonlarının muhtemel sonuçlarıdır. Bunlar arasında protein karbonil grubu içeriği genel bir indikatördür ve protein oksidasyonunun en yaygın kullanılan belirteçidir.

Son yıllarda yaşlanma ile ilgili araştırmalarda da reaktif oksijen türleri üzerinde durulmakta ve yaşlanma sürecinde önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir. Proteinlerin aktif oksijen türleri aracılığıyla hasarlanmasına örnek olarak yaşlanma sırasında görülen bazı anahtar metabolik enzimlerin oksidatif inaktivasyonu verilebilir. Ayrıca oksidatif olarak modifiye olan proteinlerin inflamatuvar hastalıklar, aterosklerozis, nörolojik hastalıklar, iskemi-reperfüzyon hasarı ve karsinogenezi içeren farklı patolojik şartlarda biriktiği bilinmektedir.

Anahtar sözcükler: Protein oksidasyonu, Reaktif oksijen türleri, Yaşlanma.



THE MECHANISM, SIGNIFICANCE AND RELATIONSHIP WITH AGING OF PROTEIN OXIDATION

ABSTRACT

It is known that reactive oxygen species play roles at physiologic and pathologic processes. They may damage biomolecules like proteins, lipids, DNAs and carbohydrates. Proteins are the main target of oxidative stress. Ionized-radiation, metal-ion catalyzed reactions, photochemical process and enzyme catalyzed redox reactions form the reactive oxygen radicals which react with proteins. Hydroxyl or carbonyl derivations of amino acid side chain, protein-protein cross linkage and fragmentation of polypeptide chains are main results of protein oxidation. Within these having protein carbonyl group is the most common marker of protein oxidation.

The studies made in the recent years show a relation between aging and oxygen radicals. As an example of protein damage via oxygen radicals, is the oxidative inactivation of some key metabolic enzymes in getting older. Furthermore it is known that proteins which are oxidatively modified increase in conditions like inflammatory diseases, atherosclerosis, neurologic diseases, ischemia-reperfusion damage and carcinogenesis.

Key words: Protein oxidation, Reactive oxygen species, Aging.

İletişim (Correspondance)

Özlem GÜLBAHAR
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya/Merkez Laboratuvarı ANKARA
Tlf: (0312) 202 41 67 Fax: (0312) 213 72 37
e-mail: mdzengin@yahoo.com

Geliş Tarihi: 20/12/2006
(Received)

Kabul Tarihi: 07/03/2007
(Accepted)

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya/Merkez Laboratuvarı ANKARA



PROTEİN OKSİDASYONUNUN MEKANİZMASI

Protein oksidasyonu, reaktif oksijen türleri (ROS) (OH^\cdot , H_2O_2 gibi) ile direkt olarak veya oksidatif stresin sekonder ürünleri ile reaksiyonu sonucu indirek olarak indüklenen, proteinlerin kovalent modifikasyonu olarak tanımlanmaktadır (1). Reaktif oksijen türlerinin üretimine neden olan tüm reaksiyonlar ve ajanlar protein oksidasyonuna yol açabilmektedir (2).

ROS ile protein ana yapısının reaksiyonu, amino asit α karbonundan bir H atomunun OH^\cdot 'e bağlanarak ayrılması ve H_2O oluşturması ile başlar (3). Her ne kadar OH^\cdot 'in majör kaynağı fizyolojik şartlar altında H_2O_2 'nin Fe veya Cu aracılığı ile ayrılması olsa da aynı reaksiyonlar iyonize radyasyon sonucu oluşan OH^\cdot ve HO_2^\cdot ile de gerçekleşmektedir. H atomunun OH^\cdot 'ne bağlanarak ayrılması karbon merkezli radikalın oluşumuna neden olur. Oluşan bu radikal, oksijen varlığında hızlıca peroksil radikaline dönüşür. Peroksil radikali de kolaylıkla, süperoksit radikalinin protonlanmış formu veya başka bir molekülden H atomu alarak alkil peroksite dönüşür. Alkil peroksit ise HO_2^\cdot ile daha ileri bir reaksiyonla alkoksil radikale ve daha sonra da alkoksil radikali yine HO_2^\cdot ile hidroksi türevine dönüşür (3).

Reaksiyonlar karbon merkezli radikale oksijenin eklenmesine bağlıdır. Oksijenin varlığında ilerleyen bu ileri reaksiyonlar HO_2^\cdot dışında Fe^{+2} aracılığı ile de gerçekleşebilmektedir. Eğer oksijen yoksa karbon merkezli radikal karbon-karbon çapraz bağlı türevleri üretmek üzere bir başka karbon merkezli radikal ile reaksiyona girebilir. Bu yoldaki alkil, alkil peroksil ve alkoksil radikal ara ürünleri aynı ya da başka protein molekülündeki diğer amino asit rezidüleri ile yan reaksiyonlara girerek şekil 1'dekine benzer reaksiyonlarla yeni bir karbon merkezli radikal oluşturabilirler (3).

Protein Oksidasyonunun Türleri

Proteinler birçok farklı mekanizma ile okside olabildiklerinden birden fazla protein oksidasyon türü vardır (1). Proteinlerin oksidatif modifikasyonları için genel kabul gören bir sınıflandırma şeması yoktur. Ancak protein oksidatif modifikasyonu, oksitlenen rezidünün ve oluşan ürünün özelliğine göre iki gruba ayrılabilir (4).

- 1. Global Modifikasyon:** Birden çok rezidünün değiştiği ve birden çok ürünün oluştuğu modifikasyonlardır. **Karbonil gruplarının** oluşumu bu tür modifikasyonun bir örneğidir.
- 2. Spesifik Modifikasyon:** Hem oksitlenen rezidünün, hem de oluşan ürünün oldukça spesifik olduğu modifikasyonlardır. **Ditirozin** oluşumu bu tip modifikasyonun bir örneğidir.

Protein oksidatif modifikasyonunun pek çok farklı tipi olduğundan, protein oksidasyonu için tek evrensel belirteç yoktur (1). Ancak, protein **karbonil grupları** oksidatif indüklü hücrel hasarın en genel belirteç olarak kabul edilmekte ve yaygın olarak kullanılmaktadır (1,2,5,6).

Bunun nedenleri arasında protein karbonil gruplarının birçok farklı mekanizma ile ortaya çıkabilmesi, stabil olması ve basit ama duyarlı yöntemlerle ölçülebilir olması sayılabilir (7).

Karbonil Gruplarının Oluşumu (Global Modifikasyon)

Proteinlerin ROS veya oksidatif stresin sekonder ürünleri ile reaksiyonu, karbonil gruplarına sahip peptit fragmanları veya protein türevlerinin oluşumuna neden olabilir. Karbonil gruplarının oluşumu birkaç mekanizma ile gerçekleşebilmektedir (3).

- 1. Proteinlerin, ROS tarafından okside edilmesi aracılığıyla peptit bağlarının yıkılması sonucu karbonil grupları ortaya çıkabilir (3).**

Protein ana yapısının oksidasyonu sırasında oluşan proteinlerin alkil peroksit türevleri ve alkoksil radikalleri peptid bağı, ya diamid ya da alfa amidasyon yolu ile yıkabilirler. Diamid yolu üzerinden parçalanmada proteinin N- terminal bölgesinden derive olan peptit fragmanı C-terminal kısmında bir diamid yapıya sahip iken proteinin C terminal bölgesinden derive olan peptid fragmanı N terminal kısmında isosiyanat yapıya sahiptir. Buna karşın alfa amidasyon yolu üzerinden yıkılmada proteinin N terminal bölgesinden elde edilen peptit fragmanı C - terminal kısmında bir amid grubuna sahip iken proteinin C terminal kesiminden derive olan fragmandaki N terminal amino asit rezidüsü ise alfa ketoaçil derivesi olarak yerini alır (3).

Ayrıca glutamil, aspartil ve protil yan zincirlerine ROS atağı sonucunda da peptid bağının yıkımı gerçekleşebilir (3). Peptid bağı, glutamil rezidüsünün gama karbon atomundan bir hidrojen atomunun OH^\cdot 'ne bağlanarak ayrılması sonucu C-terminal fragmanının N- terminal amino asitinin yerine N-pirüvil derivesinin yer aldığı bir mekanizma ile bölünmeye başlar (8).

Proteinlerin radyolizisi sırasında oluşan peptit fragmanlarının sayısının protil rezidülerinin sayısına hemen hemen eşit olduğu gözlenmiş, protil rezidülerinin oksidasyonu ile peptid bağının parçalanmasının başlayabileceği ileri sürülmüştür (9). Protil rezidülerinin oksidasyonu sonucu 2-pirolidon oluşumu ile birlikte peptid bağın yıkımının gelişebileceği Uchida'nın çalışmaları ile de gösterilmiştir (10). 2-pirolidon'un asit hidrolizi ile ürün olarak 4- amino-butirik asit ortaya çıkar. Bu nedenle, protein hidrolizatlan-



rının içerisinde 4-aminobutirik asidin varlığı, prolin oksidasyonu yolu ile peptit bağın ayrılmasının gerçekleştiğinin muhtemel kanıtı olarak kabul edilmektedir (3).

2. Metal kataliz aracılı oksidasyon sistemleri ile bazı proteinlerin amino asit rezidülerinin yan zincirlerinin oksidasyonu sonucu da karbonil grupları ortaya çıkabilmektedir. Metal katalizli oksidasyona maruziyet sonrası lizin, arjinin, prolin ve treonin rezidülerinin karbonil derivelerine, histidin rezidülerinin ise 2-oxo-histidine dönüştüğü gözlenmiştir (3). Escherichia coli glutamin sentetaz ile yapılan çalışmalar sonucu enzim üzerinde metal bağlama bölgelerinde yer alan amino asit rezidülerinin bölge spesifik bir mekanizma ile metal katalizli oksidasyona oldukça duyarlı olduğu gösterilmiştir (11). Lizin rezidüsünün amino grubuna Fe(II)'in bağlanması ile oluşan şelat kompleksi H_2O_2 ile reaksiyona girdiğinde ürün olarak OH^- ortaya çıkar. OH^- 'nin lizin rezidüsü ile reaksiyonu sonucu ise 2-amino-adipik-semialdehit oluşur. Fe (II) ile diğer bazı amino asitlerin benzer reaksiyonları da karbonil derivelerinin oluşumuna neden olur. Metal katalizasyon sisteminin bölge spesifik bir mekanizma oluşu, reaksiyonun katalaz ile inhibe edilebildiği halde OH^- yakalayıcıları tarafından inhibe edilememesi ile açıklanmıştır. Muhtemelen OH^- yakalayıcıları, metal bağlama bölgesinde gerçekleşen amino asit- OH^- kafes reaksiyonları ile yanşamaz. Amino asit oksidasyonunun bu bölge spesifik mekanizmasının önemi son çalışmalar ile daha iyi anlaşılmıştır (3). Örneğin Requena ve arkadaşları çalışmalarında, prolin, lizin ve arjinin rezidülerinin aldehit derivelerine oksidasyonundan, in vitro MCO sistemleri ile glutamin sentetazın oksidasyonu sonucu oluşan protein karbonil gruplarının tamamından ve rat karaciğer ekstratlarında tespit edilen protein karbonil gruplarının % 50-60'ından bölge spesifik mekanizmanın sorumlu olduğunu ifade etmişlerdir (12).
3. Reaktif karbonil grubu içeren proteinler aynı zamanda, indirgeyici şekerler veya onların oksidasyon ürünleri ile proteinlerin lizin rezidülerinin primer amino gruplarının sekonder reaksiyonları sonucu oluşabilir (13). Ayrıca poliansatüre yağ asitlerinin peroksidasyonu sırasında oluşan α - β ansatüre aldehitler ile lizin, sistein veya histidin rezidülerinin reaksiyonları sonucu da oluşabilirler (14).

Spesifik Modifikasyon

Spesifik oksidasyon ürün örnekleri arasında fenilalanin residülerinin o-tirozine ve tirozinin ditirozine dönüşümleri bulunur (4).

Protein Yapısında Yer Alan Amino Asitlerin ve Serbest Amino Asitlerin Oksidasyonu

Potansiyel olarak amino asit yan zincirlerinin tümünün oksidatif olarak modifiye olabileceği belirtilmektedir ancak bazı rezidülerin oksidasyonu sonucu oluşan ürünler tam olarak tanımlanamamıştır (1,15).

Protein-Protein Çapraz Bağının Oluşması

Proteinlerin oksidatif modifikasyonu farklı mekanizmalar aracılığıyla protein içi veya proteinler arası çapraz bağlı derivelerin oluşumuna da neden olabilir (3).

Okside Proteinlerin Birikimi

Okside protein düzeyini, protein oksidasyon oranı ile okside protein yıkım oranı arasındaki denge belirler. Bu dengeyi sağlayan faktörlerden protein oksidasyon oranı, ROS üretimini gerçekleştiren bir dizi faktöre ve antioksidanların konsantrasyonlarına bağlı iken diğer faktör olan okside protein yıkım oranı ise proteolitik aktivitenin derecesine bağlıdır (16).

Okside proteinler, selektif olarak ve hızlı bir şekilde yıkılırlar. Lizozom ve proteozomlar proteinlerin yıkımını sağlayan ve strese karşı belirli maddeler tarafından aktive edilen iki intrasellüler sistemdir. Proteolitik aktivitenin azaldığı durumlarda okside proteinlerin birikimi söz konusu olur. Hücre sel canlılığın sürdürülmesinde proteolitik fonksiyonların önemi Alzheimer hastalığı, diyabet, ateroskleroz ve iskemi/reperfüzyon hasarını içeren birçok hastalıkta ortaya konulmuştur (16).

Serbest radikallerin proteolitik sistemleri inhibe edebildiği olası 2 mekanizma vardır (16):

1. Serbest radikaller aracılığıyla proteazları inhibe eden proteinlerin oluşumu
Proteinlerin serbest radikal üreten sistemlere veya MDA ve 4-hidroksi-2-nonenal (HNE) gibi lipid peroksidasyon ürünlerine uzamış maruziyeti agregre, çapraz bağlı materyallerin üretimi ile sonuçlanır. Protein hidrofobitesindeki artma nedeniyle, proteolitik enzimler tarafından bu substratların tanınmasında bir artış söz konusudur. Sonuçta proteinlerin bu formları çeşitli proteinazlar tarafından kolayca tanınmakla birlikte agregre, çapraz bağlı yapıları dolayısıyla proteolizise dirençlidirler. Oksidatif olarak modifiye olmuş proteinler böylece aktif bölgeye bağlı olarak proteolitik aktiviteyi inhibe eder ve proteozom inhibitörleri gibi hareket ederler (16).
2. Spesifik proteolitik enzimlerin direkt olarak serbest radikal aracılı modifikasyonu:

Lizozomal sistemlerin spesifik komponentlerinin serbest radikaller ile etkileşimi yaygın olarak araştırılmamasına karşılık, proteozomların serbest radikallere maruziyet



sonrasında inaktive olduğu gösterilebilmiştir. Proteozom aktivitesindeki azalmanın apoptozisin uyarılmasına ve artmasına bağlı olabileceği de düşünülmektedir (16).

Oksidatif Stresin Belirteci Olarak Protein Oksidasyonunu Kullanılmasının Avantajları ve Dezavantajları

Lipid peroksidasyonu ve DNA oksidatif baz modifikasyonu ürünlerinin ölçümüne oranla, proteinler oksidatif stresin markırı olarak bazı avantajlara sahiptir. Proteinlerin her biri kendine özgü biyolojik fonksiyonlara sahip olduklarından, modifikasyonları sonucu özgül fonksiyonel bozukluklar ortaya çıkar (fibrinojenin oksidasyonu sonucu pıhtılaşma bozukluğunun olması gibi). Proteinlerin oksidatif modifikasyonu sonucu açığa çıkan ürünler göreceli olarak stabil olup duyarlı analizlerle düzeyleri ölçülebilir. Bu nedenle protein oksidasyonu oksidatif stresin düzeyini ortaya koymada uygun bir belirteç olarak kullanılabilir (1).

Protein modifikasyonunun şekli oksidanın tipi hakkında önemli bilgiler verebilir. Örneğin; lizin rezidüleri üzerindeki aminoasit eklentiler ve klorotirozil grupları, nötrofil ve/veya monosit kaynaklı oksidasyonu yansıtır ve muhtemelen HOCl ile oksidasyonun spesifik belirteçleridir. Oksidasyon ürünlerinin bu tiplerinin her ikisi de insan ateroskleroz lezyonlarında bulunmuştur. Singlet oksijen protein karbonillerinin iyi bir indükleyicisi değildir. Bu nedenle oksidatif stresin kaynağı singlet oksijen ise, bu reaktif türüne daha duyarlı olan metionin, histidin, tirozin ve triptofanın oksidasyon ürünleri analiz için daha yararlı olabilir. Oksidatif stresin bir belirteci olarak protein, lipid veya DNA'nın kullanılıp kullanılmayacağına tayininde oksidatif stresin yapısı önemli bir rol oynar. Örneğin, HOCl protein oksidatif modifikasyonunun mükemmel bir indükleyicisidir. Ama lipid veya DNA'nın modifikasyonuna neredeyse hiç neden olmaz. Bu nedenle okside edici bir tür olarak HOCl ön planda olduğunda, markır olarak proteinler kullanılmalıdır. Diğer ROS, lipid peroksidasyonu veya oksidatif DNA hasarını indüklemeye daha etkilidirler (1).

Karboniller ROS'un hemen hemen tüm tipleri tarafından indüklenebilirler. Bu nedenle oksidatif stresin kaynağı hakkında önemli bilgi vermezler. Ek olarak karboniller, metionin sülfoksit ve sistein derivelerine kıyasla daha zor indüklenirler, bu nedenle oksidatif stresin daha ciddi boyutlarını yansıtır olabilirler. Sonuç olarak protein karbonil gruplarının yüksek düzeylerde bulunması yalnızca oksidatif stresin değil, aynı zamanda hastalıklarla bağlantılı fonksiyon bozukluklarının da bir işaretidir. Diğer yandan metionin ve sistein oksidatif saldırıya oldukça duyarlı olmalarına rağmen bu rezidülerin modifikasyonu her zaman protein fonksiyonları üzerinde bir etkiyle sonuçlanmaz. Metionin rezidüleri bazı durumlarda aminoasit

rezidülerini oksidatif hasardan korumak amacıyla internal çöpçü olarak görev yapabilir (1).

Protein oksidasyonunun oldukça spesifik olan yapısı, aynı zamanda oksidatif stresin belirteci olarak bu makromoleküllerin kullanımının dezavantajlarından birini oluşturur. Protein oksidasyon ürünlerinin çeşitliliği nedeniyle oksidatif stresin tipini belirleyebilmek amacıyla farklı analiz yöntemleri oluşturma gereksinimi doğmuştur (1).

PROTEİN OKSİDASYONUNUN ÖNEMİ

Oksidasyon araştırmalarında bugün en büyük iddialardan biri in vivo oksidatif stresin tayinidir. Proteinler tüm hücre ve dokularda yer almaları ve oksidatif modifikasyona duyarlı olmaları nedeniyle oksidatif stresin faydalı bir markırı olarak hizmet edebilirler (17). ROS biyolojik moleküllerin tümüne zarar verebilir.

Bununla birlikte proteinler muhtemelen oksidatif hasara en duyarlı moleküllerdir ve hasarın etkisi diğer moleküllere göre oldukça fazladır (18).

Proteinlerin oldukça farklı biyolojik fonksiyonları vardır. Proteinlerde in vivo olarak meydana gelen oksidatif değişiklikler proteinlerin rol oynadığı çeşitli hücrel fonksiyonları etkiler. Protein oksidasyonu ile ilişkili olduğu bilinen bazı hastalıklar ve hedef proteinleri: (1) Ateroskleroz (LDL), Romatoid artrit (IgG, α -1-proteinaz inhibitör), İskemi-reperfüzyon hasarı, Amfizem (α -1-proteinaz inhibitör, elastaz), Nörodejeneratif hastalıklar, Alzheimer (β -aktin, kreatin kinaz), Parkinson, Sporadik amyotrofik lateral skleroz, Musküler distrofi, ARDS, Yaşlanma (glutamin sentetaz, karbonik anhidraz III, akonitaz), Progeria, Akut pankreatit, Kataraktogenez (α -kristalinler) ve Kanser.

Reseptörlerin, sinyal ileti mekanizmalarının, yapısal proteinlerin, transport sistemlerinin ve enzimlerin rol oynadığı hücrel olaylar oksidatif protein hasarından etkilenir (19). Örneğin enzimlerin oksidatif değişikliklerinin enzim aktivitelerinde inhibisyona neden olduğu gösterilmiştir. Enzim oksidatif değişiklikleri ılımlı veya ciddi, hücrel veya sistemik metabolik etkiler gösterebilir. Bu etkiler değişikliğin sürekliliği ve değişen moleküllerin yüzdesine bağlıdır (1).

Proteinlerin yapısal değişiklikleri de fonksiyon kaybına yol açabilir. Örneğin plazma fibrinojen proteini okside olduğu zaman solid pıhtı oluşturma yeteneğini kaybeder ve pıhtının inhibisyonun derecesi proteinlerde karbonil oluşumuyla koreledir. Sinoviyal sıvıdaki immünglobinlerin oksidasyonu agregasyona neden olur ve romatoid artrit etyolojisine katkıda bulunur. α -1 antitripsin'in oksidatif değişikliği ciddi fizyolojik sonuçlara neden olur. Bu plazma proteini akciğer ve kartilaj gibi dokularda proteoliz inhibisyonundan sorumludur. Düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL) oksidasyonu LDL apoprote-



ininde karbonil gruplarının oluşumuna yol açar. Okside LDL ise doku makrofajları tarafından alınıp birikir. LDL nin oksidasyonu aterosklerozun etiolojisinde önemli rol oynar. Benzer şekilde kristalin proteininin oksidasyonu lenste katarakt oluşumunda önemli rol oynayabilir. Diğer bazı hastalıklarda da okside proteinlerde bir artış olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (1).

PROTEİN OKSİDASYONU VE YAŞLANMA

Oksidanlar aerobik metabolizma tarafından yüksek oranlarda ve sürekli olarak üretilir. Bu oksidanlar DNA (20), protein (21) ve lipid (22) makromoleküllerinin hasarına neden olurlar. Sonuçta böyle hasarlanmaların artması yaşlanmaya ve yaşa bağlı dejeneratif hastalıkların oluşmasına katkıda bulunabilir (23,24).

Mitokondri tarafından üretilen oksidanlar yaş ile artan oksidatif lezyonların majör kaynağı gibi görünmektedir. Bazı mitokondriyal fonksiyonların yaş ile ilişkili olarak azaldığı gösterilmiştir. Oksidatif hasar yüzünden oluşan mitokondriyal defisitteki yaşa bağlı artışın hücre, doku ve organizmal yaşlanmanın majör nedeni olduğu söylenmektedir. Oksidatif olarak hasarlanmış proteinlerin birikimi yaş ile belirgin olarak artar. Okside olmuş reaktif karbonil gruplarına sahip disfonksiyonel proteinlerin birikimi protein amino grupları arasında molekül içi veya moleküller arası çapraz bağların oluşumuna yol açabilir. Bu da mitokondride fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyonların kaybına neden olabilir. Sonuçta mitokondride protein oksidasyon ürünlerinin yaşa bağlı birikimi enerji üretiminin kaybına ve oksidanların üretiminin artmasına yol açabilir (24).

Yaşlanma sırasında gözlenen akut nörolojik hasar veya kronik nörolojik dejenerasyonların mitokondriyal disfonksiyon ve NMDA reseptör aracılı yolda üretilen oksidanlar yoluyla oluşabileceği düşünülmektedir. Ayrıca T lenfositlerde yaşa bağlı görülen değişikliklerde antioksidan tedavi sonrası oksidan indüklü membran rijiditesinin azalması, hücre içi antioksidan düzeylerin artması ve mitokondriyal fonksiyonların düzelmesi gibi düzelmelerin olması yaşlılıkta immün sistemde gözlenen bozulmalarda oksidatif stresin rolünü ortaya koymaktadır (24).

Kaçınılmaz biyolojik bir süreç olan yaşlanma fizyolojik fonksiyonlarda genel bir azalma ile karakterizedir (24). Yaşlanma, birçok enzimin ısıya daha duyarlı formlarının oluşması, aktivitelerinde azalma veya tamamen inaktive olması gibi enzim fonksiyonlarında bozulmaların artışı ile ilişkilidir. Yaşlı hücrelerde bazı proteinlerin inaktif formlarının biriktiği de gösterilmiştir. Lipofusin gibi protein içeren 'yaş pigmentleri' bazı dokularda birikir. Yaşlanma ile bazı gerbil dokularında protein karbonil düzeylerinin arttığı da gösterilmiştir. Muhtemelen bu yaşa bağlı değişikliklerin, en azından bir kısmının,

çeşitli nedenlerle indüklenen oksidatif modifikasyonlar nedeniyle ortaya çıktığı yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır: Enzimlerin in-vitro olarak ROS'a maruz kalması, yaşlanmada görülen değişikliklere benzer şekilde, enzimlerin katalitik aktivitesinde, ısı stabilitesinde ve proteolitik duyarlılıklarında bozulmalara yol açmaktadır. Hayvanların oksidatif strese kısa süreli maruziyeti de enzimlerde yaşlanmada gözlenen değişikliklere benzer değişikliklere yol açmaktadır. Yaşlı hayvanlar oksidatif stresin neden olduğu protein hasarına genç hayvanlardan daha duyarlıdır (2). Proteinlerin karbonil içeriğinde yaşa bağlı bir artış olduğu insan beyni, gerbil beyni, göz lensi, rat hepatositleri, sineklerin tüm vücut proteinleri ve insan eritrositlerinde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Protein karbonil içeriğinde artışa yol açan rejimlerle yaşam süresini artıran rejimler arasında ters bir ilişki söz konusudur. Örneğin kalori kısıtlamasının protein karbonil düzeylerinde bir azalmaya ve yaşam süresinde artışa neden olduğu rat ve fareler üzerinde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Aynı kronolojik yaşta kıyaslama yapıldığı zaman kısa yaşam süresine sahip ev sineklerinin uzun yaşayanlardan daha yüksek düzeylerde oksidize proteinlere sahip olduğu gözlenmiştir (2).

Protein karbonillerinin birikimi amyotrofik lateral skleroz, Alzheimer hastalığı, reparatuar distres sendromu, muskuler distrofi, katarakt, romatoid artrit, progeria ve Werner sendromu gibi bazı hastalıklar ile ilişkilidir. Aterosklerozis, diyabet, Parkinson hastalığı, esansiyel hipertansiyon, kistik fibrozis ve ülseratif kolit hastalıklarında da proteinlerin oksidatif modifikasyonunun rolü olduğu düşünülmektedir (2).

KAYNAKLAR

1. Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug Metab Rev* 2000; 32:307-326.
2. Berlett BS, Stadtman ER. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *J Biol Chem* 1997; 272: 20313-20316.
3. Stadtman ER, Levine RL. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins. *Amino Acids* 2003; 25:207-218.
4. Levine RL. Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, and disease. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 790-796.
5. Beal MF. Oxidatively modified proteins in aging and disease. *Free Radic Biol Med* 2002; 32: 797-803.
6. Chevion M, Berenshtein E, Stadtman ER. Human studies related to protein oxidation: protein carbonyl content as a marker of damage. *Free Radic Res* 2000; 33: 99-108.
7. Shan X, Aw Ty, Jones DP. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. *Pharmac Ther* 1990; 47: 61-71.
8. Garrison WM. Reaction mechanisms in radiolysis of peptides, polypeptides, and proteins. *Chem Rev* 1987; 87: 381-398.



9. Schuessler H, Schilling K. Oxygen effect in radiolysis of proteins. Part 2. Bovine serum albumin. *Int J Radiat Biol* 1984; 45: 267-281.
10. Uchida K, Kato Y, Kawakishi S. A novel mechanism for oxidative damage of prolyl peptides induced by hydroxyl radicals. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 169: 265-271.
11. Farber JM, Levine RL. Sequence of a peptide susceptible to mixed-function oxidation: probable cation binding site in glutamine synthetase. *J Biol Chem* 1986; 261: 4575-4578.
12. Requena JR, Chao CC, Levine RL, Stadtman ER. Glutamic and aminoadipic semialdehydes are the main carbonyl products of metal-catalyzed oxidation of proteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98: 69-74.
13. Grandhee S, Monnier VM. Mechanism of formation of the Maillard protein cross-link pentosidine. *J Biol Chem* 1991; 266: 11649-11653.
14. Uchida K, Stadtman ER. Covalent attachment of 4-hydroxynonenal to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. *J Biol Chem* 1993; 268: 6388-6393.
15. Leeuwenburgh C, Hansen PA, Holloszy JO, Heinecke JW. Oxidized amino acids in the urine of aging rats: potential markers for assessing oxidative stress in vivo. *Am J Physiol* 1999; 276: 128-135.
16. Szweda PA, Friguet B, Szweda LI. Proteolysis, free radicals and aging. *Free Radical Biology & Medicine* 2002; 33:9-36.
17. Schreck R, Albermann K, Baeuerle PA. Nuclear factor kappa B: an oxidative stress-responsive transcription factor of eukaryotic cells (a review). *Free Radic Biol Med* 1992; 17: 221-237.
18. Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D, Milzani A, Colombo R. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta* 2003; 329: 23-38.
19. Çakatay U, Telci A, Kayali R, Tekeli R, Akçay T, Sivas A. Relation of oxidative protein damage and nitrotyrosine levels in the aging rat brain. *Experimental Gerontology* 2001; 36: 221-229.
20. Fraga CG, Shigenaga MK, Park JW, Degan P, Ames BN. Oxidative damage to DNA during aging: 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc Natl Acad Sci* 1990; 87: 4533-4537.
21. Stadtman ER. Protein oxidation and aging. *Science* 1992; 257, 1220-1224.
22. Marnett LJ, Hurd H, Hollstein MC, Levin DE, Esterbauer H, Ames BN. Naturally occurring carbonyl compounds are mutagens in *Salmonella* tester strain TA104. *Mutat Res* 1985; 148: 25-34.
23. Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, Antioxidants, and the Degenerative Diseases of Aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 7915-7922.
24. Shigenaga MK, Hagen TM, Ames BN. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proc Natl Acad Sci* 1994; 91: 10771-10778.