

Lipid Peroksidasyon Olayı ve Önlenmesine Yönelik Uygulamalar

Ender Yarsan¹

¹Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji Ve Toksikoloji Anabilim Dalı - ANKARA

ÖZET

Lipid peroksidasyon olayı, hücre zarı fosfolipidlerinin doymamış yağ asitlerinde meydana gelen tepkimelerdir. Bu olayın temel mekanizması, oluşan toksik aldehitlerin, proteinler ve protein yapısında olmayan yapılarla etkileşmesi ve hücre zarlarına yönelik istenmeyen etkiler meydana getirmesidir. Lipid peroksidasyon olayı; başlangıç, gelişme ve yıkılma olarak isimlendirilen üç aşamadan oluşur. Bu makalede, serbest oksijen grupları ve bunların oluşturdukları hasar, lipid peroksidasyon olayının aşamaları, bu olayın belirlenmesi ile önlenmesine yönelik uygulamalar değerlendirilmiştir.

Anahtar kelimeler: Lipid peroksidasyon, önlenmesi.

Lipid Peroxidation and Prevention Process

SUMMARY

Lipid peroxidation is a degenerative process which takes place on the polyunsaturated fatty acids of membrane phospholipids. The general mechanism of the process, the formation of toxic aldehydes capable to react with protein and non-protein substances and overall effects in cellular membranes. Lipid peroxidation is commonly divided into three phases, namely initiation, propagation and termination. In this article, it was reviewed free oxygen radicals and degenerative effects of these groups, phases of lipid peroxidation, determination of lipid peroxidation and prevention process of lipid peroxidation.

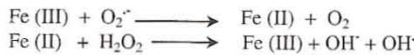
Key words: Lipid peroxidation, prevention.

GİRİŞ

Serbest oksijen gruplarının dokulara yönelik olarak meydana getirecekleri hasar ve bunların en önemli sonuçlarından olan lipid peroksidasyon, son yıllarda üzerinde önemle durulan bir konudur. Hayati işlevler için gerekli olan oksijen, serbest oksijen grubu oluşumuna yol açtığı için sonuçta zehirleyici etki de oluşturabilmekte ve çoğu hastalığın patojenitesinde, yaşlanma ve yangı olaylarının açıklanmasında serbest oksijen grupları ortaya çıkmaktadır (2, 6, 10, 26, 30).

Oksijen fazla etkin olmayan ancak in vivo şartlarda çok etkin türlerle metabolize olabilen bir bileşiktir. Oksijen canlı dokuda iki şekilde indirgenir, bunlardan birincisinde oksijen 4 elektron alarak suya indirgenir (%95 oranında), ikincisinde ise oksijen basamak basamak tek değerli indirgenmeye uğrar (%5 oranında) ki bu olay sonucunda serbest oksijen grupları ortaya çıkar. Bu şekilde, biyolojik sistemlerde şekillenen en önemli serbest oksijen grupları süperoksit (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂), hidroksil (OH⁻) ve singlet oksijen (¹O₂) gruplarıdır (2, 7, 8, 10, 14).

Oksijen molekülü tek elektron olarak süperoksit grubunu ve iki elektron indirgenmesi ile hidrojen peroksidi meydana getirir. Süperoksit grubu fizyolojik pH'da, kendiliğinden oluşan bir dismutasyonla hidrojen peroksidi oluşturabileceği gibi, süperoksit dismutaz (SOD) ile de katalize edilip hidroje peroksidi oluşturabilir. Hidrojen peroksit kendisi serbest grup değildir; ancak, kolayca oksijen gruplarını oluşturduğundan bu sınıfta değerlendirilir. Geçiş grubundaki metaller (demir, bakır gibi) ile tepkimeye girerek daha etkin grupları (OH⁻) oluşturur (7, 8, 14). Tepkime şu şekildedir;



Bu olay demir katalizöründe gerçekleşir ve Fenton tepkimesi olarak bilinir. Diğer taraftan, süperoksit grubu hidrojen peroksit ile direkt tepkimeye girer; bu olay da Haber-Weiss tepkimesi olarak adlandırılır ve tepkime aşağıdaki şekildedir (7, 8, 10);



Serbest oksijen grupları tek sayıda elektron içeren kimyasal olarak etkin bileşiklerdir. Yaşam süreleri çok kısa olmasına karşın çeşitli yapılarda etkileşime girerek hücrenin yapı ve işlevlerinde önemli değişikliklere neden olurlar. Bu yapılar şu şekildedir (6, 14, 30);

- Nükleik asitler, nükleotidler, proteinler ve protein yapısında olmayan tiyoller (tiyol oksidasyonu) gibi maddelerle tepkime,
- Hücre zarı bileşenleri (proteinler, lipidler, enzimler, reseptörler ve taşıma sistemleri) ile kolavent bağlanma,
- Lipid peroksidasyonu başlatıcı etkileri.

Şekil 1'de oksijen gruplarının etkileyebileceği hedef yapılar gösterilmiştir (8).



Şekil 1. Serbest oksijen gruplarının etkileyebileceği hedef yapılar.

Serbest Oksijen Gruplarının Kaynakları

Mikrosirkülasyonda gerek enzimatik yollarla ve gerekse metabolik olaylar sonucunda serbest oksijen grupları şekillenir. Başlıca enzimatik mekanizmalar iki şekildedir; birincisi kapillar endotel hücrelerindeki *ksantin dehidrojenaz oksidaz* ve ikincisi de nötrofillerde bulunan *NADPH oksidazdır*. Bunlardan *ksantin oksidaz*, normalde dokularda dehidrojenaz şeklidir; bu halde hipoksantini ksantine ve ksantini de ürik aside oksitler. İskemik durumlarda ise enzim oksidaz şekline döner ve sonuçta süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit oluşur. Bunlar da daha sonra hidroksil grubunu oluşturur. Nötrofillerde ortaya çıkan tepkimeler ise immün bir uyarı, fagosite edilebilir partiküllerin etkisi veya çeşitli faktörlerle başlatılır. Sonuçta nötrofiller etkin hale gelerek hücre zarına bağlı *NADPH oksidaz* uyarılır ve süperoksit grubu şekillenir (2, 10, 14).

Bu sistemlerin dışında, başta mitokondriyonlarda elektron taşıması sırasında olmak üzere, endoplazmik retikulum ve hücre zarı elektron taşıma sistemleri, *prostagladin sentetaz* ve *lipooksijenaz* sistemleri, enzimler, proteinler, endojen otookside olabilen bileşikler, radyasyon, sigara dumanı, pestisidler, zehirli gazlar, ilaçlar ve karsinojen maddeler serbest oksijen gruplarının kaynağını oluşturur (6, 7, 11, 14, 16, 25).

Lipid peroksidasyon olayının uyarılmasını teşvik eden faktörler üzerine yapılan çalışmalardan birinde Karppanen ve ark. (15) farelerde trikotesenlerin etkilerini değerlendirmişlerdir. Tiyobarbitürik asit tepkimesiyle karaciğerde yapılan analizler sonucunda trikotesen grubu mikotoksinlerin bu olayın şekillenmesini teşvik ettiği sonucuna varmışlardır. Yine bu amaçla Donaldson ve Knowles tarafından yapılan bir çalışmada (9) kurşun'un bu yöndeki etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçta kurşunla artan yoğunluklarda maruziyete bağlı olarak dokulardaki arazişik asit seviyelerinin değiştiği ve biyolojik zarlarda peroksidasyon olayının arttığı tespit edilmiştir.

Serbest Oksijen Gruplarının Oluşturduğu Hasar

Serbest oksijen gruplarının neden olduğu başlıca zehirlenme ve hastalıklar şu şekildedir: oksijen zehirlenmesi, yangı, bağışıklık sistemine ait hastalıklar, hastalıklar, yaşlanma, nörolojik hastalıklar, ateroskleroz, hipertansiyon, iskemik hasar, karsinogenezis, mutajenezis, mide-barsak kanalı hastalıkları, enfeksiyöz hastalıklar, kassel bozukluklar, ürolojik hastalıklar, göz hastalıkları, deri hastalıkları, akciğer hastalıkları, ksenobiyotiklerin metabolizması, karaciğer hastalıkları (2, 14).

Lipid peroksidasyon olayı farklı yollarla hücrelerde hasara yol açar. Öncelikle bu işlemler sırasında serbest oksijen grupları çok etkin bazı şekillere dönüşürler ve hücre makromoleküllerde hasara neden olurlar. İkincil bir etki olarak çok zincirli doymamış yağ asitlerinden köken alan hidroperoksitler hücresel düzeyde zehirleyici etkinin en önemli kısmını oluştururlar. Hücresel hasar iki şekilde ortaya çıkar; fosfolipidlerin zarlarındaki doymamış yağ asidi zincirlerinin parçalanması, plazma veya hücre zarlarında bozulmalara neden olur; bu olay genellikle eritrositlerin, lizozomların ve endoplazmik retikulumun zarlarında

meydana gelir. Diğer yolda ise, hücresel hasar, lipid peroksidasyon olayının sonucu olarak ortaya çıkan yıkımlayıcı ürünlerin etkisiyle daha çok nötral pH'da etkili olan 2-alkenler ve 4-hidroksialkenler gibi ürünlerin hücrede bulunan özellikle sülfidril grupları ile birleşmeleri olayıdır (30).

Diğer taraftan oksijen metabolitleri karbonhidratlar, nükleik asitler, proteinler ve lipidler gibi hücresel yapıları etkileyerek oksidatif hasara neden olurlar.

Proteinlere yönelik etkileri: Amino asitlerin serbest oksijen gruplarına duyarlılıkları farklı olmakla beraber, sistein, sistin, metiyonin, histidin, triptofan ve tirozin bu grupların etkilerine karşı daha hassastırlar. Yine oksijen metabolitleri arasında süperoksit grubunun, bu aminoasitler üzerine etkisi daha sınırlıdır. Bu grup sistein, histidin, tirozin ve triptofan ile yavaş bir şekilde tepkimeye girerken, diğer gruplar bu amino asit ile daha hızlı tepkime oluşturur. Serbest oksijen gruplarının etkisi sonucunda proteinlerde çeşitli yapısal bozukluklar ortaya çıkar (2, 14).

Karbonhidratlara yönelik etkileri: Bağ dokunun dayanıklılığının sağlanmasında etkin rol oynayan hiyaluronik asit özellikle süperoksit grubundan etkilenerek bağ dokuda bozulmalara ve bağ doku sıvısının akışkanlığının kaybolmasına neden olur (14).

Nükleik asitlere yönelik etkileri: Serbest oksijen grupları DNA üzerinde etki göstererek nükleik asitlerin yapısal değişikliklerine ve sonuçta kromozomlarda değişiklikler ile beraber mutasyonlara neden olur. Bu olayla birlikte DNA hasarı ve mutasyonlar şekillenir (2, 6, 14).

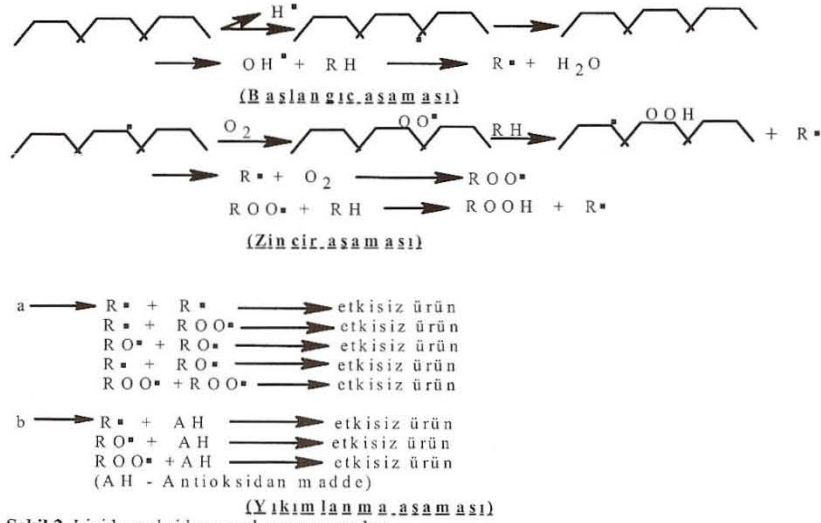
Lipidler üzerine olan etkileri: Serbest oksijen gruplarının biyolojik sistemlerdeki en önemli etkileri lipidler üzerine olanıdır. Bu olay lipid peroksidasyon olarak bilinir ve kısaca hücrelerdeki zar fosfolipidlerinin yükseltgenerek peroksit türevlerine dönüşmesi olayı şeklinde tanımlanır (2, 6, 10, 32). Bu olayda etkili olan oksijen metaboliti süperoksit grubu (sonuçta hidroksil grubuna dönüşerek etkili olur) ve hidroksil grubudur. Lipid peroksidasyon olayı üç aşamalı olarak meydana gelir (4, 7, 10, 32). Tepkimenin ilk basamağı temel olayların meydana geldiği başlangıç aşamasıdır. Bu basamakta çok zincirli doymamış yağ asitlerine RH veya oksi köklerinin girmesiyle ya da môlekülden çıkmasıyla, ortasında karbon atomu bulunan (R•) lipid grupları meydana gelir.

Gelişme aşaması olarak isimlendirilen ikinci dönemde ise birinci aşamada meydana gelen lipid grubu, moleküler oksijen ile birleşerek hızla peroksi (ROO•) grubuna dönüşür. Tepkime devam ederek peroksi grubu, hidroperoksi grubunu (R-OO-H) şekillendirir. Bu ikinci aşama bir zincir tepkimesi şeklinde gelişir; sonuçta diğer yağ asitleri de tepkimeye girerek, başlangıç aşamasında olduğu gibi, ortasında karbon atomu bulunan lipid gruplarını meydana getirir. Oluşan bu gruplar da tekrar yeni peroksid gruplarını oluşturur. Gelişme aşamasındaki tepkimeler, sürekli şekilde devam eder; doymamış yağ asitlerinin miktarına bağlı olarak, hidroperoksitlerin şekillenmesi de devam eder. Bu tepkimeler, peroksit gruplarının bir araya gelerek tepkimeye girmesi ve etkisiz ürünler oluşturmasına kadar sürer. Zincir aşaması sırasında oluşan hidroperoksitler sabit bir yapıda değildirler. Özellikle demir ve demir kompleksleri ortamda

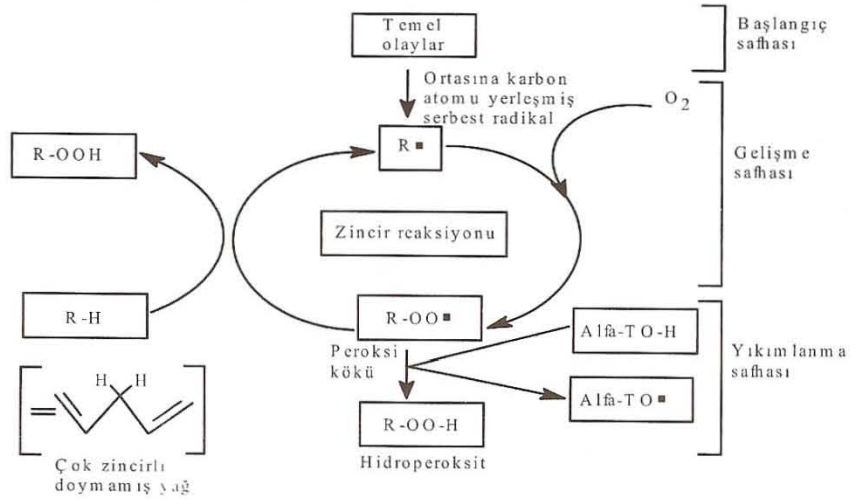
bulunduğu sürede bu maddelerle tepkimeye girerler ve zincir tepkimesi yeniden başlatılır.

Üçüncü aşama yıkımlanma aşamasıdır. Bu olay iki şekilde oluşur, ya meydana gelen gruplar birbirleri ile tepkimeye girerek etkisiz ürünlere dönüşürler ya da

antioksidan maddeler ile tepkimeye girerek tepkimeyi bitirirler. Lipid peroksidasyon olayının aşamaları Şekil 2'de (8) olayın önlenmesinde etkin bir rolü bulunan vitamin E ve selenyumun bu tepkime zincirindeki etkileri Şekil 3'te (4) gösterilmiştir.



Şekil 2. Lipid peroksidasyon olayının aşamaları.



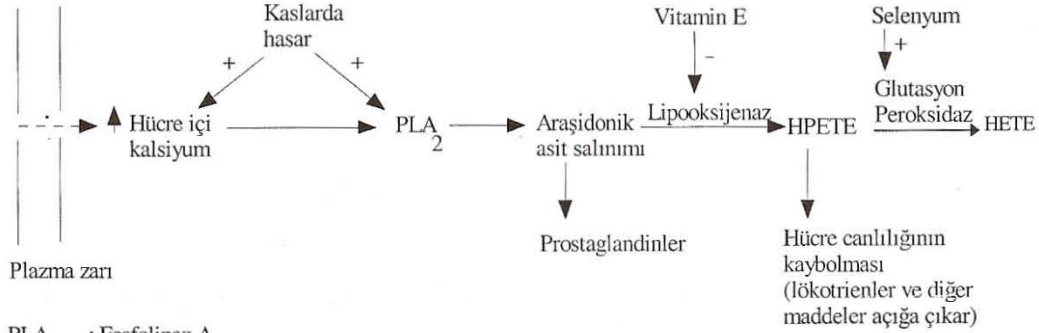
Şekil 3. Hücre zarlarındaki peroksidasyon olayının aşamaları; vitamin E ve selenyumun etkileri.

Hücre zarları gibi, mitokondriyal ve mikrozoal zarların fosfolipidlerinde doymamış yağ asitlerinin fazla miktarda bulunması sonucunda, lipid peroksidasyona daha duyarlı oldukları bilinmektedir. Lipid peroksidasyon zarın yapı ve

görevlerinde bozukluklara neden olur. Lizozomal zarlardaki hasar hidrolitik enzimlerin salınmasına yol açar. Diğer taraftan, kaslarda hasarla birlikte gelişen peroksidasyon olayları da şu mekanizmayla ortaya çıkar; kaslardaki hasarla

beraber hücre içi kalsiyum seviyesinde bir artış meydana gelir. Gerek bu artışın ve gerekse kaslardaki hasarın etkisi sonucunda hücre zarı fosfolipidlerinden fosfolipaz A₂ (FLA₂) salıverilir. Bu olay sonucunda, özellikle prostaglandinler gibi eikasonoidlerin temel maddesi olan araşidonik asit miktarında artış şekillenir. Araşidonik asit miktarının artması lipoksijenaz yolu üzerinden hidroperoksi eikosatetraenoik asidini (HPETE) oluşmasına neden olur; bu olay sonucunda

HPETE'nin etkisiyle peroksidasyon ve sonuçta da hücre canlılığının kaybolması gelişir. Bu olay sırasında vitamin E lipoksijenaz yolu üzerinde engelleyici bir etki gösterir ve sonuçta HPETE'nin oluşması sınırlı hale gelir. Selenyum ise *glutasyon peroksidazın* (GSH-Px) yapısına girer ve meydana gelen HPETE'nin hidroksi eikosatetraenoik aside (HETE) dönüşmesini sağlar (1, 12, 19, 32). Bu mekanizma Şekil 4'de şematize edilerek verilmiştir (12).



PLA₂ : Fosfolipaz A₂

HPETE : Hidroperoksi-eikosatetraenoik asit

HETE : Hidroksi-eikosatetraenoik asit

Şekil 4. Kaslarda nekroza kadar giden yıkımlayıcı olaylar.

Lipid peroksidasyon olayının zincir aşamasında ortaya çıkan lipid hidroperoksitler son derece dayanıksız ürünlerdir; özellikle zincirde açılmalar şeklinde yapısal bozulmalara uğrayarak, aldehidler, ketonlar, alkanlar, alkenler, karboksilik asitler ve polimerizasyon ürünleri gibi çeşitli metabolik şekillere dönüşürler. Bu olaylar sonucunda ortaya çıkan başta malondialdehid (MDA) gibi ürünler peroksidasyonun şiddetini belirleyen maddelerdir. Peroksidasyon sonucu meydana gelen ürünlerden özellikle ikisi mutajenik etki göstermektedir; bunlar MDA ve hidroksinonenal (HNE)'dir. Malondialdehid özellikle üç veya daha fazla çift bağlı yağ asitlerinin yıkılmasında meydana gelen bir üründür. Bu madde proteinlerin parçalanması sırasında besinlerde ortaya çıkan lizin kalıntılarının ε-amino grupları ile tepkimeye girerek lizin-MDA bileşiğini oluşturur; bu bileşik ise MDA'nın idrarla atılan şeklidir. *Salmonella typhimurium* ile yapılan Ames testinde bu bileşiğin mutajenik etki göstermediği ortaya konmuştur. Diğer taraftan MDA, lizin yanında, serin, guanin, etonolamin gibi amino asitlerle de bileşik oluşturmaktadır (6, 10, 30, 32). Tablo 1'de lipid peroksidasyon olayı sonucunda ortaya çıkan ürünler gösterilmiştir (30).

Tablo 1. Lipid peroksidasyon olayı sonucunda açığa çıkan metabolik ürünler;

1. Zincirde açılma ve tekrarlanan bir oksidasyon ile meydana gelen ürünler; (*n-alkanlar, 2-alkenler, 2,4-alkadienler, alkatrienler, hidroksialdehitler, hidroperoksialdehitler, 4-hidroksialkenler, 4-hidroperoksialkenler, Malondialdehit, dikarbonlar, doymuş-doymamış ketonlar, alkanlar-alkenler*),

2. Yeniden düzenlenen ve tekrarlanan işlemlerle ortaya çıkan ürünler; (*Hidroksiasitler, ketoasitler, keto-hidroksi asitler, epoksi-hidroksi asitler, kolnoleik asit, dihidroksi asitler, keto-hidroksi asitler, trihidroksi asitler*),
3. Tepkimenin ilerleyen aşamalarında meydana gelen ürünler; (*Sikloendoperoksitler (PGG₂) ve bunun analogu olan bileşikler*),
4. Di- ve polimerizasyon ürünleri; (*Eter peroksi veya C-C köprüleriyle bağlı di- ve polimerler*).

Lipid Peroksidasyon Olayının Belirlenmesi

Peroksidasyon olayının şiddeti üç kritere bağlı olarak değerlendirilir (30);

- a. *Oksijen tüketiminin ölçülmesi*: Oksijen alımının ölçülmesi manometrik olarak ya da oksijen elektrotlarının kullanılmasıyla gerçekleşir. Bu metod peroksidasyonun ölçülmesi amacıyla en önce kullanılan yöntemlerdendir ve bugün de hala güncelliğini korumaktadır,
- b. *Hidroperoksitlerin ölçülmesi*: Bu olay Fe⁺²'nin Fe⁺³'e oksidasyonudur; bu yöntem demir tiyosiyanat metodu olarak bilinir. Ayrıca, iyodometrik metotlar, ince tabaka kromatografisi ve yüksek basınçlı sıvı kromatografisi metotları, dikloroflorosein metodu şeklindeki yöntemler de bulunmaktadır,
- c. *Hidroperoksitler ve aldehitler gibi yıkılma ürünlerinin ölçülmesi*: Bu şekildeki yıkılma ürünlerinin belirlenmesi, tiyobarbitürik asit testi ile; oluşan aldehitlerin yüksek basınçlı sıvı kromatografisi ile; etan ve pentan şekillerinin tesbitiyle; amino asitler, proteinler veya nükleik

asitlerin aldehitlerle birleşmesi sonucu oluşan ve floresan veren maddelerin ölçülmesi teknikleriyle yapılır.

Bunlara ilaveten yağ asitlerinin seviyelerinin ölçülmesi de peroksidasyonun belirlenmesinde bilgi verir. Ayrıca, peroksidasyonun başlangıç aşamasında serbest oksijen gruplarının etkisiyle konjuge halde diene grupları oluşur ve bu da spektroskopik olarak ölçülebilir. Peroksidasyon olayının belirlenmesinde daha çok MDA seviyesinin belirlenmesi tercih edilen yoldur. Bu olayla ilgili olarak bugüne kadar yapılan çalışmalarda (13, 19, 20, 24, 26, 29) çoğunlukta tiyobarbitürik asit tepkimesi kullanılmıştır.

Lipid Peroksidasyon Olayının Önlenmesine Yönelik Uygulamalar

Peroksidasyon olayının önlenmesinde farklı savunma mekanizmalarından söz edilir. Oksidasyonu önleyici sistemler üç grupta toplanır (6). Bunlar;

a. Serbest oksijen gruplarının etkinliğini azaltan ya da hidrojen peroksit veya hidroperoksitler gibi yapıların tepkimelerini kısıtlayan ve antioksidanlar adı verilen yapılar (GSH-Px, katalaz, glutasyon-s-transferaz, SOD, karotinoidler ile apoferritin, transferrin, laktoferrin ve seruplazmin gibi metal iyonları bu gruptadır).

b. Oluşan grupları temizleyen antioksidanlar; bu maddeler zincir oluşumunu engelleyerek veya bu aşamayı durdurarak etkiler (vitamin E, vitamin C, karotinoidler, ubiquinol, ürik asit ve bilirubin).

c. Tamir edici mekanizmaların etkisi (FLA₂, proteaz gibi).

Söz konusu mekanizmalardaki maddelerden başlıcaları aşağıda ayrı ayrı incelenmiştir;

Vitamin E: Vitamin E'nin biyolojik olarak etkili 4 esas şekli vardır. Bunlar alfa, beta, gama ve delta tokoferoldür; en etkin olanı alfa-tokoferoldür. Lipid peroksidasyon olayının önlenmesine yönelik etkinliği yönünden de en etkili olanı yine alfa-tokoferoldür (4, 11, 23, 27, 28).

Vitamin E yağda eriyen bir maddedir ve bu grup vitaminler arasında hücre zarları üzerinde en etkili olan da (peroksidasyonun önlenmesi yönünde) yine vitamin E'dir. Söz konusu antioksidatif etkisi lipid peroksidasyon olayının zincir tepkimesi aşaması üzerinedir. Bu şekliyle en önemli görevi serbest oksijen gruplarının ataklarına karşı hücre zarı lipidlerindeki doymamış yağ asitlerini korumaktır. Vitamin E'nin antioksidan etkisi yüksek oksijen yoğunluklarında daha fazladır. Bu nedenle, yüksek oksijen kısmi basıncına maruz kalan lipid yapılarında (eritrosit zarı, solunum sistemi zarları gibi) etkisi yoğunlaşmıştır (4, 10, 31).

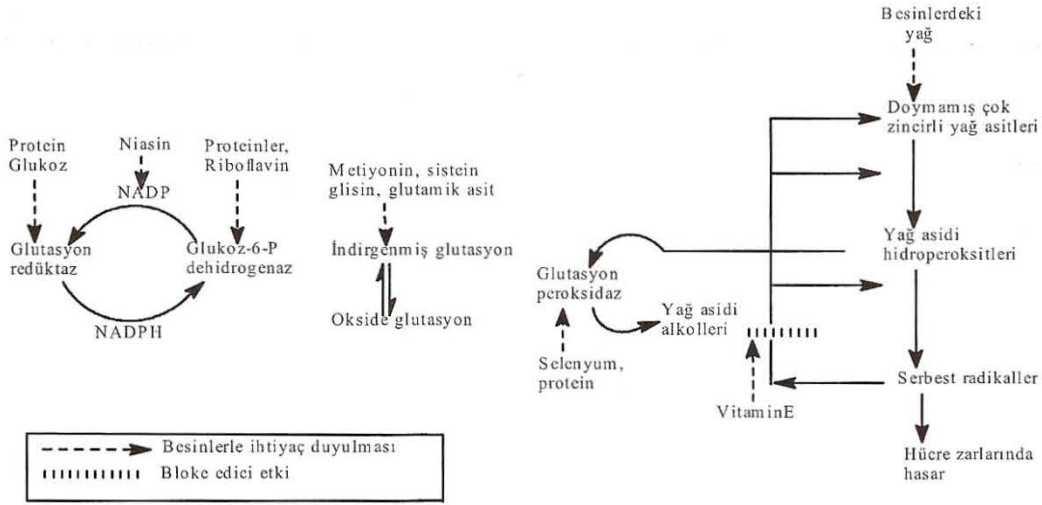
Vitamin E'nin en şekli olan α -tokoferol fenolik hidroksil grubundaki hidrojen atomunu lipid türevli peroksi grubuna vererek yağ asidi oksidasyonunu baskılar. Bu etki, komşu zar lipidlerinin doymamış yağ asitlerini peroksi grubundan koruyarak lipid peroksidasyon olayını önlemek şeklinde de gerçekleşir. Sonuç olarak, α -tokoferol'ün lipid peroksi grubuyla tepkimeye girmesi, α -tokoferoksil grubunu oluşturur (4, 14).



Bu grubun yüksek oranda dayanıklı olması, oksijeni tutarak zincir tepkimesinin durması sonucunu doğurur. Alfa-tokoferoksil grubunu daha sonra glukuronik asitle tepkimeye girerek safra ile atılır. Gerek vitamin E ve gerekse daha sonraki kısımda verilecek olan selenyumun, kükürtlü amino asitlerinin ve niasini lipid peroksidasyon olayındaki etkinliği Şekil 5'te şematize edilmiştir (18).

Vitamin E'nin lipid peroksidasyon olayını önleyici nitelikteki etkileri, bu konuda yapılan çalışmalarda da gösterilmiştir. Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada (10), yemlerine yüksek oranda doymamış yağ asidi katılması durumuna karşı vitamin E, BHT ve vitamin C koruyucu dozlarda birarada verilmiş ve sonuçta MDA oluşumunun %35 oranında baskılandığı tesbit edilmiştir. Yine erişkin insanlara, 10 gün boyunca 1000 IU d- α -tokoferol verilmesinin lipid peroksidasyonun göstergelerinden olan pentan atılımını %35 oranında azalttığı gösterilmiştir. Lipid peroksidasyon olayını teşvik eden bir madde olan monensinin bu yöndeki etkilerinin önlenmesine yönelik olarak yapılan bir çalışmada (32) etlik piliçlerde vitamin E ve selenyumun koruyucu yöndeki etkileri ayrı ayrı ve birlikte verilerek değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonucunda, özellikle vitamin E ve selenyumun birarada verilmesinin bu olayın belirleyici unsurlarından olan MDA'nın karaciğerdeki miktarında önemli oranda azalmalara neden olduğu gösterilmiştir.

Selenyum: Bitkilerde genellikle selenometiyonin ve selenosistein halinde bulunan bir iz elementtir. Vücut için esansiyel bir elementtir; bu özelliği GSH-Px'ın yapısına girmesi ile ilgilidir. Selenyum organik ve inorganik bileşikler halinde bulunur. Selenyumun vücuttaki birçok metabolik olayda, birçok biyokimyasal tepkimede görevi olduğu bilinmektedir. Bunlardan en önemlilerinden biri de GSH-Px'ın yapısına girmesi ve bu şekliyle antioksidan bir madde olarak görev yapmasıdır. Bu enzim karaciğer, böbrek, alyuvarlar, damar endotelileri ve gözün lens kısmında önem taşır. Enzim peroksitlerin alkollere dönüşümüne aracılık ederek hücrel ve hücre içi zarları yıkımlayıcı etkiden korur. Lipid peroksidasyondan koruyucu rolü açısından iki tip GSH-Px vardır. Bunlardan birincisi, selenyum bağımlı GSH-Px ve ikincisinde selenyum bağımsız GSH-Px'dir. Selenyum bağımlı tip GSH-Px çevresel baskı altındadır ve selenyum eksikliğinde etkinliği azalır. Bu enzimlerin birbirlerine oranları da farklıdır; örneğin ratların karaciğer hücrelerinde toplam GSH-Px'ın %14'ü selenyum bağımlıdır, selenyum bağımsız GSH-Px ise eriyebilir bir yapı şeklinde bulunur. Selenyum bağımlı GSH-Px in vivo olarak etkinlik gösterir, bu etkiyi glutasyonla birlikte H₂O₂'in indirgenmesi şeklinde gerçekleştirir. Ayrıca, Fenton tepkimesinde hidroksil grubunun etkisine karşı doymamış yağ asitlerini korur. Etkinlik yönünden selenyum bağımlı GSH-Px, selenyum bağımsız olandan daha etkilidir. Selenyum bağımlı olmayan GSH-Px organik hidroperoksitleri indirgemesine karşın H₂O₂'i parçalayamaz (3, 5, 10, 17, 21, 22, 28).



Şekil 5. Vitamin E, selenyum, kükürtlü amino asitler ve niasin gibi maddelerin lipid peroksidasyonu önlemedeki etkileri.

Vitamin C: Vitamin C bir antioksidan olarak değerlendirilmesine rağmen, bu yöndeki etki mekanizması tam olarak aydınlatılmamıştır. Ancak lipid peroksidasyon olayındaki bilinen etkisi, metal iyonlarının indirgenmesi ile ilgilidir. Bu da besinlerdeki demirin emiliminin artırılması ve emilen demirin de sonuçta Fe^{++} şeklinde indirgenmesi şeklinde açıklanmaktadır. Bu olayla beraber, Fe^{++} molekülü H_2O_2 'in indirgenerek $HO\bullet$ grubunu oluşturması tepkimesine katılır. Ayrıca, vitamin C, 1O_2 grubu ile etkileşerek $HO\bullet$ ve O_2^- gruplarının etkisiz hale getirilmesi etkisini de gösterir. Bu da sonuçta vitamin C'nin antioksidan etkinliğinin nedenini açıklar. Vitamin C'nin bu özelliği lens gibi ya da akciğer dokusu gibi SOD etkinliği düşük olan dokular için önemlidir. Bu vitamin ile ilgili olarak yukarıda belirtilen iki görüş birbirinin karşıtı olarak ortaya çıkar; vitamin C bir taraftan 1O_2 grubu ile etkileşerek $HO\bullet$ ve O_2^- gruplarının özellikle bazı dokulardan uzaklaştırılmasını sağlarken, diğer taraftan da Fe^{++} ve Fe^{+++} metalleriyle etkileşip H_2O_2 'ten $HO\bullet$ grubunun oluşumunu teşvik etmektedir (Fenton tepkimesi) (7, 10, 14).

Demir: Demirin lipid peroksidasyon ile ilgili bilinen en önemli özelliği Fe^{++} ve Fe^{+++} moleküllerinin H_2O_2 ile tepkimeye girmesi (Fenton tepkimesi) ve sonuçta $HO\bullet$ grubunu oluşturmasıdır. Ancak, $HO\bullet$ grubunu oluşturması yönünde demirin ferritin, transferrin ve laktoferrin şekillerinin bir etkinliği yoktur. Demirin lipid peroksidasyonu teşvik edici bu etkileri yanında antioksidan özelliği ise, bazı bitki ve bakterilerde katalaz ve demir içeren SOD enzimlerinin yapısına girmesi ile ilgilidir (10).

Bakır, çinko ve mangan: Metal içeren enzimler (dismutazlar) O_2^- ile dolaylı ya da dolaysız olarak tepkimeye girerek hücresel hasarı engellerler. Bu grup enzimlerden birincisi, bakır ve çinkoyu birarada bulundurur, hücre içine yerleşmiştir ve hücre dışı sıvıda sınırlı orandadır. Diğeri ise, mangan içerir ve mitokondriyada yerleşmiştir. Bütün dismutazlar aralarındaki yarışmalı etkinlikle aynı dismutasyon tepkimesini katalize ederler. Bu tepkimelerle

bakır, oksidasyon ve indirgenme olaylarındaki değişiklikleri kontrol eder, çinko ise tepkimede direk olarak katalizör değildir, enzimin yapısal bütünlüğünün korunmasında etkilidir. Bu enzimler (SOD) süperoksit grubu üzerine etkiyerek bu grubu H_2O_2 'e dönüştürürler (2, 7, 10, 14). Tepkime şu şekildedir;



Sülfür amino asitler (SAA): Bu grup amino asitler hayvanlarda vitamin E'nin kullanımında ve tüketilmesinde düzenleyici olarak rol alırlar. Deneysel olarak kas distrofisi oluşturulan tavuklarda vitamin E ve selenyum kadar SAA'ya da ihtiyaç duyulduğu tesbit edilmiştir. Antioksidatif mekanizmada SAA, indirgenmiş glutasyonun oluşturulmasında etkili olarak lipid peroksidasyonun önlenmesine katılırlar (10). Bütün bu etkiler Şekil 5'te şematize edilmiştir.

Niasin: Bu madde NADPH'nin yapısına giren bir koenzimdir ve bu özelliği ile serbest oksijen gruplarının patolojik etkilerine karşı besinsel kaynaklı bir faktör olarak etkili olur. Bununla beraber indirgenmiş glutasyonun etkililiğine de katılır. Niasinin etkisi ile ilgili olaylar da Şekil 5'te gösterilmiştir (8, 10).

Beta-karoten: Yağda çözünen bir antioksidandır; aynı zamanda, zincir tepkimesi aşamasında etkili olan bu vitamin özellikle singlet oksijen grubu üzerine etkir ve bu grupla başlayacak olan tepkimeleri önler. Bu etkide β -karotenin meyva ve sebzelerdeki 9-cis izomerinin, all-trans izomerinden daha etkili olduğu görülmüştür. β -karoten iyi bir antioksidan olmasına karşın, vitamin E'nin tersine özellikle düşük basınçlarda daha etkilidir; yüksek basınçlarda etkinliği azalmaktadır (8, 10).

Bilirubin: Hemoglobinin katabolizma ürünü olan ve yağda eriyebilir bir madde olan bilirubin, düşük yoğunluklarında peroksi gruplarının uzaklaştırılması ve singlet oksijen grubunun yıkılmasında etkilidir. Benzer şekilde, biliverdin de mide-barsak kanalında oksidatif

yıkılmamaya karşı vitamin A ve linoleik asidi koruyucu olarak etkinlik gösterir (10, 14).

Katalaz: Bu enzim özellikle kan, kemik iliği, mukoz zarlar, karaciğer ve böbrekte bulunmaktadır. Dört tane hem grubu içeren bir hemoproteindir ve özellikle peroksizomlarda yerleşen bir enzimdir. Katalazın görevi serbest grup olarak etkinlik gösteren H₂O₂'nin yıkılmamasıdır (2, 10, 14). Tepkime şu şekildedir;



Diğerleri: Antioksidatif mekanizmada etkili olan bütün bu mekanizmalar yanında, diğerleri de şu şekildedir: ürik asit, seruloplazmin, bazı hormonlar (östrojenik hormonlar gibi), antinekrotik ve antioksidan bazı maddeler (promezatin, N-asetilsistein, deferozamin, dietilditiyokarbamat, BHA ve ubiquinol gibi), yangı giderici maddeler (glukokortikoidler gibi) (2, 8, 10, 14).

KAYNAKLAR

- 1- Adams,H.R.(1988): Prostaglandins. In: Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 6th Ed. Edited by: N.H.Booth and L.E.McDonald. Iowa State University Press/Ames.
- 2- Arıoğlu,A.(1994): Serbest oksijen radikalleri ve hücre hasarı. Doktor. 2/3 Mayıs: 238-242.
- 3- Borazancı,N.(1996): Selenyumun metabolizması ve fonksiyonları. A.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Seminer Notları. Ankara.
- 4- Burton,G.W. and Traber,M.G.(1990): Vitamin E: Antioxidant activity, biokinetics and bioavailability. Annu.Rev.Nutr. 10:357-382.
- 5-Comps,G.F. and Comps,S.B.(1984): The nutritional biochemistry of selenium. Ann.Rev.Nutr. 4:257-280.
- 6- Comporti,M.(1993): Lipid peroxidation. Biopathological significance. Molec.Aspects.Med. 14:199-207.
- 7- Dikshith,T.S.S.(1990): Toxicology of Pesticides in Animals. CRC Press, Boca Raton, Boston.
- 8- Donaldson,W.E.(1994): Nutritional factors. In: Introduction to Biochemical Toxicology. Second Edition. Edited by: E.Hodgson and P.E.Levi. Appleton and Lange, Norwalk, Connecticut.
- 9- Donaldson,W.E. and Knowles,S.O.(1993): Is lead toxicosis a reflection of altered fatty acid composition of membranes? Comp.Biochem.Physiol. 104C(3):377-379.
- 10- Draper,H.H.(1990): Nutritional modulation of oxygen radical pathology. In: Advances in Nutritional Research. Vol.8. Edited by, Draper,H.H. Plenum Press. New York. 119-145.
- 11- Fraga,C.G.,Zamora,R. and Tappell,A.L.(1989): Damage to protein synthesis concurrent with lipid peroxidation in rat liver slices: Effect of halogenated compounds, peroxides and vitamin E. Archives of Biochemistry and Biophysics. 270:84-91.
- 12-Jackson,M.J. and Edwards,R.H.T.(1988): Selenium, vitamin E, free radicals and muscle disease. In: Current Topics in Nutrition and Disease. Edited by, Albanese,A.A., Kritchevsky, D. And Alan,R.L. New York. 431-439.
- 13-Jain,S.,Thomas,M.,Kumar,G.P. and Laloraya,M. (1993): Programmed lipid peroxidation of biomembranes generating kinked fosfpholipids permitting local molecular mobility: A peroxidative theory of fluidity management. Biochemical and Biophysical Research Communications. 195: 574-580.
- 14-Kaneko,J.J.(1980): Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Third Edition. Academic Press. Inc.(London) Ltd.
- 15-Kargın,F.(1996): Serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonu ve orgnizmanın antioksidatif savunma sistemleri. A.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Seminer Notları. Ankara.
- 16-Karppanen,E.,Rizzo,A.,Saari,L.,Berg,S. and Boström,H.(1989): Investigation on trichothecene stimulated lipid peroxidation and toxic effects of trichothecenes in animal. Acta Vet.Scand. 30:391-399.
- 17-Kaya,S.(1995): Pestisidler. Alınmıştır: Veteriner Klinik Toksikoloji. S.Kaya (Ed). Medisan Yayınevi. Yayın No:21. Ankara.
- 18-Konukoğlu,D. ve Akçay,T.(1995): Glutasyon metabolizmasıve Klinik önemi. T.Klin.Tıp Bilimleri. 15:214-218.
- 19- Kulkarni,A.P. and Byczkowski,J.Z.(1994): Hepatoxicity. In: Introduction to Biochemical Toxicology. Second Edition. Edited by: E.Hodgson and P.E.Levi. Appleton and Lange, Norwalk, Connecticut.
- 20- Murpy,M.E. and Kehrer,J.P.(1989): Lipid peroxidation inhibitor factors in liver and muscle of rat, mouse and chicken. Archives of Biochemistry and Biophysics. 268:585-593.
- 21- Ohkawa,H.,Ohishi,N. and Yagi,K.(1979): Assay for lipid peroxides in animal tissues by tiyobarbitüric acid reaction. Analytical Biochemistry. 95:351-358.
- 22- Orhan,H. ve Şahin,G.(1995): Glutasyon S-Transferazların Klinik ve Toksikolojik Önemi. T.Klin.Tıp Bilimleri. 15:303-315.
- 23- Padmaja,K., Somasekharaiah,B.V. and Prasad,A.R.K.(1993): Selenium induced lipid peroxidation in heart tissues of chick embryos. Bull.Enviro. Contam.Toxicol. 51:401-408.
- 24- Phillips,R.W.(1988): Fat-soluble vitamins. In:Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 6th Ed. Edited by:N.H.Booth and L.E.McDonald. Iowa State University Press/Ames.
- 25- Pikul, J., Leszczynski, D.E. and Kummerow, F.A. (1985): Total lipids, fat composition and malonaldehyde concentration in chicken liver, heart, adipose tissueand plasma. Poultry Science. 64:469-475.
- 26- Plaa,G.L.(1980): Toxic responses of the liver. In: Casarett and Doull's Toxicology. Second Edition. Edited by: J.Doull, C.D.Klaassen and M.O.Amdur. Bailliere Tindall, London.
- 27- Squines,E.J.,Valdes,E.V.,Wu,J. and Leeson,S.(1991): Utility of the thiobarbitüric acid test in the determination of the quality of fats and oils in feeds. Poltry Science. 70:180-183.
- 28- Stryer,L.(1988): Biochemistry. Third Edition. W.H.Freeman and Company, NewYork.
- 29- Şahin,G.(1991): Serbest radikaller ve önemi. H.Ü.Eczacılık Fakültesi dergisi. 11:57-69.
- 30- Şanlı,Y. ve Kaya,S.(1994): Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağlık Seçenekleri. 2nci Baskı. Medisan Yayınevi. Yayın No: 15. Ankara.
- 31- Tarladgis,B.G.,Pearson,A.M. and Dugan,Jr,L.R.(1962): The chemistry of the 2-thiobarbitüric acid test for the determination of oxidative rancidity in foods. Some important side reactions. J.Amer.Oil.Chem.Soc. 39:34-39.
- 32- Wills,E.D.(1987): Evaluation of lipid peroxidation in lipids and biological membranes. In: Biochemical Toxicology. Edited by, Snell,K. and Mullock,B. IRL Press Limited, Oxfor England. 127-152.
- 33-Yamamoto,Y.,Niki,E.,Eguchi,J.,Kamiya,Y. And Shimasaki, H. (1985): Oxidation of bioleohcal membranes and its inhibition. Free radical chain oxidation of erythrocyte ghost membranes by oxygen. Biochimica et Biophysica Acta. 819:29-36.
- 34-Yarsan,E.(1996): Etlik piliçlerde iyonofor grubu antibiyotiklerle zehirlenme: monensin ile vitamin E ve selenyumun birlikte veya ayrı ayrı verilmesinin bazı histopatolojik ve biyokimyasal parametrelere etkileri. A.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi. Ankara.