

Antioksidan Mekanizmada Glutatyonun Rolü

THE ROLE OF GLUTATHIONE IN ANTIOXIDANT MECHANISM

Yasemin AKSOY*

* Ph.D., Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, Öğr.Gör., ANKARA

Özet

Hücre içinde bir tripeptit (glutamik asit, sistein glisin) olarak sentezlenen glutatyon, NADPH'ı kullanarak hücrelere indirgeyici güç sağlamaktadır. Hücrede esas olarak indirgenmiş formda (GSH) bulunur. Reaktif oksijen türlerinin kimyasal veya metabolik oluşumuna yol açan hücre içi ve/veya hücre dışı koşullar oksidatif stres olarak adlandırılır. Oksidatif stres ve antioksidan kapasite arasındaki denge organ veya organ sistemlerinin oksidatif strese olan duyarlılıklarını belirler. Endojen ve eksojen stresten kaynaklanan serbest radikaller ateroskleroz, kanser, nörodejeneratif hastalıklar, ilaç toksisitesi, ve viral enfeksiyon gibi belirli hastalıkların patojenitesinde belirgin bir rol oynamaktadır. GSH, antioksidan vitaminler (vitamin E, vitamin C), antioksidan enzimler oksidatif hasara karşı hücreleri korumada önemli rol oynamaktadır. GSH ve GSH öncülleri antioksidan kapasiteyi korumada tedavi amaçlı olarak kullanılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: GSH, Oksidatif stres, Antioksidan kapasite, GSH öncülleri

T Klin Tıp Bilimleri 2002, 22:442-448

Summary

Glutathione which is synthesized within cells, as a tripeptide (glutamic acid, cysteine, glycine) that uses NADPH to provide cells with their reducing power. It occurs in the cell primarily in the reduced form (GSH). Intracellular and/or extracellular conditions that leads to the chemical or metabolic generation of reactive oxygen species (free radicals) is termed oxidative stress. The balance between the oxidative stress and antioxidant capacity determines the susceptibility of a given organ or organ systems. Free radicals which is sourced endogenous and exogenous stress play significant role in the pathogenesis of certain human diseases such as atherosclerosis, cancer, neurodegenerative diseases, drug-associated toxicity and viral infections. GSH, antioxidant vitamins (vitamin E, vitamin C) and antioxidant enzymes play an important role in protecting cells against oxidative damage. GSH and GSH precursors has been used to protect antioxidant capability for treatment.

Key Words: GSH, Oxidative stress, Antioxidant capacity, GSH precursors

T Klin J Med Sci 2002, 22:442-448

Hücresel yaşamın sürekliliği karmaşık biyokimyasal tepkimelerin denge içinde yürütmesine bağlıdır. Bu dengeyi bozacak yönde ortaya çıkan endojen ve/veya eksojen kaynaklı faktörler hücre hasarına yol açarlar. Bunlar içinde oksidatif stres farklı patolojik durumların ortaya çıkması nedeniyle gittikçe önem kazanmakta ve araştırmacıları bu yönde araştırma yapmaya yöneltmektedir. Radikal reaksiyonları hücre homeostazının bir parçasıdır. Sağlıklı hücreler homeostatik olarak antioksidanların kullanılmasıyla serbest radikalleri ortadan kaldırır. Hücreler, reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerine karşı antioksidan savunma sistemleri ile korunurlar. Savunma sistemleri enzimatik (Methemoglobin redüktaz, Süperoksit dismutaz, Katalaz, Glutatyon peroksidaz, Glutatyon redüktaz, Glutatyon S-transferaz) ve nonenzimatik (Glutatyon, vitamin E, vitamin C, redükte nikotinamid adenin dinükleotit-NADH, redükte nikotinamid adenin dinükleotit fosfat-NADPH) olmak üzere iki grupta toplanabilirler. Glutatyonun (GSH) hücre, doku ve organ

sistemlerinin bütünlüğünün yapısal ve fonksiyonel olarak korunmasında antioksidan bir molekül olarak önemi büyüktür. Aşırı oksidatif stres veya antioksidan potansiyelin yetersizliğinde gözlenen oksidatif hasar sonucu, GSH düzeyi azalmakta ve serbest radikal harabiyetine bağlı olarak, patolojik durumlar ortaya çıkmaktadır. GSH, kanser, yaşlanma, ateroskleroz, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde yer alması açısından önem taşımaktadır.

Serbest Radikaller ve Etkileri

Serbest radikallerin oluşumu, antioksidan kapasiteyi aşacak olursa metabolik ve fonksiyonel birçok bozukluk ortaya çıkar. Dokularda, single elektronların oksijene devamlı akışı endojen oksidatif stresi meydana getirir. Oksijenden türeyen süperoksit radikali, peroksit, hidroksil radikali ve diğer serbest radikaller çok reaktiftir, bu nedenle membran bütünlüğünü sağlayan fosfolipidlerin, proteinlerin, DNA ve RNA gibi moleküllerin bütünlüğünü

Tablo 1. Hücrelerde Serbest Radikal Kaynakları

Endojen Kaynaklar
Mitokondriyal elektron transport zinciri
Mikrozomal elektron transport zinciri
Oksidan enzimler
Ksantin oksidaz
İndolamin dioksijenaz
Galaktoz oksidaz
Siklooksijenaz
Lipoksijenaz
Monoamin oksidaz
Fagositik hücreler
Nötrofiller
Monositler ve makrofajlar
Eozinofiller
Endotelial hücreler
Otoksidasyon reaksiyonları (ör, Fe ²⁺)
Eksojen Kaynaklar
Redoks siklus bileşikler (ör, paraquat, doksorubisin)
İlaç oksidasyonları (ör, parasetamol)
Sigara
Güneş ışığı
Isı şoku
Okside glutatyon

tehdit ederler. Çeşitli biyolojik olaylarda, örneğin; antimikrobiyal savunma, iltihaplanma, kanser, radyasyon hasarı, fotobiyolojik etkiler ve yaşlanmada, reaktif oksijen türleri işe karışır. Sonuçta DNA baz hasarları, protein oksidasyon ürünleri, lipid peroksidasyon ürünleri açığa çıkar (1-3). Dokularda meydana gelen serbest radikallerinin kaynakları Tablo 1’de sunulmuştur.

Oksidatif membran hasarını göstermek için insan eritrositlerinde oksidan madde, tersiyer-butilhidroperoksit (t-BOOH), ile yapılan bir çalışmada oksidan madde derişimindeki artışa bağlı olarak (2-8 mM) katyon (K⁺) sızıntısının %27’den %80’e çıktığı rapor edilmiştir. Bilindiği gibi pasif katyon geçirgenliği ve lipid peroksidasyonu gibi faktörler membran hasarını yansıtmaktadır (4,5). Lipid peroksidasyonu bir zincir reaksiyonu olup, daha ileri reaksiyonu başlatan serbest radikaller için devamlı bir kaynak sağlar. Reaksiyonları başlatan moleküler ön madde genelde bir hidroperoksit (ROOH) olduğundan, lipid peroksidasyonu, potansiyel olarak yıkıcı etkiler ile dallanan bir zincir reaksiyonu oluşturur (6,7).

Antioksidan Sistemler

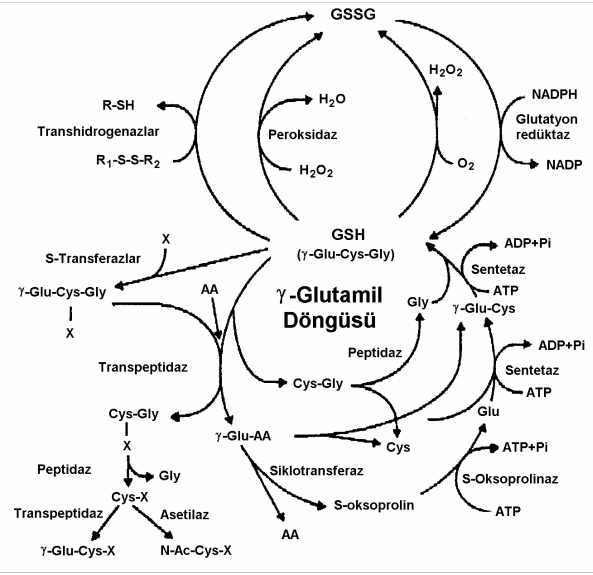
Zincir kırıcı antioksidanlar, peroksil radikalleri ile direkt olarak tepkimeye girerler ve zincir uzunluğunu mümkün olduğu kadar kısa tutarak peroksidasyonu engellerler (8). Antioksidanların fonksiyonları, genel olarak koruma, durdurma ve tamir olmak üzere 3 kısımda toplanabilmektedir (1,9). Radikal stresin başlangıcında meydana gelen primer radikal (R[•]), lipid radikallerin (L[•]) oluşumuna yol açmaktadır. Daha sonra oluşan lipid

peroksil radikali, α-tokoferol radikalinin oluşumuna neden olmaktadır. Askorbik asit (vitamin C) ve α-tokoferol (vitamin E) membranı oksidatif hasara karşı koruyabilen önemli antioksidanlardır. Askorbik asit tokoferoksil radikalini indirgeyerek tokoferolün radikal temizleme aktivitesini düzenlerken, askorbik asitin redoks durumu hücre içi GSH tarafından kontrol edilmektedir (10-13). Dolayısıyla, E vitamininin fonksiyonunun devamı ve rejenerasyonu için askorbik asit ve GSH’a ihtiyaç duyulmaktadır (14,15).

GSH Metabolizması ve Antioksidan Rolü

Glutatyon, biyolojik olarak iki önemli yapıyı (tiyol grubu ve γ-glutamin bağı) yapısında bulundurur. Yapısındaki sisteinin tiyol grubundan ve yüksek konsantrasyonundan dolayı (0.1-10 mM) hücre içinde önemli bir antioksidan olan glutatyon’un %99’dan fazlası indirgenmiş formda bulunur (16,17). Bu formda tutulabilmesi pentoz fosfat metabolik yoluna bağlıdır. Bu yolda üretilen NADPH, glutatyon disülfid redüktaz (GR)’ın katalize ettiği reaksiyonda koenzim olarak görev alır (18). Önemli bir indirgeyici güç olan GSH, hücre içi proteinlerin, sistein, dihidrolipoat ve koenzim A gibi moleküllerin tiyol gruplarının, askorbat, α-tokoferol gibi antioksidan moleküllerin korunmasında, ayrıca DNA’nın deoksiribonüklozid öncüllerinin oluşması için ribonükleotidlerin indirgenmesinde kullanılır. GSH ayrıca hücrelerin oksidatif hasara, toksik bileşiklere, radyasyona karşı korunmasında, bazı ilaçların inaktivasyonunda, östrojen, prostaglandin ve lökotrienler gibi bazı endojen bileşiklerin metabolik işlemlerinde yer alır (17,19-21).

GSH homeostazı hücresele düzeyde, biyosentez, oksidasyon, import ve eksport arasındaki dengeyle sağlanırken, doku düzeyinde GSH metabolizması ile ilgili işlemlere ve dokular arasındaki GSH akışına bağlı olarak düzenlenmektedir (22,23). Eritrosit hariç tüm hücrelerde gözlenen GSH salınımı, homeostatik mekanizmalar için önemli bir faktördür. GSH biyosentezinden sorumlu olan γ-glutamil döngüsü, koruyucu, metabolik, katalitik ve taşınma işlemlerinin bir kısmında, ayrıca GSH sentezi ve kullanımının düzenlenmesinde ve sistein amino asidinin taşınması ve depolanmasında oldukça önemlidir (16) (Şekil 1). GSH sentezi iki aşamada, γ-glutamilsistein sentetaz ve GSH sentetaz enzimleri aracılığıyla gerçekleşir. Glutatyonun derişimi, sentezinde kullanılan substratlarının teminine ve sentezinde görev alan enzimlerin derişimine bağlıdır. Hücreler glutamat ve glisinden zengindir, fakat sistein sınırlı miktarlarda bulunur. Bazı hücrelerde sistein oluşumu sistatyonin yolunda serin amino asidinin metiyonin tarafından transsülfürasyonu ile başlar. Sistein aynı zamanda doku proteinlerinin yıkımından ve diyetle alınan proteinlerden de gelir. Bu şartlar altında, iki



Şekil 1. γ-glutamil döngüsü (16)

sentetazın substratlarının derişiminin artmasıyla, glutatyon sentezi artar (20).

Hücre içi glutatyon membrana bağlı transpeptidaza aktararak taşınır. GSH'ın membrana bağlı olan γ-glutamil transpeptidaza taşınması, γ-glutamil aminoasitlerin oluşumuna yol açmaktadır. γ-glutamil sistein taşınımı hücrel sisteinin korunmasında oldukça önemlidir (20,24). Hücrel glutatyon taşınımı, tiyol gruplarını ve α-tokoferol gibi diğer membran bileşiklerini koruyarak hücre membranının oksidan hasara karşı korunmasını sağlamakta, bunun yanısıra, serbest radikallerle direkt reaksiyonu ile, Glutatyon peroksidazlara ve Glutatyon S-transferazlara substrat olmasıyla bir antioksidan olarak davranmaktadır (16,17).

GSH ve Karaciğer Hastalıkları

GSH, akciğer, bağırsak, böbrek ve kısmen karaciğer gibi eksojen toksinlere direkt olarak maruz kalabilen organlar için çok önemlidir. Karaciğer, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu ile devreye giren ve aynı zamanda GSH için ana depo olan bir organdır. Glutatyon en yüksek hücre içi derişimine (~10 mM) hepatositlerde ulaşır. Hepatositler, bir yandan potansiyel toksinlere karşı GSH'ı kullanırlarken, bir yandan da GSH öncüllerinden veya GSSG'den "recycle" yoluyla, GSH'ı sentezleyebilen hayli özelleşmiş hücrelerdir (25,26,27). Hayvan deneylerinde GSH biyosentezini inhibe etmek için butiyonin sulfoksimin, asetaminofen, bromobenzen gibi çeşitli ksenobiyotikler kullanılmaktadır (28-31). Bu ksenobiyotiklere maruz kalan hayvanların hepatositlerinde GSH tükenmekte, ardından karaciğer hasarı meydana

gelmektedir. Hasar glutatyon kaynaklarının artırılmasıyla (GSH öncülleri, fosfatidil kolin, lipoik asit) önenebilmektedir (32-37). Sirozlu hastalarla yapılan bir çalışmada, hastaların plazmalarındaki GSH derişiminin kontrol grubuna göre 4-8 kat daha düşük olduğu bulunmuştur (38). Kronik alkolik ve nonalkolik karaciğer hastalıkları görülen hastalarda (karaciğer yağlanması, akut-kronik hepatit, siroz) yapılan bir başka çalışmada ise kontrol gruplarına nazaran düşük GSH ve yüksek GSSG düzeyleri saptanmıştır (39). Akut tek doz alkol (0.5 g/kg) uygulamasından 24 saat sonra sıçan karaciğerindeki GSH düzeylerinin belirgin bir şekilde azaldığı gözlenmiştir (40). Bir başka çalışmada ise, kronik karaciğer hastalarının plazmalarında GSH'daki azalmanın yanısıra Fe, Zn, Se gibi eser elementlerin düzeylerinin de belirgin şekilde azaldığı saptanmıştır. Aynı çalışmada sirozlu hastaların plazma Bromür (Br) düzeyi kontrol ve kronik hepatit grubuna kıyasla daha yüksek bulunmuştur (41). Araştırmacılar; bu durumun protein sentezi, enzim aktivitesi, transport ve sekresyon mekanizmaları gibi temel hücrel fonksiyonları etkileyeceğini ve bundan dolayı toksik riski arttırabileceğini ileri sürmüşlerdir.

GSH ve Akciğer Hastalıkları

Diğer yandan birçok akciğer hastalığında (akut respiratuvar distres sendromu (ARDS), astım, kronik obstruktif akciğer hastalığı (KOAH), idiopatik pulmoner fibrozis (İPF- yeni doğanın akciğer hasarı) GSH düzeylerinin azaldığı bildirilmiştir (25). Yapılan başka çalışmalarda akciğer hastalıklarında "epitelial lining fluid" (ELF)deki redukte ve okside glutatyon düzeyine bakılmış ve hasta gruplarının ELF'lerinde yüksek GSSG düzeylerine rastlanılmıştır (32,42,43). GSH, akciğerlerde inflamasyon gelişiminin kontrolünde, oksidatif/nitrosatif strese karşı hücre içi ve hücre dışı koruyucu antioksidan olarak, anahtar bir rol oynamaktadır (44). Gerek karaciğer, gerekse akciğer hastalıklarında, GSH'ın rejenerasyonunda N-asetil sistein(NAC) yaygın olarak kullanılmaktadır (32,33,45,46). Hücre içi GSH öncüllerinden biri olan NAC, mukolitik bir ilaç olarak günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır (47).

GSH ve İmmun Hastalıklar

Kronik viral enfeksiyonlar, dolaşımdaki immün hücrelerde GSH tüketimini tetiklemektedir. Tüm hücreler proliferasyon, büyüme ve diferansiyasyon için GSH'a bağımlıdır. Akut ve kronik viral hepatitli hastaların eritrositlerinde düşük GSH konsantrasyonu saptanmıştır (48). GSH'ın immün sistem hücrelerinin (T ve B lenfositler, monositler, makrofajlar vb) aktivasyonu için önemi, deneysel GSH tüketiminin immün hücre fonksiyonlarını inhibe ettiği gözlemleriyle açıkça görülmektedir (49,50).

GSH ve Parkinson Hastalığı

Beyin, oksijenli bir doku olması ve yüksek miktarda doymamış yağ asitlerine sahip olması nedeniyle serbest radikal hasarına karşı duyarlıdır. Oksidatif stres, Parkinson hastalığı ile bağlantılı olan “substantia nigra”(SN)’nin dopaminerjik nöronlarının dejenerasyonunda önemli rol oynamaktadır. Parkinsonlu hastaların substantia nigrası dramatik olarak azalmış GSH düzeylerine sahiptir. GSH, hem bir redoks modülatör, hem de bir antioksidan olarak sinir sisteminde önemli bir rol oynamaktadır. SN’da hastalığın erken döneminde gözlenen GSH kaybı kompleks l’in aktivitesindeki azalmadan ve devamında mitokondriyel fonksiyon kaybından sorumlu tutulmaktadır (51). Çeşitli çalışmalar, Parkinsonlu hastaların beyinlerinde kontrol gruplarına kıyasla artmış metal düzeylerinin, özellikle demirin varlığını, düşük GSH düzeyini, artmış lipid peroksidasyonunu göstermektedir (52,53). Aynı şekilde Alzheimer hastalarının temporal ve serebral kortekslerinde de benzer bulgulara rastlanmıştır (54,55).

GSH ve Ateroskleroz

Endotelial hücreler dolaşım süresince devamlı olarak, hem eksojen hem de endojen oksidatif strese maruz kalırlar. Artan lipid peroksidler, azalan GSH-Px ve düşük eikasanoid prostasiklin düzeyleri insan ve hayvan aterosklerotik arterlerinde tespit edilmiştir(56).

GSH ve Yaşlanma

Hücresin ana tiyol redoks sistemini oluşturan GSH ve GSSG düzeyleri, beslenme, ilaçlar, ve oksidatif stresin etkisine bağlı olarak önemli derecede değişiklik göstermektedir. Glutasyon redoks (GSH/GSSG) durumundaki bir değişiklik, spesifik proteinlerdeki tiyol ve disülfidlerin redoks durumundaki değişikliklerle bağlantılıdır. Bu durumla bağlantılı olarak, protein sentezleyemeyen hücrelerin antioksidan enzim miktarlarının giderek azalması, iyon pompalarının ve zar koruyucu mekanizmaların bozulması sonucu hücre yaşlanması ve ölüm görülmektedir. Hücre yaşlanması ile ilgili çalışmalarda model olarak daha çok eritrositler kullanılmıştır (57-59). Eritrosit yaşlanmasıyla birlikte eritrosit membranında lipid peroksidasyon indikatörü olan malondialdehid (MDA) düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir (60). İnsan eritrositlerinde oksidan bir madde olan tersiyer-butilhidroperoksidin (t-BOOH) etkisini incelediğimiz in vitro bir çalışmada, GSH’ın hızlı bir şekilde oksitlendiğini, MDA düzeyinin ise oksidatif hasara bağlı lipid peroksidasyonu sonucu artmış olduğunu gözledik. GSH düzeyi azalırken, okside glutasyon (GSSG) düzeyindeki artış sonucu GSH/GSSG dengesi bozulmaktadır. GSH/GSSG oranının korunması hücrenin canlılığının sürdürülebilmesi açısından önemlidir. Çeşitli çalışmalarda GSH stabilitesinin de yaşlı hücrelerde, genç hücrelere

kıyasla daha düşük olduğu bildirilmiştir. GSH stabilitesi, glutasyon bağlantılı enzimler (Glutasyon Peroksidaz, Glutasyon Redüktaz, Glukoz-6-fosfat Dehidrogenaz, Glutasyon-S transferaz, γ -Glutamil sistein sentataz) aracılığıyla eritrositlerin fonksiyonunu yansıtmaktadır (61,62). Bu enzimlerin aktivitelerinin hücre yaşlanmasıyla birlikte azaldığı da bildirilmektedir (63-65). Sonuçta, gerek enzim aktivitelerindeki azalmalar, gerekse membran hasarı ile birlikte hücre yaşlanmaya gitmektedir.

GSH ve Kanser

Oksidatif ve serbest radikal hasarı yaşlanma kadar karsinogenez ve mutagenizde önemli faktör olarak gösterilmektedir. Karsinojenlerin (aflatoksin B1, benzpiren, benzidin, nitrozaminler, N-metil-4-aminobenzen, 1-nitropiren) metabolizasyonu ile oluşan elektrofilik bileşiklerin DNA hasarına ve lipid peroksidasyonuna yol açmamaları için detoksifiye olmaları gereklidir (66). Bu amaçla, GSH ile konjugasyonları ya spontan olarak ya da Glutasyon-S transferazlar aracılığıyla gerçekleşmektedir (67). Diğer yandan, kanserli dokularda Glutasyon S-transferaz enzimlerinin (özellikle GST P1-1) düzeyindeki artış glutasyonun malignitedeki rolünü göstermesi açısından önemlidir. GST P1-1’in kemoterapi sırasında kanser hücrelerinde gelişen ilaç direncine karşı koruyucu rol oynadığı inhibisyon deneyleri ile ortaya konmuştur (68,69). GSH ölçümleri meme ve over kanserlerini de içeren malignitelere, aynı zamanda, bu kanserlere karşı kemoterapötik ajanların etkisini monitorize etmede, lenf nodu metastazı takibinde “marker” olarak kullanılabilir (70-73).

Araştırmacılar son zamanlarda antikanser ilaçların etkisini incelerken, ilaç direnci, DNA tamiri (özellikle topoizomeraz II) ve GSH’ın etkileri üzerine yoğunlaşmışlardır (74). Yapılan çeşitli çalışmalar ile glutasyonun antikanser ilaçların detoksifikasyonunda da rol oynadığı, ilaç-dirençli insan kanser hücrelerinde artmış GSH düzeyleri ile gösterilmektedir (75,76).

GSH ve Çevresel Faktörler

Çevresel faktörler (sigara içimi, alkol tüketimi, X ve UV ışınları, farmasötik ürünler, halokarbonlar) oksidan ve serbest radikal kaynakları olarak bilinir (28,77,78,79). Ayrıca, ağır aerobik egzersizlerinde daha fazla ATP ihtiyacı ve daha fazla O₂ tüketimi nedeniyle daha fazla serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olduğu bilinmektedir, egzersiz sonrasında GSH’ın tükendiği ve GSH öncüllerinin (glisin, sistein, glutamin) verilmesiyle bu durumun geriye döndürüldüğü gösterilmiştir (80). Bunların yanısıra yanık, iskemi-reperfüzyon, ameliyat, enfeksiyon gibi durumlarda, aşırı demir yüklemelerinde doku GSH’ının tüketildiği bildirilmektedir (25,77,81,82). Hüresel GSH tüketiminin sonucu olarak hücre

fonksiyonları azalmakta ve hücre yıkımı meydana gelmektedir.

Sonuç

Organizmanın antioksidan kapasitesinin korunması canlılığın devamı açısından çok önemlidir. Glutasyon eksikliğine bağlı olarak bir çok dokuda çeşitli mitokondriyel dejenerasyonla bağlantılı olarak hücre hasarı meydana gelmektedir. Normal bir hücrede, spesifik olarak hücrel kompartmanlara yerleştirilmiş olan oksidan-antioksidan sistemler dengesindeki herhangi bir bozukluk bir çok patofizyolojik durumun (nörodejeneratif hastalıklar, yaşlanma, kanser, immun hastalıklar gibi) ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Birçok hastalığın patofizyolojisinde yer alan glutasyon'un eksikliğinin, GSH veya GSH öncülleri verilerek önlenildiği veya geriye döndürülebildiği çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Bunun yanı sıra oksidatif hasara bağlı olarak hücre zarının yapısındaki lipidlerin peroksidasyonunu engellemek amacı ile vitamin E kullanımı da söz konusudur. Ancak, in vitro deneylerde yüksek dozda vitamin E kullanımının oksidan gibi davrandığı göz önüne alınırsa, vitamin kullanımında dozun ne kadar önemli olduğu açıktır (2). Diğer yandan karbontetraklorürün (CCl₄) hepatotoksik etkisine karşı vitamin E'nin koruyucu etkisinin incelendiği bir çalışmada da vitaminin protektif etkisinin tartışmalı olduğu sonucuna varılmıştır (83). Tedavi amaçlı olarak, GSH öncüllerinin verilmesi, vitamin E, vitamin C gibi vitaminlerin kombine olarak uygulanması, antioksidanlarla beraber selenyum uygulamasının, GSH'ın replasyonunda ne kadar etkili olduğu, yapılacak çalışmalar ile gösterilmelidir.

KAYNAKLAR

- Sies H. Oxidative stress: From Basic Research to Clinical Application. Am J Med 1991; 91: 31-8.
- Bast A, Haenen GRM, Doelman CJA. Oxidants and Antioxidants: State of the Art. Am J Med 1991; 91: 2-13.
- Balz F. Reactive Oxygen Species and Antioxidant Vitamins: Mechanism of Action. Am J Med 1994; 97: 5-13.
- Zee JVD, Dubbelman TMAR, Steveninck JV. Peroxide-induced Membrane Damage in Human Erythrocyte. Biochim Biophys Acta 1985; 818: 38-44.
- Benatti U, Morelli A, Damiani G, De Flora A. A Methemoglobin-dependent and Plasma-stimulated Experimental Model of Oxidative Hemolysis. Biochem Biophys Res Commun 1982; 106: 1183-9.
- Kobayashi Y, Yoshimitsu T, Usui T. Evaluation of Lipid Peroxidation of Human Erythrocyte Hemolysates. J Immunol Methods 1983; 64: 17-23.
- Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Harper's Biochemistry. Appleton & Lange, a Publishing Division of prentice Hall 1993.
- Burton GW, Ingold KU. Vitamin E as an in Vitro and in Vivo Antioxidant. Annals New York Academy of Sciences 1989; 570: 7-21.
- Gutteridge JMC. Lipid Peroxidation and Antioxidants as Biomarkers of Damage. Clin Chem 1995; 41/12: 1819-28.
- Sies H, Stahl W, Sundquist AR. Antioxidant Functions of Vitamins. Annals New York Academy of Sciences 1992 ; 669: 7-21.
- Sharma MK, Buettner GR. Interaction of Vitamin C and Vitamin E During Free Radical Stress in Plasma: An ESR Study. Free Radic Biol & Med 1993; 14: 649-53.
- Wefers H, Sies H. The Protection by Ascorbate and Glutathione Against Microsomal Lipid Peroxidation is Dependent on Vitamin E. Eur J Biochem 1988; 174: 353-7.
- Bisby RH, Parker AW. Reaction of Ascorbate with the α -tocopheroxyl Radical in Micellar and Bilayer Membrane Systems. Archives of Biochemistry and Biophysics 1995; 317: 170-8.
- Brownlee NR, Huttner JJ, Panganamala RV, Cornwell DG. Role of Vitamin E in Glutathione-induced Oxidant Stress: Methemoglobin, lipid peroxidation and hemolysis. J Lipid Res 1977; 18: 635-44.
- Stocker R, Weidemann MJ, Hunt NH. Possible Mechanism Responsible for the Increased Ascorbic Acid Content of Plasmodium Vinckeii-infected Mouse Erythrocytes. Biochim Biophys Acta 1986 ; 882: 391-7.
- Meister A. Glutathione Metabolism. Methods Enzymol 1995; 251: 3-7.
- Meister A. Selective Modification of Glutathione Metabolism. Science 1983; 220: 472-477.
- Thorburn DR, Kuchel PW. Regulation of the Human Erythrocyte Hexose Monophosphate Shunt Under Conditions of the Oxidative Stress. Eur J Biochem 1985; 150: 371-86.
- Meister A. Glutathione Deficiency Produced by Inhibition of Its Synthesis, and Its Reversal: Application in Research and Therapy. Pharmacol Ther 1991; 51: 155-85.
- Meister A. Methods for selective modification of Glutathione Metabolism and Study of Glutathione Transport. Methods Enzymol. 1985 ; 113: 571-85.
- Meister A. Glutathione Metabolism and its Selective Modification. J Biol Chem 1988; 263; 17205-8.
- Dass PD, Bermes EW, Holmes EW. Renal and Hepatic Output of Glutathione in Plasma and Whole Blood. Biochim Biophys Acta 1992; 1156: 99-102.
- Kaplowitz N, Fernandez-Checa JC, Kannan R, Garcia-Ruiz C, Ookhtens M, Yi JR. GSH Transporters: Molecular Characterization and Role in GSH Homeostasis. Biol Chem Hoppe-Seyler 1996; 377: 266-73.
- Meister A, Anderson E. Glutathione. Ann Rev Biochem 1983; 52:711-760.
- Lomaestro BM, Malone M. Glutathione in health and disease: Pharmacotherapeutic Issues. Annals Pharmacother 1995; 29: 1263-73.
- Kosower NS. The Glutathione Status of Cells. Int Rev Cytol 1978; 54: 109-60.
- Anderson ME. Determination of Glutathione and Glutathione Disulphide in Biological Samples. Methods in Enzymology 1985; 113: 548-555.
- Shan X, Aw TY, Jones DP. Glutathione Dependent Protection Against Oxidative Injury. Pharmacol Ther 1990; 47: 61-71.
- Srinivasan C, Williams WM, Ray MB, Chen TS. Prevention of acetaminophen-induced liver toxicity by 2(R,S)-n-propylthiazolidine-4@-carboxylic acid in mice. Biochem Pharmacol 2001; 61: 245-52.
- Tran A, Treluyer JM, Rey E, Barbet J, et all. Protective effect of Stiripentol on Acetaminophen-induced Hepatotoxicity in Rat. Toxicol Appl Pharmacol 2001; 170: 145-52.
- Atamer Y, Koçyiğit Y, Atamer A, Mete N, Canoruç N. Significance of Lipid Peroxides, glutathione and antiperoxidative enzymes in ethanol and acetaminophen toxicity in the rat. Turk J

- Gastroenterol 2000; 11(1): 54-60.
32. Ortolani O, Conti A, De Gaudio AR, Masoni M et al. Protective effects of N-acetylcysteine and Rutin on the Lipid Peroxidation of the Lung Epithelium During the Adult Respiratory Distress Syndrome. *Shock* 2000; 13: 14-8.
 33. Weinbroum AA, Rudick V, Ben-Abraham R, Karchevski E. N-acetyl-L-cysteine for Preventing Lung Reperfusion Injury After Liver Ischemia-reperfusion: a Possible Dual Protective Mechanism in a Dose-response Study. *Transplantation* 2000; 69: 853-9.
 34. Stenbergm PJ, Davidson PC, Jones DP, Hagen TM. Protection of Retinal Pigment Epithelium From Oxidative Injury by Glutathione and Precursors. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1993; 34: 3661-8.
 35. Deters M, Siegers CD, Strubelt O. Influence of Glycine on the Damage Induced in Isolated Perfused Rat Liver by Five Hepatotoxic Agents. *Toxicology* 1998; 128: 63-72.
 36. Lieber CS. Role of Oxidative Stress and Antioxidant Therapy in Alcoholic and Nonalcoholic Liver Diseases. *Adv Pharmacol* 1997; 38: 601-28.
 37. Deneke SM. Thiol-based Antioxidants. *Curr Top Cell Regul* 2000; 36: 151-80.
 38. Loguercio C, Blanco CDV, Coltorti M, Nardi G. Alteration of Erythrocyte Glutathione, Cysteine and Glutathione Synthetase in Alcoholic and Non-alcoholic Cirrhosis. *Scand J Clin Lab Invest* 1992; 52: 207-13.
 39. Altomare E, Vendemiale G, Alano O. Hepatic Glutathione Content in Patients with Alcoholic and Nonalcoholic Liver Diseases. *Life Sci* 1988; 43: 991-8.
 40. Dinçer S, Öz E, Özenirler S. Effect of Single Dose Alcohol Administration on Malondialdehyde, Glutathione, Total Protein, and Hydroxyproline levels of Rat Liver. 1999; 10(1): 1-3.
 41. Loguercio C, De Girolamov V, Federico A, Feng SL et al. Relationship of Blood Trace Elements to Liver Damage, Nutritional Status and Oxidative Stress in Chronic Nonalcoholic Liver Diseases. *Biol.Trace Elem Res* 2001; 81: 245-54.
 42. Pacht ER, Timerman AP, Lykens MG, Merola J. Deficiency of Alveolar Fluid Glutathione in Patients with Sepsis and the Adult Respiratory Distress Syndrome. *Chest* 1991; 100: 1397-403.
 43. Bunnell E, Pacht ER. Oxidized Glutathione is Increased in Alveolar Fluid of Patients with Adult Respiratory Distress Syndrome. *Am Rev Resp Dis* 1993; 148: 1174-8.
 44. Rahman I, MacNee W. Oxidative Stress and Regulation of Glutathione in Lung Inflammation. *Eur Respir J*. 2000; 16: 534-54.
 45. Suter PM, Domenighetti G, Schaller MD, Laverrière MC et al. N-acetylcysteine Enhances Recovery From Acute Lung Injury in Man. *Chest* 1994; 105: 190-4.
 46. Lothian B, Grey V, Kimoff RJ, Lands LC. Treatment of Obstructive Airway Disease with a Cysteine Donor Protein Supplement. *Chest* 2000; 117: 914-6.
 47. Van Zandwijk N. N-acetylcysteine (NAC) and Glutathione (GSH) : Antioxidant and Chemopreventive properties, with Special Reference to Lung Cancer. *J Cell Biochem Suppl* 1995; 22: 24-32.
 48. Swietek K, Juszczak J. Reduced Glutathione Concentration in Erythrocytes of Patients with Acute and Chronic Viral Hepatitis. *J Viral Hepat* 1997; 4: 139-41.
 49. Wu D, Meydani SN, Sastre J, Hayek M et al. In vitro Glutathione Supplementation Enhances Interleukin-2 Production and Mitogenic Response of Peripheral Blood Mononuclear Cells from Young and Old Subjects. *J Nutr* 1994; 124:655-63.
 50. Fidelus RK, Tsan MF. Glutathione and Lymphocyte Activation: a Function of Ageing and Auto-immune Disease. *Immunology* 1987; 61: 503-8.
 51. Jha N, Jurma O, Lalli G, Liu Y, et al. Glutathione Depletion in PC 12 Results in Selective Inhibition of Mitochondrial Complex I Activity. Implications for Parkinson's Disease. *J Biol Chem* 2000; 275: 26096-101.
 52. Han J, Cheng FC, Yang Z, Dryhurst G. Inhibitors of Mitochondrial Respiration, Iron (II) and Hydroxyl Radical Evoke Release and Extracellular Hydrolysis of Glutathione in Rat Striatum and Substantia Nigra: Potential Implications to Parkinson's Disease. *J Neurochem* 1999; 73: 1683-95.
 53. Merad-Boudia M, Nicole A, Santiard-Baron D, Saille C et al. Mitochondrial Impairment as an Early Event in the Process of Apoptosis Induced by Glutathione Depletion in Neuronal Cells: Relevance to Parkinson's Disease. *Biochem Pharmacol* 1998; 56: 645-55.
 54. Pocernich CB, Cardin AL, Racine CL, Lauderback CM et al. Glutathione Elevation and its Protective Role in Acrolein Induced Protein Damage in Synaptosomal Membranes; Relevance to Brain Lipid Peroxidation in Neurodegenerative Disease. *Neurochem Int* 2001; 39: 141-9.
 55. Bains JS, Shaw CA. Neurodegenerative Disorders in Humans; the Role of Glutathione in Oxidative Stress-mediated Neuronal Death. *Brain Res Brain Res Rev* 1997; 25: 335-58.
 56. Stamler JS, Slivka A. Biological Chemistry of Thiols in the Vasculature and in Vascular-related Disease. *Nutr Revs* 1996; 54: 1-30.
 57. Bozzi A, La Chiusa BF, Strom R, Crifo C. S-Adenosylhomocysteine hydrolase and adenosine deaminase activities in human red cell ageing. *Clin Chim Acta* 1990; 189: 81-6.
 58. Jansen G, Hepkema BG, Van der Vegt SGL, Staal GEJ. Glycolytic Activity in Human Red Cell Populations Separated by a Combination of Density and Counterflow Centrifugation. Evidence for an Improved Separation of Red Cells According to Age. *Scand J Haematol* 1986; 37: 189-95.
 59. Seppi C, Addolorata C, Minetti G, Piccinini G et al. Evidence for Membrane Protein Oxidation During in Vivo Aging of Human Erythrocytes. *Mech Ageing Dev* 1991; 57: 247-58.
 60. Stocks J, Offerman EL, Modell CB, Dormandy TL. The Susceptibility to Autoxidation of Human Red Cell Lipids in Health and Disease. *Brit J Haematol* 1972; 23: 713-24.
 61. Mieyal JJ, Starke DW, Gravina A, Doherty C et al. Thioltransferase in Human Red Blood Cells: Purification and properties. *Biochemistry* 1991; 30: 6088-97.
 62. Imanishi H, Nakai T, Abe T, Takino T. Glutathione Metabolism in Red Cell Aging. *Mech Ageing Dev* 1985; 32: 57-62.
 63. Ceballos-Picot I, Trivier JM, Nicole A, Sinet PM et al. Age Correlated Modifications of Copper-Zinc Superoxide Dismutase and Glutathione-related Enzyme Activities in Human Erythrocytes. *Clin Chem* 1992; 38: 66-70.
 64. Powers HJ, Thurnam DI. Riboflavin Deficiency in Man: Effects on Haemoglobin and Reduced Glutathione in Erythrocytes of Different Ages. *Br J Nutr* 1981; 46: 257-266.
 65. Imanishi H, Nakai T, Abe T, Takino T. Glutathione Linked Activities in Red Cell Aging. *Clin Chim Acta* 1986; 159: 73-6.
 66. Richie JP, JR. The Role of Glutathione in Aging and Cancer. *Exp Gerontology* 1992; 27: 615-26.
 67. Mannervik B. The Isoenzymes of Glutathione Transferase. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 1985; 57: 357-417.
 68. Johansson A, Ridderström M, and Mannervik B. The Human Glutathione Transferase P1-1 Specific Inhibitor TER 117 Designed for Overcoming Cytostatic-Drug Resistance is also a Strong Inhibitor of Glyoxalase I. *Mol Pharmacology* 2000; 57: 619-24.

69. Mukanganyama S, Widersten M, Naik YS, Mannervik B, et al. Inhibition of Glutathione S-transferases by Antimalarial Drugs Possible Implications for Circumventing Anticancer Drug Resistance. *Int J Cancer* 2002; 97(5): 700-5.
70. Inal TC, Tuli A, Yuregir GT. Evaluation of Reference Values for Erythrocyte Glutathione. *Clin Chim Acta* 1996; 256: 186-96.
71. Lee FYF, Siemann DW, Sutherland RM. Changes in Cellular Glutathione Content During Adriamycin Treatment in Human Ovarian Cancer-a Possible Indikator of Chemosensitivity. *Br J Cancer* 1989; 60: 291-8.
72. Herebergs A, Simoni EB, Holtzman F, Bar-Am J, et al. Erythrocyte Glutathione and Tumor Response to Chemotherapy. *Lancet* 1992; 339: 1074-6.
73. Türkmen S, Afrasyap L, Güvenen G, Aldemir M. Selim ve Habis Meme Hastalığında Eritrosit Glutayon Düzeyleri ve İlişkili Enzim Aktiviteleri. *Türk Onkoloji Dergisi* 1995; 10(2): 59.
74. Kauvar LM, Morgan AS, Sanderson PE, Henner WD. Glutathione Based Approaches to Improving Cancer Treatment. *Chemico-Biological Interactions* 1998; 111-112: 225-38.
75. Nagata J, Kijima H, Hatanaka H, Asai S, et al. Reversal of Cisplatin and Multidrug Resistance by Ribozyme-Mediated Glutathione Suppression. *Biochem Biophys Res Comm* 2001; 286: 406-13.
76. Demirtaş D, Gökteş M, Karcı B, Bilgen V, et al. Kanserli Dokuda Glutayon Düzeyi Araştırılmasının Önemi. *Ege Tıp Dergisi* 1997; 36(3-4): 109-11.
77. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA. Oxygen Radicals and Human Disease. *Ann Intern Med* 1987 ; 107: 526-45.
78. Moller P, Wallin H, Knudsen LE. Oxidative Stress Associated with Exercise, Psychological Stress and Life-style Factors. *Chem Biol Interact* 1996; 102: 17-36.
79. Yalçın A., Erilaçın S, Yüce G., Onat T. CCL₄ uygulanan sıçanlarda karaciğer GSH, GST ve selenyum düzeyleri. *Ege Tıp Dergisi* 1997; 36(1-2): 13-5.
80. Ji LL. Oxidative stress during exercise: Implication of Antioxidant Nutrients. *Free Rad Biol Med* 1995; 18(6): 1079-86.
81. Blaustein A, Deneke SM, Stolz RI, Baxter D. Myocardial Glutathione Depletion Impairs Recovery After Short Periods of Ischemia. *Circulation* 1989; 80: 1449-57.
82. Vina J, Gimenez A, Puertes IR, Gasco E. Impairment of Cysteine Synthesis from Methionine in Rats Exposed to Surgical Stress. *Brit J Nutr* 1992; 68: 421-9.
83. Atamer Y, Koçyiğit Y, Atamer A, Canoruç N, ve ark. Investigation of the Effect of Vitamin E Against Carbontetrachloride Hepatotoxicity and Alterations of Glutathione, Glutathione Peroxidase. *Turk J Gastroenterol* 1997; 8: 375-80.

Geliş Tarihi: 26.11.2001

Yazışma Adresi: Yasemin AKSOY
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya AD, ANKARA