

REAKTİF OKSİJEN PARTİKÜLLERİ VE ANTIOKSİDAN SAVUNMA

REACTIVE OXYGEN PARTICLES AND ANTIOXIDANT DEFENCE

Dr. Caner ÇAVDAR, Dr. Aykut SİFİL, Dr. Taner ÇAMSARI

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi
İç Hastalıkları ABD - Nefroloji Bilim Dalı-İZMİR

ÖZET

Serbest radikal, atomik yada moleküler yapılarda çiftlenmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan moleküllere verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen partikülleri de denmektedir. Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere de antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir. Belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Bu makalede reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma kavramları hakkında genel bir değerlendirme sunulacaktır.

Anahtar kelimeler: Reaktif oksijen partikülleri, serbest radikal, antioksidan savunma

1- Reaktif Oksijen Partikülleri Tanımı:

Atomlarda elektronlar orbital adı verilen uzaysal bölgede çiftler halinde bulunurlar. Atomlar arasında etkileşim ile bağlar meydana gelmekte ve moleküler yapı oluşmaktadır. Serbest radikal, atomik yada moleküler yapılarda çiftlenmemiş tek elektron bölümlerine verilen isimdir. Başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren bu moleküllere "oksidan moleküller" veya "reaktif oksijen partikülleri (ROP)" de denmektedir (1).

2- ROP Sınıflandırılması:

Organizmada pek çok türde ROP oluşabilir (Tablo 1). Ancak en sık olarak lipid yapılarla oluşur.

SUMMARY

Free radicals are molecules which contain one or more unpaired electrons. These molecules are highly reactive and tend to initiate chain reactions with other molecules also called oxidants or reactive oxygen particles (ROP). Molecules which protect proteins, lipids, carbohydrates and nucleic acids against free radicals are called antioxidants and so this reaction is called antioxidant defence system. Increased oxidants are antagonized by antioxidants in human body.

In this review, ROP and antioxidant defences will be discussed.

Key words: Reactive oxygen particles, free radical, antioxidant defence

Doymamış yağ asitlerinin alil grubundan bir hidrojen çıkarsa lipid radikali meydana gelir. Oluşan lipid radikali oksijen ile reaksiyona girer ve lipid peroksi radikali oluşturur. Lipid peroksi radikali diğer lipidlerle zincir reaksiyonu başlatır ve lipid hidroperoksitler oluşur. Ortamda bulunan demir ve bakır iyonları lipid peroksidasyonunu hızlandırır (2). Lipid radikaller yüksek derecede sitotoksik ürünlere de dönüşebilir. Bunlar arasında en çok bilinen ürün aldehid grubundan malondialdehid (MDA).

Hidrojen peroksit membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir, fakat çiftlenmemiş elektrona sahip olmadığından radikal olarak adlandırılmaz. Bu nedenle "reaktif oksijen partikülleri", süperoksit gibi radikaller, ayrıca hidrojen

peroksit gibi radikal olmayanlar için ortak olarak kullanılan bir terimdir (3). Oksijen molekülü, orbitalinde çiftlenmemiş elektron taşıyorsa süperoksit radikali olarak adlandırılır. Diğer ROP grubunda ise normal oksijenden çok daha hızlı bir biyolojik molekül olan "singlet oksijen" bulunmaktadır. Singlet oksijen molekülü yapısında iki adet çiftlenmemiş elektron taşır. Singlet oksijen hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleriyle doğrudan reaksiyona girerek lipid peroksitlerin oluşumuna yol açar (1).

Tablo 1: Reaktif Oksijen Partikülleri:

- 1 - Radikaller:
 - Süperoksit radikal (O_2^-)
 - Hidroksil radikal (OH^-)
 - Alkoksil radikal (LO^-)
 - Peroksil radikal (LOO^-)
- 2 - Radikal olmayanlar:
 - Hidrojen peroksit (H_2O_2)
 - Lipid hidroperoksit ($LOOH$)
 - Hipoklorik asit ($HOC1$)
- 3 - Singlet oksijen

3- ROP Kaynakları:

Mitokondrilerdeki oksijenli solunumda olduğu gibi birçok anabolik ve katabolik işlemler sırasındaki reaksiyonlarda moleküler düzeyde elektron kaçışları olur ve bu sırada ROP'lar oluşur. Tablo 2'de ROP'ların in vivo ortamda kaynakları görülmektedir (4).

Tablo 2: Reaktif Oksijen Partiküllerinin Kaynakları:

- I - Normal biyolojik işlemler
 - 1 - Oksijenli solunum
 - 2 - Katabolik ve anabolik işlemler
- II - Oksidatif stres yapıcı durumlar
 - 1 - İskemi - hemoraji - travma - radyoaktivite - intoksikasyon
 - 2 - Ksenobiotik maddelerin etkisi
 - a-) İnhale edilenler
 - b-) Alışkanlık yapan maddeler
 - c-) ilaçlar
 - 3 - Oksidan enzimler
 - a-) Ksantin oksidaz
 - b-) İndolamin dioksigenaz
 - c-) Triptofan dioksigenaz
 - d-) Galaktoz oksidaz
 - e-) Siklooksigenaz
 - f-) Lipooksigenaz
 - g-) Monoamino oksidaz
 - 4 - Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu
 - 5 - Fagositik inflamasyon hücrelerinden salgılanma (nötrofil, monosit, makrofaj, eosinofil, endotelial hücreler)
 - 6 - Uzun süreli metabolik hastalıklar
 - 7 - Diğer nedenler: Sıcak şoku, güneş ışını, sigara
- III - Yaşlanma süreci

İskemi, hemoraji, travma ve radyoaktivite gibi durumlarda mitokondrilerdeki aerobik oksidatif fosforilasyon dengesi etkilenir ve elektron taşıma sisteminden elektron kaçakları daha fazla olur ve ROP düzeyi artar. ROP'ların düzeyi, yaşlanma süreci ile paralel bir artış gösterir. Yaşlanma ile protein karboksilasyonunun artışı ve katalize edici tüm enzimlerin azalmasının bu dengesizlikte önemli rolleri vardır.

Glukoz gibi maddeler ROP'ları oluşturacak şekilde proteinlerle reaksiyona girerler; bu ise diyabetik hastaların seneler boyunca yüksek kan glukozuna maruz kalması nedeniyle hipergliseminin yan etkilerini kolaylaştırıcı "oksidatif stress" oluşumuyla sonuçlanır.

İnfeksiyöz olaylarda başta Staphylococcus aureus gibi patojenler ayrıca lökotrienler, prostaglandinler gibi mediyatör maddeler nötrofil, eosinofil ve makrofajları aktive ederler, membrana bağlı NADPH oksidaz enzimi yoluyla ROP salgılanmasına yol açarlar (5,6).

Nötrofiller tarafından kullanılan antibakteriyal savunma mekanizması myeloperoksidaz enzimidir. Süperoksit radikalının dismutasyonu sonucu oluşan hidrojen peroksit myeloperoksidaz enzimi aracılığıyla reaksiyona girerek güçlü bir antibakteriyal ajan olan hipoklorik asidi oluşturur. İnfeksiyöz ajanlarla savaş için gerekli olan ROP'lar kan hücreleri tarafından aşırı salgılanacak olurlarsa bu kez yarar yerine zararlı olmaya başlarlar.

Süperoksit radikalının vazoregülasyonda fizyolojik rolüne ilişkin düşünceler de vardır. Vasküler endotelium tarafından sentezlenen "endothelium-derived relaxing factor" (EDRF) vasodilatator yanıtın sorumludur ve nitrik oksitle eşdeğerdir. Nitrik oksit (NO) bir adet çiftlenmemiş elektrona sahiptir ve bu nedenle ROP olarak kabul edilebilir. Vasküler endotelium aynı zamanda az miktarda süperoksit radikali sentez yeteneğine de sahiptir. Hem NO hem de süperoksit radikali ile reaksiyon sonucu oluşabilecek bazı yan ürünler sitotoksik olmasına karşın NO ve süperoksit radikali etkileşiminin vasküler tonüs düzenlenmesi üzerine yararlı etkilerinin olduğu bildirilmiştir (7,8,9).

4- Antioksidan Savunma:

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipid, karbohidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir (D-

Memeli hücrelerinde oksidan ürünlere karşı korunma bazı prensipler içinde gerçekleşmektedir.

Oksidanların organizmadaki düzeylerini arttırıcı etkenlerin ve risk faktörlerinin iyi belirlenmesi ve bunlardan uzak durulması ilk yapılması gereken girişim olmalıdır. İkinci girişim ise ROP'larla tetiklenen biyokimyasal reaksiyonları bir yada birkaç basamağında kırmaktır. Üçüncü mücadele yolu, oluşan mediyatörlerle aktive olan inflamatuvar hücrelerin lezyon yerine hücumunu ve orada aşırı birikimini önlemektir. Oksidan moleküllerle mücadelede üzerinde durulacak esas girişim ise belirli düzeyi aşmış oksidanlara direkt olarak etki edip onları inaktif hale getiren antioksidanlardır. Antioksidan savunma elemanları hücre içi ve hücre dışı ortamda farklıdır.

İnsanda bellibaşlı hücre içi antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleridir. SOD'un yapısında bakır, çinko ve manganez; GPx'de ise selenyum iyonu bulunduğundan bu enzimler metaloenzim olarak da adlandırılırlar. Hücre içi ortamın aksine hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan E ve C vitamini, transferrin, haptoglobin, seruloplasmin, albumin, bilirubin, P - karoten ve α -l antitripsin sorumludur (1).

4a -) İn vivo - hücre içi ortamda antioksidan savunma :

SOD, süperoksidin hidrojen peroksid'e dismutasyonunu katalize eden bir metaloenzimdir. İnsan hücrelerinde özellikle sitozolde bulunan bakır ve çinko iyonu içeren SOD ile manganez iyonu içeren mitokondrial SOD olmak üzere SOD'un iki izoenzimi bulunur

Süperoksit radikallerinin dismutasyonu ile yada direkt olarak oluşan hidrojen peroksit ise GPx ve CAT enzimleri tarafından suya dönüştürülerek detoksifiye edilir.

Normal koşullarda hücrede oluşan hidrojen peroksidin detoksifikasyonunda esas olarak bir selenoenzim olan GPx fonksiyona sahiptir. CAT'ın hidrojen peroksit oluşumunun arttığı durumlarda önemli etkinliğinin olduğu kabul edilmektedir.

SOD, GPx ve CAT enzimlerinden ayrı olarak E ve C vitamini de hücre içi antioksidan özelliğe sahiptir. Her ikisi de hücre membranlarındaki lipid peroksidasyon zincir reaksiyonlarını kıran antioksidanlardır.

4b-) İn vivo - hücre dışı ortamda antioksidan savunma:

Hücre içi ortamın aksine hücre dışı sıvılarda enzimatik antioksidan sistemin aktivitesi sınırlıdır. Bu

nedenle hücre dışı ortamda antioksidan savunmadan minör olarak enzimler, major olarak E ve C vitamini, transferrin, haptoglobin, seruloplasmin, albumin, bilirubin, p - karoten, ürik asit, glukoz, sistein, trakeobronşial mukus ve a -l antitripsin sorumludur (1).

Düşük dansiteli lipoproteinlerin (LDL- kolesterol) peroksidasyonu aterosklerozun progresyonuna neden olduğu için peroksidasyonu engelleyen E vitamini hücre dışı ortamda önemli bir role sahiptir. E ve C vitamininin düşük plasma konsantrasyonları ile birlikte olan artmış myokardial infarktüs sıklığı bunu kanıtlamaktadır (10, 11). Bununla birlikte C vitamini hidrojen peroksit varlığına demir veya bakır iyonlarıyla birlikte reaksiyona girerek oksidan özellik de gösterebilir. Normalde süperoksit radikali ve hidrojen peroksit hücre dışı ortamda endotel hücreleri, lenfositler, trombositler, fibroblastlar ve diğer hücreler tarafından oluşturulurlar. Süperoksit radikali ve hidrojen peroksit özellikle serbest demir ve bakır iyonu varlığında hidroksil grubu gibi daha tehlikeli radikallere dönüşebilir. O halde organizmanın hücre dışı ortamda antioksidan savunma aracı demir ve bakır iyonlarının bağlı duruma getirilmesi olmalıdır. Buna transferrin örnek olarak verilebilir. Demir transport proteini olan transferrin sağlıklı insanlarda % 20 - 30 oranında demir ile yüküdür. Böylece plasmadaki serbest iyonik demirin etkinliği sifıra dek düşer. Transferrine bağlı demir lipid peroksidasyon işlemini yapamaz. Demir depo hastalıklarında ise düşük moleküler ağırlıklı demir iyonu kompleksleri lipid peroksidasyonu ve hidroksil radikali işlemlerini uyararak multi-organ hasarına yol açarlar.

Hemoglobin ve miyoglobin gibi hem içeren proteinler de hidrojen peroksit varlığında lipid peroksidasyonunu iki mekanizma ile uyarabilirler (12):

1- Proteinler ve hidrojen peroksit reaksiyonu ile O_2 - hem radikali oluşur (özellikle tirozin peroksi radikali). Bu ise lipid peroksidasyonunu uyarır.

2- Aşırı hidrojen peroksit, miyoglobin ve hemoglobine etki ederek serbest demir iyonlarının açığa çıkmasına neden olur. Serbest demir iyonları ise lipid peroksidasyonunu uyarır.

Crush sendromu gibi kas hasarlarından sonra vücut sıvılarında miyoglobin ve hemoglobin artar. Hemoglobinin haptoglobine bağlanması veya hem molekülünün hemopeksine bağlanması lipid peroksidasyonunu azaltır.

Plasmada bakır taşıyan seruloplasmin, demir metabolizmasında da rol oynamaktadır. Ayrıca antioksidan özelliği de vardır. Seruloplasmin ferro-oksidad aktivitesine sahiptir. 2 değerlikli ferro demiri,

3 değerlikli ferri demire okside eder. Seruloplasminin ferro-oksidadaz aktivitesi demir iyonuna bağlı lipid peroksidasyonunu inhibe eder.

Albumin vücutta birçok fonksiyonuna ek olarak bakır iyonunu bağlama yeteneğine de sahiptir ve böylece bakır iyonuna bağlı lipid peroksidasyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu inhibe eder.

Albumin kandaki yağ asitlerini de taşır, ayrıca bilirubin de albumine bağlanır. İn vivo ortamda bilirubin, lipid peroksidasyonunda antioksidan olarak rol oynar. Muhtemelen in vivo ortamda bilirubin, albumine bağlı yağ asitlerinin peroksidasyonunu önleyebilmektedir.

Stocker ve arkadaşları 1990 yılında yaptıkları bir çalışmada oksidatif strese maruz kalan hücrelerden açığa çıkan hem - oksijenaz enziminin oksidan özellikteki hem molekülünü ortamdan uzaklaştırmakla kalmayıp, bilirubin gibi antioksidanları da arttırdığını savunmuşlardır (13).

Yukarıda da belirtildiği gibi hücre dışı ortamda bellibaşlı antioksidan etkinlik metal iyonlarının serbest radikal reaksiyonlarına girmelerini önlemekle sağlanır. Bu ise antioksidan enzimlerle değil E ve C vitamini, transferrin, seruloplasmin, albumin vb. ile gerçekleştirilmektedir. Fakat bütün hücre dışı sıvılarda antioksidanların konsantrasyonları aynı değildir. İnsan serebrospinal sıvısında transferrin, albumin ve seruloplasmin plazmaya göre düşük konsantrasyonlarda iken C vitamini plazmaya göre 10 kat daha fazla konsantrasyonda bulunur. Akciğer alveollerinde de C vitamini düzeyi plazmaya göre daha fazladır. Seminal sıvının ise antioksidan kapasitesi düşüktür.

Belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışı yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidan moleküller tarafından etkisiz hale getirilmektedir. Böylece sağlıklı bir organizmada oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge içindedir. Oksidanlar belirli düzeyin üzerinde oluşur veya antioksidanlar yetersiz olursa yani denge bozulursa söz konusu oksidan moleküller organizmanın yapı elemanları olan protein, lipid, karbohidrat, nükleik asitler ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar (14) (**Tablo 3**).

ROP'ların hastalıklardaki rolü ve klinik kullanıma giren antioksidanlar ise ikinci bölümde anlatılacaktır.

Tablo 3: Artmış Reaktif Oksijen Partiküllerinin Zararları:

- Hücre organelleri ve membranındaki lipid ve protein yapısını bozarlar,
- Hücre içi yararlı enzimleri etkisizleştirirler,
- DNA'yı tahrip ederler,
- Mitokondrilerdeki aerobik solunumu bozarlar,
- Elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantinoksidad, indolamin dioksigenaz, triptofan dioksigenaz, galaktoz oksidad gibi litik enzimleri aktive ederler,
- Hücrenin potasyum kaybını arttırırlar,
- Trombosit agregasyonunu arttırırlar,
- Dokulara fagosit toplanmasını kolaylaştırırlar,
- Hücre dışındaki kollagen doku komponentlerini, savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkarlar,

KAYNAKLAR

1. Halliwell B. Drug antioxidant effects. *Drugs* 1991; 42(4): 569 - 605.
2. Kour H, Perkins MJ. The free radical chemistry of food additives, In Ed: Arvoma O.I, Halliwell B. *Free radicals and food additives*, 1991; New York.
3. McCord J. Human disease, free radicals and the oxidant / antioxidant balance. *Clin Biochem* 1993; 26: 351 - 357.
4. Carroll E. Cross. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med* 1987; 107: 526 - 545.
5. Henderson W. The role of leukotrienes in inflammation. *Ann Intern Med* 1994; 121: 684 - 697.
6. Natanson C. Selected treatment strategies for septic shock based on proposed mechanisms of pathogenesis. *Ann Intern Med* 1994; 120(9): 771 - 778.
7. Saran M, Michel C, Bors W. Reaction of NO with superoxide. *Free Radic Res* 1990; 10: 221 - 226.
8. Lowenstein C, Dinerman J, Snyder S. Nitric Oxide: A physiologic messenger. *Ann Intern Med* 1994; 120:227-237.
9. Grozdanovic Z, Briining G, Baumgarten H. Nitric Oxide: A novel autonomic neurotransmitter. *Acta Anat* 1994; 150: 16-24.
10. Witztum J. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet* 1994; 344 (Sep. 17) : 793 - 795.
11. Regnström J, Nilsson J, Tornvall P et al. Susceptibility to low - density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet* 1992; 339 (May 16): 1183-1186.
12. Davies MJ. Detection of myoglobin - derived radicals on reaction of metmyoglobin with hydrogen peroxide and other peroxidic compounds. *Free Radic Res* 1990; 10: 36-370.
13. Stocker R. Induction of haem oxygenase as a defence against oxidative stress. *Free Radic Res* 1990; 9: 101-112.
14. Halliwell B. Reactive oxygen species in living system: source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91: 14S-21S.