

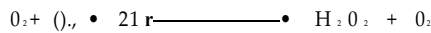
### Serbest Radikaller ve Organizma Üzerine Etkileri

Güzin (ÖZELÇİ) KAVAS\*

Serbest radikal biyolojisi, son yıllarda üirçok yönleri ile dikkatleri üzerinde yoğunlaştırmıştır. Bir serbest radikal 1,3,5 gibi tek sayıda elektronlara sahip herhangi bir molekül olarak tanımlanır. Hem organik ve hem de inorganik moleküller halinde bulunurlar ve oldukça reaktif özellik taşırlar. İn vivo, normal metabolizmanın ürünleri şeklinde açığa çıkan serbest radikaller ayrıca organizmanın iyonize edici radyasyona, oksitleyici özellik taşıyan ajanlara (bazı ilaçlar, örneğin paraquate) ve doğal durumunda serbest radikal metabolitleri oluşturabilen ksenobiyotiklere (hücreye yabancı olan maddeler) maruz kaldığı durumlarda da meydana gelirler. Canlılığın devamının zorunlu bir parçası olan oksijen radikalleri sayısız enzimatik tepkime ve biyolojik fonksiyonlar için gereklidir. Ancak, herbir radikalın yapısı ve etkili olduğu yere göre hücrenel hedefler risk altındadır. Bu bakımdan, serbest radikallerin hücrenel kaynakları, rol oynadıkları tepkimeler ve hücrenel savunmalarla adaptif mekanizmaların incelenmesi henüz açıklık getirilememiş bazı klinik durumların patogenezinine ışık tutabilir ve bu bakımdan da ilgi çekebilir.

#### Serbest Radikallerin Biyolojik Kaynakları

Aerobik organizmalar için serbest radikallerin başlıca kaynağı moleküler oksijendir. Oksijenin redüksiyonu ve aerobik hücrelerin enzimatik oksidasyonu sırasında negatif yüklü bir ara ürün, superoksit radikali (O<sup>-</sup>) açığa çıkar. Bu radikalın spontan yada enzimatik dismutasyon reaksiyonu ile



ikinci bir ara ürün, hidrojen peroksit oluşur(1). Yine superoksit radikalının yer aldığı bir dizi reaksiyon sonucu, özellikle mitokondri içinde bir diğer serbest radikal, hidroksil radikali (OH) meydana gelir (2).

Normal metabolizmanın yanısıra hiperoksia, inflamasyon, radyasyonla artan oksijen metabolizması superoksit ve hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksitin oluşumunu artırır (3). Klinik uygulamalarda kullandığımız birçok preparat, özellikle antineoplastik ajanlar örneğin adriamycin, daunorubicin, doxorubicin ve aktiviteleri için quinoid gruplar yada balı metallere gereksinim duyan antibiyotikler oksijenin serbest radikallerini açığa çıkarabilirler. Bu preparasyon kemoterapötik etkilerinin ve sitotoksik yan etkilerinin pek çoğu oksijeni superoksit radikale, hidrojen peroksite ve hidroksil radikale indirgeme yeteneklerine bağlanmaktadır (3,4).

Organizmanın, elektromanyetik radyasyona (x-ışınları, gamma ışınları) ve partiküllü radyasyona (elektronlar, protonlar, nötronlar, alfa ve beta partikülleri) maruz kalması sonucu, erimiş durumdaki oksijenle yada hücrenel eriyenlerle, ikinci bir reaksiyona girebilen primer radikaller açığa çıkar. Ek olarak, fotokimyasal hava kirleri, hiperoksia, sigara dumanı, eriteçler, anestetikler ve genel olarak aromatik hidrokarbonlar gibi çok çeşitli çevresel ajanlar da serbest radikallerin meydana gelmesine yol açarlar (5).

#### Serbest Radikallerin tnttrasellüler Kaynakları

##### A. Küçük Moleküllerin Oksidasyonu

Çözünebilir özelliği olan ve nötral sıvı ortamda oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarına girebilen hücre komponentlerinden pek çoğu tnttrasellüler olarak serbest radikalleri açığa çıkarırlar. Bunlar arasında tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler ve tetrahidropterinler bulunur (6,7,8,9,10). Yukardaki maddelerin tümü, dioksijenin redüksiyonunu sağlarken primer olarak superoksit radikallerinin meydana gelmesine neden olurlar. Superoksit radikallerinin

\*Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi

Torunoğlu Araştırma Merkezi, ANKARA

spontan yada enzimatik dismutasyonu ise ikinci bir ürünü yani hidrojen peroksiti açığa çıkarır. Böylece, superoksit radikalini veren hücresele olaylar, dismutasyon nedeni ile hidrojen peroksiti de meydana getirmiş olurlar.

#### B. Eriyebilir Enzimler ve Proteinler

Katalitik siklusu sırasında, birçok enzim serbest radikallerin açığa çıkışını sağlar. Bunlardan, üzerinde en çok çalışılan ksantin oksidaz olup oksijenin hidrojen peroksit redüksiyonu sırasında superoksit radikalini meydana getirir (11). İn vivo iskemia, ksantin oksidazı dehidrogenaz formundan oksidaz formuna dönüştürürken superoksit radikalini açığa çıkarır (12). Benzer şekilde, serbest radikal oluşturan diğer enzimler flavoprotein dehidrogenaz, triptofan dioksijenazdır (3).

#### C. Mitokondrial Elektron Transportu

Mitokondrial hidrojen peroksit yapımı ilk kez 1966'da Jensen tarafından saptandı (13). Bundan sonra yapılan çalışmalarda mitokondrial hidrojen peroksitin, tümü değilse bile çoğunluğunun, superoksit radikallerinin dismutasyonundan meydana geldiği gösterildi (14). Moleküler oksijenin, mitokondrial sitokrom c oksidaz tarafından suya redüksiyonunda serbest radikal halinde ara maddelerin rol oynamadığı bir dört elektron transferi meydana gelir. Yani, mitokondrial superoksit radikalini yapımında sitokrom bir kaynak oluşturmamaktadır. İç mitokondrial membranda lokalize respiratuar zincir taşıyıcıları yüksek oranda indirgenmiş zaman mitokondrial superoksit radikalini açığa çıkışı çok artar (15). Bu ise, mitokondrial radikal yapımını etkileyen endojen faktörlerin, respirasyonu regüle eden faktörler olduğunu düşündürür. Respirasyonu regüle eden faktörler, kullanıma hazır NAD-linked (bağlı) substratlar, suksinat, ADP (bir fosfat kabul edici olarak davranır ve bir iyon gradienti ile respiratuar zincir redüksiyonunu artırır) ve oksijendir (16). Eğer oksijen, sitokrom oksidaz tarafından suya redüksiyonu sınırlı olacak miktarlarda bulunursa, artan respiratuar zincir redüksiyonu ve hücre içinde redükte ko-faktörlerin birikimi, iskemik hücrelerde superoksit radikalini yapımını kolaylaştırabilir (3).

İzole mitokondria ve submitokondrial partiküllerle yapılan çalışmalarda, mitokondrial serbest radikallerin kaynağının, iç mitokondrial membranda yer alan elektron transport zinciri olduğu anlaşılmıştır. Başta superoksit radikalini olmak üzere hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksit mitokondri içinde meydana gelir;" normalde superoksit ve hidrojen peroksit yapımı, mitokondrial oksijen sarfının yaklaşık %1-2'sini oluşturur (17). Sağlam mitokondria, hidrojen peroksiti sitoplazmaya verebilirken superoksit radikalini için durum farklıdır; çünkü, mitokondrial supe-

roksit dismutaz, intramitokondrial superoksit radikalini çok düşük steady-state konsantrasyonlarda tutar ve bu yüzden mitomondrial superoksit radikalini ve hidrojen peroksit gibi hidroksil radikalini de mitokondriada yapılabılır, bu konuda yoğun çalışmalar sürdürülmektedir (18).

#### D. Endoplazmik Retikulum ve Nükleer Membran Transport Sistemleri

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda serbest radikaller, membrana bağlı sitokromların oksidasyonundan meydana gelirler. Oluşan serbest radikaller hem intraorganel ve hem de sitozolik reaksiyonları başlatabilirler. Nükleer membrandan açığa çıkmış olan radikallerin varlığında özellikle DNA serbest radikal harabiyetine maruz kalabilecektir (19).

Endoplazmik retikulum ve nükleer membranlar aynı elementleri, örneğin sitokrom P<sub>450</sub> ve b<sub>5</sub> içerdikleri için ansature yağ asitlerini, ksenubiyotikleri okside edebilir ve dioksijeni indirgeyebilirler (20,21). Ayrıca, flavoprotein içeren sitokrom redüktazlar da otoksidasyonla superoksit radikalini ve hidrojen peroksit oluştururlar. Mikrozomal ve nükleer membran sitokromları bir elektron transferinin direkt olarak superoksit radikalini yada peroksi-sitokrom komplekslerini dissosiyasyonla hidrojen peroksit meydana getirebilirler (3). Rat karaciğer mikrozomlarında da hidroksil radikalini yapıldığı belirlenmiştir (3).

#### E. Peroksizomlar

Peroksizomlar, güçlü hücresele hidrojen peroksit kaynağıdır. Bu yapılar, D-amino asit oksidaz, urat oksidaz, L-alfa-hidroksi asit oksidaz ve yağlı KoA oksidazdan çok zengin olup bu enzimler hidrojen peroksit açığa çıkarıcı özelliğe sahiptirler (22).

#### F. Plazma Membranları

Birçok nedenden ötürü plazma membranı, serbest radikal reaksiyonları için kritik bir yerdir. Ekstrasellüler olarak açığa çıkan serbest radikaller, hücrenin diğer kompartmanları ile reaksiyona girebilmek için ya önce plazma membranını geçmelidir, yada toksik reaksiyonlarını membranda başlatmalıdır. Membranda bulunan fosfolipidler, glikolipidler, gliseridler, steroller gibi doymamış yağ asitleri ve kolay okside olabilen amino asitleri içeren transmembran proteinleri serbest radikal harabiyetine açıktır. Ayrıca, serbest radikallerin başlattığı lipid peroksidasyonu yada yapısal öneme sahip proteinlerin oksidasyonu, transmembran iyon gradientinin bozulmasına, sekretuar fonksiyonların kaybına, ve integra sellüler metabolik olayların inhibisyonuna yol açabilir (3).

Hidrojen peroksit, membranları, hemen hemen su kadar kolay geçebilir. Superoksit radikalini de membranları geçebilir ve transmembran anyon kanalları yolu ile hücre içine ulaşır (23). Fagositoz sırasında,

oksijen kullanımı arttığından oksijenden superoksit ve dolayısıyla hidrojen peroksit açığa çıkışı da artar. Fagositler, bakterileri hem anaerobik hem de aerobik mekanizmalarla öldürür. Ancak, son yıllarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki, superoksit sisteminden gelen reaktif radikaller, bakteriyel membranları harab ederek bakteriyi öldürmektedir. Bakteriyel membranlar, çok düşük konsantrasyonda poliansature yağ asiti (PUFA) içerirler, onun için burada etkili olan radikal, hidrojen peroksitten çok yine superoksit sisteminde oluşan hidroksil radikalidir; çünkü, hidroksil radikali her tip organik molekülle yüksek bir hızda reaksiyona girer (24).

Bu konuda, son zamanlarda dikkatleri çeken bir başka nokta da lipoksijenaz ve siklooksijenaz gibi mikrozomal ve plazma membranına bağlı enzimlerin serbest radikal açığa çıkarmalarıdır. Sözü edilen enzimlerin predominant substratı olan araşidonik asitin biyolojik olarak gücü ürünleri dönüşümü sırasında bu radikaller meydana gelir (3).

Membrana bağlı siklooksijenaz tarafından araşidonik asitin enzimatik oksidasyonu ile bir karbon merkezli serbest radikal açığa çıkar (25). Yine siklooksijenaz katalize ettiği araşidonik asit metabolizması sırasında bir oksijen merkezli radikal meydana gelir ki bu radikalın hidroksil radikali olduğu ve PGG<sub>2</sub> üzerindeki hidroperoksinin parçalanması sonucu açığa çıktığı ileri sürülmektedir (26,27,28). Hidroksil radikali yada diğer radikal türlerinin prostaglandin sentezi sırasında açığa çıkışı siklooksijenazın feedback regulasyonuna yol açabilir, prostaglandin sentezinin hem hızını hem de miktarını module edebilir.

Trombositlerde, tromboksan sentezi, imidazol ve nordihidroguaretik asit gibi radikal temizleyici maddeler tarafından inhibe edilir (29). Lipoksijenaz tarafından açığa çıkarılan peroksitlerin, oksidana duyarlı siklooksijenaz aktivitesinin module etme yeteneğine sahip oldukları bildirilmektedir (30). Bu bilgilere göre, prostaglandinlerin ve tromboksanların biosentezi hemoprotein-, oksijen- ve karbon merkezli serbest radikallerin açığa çıkışı ile sonuçlanır ki sözü edilen radikaller biosentetik enzimlerin kendileri ve diğer hücre komponentleri ile reaksiyona girme yeteneğindedirler.

Serbest radikal kaynaklarının hücreye ve organel yüzeylerine yakınlığı dikkate alınırsa metabolik ürünlerin sitozolik, membran ve ekstrasellüler komponentleri etkileyebilme olasılığı daha da önem kazanır. Ürünün eriyebilirliği ve diffüzyon mesafesi gibi faktörler serbest radikalın etki derecesini belirler. Serbest radikalın reaktivitesi, başlıca diffüzyon mesafesi ile ilişkilidir, örneğin, hidroksil radikalının o derece yüksek reaktivitesi vardır ki yapıldığı hücre bölümünden daha uzağa diffüzyona gerek kalmadan derhal reaksiyona girer. Oysa superoksit radikali, hidroksil radikalından daha az reaktiftir; bu yüzden açığa çıktığı hücre bölü-

münden daha uzak noktalara rahatlıkla diffüze olabilir. Ancak, bu diffüzyon hücre içindeki superoksit dismutazın yüksek konsantrasyonları ile sınırlıdır; böylece, hücre içinde superoksit konsantrasyonu  $10^{-12}$  M arasında tutulur (32). Hidrojen peroksit mitokondrial membranlar, peroksizomal membranlar ve plazma membranından kolaylıkla diffüze olarak toksik etkilerini, açığa çıktığı noktadan daha uzak hücre bölümlerinde güçlü bir şekilde gösterebilir (33).

### Serbest Radikallerin Reaksiyonları

Serbest radikallerin biyolojik reaksiyonlarını genel bir başlık altında incelemek oldukça güçtür çünkü, organizmanın yaşamı boyunca karşılaştığı radikal türleri sürekli değişir. Bilindiği gibi, bir yada birden fazla tek sayılı elektron içeren bu radikaller, hücrede, geçiş metallere oksijen türlerine elektron transferinden açığa çıkarlar. Daha sonra radikal reaksiyon dizileri başlar ki bunlar atom transferlerini içerirler. Hücre içinde bir diğer önemli radikal reaksiyonu, doymamış bağlara radikal eklenmesidir, örneğin yağ asitleri ve aromatik halkalarda olduğu gibi. Serbest radikal reaksiyonları, ilerleyerek hücrenel harabiyetle sonuçlanabilir. Bu tür reaksiyonlar sonsuz olarak sürebildiği gibi serbest radikalleri ortadan kaldıran bir dizileşmelerle sona erdirilebilir. Sözü edilen serbest radikal ortadan kaldıran yada temizleyici bileşiklerin bir kısmı hücrenel bütünlük için temel olan ve etkinlikleri azaldığı takdirde sitotoksositeye yol açabilen bileşiklerdir. Diğer bir grup serbest radikal temizleyiciler antioksidan savunma yapan bileşikler olarak adlandırılır ve serbest radikallerin zararlı etkilerine maruz kalan organizmanın canlılığını sürdürmesine yardımcı olurlar.

#### A. Serbest Radikal Harabiyeti Riski Altındaki Hücrenel Komponentler

1. Proteinler: Doymamış ve sülfür-içeren moleküllerin serbest radikallerle reaktivitesi yüksek olduğu için triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metionin, sistein gibi amino asitleri içeren proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Papain ve gliseraldehit-3-fosfat dehidrogenaz gibi reaktiviteleri için yukardaki amino asitlere bağımlı olan enzimler serbest radikallere maruz kaldıklarında inhibe edileceklerdir (34,35). Sitoplazmik proteinler ve membran proteinleri de okside edici ajanlara maruz kaldıklarında, örneğin ozon, dimerler ve büyük agregatlar oluşur ki inter-protein disülfid oluşumu yada serbest radikal ile amino asit kalıntıları arasında daha irreversible reaksiyonlar nedeni ile sözü edilen yapılar meydana gelir.

Prolin, lizin gibi amino asitler ve protein yapısını oluşturan peptid bağları, indirgenmiş oksijen türevlerinden etkilenebilir; örneğin superoksit radikali, hidroksil radikali, hidrojen peroksit açığa çıkarıcı reak-

siyon ortamında prolin ve lizin hidroksilasyonu non-enzimatik olarak oluşabilir (36).

Proteinlerin, serbest radikal harabiyetinden ne derece etkileneceği amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Proteinin hücresel lokalizasyonuna ve radikalin toksisite gücüne göre protein harabiyetinin boyutları değişebilir.

2. NUKLEİK ASİTLER VE DNA: Radyasyonla hücre içinde enerji depolanması sonucu iyonlar, serbest radikaller ve aktif moleküller meydana gelir. İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon ve ölüme yol açarlar (19). Sitotoksiste, büyük oranda, ya nukleik asit baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine, yada DNA daki diğer bozukluklara bağlıdır (37). Normal metabolizma sırasında ve hiperoksia ve çevresel faktörler, örneğin fotokimyasal hava kirleri etkisiyle açığa çıkmış olan serbest radikallerin yol açtığı hücre ölümüne ve mutasyonlara DNA'nın katıldığı bu tür reaksiyonlarla da bir açıklama getirilmektedir (38).

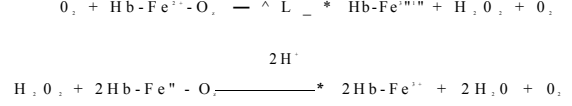
3. Membran Lipidleri: Membran kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları serbest radikallerle reaksiyona girerek peroksidasyon oluştururlar. Bu reaksiyon, otokatalitik olabilir ve lipid peroksit, lipid alkol ve aldehitik yapıda ürünler verebilir.

Lipid peroksidasyonu sırasında, poliansatüre yağ asitleri (PUFAH) hidrojenini kaybeder ve moleküler oksijenle reaksiyona girer. Hücre membranındaki yağ asitlerinin kaybı, lipid peroksitlerin oluşumu ve lipidler tarafından oksijen alımı peroksidasyonun varlığını gösterir.

Plazma membranında ve organelde lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin daha önce sözü edilmiş tüm kaynakları tarafından stimule edilebilir ve metal varlığında peroksidasyonun şiddeti artırılabilir. Bu metaller, redoks katalistleri gibi davranırlar ve superoksit radikali ve hidrojen peroksitin güçlü oksidantlara dönüşümünü katalize ederler (39). Lipid peroksitler de oksijenin serbest radikalleri gibi benzer hücresel komponentler üzerinde toksik etkilerini gösterirler. Lipid radikallerin hidrofobik yapıları nedeni ile reaksiyonların büyük çoğunluğu membrana bağlı moleküller ile meydana gelecektir. Membran yağ asitlerinin peroksidasyonundan sonra ortamda kısa zincirli yağ asitlerinin varlığı membran permeabilitesini ve mikrovizkoziteyi ciddi boyutlarda etkileyebilir.

Lipid peroksidasyon ürünlerinden malondialdehit, membran komponentlerinde çapraz bağlanma ve polimerizasyona yol açarak esneklik, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyi determinantlarının aggregasyon durumu gibi intrinsek membran özelliklerine sahip olduğu için DNA'nın nitrojen bazları ile de reaksiyona girebilir. Bu özellikleri ile malondialdehit, mutajenik, kültür hücreleri için genotoksik ve karsinojeniktir (42).

4. Sitozolik Moleküller: Daha önceki bölümlerde tartışıldığı gibi sitozol proteinleri, sitoplazmik serbest radikaller etkisiyle değişime uğrarlar. Hemoproteinler, örneğin oksihemoglobin, superoksit radikallerinin yada hidrojen peroksitin demirle reaksiyonu sonucu methemoglobine dönüşür (43).



Yukardaki reaksiyonlar göstermektedir ki hemoproteinlerin geniş bir spektrumu, oksijen türevi serbest radikaller tarafından harab edilebilir. Bir diğer önemli stoplazmik hemoprotein olan katalaz, superoksit radikali tarafından inhibe edilir (44). Superoksit, katalazı inaktif şekilleri olan ferrokso (Compound III) ve ferril (CompoundII) formlarına dönüştürür.

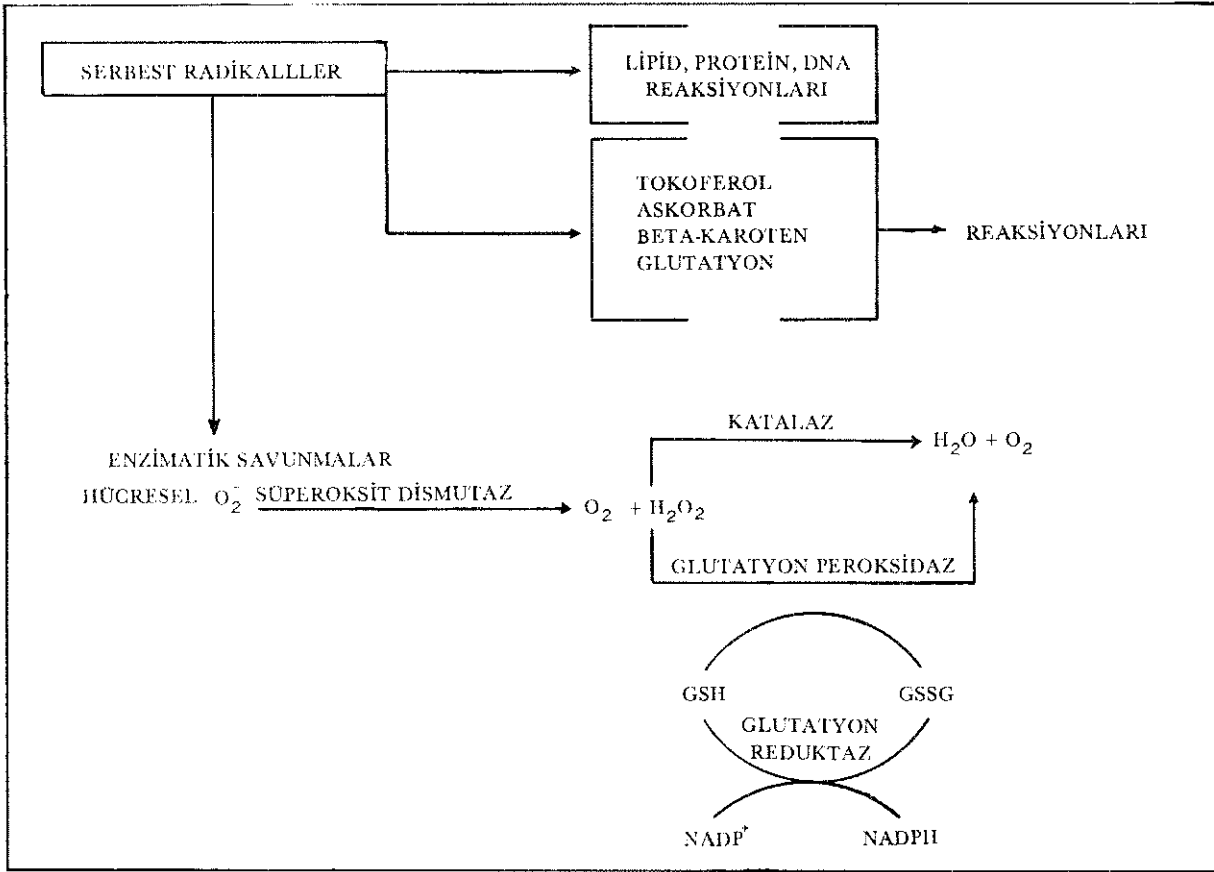
Superoksitin dismutasyon ürünü olan hidrojen peroksit, CuZn-Superoksit dismutaz enzimini, Cu<sup>2+</sup>'i Cu<sup>+</sup>'e indirgeyerek ve daha sonra oluşturarak inhibe edebilir (45).

Yukarda iki örneği verilen protein harabiyeti oksijen türlerinin metal bağlarla direkt reaksiyonu sonucu beliren harabiyeti göstermektedir.

#### B. Ekstrasellüler Etkiler

Serbest radikaller, inflamatuvar cevabı ve ardından gelen doku harabiyetini modüle etmede önemli rol oynarlar. İnflamatuvar hücre kaynaklı serbest radikallerin oluşturduğu harabiyetten en çok etkilenen ekstrasellüler doku komponentleri kollajen ve hyaluronik asittir (46). Kollajen, superoksit radikalinin jelasyonu engellemesi sonucu harab olur. Superoksit radikalinin jelasyonu engellemesi sonucu harab olur. Superoksit dismutaz, eriyebilir kollajeni superoksit radikallerinin jelasyonu inhibe edici etkilerinden korur. Eklemden, sinovial sıvının viskozitesini sağlayan hyaluronik asit, superoksit radikali tarafından depolamierize edilebilir; radikalleri ortadan kaldırıcı enzimler söz konusu depolarimazyona engel olurlar (47,48). Ekstrasellüler sıvılar çok az miktarda superoksit dismutaz içerdiğinden indirgenmiş oksijen türlerinin eser miktarları bile bu kompartmanda büyük harabiyete yol açabilir.

Aktive olmuş inflamatuvar hücrelerde meydana gelen superoksit ve diğer oksijen türevleri bir plazma komponenti ile reaksiyona girerek ilerde inflamatuvar hücre infiltrasyonuna neden olacak kemotaktik faktör yada faktörlerin açığa çıkmasını sağlar. Bu plazma faktörünün lökositlerden açığa çıkışı superoksit tarafından inhibe edilebilir (49). Öte yandan, superoksit dismutaz, pasif Arthus reaksiyonu, lökositte bağlı



Şekil-1. Serbest radikal savunma mekanizmaları

akciğer kapiller endotelial hücre harabiyeti ve pulmoner ödem inhibisyonları gibi değişik şekillerde anti-inflamatuar etki gösterebilir (50,51).

#### Serbest Radikallerin Harabiyetine Karşı Hücrel Savunma

Oksijen türevlerine karşı savunma sağlayan küçük moleküller ve enzim sistemleri serbest radikallerin düşük steady-state konsantrasyonlarda kalmalarını sağlar. Bu savunma mekanizmalarının aerobik hücrelerin canlılığını sürdürmede ne derece kritik bir öneme sahip oldukları çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (1, 52,53). Sözü edilen hücrel savunmada rol oynayan küçük moleküller ve enzimlere aşağıdaki örnekler verilebilir (Şekil 1).

##### A. Düşük Molekül Ağırlıklı Serbest Radikal Temizleyiciler

1.Lipidde Eriyebilir Olanlar: Bir dizi molekül, membranda, lipofilik serbest radikalleri daha az toksik forma indirger. Vitamin E superoksit, hidroksil ve lipid peroksi radikallerini bu şekilde etkiler (54). Benzer şekilde askorbat, suda çözünebilir bir redüktan ve

radikal temizleyici olup ayrıca tokoferolleri indirgenmiş aktif formda tutar (55). Yine beta-karoten de lipid peroksidasyonunu önler ve radikalleri ortadan kaldırır. Şekerler, doymamış amino asitler, sülfür-içeren amino asitler, doymamış yağ asitleri de serbest radikallerle reaksiyona girerler ve bu nedenle hücrede serbest radikalleri temizleyici moleküller olarak kabul edilirler.

2,Sitoplazmik Temizleyiciler: Glutasyon (GSH), hidrojen peroksiti, lipid peroksitleri, disülfidleri, askorbat ve serbest radikalleri indirgeyebilir (Şekil 1). Glutasyon peroksidazlar adı altında bir grup enzim peroksit redüksiyonunu katalize eder. Bu enzimler, selenyum kapsamları, fiziksel özellikleri ve substrat özgüllüğü bakımından hem-içeren peroksidazlardan farklılık gösterirler (56). Glutasyonun peroksitlerle ve disülfidlerle reaksiyonundan Glutasyon disülfid (GSSG) oluşur. Glutasyon redüktaz, kofaktör olarak NADPH'ı kullanarak disülfidleri indirger; onun için, hücrel serbest radikal stresinin bir sekonder göstergesi de GSSG redüksiyonu için gerekli olan NADPH'ın depleksiyonudur. Hücrel transhidrojenazlar, NADH ve NADPH'ı dengede tutmaya çalışır; bir serbest radikal

stresi durumunda, hücre içindeki bütün indirgenmiş piridin nukleotidlerinin konsantrasyonu belirgin olarak azalır ve bu nedenle birçok metabolik olayın integrasyonu bozulur (57).

Hücrel oksidan stresin bir diğer göstergesi intrasellüler GSSG'in yükselen konsantrasyonudur ki bu bileşik tiol-içeren proteinlerin konformasyon ve aktivitesi üzerine zararlı etkilerde bulunabilir. Okside glutatyonun (GSSG) eritrosit dışına aktif transportu glutatyon oksidanları ile ilgili olup organizmadaki pek çok hücrenin eritrositler gibi GSSG'i temizleyici mekanizmalara sahip oldukları birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (58,59).

Plazmada yaklaşık 300uM kadar bulunan ürik asit, hemoglobini peroksit oksidasyonundan ve eritrositleri de lipid peroksidasyonundan korur; bu özellikleri ile urat, serbest radikal temizleyicisi olarak kabul edilebilir (3).

#### B. Enzimatik Serbest Radikal Temizleyiciler

Katalaz ve peroksidazlar hidrojen peroksitin steady-state konsantrasyonunu düşürmeye yardım ettikleri için serbest radikal temizleyicileri olarak kabul edilirler. Böylece, hidrojen peroksitin sitotoksik gücü büyük ölçüde intrasellüler katalaz ve peroksidaz aktivitelerinin ve hidrojen peroksiti hidroksil radikaline indirgeyebilen geçiş metallere bir fonksiyonu olmaktadır. Katalaz ve glutatyon peroksidazların sub-

sellüler aktivite farkları henüz tanımlanmamış olmakla birlikte perosizomların yüksek katalaz aktivitesine sahip oldukları bilinmektedir.

Superoksit dismutazlar, superoksit radikalini hidrojen peroksite dönüştüren dismutasyon reaksiyonunda etkili metalloprotein yapısında enzimlerdir. Memeli hücrelerinde, bakır-çinko ve mangan içeren iki ayrı tipte enzim belirlenmiştir (1). Subsellüler dağılım hücre tipine, organa ve memeli türüne göre farklılık gösterebilir. Plazmada düşük aktiviteli superoksit dismutaz bulunduğu ileri sürülmüştür (60). Genel olarak, superoksit dismutaz enzim sistemi, antagonistik olmaktan çok, organizmayı serbest radikal harabiyetine karşı koruyucu bir sistemdir (53). Organizmada oksidan stresin arttığı bazı klinik durumlarda adı geçen enzim sistemi, aktivitesini artırarak koruyucu etkinliğini sürdürmeye çalışır. Özellikle diğer enzimatik radikal temizleyicilerin aktivitelerinde azalmanın söz konusu olduğu klinik durumlarda superoksit dismutaz aktivitesinin arttığı çeşitli araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (61,62,63). Superoksit dismutazın koruyucu etkinliği, klinik çalışmalara yeni ufuklar açmıştır. Gerek çeşitli hastalıkların patogenezinde serbest radikallerin yeri, gerekse superoksit dismutazın bu hastalıklarda profilaktik ve terapötik olarak kullanımı son yıllarda birçok çalışmanın en popüler konuları arasında girmiştir (48, 64-48). Bu çalışmalara ait ayrıntılı bilgiler bir sonraki derlememizde verilmeye çalışılacaktır.

#### KAYNAKLAR

1. Fridovich I: superoxide dismutases. *Annu Rev Biochem* 44:147, 1975.
2. Nohl H, Jordan W, Ilegner D: identification of free hydroxyl radicals in respiring heart mitochondria by spin trapping with the nitron DMPO. *FEBS Lett* 123: 241, 1981.
3. Freeman BA, Crapo JD: Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 47, 5:412, 1982.
4. Kalyanaraman B, Perez-Reyes E, Mason RP: Spin trapping and direct electron spin resonance investigations of the redox metabolism of quinone anti-cancer drugs. *Biochim Biophys Acta* 630: 119, 1980.
5. Mason RP, Chingnell CF: Free radicals in pharmacology and toxicology *pharmacol Rev* 33: 189, 1982.
6. Baccanari DP: Coupled oxidation of NADPH with thiols at neutral pH. *Arch Biochem Biohys* 191:351, 1982.
7. McCord JM, Fridovich I: The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. *J Biol Chem* 245: 1374, 1970.
8. Misra IIP, Fridovich I: The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a single assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 247: 2170, 1972.
9. Ballou D, Palmer G, Massey V: Direct demonstration of superoxide anion in the autoxidation of reduced flavin and of its catalytic decomposition by erythrocyte. *Biochem Biophys Res Commun* 36: 898, 1969.
10. Fisher DB, Kaufman S: Tetrahydropterin oxidation without hydroxylation catalyzed by rat liver phenylalanine hydroxylase. *J Biol Chem* 248: 4300, 1973.
11. Fridovich I: (Quantitative aspect of production of superoxide anion radical by milk xanthine oxidase. *J. Biol Chem* 245:4035, 1970.
12. Ray RS, Mc Cord JM: Ischemia-induced conversion of xanthine dehydrogenase to xanthine oxidase. *Fed Proc* 41:767, 1982.
13. Jensen PK: Antimycin insensitive oxidation of succinate and reduced nicotinamide adenine dinucleotide in electron transport particles. *Biochim Biophys Acta* 122, 157, 1966.
14. Dionisi O, Galeotti T, Terranova T, Azzi A: Superoxide radicals and hydrogen peroxide formation in normal and neoplastic tissues. *Biochim Biophys Acta* 403: 292, 1975.

15. Turrens JF, Freeman BA, Levitt JG, Crapo JD: The effect of hyperoxia on superoxide production by lung submitochondrial particles. *Arch Biochem Biophys* 217:401, 1982.
16. Chance B, William GR: The respiratory chain and oxidative phosphorylation. *Adv Enzymol* 17:65, 1956.
17. Boveris A: Mitochondrial generation of superoxide and hydrogen peroxide. *Adv Exp Biol Med* 78: 67, 1977.
18. McCord JM, Day ED: Superoxide-dependent production of hydroxyl radical catalyzed by iron EDTA complex. *FEBS Lett* 86: 139, 1978.
19. Ward JF: Molecular mechanisms of radiation-induced damage to nucleic acids. *Adv Radiat Biol* 5:181, 1977.
20. Aust SD, Roering DL: Evidence for superoxide generation by NADPH-cytochrome c reductase of rat liver microsomes. *Biochem Biophys Res Commun* 47:1133, 1972.
21. Capdevila J, Parhill L, Chacos N: The oxidative metabolism of arachidonic acid by purified cytochromes P450<sup>b5</sup>. *Biochem Biophys Res Commun* 101: 1357, 1981.
22. Masters C, Holmes R: Peroxisomes: A new aspect of cell physiology and biochemistry. *Physiol Rev* 58: 816, 1977.
23. Kellog EW, Fridovich I: Liposome oxidation and erythrocyte lysis by enzymatically generated superoxide and hydrogen peroxide. *J. Biol Chem* 252: 6721, 1977.
24. Weiss SJ, LoBuglio AF: Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Lab Invest* 47:5, 1982.
25. Mason RP, Kalvanaraman B, Tainer BE, Eling TE: A carbon-centered free radical intermediate in the prostaglandin synthetase oxidation of arachidonic acid: spin trapping and oxygen uptake studies. *J Biol Chem* 256: 5019, 1980.
26. Egan RW, Paxton J, Kuehl FA: Mechanism for irreversible selfdeactivation of prostaglandin synthetase. *J Biol Chem* 251: 7329, 1976.
27. Nobuchika O, Ohki S, Yamamoto S, Hayaishi O: Prostaglandin endoperoxide synthetase from bovine vesicular gland microsomes: inactivation and activation by heme and other metal porphyrins. *J. Biol Chem* 253: 5061, 1978.
28. Kalyanaraman B: Mason RP, Tainer B, Eling TE: The free radical formed during the hydroperoxide-mediated deactivation of rat seminal vesicles is hemoprotein-derived. *J Biol Chem* 257:4764, 1982.
29. Salvador M, Bungting S, Mullane K: Imidazole: a selective inhibitor of thromboxane synthetase. *Prostaglandins* 13:611, 1977.
30. Hamlek ME, Cook HW, Lands WEM: Prostaglandin biosynthesis can be triggered by lipid peroxides. *Arch Biochem Biophys* 193:340, 1979.
31. Tyler DD: Polarographic assay and intracellular distribution of superoxide dismutase in rat liver. *Biochem J* 147: 793, 1975.
32. Oshino N, Chance B, Sies H, Bucher T: The role of hydrogen peroxide generation in perfused rat liver and the reaction of catalase Compound I and hydrogen donors. *Arch Biochem Biophys* 154:117, 1973.
33. Turrens JF, Freeman BA, Crapo JD: Hyperoxia increases hydrogen peroxide release by lung mitochondria and microsomes. *Arch Biochem Biophys* 217:411, 1982.
34. Buchanan JD, Armstrong DA: The radiolysis of glyceraldehyde-3-phosphata dehydrogenase. *Int J Radiat Biol* 33:409, 1978.
35. Lin WS, Armstrong DA: Effects of superoxide dismutase, dithiothreitol and formate ion on the inactivation of papain by hydroxyl and superoxide radicals in aerated solutions. *IntJ Radiat Biol* 33:231, 1978.
36. Trelstadt RL, Lawley KR, Holmes LB: Nonenzymatic hydroxylations of proline and lysine by reduced oxygen derivatives. *Nature* 289:310, 1981.
37. Ward JF: Symposium on radical processes in radiobiology and carcinogenesis. *Radiat Res* 86:185, 1981.
38. Zelac RE, Cromroy HL, Bolch WE, Danavant BG: Inhaled ozone as a mutagen. I. Chromosome aberration induced in Chinese hamster lymphocytes. *Environ Res* 4:262, 1982.
39. Svingen BA, Buege JA, O'Neal FA, Aust SD: The mechanism of NADPH-dependent lipid peroxidation: The propagation of lipid peroxidation. *J Biol Chem* 254: 5892, 1979.
40. Hochstein P, Jain SK: Association of lipid peroxidation and polymerization of membrane proteins with erythrocyte aging. *Fed Proc* 40:183, 1981.
41. Nielsen H: Covalent binding of peroxidized phospholipid to protein. III. Reaction of individual phospholipids with different proteins. *Lipids* 16:215, 1981.
42. Mukai FH, Goldstein BD: Mutagenicity of malondialdehyde: a decomposition product of polyunsaturated fatty acids. *Science* 191:868, 1976.
43. Weiss SJ: Neutrophil-mediated methemoglobin formation in the erythrocyte: The role of superoxide and hydrogen peroxide. *J. Biol Chem* 257: 2497, 1982.
44. Kono Y, Fridovich I: Superoxide radical inhibits catalase. *J Biol Chem* 257:5751, 1982.
45. Hodgson EK, Fridovich I: The interaction of bovine erythrocyte superoxide dismutase with hydrogen peroxide: inactivation of the enzyme. *Biochemistry* 14: 5294, 1975.
46. Greenwald RW, Moy WW, Lazarus D: Degradation of cartilage proteoglycans and collagen by superoxide radicals. *Arthritis Rheum* 19: 799, 1976.
47. Greenwald RW, Moy WW: Effect of oxygen derived free radicals on hyaluronic acid. *Arthritis Rheum* 23:455, 1980.
48. McCord JM: Free radicals and inflammation: protection of synovial fluid by superoxide dismutase. *Science* 185: 529-531, 1974.
49. McCord JM, Wong K, Stokes S, Petrone W, English D: Superoxide and inflammation: a mechanism for the anti-inflammatory activity of superoxide dismutase. *Acta Physiol Scand* 492:25, 1980.

53. McCormick JR, Harkin MM, Johnson KJ, Ward PA: Suppression by superoxide dismutase of immune complex-induced pulmonary alveolitis and dermal inflammation. *A m J Pathol* 102:55, 1981.
51. Sacks T, Moldow CF, Craddock PR, Bowers TK, Jacobs HS: Oxygen radicals mediate immune vascular damage. *J Clin Invest* 63:1163, 1978.
52. Chance B, Sies II, Bovaris A: Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 59: 527, 1979.
53. Gregory EM, Fridovich I: Oxygen toxicity and the superoxide dismutase. *J Bacteriol* 114:1193, 1973.
54. Nishikimi M, Yamada II, Yagi K: Oxidation by superoxide of tocopherols dispersed in aqueous media with deoxycholate. *Biochim Biophys Acta* 627:101, 1980.
55. Tappel AL: Vitamin E as the biological lipid antioxidant. *Vitam Ilorm* 20: 493, 1969.
56. McCay PB, Gibson DI, Fong KL, Hornbrook KR: Effect of glutathione peroxidase activity on lipid peroxidation in biological membranes. *Biochim Biophys Acta* 431:459, 1976.
57. Chance B, Jamieson D, Coles II: Energy linked pyridine nucleotide reduction: inhibitory effect of hyperbaric oxygen in vitro and in vivo. *Nature* 206:257, 1965.
58. Srivistava SK, Beutler E: The transport of oxidized glutathione from erythrocytes of various species in the presence of chromate. *Biochem J* 833, 1969.
59. Sies II, Summer KII: Hydroperoxide metabolizing systems in rat liver. *EurJ Biochem* 57:503, 1975.
60. Marklund S: Distribution of CuZn-superoxide dismutase and Mn-superoxide dismutase in human tissues and extracellular fluids. *Acta physilo Scand* 492: 19, 1980.
61. Panchenko LF, et al: Superoxide dismutase activity in the blood of children with iron deficiency anemia. *Vopr Med Khim* 25(2): 181-185, 1979.
62. Ozelci G: The red cell superoxide dismutase activity in iron deficiency anemia. *Ankara Tip Bulteni* 6:4, 255-264, 1984.
63. Jansson LT, Perkkio M, Wayne W: Red cell superoxide dismutase is increased in iron deficiency anemia. *Acta haemat* 74: 218-221, 1985.
64. DelMaestro RF, Thaw HH, Bjork J: Free radicals as mediators of tissue injury. *Acta Physiol Scand Suppl* 492: 43-57, 1980.
65. Oberley LW, Buettner GR: Role of superoxide dismutase in cancer: a review. *Cancer Res* 39:1141-1149, 1979.
66. Paschen W, et al: Superoxide dismutase activity in experimental focal cerebral ischemia. *Exp Neurol* 90 (3): 611, 1985.
67. Abdalla SP, Monteiro H, Oliveria J, Bachara E: Activities of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in schizophrenic and manic-depressive patients. *ClinChem* 32/5, 805-807, 1986.
68. Thaete LG, Crouch RK, Buse MG, Spicer SS: The protective role of CuZn-superoxide dismutase against alloxan-induced diabetes: morphological aspects. *Diabetologia* 28:677-682, 1985.