

Reaktif Türlerin Yararları

Tülin Altınoluk*

A. Süha Yalçın**

Son yıllardaki pek çok araştırmadan elde edilen sonuçlar, reaktif türlerin biyolojik sistemlerde ikili rol oynadığını düşündürmektedir. Bu çalışmalarda reaktif türlerin aerobik metabolizmanın zararlı ürünleri olmalarının yanı sıra, birçok biyolojik sürecin yürütülmesinde gerekli oldukları ortaya konmuştur.¹ Böylece pek çok hastalık sürecinde rolleri olduğu gayet iyi bilinen bu moleküllerin, aynı zamanda çeşitli yararlı etkilere öncülük ve aracılık ettikleri gösterilmiş olmaktadır. Bu bağlamda, hücrelerde reaktif türlerin bazal düzeyini korumanın önemi özellikle vurgulanmaktadır. Reaktif türlerden her birinin kendine özgü olarak sergilediği ve hem farklı konsantrasyon aralığında hem de farklı yerlerde ortaya çıkardığı moleküler düzeydeki etkiler organizma için yaşamsal öneme sahiptir.

Öte yandan, reaktif türlerin aşırı üretimi ile kullanımları arasında kurulan denge, hücre içi redoks süreçlerinin sağlıklı bir şekilde yürümesini sağlamaktadır. Oksidatif stres durumu reaktif türlerin miktarının vücudun idare edebileceği seviyeyi aştığı durumlarda oluşurken, seviyeler çok düşük olduğunda antioksidanlar lehine indirgeyici stresler de meydana gelebilmektedir. Bu durumun kanserden kardiyomiyopatiye kadar çeşitli patolojilerle ilişkili olduğu ileri sürülmektedir. Bu bölümde reaktif türlerin çeşitli sistemlerdeki yararlı etkileri ele alınmış, ayrıca reaktif türlerin aşırı olmasıyla başa çıkılmasını sağlayan doğal antioksidan savunma mekanizmalarına örnekler verilmiştir.

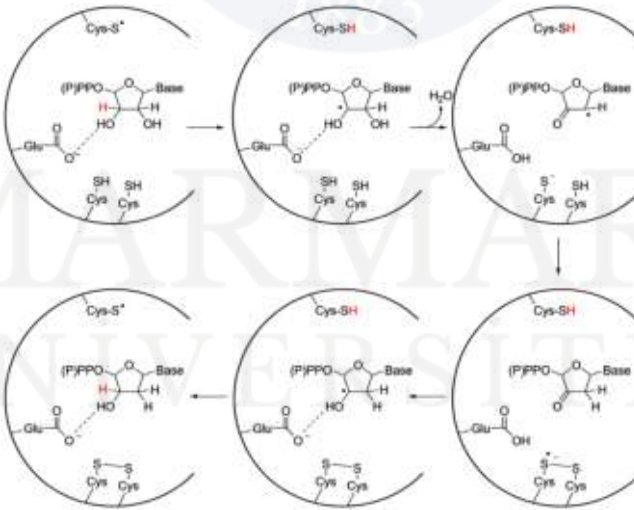
* Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı

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

1 Egea, J., Fabregat, I., Frapart, Y. M., Ghezzi, P., Görlach, A., Kietzmann, T., Kubaichuk, K., Knaus, Ü. G., Lopez, M. G., & Olaso-Gonzalez, G. (2017). European contribution to the study of ROS: A summary of the findings and prospects for the future from the COST action BM1203 (EU-ROS). *Redox Biology* 13, 94-162.

Radikallerin enzim katalizine katkısı

Bazı enzimler katalizledikleri reaksiyonlarda sübstratlardaki hidrojen atomlarını uzaklaştırmak için serbest radikalleri aracı olarak kullanmaktadır. Ancak bu tür enzimlerin kendilerine zarar vermemeleri için radikalleri kontrollü olarak oluşturmaları ve kullanmaları gereklidir. Örnek olarak ribonükleotitlerin deoksiribonükleotitlere dönüşmesini katalizleyen enzimlerden ribonükleotit redüktaz (RNR) enzimi gösterilebilir. ² Bu enzim iki alt-birimden oluşmuştur ve katalizlediği reaksiyon aynı zamanda DNA sentezinin hız sınırlayıcı basamağıdır. Düzenleyici bölgelerini içeren büyük alt-birimi (R1)'dir. Küçük alt-birim olan R2'de ise bir demir merkeziyle tirozil serbest radikali (Tyr-O•) bulunur (Şekil 1). Bu enzimin inhibitörü olan hidroksiüre, DNA sentezini ve hücre çoğalmasını baskılamaktadır. Hidroksiüre hem kanserde hem de orak hücre anemisinin tedavisinde ilaç olarak kullanılmaktadır. Molekül etkisini Tyr-O• radikali üzerinden yapmaktadır. Süperoksit radikali (O₂•⁻) ile nitrik oksit (NO•) enzimi etkisiz hale getirmektedir. Tirozil radikallerinin O₂•⁻ ile reaksiyonu birkaç ürün oluşturabilirken, NO• ile bir nitrozo-tirozin türü oluşur. Peroksinitrit (ONOO⁻) de tirozil radikalini uzaklaştırarak etki gösterir. Organizmada serbest radikallerin katalizde aracı olarak görev aldığı daha pek çok enzimsel reaksiyon vardır.



Şekil 1. Ribonükleotit redüktazın etki mekanizması ³

- 2 Cotruvo Jr, J. A., & Stubbe, J. (2011). Class I ribonucleotide reductases: metallocofactor assembly and repair in vitro and in vivo. *Annual Review of Biochemistry*, 80, 733-767.
- 3 Lundin, D., Berggren, G., Logan, D. T., & Sjöberg, B.-M. (2015). The Origin and Evolution of Ribonucleotide Reduction. *Life*, 5(1), 604-636. <https://www.mdpi.com/2075-1729/5/1/604>.

Fagositoz

Patojenlere karşı savunma, tüm organizmalarda hayatta kalabilmek için gereklidir. İnsanlarda bağışıklık birbiriyle etkileşim halinde olan iki sistem şeklinde oluşmuştur. Birincisi doğuştan gelen bağışıklıktır.⁴ Bu sistem lipopolisakkaritleri ve patojenler tarafından eksprese edilen yapıları tanır, istilacılara anında ve çok güçlü bir savunma yanıtı verir. Bu yapılar patojen ilişkili moleküler paternler (*pathogen associated molecular pattern*, PAMP) olarak bilinir.

Diğer sistem olan edinilmiş bağışıklık sonradan kazanılan bağışıklıktır. Patojenlerin eksprese ettiği antijenleri lenfositlerin tanınması ve sonrasında antikor tepkileri vermesine dayanır. Edinilmiş bağışıklık ile immünolojik hafıza oluşur ve böylece patojen tekrar ortaya çıkarsa çok daha hızlı bir tepki verilebilir. Enfeksiyonlarda veya hücrelere zarar veren herhangi bir yaralanma sonrasında, hasar ilişkili moleküler paternler (*damage associated molecular pattern*, DAMP) olarak adlandırılan tehlike sinyalleri serbest bırakılır.⁵ Örnek olarak fosfatidilkolin ve fosfatidilserin kaynaklı lipit oksidasyon ürünleri, 4-hidroksinonenal (HNE) veya malondialdehit (MDA) ile modifiye edilmiş proteinlerle mitokondriyal protein ve DNA parçacıkları verilebilir. DAMP'ler ısı şok proteinleri, sodyum urat ve kolesterol kristalleri, peroksiredoksinler gibi konakçı hücrenin normal molekülleri de olabilir. DAMP'ler ve PAMP'ler, belirli hücrelerdeki patern tanıma reseptörlerine (*pattern recognition receptor*, PRR) bağlanır. Bu reseptörler arasında, *toll-like* reseptörler (TLR) ve *Nod-like* reseptörler bulunur. PRR aktivasyonu, inflamazomlar olarak adlandırılan büyük multi-protein yapıların toplanmasına yol açar. Bu toplanma daha sonra IL-1 β ve IL-18 sitokinlerinin üretimine neden olur. Sitokinler ayrıca, patojene karşı doğuştan gelen bağışıklığın ve edinilmiş bağışıklık tepkilerinin yanında inflamasyon sürecinin düzenlenmesine de yardımcı olur. Makrofajlar, dendritik hücreler ve epitel hücreleri gibi bekçi hücreler konak savunmasının ön saflarında yer alırlar. Bu hücreler DAMP'lere ve PAMP'lere maruz kaldıkları zaman, doku hasarı bölgesindeki inflamasyonun fark edilmesine aracılık eder. Kendileri mikroorganizmaları öldürebilmesine karşın, makrofajlar çoğu zaman problemle tek başlarına baş edemezler. Bekçi hücreler aktive edildiğinde, inflamazomları biraraya getirir. Yine bu hücreler tarafından, başta sitokinler ve kemokinler olmak üzere çok sayıda inflamatuvar aracı, eikozanoidler, reaktif türler ve proteinazlar da salgılanır.⁶

- 4 Mogensen, T. H. (2009). Pathogen recognition and inflammatory signaling in innate immune defenses. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(2), 240-273.
- 5 Roh, J. S., & Sohn, D. H. (2018). Damage-associated molecular patterns in inflammatory diseases. *Immune Network*, 18(4).
- 6 Narasaraju, T. A., Jin, N., Narendranath, C. R., Chen, Z., Gou, D., & Liu, L. (2003). Protein nitration in rat lungs during hyperoxia exposure: a possible

Fagositlerin öldürme mekanizması, reaktif türlerin yararlı etkilerine verilen örneklerdendir. Normalde dolaşımdaki nötrofiller damar duvarına geçici olarak ve gevşek bir şekilde yapışırken inflamasyonla karşılaşıldığında nötrofiller endotele sıkıca yapışır. Yalancı ayak formlarını endotel duvarına kenetler ve endotel hücreleri arasındaki boşluklardan sıyrılarak inflamasyon alanına ulaşırlar. Nötrofillerin göçünü aktive eden, bu bölgede oluşan kemotaktik faktörlerdir. Bu faktörler arasında N-formil-peptitler gibi bakteri ürünleri (DAMP'ler) ve konaktan türeyen kompleman aktivasyon ürünleri, lökotrien B₄ (LTB₄), trombosit aktive edici faktör (PAF) ve kemokinler yer alır.⁷

Zebra balığı modelinde yapılan çalışmalar, hidrojen peroksitin nötrofillerin yaralanan doku bölgesine göçünde anahtar bir rol oynadığını göstermiştir. Hidrojen peroksit, Lyn olarak bilinen bir nötrofil kinaz tarafından tanınır. Lyn daha sonra kendi kendini fosforile ederek göç yönünü tayin eder. Reaktif türlerin insan nötrofillerindeki kemotaksisi benzer kinazlar aracılığıyla gerçekleşir. Burada hidrojen peroksit nötrofil göçünün tek aracı molekülü değildir, ancak aşırı miktarlarda hidrojen peroksit üretildiğinde nötrofil fonksiyonu bozulabilir.

İnflamasyonun bir sonraki aşamasında, monositler dolaşımı terk ederek inflamasyon bölgesine girer. Bu hücrelerin mobilitesi nötrofillerden daha azdır. Ancak inflamasyon alanına girdiklerinde makrofajlara farklılaşır, çevredeki sitokinlere ve diğer faktörlere bağlı olarak M1 veya M2 fenotiplerini geliştirebilirler. M1 makrofajların, proinflamatuvar sitokinleri (örneğin TNF- α , IL-12 ve IL-23) üretme yetenekleriyle birlikte güçlü mikrobisidal kapasiteleri vardır. M2 makrofajlar ise daha az reaktif tür veya sitokin üretir, dokunun yeniden şekillenmesine ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesine katılır. Bu hücrelerin ürettiği IL-10 gibi sitokinler, daha çok anti-inflamatuvar özellikte olup bağışıklığı düzenleme eğilimindedir.⁸ Özetle, makrofajlar inflamasyonun başlangıcında pro-inflamatuvar etki yaparken, çözülme fazında inflamasyon önleyici hale gelirler. Reaktif türler ise inflamasyonun düzenlenmesinde önemli rol oynarlar. Makrofajlar fagositozla sadece mikroorganizmaları değil, gerektiğinde eritrositler ve apoptotik nötrofiller gibi konağın kendi

role of myeloperoxidase. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 285(5), L1037-L1045.

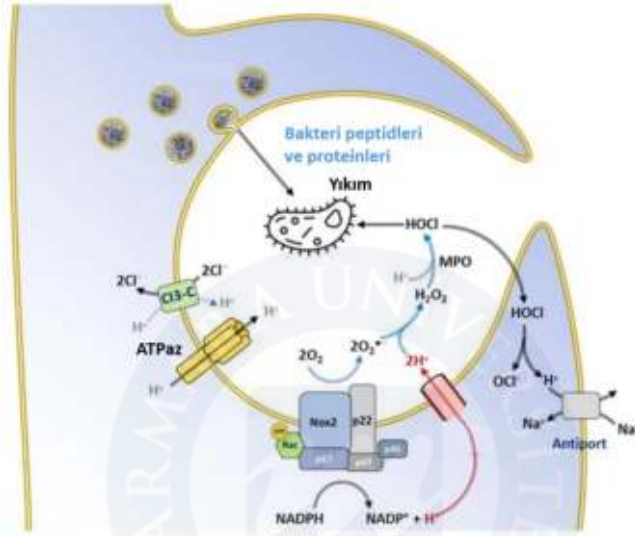
- 7 Cho, H.-Y., Van Houten, B., Wang, X., Miller-DeGraff, L., Fostel, J., Gladwell, W., Perrow, L., Panduri, V., Kobzik, L., & Yamamoto, M. (2012). Targeted deletion of nrf2 impairs lung development and oxidant injury in neonatal mice. *Antioxidants and Redox Signaling*, 17(8), 1066-1082.
- 8 Joyce-Brady, M., & Hiratake, J. (2011). Inhibiting glutathione metabolism in lung lining fluid as a strategy to augment antioxidant defense. *Current Enzyme Inhibition*, 7(2), 71-78. <https://doi.org/10.2174/157.340.811796575308>.

hücrelerini de temizler. Ayrıca önemli miktarda çözünmeyen maddeyi alarak, aylarca veya yıllarca saklayabilirler. Makrofajlar tarafından çok fazla eritrosit alınması, heme ve/veya demire bağlı oksidatif hasarı azaltabilir.⁹

Nötrofillerde ATP üretimi glikolize dayanır. Bu yüzden istirahat halinde çok az O_2 tüketilir. Oksidatif fosforilasyona az ihtiyaç duymaları sayesinde, nötrofiller hipoksik bölgelerde antibakteriyel etki gösterirler. Buna karşılık, makrofajlar daha fazla mitokondriye sahiptir. Oksidatif fosforilasyonu görece daha fazla kullanır ve bu nedenle daha fazla O_2 tüketirler. Fagositozun başlangıcında; dört fagosit tipinin tümünde birden, O_2 alımında oksidatif patlama olarak adlandırılan olayla ilişkili olarak ve istirahat halindeki tüketimin 10-20 katı kadar olabilen belirgin bir artış görülür. Bu olay için oksidatif patlama doğru bir isimlendirme olmayabilir. Çünkü O_2 alımı, artmış mitokondriyal solunuma bağlı değildir ve mitokondriyal elektron taşınması inhibitörleri tarafından önlenemez. Oksijen alımı arttıkça, pentoz fosfat yolunun aktivasyonundaki artış nedeniyle, fagositlerin glukoz tüketimi de artar. Oksidatif patlama forbol miristat asetat, alüminyum florür, doymamış yağ asitleri ve konkanavalin A tarafından tetiklenir. Fagositler, düşük seviyelerde bir uyarana maruz kalmadan önce, bu olaya hazırlanabilir. Hazır hale gelen hücreler, artık daha gelişmiş adezyon molekülleri ve reseptörlere sahip olacakları için, ikinci bir uyarana maruz kaldığında daha kuvvetli bir oksidatif patlama yanıtı verir. Oksidatif patlama sırasındaki oksijen alımı, plazma zarının başlangıçta yabancı cisme temas eden ve daha sonra fagositik vakuol oluşturan bölümündeki bir enzim kompleksinin aktivasyonundan kaynaklanır. Aktive edilen bu enzim kompleksi, NADPH'yi $NADP^{+}$ 'ye okside ederek ortama $2O_2$ ile $O_2^{\bullet-}$ indirmek için kullanılan iki elektron salar (Şekil 2). NADPH oksidazın aktivasyonu, $p47^{phox}$, $p67^{phox}$, $p40^{phox}$ ve $rac2$ gibi normalde istirahat halindeki nötrofillerin sitozolünde bulunan birkaç proteini gerektirir. Bu proteinler membrana yerleşir ve $p47$ 'nin fosforilasyonu yardımıyla aktif kompleks oluşmasına yardımcı olurlar. Hücreler endotelden geçerken $rac2$ aktivitesinin modülasyonu ile nötrofil $O_2^{\bullet-}$ üretimi baskılanır. Aktif kompleks oluştuğundan sonra ise elektron taşıma sistemi çalışmaya başlar. İnsan nötrofillerinde aktive oksidaz kompleksindeki oksijenin K_m değeri, vücut sıvılarındaki oksijen konsantrasyonları aralığındadır. Bu nedenle, üretilen $O_2^{\bullet-}$ miktarı ortamın oksijen konsantrasyonundan etkilenir. Nötrofiller oksidatif patlama sayesinde birçok anaerob bakteri suşunu öldürebilir. Nötrofil

9 Koike, K., Kondo, Y., Sekiya, M., Sato, Y., Tobino, K., Iwakami, S.-i., Goto, S., Takahashi, K., Maruyama, N., & Seyama, K. (2010). Complete lack of vitamin C intake generates pulmonary emphysema in senescence marker protein-30 knockout mice. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, 298(6), L784-L792.

düşük O_2 ortamında karşılaştığı türleri oksijene bağımlı olmayan bir öldürme mekanizmasıyla ortandan temizler.¹⁰



Şekil 2. Solunum patlaması ve bileşenleri¹¹

Nötrofillerin granüler bileşenlerinin çoğu, bakterisidal aktiviteye sahip oldukları için, granüllerini fagositik keselerin içine boşaltarak bakterileri öldürebilir. Defensin ve katelisin peptitleri bakterilerin hücre membranındaki kanalları açarak antibakteriyel etki gösterir. Ayrıca birçok antimikrobiyal peptit ve protein, nötrofil kemotaksisinin uyarılması, apoptozun engellenmesi ve sitokin üretiminin aktivasyonu gibi immünomodülatör etkilere sahiptir. Laktoferrinin, bakterilerin büyümesi için gerekli olan demiri bağlayarak, birkaç bakteri suşunu doğrudan öldürdüğü bildirilmiştir.¹² Elastaz ve katapsin G de bakterileri öldürmeye yardımcı olurlar. Öte yandan, proteinaz inhibitörlerinin ortama eklenmesinin fagositlerin bakterileri öldürmesini azaltabileceği bilinmektedir. Bununla birlikte, anaerobik koşullar altında nötrofillerin diğer bakteri suşlarını öldürmesi çok az olmaktadır. Son

10 Zhao, T., & Bokoch, G. M. (2005). Critical role of proline-rich tyrosine kinase 2 in reversion of the adhesion-mediated suppression of reactive oxygen species generation by human neutrophils. *Journal of Immunology*, 174(12), 8049-8055.

11 Vermot, A., Petit-Härtlein, I., Smith, S. M. E., & Fieschi, F. (2021). NADPH Oxidases (NOX): An Overview from Discovery, Molecular Mechanisms to Physiology and Pathology. *Antioxidants*, 10(6), 890. <https://www.mdpi.com/2076-3921/10/6/890>.

12 Francis, N., Wong, S. H., Hampson, P., Wang, K., Young, S. P., Deigner, H. P., Salmon, M., Scheel-Toellner, D., & Lord, J. M. (2011). Lactoferrin inhibits neutrophil apoptosis via blockade of proximal apoptotic signaling events. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1813(10), 1822-1826.

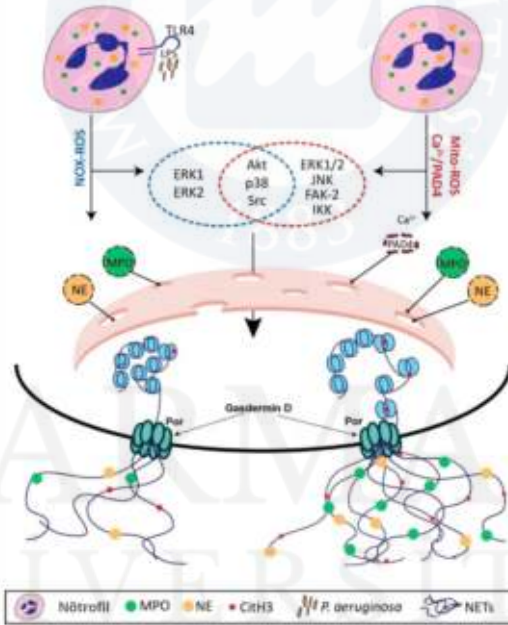
olarak, fagositozun normal olduğu, ancak oksidatif patlamanın ciddi derecede azaldığı kalıtsal durumlara verilen ortak bir terim olan kronik granüloamatöz hastalıktan muzdarip hastalardan elde edilen bilgiler, bazı bakterilerin öldürülmesi için $O_2^{\bullet-}$ üretiminin gerekli olduğunu göstermektedir.¹³ Oksijenin sulu çözelti içindeki sınırlı reaktivitesi ve membranı geçme yetersizliği dikkate alındığında, kendisinin mikroorganizmaları öldürmesi mümkün değildir. Bu nedenle, birçok mikroorganizma, enzimatik olmayan yollarla oluşan $O_2^{\bullet-}$ 'ten meydana gelen H_2O_2 vasıtasıyla öldürülür. Hidrojen peroksit, $O_2^{\bullet-}$ 'ten farklı olarak, bakteriyel zarfları geçebilir. Böylece, doğrudan hasara neden olarak ve/veya OH^{\bullet} oluşturarak bakteriler için toksik etki yaratabilir. Bakterilerin hücre içi demir içeriğinin artırılması onları H_2O_2 'e duyarlı hale getirmektedir.¹⁴ Hidrojen peroksitin bakterileri öldürmesi sırasında, çoğu zaman hücre içinde OH^{\bullet} oluşur. Bununla birlikte, hücre dışındaki OH^{\bullet} patojene zarar veremeyeceği için fagozomdaki bakterileri öldürmesi mümkün değildir. Nötrofil kaynaklı $O_2^{\bullet-}$ ile H_2O_2 bir miktar demir varlığında OH^{\bullet} oluşturmak üzere reaksiyona girebilir. Bu sırada, aktive olan nötrofillerin fagositik vakuölüne laktoferrin salgılanır. Nötrofillerin laktoferrin sekresyonu, inflamasyon bölgelerindeki demir iyonlarını bağlayarak, demire bağımlı OH^{\bullet} oluşumunu en aza indirmeye yardımcı olur. Ayrıca, nötrofillerin apoptoza sürüklenmesini de geciktirebilir. Sıçan, fare ve diğer hayvanların nötrofil ve makrofajlarında nitrik oksit çok kolay üretilmektedir. Mikromolar seviyelerdeki nitrik oksit belirli bakterileri ve parazitik protozoaları, hem doğrudan solunum zinciri fonksiyonlarını inhibe ederek, hem de dolaylı olarak $O_2^{\bullet-}$ ile reaksiyona girerek öldürebilir. Bu etkisini demir-kükürt proteinlerine zarar veren peroksinitriti ($ONOO^-$) üreterek gösterebilir. Gerçekten de, iNOS'a sahip olmayan farelerin bazı patojenlere karşı daha hassas olduğu bildirilmiştir.

Mikrobisidal ajanlara katkı

Nötrofil elastaz ve/veya katepsin G defekti olan fareler, nötrofillerinde $O_2^{\bullet-}$ üretimi normal olmasına rağmen bazı bakteri türlerini öldüremez. İnsan nötrofilleri, *S. Pneumoniae* bakterisini öldürmek için reaktif türler yerine bu proteinazları kullanır.¹⁵ Elastaz enzimi nötrofil ekstraselüler tuzak (NET) oluşumunda da rol oynar.

- 13 Loffredo, L., Carnevale, R., Sanguigni, V., Plebani, A., Rossi, P., Pignata, C., De Mattia, D., Finocchi, A., Martire, B., & Pietrogrande, M. C. (2013). Does NADPH oxidase deficiency cause artery dilatation in humans? In: Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA.
- 14 Repine, J., Fox, R. B., & Berger, E. (1981). Hydrogen peroxide kills *Staphylococcus aureus* by reacting with staphylococcal iron to form hydroxyl radical. *Journal of Biological Chemistry*, 256(14), 7094-7096.
- 15 Liu, F.-C., Chuang, Y.-H., Tsai, Y.-F., & Yu, H.-P. (2014). Role of neutrophil extracellular traps following injury. *Shock*, 41(6), 491-498.

Bununla birlikte, süperoksit radikali hidrojen iyonlarını tüketerek ortamın pH değerini yükseltir ve katyonik granüllerde proteinazların etkisini kolaylaştırır. Bu mekanizmada, reaktif türlerin doğrudan etkisi olmamakla birlikte, proteinazların çalışması için uygun ortam yaratılmaktadır. Yapılan çalışmalar, oksidatif patlamanın işlevinin sadece proteinazların çalışması için uygun koşullar yaratmakla sınırlı kalmadığını, fagositlerin bazı organizmaları öldürürken reaktif türleri (H_2O_2 , HOCl ve bazen $ONOO^-$ veya bakteriyel OH^*) kullandıklarını göstermiştir. Antioksidan savunması yetersiz olan mikroorganizmalar ise fagositler tarafından yok edilmeye daha yatkındır. Bu bilgiler reaktif türlerin fagositlerdeki önemine işaret etmekle birlikte, öldürme mekanizması türler arası farklılık da gösterebilir. Ayrıca fagositin karşılaştığı her bir mikroorganizma için de mekanizma farklı olabilir. Örneğin, insan nötrofilleri farelerdeki nötrofillerden daha fazla antibakteriyel protein içermektedir.¹⁶



Şekil 3. Nötrofil ekstraselüler tuzak oluşumu¹⁷

Fagositik vakuol nötrofilin sitoplazmasındaki diğer granüllerle birleştiğinde buradan miyeloperoksidaz (MPO) gibi bir dizi enzim

16 Arnhold, J., & Flemmig, J. (2010). Human myeloperoxidase in innate and acquired immunity. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 500(1), 92-106.

17 Ravindran, M., Khan, M. A., & Palaniyar, N. (2019). Neutrophil extracellular trap formation: physiology, pathology, and pharmacology. *Biomolecules*, 9(8), 365. <https://www.mdpi.com/2218-273X/9/8/365>.

salgılanır. Miyeloperoksidaz nötrofillerdeki toplam proteinin %2-5'ini; fagositik vakuol içindeki proteinlerin ise %25'ini oluşturur. Bu spesifik olmayan peroksidaz aktivitesine sahip, urat ve salisilat dahil olmak üzere çok çeşitli substratları oksitleyebilen ve katyonik hem içeriği olan bir enzimdir. Her biri ~60 ve 15 kD moleküler ağırlıklara sahip dört alt birimi vardır. *In vitro* koşullarda ve H_2O_2 ve klorür (Cl^-) veya iyodür (I^-) iyonlarının varlığında, birçok bakteri ve mantarı öldürür. Fagosit sitoplazmasında ve hücre dışı sıvılarda klorür iyonu iyodürden çok bulunduğundan, enzimin aktivitesini klorürü hipokloröz asit ($HOCl$)'e oksitleyerek gösterdiği düşünülmektedir.¹⁸

Nötrofiller aktive olduğunda, ürettikleri H_2O_2 'in yaklaşık %30'u MPO tarafından $HOCl$ yapmak üzere kullanılır. Ancak, NET bir yandan trombositleri aktive ederek kanın pıhtılaşmasını sağlarken aynı yolla endotel hücrelerine de zarar verebilir. Bu sırada serbest bırakılan MPO nitrik oksiti tüketir, tirozin rezidülerini nitratlar ve hücre dışında $HOCl$ oluşturmak üzere H_2O_2 ve Cl^- ile reaksiyona girer. Bu süreçte, $HOCl$ 'e ek olarak ortama $ONOO^-$ veya kloraminlerin eklenmesi α_1 -antiproteinaz ile α_2 -makroglobulini inaktive eder ve proteolitik etkiyi arttırır.¹⁹ Alveolar sıvıda yüksek seviyelerde bulunan GSH ve askorbat gibi antioksidanlar ise $ONOO^-$ ve $HOCl$ 'i temizleyerek, α_1 -antiproteinaza verilen hasarı azaltır.

Hücre içi sinyal iletilisi

Redoks düzenleme mekanizmaları vücudun uygun sinyalizasyon süreçlerini sürdürmesi için yaşamsal öneme sahiptir. Bu reaksiyonlar, proteinlerdeki sistein kalıntıları ile etkileşime giren reaktif türleri içerir. Bu süreçte hücre döngüsünün ve programlanmış hücre ölümünün düzgün bir şekilde düzenlenmesini sağlamak üzere harekete geçen, hücre proliferasyonu ve apoptozla ilgili yollarda reaktif türlerle etkileşime giren pek çok kinaz da yer alır. Örneğin, mitojenle aktive edilmiş protein kinaz (MAPK), apoptoz sinyal düzenleyici kinaz 1'i (ASK1) uyarır. ASK1 de JNK ve p38 transkripsiyon faktörlerini düzenler. Bu şekilde, reaktif türler ile aktive edilen cGMP'ye bağımlı protein kinaz G (PKG) ve protein kinaz A (PKA) aracılığıyla apoptoz uyarılmaktadır.²⁰

18 Parker, A., Cuddihy, S. L., Son, T. G., Vissers, M. C., & Winterbourn, C. C. (2011). Roles of superoxide and myeloperoxidase in ascorbate oxidation in stimulated neutrophils and H_2O_2 -treated HL60 cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(7), 1399-1405.

19 Vandivier, R. W., Fadok, V. A., Hoffmann, P. R., Bratton, D. L., Penvari, C., Brown, K. K., Brain, J. D., Accurso, F. J., & Henson, P. M. (2002). Elastase-mediated phosphatidylserine receptor cleavage impairs apoptotic cell clearance in cystic fibrosis and bronchiectasis. *Journal of Clinical Investigation*, 109(5), 661-670.

20 Patel, R., Rinker, L., Peng, J., & Chilian, W. M. (2018). Reactive oxygen species:

Sinyal iletiminde inflamasyon bölgelerinden salınan reaktif türler önemli görevlere sahiptir. Örneğin matriks metallo-proteinazlarının aktivitesini artırabilirler. Ayrıca sitokinler aracılığıyla veya doğrudan doku rejenerasyonunu sağlayan fibroblast proliferasyonunu da uyandırabilirler. Reaktif türlerden biri olan H_2O_2 sadece fagosit alımını etkilemez, aynı zamanda P-selektin, ICAM-1, PECAM-1 ve VCAM-1 gibi adezyon moleküllerinin seviyelerini artırarak endotele yapışmalarını da kolaylaştırır. Reaktif türler veya onların aracılığıyla meydana gelen sitokinler genellikle NF- κ B'nin dahil olduğu yolak üzerinden mekanizmaya katılır. Düşük seviyelerdeki NO^* ise NF- κ B aktivasyonunu baskılayarak, adezyon moleküllerinin ekspresyonunu azaltır ve fagosit yapışmasını önleyebilir.²¹

Özetle, inflamasyon bölgelerinde proteinazları, katyonik proteinleri, sitokinleri, reaktif türleri ve diğer faktörleri üreten tüm hücre tiplerinin dinamik ve karmaşık birlikteliği söz konusudur. Bununla birlikte, normal bir akut inflamatuvar yanıt sırasında reaktif türlerin doku hasarına katkısı oldukça sınırlıdır.

Pro - ve anti-inflamatuvar etki

Kronik inflamasyon ve buna bağlı hastalıkların gelişimi arasındaki bağlantıda MPO ön plandadır. Katyonik bir protein olan MPO, nötrofil alımını kolaylaştırır ve inflamasyon bölgelerinde nötrofillerin apoptozunu geciktirir. Ayrıca, damar duvarlarındaki ve bazal membranlardaki endotel hücrelerinin glikozaminoglikanları içeren anyonik bölgelerine de kolayca bağlanır. Buralarda nitrik oksiti tüketebilir, hücre dışı matriks glikoproteinleri gibi proteinleri oksitleyebilir, klorlayabilir, nitratlayabilir ve lipit peroksidasyonunu başlatabilir.²² MPO'ya veya nötrofil granül proteinlerine karşı geliştirilen antikolar, özellikle damarlarda ve böbrekte kronik inflamasyona yol açmaktadır. Kronik granülomatöz hastalarında veya NADPH oksidaz defekti olan farelerde ortaya çıkan inflamasyonun seyrinin düzensiz ve kronik olması, reaktif türlerin inflamasyonun kronik seyrini azaltmada önemli rolü olduğunu düşündürmektedir.²³

Patojenleri vücuttan temizleyen ve organizmanın üreme çağından önce enfeksiyondan ölmesini engelleyen, sağlam bir bağışıklık sisteminin varlığı evrimsel açıdan önemlidir. Evrim,

-
- The good and the bad. *Reactive Oxygen Species (ROS) in Living Cells*, 7.
- 21 Boueiz, A., & Hassoun, P. M. (2009). Regulation of endothelial barrier function by reactive oxygen and nitrogen species. *Microvascular Research*, 77(1), 26-34.
- 22 Zhang, R., Brennan, M.-L., Shen, Z., MacPherson, J. C., Schmitt, D., Molenda, C. E., & Hazen, S. L. (2002). Myeloperoxidase functions as a major enzymatic catalyst for initiation of lipid peroxidation at sites of inflammation. *Journal of Biological Chemistry*, 277(48), 46116-46122.
- 23 Nussbaum, C., Klinke, A., Adam, M., Baldus, S., & Sperandio, M. (2013). Myeloperoxidase: a leukocyte-derived protagonist of inflammation and cardiovascular disease. *Antioxidants and Redox Signaling*, 18(6), 692-713.

genellikle organizmaya yararlı olan süreçleri koruduğu için, reaktif türlerin üretimi patojenlere karşı savunmada doğal bir mekanizma haline gelmiştir. Ancak, bu moleküllerin aşırı miktarlarda üretimi kanser gibi pek çok hastalığa yol açabilir. Bununla birlikte, evrim mekanizmasının işleyişi açısından, üreme çağından sonra reaktif türlerin kansere neden olması türün geleceğine herhangi bir zarar vermez.

NADPH oksidazlar

Yakın zamana kadar, sadece fagositlerin reaktif türleri ürettiği ve bu moleküllerin diğer hücreler tarafından salınımının organizmaya zarar verebilecek bir yaralanmaya veya toksin maruziyetine bir yanıt olduğu düşünülüyordu. Günümüzde, $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 üreten NADPH oksidaz enzim sistemlerinin, damar duvarı ve solunum yolu dahil olmak üzere birçok organ ve dokuda yaygın olarak bulunduğu biliniyor. Bu sistem tarafından reaktif türlerin üretimi, genellikle fagosit oksidazdan farklı şekilde düzenlenir ve farklı uyaranlar tarafından aktive edilir. NADPH oksidazların katalitik alt birimlerini (yani $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 üreten kısım) tanımlamak için genellikle NOX terimi kullanılır. Örneğin, gp91^{phox} NOX2 olarak adlandırılır. Sistem tarafından üretilen $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 önemli fizyolojik roller üstlenirken vücutta zararlara da yol açabilir. Bu durumu kontrol etmek için bazı NADPH oksidaz inhibitörleri geliştirilmiştir. NADPH oksidaz ailesi (NOX1-NOX5 ve DUOX1 ve DUOX2) en az yedi katalitik alt birim içerir. NOX1-NOX3 $O_2^{\bullet-}$ üretirken, NOX4'ün çoğunlukla H_2O_2 ürettiği bildirilmiştir.²⁴

Gastrointestinal kanalda bulunan DUOX2 mukozal bağışıklık ve homeostazda görev alır. Bağırsakta ve solunum yollarında oldukça düşük seviyelerde ürettiği reaktif türler, doğrudan anti-bakteriyel olmaktan ziyade bakterilerden korunma mekanizmalarını (örneğin bakterilerin mukozaya yerleşmesini önleyerek) aktive etmeye yardımcıdır. Solunum sistemimiz de vücutta pek çok farklı işlevi yerine getiren NOX enzimlerine sahiptir. Bu enzimlere müdahale etmek grip gibi viral enfeksiyonlara olan bağışıklık direncini zayıflatabilir.²⁵

Tiroid hormonlarının sentezinde, tiroglobulindeki tirozin kalıntılarının iyotlanması ve iyodotironinlerin oluşumu gerekir. Her iki işlem de tiroid epitel hücrelerinin apikal zarında bulunan tiroid peroksidaz (TPO) enzimi tarafından katalize edilir. TPO'nun

24 Panday, A., Sahoo, M. K., Osorio, D., & Batra, S. (2015). NADPH oxidases: an overview from structure to innate immunity-associated pathologies. *Cellular and Molecular Immunology*, 12(1), 5-23.

25 Lassègue, B., San Martín, A., & Griendling, K. K. (2012). Biochemistry, physiology, and pathophysiology of NADPH oxidases in the cardiovascular system. *Circulation Research*, 110(10), 1364-1390.

ihtiyaç duyduğu H_2O_2 de DUOX enzimleri tarafından üretilir. Bununla birlikte, tiroid bezinin aşırı H_2O_2 üretiminden korunması da gereklidir. Peroksiredoksinler ve GPx enzimleri buradaki *in vivo* dengenin kurulmasına yardımcı olur. Böylece, TPO ve DUOX2'nin birlikteliği sayesinde hücrenin geri kalan alanına H_2O_2 difüzyonu en aza indirilir.²⁶

Damar duvarındaki tüm hücre tipleri (endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve fibroblastlar) $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 salgılayabilir. Endotel hücreleri, mitokondri ve eNOS gibi farklı kaynaklardan hücre dışına reaktif türleri salar. Endotel hücre yüzeylerine bağlanabilen ksantin oksidaz da $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 üretir. Buradaki $O_2^{\bullet-}$ üretiminin fizyolojik önemi belirsiz olmakla birlikte, $O_2^{\bullet-}$ ve NO^{\bullet} normal vazoregülasyon mekanizmasının bir parçası olarak birbirlerinin etkilerini antagonize etmektedir. Fibroblastlar ve düz kas hücreleri, reaktif türlere cevap olarak proliferasyon yoluyla damar duvarının hipertrofisine neden olur. TGF- β da fibroblast proliferasyonunu hızlandırır ve düz kas hücresinin proliferasyonunu uyarır. Her iki mekanizmada da NOX1'den türeyen reaktif türler rol oynamaktadır. Farelerde yapılan çalışmalar, NADPH oksidaz enzimleri ile üretilen $O_2^{\bullet-}$ 'nin, doku yaralanmasını takiben VEGF öncülüğünde meydana gelen anjiyogeneze katkıda bulunduğunu göstermiştir. Anjiyogenezde reaktif türlerin belirli bir miktarda oluşumu gerekmele birlikte, diğer tüm sistemlerde olduğu gibi reaktif türlerin fazlası anjiyogenezi de inhibe eder.

Reaktif türler yalnızca redoks homeostazında değil, etkili bir bağışıklık sisteminden anjiyogeneze kadar pek çok vücut fonksiyonunda gereklidir. Bununla birlikte, homeostazdaki dengesizlik her zaman kötü şekilde sonuçlanmaz. Vücutta kanama gibi bir akut travma meydana geldiğinde, renin-anjiyotensin sistemi devreye girer ve anjiyotensin II, güçlü bir vazokonstriksiyon yanıtına neden olarak kan kaybından dolayı azalan kan basıncının artmasına yardımcı olur. Anjiyotensin II etkisini düz kas hücrelerindeki NADPH oksidazı aktive ederek ve $O_2^{\bullet-}$ üretimini arttırarak gerçekleştirir. Aynı anda kandaki NO miktarında da bir azalma vardır, çünkü NOX gibi NO temizleyicileri aktif olarak devrededir. Böylece, $O_2^{\bullet-}$ seviyelerinin artışına karşın NO'nin azalması vazodilatasyonu en aza indirir. Bu sayede trombositler vasıtasıyla pıhtılaşma süreci çok daha etkin şekilde yürütülebilir. Bu süreç, redoks homeostazının

26 De Deken, X., Corvilain, B., Dumont, J. E., & Miot, F. (2014). Roles of DUOX-mediated hydrogen peroxide in metabolism, host defense, and signaling. *Antioxidants and Redox Signaling*, 20(17), 2776-2793.

reaktif türlerin üretimi yönüne doğru kaydırılması yoluyla vücudun karşılaştığı tehlikeleri nasıl atlattığının güzel bir örneğidir. ^{27, 28}

Gastrointestinal sistem

Gastrointestinal sistemde esas olarak besinlerin sindirim ve emilimi gerçekleşir. Bu sistem aynı zamanda, bağışıklık sistemi aracılığıyla, endotoksinler gibi bakteriyel ürünlerin vücuttan uzaklaştırılmasından sorumludur. Bu süreçte besin kaynaklı bazı toksinlere de (örneğin, karsinojenler, oksidan ürünler, etanol gibi prooksidanlar, peroksitlenmiş yağlardan kaynaklanan aldehitler) sürekli maruz kalınır. Hayvansal kökenli pişmiş gıdalarda F2-izoprostanlar, lipid hidroperoksitleri, kolesterolün oksidasyon ürünleri, proteinler ve DNA ile Maillard reaksiyonu ürünleri bulunur. Ayrıca fitoprostanlar ve fitosteroller gibi bitkisel kaynaklı lipitlerin oksidasyon ürünleri de sindirime katılabilir. Ancak, gastrointestinal kanalda ortadan kaldırıldıkları ve kana ulaşamadıkları için, diyetteki lipit ve protein oksidasyon ürünlerinin sistemik toksisitesi çok düşüktür. Buna karşılık, gastrointestinal sistem kanalını kaplayan hücreler aldehitler, lipit peroksitleri ve kolesterolün oksidasyon ürünleri (örneğin, pişmiş et ve balık kaynaklı) gibi ajanlara yoğun bir şekilde maruz kalır. Ayrıca gastrointestinal yolun diğer hücreleri tarafından (örn. kolonik epitelde $O_2^{\bullet-}$ üreten NADPH oksidaz enzimleri) ortama reaktif türler salınır. ^{29, 30}

Ağız, yemek borusu ve midenin maruz kaldığı reaktif tür kaynaklarından bazıları şunlardır:

- Gıdalardan gelen demir, bakır iyonları ve askorbat, özellikle midede OH^{\bullet} oluşumunu başlatabilir ve lipitlerin oksidasyonunu katalizleyebilir. Bu süreçte diyet kaynaklı bakır iyonları askorbattan OH^{\bullet} ile diğer reaktif türleri üretebilir.
- Gıdalardaki nitritin gastrik asit etkisi ile nitroz asite dönüştürülmesi sonrasında DNA deaminasyon türleri oluşur.
- Bazı içeceklerde, özellikle kahvede, yüksek konsantrasyonda hidrojen peroksit ($> 100 \mu M$) bulunur. Ağızdaki bakteriler tarafından da hidrojen peroksit üretimi gerçekleştirilir.

27 Yang, Y., Bazhin, A. V., Werner, J., & Karakhanova, S. (2013). Reactive oxygen species in the immune system. *International Reviews of Immunology*, 32(3), 249-270.

28 Nathan, C., & Cunningham-Bussel, A. (2013). Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive oxygen species. *Nature Reviews Immunology*, 13(5), 349-361.

29 Halliwell, B., Zhao, K., & Whiteman, M. (2000). The gastrointestinal tract: a major site of antioxidant action? *Free Radical Research*, 33(6), 819-830.

30 Circu, M. L., & Aw, T. Y. (2011). Redox biology of the intestine. *Free Radical Research*, 45(11-12), 1245-1266.

- Diyetle yüksek oranda okside olabilen hidroksihidrokinon gibi proksidan fenolik bileşikler bulunur.

Yukarıda sıralanan kaynaklara ve radikal saldırılarına karşı savunma mekanizmaları gelişmiştir:

- Lipitler başta olmak üzere, oksitlenmiş molekül içeriği yüksek olan yiyeceklerin tatlarını kokuşmuş olarak algılar ve yemeyi reddederiz.
- Gastrointestinal kanalı kaplayan mukus tabakası kolondaki bakteri florasını düzenlemeye yardımcı olarak ortamdaki OH[•] gibi reaktif türleri önemli oranda temizler.
- Diğer dokularda olduğu gibi, gastrointestinal kanalın hücrelerinde de DNA onarım enzimleri, oksitlenmiş proteinleri ortadan kaldıran proteazom sistemi ile metiyonin sülfoksit redüktaz, SOD, katalaz, peroksiredoksin, GST ve GPx gibi enzimler bulunur.
- İnce bağırsağın ve kolonun SOD ve GPx aktiviteleri hücre dışındadır. Böylece reaktif türlerin detoksifikasyonu besinlerin hücreye girmesinden önce gerçekleştirilebilir.
- Gastrointestinal kanal hücreleri içindeki GPx, lipitlerdeki peroksitlerin çoğunu kana emilmeden önce ortadan kaldırabilir. Bağırsak dokusu, peroksitleri ve sitotoksik aldehytleri metabolize edebilen GST açısından oldukça zengindir.
- Nrf2 sistemi yoluyla, sülforafan dahil olmak üzere birçok diyet bileşeni gastrointestinal kanaldaki antioksidan savunma sistemi bileşenlerinin (GST, GPx vd.) aktivitesini artırabilir.

Bağırsak epitel bariyeri, mikrobiyotayı oluşturan mikroorganizmalar ile birlikte, birbirine bağlı bir ekosistem olarak düşünülebilir. Konak ve mikrobiyota sürekli iletişim halindedir. Kimyasal sinyaller (O₂, H₂O₂, pH, ATP, laktat) ile defensinler, antimikrobiyal peptitler, lizozom, IgA, immün mediyatörler sitokinler ve besin kaynaklı bazı bileşikler bu iki yönlü iletişimi etkilemekte ve yönetmektedir. Stabilitesi ve difüzyon kapasitesinden dolayı, H₂O₂ de bu iletişime katkı yapar. Ancak ortamdaki etkinliği tükürük içine salınan peroksidazlar ve katalazın etkisiyle hızla kaybolur. Tükürükteki peroksidaz ile tiyosiyanat oksidasyon ürünlerinin üretimi önemli bir antibakteriyel mekanizma olarak kabul edilir.

Öte yandan, yediğimiz ve içtiğimiz gıdalardaki bileşenler sadece prooksidan değildir. Besinler aracılığıyla gastrointestinal sisteme antioksidanlar da sunulur. Bunlardan bazıları iyi emilir, emilmemiş olanlar gastrointestinal sistemin hücre dışı ortamında antioksidan koruyucu etki yapar. Örneğin, besinlerdeki flavonoidler ve diğer

bazı fenolikler reaktif türler ile etkin bir şekilde savaşır. Kırmızı et tüketiminin idrarda ve plazmada malondialdehit seviyelerini artırdığı, buna karşılık kırmızı şarap veya kahve gibi polifenollerce zengin içeceklerin bu seviyeleri düşürdüğü gösterilmiştir.³¹

Eritrositler

İnsanda en fazla sayıda bulunan hücrelerin başında eritrositler gelmektedir. Birincil işlevleri O₂ ve CO₂'in akciğerler ve dokular arasında taşınması olan bu hücreler etkili bir antioksidan savunma sistemi ile donatılmıştır. Söz konusu antioksidan sistem, sadece eritrositlere değil aynı zamanda vücuttaki tüm doku ve organlara da koruyuculuk yapar ve serbest radikal temizleyici olarak çalışır.

Eritrositler, mitokondri içermediklerinden moleküler oksijeni kullanarak ATP üretemez. Olgun eritrositlerde ATP üretiminin tek kaynağı anaerobik glikolizdir. Normal şartlar altında, eritrositlerde glukozun yaklaşık %90'ının glikoliz yoluyla ATP üretmek için kullanıldığı, geri kalan %10'unun ise NADPH üretimi sağlayan heksoz monofosfat yoluna yönlendirildiği bilinmektedir. Bu alternatif yol, öncelikle hemoglobini korumak ve okside glutasyonu indirgemek amacıyla kullanılır. İnsanda eritrositlerin ortalama ömrü 120 ± 20 gündür. Eritrositler yaşamı boyunca, çok sayıda stresli duruma maruz kalmaktadır. Akciğerlerden dakikada bir kez, böbrek medullasından ise bir saat içinde çok kez geçer ve kendilerinden daha küçük çaplı olan kılcal damarlarda sıkışarak ilerlerler. Bu nedenle, eritrositlerin yapısal bütünlükleri sürekli baskı altındadır.

Yapılan çok sayıda *in vitro* ve *in vivo* çalışma, eritrositlerin normal işleyişi için gerekli pek çok parametrenin oksidatif stresden olumsuz etkilendiğini göstermiştir. Özellikle membrana bağlı reseptörlerin ve enzimlerin inaktivasyonu, iyonik parametrelerdeki değişiklikler, proteinlerin ve lipidlerin oksidasyonundaki artışlar önem taşır. Eritrositlerdeki herhangi bir anormallik yaşamsal sonuçları olan etki yaratabilir. Eritrositlerde sitoplazmanın üçte birini yoğun bir şekilde paketlenmiş olan hemoglobin oluşturur. Eritrosit kuru ağırlığının yaklaşık %90'ı hemoglobindir. Hemoglobinin betazincirlerindeki tiyol grupları sitoplazmanın total tiyol havuzuna önemli katkıda bulunur. Eritrositler akciğerlerde kılcal damarlardan geçerken, hemoglobinin dört hem grubuna da O₂ bağlanır. Deoksihemoglobinde hemdeki demir Fe²⁺ durumundadır, O₂ bağlandığında bazı elektronlar yer değiştirir. Etkili bir antioksidan sistemin varlığına rağmen, hemoglobinin demiri sürekli olarak yüksek miktarda oksijene maruz kalmaktadır. Oksidasyon sonucu hemoglobin met-hemoglobine

31 Gorelik, S., Kanner, J., Schurr, D., & Kohen, R. (2013). A rational approach to prevent postprandial modification of LDL by dietary polyphenols. *Journal of Functional Foods*, 5(1), 163-169.

(metHb) dönüştüğünde artık oksijen bağlayamaz veya taşıyamaz. Eritrosit içindeki metHb seviyesi normal şartlar altında, toplam hemoglobinin %1'inden daha az seviyede tutulur. Bununla birlikte, yüksek stres koşullarında bu oran artmaktadır. Eritrositlerin karşı karşıya oldukları tüm zorlayıcı koşullara rağmen membran yapılarını sağlam tutmaları ve korumaları gerekir.

Dolaşımdaki eritrositlerin karşılaştığı bazı problemler:³²

- Oksihemoglobinin yaklaşık %3-4'ü her gün oksidasyona uğrar, tamamının oksidasyonu 33-34 günde tamamlanır. Bu sürecin sonunda eritrosit O₂ taşıyamayacak hale gelir.
- Eritrositler PUFA bakımından zengin bir zar içindedir ve prooksidan hem proteinini ve ona bağlı O₂'i taşırlar.
- Küçük kapiller damarlarda fiziksel stres altındadırlar. Buralarda zarda meydana gelen deformasyon, lipit peroksidasyonunun etkilerini artırabilir.
- Eritrositlerin oksidasyona uğramış protein ve lipitleri yenileyecek sentezleme yetenekleri yoktur. Mitokondrisi bulunmadığı için iyon taşınmasında, GSH sentezinde ve özellikle de
- Na⁺/K⁺-ATPaz enzimi için gerekli olan ATP'yi üretmek üzere glikoliz yolunu kullanır. Dolayısıyla, eritrositlerde mitokondriyal O₂^{•-}/H₂O₂ üretimi yoktur.
- Yaşla birlikte, eritrositlerdeki GSH seviyeleri azalır ve sitoplazma ortamı daha okside hale gelir.

Eritrositlerde antioksidan enzimlerin yanı sıra enzimatik olmayan antioksidanlar da bulunur. Başlıcaları askorbik asit, α-tokoferol, GSH ve diğer tiyol gruplarıdır. Bunlardan α-tokoferol, eritrosit membranlarında bulunan PUFA'yı peroksidasyona karşı korumak üzere güçlü bir peroksil radikal temizleyici olarak çalışır. Oksidatif stres içeren birçok hastalık durumunda α-tokoferol seviyesi azalmıştır.

Hemen hemen tüm hücrelerde oksidanlara karşı primer korumayı GSH sağlar. Eritrositlerde GSH'nin temel rolü, hemoglobini yüksek konsantrasyonda ve doğal formunda tutmaktır. Eritrositlerde membran bütünlüğünün bozulmasındaki başlıca neden olan lipit peroksidasyonunun ve membran tiyol gruplarının korunmasında da yine GSH önemli rol oynar. Oksidatif strese karşı korunmadaki doğrudan rolünün yanı sıra, GSH bir dizi koruyucu enzim için

32 Reeder, B. J. (2010). The redox activity of hemoglobins: from physiologic functions to pathologic mechanisms. *Antioxidants and Redox Signaling*, 13(7), 1087-1123.

kofaktör görevi görür. GSH peroksidaz, GSH redüktaz ve GSH-S-transferazlar bunların başında gelir. Oksidatif koşullarda membran hasarı meydana geldiğinde, GSH geri dönüşümlü olarak GSSG'ye oksitlenir ve eritrosit zarından geçerek dışarı çıkar. Bu mekanizma, oksidatif stres durumundaki azalmış GSH seviyelerinin nedenidir.

Mitokondrisi bulunmadığından eritrositlerde Mn-SOD yerine bol miktarda Cu/Zn-SOD vardır. Cu/Zn-SOD enziminin kataliziyle süperoksit H_2O_2 'ye dönüşür. Oluşan H_2O_2 de katalaz ve GPx1 ile ortamdan uzaklaştırılır. Eritrositler, kanda üretilen hücre dışı H_2O_2 ve $O_2^{\cdot-}$ için atık deposu olarak işlev görür. Başka bir deyişle eritrositler kanın temel antioksidanıdır. Süperoksit, bir anyon kanalı aracılığıyla eritrosit zarlarını kolayca geçer. Bu kanal, bant 3 proteindir ve hem hücre iskeletini zara sabitler hem de bir iyon taşıyıcı olarak rol oynar. Benzer anyon değiştirme proteinleri, akciğerler de dahil olmak üzere çeşitli dokularda bulunur.³³

Sağlıklı bireylerin eritrositleri kolay kolay lipit peroksidasyonuna maruz kalmaz. Talasemisi ve orak hücreli anemisi olan hastaların eritrositlerinde lipit peroksidasyonu artışı bildirilmiştir. Orak hücreli anemide, β -zincirinin altıncı pozisyonundaki glutamat kalıntısının yerini valin almıştır. Bu mutant proteine O_2 bağlanabilir, ancak deoksi formu kararsızdır ve eritrositte çökme eğilimi gösterir. Sonuçta orak şekilli hücreler oluşur. Orak hücrelerin tıkadığı kılcal damarlarda meydana gelen iskemi ve reperfüzyon süreci ise ortamdaki reaktif türlerin üretimini arttırır. Hücreler kolayca hemoliz olarak yıkım için işaretlenir ve anemiye yol açarlar. Hastalardaki artmış plazma ksantin oksidaz aktivitesi, önce $O_2^{\cdot-}$ ve sonra ONOO⁻ üretimine yol açarak durumu daha da kötüleştirir. Orak hücreli eritrositlerde GSH seviyeleri normalin altındadır. Diketogulonat gibi askorbat oksidasyon ürünlerinin birikimi gözlenir. Orak hücreli anemide GSH sentezinin, tüketimindeki artışa yanıtı olarak arttığı bulunmuştur.³⁴

Eritrositlerde oksidasyona uğramış hemoglobin ve diğer anormal proteinler, 20S proteazom sistemi vasıtasıyla yıkıma uğrattılır. Ancak, çok fazla demir iyonu salınacak olursa bu çözüm yolu bir probleme dönüşebilir. Eritrositlerde oksitlenerek hasar görmüş yani oksitlenmiş veya glikozillenmiş membran proteinlerini yıkıma uğratabilen bir enzim olan okside protein hidrolaz enziminin fizyolojik fonksiyonları henüz tam olarak bilinmemektedir. Yaşlanmış ve hasara uğramış eritrositler dolaşımdan retiküloendotelial sistem (RES) aracılığıyla

33 Nozik-Grayck, E., Huang, Y.-C. T., Carraway, M. S., & Piantadosi, C. A. (2003). Bicarbonate-dependent superoxide release and pulmonary artery tone. *American Journal of Physiology – Heart and Circulatory Physiology*, 285(6), H2327-H2335.

34 Reid, M., Badaloo, A., Forrester, T., & Jahoor, F. (2006). In vivo rates of erythrocyte glutathione synthesis in adults with sickle cell disease. *American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism*, 291(1), E73-E79.

temizlenir. Bu hücrelerin yüzeyinde beliren yaşlı hücre antijeni (*senescent cell antigen-SCA*), immünooglobulin G'ye bağlanır. Daha sonra bu yapı karaciğerdeki Kupffer hücreleri ve dalaktaki makrofajların çöpçü reseptörleri vasıtasıyla tanınır. Hemoglobinin içindeki demir ise geri dönüştürülerek tekrar kullanıma sunulur.

Göz

Kornea yüksek miktarda O_2 'e maruz kalır. Mercekteki uzun ömürlü proteinler zamanla yaşlanır ve ayrıca her zaman için çok fazla ışıktan zarar görme riski vardır. Gözle ilgili olarak, bebeklerde görülen prematüre retinopatisinden, yaşlılıkta görülen patolojilere kadar çeşitli sorunlar ortaya çıkabilir. Bunlardan başlıcaları maküler dejenerasyon ve merceğin opaklığıyla karakterize olan katarakttır. İkisi birlikte yetişkinlerdeki körlük vakalarının çoğunu oluşturur.

Gözün yaşadığı problemler, akciğerlerin ve eritrositlerin karşılaştıklarının hem benzeri hem de bileşimidir. Bu problemler şöyle sıralanabilir: ³⁵

- Kornea, atmosferdeki O_2 'e, hava kirliliğine ve çeşitli iritanlara maruz kalır.
- Yüksek miktardaki ışığa aşırı maruziyet, mercekteki proteinlerin oksidasyonuna ve çapraz bağlanmalara yol açabilir.
- Hidroksil radikali (OH^\bullet) camsı cismin hiyalüronik asit içeriğini depolimerize ederek viskoziteyi azaltabilir.
- Mercekteki epitel hücreleri, H_2O_2 , lipit peroksitleri ve kolesterol oksidasyon ürünleri tarafından kolayca hasara uğratılır. Bunun sonucunda DNA ipliklerinin kırılması ve Na^+/K^+ -ATPaz gibi iyon kanallarında anormallikler ortaya çıkar.
- Retina hem nörotransmisyon hem de görmeye ilgili moleküllerin sentezi için gerekli enerjiyi üretebilmek üzere yüksek oranda O_2 alır. Burada 40-60 mmHg olan pO_2 , pek çok vücut dokusundan daha yüksektir. Bu nedenle, kısa süreli iskemi bile geri dönüşü olmayan görme hasarına yol açabilir. Bununla birlikte, yüksek oranda O_2 alımı reaktif türlerin yüksek oranda üretimi demektir. Memeli retinasında yüksek miktarda bulunan nöroglobin, O_2 seviyesinin düşmesi durumunda tekrar yeterli düzeye çıkaracak olan tedarikçi moleküldür.

35 Shoham, A., Hadziahmetovic, M., Dunaief, J. L., Mydlarski, M. B., & Schipper, H. M. (2008). Oxidative stress in diseases of the human cornea. *Free Radical Biology and Medicine*, 45(8), 1047-1055.

Retina hücre zarlarındaki lipitler ve koniler yüksek oranda PUFA, özellikle de dokosaheksaenoik asit (DHA) içerdiklerinden peroksidasyona karşı hassastır.

Gözün makula bölgesi çevresinde retinanın bozulmasıyla karakterize bir hastalık olan, yaşa bağlı makula dejenerasyonu yaşlılıkta kalıcı körlüğün önde gelen nedenidir. Bu hastalar başlangıçta, oksitlenme reaksiyonları gösteren protein ve lipitlerin sub-retinal birikintiler oluşturduğu *drusen* tanısı alır. İlerlemiş makula dejenerasyonunda da makula kaybının olduğu kuru form veya koroiddeki kan damarlarının aşırı büyüyerek retinaya penetre olduğu ıslak form görülür.

Oksidatif stres, inflamasyon ile yakından ilişkili olduğu için, retina pigment epitelinin oksidatif stres kaynaklı ve esas olarak nekroza bağlı gelişen hücre ölümünün, inflamatuvar bir gen olan HMGB1 ekspresyonunu indüklediği bildirilmiştir. Ayrıca, makrofajlar ve sağlıklı RPE hücrelerindeki oksidatif strese maruz kalarak ölen hücreler aracılığıyla inflamatuvar bir sitokin olan TNF- α yapımı da uyarılır. Bununla birlikte, TNF- γ , IL-1 β veya IFN- γ gibi proinflamatuvar sitokinler, RPE hücrelerinde hem hücre içinde hem de hücre dışında serbest radikal üretimini indükler. Bu sitokinlerin glokom, yaşa bağlı maküler dejenerasyon, diyabetik retinopati veya retinal ven tıkanıklığı olan hastaların gözünde de üretildiği gösterilmiştir. Gözün sıkça maruz kaldığı bir eksojen reaktif tür kaynağı sigara dumanıdır. Sigara dumanındaki hidrokinon, işlenmiş gıdalarda, plastik kaplarda ve atmosferi kirleten diğer ajanlarda bulunan bir oksidandır.

Göz merceğine kan damarı girmez. Dolayısıyla besin ve O₂ ihtiyaçları difüzyonla giderilir. Mercek içi O₂ seviyeleri düşük olup çekirdekte 9-10 mmHg olarak ölçülmüştür. Bu da, singlet O₂ oluşumunu ve oksidatif hasarı en aza indirmeye yarar.³⁶ Ayrıca, yüksek ışık yoğunluğu altında irisin hızlı daralma refleksi retinanın korunmasına yardımcı olur. Korneada da kan damarları bulunmaz. Ancak dış yüzeyi askorbat, ürat, müsin ve pek çok proteini içerengözyaşı sıvısında tam anlamıyla yıkanır. Korneal kristalin olarak adlandırılan aldehit dehidrojenaz tip 3A1 proteini, lipit peroksidasyonunun son ürünleri ve aldehitleri azaltma göreviyle birlikte önemli miktarda UV ışığı emer.³⁷ Göz, herhangi bir tahrişe maruz kaldığında, rahatsız edici ajanı yıkamak ve antioksidan kaynaklarını yenilemek için gözyaşı

36 Beebe, D. C., Holekamp, N. M., & Shui, Y.-B. (2010). Oxidative damage and the prevention of age-related cataracts. *Ophthalmic Research*, 44(3), 155-165.

37 Chen, Y., Thompson, D. C., Koppaka, V., Jester, J. V., & Vasiliou, V. (2013). Ocular aldehyde dehydrogenases: protection against ultraviolet damage and maintenance of transparency for vision. *Progress in Retinal and Eye Research*, 33, 28-39.

sekresyonu artar. İnsandaki gözyaşı salgısı, demire bağımlı serbest radikal reaksiyonlarını güçlü bir şekilde inhibe eder. Gözyaşı üreten lakrimal bezlerin etkinliği yaşlanmaya bağlı olarak azalırken oksidatif hasar seviyesi de artar. Kornea epitel hücreleri çeşitli antioksidanları (örn. askorbat, GSH, SOD ve H_2O_2 uzaklaştırıcı enzimler) içerir. Peroksiredoksinler ve katalaz, gözün tüm bölgelerinde bulunur. Ancak diğer hücrelerde olduğu gibi yüksek seviyelerdeki hidrojen peroksit oküler peroksiredoksinlerin inaktivasyonuna sebep olabilir. Aldehit ve lipit peroksit metabolizmasına olan katkıları belirsiz olan GSH S-transferaz enzimleri gözde mevcuttur. Ferritinin demir iyonu sekestrasyonundaki rolüne ek olarak, DNA'nın UV hasarından korunmasına yardımcı olduğu gösterilmiştir.³⁸ Pek çok memelinin merceğinde GSH konsantrasyonu, çekirdekte düşük olmasına rağmen, mercek epitelinde karaciğerdeki değerler kadar yüksektir. GSH bir yandan kristalinlerin tiyol gruplarını korurken, aynı zamanda opak kümelenmeler oluşturarak birikmelerini de önler. Süperoksit dismutaz enzimi çoğunluk Cu/Zn-SOD olmak üzere tüm göz dokularında bulunur. Ancak özellikle retina pigment epitelinde yüksek miktarda mitokondriyal Mn-SOD vardır. Askorbat sadece gözyaşı sıvısında değil, aynı zamanda mercekte, korneada ve retina pigment epitelinde yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Bunlardan kornea epitel hücreleri en yüksek askorbat seviyesine sahiptir. Antioksidan alımıyla kandaki antioksidan seviyelerini katarakt veya maküler dejenerasyon insidansı ile ilişkilendiren çalışmalarda, yüksek askorbat, lutein veya zeaksantin alımının her iki hastalıkta da riski azalttığı öne sürülmektedir. Bununla birlikte, sonuçlarda C ve E vitaminini etkileyen polimorfizmlerin dikkate alınmamış olması nedeniyle, bulguların tartışmalı olduğu bildirilmiştir.

Deri ve yaşlanma

Deri, vücudun iç ortamını su kaybından ve patojenlerden, kimyasal ve fiziksel stres ile UV ışınları gibi zararlı ajanlardan korumak için bir bariyer görevi gören kompleks bir organdır. Deride iki büyük tabaka olan dermis ve epidermis ile bunların altında adipositler açısından zengin olan hipodermis bulunur. Epiderminin, dermisle bulunduğu yerde bölünebilen hücreler olan keratinositler yer alır. Bu hücreler epidermisten yukarı doğru göç eder ve kornifikasyon olarak adlandırılan keratinizasyon süreciyle farklılaşır. Epiderminin en üst tabakası olan *stratum corneum* ise keratin ve lipitler açısından zengin bir matrikse gömülü bir bariyer oluşturur. Keratin, disülfid köprüleri bakımından zengin bir proteindir. Dermatofitler olarak bilinen ve çeşitli deri hastalıklarına neden olan mantarlar tarafından hasara

38 Sacca, S. C., Roszkowska, A. M., & Izzotti, A. (2013). Environmental light and endogenous antioxidants as the main determinants of non-cancer ocular diseases. *Mutation Research*, 752(2), 153-171.

uğrattılır. Bir nedenle cildin yaralanmasını halinde keratinositler hücre çoğalmasının düzenlenmesinde rol oynayan NADPH oksidaz etkisiyle düşük seviyelerde O_2^{*-} üretebilir. NADPH oksidazlar ayrıca derideki fibroblastlarda ve melanositlerde de bulunur.³⁹

Reaktif türler deri hücrelerinde sürekli düşük seviyelerde oluşur ve paradoksal şekilde buradaki yararlı etkilere öncülük eder. Oksitlenmiş lipitler ile proteinler cilt yüzeyinde değişikliklere neden olurken, UV ışınlarının etkisi ile üretilen reaktif türler cildin yumuşaklığını korumak ve mantar enfeksiyonlarının gelişmesini önlemek üzere oksitlenmiş lipit hidroperoksit seviyelerini artırır. Ayrıca, reaktif türler melanositler üzerinde hem pigmentasyonu hem de depigmentasyonu artıran paradoksal etki gösterir. Nitrik oksit ise kan akımı, saç büyümesi ve yara iyileşmesinin düzenlenmesi gibi önemli süreçlerde rol alır. Kan damarlarında nitrik oksit sentezinden sorumlu enzim eNOS iken, keratinositlerde ve melanositlerde nNOS ve inflamasyon sırasında iNOS enzimleri görev alır. Nitrik oksit ayrıca derinin UV'ye maruz kalması sırasında enzimatik olmayan yollarla da üretilir.⁴⁰

Derinin karşılaştığı temel problemler aşağıdaki gibidir:

- Akciğer ve kornea gibi, deri de doğrudan atmosferik O_2 'e maruz kalır. Stratum corneum alt tabakalara O_2 difüzyonunu bir dereceye kadar engeller.
- Deri ısı değişiminde rol oynar ve ısıyı uzaklaştırmak için vazodilatasyon ile ısıyı korumak için yapılan vazokonstriksiyon işlemleri sırasında normalden çok fazla veya çok az oksijene maruz kalabilir.
- Öte yandan deri çeşitli kaynaklardan gelen çok sayıda kimyasalla da savaşmak zorundadır. Bunlar hava kirliliği, deodorantlardaki terlemeyi önleyici kimyasallar ve alüminyum tuzları, güneş kremleri, losyonlar, kozmetikler, sabunlar, duş jelleri, şampuanlar, yağlardaki deri üzerine uygulanan kimyasallar, organik peroksitleri içeren endüstriyel kimyasallar, klor, çözülmüş metal iyonları gibi suyla taşınan toksinler ve ter içinde bulunan kimyasallardır.

Deri singlet O_2 , OH^* , H_2O_2 ve diğer reaktif türlerden kaynaklanan foto-oksidatif hasarla sürekli karşılaşır. Bazı kozmetiklerde, oral

39 Stanley, A., Hynes, A., Brakebusch, C., & Quondamatteo, F. (2012). Rho GTPases and Nox dependent ROS production in skin. Is there a connection? *Histology and Histopathology*, 27(11), 1395-1406. <https://doi.org/10.14670/hh-27.1395>.

40 Suschek, C. V., Opländer, C., & van Faassen, E. E. (2010). Non-enzymatic NO production in human skin: effect of UVA on cutaneous NO stores. *Nitric Oxide*, 22(2), 120-135.

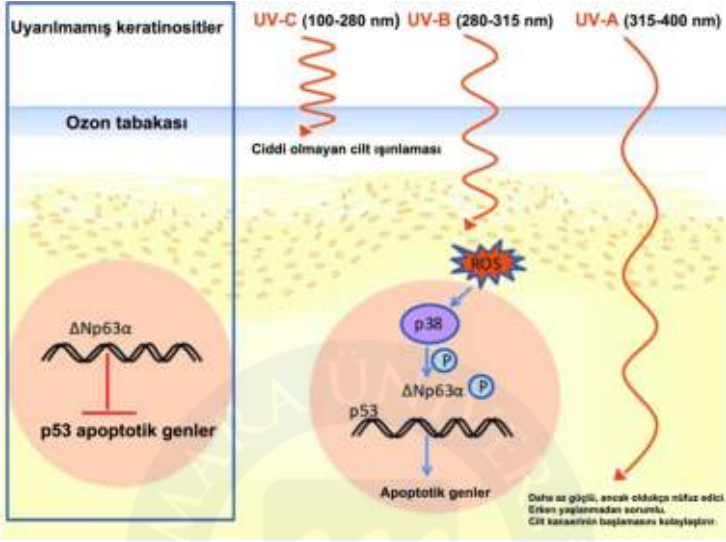
yolla alınan sakinleştirici fenotiyazinler gibi deriye ulaşan ilaçlarda ve florokinolon, tetrasiklin gibi antibiyotiklerde fotosensitizanlar olarak adlandırılan maddeler bulunur. Dövmelerde kullanılan çeşitli boya da cilde zarar verebilecek fotosensitizanları içerir.

Derinin karşılaştığı en büyük problem ışığa, özellikle de UV ışınına maruz kalmaktır. Güneş ışınlarına maruziyet insanlarda cilt yaşlanmasının en önemli sebeplerindendir. Ayrıca cilt kanserlerinin başlıca risk faktörüdür. Foto-yaşlanmaya ciltte kırışıklık ve elastikiyet kaybı, deri dayanıklılığında azalma, protein oksidasyon ürünlerinin birikimi, lipidlerin oksidasyonu ve yara iyileşmesinin gecikmesi eşlik eder.

Güneş ışınlarındaki UV-A (320-400 nm) ve UV-B (290-320 nm) ışınları yeryüzüne ulaşırken, daha zararlı olan UV-C (100-290 nm) ozon tabakası tarafından filtrelendir. Bu tabakanın hasara uğraması sonucu daha fazla UV-B dünyaya ulaşır ve balıklar, amfibiler ve karasal organizmalar üzerindeki foto-kimyasal hasarı artırır. Cilde ulaşan UV-B ışınının %10'u dermise geçmek için epidermise penetre olabilir. UV-A ile eşit derecede maruz kalındığı durumda, UV-B cilde daha çok zarar verir. Ancak, UV-A'nın daha derinlere nüfuzu ve güneş ışığındaki miktarının çok fazla olması, maruz kalınan hasara önemli katkı sağlar. UV ışınları, X-ışınlarının ve gama ışınlarının aksine, su moleküllerini parçalamak için yeterli enerjiye sahip değildir. Bununla birlikte, ortamda H₂O₂ mevcut ise, UV-B ışınları OH• oluşumuna neden olarak doğrudan DNA'ya zarar verebilir. UV-A ise DNA'ya çok az zarar verir, ancak DNA'daki 8-OH-dG seviyesini arttırabilir. Ultraviyole ışınları ayrıca ciltteki lipidlerin oksidasyonuna neden olur ve daha sonra da peroksitlerden akrolein ve HNE gibi aldehitlerin üretilmesi yoluyla DNA'ya zarar verip foto-yaşlanmayı hızlandırabilir. Bütün bu mekanizmaların yol açtığı DNA hasarı, UV kaynaklı kanserlere de neden olmaktadır. DNA onarım kusurları olan insanlar genellikle cilt kanserine daha yatkındır. Tümör baskılayıcı gen p53 mutasyonları cilt kanseri gelişiminde önemlidir.⁴¹ Bu moleküldeki çift gen mutasyonlarının, iç organlara göre ciltte çok daha yaygın olması güneş ışınlarının rolünü ortaya koymaktadır. UV-A veya UV-B, cilt hücrelerinde çok çeşitli transkripsiyon faktörlerinin (örn. AP-1 ve NF-κB) aktivasyonuna yol açabilir. Böylece sitokin ve iNOS seviyeleri artar, NO• üretimi ve ONOO⁻ oluşumu gerçekleşir.⁴²

41 Bulteau, A.-L., Moreau, M., Nizard, C., & Friguet, B. (2002). Impairment of proteasome function upon UVA-and UVB-irradiation of human keratinocytes. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(11), 1157-1170.

42 Suschek, C. V., Opländer, C., & van Faassen, E. E. (2010). Non-enzymatic NO production in human skin: effect of UVA on cutaneous NO stores. *Nitric Oxide*, 22(2), 120-135.



Şekil 4. UV A-B-C ışınlarının deri üzerine etkileri⁴³

Ozona maruz kalmak, stratum corneumdaki proteinlerin ve lipidlerin oksidasyonuna neden olurken, aşırı NO_2 üretimi de bunları nitratlayabilir. Stratum corneumdaki sisteinden zengin proteinler ve diğer antioksidanlar, bir dereceye kadar bu toksik gazları engelleyebilir. Bu şekilde daha derinde yer alan cilt hücreleri korunabilir, ancak bu süreçte proteinler zarar görür. Sigara kullanımı da oksidatif hasar ile matris metallo-proteinazların aktivasyonunu hızlandırarak cilt yaşlanmasını artırır. Kollajen ve diğer proteinlerin glikasyonu da cilde zarar verebilir.

Cilt yaşlanması UV-B'nin neden olduğu oksidatif stres aracılığıyla başlar. Bağışıklık hücreleri iNOS, IL-6, IL-1 β ve TNF- α gibi inflamatuvar sitokinleri üretir. Cildin UV radyasyonuna maruz kalmasını takiben, buradaki bağışıklık hücreleri inflamatuvar sitokinleri serbestleştirerek kronik inflamasyon sürecini başlatır. Aşırı ROS seviyeleri MAPK-sinyal yolunu aktive eder, bu kaskat inflamatuvar proteinlerin AP-1 ve NF κ B aracılı ekspresyonunu tetikleyerek inflamasyonu daha da indükler ve sonuç kanser gelişimine kadar ilerleyebilir. Etkili bir topikal antioksidan kullanımı, UV ile indüklenen serbest radikal oluşumunu azaltarak cildin fotoyaşlanmasını önleyebilir ya da geciktirebilir. Derideki antioksidan sistem yaşlanma, fotoyaşlanma, inflamasyon, yara iyileşmesi, tümör oluşumu gibi pek çok süreçte rol alır. İnsan derisindeki antioksidanlar birbirinden bağımsız olmakla birlikte iş birliği halinde çalışırlar. Askorbik asit, tokoferoller ve polifenoller gibi

43 Costanzo, A., Fausti, F., Spallone, G., Moretti, F., Narcisi, A., & Botti, E. (2015). Programmed cell death in the skin. *International Journal of Developmental Biology*, 59(1-2-3), 73-78.

bilinen antioksidanlarla tedavi organizmanın direncini artırır, cildin yaşlanmasını ve inflamasyon gelişimini önler. Deri hasarı sırasında reaktif türlerin seviyelerinin yükselmesinin temel nedeni, istilacı mikroorganizmaların uzaklaştırılması ve imhası için ve/veya hasarlı doku yapılarının ortamdaki temizlenmesi sırasında gerçekleşen reaksiyonlardır.

UV ışınlarına karşı en iyi çözüm onlardan korunmaktır. Ancak, kullanılan güneş kremlerinin bazı bileşenleri (örn. titanyum dioksit), 1O_2 ve OH^\bullet üretebilir. Tokoferoller, C vitamininin askorbil palmitat gibi hidrofobik esterleri ve flavonoidler kremlere koruyucu madde olarak eklenmekle birlikte, bunların cildin derinlerine nüfuz etme yetenekleri sınırlıdır. Bu yüzden diyetle alınan antioksidanlar daha etkili olabilir. Güneş ışınları UV-A, UV-B ve görünür aralıklar arasında değişen geniş bir absorpsiyon spektrumuna sahip olan melanin sentezini indükler. Melanin epidermiste ve saç foliküllerinde bulunan melanositlerde yapılır, daha sonra keratinositlere ve saça aktarılır. Başlıca iki melanin tipi vardır: Ömelanin, elips şeklindeki melanozomlarda yapılır ve siyah, kahverengi saç ve deri renginden sorumludur. Feomelanin, küre şeklindeki melanozomlarda yapılır ve sarı, kırmızı saç ve deri renginden sorumludur. Melanin tiplerinden ömelanin foto-hasara karşı koruyucudur, ancak bu koruyuculuk feomelanin için her zaman geçerli değildir. Keratinositlerde ve fibroblastlarda yüksek seviyelerde GSH, SOD, GPx, katalaz, glikoksalazlar ve peroksiredoksinler gibi antioksidan enzimler ile α -tokoferol ve askorbat bulunur. Deride ayrıca DNA onarım enzimleri ve proteazom sistemi gibi çeşitli onarım mekanizmaları vardır.⁴⁴

Cildin kesiklere, sıyrıklara ve yanıklara maruz kalmasıyla birlikte hücre ölümü gerçekleşirken aynı zamanda eritrositlerin parçalanması sonucu çevreye hem ve demir salınır. Böylece yara çevresinde prooksidan bir ortam oluşur. Bu durum yalnızca kötü sonuçlar doğurmaz. Oluşan $O_2^{\bullet-}$ ve H_2O_2 gibi reaktif ürünler yara iyileşmesinde önemli rol oynar. Öncelikle aktif fagositler inflamasyonu hafifletmek için reaktif türleri üretir. İkincil olarak da ortamda biriken hem, olaya fagositlerin katılımında yardımcı olur. Yaralanmadan sonra kanın pıhtılaşma süreci başlar ve $O_2^{\bullet-}$ ile H_2O_2 içeren trombositler ortama toplanır. Pıhtılaşma sırasında salınan trombin, vasküler endoteldeki NADPH oksidaz aktivitesini artırabilir. Reaktif türler ayrıca keratinosit ve fibroblast proliferasyonunu da teşvik eder; keratinositlerdeki VEGF üretimini artırarak iyileşmeye yardımcı

44 Bulteau, A.-L., Moreau, M., Nizard, C., & Friguet, B. (2002). Impairment of proteasome function upon UVA- and UVB-irradiation of human keratinocytes. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(11), 1157-1170.

olabilir. ⁴⁵ Yaralanma sonrası iyileşme sürecinde antioksidanların rolü yeni ve ileri araştırmalarla aydınlatılması gereken konulardandır. Örneğin, diyabetik farelerde yara iyileşmesi daha yavaş olmasına rağmen, eNOS veya MnSOD kodlayan genlerle yapılan tedavi iyileşmeyi hızlandırmaktadır. Bu durum, vücuttaki $\text{NO}^*/\text{O}_2^{\bullet-}$ oranının ne derece önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. ⁴⁶

İskelet kası ve egzersiz

İskelet kası plastisite yeteneği olan ve egzersiz, antrenman gibi uyarılara ileri derecede yanıt verebilen bir dokudur. Dayanıklılık antrenmanı sırasında tekrarlanan kas kasılmaları mitokondriyal biyogeneze aktivasyon, lif tipinde transformasyon ve anjiyogenez gibi çeşitli fenotipik ve fizyolojik değişikliklere öncülük eder. Bütün bu değişimler kasın aerobik metabolizmasını etkiler ve yorgunluğa karşı direncini artırır.

Sedanter farelerde, damar endotelinde NADPH oksidaza bağımlı $\text{O}_2^{\bullet-}$ üretiminin ve buna bağlı olarak da vasküler disfonksiyonun arttığı bulunmuştur. Bununla birlikte, kasları yeterince kullanmamaya bağlı gelişen kas atrofisinin sonuçları daha dramatiktir. Fiziksel hareketlerin kısıtlanmasıyla meydana gelen kas yıkımına artmış protein karbonil bileşikler, nükleik asitlerde oksidatif hasar ve OH^* üretimi eşlik eder. Oksidatif hasar insanlarda da kasları kullanmamaya bağlı atrofilere ve ileri yaşlardaki kas yıkımında (sarkopeni) rol oynar. Kas liflerinde farklı uyarılarla aktive olan birkaç serbest radikal üretim merkezi tanımlanmıştır. Bunlar arasında mitokondriler, NOX'lar, fosfolipaz A_2 , ksantin oksidaz ve lipooksijenaz bulunur. Uzun yıllar boyunca mitokondriler hücrede reaktif türlerin ana üretim merkezi (%1-4) olarak kabul edilmesine rağmen, güncel veriler mitokondrideki üretimin çok daha az (%0.15) olduğunu göstermektedir. Reaktif türlerin kas hücresinin mitokondri iç zarındaki solunum zincirinden kaynaklanan elektron sızıntısıyla üretildiği düşünülmektedir. ⁴⁷

NADPH oksidazlar: NOX ailesi üyelerinin hem istirahat hem de kasılma aktivitesi sırasında iskelet kasındaki süperoksit radikali üretimine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Üretilen reaktif türler,

45 Sen, C. K., & Roy, S. (2008). Redox signals in wound healing. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1780(11), 1348-1361.

46 Luo, J.-D., Wang, Y.-Y., Fu, W.-L., Wu, J., & Chen, A. F. (2004). Gene therapy of endothelial nitric oxide synthase and manganese superoxide dismutase restores delayed wound healing in type 1 diabetic mice. *Circulation*, 110(16), 2484-2493.

47 Nikolaidis, M. G., Kyparos, A., Spanou, C., Paschalis, V., Theodorou, A. A., & Vrabas, I. S. (2012). Redox biology of exercise: an integrative and comparative consideration of some overlooked issues. *The Journal of Experimental Biology*, 215(10), 1615-1625.

hücre içi Ca^{2+} salımına yol açan ryanodin reseptörlerini aktive eder. Yakın zamanda, insülinin NOX aktivasyonu yoluyla serbest radikal oluşumunu indüklediği ve bunun nozitol trifosfat reseptörlerinin aracılık ettiği hücre içi Ca^{2+} artışı için gerekli olduğu bildirilmiştir.

Ksantin oksidaz: İskelet kasındaki ksantin oksidaz (XO) hem sitozolde hem de kaslarla yakın ilişkide olan endotel hücrelerinde bulunur. Kas kasılmasıyla artan XO aktivitesi lipit peroksidasyonu, protein oksidasyonu, kas hasarı ve ödeme yol açar. Çok miktarda ATP'nin tüketildiği yoğun egzersiz sırasında hipoksantin ve ksantin seviyeleri yükselir. Üretilen reaktif türler, PGC-1 α yoluyla egzersize bağlı mitokondriyal biyogenezin düzenlenmesinde rol oynamaktadır.

Fosfolipaz A₂: Fosfolipaz A₂ (PLA2) ailesi enzimleri, kas kasılması sırasında hücre içi ve hücre dışı serbest radikal artışına katkıda bulunur. İnsan iskelet kasının Ca^{2+} duyarlı veya duyarlı olmayan yaklaşık 15 farklı PLA2 izoformu içerdiği bilinmektedir. Ca^{2+} duyarlı olmayan enzimler istirahat sırasında, Ca^{2+} duyarlı enzimler ise kasılma sırasında serbest radikal üretir.

Egzersiz ciddi ölçüde kas hasarına neden olur.⁴⁸ Daha önceleri 1980'li yıllarda yapılan preliminer çalışmalarda, aşırı fiziksel aktivitenin mitokondriyal solunumu hasara uğrattığı, sarkoplazmik retikulumun yapısal bütünlüğünü bozduğu, lipit peroksidasyonunu artırdığı bildirilmişti. Güncel araştırmalarda ise, düzenli yapılan dayanıklılık antrenmanının iskelet kasında GPx, glutatyon redüktaz, katalaz ve SOD gibi antioksidan enzimlerin aktivitelerini artırarak oksidatif hasara karşı koruma sağladığı anlaşılmıştır.⁴⁹ İnsanlarda, özellikle sedanter bireylerde, şiddetli ve uzun süreli egzersiz kas hasarına neden olur ve miyogloblin, kreatin kinaz gibi kas enzimlerini dolaşıma salar. Maraton koşusu gibi uzun süreli yorucu egzersiz dolaşımdaki nötrofillerin sayısını artırır. IL-1, IL-6, TNF- α ve CRP seviyelerinde artışa yol açarak inflamasyonun akut yanıtına neden olur.⁵⁰ İskelet kası, orta şiddette yapılan egzersize hızlıca adapte olabilmeye yeteneğine sahiptir. Kas kasılmasıyla meydana gelen sıcaklık artışı, ısı şoku tepkisini tetikleyerek SOD, GPx1 ve katalaz seviyelerini yükseltebilir. Orta şiddette ve düzenli yapılan egzersizin bir başka önemli yararı antioksidan enzimlerin

48 Steinbacher, P., & Eckl, P. (2015). Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules*, 5(2), 356-377.

49 Witt, E. H., Reznick, A. Z., Viguie, C. A., Starke-Reed, P., & Packer, L. (1992). Exercise, oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. *Journal of Nutrition*, 122(3 Suppl), 766-773. https://doi.org/10.1093/jn/122.suppl_3.766.

50 Smith, J., Telford, R., Mason, I., & Weidemann, M. (1990). Exercise, training and neutrophil microbicidal activity. *International Journal of Sports Medicine*, 11(03), 179-187.

ve eNOS üzerinden NO sentezinin uyarılması ve bu yolla yaşlılarda vasküler yapıları korunmasıdır.⁵¹

Egzersiz sonrası oksidatif hasar belirteçlerinin seviyelerinde gözlenen önemli farkların nedeni deneklerde uygulanan egzersiz yoğunluğunun ve çeşidinin farklı olmasıdır. Ayrıca kaslarda meydana gelen oksidatif hasar her zaman plazmaya yansımayaabilir. Uzun süreli şiddetli egzersiz plazma hacmini değiştirir. Plazmada antioksidanların veya oksidatif hasar belirteçlerinin değişimini değerlendirirken bu durum dikkate alınmalıdır. Ayrıca, yaşlılar oksidatif hasara daha yatkındır.

İskelet kasının serbest radikallere maruziyeti, egzersizin süresine ve bireyin aktivite düzeyine bağlı olarak, yararlı veya zararlı etkilere sebep olabilir. Yorgunluk seviyesine ulaşmamış bir kasta, düşük seviyedeki serbest radikal üretimi kas kuvveti üretmek için gereklidir. Yoğun egzersiz sonrası güçlü bir şekilde artan serbest radikal üretimi, egzersiz düzenli olarak yapıldığı takdirde kas hücrelerinin adaptasyonuna yol açar. Sedanter kişilerde ise tek seferde yapılan şiddetli akut egzersizin oksidatif hasara neden olduğu kesin olarak bilinmektedir. Buna karşılık düzenli egzersiz yapan kişilerde oksidatif strese karşı gelişen adaptasyon sonucu zararlı etkiler gözlenmez.

Serbest radikaller kasılma kinetiği üzerindeki etkilerinin yanı sıra çeşitli sinyal yollarını da düzenler. Kronik oksidatif stres ise, protein yıkımı ve kas atrofisinin şiddetlenmesine neden olabilir. Aşırı radikal üretimi NF- κ B ve FoxO yolağının sürekli aktivasyonuna neden olarak kasa spesifik E3 ubiquitin ligaz sisteminden atrogin-1 ve MuRF-1'i aktive eder.⁵² Kas aktivitesi hem serbest radikalleri hem de mitokondriyal MnSOD, sitozolik Cu/Zn-SOD, GPX, CAT, GSH gibi antioksidanların savunma gücünü artırır. Egzersiz sırasında veya sonrasında artan serbest radikallerin metabolizması sonrasında önemli miktarda GSH, GSSG'ye oksitlenir. Daha sonra, hücre içi bileşenlerin hasar görmesini önlemek için GSSG, GSH redüktaz aracılığıyla GSH'ye indirgenir. GSH redüktaz aktivasyonu GSH/GSSG oranını sabit tutarak homeostazı sağlar. Antioksidan enzimlerden SOD, CAT ve GPX, egzersiz sırasında üretilen serbest radikallere karşı birincil savunmadır.⁵³ Antioksidan enzim seviyeleri

-
- 51 Gleeson, M., Bishop, N. C., Stensel, D. J., Lindley, M. R., Mastana, S. S., & Nimmo, M. A. (2011). The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. *Nature Reviews Immunology*, 11(9), 607-615.
- 52 Dodd, S. L., Gagnon, B. J., Senf, S. M., Hain, B. A., & Judge, A. R. (2010). Ros-mediated activation of NF- κ B and Foxo during muscle disuse. *Muscle Nerve*, 41(1), 110-113.
- 53 Radak, Z., Asano, K., Inoue, M., Kizaki, T., Oh-Ishi, S., Suzuki, K., Taniguchi, N., & Ohno, H. (1995). Superoxide dismutase derivative reduces oxidative damage in skeletal muscle of rats during exhaustive exercise. *Journal of Applied Physiology*, 79(1), 129-135.

kas lifi tiplerine göre önemli ölçüde değişir. Tip I kas liflerindeki antioksidan enzimlerin aktivitesi Tip IIA ve Tip IIB liflerinden daha yüksektir. Egzersize adaptasyon sürecinde, antioksidan enzim seviyelerinde ve antioksidan aktivitede bir artış olduğu bulunmuştur. Tek sefer yapılan akut egzersiz sonrasında bile iskelet kasındaki SOD aktivitesinin arttığı birçok çalışmada gösterilmiştir. Cu/Zn-SOD enzim aktivitesi üç gün içinde yavaş yavaş istirahatteki başlangıç seviyelerine dönerken, Mn-SOD aktivitesi ve protein içeriği egzersiz sonrası dönemde de artmaya devam eder.



MARMARA
ÜNİVERSİTESİ