

Antioksidanlar

Ceren Avcılar*
A. Süha Yalçın*

Oksijenli yaşamla birlikte aerobik organizmalarda oksijen kaynaklı radikaller oluşmaya başlamış, bununla hemen hemen eş zamanlı olarak oluşan radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere antioksidan savunma mekanizmaları gelişmiştir. En basit anlatımla antioksidanlar serbest radikallere elektron aktararak onları etkisizleştiren moleküllerdir. Hücrelerde serbest radikaller ile antioksidanların düzeyleri arasında hassas bir denge vardır. Dengenin korunamadığı durumlarda hücre hasarına kadar giden çeşitli patolojik durumlar ortaya çıkar. Antioksidan kavramı yaygın olarak kullanılmakla birlikte antioksidan tanımı ve antioksidanların sınıflandırılması farklı şekillerde yapılabilir. İlk belirlenen etkileri zar yapısındaki lipidlerin peroksidasyona karşı korunması olduğundan, önceleri antioksidanlar lipid peroksidasyonunu engelleyen yapılar olarak tanımlanmıştır.^{1, 2}

Günümüzde antioksidan etkiler ve tanımları çok çeşitlidir:

- Gıda teknolojisi uzmanları antioksidanı lipid peroksidasyonunun iyi bir baskılayıcısı olarak tanımlarken, endüstriyel olarak kauçuk, plastik ve boya üretiminde, polimerizasyonun kontrolünde, yağları bozunmaya karşı korumada veya şeffaf plastiklerin UV ışığa karşı korunmasında etkili olan yapılar da antioksidan olarak bilinir.
- Canlı organizmalarda ve *in vivo* koşullarda reaktif türlerle karşı koyan birçok antioksidan etki devreye girer. Antioksidanların önemi hangi serbest radikalın veya reaktif türün hangi miktarda, ne zaman, nasıl ve nerede üretildiğine ve zarar verebileceği hedefe bağlı olarak değişmektedir. Örneğin, insan vücut sıvıları ozon (O₃) veya azot dioksit (NO₂*) molekülüne

* Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

1 Aziz, M. A., Diab, A. S., & Mohammed, A. A. (2019). Antioxidant categories and mode of action. In *Antioxidants*. IntechOpen London, UK.

2 Yalçın, A. S. (1998). Antioksidanlar. *Klinik gelişim*, 11(342-346).

maruz kaldığında ürat koruyucu bir antioksidandır. Buna karşılık aynı ürat molekülü hipokloröz asitin (HOCl) plazmada verdiği zarara karşı çok az koruma sağlar.

- Reaktif tür kaynağının farklılığına ve hedef moleküllerin hangileri olduğuna bağlı olarak antioksidan etkinin değişmesi söz konusudur. Sonuç olarak, kabul gören ve öne çıkan tanım şöyledir: Antioksidanlar reaktif türlere karşı koyan ve onların hedefi olan moleküller üzerindeki etkilerini önemli ölçüde geciktiren veya önleyen maddelerdir.
- Son yıllarda antioksidan etkinin kapsamı hasar gören moleküllerin tamir mekanizmalarını içerecek şekilde genişletilmiştir. Antioksidan savunmanın düzeyi ve içeriği dokudan dokuya, hücre tipine (belirli bir dokuda aynı tipte hücreden hücreye) ve farklı hücre altı organellere göre değişkenlik gösterir. Hatta günün saatine göre de değişebilir. Hücre dışı sıvılar, hücre içi ortamdan farklı koruyucu mekanizmalara sahiptir.
- Antioksidan savunma genetik polimorfizmlerden de etkilenebilir. Ayrıca organizmanın yüksek seviyede reaktif türlere ve sitokinlere maruz kalmasından sonra da antioksidan savunmada artış olur. Egzersiz, antioksidan savunma mekanizmalarının seviyesini yükseltir.

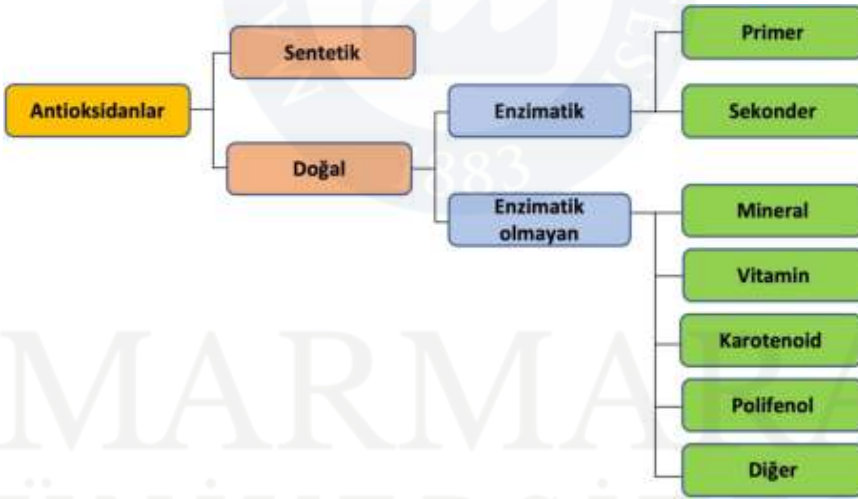
Sınıflandırma

Antioksidanlar çeşitli şekillerde sınıflandırılabilir.

1. Etki mekanizmalarına göre: enzimler ve enzim olmayanlar. Antioksidan enzimler zararlı oksidasyon ürünlerini önce hidrojen peroksit'e daha sonra suya dönüştürür. Bu reaksiyonlarda kofaktör olarak çeşitli metaller, örneğin bakır (Cu), çinko (Zn), mangan (Mn), selenyum (Se) ve demir (Fe) kullanılır. Bitkisel polifenoller, karotenoidler ve glutatyon ile C vitamini ve E vitamini, enzim olmayan antioksidanlardır. Bunlar serbest radikal zincir reaksiyonlarını engellerler.
2. Çözünürlüklerine göre: suda çözünen ve lipitlerde çözünenler. C vitamini sitoplazmada ve diğer hücresel sıvılarda bulunan bir suda çözünür antioksidandır.
3. Boyutlarına göre: küçük moleküller ve büyük moleküller. Küçük moleküller reaktif türleri süpürücü etki gösterir ve etkisizleştirirler. BU gruptaki moleküllerden başlıcaları C ve E vitaminleri, karotenoidler ve glutatyon'dur. Büyük moleküller arasında SOD, CAT ve GPx gibi enzimler ile albumin gibi

radikalleri tutan ve diğer proteinlere saldırıları engelleyen proteinler yer alır.

4. Antioksidanlar doğal ve sentetik antioksidanlar olarak da gruplanabilir. Antioksidan etkili mineraller (örneğin selenyum, bakır, demir, çinko ve mangan) antioksidan enzimlerin kofaktörü olarak görev yaparlar. Antioksidan vitaminlerden B, C ve E vitaminleri birçok vücut fonksiyonunun yerine getirilmesinde önemlidir. Doğal antioksidanların pek çoğu fenolik yapılardır. Bunlar zincir-kırıcı antioksidanlar olarak etki yaparak radikalleri daha kararlı yapılara dönüştürür. Fitokimyasallar olarak bilinen bu moleküllerden başlıcaları flavonoidler, kateşinler, karotenoidler, likopen, kurkumin ve türevleridir. Sentetik antioksidanlar ise radikalleri tutan ve zincirleme reaksiyonlarını durduran fenolik yapıda bileşiklerdir. Başlıca örnekler butillenmiş hidroksianisol (BHA), butillenmiş hidroksitoluen (BHT), propil gallat (PG), metal şelatlayıcı bir ajan olan EDTA'dır.



Şekil 1. Antioksidanların sınıflandırması

Süperoksit radikalinin etkisizleştirilmesi

Süperoksit radikali çeşitli yollarla hücre hasarına yol açabilir. Öncelikle, kendisini ortadan kaldıran antioksidan enzimlerin aktivitesini azaltabilir. Hidrofobik bir yapı olan hücre zarının iç kısmında üretilen $O_2^{\bullet-}$ reaktiftir ve çevresindeki yapılara zarar verir. Protonlanmış hâli (HO_2^{\bullet}), daha da reaktiftir ve yağ asitlerinin peroksidasyonunu başlatabilir. Yüksüz olan HO_2^{\bullet} , membranı kolay bir şekilde geçer. Bu nedenle membrana yakın yerlerde oluşan HO_2^{\bullet} ile membran içinde oluşan $O_2^{\bullet-}$ kolayca hasara neden

olabilir. Süperoksit radikalinin zarar verdiği bazı proteinlere örnek olarak, 6-fosfoglukonat dehidrataz, akonitaz, fumaraz gibi enzimler verilebilir. Krebs döngüsü, enerji metabolizması ve amino asitlerin sentezi ile ilgili reaksiyonlar $O_2^{\bullet-}$ 'nin zarar verdiği başlıca olaylardır. Süperoksit, pentoz fosfat yolunda önemli bir enzim olan transketolaz ile de etkileşime girebilir. Aktif bölgedeki ara ürünü oksitleyerek enzimi inhibe eder. Bir başka hedef, DNA öncüllerini sağlayan ribonükleotit redüktazdır. Bu enzim, aktif bölgedeki tirozin radikalini söndürebilen NO ve $O_2^{\bullet-}$ gibi radikaller tarafından inaktive edilir. Süperoksit direkt hasara neden olmasının yanı sıra diğer reaktif türleri üreterek de hücrelere zarar verebilir. Örneğin, spontan veya süperoksit dismütaz (SOD) katalizli dismutasyonu H_2O_2 üretir. Hidrojen peroksitin fizyolojik seviyelerdeki reaktivitesi azdır. Daha sitotoksik bir tür fizyolojik koşullar altında bir dizi zararlı türü üreten peroksinitrit ($ONOO^-$)'tir.

Süperoksit dismütaz

Hücredeki başlıca detoksifikasyon enzimidir. Reaktif oksijen türlerine karşı koyan en güçlü antioksidan moleküldür ve birinci basamak savunma sisteminin bileşeni olarak hareket eder.³ Süperoksit dismütaz (SOD), iki süperoksit anyonunun ($O_2^{\bullet-}$) reaksiyona girmesini ve hidrojen peroksit (H_2O_2) ile moleküler oksijene (O_2) ayrışmasını katalizler.



Böylece potansiyel olarak zararlı bir molekül olan süperoksiti daha az tehlikeli hale getirir. Enzim aktivitesi için gerekli kofaktör olan metal iyonunun tipine bağlı olarak çeşitli formları vardır. SOD'a bağlı olan metal iyonları demir (Fe), çinko (Zn), bakır (Cu) ve manganezdır (Mn).

- Fe-SOD: prokaryotlarda ve bazı bitkilerin kloroplastlarında yaygın olarak bulunur.
- Mn-SOD: prokaryotlarda ve ökaryotlarda mitokondride bulunur.
- Cu/Zn-SOD: ökaryotlarda baskındır, sitozolle birlikte peroksizomlarda da bulunur.

SOD mimetikleri, doğal enzimi taklit eden sentetik bileşiklerdir. Bunlar düşük molekül ağırlıklı katalitik antioksidanlardır. Oksidatif stresden kaynaklanan hastalıkların tedavisi için önemli bir seçenek sunan bu moleküller boyutlarının küçük olması ve uzun yarı ömürleri nedeniyle ilgi görmektedir.

3 Ignarro, L. J., Buga, G. M., Wood, K. S., Byrns, R. E., & Chaudhuri, G. (1987). Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(24), 9265-9269.

Süperoksit redüktaz

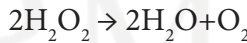
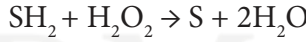
Süperoksit redüktazlar (SOR), süperoksit radikalini hidrojen peroksite dönüştürebilen ve yapılarında kofaktör olarak hem grubu yerine demir içeren proteinlerdir.⁴ SOD'un yapısında farklı metaller yer alabilirken, süperoksit redüktaz sadece demir içerir. Katalizlenen reaksiyonun ilk aşamasında yükseltgenmiş olan SOR daha sonra bir hücrel elektron vericisi ile yeniden indirgenir. Enzimin katalizlediği genel reaksiyon şöyledir:



SOR sadece radikal miktarını azaltırken, SOD hem radikali okside eder hem de radikal miktarını azaltır. Bu nedenle, SOD'dan farklı olarak, SOR aracılığıyla H_2O_2 oluşurken O_2 üretimi gerçekleşmez. Bu durum anaeroblar için bariz bir avantaj sağlamaktadır. Ancak bu enzimlerin katalitik verimlilikleri SOD'lardan daha azdır. SOR'ların tek-Fe içeren ve iki-Fe içeren iki ana sınıfı vardır. Enzimin aktivitesi için gerekli elektron donörleri NADH veya NADPH'dir. Genomik çalışmalar, SOR'ların tüm anaerobik bakterilerde mevcut olabileceğini düşündürmektedir.

Hidrojen peroksitin etkisizleştirilmesi

Hidrojen peroksit ortamdan iki farklı enzim aktivitesi aracılığıyla uzaklaştırılır. Bunlardan peroksidazlar hidrojen peroksiti başka bir süstratı oksitlemek için kullanırlar. Başlıca örnekler glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleri ve peroksiredoksinlerdir, ancak başkaları da vardır. Katalazlar ise hidrojen peroksitin doğrudan moleküler oksijene ayrışmasını katalize ederler.⁵



Katalaz

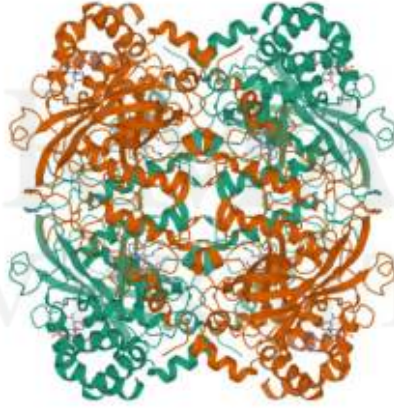
Katalaz, hidrojen peroksiti suya ve moleküler oksijene çevirerek oksidatif stresi önemli ölçüde azaltan bir antioksidan enzimdir. Hemen hemen tüm aerobik organizmalarda bulunur. Katalaz eksikliğinin veya bozukluğunun birçok hastalığın patogenezi ile ilişkili olduğu varsayılmaktadır.⁶

Karaciğer katalazı aktif merkezinde Fe^{+3} -hem bulunduran dört alt birimden oluşmuş bir enzimdir (Şekil 2). Her alt birim kendisine

-
- 4 Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, USA.
 - 5 Gaetani, G. F., Galiano, S., Canepa, L., Ferraris, A. M., & Kirkman, H. N. (1989). Catalase and glutathione peroxidase are equally active in detoxification of hydrogen peroxide in human erythrocytes. *Blood*, 73(1), 334–339.
 - 6 Góth, L., Rass, P., & Páy, A. (2004). Catalase enzyme mutations and their association with diseases. *Molecular Diagnosis*, 8(3), 141-149.

bağlı bir NADPH molekülüne sahiptir. Katalazda bulunan hem grubu yüzeyin en az 20 Å altına gömülüdür ve buraya sadece hidrofobik kalıntılarla kaplı bir kanal tarafından erişilebilir. Hem grubunun dar kanallarla yüzeye bağlanan ve apolar ceplere gömülmesi H_2O_2 dışındaki moleküllerin buraya erişmesini önlemektedir.

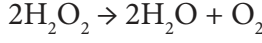
E. coli'de iki farklı katalaz enzimi vardır. ⁷ Bunlardan biri hidroperoksidaz II (HP-II) olarak bilinir. Bu enzim KatE geni tarafından kodlanır, bir tetramerdir ve alt birim başına bir NADPH içermeyen hem grubu vardır. Diğer enzim olan ve KatG geni tarafından kodlanan hidroperoksidaz I (HP-I) hem katalaz hem de peroksidaz aktiviteleri olan bir tetramerdir. HP-I birçok bakteride mevcuttur. Bu enzim iki fonksiyonlu bir katalaz-peroksidazdır. Hem aerobik hem de anaerobik koşullar altında bulunur. Ortama H_2O_2 ilave edildiğinde HP-I seviyeleri artar. Buna karşılık H_2O_2 HP-II'yi indüklemez. *Pseudomonas aeruginosa*'da üç farklı katalaz vardır (Kat A, Kat B, Kat E), ancak katalaz-peroksidaz yoktur. Katalaz aktivitesi eritrositler haricinde, büyük ölçüde peroksizomlarda mevcuttur. Peroksizomlar katalaz dışında H_2O_2 üreten birkaç başka enzimi de içerir. Bunlar glikolat oksidaz, ürat oksidaz ve yağ asitlerinin oksidasyonunda yer alan flavoprotein dehidrogenazlardır.



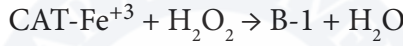
Şekil 2. Katalaz enziminin yapısı⁸

- 7 Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, USA.
- 8 RCSB Protein Data Bank. (01.11.2017). *The NADPH binding site on beef liver catalase*. <https://www.rcsb.org/structure/8cat>.

Katalaz tıpkı SOD gibi bir dismutasyon reaksiyonunu katalizlemektedir. Ancak burada H_2O_2 'lerden biri H_2O 'ya indirgenirken diğeri O_2 'ye oksitlenir.



Katalaz aktivitesi iki aşamada gerçekleşir. Birinci aşamada bir hidrojen peroksit molekülünün indirgenmesiyle ara bileşik B-1 oluşur. İkinci hidrojen peroksit molekülü, enzimi yeniden oluşturmak için bir oksijen ve su molekülü üreten bir indirgeyici ajan olarak işlev görür.



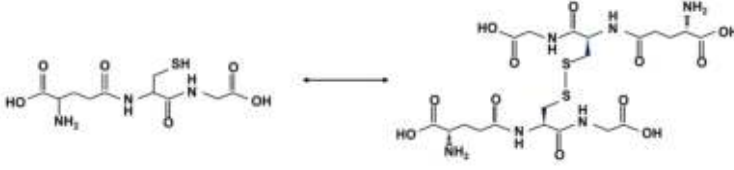
Katalaz azid, siyanür, peroksinitrit gibi bileşikler tarafından inhibe edilebilir. Ancak bu inhibitörler nonspesifiktir. İnhibitörler arasında en kullanışlı olanı katalazı *in vivo* olarak da inhibe eden aminotriazoldür.

Glutasyon ve glutasyonla ilişkili antioksidan enzimler

Glutasyon (GSH) γ -glutamil-sisteinil-glisin yapısında bir tripeptittir.⁹ Pek çok prokaryotik ve ökaryotik hücrede yüksek miktarlarda (mM konsantrasyon aralığında) bulunur. İlk kez 1888'de J. de Rey-Pailhade tarafından keşfedilen glutasyon, bir vitamin gibi hareket ederek çok sayıda hücre fonksiyonunun yerine getirilmesinde rol oynar.¹⁰ Hücreler arası iletişimin sürdürülmesi, -SH gruplarının oksitlenmesinin ve çapraz bağlanmasının önlenmesi ve askorbat metabolizmasındaki indirgeyici gücü bunlardan bazılarıdır. Glutasyonun indirgenmiş ve yükseltgenmiş şekilleri vardır. İndirgenmiş glutasyon etkili bir radyokoruyucudur. İndirgenmiş-yükseltgenmiş glutasyon çifti (GSH/GSSG) pek çok hücrenin redoks durumuna katkıda bulunur. Hücrelerdeki [GSH]/[GSSG] oranı, oksidatif stresin ve hücre redoks homeostazının önemli bir belirteçidir.

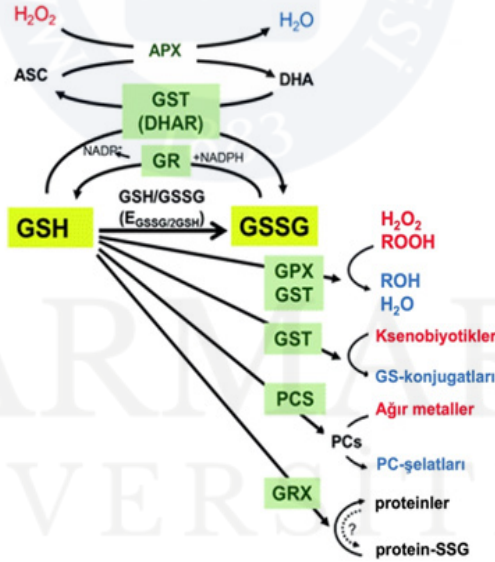
9 Gad, S. C. (2014). Glutathione. In P. Wexler (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)* (pp. 751). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00850-2>.

10 Forman, H. J., Zhang, H., & Rinna, A. (2009). Glutathione: overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Molecular Aspects of Medicine*, 30(1-2), 1-12.



Şekil 3. İndirgenmiş (GSH) ve yükseltgenmiş (GSSG) glutatyon molekülleri

Özellikle karaciğerde hücre içi GSH seviyeleri yüksektir. GSH indirgeme özellikleri ile bağlantılı olarak, doğrudan veya enzimatik kataliz yoluyla etki eden bir elektrofilik antioksidandır. Glutatyon, protein katlanmasında ve insülin gibi bazı kükürlü proteinlerin yapımında da önemli rol oynar. Ayrıca Cu/Zn-SOD enzimine bakır sağlar, çeşitli enzimlerin kofaktörüdür.¹¹ Başlıcaları glutatyon peroksidaz, glutatyon transferaz, glikoksalaz ile lökotrien sentezinde yer alan enzimlerdir (Şekil 4).



Şekil 4. Glutatyon ile ilişkili enzimlerin katıldığı metabolik olaylar^{11 12}

- 11 Meister, A., & Anderson, M. E. (1983). Glutathione. Annual Review of Biochemistry, 52(1), 711-760.
- 12 Csiszár, J., Horváth, E., Bela, K., & Gallé, Á. (2016). Glutathione-Related Enzyme System: Glutathione Reductase (GR), Glutathione Transferases (GSTs) and Glutathione Peroxidases (GPXs). In D. K. Gupta, J. M. Palma, & F. J. Corpas (Eds.), *Redox State as a Central Regulator of Plant-Cell Stress Responses* (pp. 137-158). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-44081-1_7.

Glutasyonun antioksidan etkileri şöyle sıralanabilir:

- Hidroksil radikallerini, diğer oksijen merkezli radikalleri ve 4-hidroksinonenal gibi lipit peroksidasyonu ürünlerinin radikal merkezlerini doğrudan baskılar.
- Hidrojen peroksitin ve diğer lipit hidroperoksitlerinin etkisizleştirilmesini sağlayan GSH peroksidaz (GPx) enziminin substratıdır. Bu sırada oluşan GSSG, NADPH gerektiren bir enzim olan GSH redüktaz tarafından tekrar GSH'ye indirgenir.
- Ksenobiyotiklerin ve elektrofilik bileşiklerin GSH ile konjugasyonu GSH transferazlar (GST) aracılığıyla gerçekleşir. Oluşan konjugatlar, γ -glutamiltransferaz enziminin substratıdır ve merkaptürik asit yolağıyla vücuttan dışarı atılırlar.

Mayaların ve daha yüksek bitkilerin GSSG'yi sitoplazmadan ayrı olarak vakuollerde depoladığı bildirilmiştir.¹³ Normalde hücrelerde GSH/GSSG oranı yüksek tutulur. Bunu sağlayan mekanizma glutasyon redüktaz tarafından katalizlenen reaksiyon ile GSSG'nin hızla GSH'ye dönüşümüdür.

Glutasyon redüktaz

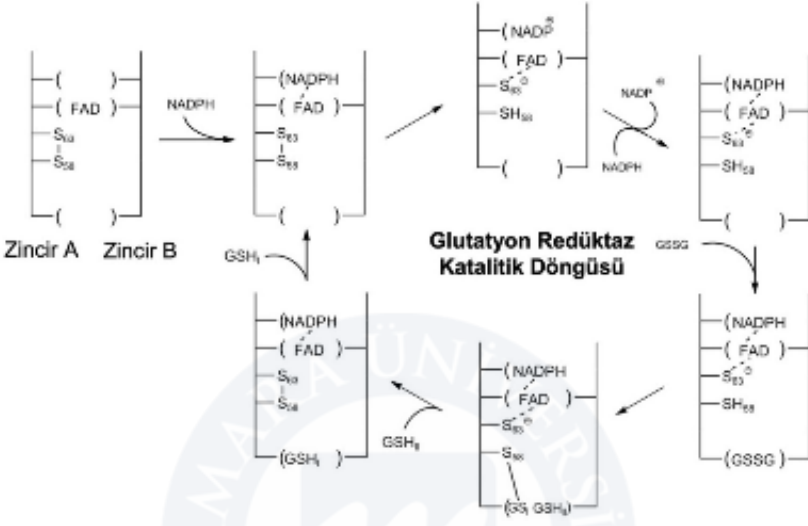
Prokaryot ve ökaryot hücrelerde bulunan NADPH'ye bağlı bir oksidoredüktazdır. Glutasyon redüktaz glutasyon disülfidin (GSSG, yükseltgenmiş glutasyon) glutatyona (GSH, indirgenmiş glutasyon) indirgenmesini katalizler.¹⁴



Glutasyon redüktaz her birinin aktif bölgesinde bir FAD bulunan iki alt birimden oluşmuştur ve homodimerik bir flavoproteindir. Reaksiyon sırasında enzim NADPH'nın elektronlarını aktif bölgedeki bir disülfid köprüsüne geçirir. Bu şekilde oluşturulan iki -SH grubu daha sonra GSSG ile etkileşime girer ve GSH'ye indirgeyerek proteindeki disülfiti yeniden düzenler.

13 Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, USA.

14 Couto, N., Wood, J., & Barber, J. (2016). The role of glutathione reductase and related enzymes on cellular redox homeostasis network. *Free Radical Biology and Medicine*, 95, 27-42.

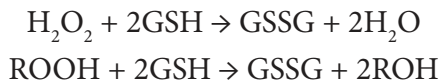


Şekil 5. Glutasyon redüktazın etki mekanizması

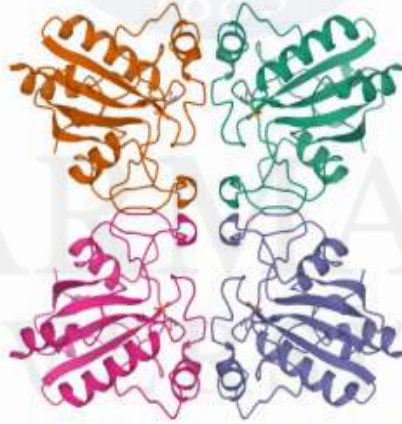
Glutasyon redüktaz enzim aktivitesi için gerekli olan NADPH birkaç mekanizma ile sağlanır. Başlıca kaynak pentoz fosfat yoludur. Bir başka NADPH kaynağı, özellikle mitokondride ve bir dereceye kadar da sitozolde bulunan ve serbest radikal kaynaklı hasarın hedefi de olabilen NADP⁺ bağımlı izositrat dehidrojenazdır. Nikotinamid nükleotid transhidrojenaz enzimi mitokondride NADPH sağlanmasında önemlidir. Bir diğer kaynak da NAD⁺ veya NADP⁺'nin indirgenmesiyle malatın CO₂ ve piruvata dönüşümünü katalize eden malik enzimdir.

Glutasyon peroksidaz

Glutasyon peroksidaz (GPx) enzimi ilk olarak 1957'de keşfedilmiştir. Hayvansal dokularda yaygın olarak mevcuttur, bitkilerde ve bakterilerde daha az görülür. Glutasyon peroksidaz bir hidrojen donörü olan GSH için spesifiktir ve merkaptosüksinat, merkaptopropiyonilglisin gibi tiyoller tarafından inhibe edilebilir. Enzim GSH oksidasyonu yolu ile H₂O₂'yi H₂O'ya indirger, H₂O₂ dışındaki peroksitlere de etki edebilir. İkinci durumda peroksit grubu bir alkole indirgenir.



Glutasyon peroksidaz enzim ailesinde birkaç tür GPx vardır.¹⁵ Bunlardan birincisi, genellikle GPx1 olarak adlandırılan ve ilk keşfedilen enzimdir. Esas olarak hücrelerin sitozolünde ve bir dereceye kadar nükleus, mitokondri ve peroksizomlarda bulunur. Kan plazması da düşük seviyede, bir glikoprotein olan PGPx içerir. Bu enzim GPx3 olarak adlandırılır. Esas olarak böbrekten kaynaklanır ve süt, seminal sıvı, amniyotik sıvı, gözün sulu kısmı ve akciğeri kaplayan sıvı gibi diğer hücre dışı sıvılarda da bulunur. Gastrointestinal sistemi kaplayan hücrelerde bir başka GPx türü bulunur. Bağırsak glutasyon peroksidazı GPx2 olarak adlandırılır. Gıda kaynaklı lipitlerin peroksitleri ile bağırsakta lipit peroksidasyonu ile üretilen peroksitleri metabolize etmeye yarar. İnsan karaciğerinde ise ailenin dördüncü üyesi olan GPx4 ile GPx2 bulunur. Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PHGPx) olarak da adlandırılan GPx4, sadece H₂O₂ ve sentetik organik peroksitleri değil, aynı zamanda esterleştirilen yağ asidi ve kolesterol hidroperoksitlerini de azaltarak etki yapar. GPx1 ve GPx2 kolesterol hidroperoksitlerine etki etmez, GPx3 ise bunları sadece yavaşça hidrolize edebilir. Genel olarak, dokulardaki GPx4 aktivitesi GPx1'den daha düşüktür. Testis yüksek miktarda GPx4 bulundurması ile bir istisnadır. Buradaki enzim, sperm başındaki protein tiyol gruplarının oksidasyonunu katalize eder ve spermin olgunlaşmasında önemli bir rol oynar.¹⁶



Şekil 6. Glutasyon peroksidaz enzimi (GPx1)¹⁷

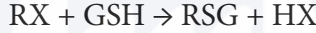
- 15 Margis, R., Dunand, C., Teixeira, F. K., & Margis-Pinheiro, M. (2008). Glutathione peroxidase family—an evolutionary overview. *FASEB Journal*, 22(15), 3959-3970.
- 16 Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, USA.
- 17 RCSB Protein Data Bank. (29.11.2017). *The refined structure of the selenoenzyme glutathione peroxidase at 0.2-nm resolution*. Retrieved 23.10.2022 from <https://www.rcsb.org/structure/1gp1>.

GPx1, GPx2 ve GPx3'te dört protein alt birimi yer alır (Şekil 6). Bunların her birinin aktif bölgesinde birer selenyum atomu bulunur. GPx4 ise yine selenyum içeren bir monomerdur. Selenyum, periyodik tablonun VI. grubundaki bir elementtir. Yer kabuğunda kükürten yaklaşık bin kat daha az Se bulunur ve kimyası kükürte benzerdir. Selenyumun varlığı pKa'yı düşürerek (-SH için 8.3, -SeH için 5.2) ve iyonlaşmayı destekler. Selenosistein, GPx genlerinde bir durdurma kodonu olan TGA olarak kodlanır. Hayvanların beslenmesinde selenosistein sağlamak için Se önemlidir. Selenyumun birçok başka metabolik görevi vardır.¹⁸ Tiyoredoksin redüktaz ve metiyonin sülfoksit redüktaz enzimlerinin bir bileşenidir. Tiroid hormonlarının biyosentezinde, tiroksini (T4) biyolojik olarak daha aktif olan 3,3,5-triiodotironine (T3) dönüştüren iyodotironin-5-deiyodinaz enziminin aktivitesi için gereklidir. Selenyum *in vivo* olarak başka yapılarda da bulunur. İnsanların ve diğer hayvanların plazmasında karaciğer tarafından üretilen bir glikoselenoprotein olan selenoprotein P üzerinde molekül başına on selenosistein vardır. Bu protein testis ve beyin gibi dokulara Se taşıyıcısı olarak hareket eder. Ayrıca elektron vericisi olarak davrandığı ve tiyoredoksin ile GPx gibi fosfolipid hidroperoksitlerini azaltan antioksidan özelliğe sahip olduğu ileri sürülmüştür. Birçok dokuda bulunan ve bir hücre içi protein olan selenoprotein W de bazı hücre kültür sistemlerinde antioksidan özellik göstermektedir. Ancak *in vivo* olarak bu şekilde hareket edip etmediği belirsizdir. GPx aktivitesine sahip ancak selenyum içermeyen başka enzimler de keşfedilmiştir. Bunlar bitkilerde ve bakterilerde hayvanlardan daha yaygındır. Selenyum eksikliği hayvanlarda beyaz kas hastalığı, kas kaybı, kalp hastalığı ve kısırılık gibi çeşitli hastalıklara neden olur. Selenyumun insan diyetindeki önemi bir dejeneratif kalp hastalığı olan Keshan hastalığı keşfedildikten sonra tam olarak anlaşmıştır. Semptomlar kalbin zayıflaması ve genişlemesi ile kalp ritmi bozukluklarını içermekte ve şiddetli vakalarda kalbin durmasıyla sonuçlanmaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar, Keshan hastalığı insidansının Se eksikliği ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Hem Keshan hastalığı hem de hayvan hastalıkları, düşük dozlarda sodyum selenit (Na_2SeO_3) ile önlenir. Kuzey Çin, Kuzey Kore ve Doğu Sibiryadaki çocuklarda görülen engelli bir eklem hastalığı olan Kashin-Beck hastalığında da Se eksikliği görülmüştür. Hastalığın erken evrelerinde sodyum selenit ve α -tokoferol uygulanması faydalıdır.

18 Wrobel, J. K., Power, R., & Toborek, M. (2016). Biological activity of selenium: Revisited. *IUBMB life*, 68(2), 97-105.

Glutasyon transferazlar

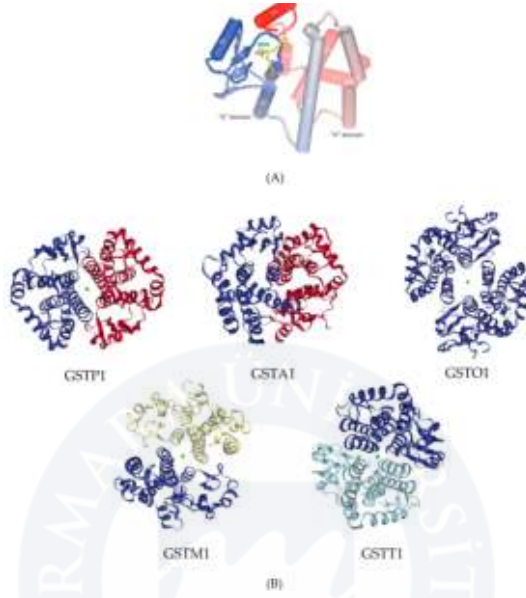
Glutasyon S-transferazlar (GST) elektrofilik bileşikler ile GSH arasındaki konjugasyonu sağlayan enzim ailesidir.¹⁹ Hayvanlarda ve bitkilerde çok yaygın dağılım gösterirler ve genellikle hücrenin sitozol fraksiyonunda bulunurlar. Bu enzimlerin üç ana işlevi vardır: 1. Detoksifikasyondaki rolleri konjugasyon ve indirgeme özelliği ile ilişkilidir. 2. Hücre içi taşıyıcı protein olarak rolleri vardır. 3. Organa özgü toksisite oluşumuna katkı yaparlar. Aralarında antibiyotikler, vazodilatörler, analjezik ve antikanser ilaçlar ile herbisit, insektisit ve karsinojenlerin bulunduğu pek çok yabancı bileşiğin etkisizleştirilmesinde ilk aşama GSH ile konjugasyondur.²⁰ Bu reaksiyonlar GST kataliziyle gerçekleşir. GSH konjugatları merkaptürik asit oluşumuyla vücuttan dışarı atılır.



GST enzim ailesi çok sayıda izoenzimi içerir. Farklı monomerlerin değişik kombinasyonlarından oluşan bu enzimler dimerik yapıdadır (Şekil 7). Uzun yıllar bu enzimlerin isimlendirmesi konjuge olan substratın tipine bağlı olarak yapılmıştır. Bu enzimler tarafından metabolize edilen bileşikler arasında kloroform, adriyamin, organik nitratlar, bromobenzen, aflatoksin, naftalin ve parasetamol da yer alır. Enzim aktivitesi yaygın olarak kullanılan 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) ile glutasyonun oluşturduğu ürünün spektrofotometrik olarak ölçümü ile belirlenmektedir. GST izoenzimlerinden biri GSH peroksidaz aktivitesi göstermekte ve organik hidroperoksitleri etkisizleştirmektedir. Bu enzim yapısında selenyum içermez.

19 Flanagan, J., & Jowsey, I. (2005). Glutathione transferases. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45, 51-88.

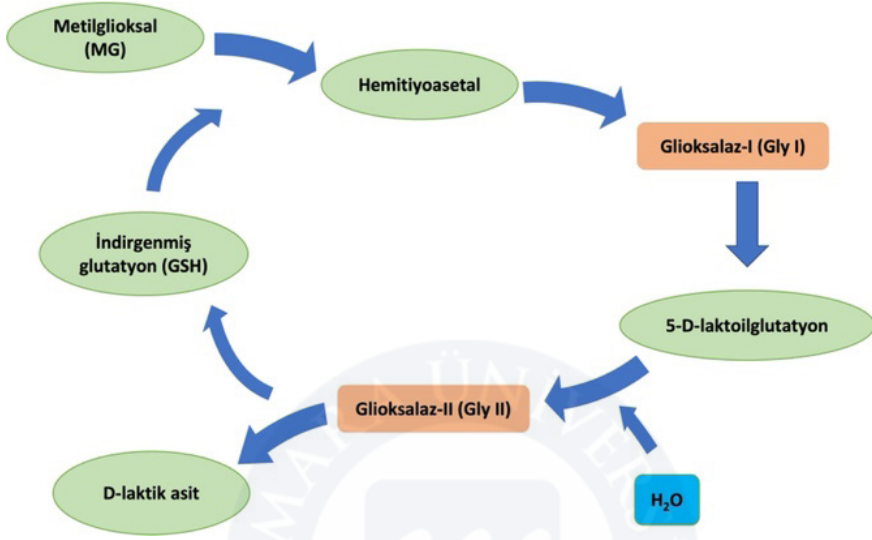
20 Orhan, H., & Şahin, G. (1995). Glutasyon S-Transferazların Klinik ve Toksikolojik Önemi. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi* 15(5), 303-315.

Şekil 7. Glutasyon S-transferazlar²¹

Glioksalaz

Metilglioksal (CH_3COCHO) lipid peroksidasyonu sırasında oluşan bir reaktif karbon bileşiğidir. Ayrıca, enzimatik olmayan reaksiyonlarla, glikoliz ara maddeleri gliseraldehid 3-fosfat ve dihidroksiaseton fosfattan ve sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) aracılığı ile asetonadan da oluşabilir. Balda ve birçok başka gıdada da bulunur. İleri glikasyon son ürünlerinin üretilmesinde aracıdır, sistein, arginin ve lizin kalıntılarına kovalent bağlanır, DNA ve proteinlerle hızlı reaksiyona girer. Bu nedenle hızlı bir şekilde uzaklaştırılması önemlidir.²² Metilglioksal ve glutasyonun enzimatik olmayan yolla oluşturdukları kompleks, glioksalaz 1 tarafından S-laktoilglutasyon haline oksitlenir. Daha sonra S-laktoilglutasyon, glioksalaz 2 tarafından D-laktata hidrolize edilir. Böylece GSH yeniden üretilir (Şekil 8). Glioksalaz 1 ve glioksalaz 2 enzimleri pek çok canlıda bulunur.

- 21 Pljesa-Ercegovac, M., Savic-Radojevic, A., Matic, M., Coric, V., Djukic, T., Radic, T., & Simic, T. (2018). Glutathione Transferases: Potential Targets to Overcome Chemoresistance in Solid Tumors. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(12), 3785. <https://www.mdpi.com/1422-0067/19/12/3785>.
- 22 Sousa Silva, M., Gomes, R. A., Ferreira, A. E., Ponces Freire, A., & Cordeiro, C. (2013). The glyoxalase pathway: the first hundred years... and beyond. *Biochemical Journal*, 453(1), 1-15.



Şekil 8. Glioksalaz yolu

Protein disülfid izomeraz

Yeni sentezlenen proteinlerin katlanmasına yardımcı olmak için hücrede şaperon adı verilen proteinler bulunur. Bu sırada disülfid köprülerini doğru sistein kalıntıları arasında oluşturmak önemlidir ve polipeptit zincirinde en uygun konumlardaki - SH grupları birleşmelidir. Protein-disülfid izomeraz (PDI), aktif bölgesindeki disülfidlerle ve redoks değişimi yolu ile yeni disülfid köprülerinin oluşumunu ve aynı zamanda yanlış olanların yeniden düzenlenmesini katalizleyen, H_2O_2 üreten ve protein-SH oksidasyonuna katkıda bulunabilen bir flavoenzimdir.²³ Enzim daha sonra endoplazmik retikulum oksidoredüktaz (ERO) veya GSSG redüktaz enzimleri tarafından yeniden oksitlenir.

Peroksiredoksinler

Peroksiredoksinler (Prx) sinyal iletimine aracılık eden ve sitokin kaynaklı peroksit seviyelerini kontrol eden bir antioksidan enzim ailesidir.²⁴ Peroksiredoksinler hücrede yüksek miktarda bulunurlar. *E. coli*'de en çok bulunan on protein arasında yer alırlar, eritrositlerde ikinci veya üçüncüdürler. Diğer memeli hücrelerinde çözümlü proteinin %0.1-0.8'ini oluştururlar. Bu enzimler hem fosforilasyonla

23 Ali Khan, H., & Mutus, B. (2014). Protein disulfide isomerase a multifunctional protein with multiple physiological roles. *Frontiers in Chemistry*, 2, 70.

24 Wood, Z. A., Schröder, E., Harris, J. R., & Poole, L. B. (2003). Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins. *Trends in Biochemical Sciences*, 28(1), 32-40.

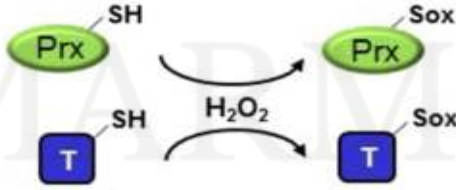
hem de redoks ve oligomerizasyon durumlarındaki değişikliklerle düzenlenir. Peroksiredoksinler homodimer yapıdadır, prostetik grup içermezler. Aktif bölgelerindeki sistein kalıntılarına göre en az üç sınıf peroksiredoksin vardır. Bunlar tipik 2-cys (en yaygın), atipik 2-cys ve 1-cys peroksiredoksindir. Peroksidaz aktivitesi yoluyla hücrelerdeki koruyucu antioksidan rollerini oynar ve hidrojen peroksiti, peroksinitriti ve organik hidroperoksitleri (ROOH) detoksifiye ederler.

Son zamanlarda, Prx ailesi üyelerine bir dizi hücresel rol de atfedilmiştir. Bunlar arasında hücre proliferasyonuna, hücre farklılaşmasına ve apoptoza yol açan sinyalleşme basamaklarına aracılık etmek ve sitokin kaynaklı hidrojen peroksit seviyelerinin modülasyonu yer almaktadır. Peroksidaz aktiviteleri glutatyon peroksidazın ve katalazinkine benzemektedir.

1. Antioksidan aktivite



2. Redoks duyarlı bir hedefle rekabet



3. Redoks duyarlı bir hedefin aktivasyonu



Şekil 9. Peroksiredoksinlerin etki mekanizması²⁵

25 Christine, C. W., & Alexander, V. P. (2016). Kinetic approaches to measuring peroxidase reactivity. *Molecules and Cells*, 39(1), 26-30. <https://doi.org/10.14348/molcells.2016.2325>.

NADH oksidazlar

Hem bitki hem de hayvan hücrelerinin plazma membranına özgü, siyanüre dayanıklı ve hormona duyarlı enzimler olan NADH oksidazlar çeşitli rollere sahiptir. *Enterococcus faecium* gibi birçok bakteri NADH'yi oksitleyen ve oksijen molekülünü bazen H_2O 'ya bazen H_2O_2 'ye indirgeyen flavoprotein yapıdaki bu enzimleri içerir. Plazma zarının hormona duyarlı NADH oksidazı ise bir peroksidaz değildir. Elektronların NADH'den plazma membranındaki oksijene transferini sağlamak için bir terminal oksidaz işlevi görmektedir.²⁶

Hem ve hemoproteinler

Tüm aerob organizmalarda demir ve bakır iyonları çok önemli rollere sahiptir. Solunumda, O_2 taşınmasında, NO oluşumunda ve antioksidan savunmada yer alan çeşitli proteinlerin kofaktörü olarak görev yaparlar. Ancak aynı zamanda potansiyel tehlikeye sahiptirler ve prooksidanlardır. Serbest metal iyonlarının yanı sıra hem ve bazı hemoproteinler de oksidatif hasarı teşvik edebilir. Yetişkin bir erkek vücudu, çoğu hemoglobinde olmak üzere yaklaşık 4.5 g demir içerir. Karaciğer (çoğu ferritin içinde yaklaşık 1 g), iskelet kası (çoğu miyoglobin içinde 300 mg) ve makrofajlar (toplam 600 mg) önemli demir depolarıdır. Diyetten günde 1 ila 2 mg demir absorplanırken aynı miktar da kaybedilir. Kadınlarda menstrüasyon nedeniyle kan kaybı olduğundan daha az demir vardır. Plazma demir döngüsü yaklaşık 35 mg/gün olup, vücutta demir içeriğini düzenlemek için etkili mekanizmalar mevcuttur. En hafif demir metabolizması bozuklukları bile, her ikisi de zararlı olan eksikliğe veya aşırı yüklenmeye yol açar. Dünyada 500 milyondan fazla kişide demir eksikliği vardır. Birkaç milyon kişide de aşırı demir yükü olduğu tahmin edilmektedir. Demir vücuttan ter, dışkı, idrar ve özellikle kadınlarda adet kanaması nedeniyle kan yoluyla ve az miktarda da akciğerler tarafından mukus bileşiminde atılır. Gıdalardaki demir en kararlı oksidasyon durumu olan Fe^{+3} durumundadır. Mide öz suyunda bulunan askorbat ve hidroklorik asit gibi Fe^{+2} 'ü indirgeyen ajanlar, demir emilimini kolaylaştırır. Demir alımını birçok diyet bileşeni etkiler. Örneğin, tahıllarda, kabuklu yemişlerde ve baklagillerde bulunan inozitolheksafosfat demiri şelatlar ve emilimini yavaşlatır. Hemdeki demir ise farklı bir yoldan emilir.²⁷ Bağırsakta hemoproteinlerin proteoliziyle salınan hem geri alınırken,

26 Moore, K. J., Sheedy, F. J., & Fisher, E. A. (2013). Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. *Nature Reviews Immunology*, 13(10), 709-721. <https://doi.org/10.1038/nri3520>.

27 Larsen, R., Gouveia, Z., Soares, M. P., & Gozzelino, R. (2012). Heme cytotoxicity and the pathogenesis of immune-mediated inflammatory diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 3, 77.

mukoza hücrelerinde hem oksijenazın etkisiyle hemin içerdiği demir çıkarılır. Diyetle alınan hem demirinin önemli bir miktarı, hem yapısında olmayan demirden daha çok absorplanır ve demir bağlayıcı ajanlardan etkilenmez. Demir daha sonra bağırsak mukozasından kana salınır, ancak bir miktarı da mukozal hücreler içinde ferritin olarak depolanır. Demirin serozal salımı, demir ayarlı taşıyıcı-1 geni tarafından kodlanan protein ferroportini içerir.

Bağırsaktan plazmaya demir çıkışı, bakır içeren bir protein olan hephaestin tarafından kolaylaştırılır. Bakır eksikliğinin demir alımını bozduğu bilinmektedir.²⁸ Bakır iyonları, bazen demir iyonlarından da daha etkili olan güçlü bir oksidatif hasar katalizörüdür. Bakır iyonları askorbatın oksidasyonuna, oksidatif DNA hasarına ve LDL'nin peroksidasyonuna neden olur. Bu nedenle organizma bakır iyonlarını dikkatli bir şekilde ele almalı, çoğunu veya tamamını proteine sıkıca bağlı halde tutmalıdır. Bakır içeren proteinler arasında SOD1, EC-SOD ve sitokrom oksidaz bulunur. Sadece aşırı bakır miktarı değil, aynı zamanda bakır yokluğu da oksidatif stresi arttırabilir. Bakır yokluğu SOD ve sitokrom oksidaz aktivitelerini azaltarak mitokondriyal $O_2^{\bullet-}$ üretimine neden olur. Yetişkin bir insan yaklaşık 80 mg bakır içerir. Hem diyetteki bakırdan, hem de geri dönüştürülmüş yani karaciğer tarafından safraya salınan bakırdan günde yaklaşık 1 mg kadarı emilir. Bakır emilimi esas olarak duodenumdandır. Bağırsak mukozal hücrelerine giren tüm bakır kana girmez, bir miktarı depolanır veya kaybedilir. Geri kalanı ise a2-makroglobulin ve albümine bağlı halde kana girer. Albüminde bakır için yüksek afiniteli bir bağlanma yeri ile bir dizi daha zayıf bağlanma yeri vardır.

Hemoglobin ve miyoglobin sırasıyla eritrositlerde ve kas dokusunda bulunan proteinlerdir. Her ikisi de $O_2^{\bullet-}$ ve Fe^{+3} proteini oluşturmak için yavaşça oksidasyona uğrar. Hem merkezine kolayca nüfuz eden H_2O_2 ile karşılaştıklarında hasar ortaya çıkabilir. Hemoglobin veya miyoglobin aşırı miktarda peroksitlere maruz kaldığında, Fe^{2+} iyonları oksitlenir ve protein parçalanır. Hem ve demir iyonları serbest kalınca hem halkası açılır. Açığa çıkan hem ve demir lipit peroksidasyonunu uyarabilir. Ayrıca demir iyonları varlığında OH^{\bullet} oluşabilir.²⁹

Hem oksijenaz (HO) hemen hemen tüm türlerde bulunan bir enzimdir.³⁰ Hemin biliverdine parçalanmasını katalize ederek demir

28 Arredondo, M., & Nunez, M. (2005). Iron and copper metabolism. *Molecular Aspects of Medicine*, 26, 313-327.

29 Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, USA.

30 Chau, L.-Y. (2015). Heme oxygenase-1: emerging target of cancer therapy. *Journal of Biomedical Science*, 22(1), 1-7.

iyonlarını ve karbon monoksiti serbest bırakır. Biliverdin, sitozoldeki biliverdin redüktaz enzimi tarafından bilirubine dönüştürülür. Hem oksijenazın üç izoformu karakterize edilmiştir. Bunlardan birincisi çeşitli dokularda, çoğunlukla da ER'de bulunan temel izoformdur (HO-2). Karotiste O_2 algılamasına katılır, hemi parçalar ve K^+ kanallarını açık tutacak olan CO'ı oluşturur. Hipoksida ise CO oluşumu yavaşlar, K^+ kanalları kapanır ve solunum hızını artıran bir alarm sinyali tetiklenir.

Hem oksijenazın bir diğer izoformu olan HO-1 bir ısı şoku proteini olan Hsp32 ile aynı proteindir. Bu protein stres ile indüklenebilir. Çeşitli hücre tiplerinde serbest hem, bazı metal iyonları, hipoksi, H_2O_2 , ısı şoku ve seçilmiş sitokinler gibi uyarılarla miktarı artar. HO-1 yaşlanmış olan eritrositlerin işlenmesi ve hemin parçalanması için gereklidir. Karaciğerin Kupffer hücrelerinde, kemik iliğinde ve dalakta yüksek seviyelerde bulunur. Hem oksijenaz enzimleri bir taraftan potansiyel bir antioksidan olan bilirubini ve prooksidan olan demir iyonlarını üretirken, prooksidan olan hemi de uzaklaştırır. Bu çelişkili rolleri nedeniyle antioksidan olarak sınıflandırılmaları tartışmalıdır.³¹

Küçük molekül yapısındaki antioksidanlar

Bazı küçük moleküllerin antioksidan olarak önemli olduğu düşünülmektedir. Bunların bir kısmı, örneğin GSH, vücutta *in vivo* olarak yapılırken diğerleri diyetten elde edilir.

Bilirubin

Bilirubin hemoglobin yıkım ürünlerinden biridir. Yıkım ürünlerinden biliverdin mavi yeşil, bilirubin ise parlak sarı renktedir. Doku yaralanması sürecinde, kırmızımsı kahverengi çürük rengi ekstrasvasküler hemoglobinden kaynaklanır. Doku iyileştikçe de bu renk yeşilimsi sarıya değişir. Memelilerde üretilen bilirubinün %80'i yaşlı eritrositlerden kaynaklanır. Dalak, karaciğer ve kemik iliğindeki retikuloendotelyal sistem hücrelerinde, eritrositlerin yıkımı sırasında hemoglobin hem oksijenaz (HO) aracılığıyla katabolize olmaktadır. Bilirubin miyogloblin, katalaz ve sitokromlar gibi diğer hemoproteinlerin parçalanmasıyla da oluşabilir. Yetişkinlerde günlük olarak 270 mg civarında bilirubin üretilir. Fizyolojik pH'da suda çözünmeyen bilirubin, dolaşımında albümine sıkıca bağlıdır. Bu bağlanma bilirubini karaciğere yönlendirir. Böylece ekstrahepatik dokuların, özellikle beyin gibi lipit bakımından zengin olanların bilirubin alımı önlenir. Albümin-bilirubin kompleksi ayrıştıktan

31 Ayer, A., Zarjou, A., Agarwal, A., & Stocker, R. (2016). Heme oxygenases in cardiovascular health and disease. *Physiological Reviews*, 96(4), 1449-1508.

sonra, bilirubin bir taşıyıcı protein aracılığıyla hepatosite girer ve sitozolik proteinlerden ligandine (GST) bağlanır. Daha sonra bilirubin glukuronik asit ile konjugasyona uğrar. Böylece suda çözünür olan ve safrayla atılan monoglukuronidler ve diglukuronidler oluşur. Konjugasyonun yetersiz ve bozulmuş olduğu prematüre bebeklerde yenidoğan sarılığı görülür. Bilirubinün önemli bir antioksidan olduğuna dair ilk bilgiler, hücre kültüründe koruyucu etkilerini gösteren deneylere dayanmaktadır. Daha sonraları hayvanlarda yapılan pek çok çalışmada serum bilirubin düzeylerinin koroner kalp ve solunum yolu hastalıkları yanısıra aterosklerotik vasküler hastalık ve inme riskiyle de ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte kandaki yüksek bilirubin seviyelerinin beyin ve diğer dokular için toksik olduğu da bilinmektedir.³²

Alfa-keto asitler

Başta piruvat, glioksalat ve α -ketoglutarat olmak üzere birçok keto asit, H_2O_2 ile nonenzimatik olarak reaksiyona girer. Bu moleküller *in vitro* olarak mM seviyelerde hücre kültürü ortamına eklendiklerinde ortamdaki H_2O_2 , HOCl ve ONOOH temizlenmektedir. Alfa-keto asitlerin *in vivo* olarak da antioksidan işlev gördüğü düşünülmektedir.³³

Melatonin

Epifiz bezinin çok yönlü işlevi olan bir salgısıdır. Yapılan pek çok çalışmada, melatoninin serbest radikal temizleyici bir antioksidan ve önemli bir immünomodülatör olduğu gösterilmiştir. Melatoninin radikal temizleme yeteneğinin elektron aktarımı yoluyla olduğu düşünülmektedir. Melatonin SOD, GPx, GSH redüktaz ve katalaz gibi bir dizi antioksidan enzimi uyarır. Glutatyon sentezindeki hız kısıtlayıcı enzim olan γ -glutamilsistein sentaz üzerinden de hücre içi GSH seviyelerini artırır. Melatonin ayrıca nitrik oksit sentaz, ksantin oksidaz ve lipooksijenaz gibi prooksidan enzimleri inhibe etmektedir. Hücre zarını stabilize ettiğine ve zar yapısındaki bileşenlerin oksidatif hasara karşı direnmesine yardımcı olduğuna dair kanıtlar vardır.³⁴

32 Sedlak, T. W., Saleh, M., Higginson, D. S., Paul, B. D., Juluri, K. R., & Snyder, S. H. (2009). Bilirubin and glutathione have complementary antioxidant and cytoprotective roles. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(13), 5171-5176. <https://doi.org/doi:10.1073/pnas.081.313.2106>.

33 Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, USA.

34 Kurutas, E. B. (2015). The importance of antioxidants which play the role in cellular response against oxidative/nitrosative stress: current state. *Nutrition journal*, 15(1), 1-22.

Alfa-lipoik asit

Alfa-lipoik asit (ALA) metal şelatlama ve anti-glikasyon yeteneklerine sahip kükürt içeren bir doğal bileşiktir. Sadece suda veya yağda çözünen birçok antioksidanın aksine hem lipit fazında hem de sulu fazda aktif olan bir moleküldür. Doğrudan serbest radikalleri etkisizleştirir, demir ve bakır gibi geçiş metal iyonlarını şelatlar, sitozolde GSH ve C vitamini seviyelerini artırır. ALA kolayca sindirilir ve emilir. Pek çok dokuda NADH veya NADPH tarafından hızla dihidrolipoik aside (DHHLA) dönüştürülür. ALA ile karşılaştırıldığında, DHHLA'nın daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. DHHLA serbest radikalleri nötralize ederken, GSH ve E vitamininden daha güçlü bir antioksidan olan C vitamininin rejenerasyonunu da sağlamaktadır.³⁵ Ekzojen ALA tedavisinin nörodejeneratif bozukluklarda terapötik potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir.

Koenzim Q

Bir serbest radikal olan ubisemikinon aracılığıyla mitokondriyal elektron taşınmasında gerekli bir moleküldür. Hücre zarlarında ve lipoprotein yapısında bulunur. Antioksidan olarak etkinliği, hem başlangıç hem de ilerleme aşamasında lipit peroksidasyonuna engel olmasından kaynaklanır. Protein oksidasyonuna ve DNA oksidasyonuna karşı koruyucu etkisi de bilinmektedir. Lipitlerdeki çözünürlüğü ve membranlardaki dağılımı açısından varlığı büyük önem taşımaktadır.³⁶

Diyet kaynaklı antioksidanlar

Askorbik asit (C vitamini)

Suda çözünür yapıda, beyaz kristalli bir katı maddedir. Birincil antioksidan etkisini E vitamini ve karotenoidlerle birlikte yürütmektedir.³⁷ Bu bileşikler, hem antioksidan enzimlerle beraber hem de tek başlarına etkilidir. C vitamini membran yapısında bulunan E vitamini ile iş birliği yapar, α -tokoferol radikallerinden α -tokoferolu rejenere ederek hücrenin indirgenmiş glutatyon

35 Packer, L., Witt, E. H., & Tritschler, H. J. (1995). Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radical Biology and Medicine*, 19(2), 227-250.

36 Bentinger, M., Brismar, K., & Dallner, G. (2007). The antioxidant role of coenzyme Q. *Mitochondrion*, 7 Supplement, S41-50. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2007.02.006>.

37 Bendich, A., Machlin, L., Scandurra, O., Burton, G., & Wayner, D. (1986). The antioxidant role of vitamin C. *Advances in Free Radical Biology & Medicine*, 2(2), 419-444.

seviyelerini yükseltir. Bu etkisiyle proteinlerdeki tiyol gruplarının oksidasyona karşı korunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Elektron bağışlama ve kolayca rejenere olma kabiliyeti nedeniyle, *in vivo* olarak çok etkili bir antioksidandır. Ayrıca indirgeyici madde özelliği ile hidroksil, peroksil ve süperoksit radikallerinin yanı sıra peroksinitrit, nitroksit radikalleri, tekli oksijen ve hipoklorit gibi reaktif türleri de etkili bir şekilde nötralize eder. Bütün bu etkileriyle fagositler, göz, beyin, mide ve sperm gibi yüksek miktarda serbest radikal stresine maruz kalan dokulara doğrudan antioksidan koruma sağlar. ³⁸ Çoğu hayvanın aksine insanlarda C vitamini endojen olarak sentezlenemez. C vitamini biyosentezinde önemli bir enzim olan gulonolakton oksidaz enzimini kodlayan gendeki bir dizi inaktive edici mutasyon sonrasında, insanlar bu molekülü sentez yeteneğini kaybetmiştir. Bu mutasyonların yaklaşık 40 milyon yıl önce meydana geldiği tahmin edilmektedir. Aşırı C vitamini eksikliği damarlarda kırılabilirlik, bağ dokusunun hasarı, yorgunluk ve ölümle sonuçlanan ağır bir tabloya neden olur. Polar bir bileşik olduğundan, C vitamini basit difüzyonla hücre zarından geçemez. Hücre içine ve dışına geçişi glukoz taşıyıcıları (GLUT) ile sodyum ve C vitamini taşıyıcıları gibi farklı membran proteinlerinin aracılık ettiği, kolaylaştırılmış difüzyon ve aktif taşıma gibi spesifik mekanizmalar tarafından kontrol edilir. ³⁹ C vitamininin toplam vücut içeriği 300-2000 mg arasında değişmektedir. Hücrelerde ve dokularda C vitamini seviyeleri milimolar konsantrasyondadır. Lökositlerde, gözlerde, adrenal bez, hipofiz bezi ve beyinde oldukça yüksek düzeylerde iken, eritrositlerde, plazmada ve diğer hücre dışı sıvılarda nispeten düşük düzeylerde, çoğu kez mikromolar konsantrasyondadır.

Alfa-tokoferol (E Vitamini)

Yağda çözünen bir vitamin olan E vitamininin iki şekli (tokoferoller ve tokotrienoller) ve bunların herbirinin α , β , γ ve δ olmak üzere dört analogu vardır. ⁴⁰ Hayvanlarda en etkili şekil, önceleri d- α -tokoferol olarak adlandırılan RRR- α -tokoferoldür. Tokoferoller (α , β , γ ve δ) bir kromanol halkasına ve bir fitol kuyruğuna sahiptir. Halka üzerindeki metil gruplarının sayısı ve pozisyonu farklılık gösterir. Bitkisel yağlar genellikle bir tokoferol karışımı içerir. Soya, mısır, ceviz ve kolza tohumu yağlarında α -tokoferolden daha fazla γ -tokoferol vardır.

-
- 38 Jacob, R. A., & Sotoudeh, G. (2002). Vitamin C function and status in chronic disease. *Nutrition in Clinical Care*, 5(2), 66-74.
- 39 Li, Y., & Schellhorn, H. E. (2007). New developments and novel therapeutic perspectives for vitamin C. *Journal of Nutrition*, 137(10), 2171-2184.
- 40 Jain, P., Singh, I., Surana, S. J., & Shirkhedkar, A. A. (2022). Chapter 6 – Tocopherols and tocotrienols: the essential vitamin E. In C. B. B. Cazarin, J. L. Bicas, G. M. Pastore, & M. R. Marostica Junior (Eds.), *Bioactive Food Components Activity in Mechanistic Approach* (pp. 139-154). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823569-0.00009-6>.

Badem ve ayçiçek yağı çoğunlukla α -tokoferol içerir. Palmiye yağı ise tokotrienoller açısından zengindir.

Tokoferoller, peroksil radikalleri ile çoklu doymamış yağ asitlerinden daha hızlı reaksiyona girer, lipit peroksidasyonunun zincirleme işleyişini kırarlar. Tokoferollerin en etkili olanı α -tokoferoldür. Nispeten kararlı bir tokoferoksil radikali oluşturmak için hızlı bir şekilde peroksil radikali ile reaksiyona girer. Yapısındaki fazladan elektron ile ilişkili yük, kromanol halkası boyunca dağıtılır. Bu rezonans etkisiyle de radikal stabilize olur, daha sonra farklı şekillerde reaksiyona girer. Sulu fazda askorbat, indirgenmiş GSH veya ürat gibi başka bir zincir kırıcı antioksidan aracılığı ile α -tokoferol yeniden oluşturulabilir. Başka bir seçenek, iki α -tokoferoksil radikalinin kararlı bir dimer oluşturmak için birleşmesi veya radikal tokoferol kinon oluşturmak için tamamen oksitlenmesidir.

E vitamini antioksidan rolüne ek olarak, membranları stabilize eden yapısal bir role sahiptir.⁴¹ İnsanlarda E vitamini eksikliği nadirdir. Ancak eksikliği hemolize neden olabileceği gibi, abetalipoproteinemide ortaya çıkan periferik nöropatiye de katkıda bulunabilir. Hücre zarında ve lipoprotein yapısında E vitamininin temel antioksidan fonksiyonu, peroksil radikallerini hapsedmek ve lipit peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu kırmaktır. E vitamini lipitlerce zengin bir ortamda karbon merkezli radikallerin ilk oluşumunu engellemez. Ancak ikincil radikallerin oluşumunu en aza indirir. Diyetteki E vitamini kaynakları arasında buğday tohumu, bitkisel yağlar ve bunları içeren gıdalar ile yağlı tohumlardan özellikle badem ve fındık, çeşitli tahıllar ve yeşil yapraklı sebzeler bulunur.

Karotenoidler

Karotenoidler ilk kez 1831'de havuçtan izole edilen ve bitkilerde yaygın olan bir grup renkli pigmenttir.⁴² Genellikle renkleri sarı, kırmızı veya turuncudur. Akvaryum balıklarında, somonda, istakozlarda, kuşların tüylerinde, bazı bakterilerde ve mantarlarda da karotenoidler bulunur. Kuşlar cinsel süsleme amacıyla kendilerini renklendirmek için sıklıkla karotenoidleri kullanırlar. Yüzlerce farklı karotenoid tanımlanmıştır.

İnsanda karotenoidler daha çok yağ dokusunda ve karaciğerde bulunur.⁴³ En yüksek konsantrasyon yumurtalık korpus luteumunda

41 Galli, F., Azzi, A., Birringer, M., Cook-Mills, J. M., Eggersdorfer, M., Frank, J., Cruciani, G., Lorkowski, S., & Özer, N. K. (2017). Vitamin E: Emerging aspects and new directions. *Free Radical Biology and Medicine*, 102, 16-36.

42 Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press, USA.

43 Johnson, E. J. (2002). The role of carotenoids in human health. *Nutrition in Clinical Care*, 5(2), 56-65.

ve adrenal bezdedir. Doku ve plazma karotenoid seviyeleri diyetle göre değişkenlik gösterir. Plazma seviyeleri genellikle mikromolar aralıktadır (likopen: 0.5–1.0 μM ; β -karoten: 0.2-0.6 μM ; α -karoten: 0.05-0.1 μM ; lutein: 0.3 μM). Gastrointestinal kanaldan emilen diyet kaynaklı karotenoidlerin miktarları hangi gıdaların yenildiğine ve gıdanın nasıl işlendiğine bağlıdır.

Karotenoid emilimi için bir miktar diyet yağı gereklidir. Çiğ domates likopen açısından zengindir, ancak çok az emilir. Buna karşılık pişmiş domateslerden veya domates salçasından daha fazla likopen alınır. Emilimde kişiden kişiye önemli ölçüde farklılık vardır. Karotenoidlerin insanlardaki en önemli rolü retinol adı verilen yağda çözünen A vitamininin öncüsü olmasıdır. A vitamini, hücre büyümesi ve farklılaşması için gereklidir. A vitamini eksikliği dünyadaki körlüğün önemli bir nedenidir. Bitkilerden zengin bir diyetle beslenen insanlarda, başlıca A vitamini kaynağı karotenoidlerdir. Diyetteki β -karotenin %35-88 kadarı on iki parmak bağırsağında emilir. Duodenum mukozal hücrelerinde bir β -karoten molekülü monooksijenaz enzimi etkisi ile iki retinal molekülüne ayrılır. Retinal daha sonra retinole indirgenir. Bu enzim ayrıca retinol üretmek için birkaç karotenoid üzerinde de etkilidir. Vücut retinol ile doyduğunda enzimin seviyeleri düşer. Böylece yüksek dozda β -karoten alınması halinde bile A vitamini birikmesi önlenir. Karotenoidler dolaşıma şilomikronların yapısında girer. Hem lipoprotein lipaz içeren şilomikronlardan hem de diğer lipoproteinlerden dokulara dağılır. Karaciğer başta olmak üzere bazı dokular β -karoteni retinole dönüştürebilir. Bitkilerde, karotenoidler önemli bir antioksidandır. Hem singlet O_2 'i söndürmeye hem de fotosentez sırasında oluşumunu azaltmaya yardımcı olur. Porfiriya hastalarında β -karoten uygulaması ışığa bağlı cilt hasarına karşı koruyucu etki yapar. Güneş ışığı derideki likopeni tüketir. Bu karotenoidin UV hasarına karşı koruyucu rolü ile ilişkilidir. Tüm karotenoidler arasında en iyi singlet O_2 söndürücü olan likopendir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda, β -karotenin düşük O_2 seviyelerinde lipit peroksidasyonunu inhibe ederken, yüksek konsantrasyonda bu etkiyi göstermediği bulunmuştur. Ayrıca, β -karotenin LDL'yi peroksidasyona karşı korumadığı da bildirilmiştir.

Flavonoidler ve diğer fenolik bileşikler

Flavonoidler insan diyetinin ayrılmaz bir parçasıdır.⁴⁴ Bitkilerde yaprak, çiçek ve meyvelerde mavi, kırmızı ve turuncu renginin parlak tonlarına katkı yaparlar. Çeşitli sebze ve meyvelerin yanı

44 Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47.

sıra tohumlarda, kabuklu yemişlerde, tahıllarda, baharatlarda ve farklı tıbbi bitkilerde yer alır, ayrıca kırmızı şarap, çay ve bira gibi içeceklerde bulunurlar. Fenilalanin ve tirozin ile malonattan sentezlenen flavonoidlerdeki fenolik piron halkalarından oluşmuş benzo- γ -piron türevlerine, metabolizmaları sırasında hidroksil grupları ilave edilir, metillenir, sülfatlanır veya glukuronidatlanır. Temel flavonoid yapısı, A, B ve C olarak etiketlenmiş üç halkadaki (C6-C3-C6) 15 karbon atomundan oluşan flavan çekirdeğidir. Flavonoidler C halkasının oksidasyon ve yerleşim şekli bakımından farklılık gösterir, birçok sınıfları vardır. Başlıcaları flavonlar, flavanonlar, izoflavonlar, flavonoller, flavanonoller, flavan-3-oller ve antosiyanidinlerdir. Diğer flavonoid sınıfları biflavonlar, kalkonlar, auronlar ve kumarinlerdir. Hidrolize edilebilir tanenler, proantosiyanidinler, flavan-3-ol oligomerleri, kaffeat ve lignanlar ise bitki fenolleridir. Bunlar genellikle ayrı olarak sınıflandırılırlar. Fenol, bir benzen halkasına bağlı bir - OH grubu içeren bir bileşiktir. Monofenoller bir - OH grubuna, difenoller iki ve polifenoller ikiden fazla - OH grubuna sahiptir. Bitkiler, tokoferoller ve tokotrienoller (monofenoller) de dahil çok çeşitli fenolleri içerir. Hemen hemen tüm fenoller, antioksidan aktivite sergiler ve genellikle zincir reaksiyonunu durduran peroksil radikal temizleyicileri gibi davranarak lipit peroksidasyonunu inhibe ederler. Ek olarak, fenoller OH $^{\bullet}$, NO $_2^{\bullet}$, N $_2$ O $_3$, ONOOH ve HOCl gibi diğer RT'leri temizler. Bazı fenoller, çoğunlukla di - ve polifenoller, O $_2^{\bullet -}$ ile reaksiyona girebilir. İnsan diyeti fenol bakımından zengindir. Örneğin soya fasulyesi tokoferolleri, genistein ve daidzein gibi izoflavonları ve kafeik asidi içerir. Taksifolin fıstıklarda görülür. Resveratrol çeşitli bitkilerde ve şarapta düşük seviyelerde bulunur, üzümelerde mantarlar için toksik bir savunma ajanı olarak üretilir. Kurkumin, *Curcuma longa* bitkisinin köklerinden elde edilen köri baharatına sarı rengini verir. Susam tohumu yağı sesamol içerir. Başka birkaç bitkide kafeik asit esterleri bulunur. *Camellia sinensis* bitkisinin yapraklarından hazırlanan bir içecek olan çay, pek çok insanın diyetinde önemli bir fenol kaynağıdır. Yeşil çay *in vitro* antioksidan aktivitesinin çoğuna katkıda bulunan kateşinler açısından zengindir. Siyah çayda kateşinler daha az yer alır. Buna karşılık, siyah çay kateşinlere ek olarak teaflavinler ve tearubiginler adı verilen karmaşık polimerleri içerir. Bunlar, yaprakların çay üretimi için hazırlanması sırasında kateşinlerin oksidasyonu ile oluşur. Kateşin, epikateşin ve epigallokateşin gallat kırmızı şarabın antioksidan aktivitesine önemli katkıda bulunur.⁴⁵

45 Pietta, P.-G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035-1042.

Flavonoidlerin ve diğer polifenollerin anti-inflamatuvar, antikanser, anti-iskemik ve anti-trombotik ajanlar olarak terapötik kullanımına yönelik önemli derecede ilgi vardır. Baldırıkara otu ağacı, *Ginkgo biloba* ekstraktı, binlerce yıldır 'hafızayı geliştirmek' için kullanılmıştır. Kampo ilaçları Japonya'da gelenekseldir. Meyan bitkisinin (*Glycyrrhiza glabra*) köklerinden elde edilen glisirizin dahil, birden fazla bileşiğin özütünü ve karmaşık bir fenol karışımı ile diğer bileşikleri içerirler. Arı kovanının yapımında kullanılan ve reçineli bir madde olan propolis özleri bitkisel tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır. Propolis kafeik asit fenetil ester (CAPE) gibi birçok fenolik bileşiği içerir. Çin tıbbında yaygın olarak kullanılan *Polygonum capsidatum* resveratrol bakımından zengindir. Ancak, bu tür ürünlerin sadece doğal oldukları için tüketimlerinin güvenli olduğu varsayılmamalıdır. Bitkiler tarafından üretilen zararlı ajanlar arasında siyanür ve aflatoksin gibi zehirler de bulunur. *Larrea divaricata*'dan izole edilen ve güçlü bir lipooksijenaz inhibitörü olan nordihidroguairesik asit, olumsuz toksikolojik raporlar nedeniyle artık gıda koruyucu olarak kullanılmamaktadır. Güçlü antioksidan aktivitesine dayanılarak izole edilen *Cratoxylum cochinchinense* ekstresinin sitotoksik olduğu ortaya çıkmıştır. Öte yandan, kurkumin uygulamasının transgenik fare modelinde Alzheimer hastalığına bağlı oksidatif hasarı ve beyin patolojisini azalttığı bildirilmiştir. Flavonoidlerin ve flavonoid açısından zengin gıdaların nöroprotektif etkilerini gösteren çok sayıda yayın vardır. Bununla birlikte, kan beyin bariyerini geçerek, insan beynine girebilecek flavonoid miktarları çok düşük olacağı için bu etkilerin yalnızca antioksidan aktiviteden kaynaklandığı düşünülmemelidir. Bu bileşikler daha çok kolonun bakteriyel kompozisyonunu etkileyerek veya vasküler fonksiyonu ve dolayısıyla beyine kan akışını iyileştirerek etki edebilirler.

Sağlıklı kişiler söz konusu olduğunda antioksidanların yüksek doz takviyelerini tüketmenin çok az veya hiç faydası yoktur. Yüksek miktarda β -karoten alımı diğer karotenoidlerin vücut düzeylerini etkileyebilir ve düşürebilir. Aynı şekilde tokoferollerin yüksek dozları alfa-tokoferol düzeyini etkileyebilir. Buna karşılık, meyve ve sebzelerin düzenli tüketimi ve periyodik olarak deniz mahsülleri ile balık yemek, çok fazla kırmızı etten kaçınmak, obeziteden kaçınmak ve orta derecede egzersiz yapmak oksidatif hasarı aza indirmenin etkili yolları olabilir. Ayrıca sigara ve diğer tütün mamullerinden uzak durulması da önemlidir. Ancak tütün bağımlısı olan kişiler için, diyet tavsiyelerinin tümü özellikle de meyve ve sebze tüketimi önemlidir. Sigara içenler yüksek doz β -karoten ve α -tokoferolden kaçınmalı, buna karşılık diğer kişilerden fazla C ve B vitamini almalıdır. İlimli bir şekilde alkol tüketimi, özellikle de şarap

ek fayda sağlayabilir. Yine de kötü beslenen kişilerde, özellikle yüksek miktarda yağlı besinler ve az miktarda meyve ve sebze içeren diyetle birleştiğinde, çok fazla alkol kesinlikle zararlıdır. Multivitamin ve mineral haplarını her gün almaya değer mi sorusuna yönelik olarak yapılan “Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention (ASAP)” ve “Supplementation en Vitamines et Mineraux Antioxydants (SUVIMAX)” çalışmaları yüksek dozda takviyeye ihtiyaç olmadığını ortaya koymuştur.^{46, 47}



MARMARA
ÜNİVERSİTESİ

-
- 46 Salonen, J., Nyssönen, K., Salonen, R., Lakka, H. M., Kaikkonen, J., Porkkala-Sarataho, E., Voutilainen, S., Lakka, T., Rissanen, T., & Leskinen, L. (2000). Antioxidant Supplementation in Atherosclerosis Prevention (ASAP) study: a randomized trial of the effect of vitamins E and C on 3-year progression of carotid atherosclerosis. *Journal of Internal Medicine*, 248(5), 377-386.
- 47 Hercberg, S., Preziosi, P., Galan, P., Faure, H., Arnaud, J., Dupont, N., Malvy, D., Roussel, A.-M., Briançon, S., & Favier, A. (1999). “The SU. VI. MAX Study”: a primary prevention trial using nutritional doses of antioxidant vitamins and minerals in cardiovascular diseases and cancers. *Food and Chemical Toxicology*, 37(9-10), 925-930.