

Araştırma Makalesi

MEMELİLERDE ORTALAMA YAŞAM SÜRESİ VE YAŞLANMA SÜRECİNDE SERBEST RADİKALLERİN ROLÜ

Sema Yaralıoğlu GÜRGÖZE¹, Tekin ŞAHİN², M.Hanifi DURAK¹

Geliş Tarihi : 02.10.2006

Kabul Tarihi : 12.01.2007

The role of free radicals in the aging process and average life span in mammals

Abstract : Free oxygen radicals have been proposed as important causative agents of aging. In this review, the relationship between antioxidant protection and life span, the effects of reduced oxidative damage on the life span and the effects of dietary manipulations on ageing and free radical damage were discussed. The main source of the free radicals is molecular oxygen. The univalent reduction of molecular oxygen results in reactive oxygen species (ROS) such as superoxide dismutase anions ($O_2^{\cdot-}$), hydrogen peroxide (H_2O_2) and hydroxyl radicals (OH). The cytotoxic species can cause oxidative damage in the cell. Aging can thus be viewed as a process of irreversible injuries associated with accumulation of these oxidative changes. Activity of antioxidant enzymes has been reported to either increase or decrease in the aging process. According to many studies there are some regulatory mechanisms in senescent tissues to provide an efficient antioxidant defence against free radicals, which may be generated at a higher rate during the aging process. Definitive proof that oxidised molecules are the primary cause of ageing is lacking. Aging is also likely to be a multifactorial process and not reducible to any one single cause.

Key words: Aging, free oxygen radicals, antioxidants.

Özet : Serbest oksijen radikalleri yaşlılığın önemli nedensel ajanları olarak kabul edilmektedirler. Bu derlemede, antioksidan korunma ve yaşam süresi arasındaki ilişki, oksidatif hasardaki azalmanın yaşam süresine etkisi ve serbest radikal hasarı ile yaşlanmada beslenmenin etkileri konuları irdelenmiştir. Serbest radikallerin ana kaynağı moleküler oksijendir. Moleküler oksijenin tek valanslı redüksiyonu (univalent redüksiyonu) süperoksit dismutaz anyonları ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalleri (OH) gibi reaktif oksijen türlerini oluşturur. Sitotoksik türler hücrede oksidatif hasara neden olabilir. Nitekim yaşlılık bu oksidatif değişikliklerin birikimi ile ilgili geri dönüşümsüz hasarların bir işleyişi olarak düşünülebilir. Yaşlanma olayında antioksidan enzim aktivitelerinin arttığı ya da azaldığı belirtilmektedir. Birçok araştırmaya göre yaşlı dokularda yaşlanma sırasında yüksek oranlarda üretilebilen serbest radikallere karşı etkili bir antioksidan savunma sağlayan bazı düzenleyici mekanizmalar vardır. Yaşlılığın primer nedeninin okside moleküller olduğu hakkında kesin delil yoktur. Yaşlanma muhtemelen çok yönlü bir olaydır ve herhangi bir tek nedene indirgenemez.

Anahtar kelimeler: Yaşlanma, serbest oksijen radikalleri, antioksidanlar

Giriş

Aeorob organizmaların atmosferdekenden yüksek konsantrasyonlarda oksijene maruz kaldıklarında, oksijenin bu organizmalara karşı toksik olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir. Bu toksisitenin asıl sebebi ise, oksijenin serbest radikallere indirgenmesidir (8). İlk kez 1956 yılında Denham Harman tarafından yaşlanmanın serbest radikal hasarının bir sonucu olduğu görüşü ortaya atılmıştır. Bu görüşe göre radyasyona maruz kalan canlılarda yaşam süresini kısaltan serbest radikaller oluşmakta ve yaşlanmaya benzer değişiklikler meydana gelmektedir (10).

Bir serbest radikal, ortaklanmamış veya eksik sayıda elektron içeren herhangi bir atom, iyon veya molekül olarak tanımlanabilir. Biyolojik sistemlerdeki serbest radikallerin en yaygın kaynağı ise oksijendir (9). Moleküler oksijen ($O_2^{\cdot-}$), hücrel metabolizma ve enerji üretimi için önemlidir. Ancak oksijenin parçalanması, biyolojik dokulara karşı önemli hasar oluşturacak reaktif ajanları da beraberinde getirmektedir. Serbest radikallerin üretildiği bir takım kaynaklar vardır ve bunların en önemlisi oksijenin suya kadar indirgendiği mitokondrilerdir. Bu sırada süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (OH) gibi kısa ömürlü moleküller üretilir. $O_2^{\cdot-}$ ve OH radikallerinin her ikisi de en dıştaki yörüngelerinde paylaşılmamış bir elektron içeren yüksek derecede reaktif oksidanlardır. H_2O_2 de hücrelere karşı toksik olup OH radikalini oluşturmasıyla serbest radikal üretimine neden olmaktadır. Bir insan hücresinin saatte ortalama 3×10^9 toksik H_2O_2 molekülü ürettiği saptanmıştır. Ayrıca serbest radikaller intrasellüler olarak ultraviyole ışınları, iyonize radyasyon, paraquat ve ozon gibi çevresel kirlenmelerden de kaynaklanabilir. Serbest radikal oluşturan bu kaynakların hepsi, biyolojik moleküllerin büyük bir kısmı üzerine oksidatif hasar oluşturma gücüne sahiptirler (28). Özellikle peroksit edici reaksiyonlara karşı hassas bölgelerden birisi de hücrel membranlardır. Serbest radikallerin çoklu doymamış yağ asitleri ile tepkimeye girerek lipid peroksidleri oluşturduğu, bunların ise hücre yırtılmalarına yol açarak membran akışkanlığının ve elastikiyetinin geri dönüşümsüz hasarına neden olduğu ortaya konulmuştur (12). Serbest radikal aktivitesi enzimler ile okside ve çapraz bağlı proteinler için de gösterilmiştir. Özellikle proteinlerin amino asit kalıntıları oksidatif saldırılara karşı yüksek derecede hassastırlar. Yaşlı bir hayvanda total hücre proteininin % 30-50'sini okside proteinler oluşturur. Bu durum yaşla birlikte birçok enzimin katalitik aktivitesindeki azalmanın en önemli nedenlerinden birisi olabilir (5, 23, 25, 29). Serbest radikal saldırılarına yüksek derecede hassas diğer bir molekül tipi DNA dır. DNA ile bir oksijen radikalinin reaksiyonu zararlı hatta öldürücü olabilen olayları başlatarak bir bazı yıkabilir veya bir zincir kopmasına sebep olabilir. Her gün bir insan hücresindeki DNA'ya yaklaşık 10.000 oksidatif çarpmanın olduğu hesaplanırsa serbest radikaller tarafından oluşturulan hasarın oldukça önemli olduğu anlaşılır (3). Hasarın çoğu onarıcı sistemlerle düzeltilmesine rağmen, oksidatif DNA lezyonları yaşla birlikte artmaya devam etmekte ve belki de bu durum yaşlanma olayı üzerinde önemli bir rol oynamaktadır (15).

¹ Dicle Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Diyarbakır

² Harran Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Şanlıurfa

Serbest radikallerce oluşturulan hasarın büyük bir bölümü hücre içi organellerde meydana gelir. Şöyle ki; hücre tarafından kullanılan oksijenin yaklaşık %90'ı mitokondrilerde tüketilir. Bu hücre içi yapılar sadece hassas lipid membranlarını ve enerji üretiminde görevli en az 100 farklı enzimi (bunların bir kısmının aktivitesinde yaşla birlikte önemli bir azalma görülür) içermekle kalmaz aynı zamanda serbest radikal hasarına karşı yüksek derecede duyarlı olan kendi genetik materyalini de bulundurur. DNA onarımı mitokondrilerde nükleustakinden çok daha yetersiz olmasına karşın, mitokondriyal DNA'ya karşı oluşan oksidatif hasar nükleustakinden 10 kat daha yüksek olup bu hasar yaşla birlikte çok hızlı bir şekilde artar (2, 3). Bu durum yaşlanma sürecindeki ATP üretiminin azalmasının bir sonucu olarak kabul edilmektedir. Aynı zamanda yaşlı hayvanların mitokondrilerinde genç olanlara kıyasla önemli derecede yüksek düzeylerde reaktif oksijen türleri üretildiği tespit edilmiştir (21, 28).

Organizmalara karşı oksidatif stres tehdidi o kadar büyüktür ki; hücrelerde serbest radikal yıkımına karşı bir antioksidan savunma ordusu ve onarıcı sistemler gelişmiştir. Bu savunma sistemleri arasında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleri yer almaktadır. Oksidatif strese maruz kalınca bu antioksidan enzim düzeyleri hücre tarafından üretilerek artırılabilir. Ayrıca hücrede C ve E vitamini, sistein, ürik asit ve glutatyon gibi enzimatik olmayan serbest radikal temizleyicileri de bulunmaktadır. Tüm bu antioksidan savunma sistemleri reaktif oksijen türlerinin seviyesi belirli üst düzeyin üzerine çıktığında yetersiz kalır (6). Bununla birlikte bu koruyucu sistemlerin etkinliğinin yaşla birlikte azaldığı ileri sürülmektedir. Yaşlanma sürecinde artan serbest radikal üretimi ile birlikte antioksidan savunma sistemindeki azalmanın önemli etken faktörler oldukları kabul edilmektedir (2, 21, 28).

Antioksidan Korunma ve Yaşam Süresi Arasındaki İlişki

Metabolizma tarafından sürekli serbest radikaller üretildiğinden uzun ömürlü türlerin dokularında antioksidan savunma sisteminin daha aktif olup olmadığı düşünülmektedir. Tolmasoff ve ark. (24) 14 memeli tipinin (örneğin; fare, rat, tavşan, domuz, at, inek, köpek, kedi) karaciğer, beyin ve kalbinde SOD aktivitesi ile maksimum yaşam süresi arasında önemli ilişkiler bulmuşlardır. Bu sonuçlar uzun ömürlü türlerin metabolizma hızlarının yavaş, SOD enzimsel savunma sisteminin ise yüksek olduğunu göstermiştir. Ancak bütün türler için bu ilişkinin doğruluğu tartışmalıdır (28). Sohal ve ark. (20) maksimum ömürleri 3.5–20 yıl arasında değişen çeşitli memeli türleri üzerinde yapmış oldukları çalışmalarda, beyin dokusundaki SOD aktivitesi ile yaşam süresi arasında bir ilişki kuramazken, karaciğer ve kalp dokusunda bu enzim aktivitesi ile yaşam süresi arasında bir ilişkinin varlığını tespit etmişlerdir. SOD aktivitesindeki tür varyasyonları muhtemelen gen regülasyonundaki gelişim veya homeostatik dalgalanmalar nedeniyle ortaya çıkmaktadır (28). Diğer antioksidan enzim aktiviteleri ile bunların uzun yaşam süresi üzerine etkilerini araştıran çalışmaların sonuçları bir

biriyle çelişkilidir. Cutler (7) CAT ve GSH-Px aktivitesinin maksimum yaşam süresi ile pozitif değil negatif ilişkili olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada maksimum yaşam süresi 3-30 yıl arasında değişen altı farklı türün beyin ve karaciğer dokusunda GSH-Px enzimi ve yaşlanma olayı arasında ters orantı bulunmuştur. Oysa yaşları 20–100 yıl arasında değişen dokuz primat türünde karaciğer dokusu CAT aktivitesi oldukça önemlidir. Cutler (7) bu durumu uzun ömürlü türlerde çok daha az H₂O₂ üretilmesi ve bu nedenle daha az CAT ve GSH-Px korumasına ihtiyaç duyulması şeklinde açıklamaktadır. Buna rağmen türler arasındaki karşılaştırmalar göstermiştir ki; yaşamlarının orta noktasında serbest radikal hasarı ve antioksidan aktivite düzeylerini ölçmek sureti ile aynı sinek popülasyonunun uzun ve kısa yaşayan bireylerini saptamak mümkündür (18). Aynı şekilde ortalama yaşam süresi uzun olan bir insan topluluğunda antioksidan savunma sistemleri (SOD, CAT ve GSH) ortalama yaşam süresi kısa olanlarınkinden daha yüksek, serbest radikal reaksiyon ürünü (H₂O₂ ve tiyobarbitürik asit reaktanları) düzeyleri ise daha düşüktür. Bu bulgular, yaşam esnasında yüksek antioksidan savunma sisteminin, fizyolojik hasarı ve yaşlanma olayını yavaşlatabileceği sonucunu doğrulamaktadır (19).

Karasinekler üzerine yapılan bir çalışmada SOD, yaşamın son üçte birinde CAT ise yaşamın devamı sırasında azalırken, GSH sadece yaşlılarda önemli derecede düşmektedir (17).

Oksidatif Hasardaki Azalmanın Yaşam Süresine Etkisi

Mevcut verilere göre soğukkanlı hayvanlarda yaşam sürelerini uzatmaya yönelik yapılan deneysel çalışmalarda metabolizma oranında ve oksidatif hasarda azalma tespit edilmiştir (21). Örneğin uçma aktivitesinin engellenmesi halinde protein ve DNA oksidatif hasar oranı azalırken, yaşam süresi uçanlara kıyasla üç kat artmaktadır (1). Memeliler arasında özellikle de rat ve fare gibi rodentlerde günlük kalori girişi kısıtlandığında yaşam süresi ad libitum beslenen hayvanlara kıyasla uzamaktadır. (21)

Günümüzde oksidatif stresin makro moleküler oksidatif hasarı ve mitokondriyal ROS üretimini artırarak yaşlanmaya sebep olduğu görüşü hâkimdir. Bu durum türlerin maksimum yaşam süresi ile ters orantılıdır (22).

Serbest Radikal Hasarı ve Yaşlanmada Beslenmenin Etkileri

Laboratuvar hayvanlarında ortalama ömür ve maksimum yaşam süresini artırmanın en güvenilir yolu kalori kısıtlaması yapmak yani; esansiyel gıda ve minarelleri kısıtlamadan gıda girişini azaltmaktır (28). Kalorisi kısıtlanmış hayvanların dokularında lipid, protein ve DNA gibi makro moleküller üzerine serbest radikal hasarı, mitokondriyal O₂⁻ ve H₂O₂ üretim oranı, ad libitum beslenen hayvanlarla karşılaştırıldığında daha düşüktür (21, 27). Genelde her iki grup arasında antioksidan

enzim aktivitelerinde önemli farklılıklar yoktur. Kısaca farklı bazal metabolizmaya sahip olan türlerde çeşitli müdahalelerle metabolik aktivite düşürülerek yaşam süresi deneysel olarak uzatılabilir. Metabolizmanın fark edilir bir şekilde yavaşlaması, oksidatif hasarın azalması ve yaşam süresinin artmasıyla sonuçlanır. (22)

Mc Cay ve ark. (13) normale göre yaklaşık % 30 daha az kalori içeren diyet ile beslenen sütün kesilmiş iki haftalık erkek ratlarda ortalama yaşam süresinin (919 gün) ad libitum beslenenlere (522 gün) kıyasla % 76 arttığını tespit etmişlerdir. Aynı diyet ile beslenen ratlarda maksimum yaşam süresi 969 günden 1465 güne çıkartılmıştır. Alınan bu sonuçlar gösteriyor ki; ilk defa bir türde maksimum yaşam süresinin artırılması başarılmıştır. Diğer göze çarpan bir özellik de kalorisi kısıtlanmış ratların sağlıklı davranışlarıdır. Kontrol hayvanlarının tümünün öldüğü 1000. günde kalorisi kısıtlanmış ratların parlak, düzgün tüylü ve hala yüksek derecede aktif oldukları görülmüştür. Günümüzde kalori kısıtlamasının faydaları türlerin birçoğunda doğrulanmıştır (26). Kalori kısıtlamasıyla hastalıkların ortaya çıkışı geciktirilmiş, tümü olmasa bile yaşlılığın en fazla bilinen biyokimyasal ve fizyolojik parametrelerinde yavaşlama sağlanmıştır (26, 30). Yaşlanma mekanizmasının anlaşılmasında bu bulgular önemli olmasına rağmen kalori kısıtlamasının yaşlanmayı geciktirici etkilerinin altında yatan sebepler hala açıklanamamıştır.

Diyet kısıtlamasının serbest radikallerin oluşumunu azalttığı yönünde çok sayıda bilgiler bulunmaktadır (4, 14, 28). Yaşa bağlı olarak CAT, GSH-Px ve glutatyon redüktaz (GRaz) enzim aktivitelerinde meydana gelen düşüşlerin diyet kısıtlamasıyla kısmen önlenildiği ve O_2^- ve OH radikallerinin azaldığı, bunun ise karaciğer hücre membranlarında lipid peroksidasyonunun azalmasına yol açtığı bildirilmiştir (11). Özetle kalori kısıtlamasıyla serbest radikal üretimi azaltılarak antioksidan savunma sistemi güçlendirilebilir.

Serbest radikallerin, yaşlanma sürecine etkili oldukları varsayıldığında en azından teorik olarak oksidatif reaksiyonları durduran veya yavaşlatan diyet uygulamalarıyla yaşam süresinin uzatılması mümkündür. Günümüze kadar yapılan çalışmaların birçoğunda diyet ilavelerinin ortalama yaşam süresini arttırdığı, ayrıca antioksidanlarla tedavi edilen hayvanların daha az kilo, lipofuskin ve tümör oluşumuna, genetik olarak da duyarlı ırklarda otoimmün hastalıklarda azalmaya meyilli oldukları saptanmıştır. (16, 28). Buna rağmen diyetel antioksidanlar çoğu hayvanı doğal yaşamlarının son safhasına kadar taşıyabilir ama daha ileri götüremez, yani maksimum yaşam süresini uzatamaz. Bu sonuçlar antioksidanların yaşlanmadan ziyade hastalıklara karşı koruyucu olduğunu düşündürmektedir (28).

Sonuç olarak; serbest radikallerin yaşlılığın bir sebebi olduğunun ispatlanması ürkütücü bir durumdur. Organizmada reaktif oksijen türlerinin düzeyleri sürekli değiştiği için doğru bir şekilde ölçümleri oldukça zordur. Ayrıca serbest radikallerin olayın gerçekleştiği yerde kendilerine ait bir takım izler bırakmalarına rağmen vücut hücrelerinde ve dokularında meydana gelen oksidatif hasarın yaşlanmaya sebep

oldukları konusunda kesin bir delil bulunmamaktadır. Bu nedenle serbest radikal reaksiyonlarının yaşlanma sürecinin bir sebebi mi yoksa sonucu mu olduğu henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

Kaynaklar

1. Agarwal, S., Sohal, R.S.: DNA oxidative damage and life expectancy in house flies. *Proceeding of the National Academy of Science*, 1994; 91: 12332–12335.
2. Ali, SS., Xiong, C., Lucero, J., Behrens, MM., Dugan, LL., Quick, KL.: Gender differences in free radical homeostasis during aging: Shorter-lived female C57BL6 mice have increased oxidative stress. *Aging Cell*, 2006; 5 (6): 565–574.
3. Ames, B.N., Shigenaga, M.K., Hagen, T.M.: Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceeding of the National Academy of Science*, 1993; 90: 7915–7922.
4. Barouki, R.: Ageing free radicals and cellular stress. *Medicine Science*, 2006; 22 (3): 266–272.
5. Chakravarti, B., Chakravarti, DN.: Oxidative modification of proteins: Age-related changes. *Gerontology*, 2006; 53 (3): 128–139.
6. Chance, B., Sies, H., Boveris, A.: Hyperperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiology Review*, 1979; 59: 527–603.
7. Cutler, R.G.: Antioxidants and longevity. In: *Free radicals in molecular biology, aging and disease*. Ed. Armstrong, D., Sohal, R.S., Cutler, R.G., Slater, T.F. New York, Raven Press, 1984, 235–266.
8. Frank, L.: Oxygen toxicity in eukaryotes. In: *Superoxide dismutase, pathological states*. Ed. Oberly, L.W. Boca Raton, CRC Press, 1985, 3: 1–43.
9. Halliwell, B., Gutteridge, J.M.: *Free radicals in biology and medicine*. Second ed, Oxford, Oxford University Press, 1989.
10. Harman, D.: Free radical theory of aging : History. In: *Free radicals and aging*. Ed. Emerit, I., Chance, B. Birkhauser-Verlag, Basel, 1992, 1–10.
11. Lee, D.W., Yu, B.P.: Modulation of free radicals and superoxide dismutase by age and dietary restriction. *Aging*, 1990; 2: 357–362.
12. Lippman, R.D.: Lipid peroxidation and metabolism in aging. In: *review of biological research in aging*. Ed. Rothstein, M. New York, Alan R. Liss, 1983, 1: 315–342.
13. Mc Cay, C., Crowell, M., Maynard, L.: The effect of retarded growth upon the length of life and upon ultimate size. *Journal Nutrition*, 1935; 10: 63–79.
14. Pamplona, R., Barja, G.: Mitochondrial oxidative stress, aging and caloric restriction: The protein and methionine connection. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2006; 1757 (5–6): 496–508.
15. Randerath, K., Randerath, E., Filburn, C.: *Handbook of the biology of aging*. In: Ed. Schneider, E.L., Rowe J.W. San Diego, Academic Press, 4th ed , 1995, 198–216.

16. **Sacher, G.A.:** Life table modification and life prolongation. In: Handbook of the biology of aging. Ed. Finch, C.E., Hayflick, L. New York, Van Nostrand, 1977, 582-638.
17. **Sohal, R.S., Farmer, K.J., Allen, R.G., Cohen, N.R.:** Effect of age on oxygen consumption, superoxide dismutase, catalase, glutathione, inorganic peroxides and chloroform-soluble antioxidants in the adult male housefly, *Musca domestica*. Mechanisms of Ageing Development, 1984; 16: 159–167.
18. **Sohal, R.S., Toy, P.L., Farmer, K.J.:** Relationship between life expectancy, endogenous antioxidants and products of oxygen free radical reactions in the housefly, *Musca domestica*. Mechanisms of Ageing Development, 1986; 36: 71–77.
19. **Sohal, R.S.:** The free radical theory of aging : A critique. In: review of biological research in aging. Ed. Rothstein, M. New York, Alan R. Liss, 1987, 3: 431–449.
20. **Sohal, R.S., Sohal, B.H., Brunk, U.T.:** Relationship between antioxidant defences and longevity in different mammalian species. Mechanisms of Ageing Development, 1990; 53: 217–227.
21. **Sohal, R.S., Weindruch, R.:** Oxidative stress, caloric restriction, and aging. Science, 1996; 273: 59–63.
22. **Sohal, R.S.:** Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process. Free Radical Biology and Medicine, 2002; 33 (1): 37–44.
23. **Stadtman, E.R.:** Protein oxidation and aging. Free Radical Research, 2006; 40 (12): 1250–1258.
24. **Tolmasoff, J.M., Ono, T., Cutler, R.G.:** Superoxide dismutase: correlation with life span and specific metabolic rate in primate species. Proceedings of the National Academy of Science, 1980; 77: 2777–2781.
25. **Voss, P., Siems, W.:** Clinical oxidation parameters of aging. Free Radical Research, 2006; 40 (12): 1339–49.
26. **Weindruch, R., Walford, R.:** The reduction of aging and disease by dietary restriction. Ed. Charles C. Thomas, St Louis, 1988.
27. **Weindruch, R., Sohal, R.S.:** Caloric intake and aging. The New England Journal of Medicine, 1997; 337: 986–994.
28. **Wickens, A.P.:** Ageing and the free radical theory. Respiration Physiology, 2001; 128: 379–391.
29. **Widmer, R., Ziaja, I., Grune, T.:** Protein oxidation and degradation during aging: Role in skin aging and neurodegeneration. Free Radical Research, 2006; 40 (12):1259–68.
30. **Yu, B.P.:** Modulation of aging processes by dietary restriction. Ed. Yu, B.P. Boca Raton, CRC Press, 1994.