

## KORUYUCU VE ZEDELEYİCİ AJANLAR OLARAK SERBEST RADİKALLER

İzaldin HATİP\*, Ahmet ULUGÖL\*\*, İsmet DÖKMECİ\*\*\*

### ÖZET

Serbest radikaller superoksit ( $O_2^-$ ), peroksit ( $H_2O_2$ ) ve hidroksil ( $OH^-$ )'dir. Granülositlerin koruyucu etkilerinde çok önemli rol oynamalarına karşın, aşırı miktarlarıyla protein denatürasyonunu indüklerler ve sonucunda hücre zedelenmesine neden olurlar. Bu etkilerinin yanısıra miyokardiyal iskemi ve infarkt, trombosit aktivasyon ve agregasyonu, kolit, gastrik ülser, artrit ve bazı nörolojik bozukluklar gibi inflamatuvar ve dejeneratif değişikliklerin ortaya çıkmasında da rol oynarlar. Serbest radikaller, ilaçların oksidasyonundan sorumlu olan hepatik sitokrom sisteminde oluşurlar. Bazı ilaçların oluştuğu toksik ara reaktiflerin serbest radikaller olduğu düşünülmektedir. Diğer taraftan, bazı koruyucu ve anti-inflamatuvar ilaçların (verapamil, 5-aminosalisilat, dimetilsülfoksit, vitamin E ve C, v.b.) serbest radikallerin oluşumunu etkilediği bilinmektedir.

Serbest radikallerin oluşumu üzerine daha selektif ve güçlü inhibitör etkisi olan ilaçların sentezi hücre yaşlanmasına ve inflamasyon tedavisine farklı bir yaklaşım getirecektir.

**Anahtar Kelimeler:** Superoksit, peroksit, hidroksil, inflamasyon, hücre zedelenmesi ve yaşlanması.

### SUMMARY

#### FREE RADICALS AS PROTECTIVE AND DESTRUCTIVE AGENTS IN CLINICAL PHARMACOLOGY

Free radicals include superoxide ( $O_2^-$ ), peroxide ( $H_2O_2$ ) and hydroxyl ( $OH^-$ ). Although they play an important role in the protective effect of the granulocytes, free radicals, on their excessive production, induce denaturation of protein with subsequent aging of the cell. Free radicals are also involved in a variety of inflammatory and degenerative changes such as myocardial ischemia and infarction, platelet activation and aggregation, colitis, gastric ulcer, arthritis and some neurological disorders. Free radicals are formed in the hepatic cytochrome system responsible for oxidation of drugs. The toxic intermediate reactives obtained with some drugs are thought to be free radicals. On

\* T.Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Doç. Dr.

\*\* T.Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Yrd. Doç. Dr.

\*\*\* T. Ü. Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim, Prof. Dr.

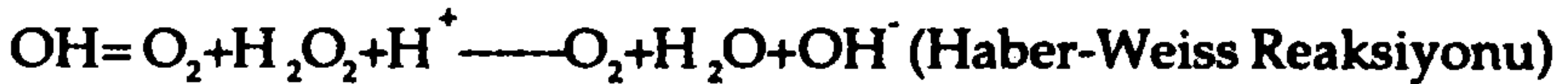
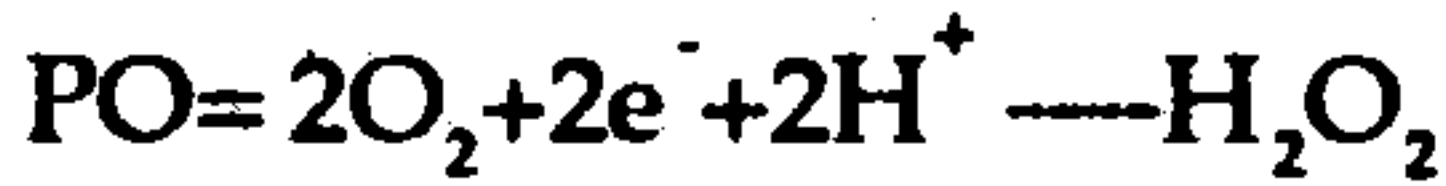
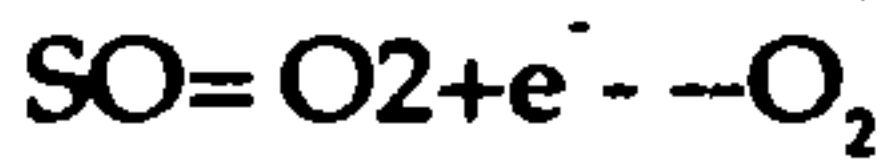
the other hand, some protective and antiinflammatory drugs (such as verapamil, 5-aminosalicylate, dimethylsulfoxide, Vit. E&C) are now known to influence formation of free radicals.

Synthesis of drugs with more selective and effective inhibitory effects on formation of free radicals would contribute greatly to the fight against inflammatory condition and aging of the cell.

**Key Words:** Superoxide, peroxide, hydroxly, inflammation, cellular damage and aging.

## GİRİŞ

Normal solunum proçesinde oksijenin ( $O_2$ ) utilizasyonu ( $O_2 + 4e^- + 4H^+ \rightarrow 2H_2O$ ), canlı dokuların yaşamını sürdürmesinde çok önemli bir rol oynar.  $H_2O$ 'ya dönüşümünün yanısıra, bazı dokularda  $O_2$  serbest radikaller olarak adlandırılan bileşiklere dönüşür: superoksid (SO), peroksid (PO) ve hidroksil radikalleri ( $OH^\cdot$ ). Serbest radikallerin oluşumu aşağıda gösterilmiştir.



### *Granülositlerde serbest radikaller*

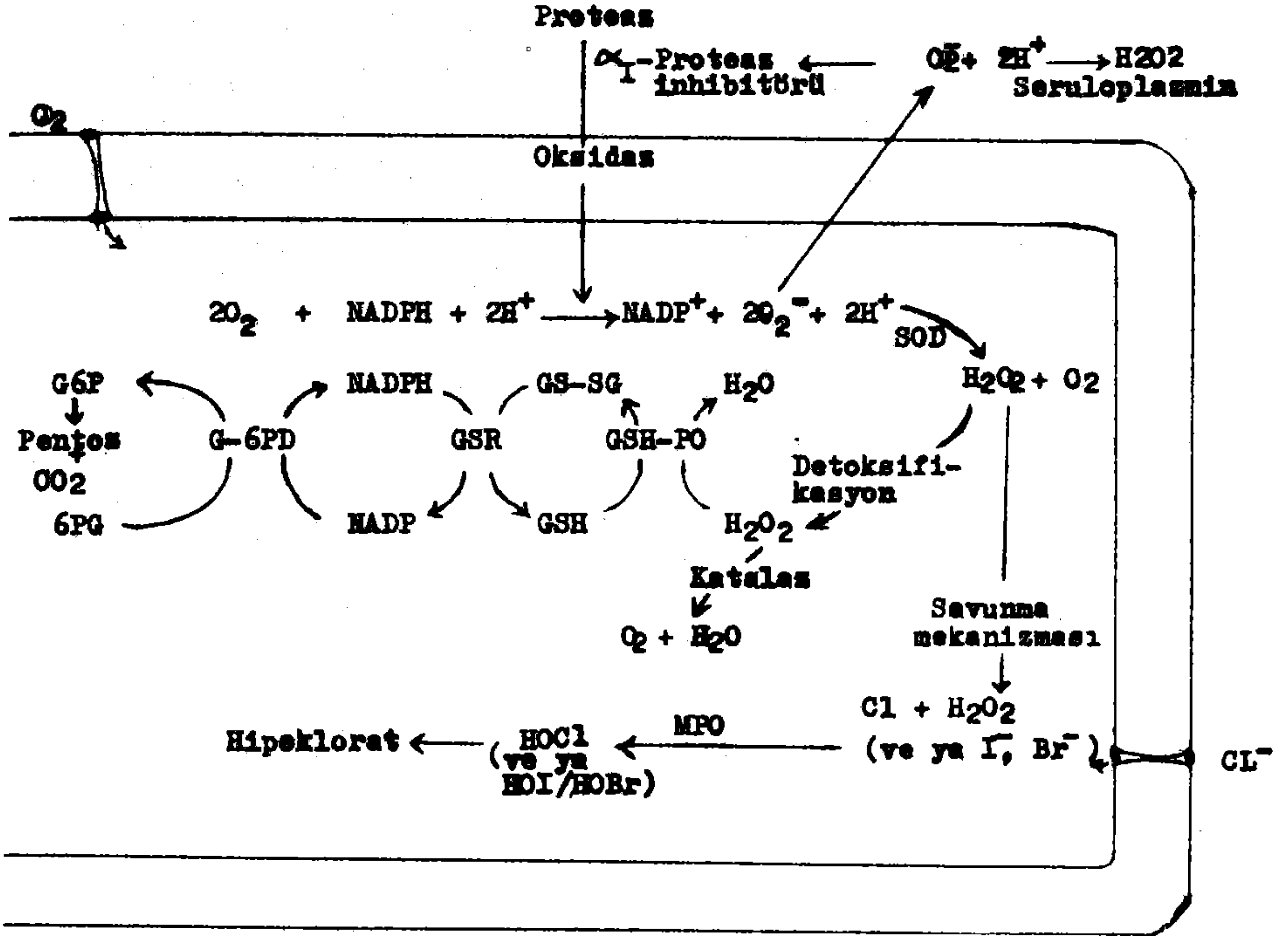
Serbest radikaller koruyucu etkilerini özellikle granülositlerde gösterirler (1). Serbest radikallerin oluşum ve detoksifikasyon yolları Şekil 1'de gösterilmiştir.

İnflamasyon olayı esnasında, granülosit içine  $O_2$  girişi artar ve hücre membranında bulunan bir oksidaz enzimi nikotinamid-adenin dinükleotid fosfat'a (NADPH) bağımlı bir proçesle  $O_2$ 'i SO'e dönüştürür (2). Daha sonra SO, superoksid dismutaz (SOD) enzimi aracılığıyla PO'e dönüşür.

PO ise 2 şekilde detoksifiye edilir.

1- Katalaz enzimi ile  $O_2$  ve  $H_2O$ 'ye dönüşür.

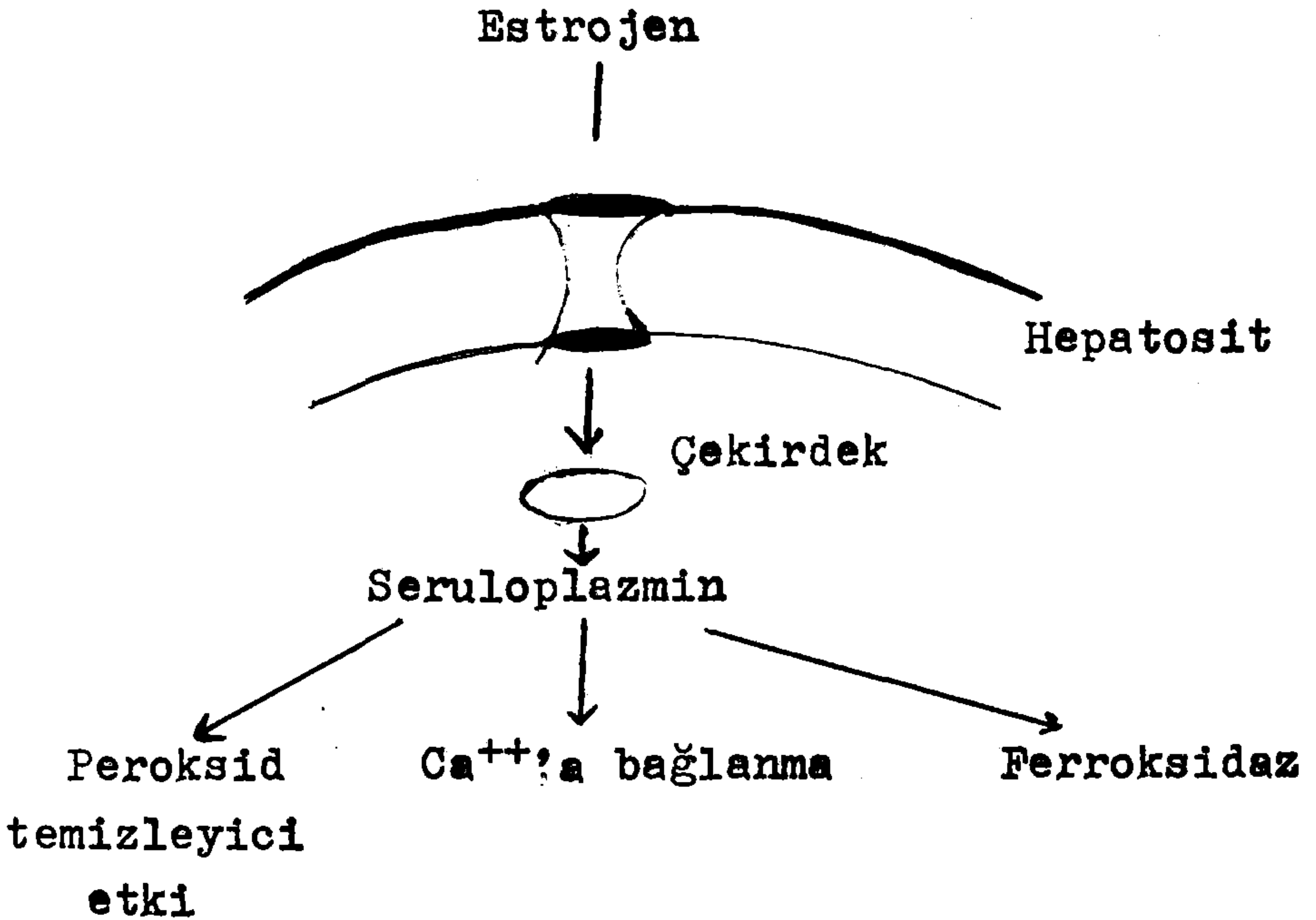
2- Glukoz 6-fosfat, NADPH ve glutation'un oluştuğu heksoz monofosfat şantında glukoz'un tüketimiyle



Şekil. 1- Granülosit içinde süperoksit ( $O_2^-$ ), peroksit ( $H_2O_2$ ), nikotinamid-dinükleotid (NADPH) ve hipoklorik asit ( $HOCl$ ) oluşumu. Oksidaz: Ksantin oksidaz- Aldehid oksidaz- Amin oksidaz- Flavin dihidrogenaz -Siklooksijenaz -Lipooksijenaz, SOD: süperoksit dismutaz. GS: glutation, GSR: GS redüktaz, GSH-PO: glutation peroksitaz, GS-SG: oksitlenmiş GS, GSH: indirgenmiş GS. MPO: miyeloperoksitaz.

İkinci yol çok daha önemlidir, çünkü granülomatozis ve G-6PD eksikliği olan hastalarda  $SO$  oluşumunda bir yetmezlik ve NADPH azalması söz konusudur. Bu duruma infeksiyonlara karşı olan dirençte de bir azalma eşlik eder. Ayrıca PO,  $Cl^-$  ile ve daha sınırlı bir şekilde  $I^-$  ve  $Br^-$  ile reaksiyona girerek miyeloperoksitaz (MPO) enzimi aracılığıyla hipoklorid aside ( $HOCl$ ) dönüşür.  $HOCl$  bakterisid etkilidir, bir OH-substratı olarak hareket eder ve adenin nükleotidlerini okside ve nötrofil kollajeni aktive etmesine karşın,  $\alpha_1$ - antiperoksitaz inhibitörünü inaktive eder. MPO eksikliği olan, bu nedenle infeksiyonlara yakalanma riski artan bireylerin toplumda görülme insidensinin 1/4000 olduğu bildirilmiştir (3).

Granülositlerde SOD tarafından  $H_2O_2$ 'ye dönüştürülmesinin yanısıra SO, granülositlerden ekstraselüler sıvıya salındığında seruloplazmin olarak bilinen bir akut faz proteini tarafından da  $H_2O_2$ 'ye çevirilir (4). Seruloplazmin'in konsantrasyonu 3 mg/dl'dir. Bu miktarın azalması PO'in yanısıra  $Cu^{++}$ 'in birikmesi ve özellikle beyinde toksik etkilerin oluşması olayına (Wilson hastalığı) katkıda bulunabilir. Hepatositlerde seruloplazmin sentezi estrojen tarafından artırılır (Şekil 2).



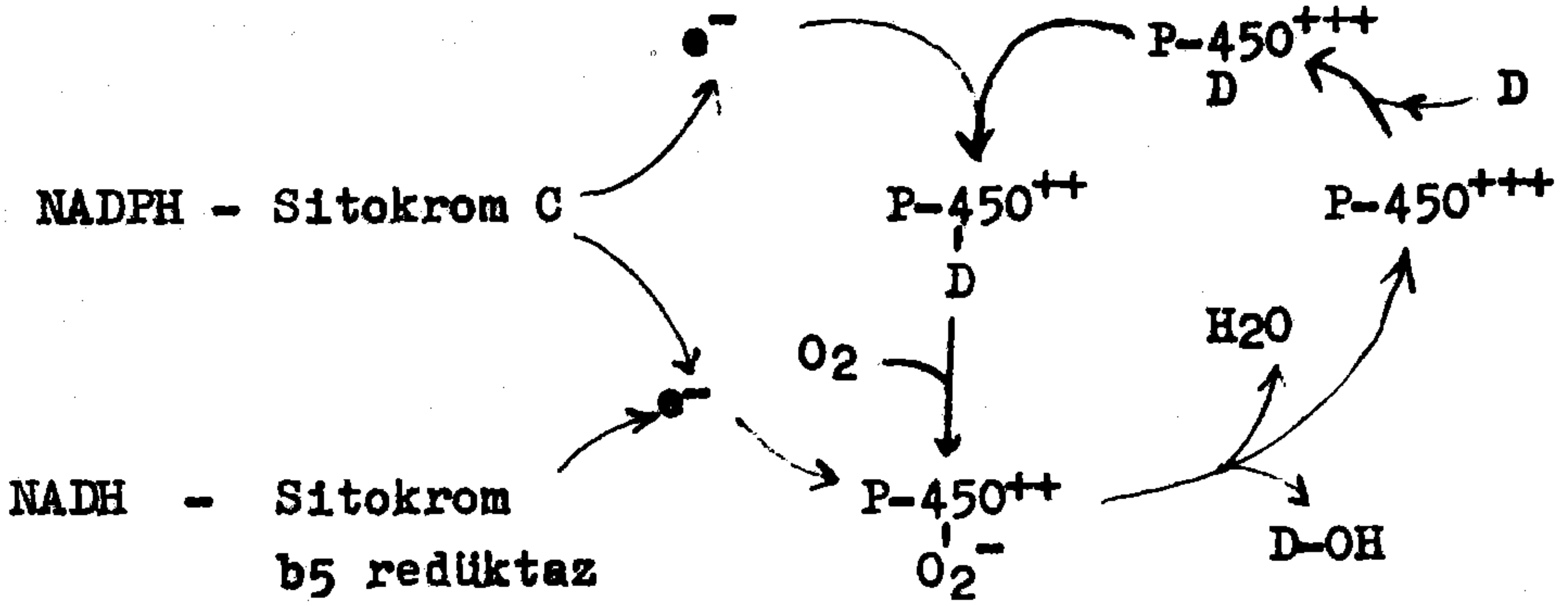
Şekil. 2- Seruloplazmini'in sentezi ve temel fonksiyonları üzerine estrojen'in etkisi.

### **Farmakolojik ve Klinik Önemi**

İlaçların oksidasyonundan sorumlu olan hepatik sitokrom sisteminde  $O_2$ , sitokrom C redüktaz aracılığıyla NADPH'dan ya da NADPH olmadığı durumlarda sitokrom B<sub>5</sub> redüktaz aracılığıyla NADP'tan bir elektron transferiyle oluşur (Şekil 3) (15). Parasetamol ve halotan gibi bazı ilaçların yüksek dozda verilmesiyle ortaya çıkan reaktif ara ürünlerin, toksik etkilerinden sorumlu serbest radikaller olduğu düşünülmektedir (6).

Serbest radikaller iki yönden doku zedelenmesinden sorumludur: Kollajen ve proteoglikanların degradasyonu yoluyla direkt olarak; lipid-





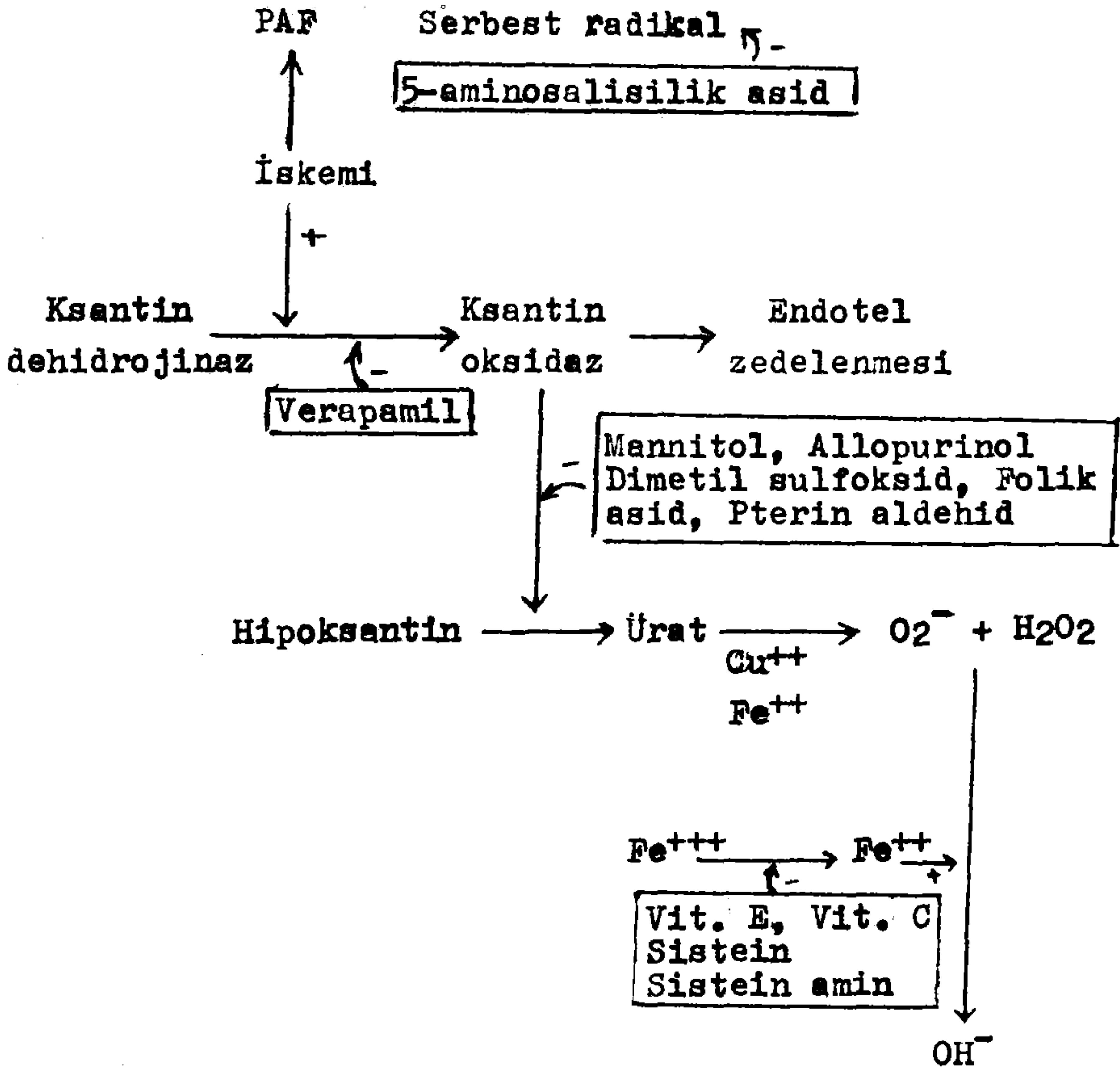
Şekil. 3- Drogaların hepatik sitokrom P-450 enzimi tarafından oksidasyonu sırasında süperoksit oluşumu. D: drog, NADPH: nikotinamid-adenin dinükleotid fosfat, NADH: nikotinamid-adenin dinükleotid.

lerin peroksidasyonu ve yağ asitleri reaktanlarının oluşumu ve  $\alpha$ -1-proteaz inhibitörünün inaktivasyonu yoluyla indirekt olarak (7).  $\alpha$ -1-proteaz inhibitörü granülosit elastaz'ın major inhibitörüdür (8) ve proteaz'ın oksidaz aktivasyonunda rol oynama olasılığı nedeniyle SO oluşumundan sorumlu olabilir (9).

Özellikle hücre membranı üzerine zedeleyici etkilerine bağlı olarak serbest radikaller birçok inflamatuvar olaylarda, nekroz, dejenerasyon, bazı nörolojik bozukluklar ve yaşlanmada rol oynarlar. Romatoid artrit ve gut gibi inflamatuvar durumlarda, polimorfonükleer granülositlerden serbest radikallerin salınması sinovya zedelenmesinin başlamasından sorumlu olaylardan biridir. Glikozaminoglikan-peptid kompleksi (GP-C, rumalan) ve glikozaminoglikan-polisülfat (GAPS, Arteparan) gibi yeni geliştirilen ve "kondroprotektif" olarak bilinen ilaçlar osteoartritte yapısal zedelenmeden sorumlu katabolik ve lizozomal enzimleri (kollajenler, metalloproteinazlar gibi) inhibe ederler (10). Oksidaz aktivasyonu ve serbest radikal oluşumunun artması sonucu  $\alpha$ -1-proteaz inhibitör'ün azaldığı bir akciğer rahatsızlığı olan amfizem oluşmasına da serbest radikaller katkıda bulunurlar. Bazı glomerülonefrit tiplerinde ve kardiyak bozukluklarda serbest radikallerin oluştuğu ve nefral ve kardiyak dokuları zedelediği bildirilmiştir. SOD inhibitörleri (ergotein gibi) SO'e bağlı zedelenmeyi önler ve kardiyak tedavide, organ transplantasyonlarında ve inflamatuvar hücrelerin membranlarını stabilize etmek amacıyla kullanılırlar (11, 12).

Hipoksantin'in ksantin oksidaz'ın etkisi altında ksantin ve ürat'a dönüşmesi Şekil 4'de gösterilmiştir. Ürat,  $O_2$ - oluşumunda ve gut hastalığındaki inflamatuvar ve zedeleyici değişikliklerde rol oynar.  $H_2O_2$  daha sonra  $Fe^{2+}$  gerektiren bir reaksiyonla  $OH^-$ 'e dönüşür. Bu reaksiyon Vit. E ( $\alpha$ - tokoferol) tarafından inhibe; solenium, Vit. C (askorbik asid), sistein ve sisteinamin tarafından sinerjize edilir. Vit E ise GSP-O, SOD ve katalaz'ın kofaktörüdür ve bu nedenle  $SO$  ve  $H_2O_2$ 'in detoksifikasyonuna yardımcı olur. Aynı zamanda serbest radikallerin lipidler üzerine etkisini önler ve sonuçta hücre membranının zedelenmesine engel olur. Endotelyal zedelenmeye katkıda bulunan ksantin oksidaz, ksantin dehidrogenaz'dan kaynaklanır. Bu reaksiyon verapamil tarafından inhibe edilir. Bu inhibisyon,  $Ca^{2+}$  kanal blokleri verapamil'in sitoprotektif etkisini belli ölçüde açıklayabilir. Ancak iskemi, ksantin oksidaz ve platelet aktive edici faktör (PAF) oluşumunu artırır ve bunun sonucunda serbest radikallerin oluşmasına ve doku zedelenmesine neden olur. 5-aminosalisilik asid, oksijen türevi serbest radikallerin kalıntılarını temizler ve bu nedenle ülseratif kolit ve Crohn hastalığında etkin bir şekilde kullanılır. (13). Diğer yünden, ksantin oksidaz'ın etkileri mannitol, allopurinol, dimetil sülfosid (DMSO), folik asid ve pterin aldehid gibi birçok ajan tarafından inhibe edilir.

Diğer bazı patolojik durumlarda da serbest radikallerin önemli rolüne ait kanıtlar gittikçe artmaktadır. Alkol etkisiyle oluşan gastrik ülser, i.v. meperidin analogu uygulanımından sonra 1-metil-4-fenil-1, 2, 3, 6- tetrahidropiridin (MPTP) ile oluşan parkinsonizm benzeri sendrom ve özellikle MPTP üretilen bazı kimya fabrikaları çalışanları arasında görülen çevre kirliliği sonucu oluşan etkiler bu patolojik durumların örnekleridir. MPTP, substantia nigra'da (SN) MAO-B tarafından toksik bir iyon olan 1-metil-4- fenilpiridin'e (MPP) okside olur (14). Serbest radikallerin salınımına ve bunun sonucunda SN'daki nöronları zedeleyerek nörolojik bozukluklara neden olduğu düşünülmektedir. Selektif MAO-B inhibitörü olan selegilin (deprenil) MPTP'nin oksidasyonunu önleyerek ve dolayısıyla serbest radikallerin oluşumunu azaltarak bu yan etkileri engeller. Son zamanlarda serbest radikaller, omuriliğin ön boynuzundaki motor nöron dejenerasyonu ile karakterize edilen ve şiddetli kas zayıflığı ve ölümlü sonuçlanan bir nörolojik bozukluk olan "motor nöron hastalığı"nın ortaya çıkmasından da sorumlu tutulmaktadır.



Şekil. 4- Ürat sentez yolunda serbest radikallerin oluşumu üzerine çeşitli ajanların etkisi.

## KAYNAKLAR

1. Rapaport S.L.: *Inflammation and phagocytosis*. In: West JB, ed. *Best and Taylor's Physiological Basis of Medical Practice*. 11th edit. London, William and Wilkins, 385-389, 1985.
2. Klebanoff S.J.: *Oxygen metabolism and the toxic properties of phagocytes*. *Ann Int Med*. 39:480-489, 1980.
3. Parry M.F., Root R.K., Metcalf J.A., Delaney K.K., Kaplow L.S., Richar W.S.: *Myeloperoxidase deficiency. Prevalence and clinical significance*. *Ann Int Med* 95:293-301, 1981.

4. Goldstein I.M., Kaplan H.B., Edelson H.S., Weismann G.: *Ceruloplasmin: an acute phase reactant scavenges oxygen-derived free radicals*. Ann N Y Acad Sci 389: 368-379, 1982.
5. Roth J.A.: *Drug metabolism*. In: Smith CM, Reynard AM, eds. *Textbook of Pharmacology*. WB Saunders Co, Philadelphia, 46-48, 1992.
6. Gillies H.C., Rogers H.J., Spector R.G., Trounce J.R.: *Drug dependence and drug overdose*. Gillies H.C., Rogers H.J., Spector R.G., Trounce J.R. eds. *A Textbook of Clinical Pharmacology*. London, Edward Arnold, 837-880, 1986.
7. Fautone J.C, Ward P.A.: *Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reaction*. Am J Pathol 107:397-418, 1982.
8. Janoff A., Carp H.: *Proteases, antiproteases, and oxidants: Pathways of tissue injury during inflammation*. In: Majino G, Cotran RS, Kaufman N, eds. *Current Topics in Inflammation and Infection*. Baltimore, William and Wilkins, 1982, 62-82.
9. Kitagawa S., Takaku F., Sakamoto S.: *Evidence that proteases are involved in superoxide production by human polymorphonuclear leukocytes and monocytes*. J Clin Invest 65:74-81, 1990.
10. Burkhardt D., Ghosh P.: *Laboratory evaluation of antiarthritic drugs as potential chondroprotective agents*. Semin Arthritis Rheum 17: 3-34, 1987.
11. Coalan M.: *Biotechnology: are you ready for it?* Drug Topics. 134:34-41, 1990.
12. McIlwain H., Silverfield J.C., Cheatum D.E., et al: *Intra-articular orpotein in osteoarthritis of the knee: a placebo-controlled efficacy, safety and dosage comparison*. Am J Med 87:295-300, 1989.
13. Beradi R.R.: *Inflammatory bowel disease*. In: Herfindal E, Gourley D.R., Hart L.L. eds. *Clinical Pharmacy and Therapeutics*. 5th edit. Baltimore. William and Wilkins, 406-423, 1992.
14. Shimomura S.K.: *Parkinsonism*, In: Herfindal E, Gourley D.R., Hart L.L., eds. *Clinical Pharmacy and Therapeutics*. 5 th edit. Baltimore, William and Wilkins, 1992, 868-878.