

Glutasyon Metabolizması ve Klinik Önemi

GLUTATION METABOLISM AND CLINICAL IMPORTANCE

Dildar KONUKOĞLU*, Tülay AKÇAY"

* Uz.Dr.İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya ABD,
- Prof.Dr.İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyokimya ABD, İSTANBUL

ÖZET

Glutasyon, tüm memeli hücrelerinde milimolar konsantrasyonlarda bulunur ve aminoasid transportu, proteinlerin sulfidril gruplarının redükte kalmasını sürdürme ve okside edici moleküllere ve elektrolitik ksenobiyotiklere karşı korunmayı içeren çeşitli hücrese fonksiyonları bulunmaktadır.

Glutamik asid, sistein ve glisin aminoasidinden oluşmuş bir tripeptit'dir. Redükte ve Okside olmak üzere iki formu vardır. Glutasyon redüktaz okside glutasyonun redüksiyonunu sağlar.

Yazımızda Glutasyonun yapısını ve klinik özelliklerini ele aldık.

Anahtar Kelimeler: Glutasyon, Glutasyon redüktaz, Glutasyon peroksidaz. Antioksidanlar

T Klin Tıp Bilimleri 1995. 15: 214-218

GLUTATYON

Glutasyon (GSH); glutamik asid sistein ve glisinden oluşan, intraselüler konsantrasyonu daha (azla) olan bir tripeptittir. Önemli bir indirgeyici ajan ve antioksidan olan glutasyon, hücrenin oksido-redüksiyon dengesini sürdürüp hücreleri endojen ve ekzojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden korumaktadır (1,2). Proteinlerdeki SH gruplarının korunması ve bazı reaksiyonlarda koenzim olarak görev almasının yanı sıra amino asitlerin transportunda, protein ve DNA sentezinde de önemli rol oynar (3).

Glutasyon dokularda birbiriyle dengede bulunan, indirgenmiş glutasyon (GSH) ve okside glutasyon

Geliş Tarihi: 12.08.1994

Yazışma Adresi: Dildar KONUKOĞLU
Fatih Sitesi B4 Blok
Daire 5 Silivrikapı-Fauh,
İSTANBUL

SUMMARY

Glutathione is present in all mammalian cells at milimolar concentrations and serves several cellular functions including aminoacid transport, maintenance of protein sulfhydryls reduction status, and as defense against oxidizing molecules and electrophilic xenobiotics. Glutathione is a tripeptit composed of glutamic acid, cystein and giysin, and has oxidized and reduced forms. Glutathione reductase reduces oxidized glutathione.

This paper was written on structure and clinical importance of glutathione.

Key Words: Glutathione, Glutathione peroxidase, Glutathione reductase, Antioxidants

T Klin J Med Sci 1995, 15: 214-218

(GSSG) olmak üzere iki şekilde bulunur. İntraselüler GSH, selenyum içeren glutasyon peroksidaz enzimi ile GSSG dönüştürülür (4).

Bu yazımızda glutasyonun metabolizmasını ve klinik önemini gözden geçirdik.

Glutasyon Metabolizması

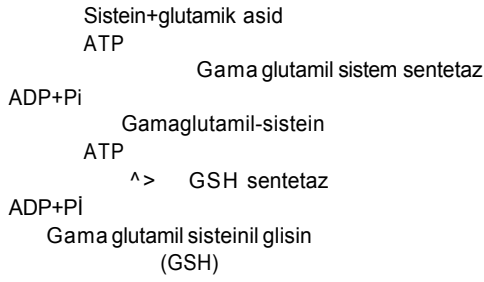
Glutasyon sentezi 2 enzim ile gerçekleşir. Gama glutamil sistein sentetaz sentezin ile basamağını kataliz.

Mg²⁺

Glutamat+sistein+ATP - Gama glutamil sistein+ADP+Pi

2. basamak glutasyon sentetaz ile gama glutamil-sisteinilgliserin (Glutasyon, GSH) gama glutamil sistein+

glisin+ATP , gama glutamil sisteinil gliserin +ADP+Pi



Şekil 1. Glutasyon sentezinin şematik gösterimi.

Glutasyon kompetitif olarak gama glutamilsistein sentetazi inhibe eder ki bu nonallosterik feedback inhibisyonudur (5) (Şekil 1).

Gama glutamil transpeptidaz membran bağlı transpeptidaz olup, glutasyonun hem kullanımında, hem de yıkımında rol oynamaktadır. Enzim 3 tip reaksiyonu katalizlemektedir.

- a) Transpeptidasyon; gama glutamil kalıntısının bir akseptöre transferi
- b) Ototranspeptidasyon; gama glutamil kalıntısı GSH'a transfer ederek gama glutamil GSH oluşumunu sağlama.
- c) Hidroliz; alfa glutamil kalıntısının hidrolizi.

Glutasyon intrasellüler olarak sentez edilir. Aminoasidlerini varlığında gama glutamil transpeptidaz tarafından katalizlenen reaksiyonlar meydana gelir ve sonuçta gama glutamil amino asidler oluşur. Sistein en önemli gama glutamil grubunu alan amino asiddir. Bu reaksiyon metionin ve glutamin gibi aminoasidlerle de çok aktiftir. Gama glutamil amino asidler hücre içine taşınır ve gama glutamil siklotransferaz ile 5 oxoprolin ve amino asidi oluşturur. 5 oxoprolin, 5 oxoprolinazın katalizlediği reaksiyonla glutamata dönüşür. Hücre içine alınan sisteinil-glisin, membran bağlı bir dipeptidaz tara-

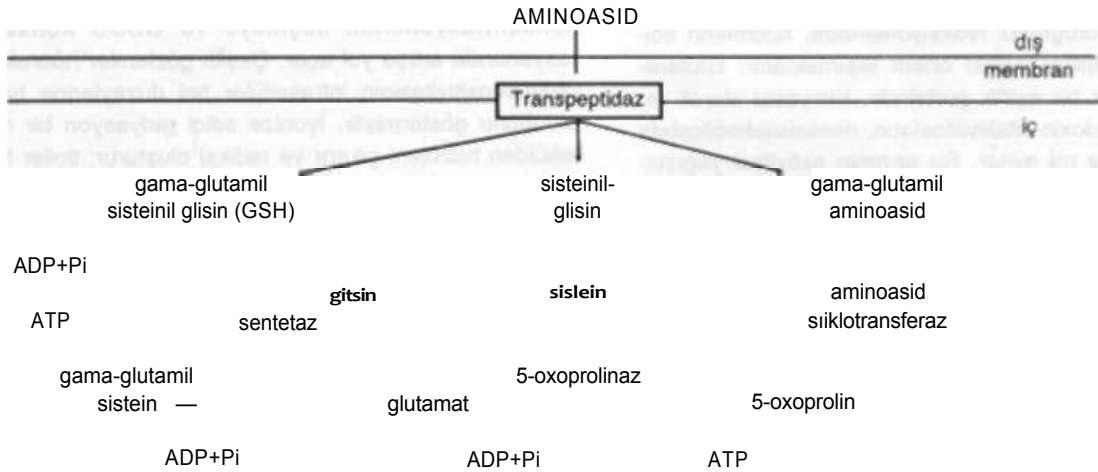
findan sistein ve glisin aminoasidlerini oluşturur. Sentez reaksiyonlarıyla sırasıyla gama glutamil sistein ve gama glutamil-sisteinil-glisin (glutasyon, GSH) oluşur ve oluşan glutasyon gama glutamil transpeptidaz ile hücre dışına taşınır. Bu reaksiyonların tümüne birden gama glutamil siklusu denir. Bu siklus sırasında 3 ATP yüksek enerjili fosfat bileşiği olarak kullanılarak 3 ADP + 3 Pi oluşur (7) (Şekil 2).

Intrasellüler GSH, selenyum içeren GSH peroksidaz tarafından okside glutatona (GSSH) dönüştürülür. Bu enzim aynı zamanda hidrojen peroksidini (H_2O_2) ve diğer peroksidlerin indirgenmesinde katalizler (8). Glutasyon peroksidazın (glutasyon: H_2O_2 oksiredüktaz GSHPx) substrat spesifikliğine bağlı olarak iki tipi tanımlanmıştır. Selenyum bağımsız GSHPx'in etkisi hidrojen peroksid dışındaki organik hidroperoksidler üzerinedir (9,10,11). Selenyum bağımlı enzim ise ayrıca hidrojen peroksid üzerine etkilidir (12). Eritrositlerde (GSH ve GSH peroksidaz varlığında) H_2O_2 'nin redüksiyonu; GSSG redüktaz aktivitesi için gerekli olan NADPH'ları sağlayan pentoz fosfat yoluyla ilişkilidir (13). Bu önemli reaksiyonlar membran lipitlerini oksidasyona karşı korumaktadır. Biyolojik sistemlerde, superoksid radikali ve H_2O_2 ara madde olarak oluşmaktadır. Bu maddeler organik peroksid oluşumuna yol açarak, reaktif oksijen türlerini meydana getirir. Bu olay da GSSG sentezini ve salınımını artırır (14) (Şekil 3).

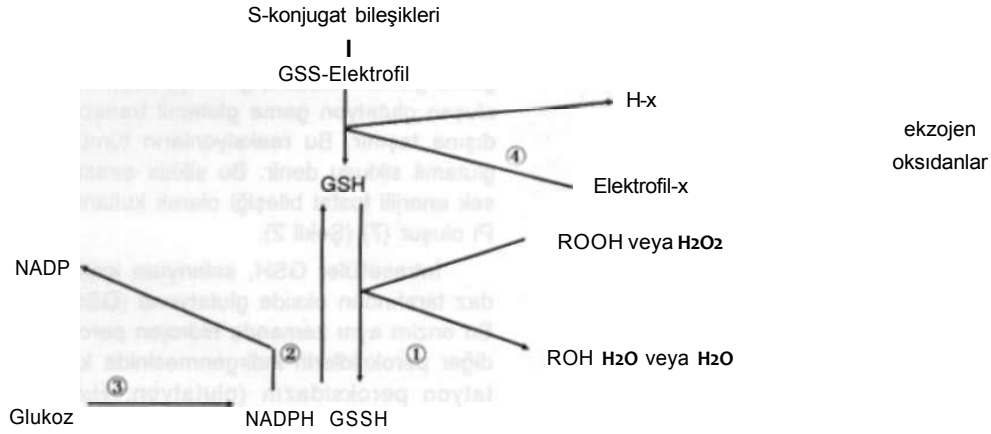
GSH peroksidaz, aynı zamanda prostaglandinlerin sentezinde ve prostasiklin oluşumunun regülasyonunda da fonksiyon görmektedir ve bu fonksiyonu da prostaglandin H sentetaz aktivitesini düzenleyerek yapar (15).

GLUTATYONUN FONKSİYONLARI

I. Amino asid transportu: Gama-glutamil siklusu hücre membranında, gama-glutamil transpeptidazların etkisi ile intrasellüler glutasyon ve ekstrasellüler aminoasidin gama-glutamil aminoasidini oluşturarak, ami-



Şekil 2. Gama-glutamil siklusu.



Şekil 3. Eritrosit glutatyonun antioksidan işlevi ve petnoz fosfat yolu ile ilişkisi.

1. Glutatyon peroksidaz, 2. Glutatyon reduktaz, 3. Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz, 4. Glutatyon S-transferaz.

noasidin hücre içine taşınmasına olanak sağlamaktadır (6). Böbrekte GSH düzeyi, gama-glutamil sistein sentezinin GSH tarafından feed back inhibisyonu ile düzenlenir. Gama-glutamil sistein veya gama-glutamil-sistein disülfidin farelere verilmesi sonucunda böbrek GSH düzeylerinin arttığı bildirilmiştir. Ekstrasellüler GSH, gama-glutamil sistein transportunu inhibe ederken, intrasellüler GSH, gama-glutamil sistein-sentetaz tarafından sisteinin kullanımını engeller. Bu olay GSH'ın sentez ve transportunun düzenlenmesinde fonksiyon görmektedir (16).

II. Tiol-disülfid etkileşimi: Bazı metabolik ve fizyolojik fonksiyonlar tiol-disülfid değişimini gerektirmektedir. Örneğin proteinlerin sentezi ve yıkımı, enzimlerin aktivasyonu ve inaktivasyonu, DNA sentezi için gerekli deoksiriboz gibi ara metabolitlerinin sentezi.

GSH intrasellüler konsantrasyonu hayli fazla olan bir tiol'dür. Glutatyon transhidrogenaz aktivitesi dokularda yaygın olarak görülmektedir. Tiol-disülfid etkileşim reaksiyonlarına en iyi örnek GSH-insülin transhidrogenaz olup insülinin katabolizmasında rol oynamaktadır (17). Transhidrogenaz reaksiyonlarında, hücrelerin tiol-disülfid konsantrasyonları önem taşımaktadır. Glutaredoxin spesifik bir asidik proteindir. Kimyasal olarak redukte glutaredoxin sitidindifosfatın, deoksisitidindifosfata dönüşümünde rol oynar. Bu enzimin aktivitesi yapısında bulunan, GSH ve GSSG reduktaz tarafından bir ditiol indirgenen basit bir disülfid köprüsü ile birleşen sistin kalıntılarına bağlıdır (17).

III. Glutatyon konjugatları: Glutatyon konjugatlarının oluşumunda etkili olan enzim glutatyon S transferazdır. R.H. rıpk?>Elo Kaz.' >V>flk<-vr etkvsf dçismuan ve detoksifikasyon açısından önem taşır (18). Elektrofilik bir merkez taşıyan bileşikler GSH ile konjugat oluşturabilir. GSH konjugatları tipik olarak gama-glutamin transpeptidazın etkili olduğu bir seri reaksiyonla merkapturik asitlere dönüştürülür (19). Bı- eaksiyonlarda

konjugatın gama-glutamil kalıntısı bir akseptöre aktarılır; oluşan sistein glisin konjugatı, dipeptidaz etkisiyle N-asetil-sistein konjugatı (bir merkapturik asid) oluşturmak üzere N-asetil sistein konjugatına dönüşür.

GSH-transferaz ayrıca etanol metabolizmasında da görev alır (20) ve fenobarbital türü ilaç tarafından enzimin indüksiyonu yapılır. GSH-prostaglandin konjugatları prostaglandin metabolizmasında önem taşımaktadır (15).

IV. Koenzim fonksiyonları: Bu reaksiyonlar şöyle sıralanabilir.

- Glioksilaz reaksiyonu (21).
- Maleil asetoasetadın fumaril asetoasetada sistrans izomerizasyonu (22).
- Formaldehid dehidrogenaz reaksiyonu (23).

V. Radyoaktivite: Yapılan araştırmalarda tiollerin çok kolay okside olabildikleri ve radyasyonun hücrelerdeki tiol gruplarını hızlı bir şekilde iyonize ettiği ortaya konulmuştur (24,25). Radyasyon, hücrenin GSH konsantrasyonunda düşmeye ve GSSG konsantrasyonunda artışa yol açar. Çeşitli gözlemler hücrelerin radyosensitivitesinin intrasellüler tiol düzeylerine bağlı olduğunu göstermiştir. İyonize edici radyasyon bir molekülden hidrojeni çıkarır ve radikal oluşturur; tioller hidrojeni tekrar radikale kazandırarak toksisiteyi azaltır (25).

GLUTATYON VE KLİNİK ÖNEMİ

Oksijen radikalleri reversibl veya irreversibl olarak nümmk asia'aVer, protein ve serbest amino asitler, lipidler ve lipoproteinler karbonhidratlar ve bağ dokusu molekülleri üzerinde zararlı etkiler oluştururlar. Süperoksid radikalının ve hidrojen peroksidin konsantrasyonundan artış doğrudan hücre harabiyet yapar. Bunun sonucunda redukte NAD, GSH ve ATP kon-

santrasyonundaki düşmeler hasarın büyümesine yol açar (26). Vücutta normal metabolizma sonucu oluşan süperoksit radikali ve H_2O_2 , süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz enzimleri kullanılarak ortadan kaldırılırlar (27). Bu reaksiyonda GSH, glutatyon peroksidaz etkisiyle GSSG'ya dönüşür ve GSSG'da glutatyon redüktaz tarafından tekrar GSH'ı oluşturur (28).

GSH ve karsinogenesis arasında potansiyel o/arak önemli ilişkilere dikkat çekilmiştir (29,30). Bazı karsinogen uygulamalarını GSH ve gama glutamili transpeptidaz düzeyini yükselttiğini göstermiştir ve GSH'ın tümör hücre popülasyonunda heterojen bir dağılım gösterdiği ileri sürülmüştür (30). Bazı araştırmacılar tarafından da GSH düzeyindeki düşmelerin ilaca duyarlılığı artırdığı ileri sürülmüştür (32,33).

Glutatyon metabolizması ile heksozmonofosfat şantının ilişkili olması nedeniyle diyabet çalışmalarında glutatyon metabolizması ele alınmıştır (34,35,36). Diyabetik hastalarda glukoz 6-fosfat dehidrogenazın aktivitesindeki azalmaya bağlı olarak eritrositlerdeki GSSG'nin GSH'a dönüşümünde düşme saptanmıştır.

Glutatyon redoks sisteminin tüm komponentlerinin aktivitesinin yaşlanma ile azalma gösterdiği hayvan eritrositlerinde (37,38) ve insanda gösterilmiştir (39).

Glutatyon metabolizması ile ilgili enzimlerden eksikliği bildirilen en önemli enzim orta dereceli kronik hemolitik anemiye neden olan glutatyon transferraz eksikliğidir. Bu kişilerde 8-aminokinolinlere ve diğer oksidan maddelere maruz kaldıklarında akut hemolitik krizin oluştuğu gözlenmiştir (37). Diğer bir tip GSH transferaz eksikliği 5-oxoprolinuri olarak bilinmekte ve zeka geriliği, yaygın kas zayıflığı, tremor ve metabolik oksidazdan oluşan bir klinik tablo göstermektedir (41). Her iki hastalık tipinde transferaz enzim eksikliği sonucunda GSH konsantrasyonunda düşme söz konusudur. Gama-glutamil sistein sentataz eksikliğinde de orta dereceli hemolitik anemi geliştiği bildirilmiştir (42).

Deneyisel çalışmalarda hayvanlarda oluşturulan GSH eksikliğinin askorbat sentezini bozduğu ileri sürülmüş (43,44) ve GSH'ın, askorbatın dehidroaskorbata dönüşünü inhibe ettiği gösterilmiştir (45).

KAYNAKLAR

1. Mitchel JB and Russol. The role of glutathione in radiation and drug induced cytotoxicity. *BJ Cancer* 1987; 55:96-104.
2. Compoti M. Glutathione depleting agents and lipid peroxidation in the aging rat. *Com Biochem Phys* 1987; 88:177-180.
3. Ziegler DM. Role of reversible oxidation-reduction of enzyme thiols-disulfides in metabolic regulation. *Ann Rew Biochem* 1985; 54:305-2229.
4. Arrick BA, Nathan CF. Glutathione metabolism as a determinant of the therapeutic efficacy. *Cancer Res* 1984; 44:4224-32.
5. Meister A. New aspects of glutathione biochemistry and transport. *Federation Proceedings* 1984; 43:3031-1042.
6. Griffith OW, Bridges RJ, Meister A. Evidence that the gamma glutamyl cycle functions in vivo using intracellular glutathione. *Proc Natl Acad Sci USA* 1978; 75:5405-08.
7. Meister A. Methods for the selective modification of glutathione metabolism and study of glutathione transport. *Methods Enzymol* 1985; 11113:571-85.
8. Pascual P, Martinez-Lara E, Barcena JA et al. Direct assay of glutathione peroxidase activity using high-performance capillary electrophoresis. *J Chromatog* 1992; 581:49-56.
9. Hardell L, Danell M, Angovist CA, Marklund L. Levels of selenium in plasma and glutathione peroxidase in erythrocytes and the risk of breast cancer. *Cancer Biol Trace Element Research* 1993; 36:99-108.
10. Cikryt P, Feuerstein S and Wendel A. Selenium and non selenium dependent glutathione peroxidase in mouse liver. *Biochem Pharmacol* 1982; 31:2873-77.
11. Carmagnol F, Sinet PM, Jerome H. Non selenium dependent glutathione peroxidases in human tissue extracts. *Biochim Biophys* 1983; 759:49-57.
12. Schamberger RJ. Selenium metabolism and function. *Clin Biochem Physiol* 1986; 4:42-50.
13. Bryant RW, Simon TC and Bailey JM. Role of glutathione peroxidase and hexose monofosphate shunt in the platelet lipooxygenase pathway. *J Biol Chem* 1982; 257:14937-43.
14. Halliwell B. Oxidants and human disease some new concepts. *FASEBJ* 1987; 1:358-64.
15. Cook HW and Lands WEM. Mechanism for suppression of cellular biosynthesis of prostaglandins. *Nature* 1979; 260:630-2.
16. Tate SS and Meister A. Interaction of gamma glutamyl tranpeptidase with amino acids, dipeptides and derivatives and analogs of glutathione. *J Biol Chem* 1974; 249:7593-760.
17. Ammon HPT, Grimm A, Lutz S et al. Islet glutathione and insulin release. *Diabetes* 1980; 29:830-4.
18. Jacoby WB. Glutathione S-transferases a group of multifunctional detoxificational proteins. *Adv Enzymol* 1977; 46:383-418.
19. Boyland E, Chasseau L. The role of glutathione and glutathione-S-transferases in mercapturic acid biosynthesis. *Adv Enzymol* 1969; 32:173-219.
20. Meister A and Anderson ME. Glutathione. *Ann Rev Biochem* 1983; 5:711-60.
21. Marmstal E, Mannervik B. Purification characterization and kinetic studies of glyoxalase 1 from rat liver. *Biochem Biophys Acta* 1979; 566:362-70.

22. Felig P. Amino acid metabolism in man. *Annu Rev Biochem* 1975;44:933-50.
23. Uotila L, Korvusalo M. Formaldehyde dehydrogenase. *Methods Enzymol* 1981; 77:424-30.
24. Bump EA, Brown JM. Role of glutathione in the radiation response of mammalian cells in vitro and invivo. *Pharmacol Ther*1990; 47:117-36.
25. Bump EA, Yu NY, Brown JM. Radiosensitization of hypoxic tumor cells by depletion of intracellular glutathione. *Science* 1992; 227:544-5.
26. Halliweli B, Gutteridge JMC. The importance of free radicals and catalytic metal ions in human diseases. *Molec Aspects Med* 1985; 8:89-193.
27. Halliweli B, Gutteridge JMC. Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine some problems and concepts. *Arch Biochem Biophys* 1986; 311:659-71.
28. Orłowski M, Karkowsky A. Glutathione metabolism and some possible functions of glutathione in the nervous system. *Int Rev Neurobiol* 1976; 19:75-121.
29. Lee FYF, Siemann DW, Allalunis Turner JM et al. Glutathione contents in human and rodent tumor cells in various phases of the cell cycle. *Cancer Res* 1988; 48:3661-65.
30. Cook JA, Pass HI, Friedman N et al. Heterogeneous intratumor glutathione levels measured in human tumor and normal tissue biopsies. *Proc Am Assoc Cancer Res* 1990; 31:376.
31. deVries EGE, Meijer C, Timmer Bosscha H et al. Resistance mechanism in three human small cell lung cancer lines established one patient during clinical follow up. *Cancer Res* 1989; 49:4175-78.
32. Gurtoo HL, Hipkens JH, Sharmo SD. Role of glutathione in the metabolism dependent toxicity and chemotherapy of cyclophosphamide. *Cancer Res* 1981; 41:3584-91.
33. Herbergs A, Brok-Simoni F, Holtzman F et al. Erythrocyte glutathione and tumour response to Chemotherapy. *Lancet* 1992;339 2,1014:1015.
34. Hatemi H ve Taşan E. Serbest radikaller ve diyabet. *Endokrinolojide Yönelişler* 1993; 2(2):33-5.
35. Saito, Yamanako N, Yamanako H, Nagtasawo SI. Glutathione-related detoxication functions in streptozotacin-induced diabetic rats. *J Vet Med Sci* 1993; 55(6):991-4.
36. Castogliola C. Oxidative state of glutathione in red blood cells and plasma of diabetic patients. In vivo and in vitro study. *Clin Physiol Biochem* 1990; 8:204-10.
37. Abraham EC, Taylor JF and Lang CA. Influence of mouse age and erythrocyte age on glutathione metabolism. *Biochem J* 1978; 174:819-25.
38. Hazerton GA, Lang CA. Glutathione contents in the aging mouse. *Biochem J* 1980; 188:25-30.
39. Al-turk WA, Stohs SJ, Ras hidy HS et al. Changes in glutathione and its metabolizing enzymes in human erythrocytes and lymphocytes with age. *J Pharmacy Pharmacology* 1987; 39:13-6.
40. Prins HK, Oort M, Loos J et al. Congenital nonspherocytic hemolytic anemia, associated with glutathione deficiency of the erythrocytes. *Blood* 1966; 27:145-8.
41. Spielberg SP, Garriek MD, Corash LM. Biochemical heterogeneity in glutathione synthetase deficiency. *J Clin Invest* 1978;61:1417-20.
42. Konrad P, Richards F, Valentine WN et al. Gamma glutamyl-cysteine-synthetase deficiency. *N Engl J Med* 1972; 286:557-9.
43. Wells WW, Xu DP, Yang Y and Rocque PA, Mammalian thiol transperase (glutaredoxin) and protein disulfide isomerase have dehydroascorbate reductase activity. *J Biol Chem*1990; 265:15361-64.
44. Jain A, Martenssan JM, Mehto T, Krauss AN and Meister A. Ascorbic acid prevents oxidative stress in glutathione-deficient mice. *Proc Notl Acad Sci USA* 1992; 5093-97.
45. Meister A. Glutathione, ascorbate and cellular protection. *Cancer Research* 1994; 54:1969-75.