

SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ - I: VÜCUTTAKİ ANTİOKSİDAN SİSTEMLER

FREE OXYGEN RADICALS - I:
ANTIOXIDANT SYSTEMS OF THE BODY

S. Vildan Şenses¹, Sibel Özyazgan², A. Gökhan Akkan³

Özet

Serbest oksijen radikalleri vücutta sürekli olarak oluşturulur ve antioksidan mekanizmalar tarafından ortadan kaldırılırlar. Bu dengenin bozulması serbest oksijen radikallerinin artmasına ve hücre hasarı oluşturmalarına yol açar; bu duruma "oksidatif stres" denmektedir. Oksidatif stres bugün vücudun ve zihnin yaşlanmasından ve bir çok hastalıktan sorumlu tutulmaktadır. Çoğu hastalıkta radikal üretimi hastalığa sekonderdir. Vücudun doğal savunma mekanizmasının bir parçası olan bu maddeler kontrol dışına çıktığı zaman hücrelere zarar vermektedir. Ancak bu maddelerin hastalıkların nedeni mi, sonucu mu, yoksa sadece sürecin bir parçası mı olduğunu kesin olarak söylemek henüz mümkün olmamaktadır. İki bölümde sunulacak olan bu derlemenin birinci bölümünde serbest oksijen radikalleri ve vücuttaki antioksidan sistemler hakkında genel bilgi verilecektir.

Anahtar sözcükler: Serbest oksijen radikalleri, oksidatif stres, antioksidanlar

Summary

Free oxygen radicals are continuously produced in the body and removed by the antioxidant mechanisms. When the balance between the oxidant and antioxidant systems is disturbed, free radicals increase and cause cellular injury. This condition is called "Oxidative Stress" and accused of aging of the body and the mind, and of many diseases. Mostly, radical production is secondary to the illness. These substances, which are the part of the natural defense system of the body, damage cells when they are uncontrolled. However, it is not clear whether they are the cause, the result or only a part of the disease process. In the first part of this review which will be presented in two parts, we will describe free oxygen radicals and the antioxidant systems of the body.

Key words: Free oxygen radicals, oxidative stress, antioxidants

Giriş

İki bölümde sunulacak olan bu derlemenin birinci bölümünde serbest oksijen radikalleri ve vücuttaki antioksidan sistemler hakkında genel bilgi, ikinci bölümünde ise antioksidan vitaminler, doğal antioksidanlar ve radikallerin rol oynadığı durumlar hakkında bilgi verilecektir.

Son yıllarda oldukça popüler bir araştırma konusu haline gelen serbest oksijen radikalleri, vücutta sürekli olarak oluşturulur ve bir antioksidan savunma sistemi tarafından ortadan kaldırılırlar. Bu dengenin bozulması, serbest oksijen radikallerinin artmasına ve hücre hasarı oluşturmalarına yol açar; bu duruma "oksidatif stres" denmektedir. Oksidatif stres bugün vücudun ve zihnin yaşlanmasından ve çeşitli hastalıklardan sorumlu tutulmaktadır.^{1,2}

19. yüzyılın ilk 20 yılında Berzelius, Davy ve diğer araştırmacılar hem organik, hem de inorganik bileşiklerle

rin sıklıkla onlara farklı kimyasal özellikler veren oldukça stabil atom grupları içerdiklerini farketmişlerdir. Bunlara radikal adı verilmiş ve ayrı olarak elde edilmeye çalışılmıştır. 19. yüzyılın ikinci yarısında değer (valans) kavramı daha iyi tanımlanmıştır. Karbon monoksit gibi bir kaç istisna dışında karbonun daima dört değerli olduğu hipotezine o kadar inanılmış ki, kimyacılar üç değerli karbon atomları içeren serbest radikalleri bulmak için pek çaba harcamamışlardır. Daha ağır elementlerin değerleri kesin olarak bilinmediğinden, çoğunlukla içerdikleri radikaller hakkında uygun kriterler bulunmamaktaydı.

1900 yılında Gomberg tarafından tesadüfen bulunan difenilpikrilhidrazil, radikallere duyulan ilgiyi canlandırmıştır.³ Radikaller bu tarihten sonra yeniden gündeme gelmiş ve mitokondrial tıbbın gelişmesiyle daha da popüler bir konu olmuştur.

Mitokondride elektron transport sisteminde kalıtsal defektler tanımlanmıştır. Bu defektlerin neden olduğu

¹⁾ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Araştırma Görevlisi, Dr.

²⁾ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Ecz. Dr.

³⁾ İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Prof. Dr.

hastalıkların klinik bulguları, metabolik ara ürünlerin anormal birikimi ve yetersiz veya etkisiz ATP üretimiyile ilgili olabilir. Mitokondri içindeki oksidatif süreç sırasında kimyasal oksidanlar oluşur ve bunlar hücre hasarı yapabilir. Yaşlanma ve yaşla ilgili dejeneratif hastalıklarda, vücudun antioksidan savunma mekanizmaları azaldığı için, oksidatif hasarın bu durumlara katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Mitokondrial DNA (mtDNA) hakkındaki bilgi arttıkça, bu konu daha iyi açıklanacaktır.⁴

Yaşlı kişilerde ve mitokondriyal miyopatileri olan kişilerde mtDNA'da geniş ölçekli delesyonlara sık rastlanmaktadır. Bu nedenle bu duyarlı bölgelerin bir tür alışılmamış DNA yapısına sahip olduğu ve bunun onları reaktif oksijen türleri saldırısına daha duyarlı kıldığı düşünülmektedir. Öte yandan, insan mtDNA'sının geniş ölçekli delesyonlara katılan belli bir rekombinasyon mekanizmasının tanıdığı bir motif olduğu da kabul edilmektedir.⁵

Peroksizomlar en son keşfedilen hücre organelleridir. Organik molekülleri oksitlemek için moleküler oksijeni kullanan, küçük, membrana bağlı bir organdır ve hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşturan ve parçalayan enzimleri içerir.⁶ Uzunca bir süre, fonksiyonları hakkındaki sınırlı bilgimiz nedeniyle peroksizomların hücre metabolizmasındaki diğer organelleri destekleyici bir rolü olduğu düşünülmüştür. Sadece peroksizomlarda gerçekleşen spesifik metabolik yolların keşfedilmesi ve özellikle, Zellweger sendromu ve X'e bağlı adrenolökodistrofi gibi genetik olarak saptanan peroksizomal hastalıkların tanımlanması, bu organellerin hücre metabolizmasında esansiyel bir rol oynadığını göstermiştir. Son zamanlarda, peroksizomların serbest radikal metabolizmasına kattıkları ve bu işlevin onların önemli fonksiyonlarından biri olduğu bulunmuştur. Peroksizom hastalıklarının biyokimyasal olarak iyi tanımlanmış olması ve hücrenin oksijeninin önemli bir bölümünü tükettiği gerçeği, bu tür hastalıkları olan kişilerin hücrelerini, serbest radikallerin detoksifikasyonunda peroksizomal katılımın incelenmesi için uygun bir model haline getirmektedir.⁷

Elektronlar, atomlarda orbital denilen bölgelerde bulunur. Her orbital, zıt yönlerde dönen en fazla iki elektron tutabilir. Bir serbest radikal, bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron - yani, bir orbitalde bir elektron - içermek kapasitesindeki herhangi bir atom veya molekül olarak tanımlanabilir. Bunun en basit örneği hidrojen atomudur. Elektronlar orbitallerde çift olarak buldukları zaman daha stabil oldukları için, bir radikal, diğer maddelerden bir elektron alma eğilimindedir ve bu durum onu oldukça reaktif bir hale getirir. Diğer bir deyişle, radikaller serbest bir elektronu olan ve ikinci bir elektron ile birleşme yolunu arayan moleküllerdir. Bu nedenle, diğer moleküllerden elektron ayırır ve oksijen içeren biyokimyasal süreçlerde yeni serbest radikallerin ortaya çıktığı bir reaksiyonlar zincirini uyarırlar. Fakat, radikallerin reaktiviteleri önemli ölçüde değişkenlik gösterir.

Son derece reaktif olan türlerinin yaşam süreleri çok kısadır. Saldırgan olan bu molekül veya atomlar hücre veya hücre bileşenlerini doğrudan oksitleyebilirler.^{3,8,9}

Oksijen radikalleri, ya da serbest radikaller, moleküler oksijenden türemiş olan atom ya da atom gruplarıdır. Ancak tüm reaktif oksijen türleri serbest radikal değildir, örneğin, O- (singlet oksijen) ve H_2O_2 , gibi. Aslında, serbest oksijen radikalleri yerine, "**reaktif oksijen türleri**" tanımını kullanmak daha doğru olabilir, çünkü kastedilen maddeler oksidatif etkili reaktiflerdir.

Hatta son zamanlarda bu maddelere "**reaktif oksijen araçları**" denmektedir, çünkü hücre fonksiyonunu kontrol eden haberciler olarak çalıştıkları düşünülmektedir. Agonistlere yanıt olarak oluştururlar, üretimleri intrasellüler sinyal yollarıyla düzenlenir ve özel hücresel süreçleri kontrol etmek için kullanılırlar.¹⁰⁻¹³

Biyolojik önemi olan reaktif oksijen türleri şunlardır:^{1,2}

O_2^- = süperoksit	H_2O_2 = hidrojen peroksit
OH^- = hidroksil iyonu	$HOCl$ = hipokloröz asit
$\cdot C - O_2$ = peroksil	lipid - O = alkoksil
$ONOO^-$ = peroksinitrit	

Süperoksit, hidroksil, H_2O_2 ve $HOCl$ 'e "oksidanlar" da denir, fakat süperoksit hem indirgeyici, hem oksitleyicidir.¹ Peroksinitrit, süperoksit anyonu ve nitrik oksitin reaksiyona girmesiyle in vivo oluşturulan güçlü bir oksidandır. Ekstrasellüler ortamdaki reaksiyonlara aracılık eder. CO_2 ile reaksiyona girerek oksidasyon ve nitrasyon süreçlerine katılan bir kök oluşturur, ayrıca nitrojen dioksit (NO_2) ve hidroksil radikaline ayrışabilir. Nitrik oksidin yüksek dansiteli lipoprotein (LDL) üzerinde hem oksidan, hem de antioksidan etkisi bildirilmiştir. İnsanda in vivo devamlı endojen nitrik oksit (NO) salınımının LDL'yi hücrelerin neden olduğu oksidasyondan koruduğu gösterilmiştir.^{14,15} Tirozin rezidülerini normal fizyolojik koşullar altında CO_2 tarafından katalizlenen bir reaksiyonla nitratlar.¹⁶ DNA onarıcı bir enzim olan poli-ADP riboz sentetaz (PARS), peroksinitrit toksisitesinde önemli rol oynamaktadır. Nitrik oksidin in vitro antioksidan etki gösterdiği ve LDL'leri oksidasyondan koruyabileceği de iddia edilmektedir.^{13,17}

Vücuttaki Radikaller Nereden Kaynaklanır?

Hem metabolik aktivitenin yan ürünleri olarak, yani kimyasal kazalarla, hem de yararlı metabolik amaçlar için oluşturulabilen serbest radikallerin endojen kaynakları şunlardır: Mitokondriyel (solunum zinciri), hücre zarı (prostaglandin sentezi), sitokrom P450 (detoksikasyon reaksiyonları) ve aktive lökositler (fagositoz).

Mitokondriler: Mitokondriler çalışırken solunum zincirindeki elektron taşıyıcılarından kaçan elektronlar, moleküler oksijenle birleşerek O₂- oluşturabilir. Bu, in vivo O₂-'in tesadüfen oluşan kısmıdır, fakat çoğu fonksiyoneldir. Yani, aktive lökositlerden kaynaklanırlar.

Hücre zarı: Prostaglandin sentezi sırasında siklooksjenaz tarafından hücre zarındaki fosfolipidlerden hidrosil radikalleri oluşturur.

Sitokrom P450: Detoksikasyon reaksiyonları sırasında süperoksit anyonları açığa çıkar.

Aktive lökositler: NADPH-oksidaz adlı spesifik bir membran enzim sistemi üzerinden radikal üretirler (Bu sistemin eksikliğinde kronik granüloamatöz hastalık oluşur). İnflamasyon sırasında açığa çıkan kimyasal mediatörler lökosit diapedezine (endotelde birikip kısa bir süre içinde sağlam kapiller duvardan dokuya geçerler) neden olur. Bir fagosit, fagosite edilebilir bir zararlı madde (yani bakteri) ile karşılaşınca hücre zarında onu kuşatan bir hücre zarı kılıfı (= fagozom) meydana gelir ve membrandaki NADPH-oksidaz aktive olarak oksijen tüketimi 10 kattan fazla artar, buna paralel olarak da oksijen radikallerinin üretimi artar. Bir zararlı tarafından uyarılan bu oksijen gereksinimi artışına "oksidatif patlama" ya da "respiratuvar patlama" denmektedir. Nötrofillerin kullandığı, fakat makrofajların kullanmadığı başka bir öldürme mekanizması miyeloperoksidaz ile olmaktadır. Bu enzim H₂O₂'yi kullanarak klor iyonunu hipokloröz aside (HOCl) oksitler. Bu asit güçlü bir antibakteriyel ajandır, fakat yarı ömrü çok kısadır. Amino asitler ve biyojen aminlerle etkileşime girerek kloraminleri (R-NHCl) oluşturur, bunlar da oldukça reaktiftir, ancak etkileri daha uzun sürer.¹

Ekzojen serbest radikal kaynakları ise şunlardır:

Çevre kirliliği: Hidrojen sülfid içeren doğal gazın hayvanlara solutulmasıyla gerçekleştirilen bir çalışmada, doğal gazın lipid peroksidasyonu artırdığı ve thiol sülfid dengesini bozduğu bulunmuştur.¹⁸ Ayrıca, suyun klor ve ozonla dezenfante edilmesi ile aktif oksijen türleri oluşur, bunların başında da hidrosil radikali gelmektedir.¹⁹

İyonizan radyasyon: İyonlaştırıcı radyasyon, su molekülünden hidrosil radikalleri (.OH) oluşturmaktadır.¹

Sigara dumanı: Sigara dumanındaki aldehitler ve nitrik oksit (NO) biyomoleküler hasara önemli katkıda bulunabilirler ve endojen antioksidanlar bu advers etkileri kısmen azaltabilir.²⁰

Sigara içen kişilerde plazma bakır konsantrasyonları²¹ ve ekspiriumdaki etan gazı miktarı yükselir. Bu miktar günde içilen paket ve içme süresi (yıl) ile doğru orantılıdır.²² Mulholland ve arkadaşlarının bir çalışmasında, sigara içen kadınlara verilen yüksek doz C vitamini, kan

düzeyi yükselmesine rağmen lipid peroksidasyonu azaltmamıştır.²³

Pestisidler ve ilaçlar: Gentamisin demirle şelat oluşturur. Bu kompleks peroksidasyonu başlatabilir ve renal ve koklear yan etkilerinden bu oluşum sorumlu olabilir.²⁴ Klozapin, HOCl tarafından oksitlenir ve reaktif bir ara ürün oluşur. Varsayılan nitrenyum iyonu oluşumunun agranülozitozdan sorumlu olabileceği iddia edilmektedir.²⁵ Rifampisin CCl₄ hepatotoksitesine karşı olan koruyucu etkisinin, CCl₄'den türeyen serbest radikallerin oluşturduğu lipid peroksidasyonu engellemesinin sonucu olduğu düşünülmektedir.²⁶

Radikaller diğer moleküllerle bir çok yolla reaksiyona girebilir:

1. İki radikal karşılaşır, yalnız elektronlarını paylaşabilirler ve bir kovalent bağ oluşturmak üzere birleşebilirler (yani bir çift elektronu paylaşırlar). Örneğin:



2. Radikal, elektronunu bir nonradikale verebilir = indirgeyici radikal

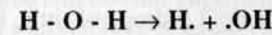
3. Radikal, bir çift oluşturmak üzere diğer molekülünden elektron alabilir - oksitleyici radikal

4. Radikal, bir nonradikalin yapısına katılabilir.

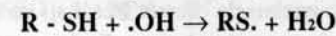
Son üç reaksiyondan hangisi oluşursa oluşsun, nonradikal, artık bir "radikal"dir.

Serbest radikal reaksiyonlarının bir özelliği zincir reaksiyonu şeklinde ilerlemeleridir, yani bir radikal diğerini doğurur. Bu reaksiyonlara örnek olarak, yanma (tutuşma) ve boyanın kurumasını verebiliriz. İnsan vücudunda toksin metabolizması radikal üretebilir. Örneğin, CCl₄ karaciğerin endoplazmik retikulumunda metabolize olarak hasar verici triklorometil radikalini oluşturur.

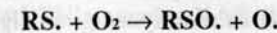
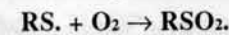
Dokular radyasyonla karşılaşınca, enerjinin çoğunu hücredeki su absorbe eder, bunun nedeni büyük ölçüde, suyun hücrede en çok bulunan molekül olmasıdır. Radyasyon, su molekülündeki oksijen-hidrojen kovalent bağlarından birini ayırır, hidrojen ve oksijende birer yalnız elektron kalır ve iki radikal oluşur:



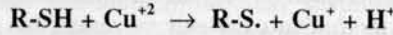
.OH, kimyada bilinen en reaktif radikaldir. İn vivo oluşan .OH, ortamda bir mikrosaniye bile kalmaz ve en yakınındaki molekülle birleşir. Biyolojik moleküllerin çoğunun nonradikal olması gerektiği için; bu reaksiyon, zincir reaksiyonlarını ateşler. Birçok biyolojik molekülünden hidrojen atomlarını ayırabilir. Örneğin, thiol molekülüyle etkileşerek thiyl (sülfür) radikalini oluşturur:



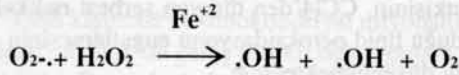
Sülfür radikalleri oksijenle birleşerek oksisülfür radikallerini oluştururlar:



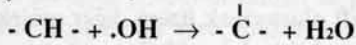
Bunların bazıları biyolojik moleküllere zarar verebilir. Alkali pH değerleri ve kararsız metal iyonlarının, özellikle bakır iyonlarının, varlığı tiol oksidasyonunu kolaylaştırabilir. Çünkü farklı yük durumları arasındaki geçiş, elektron alışverişi ile olmaktadır.



Belli koşullar altında demir iyonları da radikallerin oluşumunu kolaylaştırabilir. +2 değerli demir iyonu, H₂O₂'i .OH vermek üzere indirir:

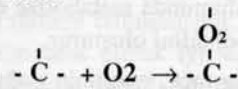


Belki de, .OH radikalının en iyi tanımlanmış olan biyolojik zararı, "lipid peroksidasyonu" olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonunu stimüle etme yeteneğidir. Bu radikal, membran yakınında oluştuğunda, membran fosfolipidlerinin yağ asidi yan zincirlerine saldırır. Özellikle de poliansatüre yağ asitlerini, örneğin araşidonik asidi tercih eder. Yan zincirdeki karbonlardan birinden bir hidrojen atomu ayırır ve onunla birleşerek su oluşturur:

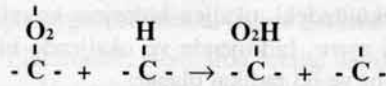


Geriye kalan karbon merkezli radikaller çoğunlukla konjuge dien yapıları oluşturur, bunların bir kaç seçeneği vardır:

1. Eğer membranda böyle iki radikal karşılaşırsa, yağ asidi zincirleri arasında çapraz bağlar oluşabilir.
2. Membran proteinleriyle reaksiyona girebilirler.
3. Ancak, fizyolojik koşullar altında en olası kaderi oksijenle birleşip yeni bir radikal oluşturmaktır: peroksil radikali.



Peroksil radikalleri de komşu yağ asidi yan zincirine saldırarak kadar reaktiftir:



Bu son oluşan grubun adı lipid hidroperoksittir. Bu iki reaksiyon birbirini izleyerek devam eder. Bir hidroksil radikali, yüzlerce yağ asidi yan zincirinin lipid hidroperoksitlere dönüşmesine yol açabilir. Lipid hidroperoksitlerin bir membranda toplanması, fonksiyonu kesintiye uğratabilir ve kollapsına neden olabilir. Ayrıca bunlar oldukça sitotoksik olan bir ürünler dizisine yol açmak üzere ayrışabilir, bunların en kötüsü aldehitlerdir. Etan ve pentan gibi hidrokarbon gazları da oluşur. Peroksil ve sitotoksik aldehitler membran proteinlerine ağır hasar verebilirler ve bu şekilde membrana bağlı enzimleri inaktive edebilirler.

Lipid peroksidasyona karşı koruyan antioksidanlar ya önleyici (katalaz ve ROOH ile reaksiyona giren diğer

peroksidazlar, şelatlayıcılar), ya da zincir kırıcıdır (E vitamini, SOD, urat, fenoller ve aromatik aminler).^{1,2}

Lipid Peroksidasyon Ürünlerinin Ölçümü

Dokularda, hücrelerde ve vücut sıvılarında lipid peroksidasyon hasarını ve lipid peroksidasyon ürünlerini ölçmek için bir çok yöntem vardır. En uygun yöntemin seçimi çalışmacının özel ilgisine bağlıdır. Rutin klinik ve laboratuvar uygulamasında çoğunlukla ilk seçenek kesinlikle standardize edilmiş koşullar altında, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)'ın ölçülmesidir. Kolorimetrik veya florometrik yöntemin spesifikliği, high performance liquid chromatography (HPLC) ile kullanıldığında önemli derecede artmaktadır. Eğer TBARS artmışsa, doğrulamak için diğer daha sofistike analizler kullanılabilir: Fosfolipid ve ester kolesterol hidroperoksitleri, 4-hidroksinonenal gibi aldehit yapıda lipid peroksidasyon ürünleri, floresan protein ekleri (örn. lipofüksin), konjüge dienler ve antioksidanlar. Var olan tek noninvaziv metod, gaz kromatografiyle ekspirasyon havasında etan ve pentan gazlarını ölçmektir. Şu anda bir çok laboratuvar lipid peroksidasyon ürünleri (e.g. malonaldehit, 4-hidroksinonenal) tarafından modifiye edilen proteinleri veya oksidatif olarak modifiye edilen proteinlere karşı gelişen otoantikorları saptamak için immüno-lojik yöntemler (ELISA, RIA) geliştirmektedir. Bu tür yöntemlerin yakında tanınal değer kazanmaları olasılığı bulunmaktadır.²⁷

Reaktif Oksijen Türleri ve Hastalıklar

Doku hasarı, yani hücre parçalanması radikal oluşumuna neden olur. Bu hasarın kaynağı ısı, mekanik travma, infeksiyonlar, radyasyon, ultrason, toksinler, oksijensizlik olabilir. Doku yıkımı ve dejenerasyonu oksidatif hasarı artırabilir; çünkü metal iyonu salınır, fagosit aktivasyonu olur, lipooksijenaz aktive olur ve mitokondrial elektron transport zinciri kesintiye uğrar, elektronlar kaçar ve süperoksit oluşur. Yani, her tür hasarda reaktif oksijen türleri oluşmaktadır.

İnflamasyon sürecinde aktive lökositlerden fizyolojik olarak salınan reaktif oksijen türleri fagosite edilebilen zararlıları öldürmeye ya da yok etmeye yarar ve bu, infeksiyonlarda oldukça yararlı bir mekanizmadır. Ancak, reaktif oksijen türleri oksidatif etkilerini sadece dışarıdan gelen saldırganlarla sınırlamadıkları zaman, komşu dokulara hücre metabolizmasını ve genetik özelliklerini bozacak şekilde etki ederler. İnflamasyon sırasında hücre zarının yapısının bozulmasıyla araşidonik asit metabolizması aktive olur. Hücre zarında bulunan araşidonik asit, lökosit ve trombositlerden fosfolipaz-A2 enziminin aktivasyonu ile serbestleşir. Prostaglandinler (özellikle PGE2 önemlidir), tromboksan ve lökotrienler sentezlenir, bu sırada reaktif oksijen türleri de ortaya çıkar. Lizo-

zomlardan proteazlar salınır. Dokuyu korumakla görevli antiproteazlar reaktif oksijen türleri ile inaktive olurlar. Sonuçta doku yıkımı artar.^{1,2}

Antioksidan Savunma Sistemleri

Hücreler, radikal saldırısından sonra DNA'yı onarabilen, hasar gören proteinleri yıkabilen ve lipid hidroperoksitleri metabolize edebilen sistemler içerirler.

Antioksidanlar, okside edilebilen bir substrata göre düşük konsantrasyonlarda bulunduğu, o substratın oksidasyonunu geciktiren veya önleyen maddelerdir. Antioksidanlar, şu yollarla etki edebilir:

- biyolojik olarak önemli reaktif oksijen türlerini temizleyerek (scavenger),
- oluşumlarını önleyerek, veya
- yaptıkları hasarı onararak.

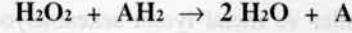
Reaktif oksijen türleri insan vücudunda sürekli olarak oluşturulur ve antioksidan savunma mekanizmaları tarafından ortadan kaldırılırlar. Bu mekanizmalar bir takım enzimler ve antioksidan maddelerdir. Enzimler şunlardır: Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz. Bu üç enzim işbirliği içindedir ve en önemlisi de glutatyon peroksidazdır. Demir ve bakır iyonlarının çoğu depoda veya taşıyıcı proteinlere bağlı olarak bulunur. Böylece kanda serbest dolaşmamaları sağlanır. Plazmada demir transportu için gerekenin 3 katı transferrin vardır. Fazla demir yüklenen hastaların kanında demir sitrat şelatları dolaşır ve karaciğer hasarı, diabetes mellitus, eklem inflamasyonu ve hepatoma görülebilir. Metal iyonlarının sekestrasyonu önemli bir antioksidan savunmadır. Bir metalloprotein olan süperoksit dismutaz (SOD) 1968'de keşfedilmiştir, sitoplazma ve mitokondrilerde bulunur. Sitoplazmadaki SOD, Cu ve Zn içeren iki alt birimden oluşur. Bakırın katalitik, çinkonun ise yapısal fonksiyonu vardır. Mitokondrial matrikste bulunan SOD ise Mn içerir (prokaryotlarda SOD, Fe ve Mn içerir). Vücuttaki varlığının keşfedilmesi, canlı organizmada O_2^- oluştuğunun ve SOD tarafından yok edildiğinin farkedilmesini sağlamıştır. Doğumsal SOD eksikliğinin saptanmamasının, bunun letal bir müstasyon olduğunu gösteriyor olması mümkündür.



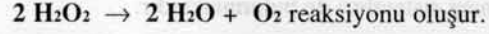
SOD olmasa da bu reaksiyon nonenzimatik olarak gerçekleşir, fakat hızı bir kaç kat azalır. Langerhans adacığındaki (hücreleri yüksek konsantrasyonda CuZn-SOD içerirler. SOD, (hücrelerinin oksidan strese karşı korunmasında önemli rol oynar. Alloksan ve streptozotosin (STZ) bu enzimin aktivitesinde kısmi inhibisyon yaparlar. Bu da, STZ'nin oksijen radikalleri oluşturduğu hipotezini desteklemektedir. Tip I diabet (IDDM) patogenezinde SOD'un rolü bulunmaktadır. E vitamini eksikliğinde SOD aktivitesi azalır.²⁸

Çinkonun LDL oksitlenmesini azaltarak antioksidan koruma sağlayıp sağlamayacağını araştıran bir çalışmada 10 sağlıklı erkek gönüllü değerlendirilmiş ve çinkonun antioksidan etkisinin, eğer varsa bile, çok az olduğu sonucuna varılmıştır. Çünkü verilen dozun üzerinde bakır metabolizmasıyla ters etkileşim oluşacaktır.²⁹

Bir hem enzimi olan katalaz ise, hidrojen peroksiti su ve oksijene dönüştürür. H_2O_2 oluşum hızı düşük olduğunda:

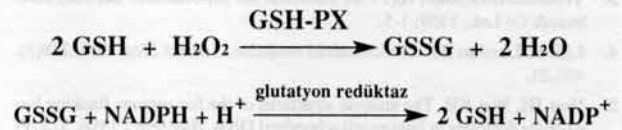


Yüksek olduğunda ise,



Katalaz %20 oranında sitoplazmada ve %80 oranında peroksidazda bulunur. Asit, siyanür, indirgenmiş glutatyon katalazı inhibe eder. Kono ve Fridovich, süperoksit radikallerinin katalazı inhibe ettiğini göstermişlerdir. Kemik iliği, kan, müköz membranlar, böbrek ve karaciğerde bulunur. Demirli porfirin enzimidir. Eritrositte H_2O_2 arttığı zaman hemoglobin methemoglobine oksitlenir, normalde günlük dönüşme oranı %3'tür ve bu reaksiyon vücuttaki süperoksit kaynaklarından biridir.

Glutatyon peroksidaz (GSH-PX), hidrojen peroksiti su ve okside glutatyona (GSSG) çevirir. Glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan glutatyon tüm hücrelerde bulunur ve hücrenin protein yapısı dışındaki sülfhidril grubu içeriğinin %90'ını oluşturur. Hücreleri oksidatif ve toksik etkilere karşı korur. İntrasellüler hidrojen peroksitin detoksifikasyonundan esas olarak bu enzim sorumludur. Lipid peroksidasyonun başlamasını ve gelişmesini engeller. Bu enzimin aktivitesi için selenyum gerekir, aktif bölgesinde bir selenosistein artığı bulunur (-SH yerine -SeH). Aktivitesi selenyuma bağımlı olan tipi hem hidrojen peroksiti, hem de lipid peroksitleri inhibe ederken, selenyumdan bağımsız olan ve mitokondri ve sitozolde bulunan diğer tipi yalnızca lipid hidroperoksitleri metabolize eder. İyodoasetat, siyanür ve süperoksit radikali bu enzimin inhibitörleridir. Selenyum ve E vitamini birbirinin etkisini güçlendirir. Selenyum normal pankreas fonksiyonu için gerekli olduğundan, lipidlerin ve tabii E vitamininin de emilimi için gereklidir. E vitamini ise, selenyumu aktif formunda tutar ve vücuttan atılımını azaltarak gereksinimini azaltır.



Glutatyon redüktaz (GSH-Rx) FAD içeren bir flavoproteindir. Eritrositteki tipi selenyum içerir. Burada oluşan $NADP^+$, glukoz-6-P dehidrogenaz ile tekrar $NADPH$ 'a çevrilir. $NADPH / NADP^+$ ve $GSH / GSSG$

oranı değişiklikleri akut pro-oksidan stress ve antioksidan savunma arasındaki dengeyi yansıtır.

Glutasyon (GSH), N-asetil sistein ve merkaptopropionilglisin gibi düşük molekül kiteli tiol bileşikleri proteinleri, örneğin HOCl'in oksidatif etkisine karşı korumada çok etkilidirler. Parakuat, nitrofurantoin ve t-bütillhidroperoksit GSSG'nin hücre içi düzeyini artırır.^{1,2,6}

İnflamasyon gibi bir durumda bu sistemlerde meydana gelen bir yetersizlik, radikallerin artmasına yol açar.

Temizleyici enzimler ve metal iyonu sekestrasyonu gibi primer savunma mekanizmalarının yanı sıra, sekonder savunma sistemleri de bulunmaktadır.

İnsan plazmasında bulunan non-enzimatik suda çözünen antioksidanlar:³⁰

Antioksidan	Plazma miktarı (µmol/L)
Askorbik asit	30-150
Glutasyon	1-2
Ürik asit	160-450
Bilirubin	5-20

Deneyisel olarak bilirubinin LDL oksidasyonunu önlediği gösterilmiş ve hiperoksi hasarını önlediği iddia edilmiştir. Hem konjuge, hem de ankonjuge bilirubinin LDL'yi 2 aminopropanın oluşturduğu oksiradikaller tarafından oksitlenmeye karşı koruduğu 37°C'de agaroz jel elektroforezinde gösterilmiştir. Mol olarak bakıldığında C vitamininden daha etkin bulunmuştur.³¹ Bilirubin in vitro potent bir antioksidandır. Sarılıklı yeni doğan ratların hiperoksiye maruz bırakıldığı bir çalışmada solid dokularda etkisinin olmadığı, fakat yeni doğan için geçici bir antioksidan görevi görebileceği belirtilmiştir. Kanada TBARS ve bilirubinin ters orantılı olduğu bulunmuştur.³²

Kaynaklar

- Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91(suppl 3C): 14-22.
- Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 1994; 344: 721-4.
- Trotman-Dickenson AF. Free Radicals: An Introduction. London, Methuen & Co Ltd., 1959; 1-5.
- Luft R, Landau BR. Mitochondrial medicine. *J Intern Med* 1995; 238(5): 405-21.
- Hou JH, Wei YH. The unusual structures of the hot-regions flanking large-scale deletions in human mitochondrial DNA. *Biochem J* 1996; 318 (Pt 3): 1065-70.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry. 32. baskı. Norfolk Connecticut California, Prentice-Hall Int. Inc., 1997; 116.
- Kremser K, Kovacs W, Stangl H. Peroxisomal diseases --oxygen and free radicals. *Wien Klin Wochenschr* 1995; 107(22): 690-3.

- Blois Jr MS, Brown HW, Lemmon RM, Lindblom RO, Weissbluth M (Eds). Free Radicals in Biological Systems. New York and London, Academic Press, Proceedings of a Symposium Held at Stanford University, March, 1961; 1-8.
- Ingram DJE. Free Radicals as Studied by Electron Spin Resonance. London, Butterworths Scientific Publications Ltd., 1958; 1-27.
- Berliner JA, Heinecke JW. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic Biol Med* 1996; 20(5): 707-27.
- Raes M, Renard P, Remacle J. Les radicaux libres comme messagers secondaires. [Free radicals as second messengers]. *C R Seances Soc Biol Fil* 1995; 189(3): 355-66.
- Carlson JC, Sawada M. Generation of free radicals and messenger function. *Can J Appl Physiol* 1995; 20(3): 280-8.
- McGowan AJ, Ruiz-Ruiz MC, Gorman AM, Lopez-Rivas A, Cotter TG. Reactive oxygen intermediate(s) (ROI): common mediator(s) of poly(ADP-ribose)polymerase (PARP) cleavage and apoptosis. *FEBS Lett* 1996; 392(3): 299-303.
- Maggi MF, Cristol JP, Guerin MC, Descomps B, Torrelles J. Protection of oxidation of LDL by nitric oxide: implication in atherogenesis. *C R Seances Soc Biol Fil* 1995; 189(3): 375-87.
- Denicola A, Freeman BA, Trujillo M, Radi R. Peroxynitrite reaction with carbon dioxide/bicarbonate: kinetics and influence on peroxynitrite-mediated oxidations. *Arch Biochem Biophys* 1996; 333(1): 49-58.
- Gow A, Duran D, Thom SR, Ischiropoulos H. Carbon dioxide enhancement of peroxynitrite-mediated protein tyrosine nitration. *Arch Biochem Biophys* 1996; 333(1): 42-8.
- Szabo C, Zingarelli B, O'Connor M, Salzman AL. DNA strand breakage, activation of poly (ADP-ribose) synthetase, and cellular energy depletion are involved in the cytotoxicity of macrophages and smooth muscle cells exposed to peroxynitrite. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(5): 1753-8.
- Setko NP. Sovremennye aspekty mekhanizma deistviia mnogokomponentnogo prirodno gaza, ego toksichnost' i izbiratel'nost'. [Current aspects of mechanisms underlying effects of multi-component natural gas, its toxicity and selectivity]. *Med Tr Prom Ekol* 1996; 1: 12-6.
- Hamada A. [Chlorination and ozonation of contaminants in water environment and role of free radicals]. *Yakugaku Zasshi* 1995; 115(10): 790-804.
- Eiserich JP, van der Vliet A, Handelman GJ, Halliwell B, Cross CE. Dietary antioxidants and cigarette smoke-induced biomolecular damage: a complex interaction. *Am J Clin Nutr* 1995; 62(6 Suppl): 1490-1500.
- Lapenna D, Mezzetti A, de Gioia S, Pierdomenico SD, Daniele F, Cucurullo F. Plasma copper and lipid peroxidation in cigarette smokers. *Free Radic Biol Med* 1995; 19(6): 849-52.
- Do BK, Garewal HS, Clements NC Jr, Peng YM, Habib MP. Exhaled ethane and antioxidant vitamin supplements in active smokers. *Chest* 1996; 110(1): 159-64.
- Mulholland CW, Strain JJ, Trinick TR. Serum antioxidant potential, and lipoprotein oxidation in female smokers following vitamin C supplementation. *Int J Food Sci Nutr* 1996; 47(3): 227-31.
- Priuska EM, Schacht J. Formation of free radicals by gentamicin and iron and evidence for an iron/gentamicin complex. *Biochem Pharmacol* 1995; 50(11): 1749-52.
- Liu ZC, Utrecht JP. Clozapine is oxidized by activated human neutrophils to a reactive nitrenium ion that irreversibly binds to the cells. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 275(3): 1476-83.
- Huang R, Okuno H, Takasu M, Shiozaki Y, Inoue K. Protective effect of rifampicin against acute liver injury induced by carbon tetrachloride in mice. *Jpn J Pharmacol* 1995; 69(4): 325-34.
- Esterbauer H. Estimation of peroxidative damage. A critical review. *Pat-hol Biol Paris* 1996; 44(1): 25-8.

28. Datsenko ZM, Donchenko GV, Shakhman OV, Hubchenko KM, Khmel TO. Rol' fosfolipidiv u membranakh funktsional'no riznykh kli-ty'n za porushennia antyoksidantovoi systemy. [Role of phospholipids in functionally different cell membranes under conditions of antioxidant system disturbance]. *Ukr Biokhim Zh* 1996; 68(1): 49-54.
29. Gatto LM, Samman S. The effect of zinc supplementation on plasma lipids and low-density lipoprotein oxidation in males. *Free Radic Biol Med* 1995; 19(4): 517-21.
30. Seven A, Candan G. Antioksidan savunma sistemleri. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 1996; 27: 41-50.
31. Wu TW, Fung KP, Wu J, Yang CC, Weisel RD. Antioxidation of human low density lipoprotein by unconjugated and conjugated bilirubins. *Biochem Pharmacol* 1996; 51(6): 859-62.
32. Dennery PA, McDonagh AF, Spitz DR, Rodgers PA, Stevenson DK. Hyperbilirubinemia results in reduced oxidative injury in neonatal Gunn rats exposed to hyperoxia. *Free Radic Biol Med* 1995; 19(4): 395-404.

Geliş tarihi: 17. 12. 1998
Kabul tarihi: 08. 02. 1999

İletişim adresi:

Prof. Dr. A. Gökhan Akkan
İ. Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Farmakoloji Anabilim Dalı
K.M.Paşa 34303 İSTANBUL
Tel: (0212) 588 48 00

TIP DÜNYASINDAN HABERLER

Hazırlayanlar:
Ecz. Duygu Yazıcıoğlu
Dr. Eşref Yazıcıoğlu

VİAGRAYI KİM YAZACAK, KİM ÖDEYECEK?

İngiliz hakimleri, iktidarsızlık hapının parasının ödenmesi konusunda İngiliz hükümeti tarafından getirilen katı kısıtlamalara karşı güç gösterisine giriştiler.

Halihazırdaki mevzuatla ilgili disipline rağmen İngiliz Tabipler Birliği (BMA) üyelerine resmi talimatları dikkate almamalarını ve hastalarına klinik olarak ilaca ihtiyaçları olduğunda reçete yazmalarını istediğini söylemektedir.

Sağlık Bakanlığı'nın kararı açıklamasından birkaç saat sonra BMA sorumlularından bir kişi bunu gülünç ve anti-etik olarak vasıflandırmıştır.

"İktidarsızlığın kabul edilebilir ve kabul edilemez sebepleri arasında bir ayırım yaparak ihtiyaca dair yetersiz bir tarz empoze edilmiştir. Klasik tedavilere göre Viagra'nın daha ucuz olduğunu ifade ederek suçlamalarda bulunmuştur. Bugüne dek sadece özel kesim doktorlar ve hastalarca kullanılan Viagra gelecekte genel halk sağlığı sistemi

inde pratisyen hekimlerce de omurluk ile ilgili nörolojik problemlerde, bir kalça ameliyatı sonucu, bir prostat girişimi sonrası problemlili kişilere yazılabilecektir. Sağlık Bakanı Frank Dobson'un önerisine göre diyabetikler, multipl sklerozdan muzdarip hastalar veya genetik orijinli nörolojik hastalıkları olanlar da Viagra parasının ödenmesinden istifade edebilirler. Şayet şahıslar bu kategorilere dahil değilseler Viagra istediklerinde ödemeleri kendileri yapacaklardır."

National Health Services (NSH) üst düzey sorumlularından Stephan Thomson, doktorların Viagra'yı tanımlanan bu direktifleri göz önünde bulundurmadan yazarlarsa disiplin kovuşturmasına uğrayabileceklerini bildirdi.

İngiliz pratisyenleri ise bir karaborsanın oluşmasından endişelidirler.

Médecine 1999; 57 E: 275