

SERBEST RADİKALLER VE ANTIOKSİDAN GIDALARLA İNHİBİSYONU

FREE RADICALS AND THEIR INHIBITIONS WITH ANTIOXIDANT FOODS

Lütfiye EKİCİ, Osman SAĞDIÇ*

Erciyes Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Kayseri

Geliş tarihi: 31.08.2007

ÖZET : Serbest radikaller çiftlenmemiş elektron içeren son derece reaktif moleküllerdir. Toksik etkileri olan serbest radikaller nötralize edilmemeleri halinde lipid, protein ve nükleik asitlerle reaksiyona girerek, hücreye zarar vermektedirler. Serbest radikallerin yaşlanma, kalp rahatsızlıkları, katarakt, sepsis (kana mikroorganizma ve toksin karışması), kanser, diyabetik retinopati (diyabet hastalarında rastlanan iltihapsiz retina hastalığı) gibi birçok rahatsızlığın etkenleri arasında olduğu düşünülmektedir. Antioksidanlar vücutta özellikle protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi yapısal ve fonksiyonel moleküllerin zararlanmasını engelleyen, düşük konsantrasyonlarda bile oksidan denen substratlara karşı etkili olan maddelerdir. Antioksidan içeren gıdalar veya gıda destekleri bağışıklık sisteminin fonksiyonlarını düzeltmekte, kanser ve kalp hastalıkları gibi bazı kronik rahatsızlıkların riskini azaltarak daha sağlıklı yaşlanmayı sağlamaktadır.

Anahtar kelimeler: Serbest radikal, antioksidan, oksidatif zararlanma

ABSTRACT : Free radicals are very reactive molecules possessing an unpaired electron. The free radicals produced in the body are toxic, and if not neutralized, they react with lipids, proteins, and nucleic acids and damage cellular functions. Free radicals are believed to be involved in the pathological role in aging and several diseases like heart disease, cataract, sepsis, cancer, diabetic retinopathy. Antioxidants which are defined as substances that, at low concentrations relative to the substrate, inhibit the damage to the structural and functional molecules of the body, namely proteins, lipids, carbohydrates and DNA. The antioxidants from food sources or supplements appear to be promising for successful aging by improving immune function, and reducing the risk of several chronic diseases, such as cardiovascular disease and cancer.

Keywords: Free radical, antioxidant, oxidative damage

GİRİŞ

Bir veya birden fazla eşlenmemiş elektron içeren molekül veya molekül parçacıkları serbest radikal olarak adlandırılmaktadır (1, 2). Çiftlenmemiş elektron içeren serbest radikaller stabil olmayıp son derece reaktiftirler. Reaktif moleküller kararlı hale geçebilmek için elektron arar ve diğer moleküllerden elektron kaparak kararlı hale geçerler. Ancak elektronu alınan moleküller kararsız hale geçerek, serbest radikallere dönüşmektedir (3). Serbest radikaller istenmeyen oksidasyon reaksiyonlarına neden olarak DNA zararlanmaları, protein modifikasyonları, lipid peroksidasyonu ve DNA parçalanmalarına bağlı olarak hücre ölümlerine neden olmaktadır (4). Serbest radikallerin yaşlanma, kalp-damar rahatsızlıkları, katarakt, sepsis (kana mikroorganizma ve toksin karışması), kanser, diyabetik retinopati (diyabet hastalarında rastlanan iltihapsiz retina hastalığı), gastrointestinal organlarda kronik iltihaplar, solunum yolu rahatsızlıkları, damar zararlanmalarına bağlı olarak ortaya çıkan iskemi (belli bir bölgenin geçici bir süre kansız kalması) gibi birçok rahatsızlığın etkenleri arasında olduğu belirtilmektedir (5).

* E-posta : osagdic@erciyes.edu.tr

SERBEST RADİKAL OLUŞUMU

1950'lerde reaktif oksijen çeşitlerinin hücre içinde üretildiği belirlenmiştir. İlk kez Commoner ve ark. (6), elektron spin rezonans kullanarak hücre içerisinde serbest radikal oluşumunu belirlemişlerdir. Aynı çalışmada metabolik olarak aktif hücrelerde daha fazla serbest radikal oluştuğu aktarılmaktadır (7). Üretilen serbest radikal-lerin yaşlanma ve hücre ölümlerine sebep olduğu ise ilk olarak 1956 yılında Denham Harman tarafından ileri sürülmüştür (8).

Serbest radikaller hem endojen hem de ekzojen materyaller tarafından üretilebilmektedir. Potansiyel endojen kaynaklar arasında mitokondri, sitokrom P450 metabolizması, peroksizomlar ve iltihaplı hücreler yer almaktadır (9). Süperoksit radikallerinin çoğunlukla mitokondriyal veya mikrozomal elektron transferi sırasında ortaya çıktığı belirtilmektedir. Serbest radikaller ayrıca fagositoz, araşidonik asit metabolizması, bayanlarda ovulasyon ve üreme sırasında da ortaya çıkmaktadır (5). Reaktif oksijen ve nitrojen çeşitleri sadece mitokondrilerin çözüm mekanizması sırasında değil anaerobik koşullarda da ortaya çıkabilmektedir (4). Hücre içinde radikal oluşumunun ilk önce çoklu doymamış yağ asitlerinde tespit edildiği belirtilmektedir (10).

Ksantin oksidaz, triptofan dioksidaz ve indol-amin dioksijenaz gibi az sayıdaki enzimin direk olarak serbest radikal oluşturduğu saptanmıştır. L-amino asit oksidaz ve monoamin oksidaz tarafından katalizlenen reaksiyonlar sonucunda ise radikal olmayan, ancak oksidan özellik gösteren hidrojen peroksit oluştuğu belirlenmiştir (5). Serbest radikaller ökaryotik hücreler tarafından hücre bütünlüğünün korunması ve hücre fonksiyonlarının sürdürülebilmesi sırasında üretilmektedir. Lipoksijenaz, siklooksijenaz, tirozin hidroksilaz, nitrik oksit sentetaz ve ribonükleoksit redüktaz enzimleri tarafından da oluşturulduğu aktarılmaktadır (10).

Tüketilen gıda maddeleri, hava kirliliği, tütün ürünleri, aşırı fiziksel aktivite, iyonize radyasyon, güneş ve infrared ışınlar ekzojen kaynaklar arasında yer almaktadır (11). Bu faktörlerin yanı sıra oksidatif stres (vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik), alkol tüketimi, soğuk, ilaç tedavisi, travma, enfeksiyon, toksin ve yetersiz beslenme gibi bazı faktörlerden de kaynaklanabilmektedir (5). Etil alkol, demir gibi farklı kimyasal maddelerin de serbest radikal miktarının artmasına neden olduğu bildirilmektedir (12).

Bir grup araştırmacı yüksek enerjili radyasyonun hücrelerdeki serbest radikal oluşum mekanizmasını nasıl etkilediğini araştırmışlardır. Araştırma sonuçları hücrenin radyasyona maruz kalması halinde yüksek enerjinin hücredeki su tarafından absorblandığını ortaya koymaktadır. Radyasyon suyun oksijen-hidrojen kovalent bağına etki ederek, suyu hidrojen ve oksijene ayırarak 2 farklı radikal oluşturmaktadır. Bunlar H[•] Hidrojen ve OH[•] ise hidroksil radikali olup son derece reaktif moleküllerdir (13).

ÖNEMLİ SERBEST RADİKALLER

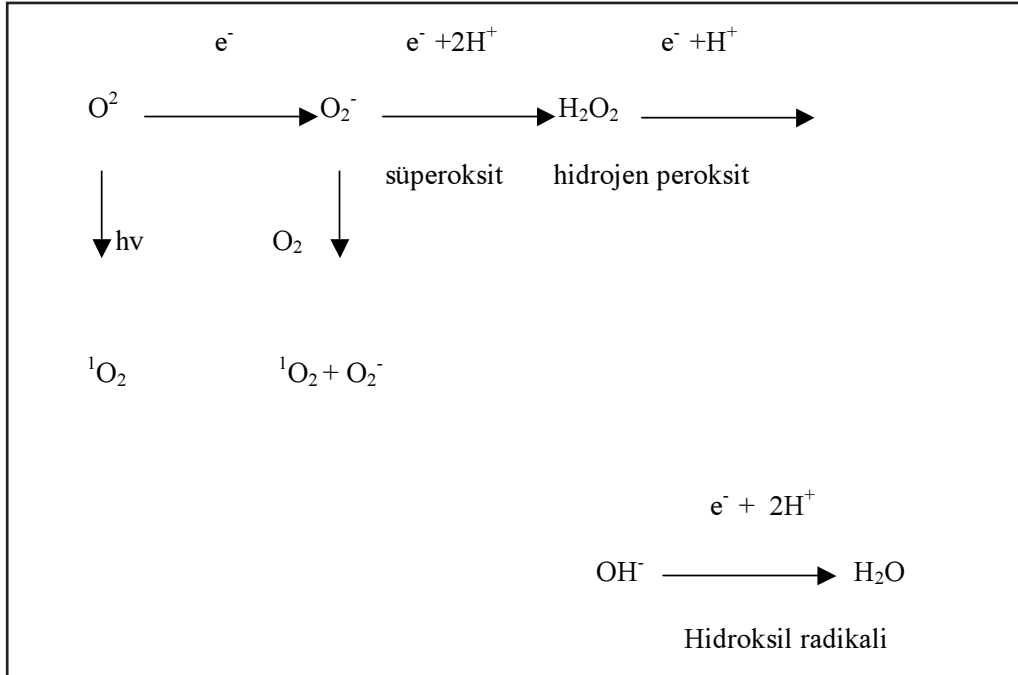
Serbest radikaller reaktif oksijen ve nitrojen çeşitleri olarak 2 büyük grupta toplanmaktadır (14). Reaktif oksijen ve nitrojen çeşitleri ise kendi içinde radikal ve radikal olmayan 2 grup bileşenden oluşmaktadır. Çizelge 1'de grupları oluşturan radikaller görülmektedir (15).

Çizelge 1. Reaktif oksijen ve nitrojen çeşitleri (15).

Reaktif Oksijen Çeşitleri	
Radikaller	Radikal olmayanlar
Süperoksit, $O_2^{\cdot-}$	Hidrojen peroksit H_2O_2
Hidroksil, $HO\cdot$	Hipokloroz asit, $HOCl$
Peroksil, $RO_2\cdot$	Ozon, O_3
Alkoksil, $RO\cdot$	Singlet oksijen, $^1\Delta g$
Hidroperoksil, $HOO\cdot$	Peroksinitrit, $ONOO^-$
Reaktif Nitrojen Çeşitleri	
Radikaller	Radikal olmayanlar
Nitrik oksit, $NO\cdot$	Nitrosil, NO^+
Nitrijen dioksit, $NO_2\cdot$	Nitrikoksit, NO^-
	Nitroz asit, HNO_2
	Dinitrojen trioksit, N_2O_3
	Dinitrojen tetraoksit, N_2O_4
	Nitronyum iyonu, NO_2^+
	Peroksinitrit, $ONOO^-$
	Alkil peroksinitrit, $ROONO$

Reaktif Oksijen Çeşitleri

Oksijen molekülü 1 elektron indirgendiğinde süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), 2 elektron indirgendiğinde hidrojen peroksit (H_2O_2), 3 elektron indirgendiğinde ise hidroksil radikali oluşmaktadır ($OH\cdot$). Süperoksit elektromanyetik radyasyona maruz kaldığında moleküler oksijen ile birleşip singlet oksijeni (1O_2) oluşturmaktadır. Moleküler oksijenin indirgenme mekanizması Şekil 1'de verilmiştir (16).

**Şekil 1.** Moleküler oksijenin indirgenmesi (16).

Singlet oksijen (1O_2) ilk olarak 1924 yılında belirlenmiş ve oksijenden daha reaktif bir form olduğu ortaya konmuştur. Singlet oksijenin DNA, protein ve lipid gibi biyolojik moleküller ile reaksiyona girdiği bilinmektedir (17). Hidroksil ve alkoksil (RO) radikaller son derece reaktif olup hücre içindeki makro molekülleri de hızla etkilemektedir. Süperoksit anyon, lipid hidroperoksitler ve nitrik oksit nispeten daha yavaş reaksiyona girdiği aktarılmaktadır (5).

Peroksil radikallerinin (ROO·) R gruplarına bağlı olarak enerji seviyelerinin değiştiği belirtilmektedir. En basit hidroksil radikali hidroperoksil radikali (HOO·) olup, süperoksit radikalının konjugasyonu sonucu açığa çıkmaktadır. Bu grup radikallerin moleküler yapısı R grubuna, bulunduğu çevre koşullarına, oksijen konsantrasyonuna göre değişmektedir. Peroksil radikalleri çeşitli reaksiyonlar sonucunda kanserojen malondialdehit üretmektedirler. Lipit peroksidasyonunda ana bileşen 4-hidroksi-2-nonenal'dır. Zayıf mutajenik etki gösteren bu bileşenin lipid peroksidasyonunda oluşan en önemli toksik bileşen olduğu belirtilmektedir (9). Gerek hücre içi gerekse de hücre dışı lipid peroksidasyonunun belirlenmesinde uçucu hidrokarbonlardan etan ve pentan ölçümü yapılarak oksidasyon düzeyi belirlenmektedir. Lipit peroksidasyon düzeyinin belirlenmesinde en sık kullanılan yöntem malondialdehit seviyesinin belirlenmesidir (12).

Radikal olmayan reaktif oksijen çeşitleri arasında hidrojen peroksit (H_2O_2) önemli bir yer almaktadır. H_2O_2 çiftlenmemiş elektron içermediğinden serbest radikal olarak sınıflandırılmamaktadır. Ancak güçlü bir oksidan madde olması nedeniyle önem taşıdığı aktarılmaktadır (9).

Reaktif Nitrojen Çeşitleri

Nitrik oksit en önemli reaktif nitrojen çeşitleri arasında yer almaktadır. NO memeli hücrelerindeki endotel (damar iç yüzü), nöron, makrofaj gibi farklı hücrelerde L-arjininden nitrik oksit sentaz enzimi aktivitesine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. NO kan damarlarını genişletirken, trombosit kümelenmesini engellemektedir. Bu özellikler anti-aterojenik (damar daralmasını engelleme) etki göstermektedir. NO biyoaktivitesindeki azalmaya bağlı olarak damar tıkanıklıklarının ortaya çıktığı belirtilmektedir. Hiperkolesterol, hipertansiyon, diyabet ve sigara kullanımı gibi bazı faktörler damarlardaki $O_2^{\cdot-}$ üretimindeki artışla ilgilidir. $O_2^{\cdot-}$ üretimindeki artış damarlardaki endotel tabakası tarafından NO· radikalının oluşturulmasını sağlar (18). Oluşan NO· ve $O_2^{\cdot-}$ radikalleri son derece reaktif olup, hızla reaksiyona girerek nitrit, nitrat ve en önemlisi de peroksinitrit anyonunu (ONOO⁻) oluşturmaktadır (5). Oluşan peroksinitrit anyonu fizyolojik pH'da nitrojendioksit ve hidroksil benzeri radikaller oluşturarak lipid peroksidasyonuna ve damar zararlanmalarına neden olarak kalp-damar hastalıklarına sebep olmaktadır (18). Beyinde de belirlenen bu bileşenin nörodejeneratif rahatsızlıklara neden olduğu belirtilmektedir (5). Endotelyum gevşeme faktörü olan NO· özellikle bağışıklık, kan basıncı düzenleme, nöron sinyal dönüşümü gibi olaylarda olumlu etkileri gözlenen bir radikaldir (8, 9).

SERBEST RADİKAL SAĞLIK İLİŞKİSİ

Serbest radikaller protein modifikasyonları, lipid peroksidasyonu ve DNA parçalanmalarına bağlı olarak hücre ölümlerine neden olmaktadır (4). Günde her bir insan hücresinin yaklaşık olarak 1.5×10^5 kez radikal saldırısına uğradığı belirlenmiştir (9).

Normal koşullar altında üretilen reaktif oksijen çeşitlerinin %1 kadarı antioksidan savunma sisteminden kaçarak peroksidatif zararlanmalara dolayısı ile de bazı sistemik hastalıklara ve yaşlanmaya neden olmaktadır (1). Günlük solunan oksijenin yaklaşık %1-2 kadarının serbest radikale dönüştüğü göz önüne alındığında 60 kg ağırlığında bir kişinin (O_2 'nin 6.4 L/kg gün tükettiği düşünülürse) sadece mitokondriyal faaliyet sonucu günde 160-320 mmol radikale maruz kaldığı belirtilmektedir (19).

Lipit peroksidasyonu sonucunda oluşan bileşenler hücre sıvısının akıcılığını etkileyerek hücre özelliklerini değiştirmekte ve membranda yer alan proteinlerin zarar görmesine neden olmaktadır (8). Dopaminin monoaminoksidaz enzimi tarafından etkilenmesinden sonra ortaya çıkan H_2O_2 'in Parkinson hastalığının ortaya çıkma-

sında bir etken olduğu aktarılmaktadır (8, 9). Oksidatif strese bağlı olarak ortaya çıkan radikaller, nöron kaybına bağlı olarak ortaya çıkan Alzheimer gibi nörodejeneratif rahatsızlıklara da neden olmaktadır (3).

Beyin oksijen tüketiminin fazla olması, kolaylıkla peroksitlenebilen fosfolipidleri yüksek oranda içermesi ve nöronların yenilenememesi gibi sebeplerle serbest radikal hasarına son derece duyarlıdır. Beyinde çok miktarda demir bulunurken, antioksidanların daha az bulunması da beyni serbest radikal zararına hassas hale getirmektedir (20). Son yıllarda beyin paranzima hücrelerindeki iskemi ile de serbest radikaller arasında bir bağlantı olduğu düşünülmektedir (21). Serebral iskemiye geri dönüşümü olmayan ve ölümle sonuçlanan nöron zararlanmaları izlemektedir. İskemi sırasında artan serbest radikal miktarının yanı sıra antioksidan mekanizmasının zayıflaması felçle gelen nöron zararlanmalarında önem taşımaktadır (22).

DNA'nın oksidatif zararlanmaları ile ilgili ilk çalışma 1952 yılında Beers ve Sizer tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada nükleer DNA'nın $KMnO_4$ (potasyum permanganat) ve OsO_4 (osmiyum tetraoksit) gibi oksidasyon ajanları ile muamele edildiğinde timin glikol olarak isimlendirilen bir oksidasyon ürününün ortaya çıktığı saptanmıştır. DNA zararlanmalarına ilişkin ilk hücre içi çalışmaların ise 1980'lerde yapıldığı aktarılmaktadır (7). Reaktif oksijen çeşitleri özellikle DNA üzerine etkili olarak yaşlanma ile çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. Reaktif oksijenler deoksiriboz-fosfat omurgasına zarar verirken, purin ve pirimidin bazları arasında da değişime neden olarak DNA-protein yapısında değişime yol açmaktadır (12).

Radikaller nükleik asitlerin baz ve şeker gruplarını etkilemekte, ancak en çok timin-tirozin bağlantısına zarar vermektedir (8). Deoksiriboz molekülünde meydana gelen değişim bazların serbest kalmasına veya DNA'da kırılmalara neden olurken, bazlarda meydana gelen modifikasyonlar mutasyonlara neden olmaktadır. Hidroksil radikalleri bazlarla 5-hidroksimetilurasil, 8-hidroksiadenin, timidin glikol gibi farklı bileşikler oluştururken, singlet oksijen guanin modifikasyonuna giderek 8-hidroksiguanini oluşturmaktadır. Zarar görmüş DNA'nın hücre içinde endonükleaz ve glikosilaz tarafından tamir edildiği belirtilmektedir (12).

Son derece kompleks bir süreç olan yaşlanma üzerine genetik faktörlerin yanı sıra çeşitli dış etkenler de etkili olmaktadır. Nitekim tütün ve alkol kullanımları, çevre şartları, beslenme gibi çok farklı etkenler bu süreçte etken olabilmektedir. Son yıllarda özellikle oksidatif strese neden olan reaktif oksijen çeşitleri üzerinde durulduğu belirtilmektedir (23). Yaşlanmada serbest radikal veya oksidatif stres teorisi 1894 yılında Fenton'un tartarik asidin hidrojen peroksit tarafından oksidasyonunda Fe (II)'in katalizör etkisini belirlemesiyle ortaya çıkmıştır. Daha sonra 1931-1932 yıllarında su içerisinde H_2O_2 zincirleme reaksiyonları sonucunda hidroksil radikaller, hidrojen peroksit ve süperoksit anyonlarının oluştuğu belirlenmiştir. Haber-Weiss reaksiyonu olarak bilinen bu tepkimenin hücre içerisinde farklı reaktif oksijen çeşitlerinin üretiminde son derece önemli olduğu düşünülmektedir (7). Yapılan çalışmalar yaş ilerledikçe okside protein kaynaklı karbonil miktarının arttığını ortaya koymaktadır. Yaşlanmaya bağlı olarak okside protein degradasyonunun da yavaşladığı aktarılmaktadır. Bu yavaşlamanın etkenleri arasında azalan proteolitik aktivite, reaktif oksijen çeşitlerinin artışı ve/veya çevresel faktörler, antioksidan mekanizmasının etkinliğini kaybetmesi ya da bazı hastalıklar gibi farklı faktörler yer almaktadır (24). Radikallerin vücut üzerine olumlu etkisinin olduğu birkaç mekanizma olduğu aktarılmaktadır. Bunlardan ilkinde serbest radikallerin bakterilere karşı korunma mekanizmasında kullanıldığı belirtilmektedir. Nitekim singlet oksijen, H_2O_2 , nitrik oksit radikali ile hipoklorit gibi bazı oksijen radikalleri ile oksidan maddeler fagozitoz yapan hücreler tarafından bakterileri yok etmek amacı ile üretilmektedir (8). Bakterilerin elimine edilmesinde kullanılan bir diğer mekanizma myeloperoksidaz enzimidir. Bu enzim kloritleri hipokloroz aside (HOCl) çevirerek etkili olmaktadır ki bu mekanizmada serbest radikallerin de etkisi olduğu belirtilmektedir. Bir diğer etkisi ise damarlardaki endotellerde gerçekleşmektedir. Endotellerde üretilen nitrik oksit ile oksijen radikallerinin damar sertliğini düzenleyen mekanizma açısından son derece önemli olduğu aktarılmaktadır (13).

ANTIOKSİDANLAR

Oksidasyonu engelleyen ve/veya geciktiren bileşen grubuna genel olarak antioksidan ismi verilmektedir (1). Oksidatif stres oksidan üretimi ile degradasyonunun dengesizliği durumunda ortaya çıkmaktadır. Antioksidanlar vücutta özellikle protein, lipit, karbonhidrat ve DNA gibi yapısal ve fonksiyonel moleküllerin zararlanmasını engelleyen, düşük konsantrasyonlarda bile oksidan denen substratlara karşı etkili olan maddelerdir (11). Yapılan çalışmalar antioksidan tüketimindeki artışın, serbest radikal mekanizması üzerinde etkili olarak daha uzun ve kaliteli bir yaşam üzerine etkili olduğunu ortaya koymaktadır (25).

Organizmalar istenmeyen oksidanlarla farklı şekillerde baş etmeye çalışmaktadır. Serbest radikallere karşı vücut korunma, tamir, fiziksel savunma ve antioksidan savunma olmak üzere 4 farklı savunma mekanizması olduğu belirtilmektedir (9).

Antioksidanların fonksiyonelliği farklı durumlarla açıklanabilir:

1. Zincirleme reaksiyonlarında serbest radikalleri tutarak; tokoferolün lipit reaksiyonlarında rol alması
2. Diğer antioksidanların rejenerasyonunda; askorbatın tokoferiloksi radikaline hidrojen atomu vererek tokoferole indirgemesi
3. Pro-oksidan olarak rol alan metal katalistleri şelatlayarak; albumin veya polifenollerin bakır iyonlarını tutması
4. Enzimi aktive veya inhibe ederek; askorbatın nitrik oksidazı aktive etmesi, tokoferol ve polifenollerin tirozin kinaz enzimini inhibe etmesi
5. Radikal veya oksidanlarla reaksiyona girerek (katalazın H₂O₂ ile reaksiyona girmesi) etkili olmaktadır (1, 11).

Antioksidanlar enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak 2 grupta toplanmaktadır (12).

Enzimatik Antioksidan Savunma Mekanizması

Enzimatik savunma sisteminin en önemli öğeleri arasında süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutation peroksidaz yer almaktadır (1, 12). Çizelge 2'de reaktif oksijen çeşitlerine karşı antioksidan mekanizması görülmektedir (5).

Çizelge 2. Reaktif oksijen radikallerine karşı antioksidan mekanizması (5)

Reaktif oksijen radikalleri	Antioksidanlar (Endojen)		Antioksidanlar (Ekzojen)
	Direk rol	İndirek rol	
Hidroksil radikali	Glutation peroksidaz (kofaktörü Se)	–	C vitamini lipoik asit
Lipit peroksid	Glutation peroksidaz (kofaktörü Se)	–	E vitamini β-karoten
Süperoksit radikali	Süperoksit dismutaz (kofaktörleri Cu/Zn/Mn)	Seruloplasmin (Cu) Metallothionin (Cu) Albumin (Cu)	C vitamini
Hidrojen peroksid	Katalaz (kofaktörü Fe)	Transferin (Fe) Ferritin (Fe) Miyogloblin (Fe)	C vitamini β-karoten lipoik asit
Pro-oksidan/ antioksidan eşitliği	Thioller (glutation, lipoik asit, N-asetil sistein, NADPH ve NADH, ubikinon)	Bilirubin Ürik asit	Flavonoidler

Bakır (Cu), selenyum (Se), mangan (Mn) ve çinko (Zn) gibi iz elementler özellikle endojen enzimlerin aktivasyonu için gereklidir. Cu ve Zn süperoksit dismutazı, Cu ve Fe katalazı, Se glutation peroksidazı aktive etmektedir (1). Selenyumun antioksidan etkisi üzerine ilk çalışmalar 1973 yılında glutation peroksidaz enzimi ile olan ilişkisi belirlendiğinde önem kazanmıştır (26). Cu ve Se hücre içi ve dışında pro-oksidan olarak da rol alabilmektedir. Bu durum A, C, E vitaminleri için de geçerlidir. Demirin ise hemen hemen her durumda oksidan olarak rol aldığı bildirilmektedir (1). Serbest demir, reaktif maddelerin özellikle de hidroksil radikallerinin artmasını sağlamaktadır. Serbest demirin LDL oksidasyonunu ve lipid peroksidasyonunu da arttırdığı belirtilmektedir (5). SOD, katalaz ve glutation peroksidaz enzimleri aktif oksijen radikalleri üzerine direkt etki göstermektedir (4). Glutation redüktaz, glukoz 6 fosfat dehidrojenaz ve sitosolik GST ise sekonder enzim olarak yer almaktadır. Sekonder enzimlerin peroksit seviyesini düşürerek veya primer enzimlerin fonksiyonu için gerekli glutation ve NADPH kaynağı olarak etkili olduğu belirtilmektedir (5).

Ökaryotik hücrelerin serbest radikallere karşı geliştirdikleri korunma mekanizmaları arasında en başta SOD enzimi gelmektedir. Bu enzim ilk kez 1939 yılında izole edilmiş olup, antioksidan aktivitesi McCord ve Fridovich tarafından 1969'da belirlenmiştir (9). SOD süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) radikalini H_2O_2 'e çevirmektedir. Daha düşük aktivite gösteren H_2O_2 mitokondri tarafından difüze edilebileceği gibi mitokondride bağlanıp, mitokondriyal glutation peroksidaz tarafından H_2O 'ya da dönüştürülebilir (14).

Tüm memelilerde SOD'nın Cu/ZnSOD (SOD1), MnSOD (SOD2) ve ekstraselüler SOD (ecSOD veya SOD3) olmak üzere 3 farklı formuna rastlamak mümkündür. Bunlardan Cu/ZnSOD sitozolde, MnSOD mitokondride ve ekstraselüler SOD ise hücrelerarası boşlukta yer almaktadır. SOD aktivitesinin büyük bir kısmı Cu/ZnSOD ve MnSOD'dan kaynaklanmaktadır (18, 27). ecSOD özellikle damar cidarlarında diğer dokularda olduğundan yaklaşık 10 kat daha aktif olup, kalp rahatsızlıklarında özellikle bu gruptaki SOD'un etkili olduğu belirtilmektedir (18). Mn-SOD anti-tümör aktiviteye sahip en etkili antioksidan enzimdir (9).

Katalaz (EC 1.11.1.6) bitkiler, hayvanlar ve aerobik bakterilerde peroksizom adı verilen organellerde yer alan bir enzimdir. Bu enzim H_2O_2 'i son derece etkin bir şekilde su ve moleküler oksijene dönüştürmektedir. Bir molekül katalazın yaklaşık 6 milyon H_2O_2 molekülünü birkaç dakikada zararsız hale dönüştürdüğü aktarılmaktadır (9).

Enzimatik Olmayan Antioksidan Savunma Mekanizması

Glutation, askorbik asit, α - tokoferol, β -karoten, bilirubin, selenyum, NADPH, butillenmiş hidroksianisol (BHA), mannitol, benzoat, histidin, dihidrolipoik asit, koenzim Q_{10} , melatonin, ürik asit ve tiol hücre metabolizmasında oluşan reaktif oksijen çeşitlerine karşı koruyucu rol oynamaktadır. Bunlar arasında direk olarak en etkili olanın glutation olduğu belirtilmektedir (5). Bunlara ilaveten fenolik bileşenler ve C vitamini de enzimatik olmayan antioksidan sınıfında yer almaktadır (1). Özellikle son yıllarda gıdaların antioksidan özellikleri ve bunların gıda endüstrisinde kullanım olanakları üzerine yapılan çalışmalar artmaktadır. Gerek fenolik bileşenler gerekse de antioksidan vitaminlerce zengin olan meyve- sebzeler ve baharatların direkt doğal antioksidan veya gıda koruyucusu olarak kullanılmaları önerilmektedir (1, 28, 29).

Biyolojik hücre membranlarının lipoproteinlerin yanı sıra enzimlerle %3-5 oranında da antioksidan vitaminleri içerdiği belirtilmektedir. Vitaminlerin antioksidan etkileri elektron verebilmeleri ile ilgilidir. Elektron verdikten sonra β -karoten okside radikal katyon (β -kar $^+$), E vitamini ise (E^+) formuna dönüşürken, C vitamini nötral serbest radikale (AH^{\cdot}) dönüşmektedir. Antioksidan vitaminler hidroksil, peroksil ve singlet oksijen gibi radikalleri ile hipokloriti temizleyerek (bağlayarak) lipid peroksidasyonunu engellemektedir (23). Vitaminlerin antioksidan etkisini gösterirken gerçekleşen elektron transferi şu yolu izlemektedir: öncelikle β -karoten hücre membranının dış yüzeyindeki özel bölgeyi bularak bu noktada oksidasyon ajanları ile temasa geçmekte ve bir elektronunu ver-

mektedir. Elektron verildiğinde pasif formdaki OH^- iyonları ile güçlü bir oksidatif ajan olan $\beta\text{-kar}^+$ radikal katyonu ortaya çıkmaktadır. $\beta\text{-kar}^+$ radikal katyonu hücre membranına zarar verebilir ancak vitamin E'den bir elektron alarak yeniden $\beta\text{-karoten}$ formuna dönüşmektedir. Vitamin E ise elektron verdiğinde E^+ formuna dönüşmekte ve C vitaminden bir elektron alarak vitamin E'ye rejenere olmaktadır. Bu sırada oluşan AH^+ radikali ise radikal formda olmayan dehidroaskorbata dönüşerek döngü tamamlanmaktadır. Bu döngüde en önemli parametrelerden birinin C vitamini olduğu anlaşılmaktadır (23).

Yapılan ilk çalışmalar $-\text{OH}$, $-\text{O}^-$, $-\text{OPO}_3\text{H}^-$, $-\text{COO}^-$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NH}_3\text{CH}_3$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ gibi birçok bileşiğin elektron verebileceğini yani antioksidan olarak davranabileceğini göstermiştir. Daha sonra yapılan çalışmalar format, fenoller, aromatik aminler ve flavinler için de geçerli olduğunu ortaya koymaktadır. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar meyve-sebze gibi doğal besinlerde bulunan fenolik bileşikler, flavonoidler, proteinler gibi doğal bileşenler üzerinde yoğunlaşmıştır (23). Çizelge 3'te gıdaların içerdiği önemli antioksidanlar yer almaktadır (1).

Çizelge 3. Gıdalarda bulunan önemli antioksidanlar (1).

Bileşen	Bileşim Ögesi	Kaynak Gıda
Vitaminler	Vitamin C, Vitamin E (tokoferoller ve tokotrienoller)	Turunçgiller, üzümü yumuşak meyveler, papaya
	β -karoten ve diğer karetenoidler (likopen, lutein)	Yağlı tohumlar, kabuklu yemişler, havuç, yeşil yapraklı sebzeler, domates
İz elementler	Bakır	İstiridye, kabuklu yemişler, kuru baklagiller, tahıllar, patates, sebzeler, et
	Manganez	Buğday filizi, yeşil yapraklı sebzeler, kabuklu yemişler, pancar, ananas
	Çinko	Et, karaciğer, yumurta, deniz ürünleri
	Selenyum	Sakatatlar, deniz ürünleri, tahıllar, et, yumurta, süt, meyve ve sebzeler
Zookimyasallar	Glutation coenzim Q ₁₀ (ubikinin)	Et, peynir altı suyu proteini
Fitokimyasallar	İsoflavonlar (daidzein, genistein)	Soya
	Flavonoidler	Yaban mersinleri, yer fıstığı, elma, çikolata, çay ve kırmızı şarap
	Polifenoller	Kakao, üzüm, çay, soğan, elma, baharatlar, kekik,
	Kateşinler	Yeşil çay, papaya

Fenolik bileşenler metal iyonlarını şelatlama ve serbest radikalleri yakalama gibi fonksiyonel özellikler taşıyan ikincil metabolitlerdir. Fenolik bileşenler radikallerle hızla reaksiyona girerek fenoksi radikalleri oluştururlar. Oluşan fenoksi radikali nispeten stabildir ve radikal reaksiyonları göstermez. Ancak fenolik konsantrasyonunun çok yüksek olması halinde Cu, Fe gibi oksidan metaller varlığında yüksek pH'lı ortamlarda pro-oksidan olarak da davranabilecekleri aktarılmaktadır (9).

Thiol antioksidanlar arasında en önemlisi bir tripeptit olan glutation'dur. Glutationun sitozol (1-11 mM), nükleus (3-15 mM) ve mitokondride (5-11 mM) önemli düzeylerde bulunduğu belirtilmektedir. Glutationların antioksidan aktivitesi içerdiği sülfür gruplarından kaynaklanmaktadır (9).

Glutationlar, glutation peroksidaz, glutation transferaz gibi oksidatif stresi önleyen enzimlerin kofaktörüdür. Glutationlar hidroksil radikali ile singlet oksijeni direk olarak yakalama, H_2O_2 ve lipid peroksidazları detoksifiye etme, C ve E vitaminlerini aktif formlarına rejenere etme gibi fonksiyonel özellikleri taşımaları nedeni ile son derece önemli antioksidan mekanizmaları arasında yer almaktadır. Serbest radikallere karşı düşük de olsa antioksidan etki gösteren thioeredoksin mekanizması da önem taşımaktadır (9).

Bitki ve mikroorganizmalarda bulunan karotenlerin doğada 600 farklı formu olduğu ve kanser, kalp-damar hastalıkları, yaşlanmaya bağlı olarak ortaya çıkan kas dejenerasyonları gibi bazı rahatsızlıkları engelleyebildiği belirtilmektedir. Yeterli konsantrasyonlarda olmaları halinde peroksit zararlanmalarını önleyebildikleri aktarılmaktadır (9).

SONUÇ

İnsan metabolizmasında oksidasyonun gerçekleşmesi son derece doğal bir olaydır. Oksidasyon ürünlerinin aşırı derecede birikimine bağlı olarak doku zararlanmaları ve bunların sonucunda da çeşitli hastalıklar ile doğal yaşlanma ortaya çıkmaktadır. Yeterli miktarda antioksidan alımı ile serbest radikallerin olumsuz etkileri ortadan kaldırılarak, daha sağlıklı bir yaşam mümkündür.

KAYNAKLAR

1. Berger M M. 2005. Can oxidative damage be treated nutritionally? *Clinical Nutrition*, 24: 172-183.
2. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. 2006. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160: 1-40.
3. Chauhan V, Chauhan A. 2006. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Pathophysiology*, 13: 195-208.
4. Bakonyi T, Radak Z. 2004. High altitude and free radicals. *Journal of Sports Science and Medicine*, 3: 64-69.
5. Singh RP, Sharad S, Kapur S. 2004. Free radicals and oxidative stress neurodegenerative diseases: relevance of dietary antioxidants. *Journal Indian Academy of Clinical Medicine*, 5 (3) 218-225.
6. Commoner B, Townsend J, Pake GE. 1954. Free radicals in biological materials. *Nature*, 174: 689-691.
7. Bokov A, Chaudhuri A, Richardson A. 2004. The role of oxidative damage and stress in aging. *Mechanisms of Aging and Development*, 125: 811-826.
8. Beckman KB, Ames BN. 1998. The free radical theory of aging matures. *Physiological Reviews*, 78 (2) 547-579.
9. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39, 44-84.
10. Thomas MJ. 2000. Their role of free radical and antioxidants. *Nutrition*, 16 (7/8) 716-718.
11. Vinson JA. 2006. Oxidative stress in cataracts. *Pathophysiology*, 13: 151-162.
12. de Zwart LL, Meerman JHN, Commandeur JNM, Vermeulen NPE. 1999. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radical Biology & Medicine*, 26 (1/2) 202-226.
13. Halliwell B. 1989. Tell me about free radicals, doctor: a review. *Journal of Royal Society of Medicine*, 82: 747-752.
14. Hu J. 2001. Oxidative stress and aging, free radicals in biology and medicine, an assignment in the graduate course, Free Radical and Radiation Biology Program B-180 Med Labs, The University of Iowa, Iowa City, IA 52242-1181, 77:222.
15. Darley-Usmar V, Halliwell B. 1996. Blood radicals. Reactive nitrogen species, reactive oxygen species, transition metal ions, and the vascular system. *Pharmaceutical Research*, 13 (5), 649-662.
16. Buechter DD. 1988. Free radicals and oxygen toxicity. *Pharmaceutical Research*, 5(5) 253-260.
17. Zhao L. 2001. Singlet oxygen. Free radicals in biology and medicine, An assignment In the graduate course, Free Radical and Radiation Biology Program B-180 Med Labs, The University of Iowa, Iowa City, IA 52242-1181, 77:222.
18. Fukai T, Folz RJ, Landmesser U, Harrison DG. 2002. Extracellular superoxide dismutase and cardiovascular disease. *Cardiovascular Research*, 55: 239-249.

19. Cadenas E, Davies KJA. 2000. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radical Biology & Medicine*, 29 (3/4) 222-230.
20. Derin D, Yazıcı A, Erkoç Ş. 2001. Şizofrenik bozukluğu olan hastalarda serbest radikal metabolizması ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemi elemanlarının incelenmesi. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 11 (3) 176-182.
21. Elahi MM, Matata BM. 2006. Free radicals in blood: evolving concepts in the mechanisms of ischemic heart disease. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 450:78-88.
22. Schaller B. 2005. Introduction to serial reviews on free radicals and stroke. *Free Radical Biology & Medicine*, 38: 409-410.
23. Getoff N. 2007. Anti-aging and aging factors in life. The role of free radicals. *Radiation Physics and Chemistry*, 76 (10) 1577-1586.
24. Stadtman ER, Arai H, Berlett BS. 2005. Protein oxidation by the cytochrome P450 mixed-function oxidation system. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 338: 432-436.
25. Meydani M. 1999. Dietary antioxidants modulation of aging and immune-endothelial cell interaction. *Mechanisms of Aging and Development*, 111: 123-132.
26. Letavayova L, Vickova V, Brozmanova J. 2006. Selenium: from cancer prevention to DNA damage. *Toxicology*, 227: 1-14.
27. Chandel NS, Budinger GRS. 2007. The cellular basis for diverse responses to oxygen. *Free Radical Biology & Medicine*, 42: 165-174.
28. Baydar NG, Özkan G, Sağdıç O. 2004. Total phenolic contents and antibacterial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) extracts. *Food Control*, 15 (5): 335-339.
29. Yoo KM, Lee CH, Lee H, Moon B, Lee CY. 2008. Relative antioxidant and cytoprotective activities of common herbs. *Food Chemistry*, 106 (3): 929-936.