

NÖTROFİL LÖKOSİTLERDE SOLUNUM PATLAMASI ve NADH OKSİDAZ

Dr. Mustafa ÜNALDI *, Dr. Osman YILMAZ **,
Mehmet GÜRBİLEK ***, Dr. Mehmet AKÖZ ****, Mustafa YÖNTEM *****

ÖZET

Fagositozda önemli bir rol üstlenen nötrofil lökositler antibakteryal ajanları ve lizozomları içererek mikroorganizmaları tahrip ederler. Hareketli olmaları ve fagositoz yapmaları dolayısıyla aktif bir metabolizmaya sahiptirler.

Fagositozda esas olarak iki biyokimyasal olay vardır: Birisi heksoz monofosfat yolunun hızlanması, diğeri de H₂O₂ oluşumudur. Fagositozda enerji ihtiyacı ve oksijen harcaması artar. Glikozun Embden-Meyerhoff ve fosfoglukonat yolu ile yıkımı hızlanır. Glikolizde üretilen NADH üzerine oksidazın etkisiyle H₂O₂ oluşur. H₂O₂'in bakteriler üzerine öldürücü etkisi vardır.

Fagositoz olayına bağlı olarak bir solunum artışı olur, buna solunum patlaması denir. Solunum patlaması kemotaksisten itibaren başlar, fagositoz sonuna kadar devam eder. Lökositlerde üretilen H₂O₂ yetersizliğinde, mikroorganizmaların öldürülüşü iyi olmayacağından bazı hastalıklar ortaya çıkar.

SUMMARY

Respiratory Burst in Human Neutrophils and NADH Oxidase

Neutrophil leukocytes, which have antibacterial agents and lysosomes, play an important role in phagocytosis and destroy microorganisms. They have active metabolism, because they are motile and phagocytose microorganisms.

Principally, There are two biochemical events in phagocytosis. First one is the acceleration of the hexose-monophosphate shunt and the second one is the generation of H₂O₂ in phagocytosis the energy requirement, oxygen consumption, and the breakdown of glucose via Embden-Meyerhoff pathway increase.

H₂O₂ is produced as a result of the effect of oxidase on NADH produced in glycolysis. H₂O₂ has killing effect on microorganism.

In phagocytosis respiration accelerates in the neutrophil leukocytes. This is called as respiratory burst. Respiratory burst starts at the beginning of the chemotaxis and continues up to the end of phagocytosis. Impaired H₂O₂ production causes some infections. Because microorganisms can not be effectively killed.

GİRİŞ

Ameboid hareketler yapabilen (5) kemotaksisle yaklaşma veya uzaklaşma şeklinde yer değiştirebilen (2, 3) oldukça hareketli lökositler olan nötrofil granülositler fagositozda önemli bir rol üstlenirler. Granülleri antibakteriyel ajanları ve lizozomal enzimleri

* S.Ü.T.F. Biyokimya A.B.D. Başkanı.

** S.Ü.T.F. Patoloji A.B.D. Öğr. Üy.

*** S.Ü.T.F. Biyokimya A.B.D. Öğr. Gör.

****S.Ü.T.F. Biyokimya A.B.D. Arş. Gör.

***** S.Ü.T.F. Biyokimya Doktora Öğrencisi.

içerirler ve bunları fagosite ettikleri mikroorganizmaları tahrip etmede kullanıncaya kadar depo edip saklarlar (4, 5).

Nötrofil granüositler hem oldukça hareketli oluşları hem de fagositoz gibi büyük bir maceranın içinde yer almaları dolayısıyla yüksek ve aktif bir metabolizmaya sahiptirler (6).

METABOLİZMALARI

Nötrofiller olgunlaştıkça mitokondri sayıları azalır. Anaerobik glikoliz egemen enerji kaynağı olur ve sitoplazmalarında bol glikojen depo edilir. Bu glikojen fagositozda enerji deposu fonksiyonu görür (1, 7).

Olgun lökositler mitokondri bakımından fakirdirler, (7, 8). Anaerobik şartlarda bile enerjinin %90'ı anaerobik glikolizden temin edilir (1, 9). Bu durum enfekte doku ve eksudaların hipoksik şartlarında dahi lökositlerin fonksiyonlarının kolayca işlerliğini sağlar (5).

Nötrofil granüositler geniş ölçüde kullandıkları bir heksoz monofosfat yoluna sahiptirler (1, 10). Bu hücrelerde lipid metabolizması da aktif bir durumdadır (1, 9). Fagositoz sırasında, fagositlerin kendi dış hücre zarları da zarar görebilir. Buna karşılık fosfolipid zar proteinleri metabolizması çok aktif olduğundan hızlı bir onarım gerçekleştirilir (11). Bunlarda H_2O_2 oluşturmak amacıyla bağlı olarak oksijen kullanımı da artar (1, 12).

SOLUNUM PATLAMASI

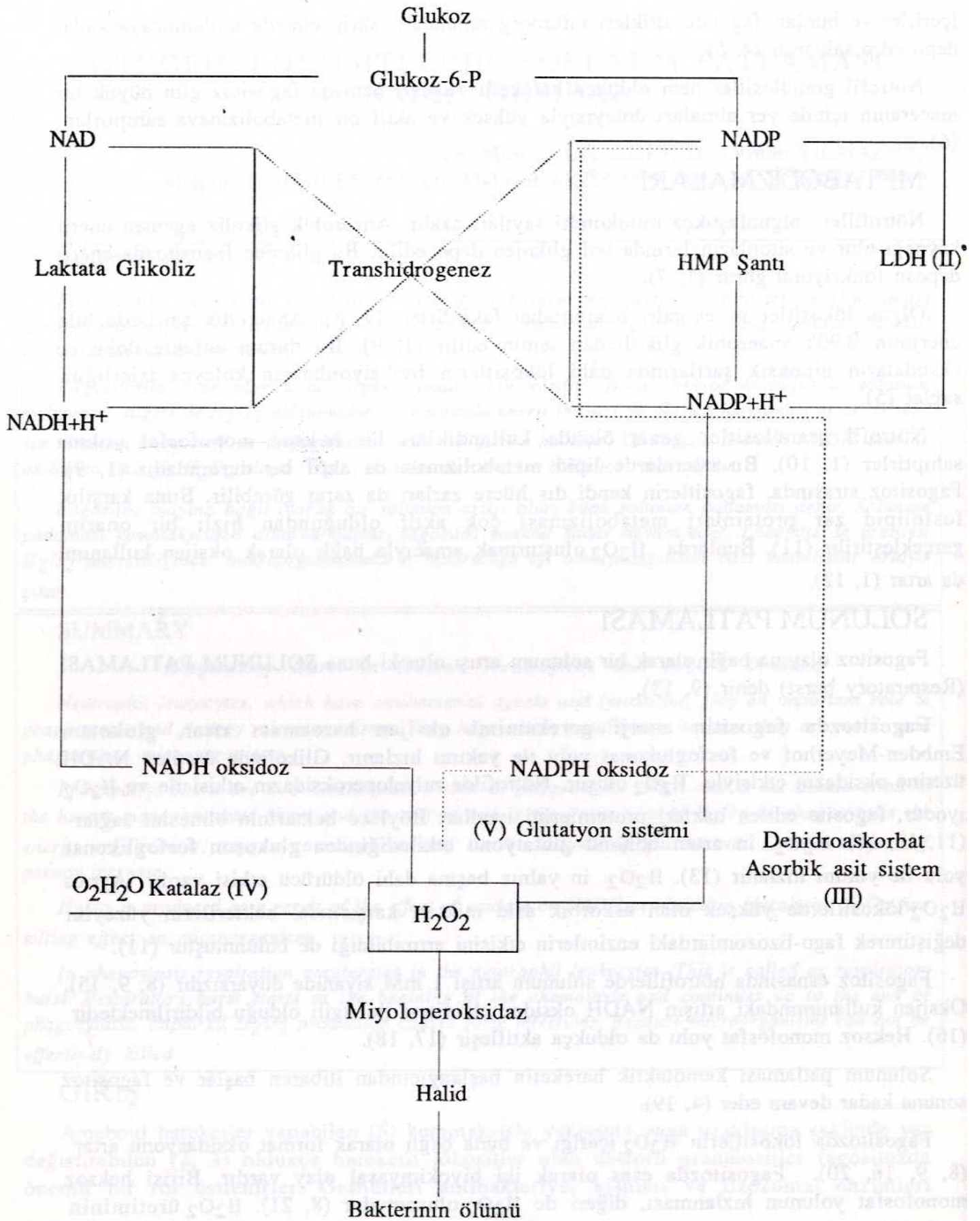
Fagositoz olayına bağlı olarak bir solunum artışı olur ki buna SOLUNUM PATLAMASI (Respiratory burst) denir (9, 13).

Fagositozda fagositin enerji gereksinimi oksijen harcaması artar, glukozun Embden-Meyerhof ve fosfoglukonat yolu ile yakımı hızlanır. Glikolizde üretilen NADH üzerine oksidazın etkisiyle H_2O_2 oluşur. Nötrofilde miyeloperoksidazın etkisi ile ve H_2O_2 iyodür, fagosite edilen bakteri proteinlerini iyodlar. Böylece bakterinin ölmesini sağlar (11, 13, 14). H_2O_2 in artan bölümü glutasyonu etkilediğinden glukozun fosfoglikonat yolu ile yıkımı hızlanır (13). H_2O_2 in yalnız başına dahi öldürücü etkisi vardır. Ayrıca H_2O_2 lökositlerde yüksek olan askorbik asid miktarı karşısında, bakterilerin yüzeyini değiştirerek fago-lizozomlardaki enzimlerin etkisini artırabildiği de bulunmuştur (11).

Fagositoz esnasında nötrofillerde solunum artışı 1 mM siyanide duyarsızdır (8, 9, 15). Oksijen kullanımındaki artışın NADH oksidaz aktivitesi ile ilgili olduğu bildirilmektedir (16). Heksoz monofosfat yolu da oldukça aktifleşir (17, 18).

Solunum patlaması kemotaktik hareketin başlangıcından itibaren başlar ve fagositoz sonuna kadar devam eder (4, 19).

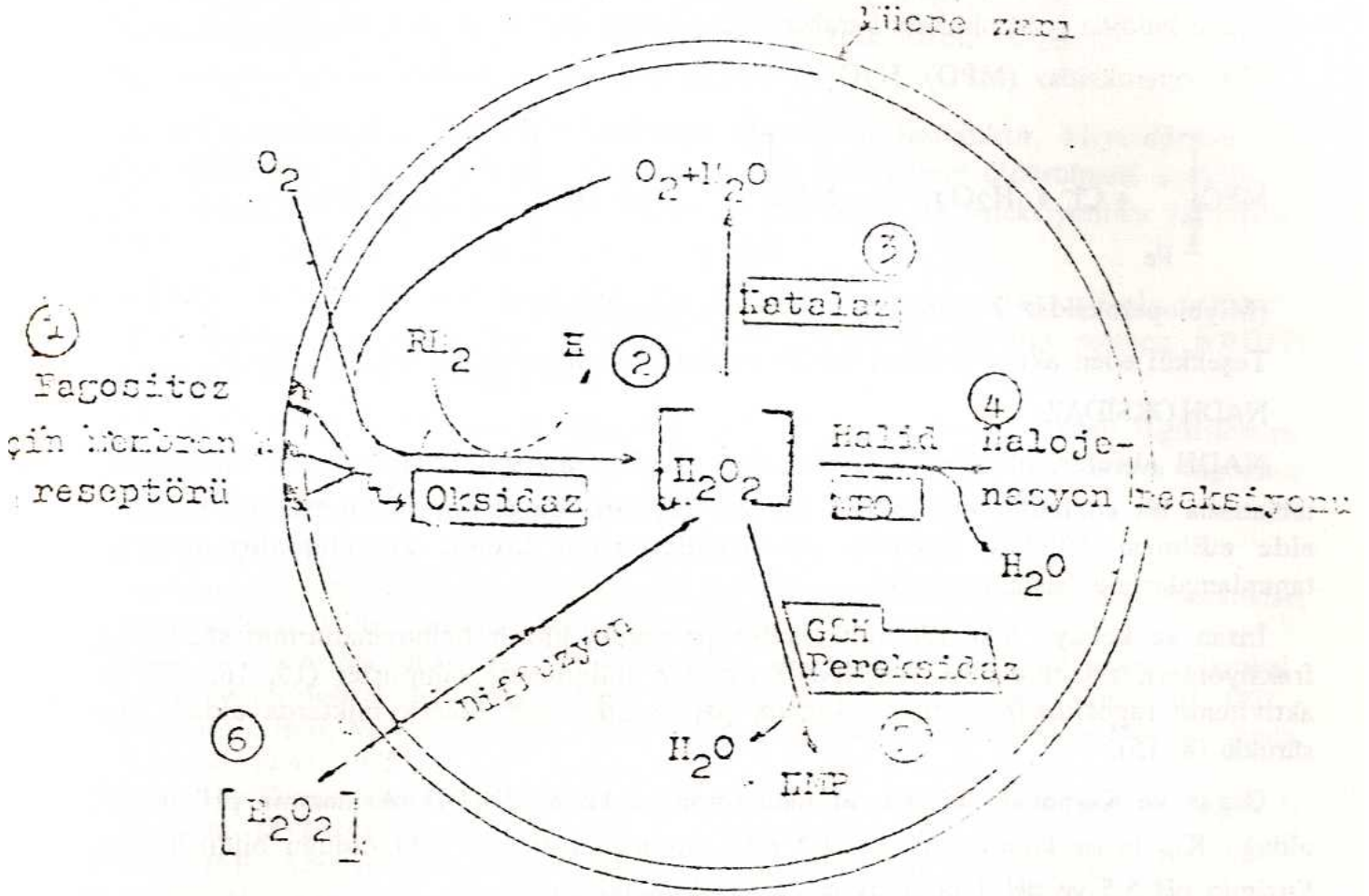
Fagositozda lökositlerin H_2O_2 içeriği ve buna bağlı olarak format oksidasyonu artar (8, 9, 16, 20). Fagositozda esas olarak iki biyokimyasal olay vardır. Birisi heksoz monofosfat yolunun hızlanması, diğeri de H_2O_2 oluşumdur (8, 21). H_2O_2 üretiminin heksoz monofosfat yolu ile ilgisi, katabolizması ve bunlarla NADH oksidazın rolü şekil (1), (2) de görülmektedir.



ŞEKİL 1

H₂O₂ Üretiminin HMP yolu, glikoliz, NADH Oksidaz ve bakterinin öldürülmesi ile ilgili

(8, 23, 24).



ŞEKİL 2

İnsan granülositleri tarafından H_2O_2 üretimi katabolizması ve salıverilmesinde meydana geldiği ileri sürülen olaylar.

1-Partikül ile membranın fagositik reseptörleri etkileşirler. Bu etkileşim fagositozu başlatır. Buda intrasellüler H_2O_2 üreten bir oksidazı uyarır.

2-Uygun bir hidrojen donörü olan substrattan Oksijene Hidrojen transferiyle H_2O_2 üretilir.

3-Üretilen H_2O_2 nin bir bölümü katalaz tarafından

4-Bir bölümü de MPO tarafından katabolize edilir.

5- H_2O_2 nin diğer bir bölümü de GSH peroksidaz tarafından katabolize edilir ve oluşan ürün HMP yoluna bağlanır.

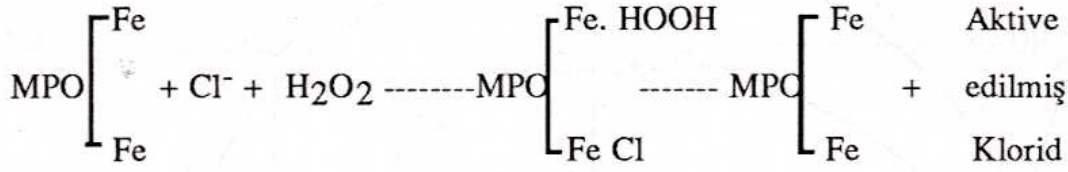
6- H_2O_2 nin artan bölümü hücreden diffüze olan serbest H_2O_2 dir (25).

Heksoz monofosfat yolu ile H_2O_2 üretimi arasında sık bir ilgi olduğu gösterilmiştir (9, 22).

Fagositozda öldürme işleminde en önemli ve en etkin sistem halid teşekkülüdür. Halid, oksidazların ürettiği H_2O_2 ile lökositte bol olarak bulunan miyeloperoksidaz ve bir halojen'dan oluşmuş sistem tarafından üretilir (14, 15, 22, 23). Ayrıca katalaz, katyonik proteinler, askorbik asid, lizozim, süperoksit dismütaz ve laktoferrin gibi sistemler ile ortamın asiditesi de öldürmede rol oynarlar (22).

Halid oluşumunda, halojen olarak iyod, klor ve brom kullanılabilir. En etkin bakterisid halojen iyod olmakla beraber organizmada en bol bulunanı klordur (22).

Miyeloperoksidaz (MPO), H₂O₂ ve klorun etki şekli şöyledir:



(Miyeloperoksidaz 2 hem prostatik grubu taşımaktadır)

Teşekkül eden aktive edilmiş klorid kuvvetli bir mikrobisidal etkiye sahiptir.

NADH OKSİDAZ

NADH oksidaz, oksijen ve HADH dan H₂O₂ üretimini katalizleyen flavoprotein tabiatında bir enzimdir. (1, 15, 16, 22, 26, 28, 29). Bu enzim hakkındaki ilk bilgilerin elde edilmesi 1957'de Brendes ve Arkadaşlarının kronik granülomatoz hastalığı tanımlamalarıyla başlamıştır (9).

İnsan ve kobay lökositlerinin alkale potasyum klorür homojenatlarının süpernatant fraksiyonları, siyanide duyarız NADH oksidaz aktivitesine sahiptirler (15, 16, 22). Bu aktivitenin fagositozda görülen solunum patlamasını izah edecek miktarda olduğu ileri sürüldü (8, 15).

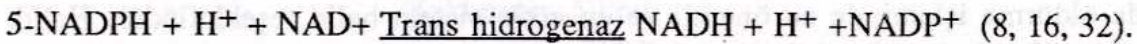
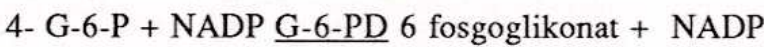
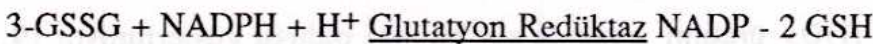
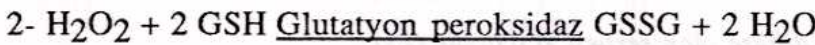
Cagan ve Karnovsky (21) tarafından insan ve kobay NADH oksidazının pH'ının 4.5 olduğu K_m in ise kobay için 1x10⁻³ mM, insan için 4x10⁻⁴ mM olduğu bildirilmiştir. Enzimin pH 5.5 ve pH 7 de aktivite gösterdiği açıklanmıştır (8).

Enzimin substratı olan NADH'ın fagositoz sırasında üretildiği ve buna bağlı olarak NADH/NAD oranının arttığı tesbit edilmiştir. Bu artış muhtemelen, transhidrogenazla veya glikolizle temin edilmektedir (9).

Lökositlerdeki H₂O₂ NADH oksidaz enzimi tarafından üretilir (15, 21, 22, 27, 30). Böylece mikroorganizmalar lökositler tarafından öldürülür. Enzimin eksikliğinden bu fonksiyon yerine getirilemez.

NADH oksidaz aktivitesinin hidrokortizon tarafından inhibe edildiği bildirilmiştir (31).

Enzimin kataliz ettiği reaksiyon ile devamlılığını sağlayacak diğer stokiyometrik reaksiyonlar şöyledir:



Nötrofil lökositlerde enzim defekti sonucu fagositozda bozukluk ve bakterilerin iyi öldürülememesine bağlı olarak bazı hastalıklar (33, 34) ortaya çıkmaktadır. Bunların birkaçı şöyle sıralanabilir:

a. Kronik Granulomatöz Hastalık: X e bağlı olarak geçen resesif bir hastalıktır. Nötrofil sitoplazmasında bakteri öldürülmesinde bozukluk vardır. Solunum patlaması ve H₂O₂ oluşumu yetersizdir.

b. Miyeloperoksidaz Eksikliği: Otozomal resesif bir hastalıktır. Miyeloperoksidaz enzimi eksikliğine bağlıdır. Nötrofil sitoplazmasında bakterilerin öldürülmesi yetersizdir. Nadir olmayan bu hastalıkta daha fazla kandida olmak üzere sık enfeksiyonlara yakalanma görülür.

c. Glikoz-6-fosfataz dehidrogenaz (G-6-PD) Eksikliği: Bakterilerin nötrofil sitoplazmasında öldürülmesinde bozukluk vardır. G-6-PD eksikliği sonucu NADPH yapımında yetersizlik söz konusudur.

İltihap ve vücut savunmasında önemli bir yer işgal eden nötrofil lökosit fagositozunu biyokimyasal ve patolojik açıdan ele aldık. Derlemiştir olduğumuz bu yazının fagositoz üzerinde çalışmalar yapacak araştırmacılara ışık tutacağı inancındayız.

KAYNAKLAR

1. Torunoğlu, M.: "Kan Hastalıkları Fizyopatolojisi", Dolaşım, Solunum ve Kan Hastalıkları Fizyopatolojisi, 1. Bas., Ankara, Ankara Ün. Tıp Fak., Cilt I, 325, 1981.
2. Guyton, A.C. (Çeviren: Bilge, M.) : "Kan Hücreleri, Bağışıklık ve Kan Pıhtılaşması", Fizyoloji (Tektbook of Medical Physiology 8. Bas.), 1. Bas., Ankara, Güven Kitabevi, Cilt I, 107, 1977.
3. Keller, H.U., Hess, M.W. ve Cottier, H.: Physiology of Chemotaxis and Random Motility, Semin. Hematol., 12:47, 1975.
4. Tauber, A.I.: Current Views of Neutrophil Dysfunction, An Integrated Clinical Perspective, Am. J. Med., 70: 1237, 1981.
5. Bainton, D.F.: Annotation, Neutrophil granules, British J., Hematol, 29: 17, 1975.
6. Terzioğlu, M.: "Kan ve Lenfa Fizyolojisi", Fizyoloji Ders Kitabı, 3. Bas., İstanbul, İ.Ü. Tıp Fak. Yayını, Cilt I, 497. 1962.
7. Terzioğlu, M.: "Kanın Bileşimi ve Fiziksel Özellikleri", Fizyoloji Ders Kitabı, 1. Bas., İstanbul, İst. ün., Cerrahpaşa Tıp Fak., Cilt II, 60-68, 1978.
8. Özand, P., Laleli, Y. ve Karan, A.: Lökosit Fagositozunun Biyokimyası Üzerinde Tartışma, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 17:107, 1974.
9. Nathan, D.G., and Baehner, R.L.: Disorders of Phagocytic Cell Function in Brown E.B. and Moore, C.V. (Ed), Progress in Hematology, 1 st. ed, London, Grune ve Stratton, Vol. VII, 235, 1971.
10. Danishefsky, I.: "Blood", Biochemistry for Medical Sciences, 1 st ed., Boston, Little, Brown and Comp. 468, 1980.
11. Yenson, M.: "Organizmanın Dış etkenlere Karşı Moleküler Düzeyindeki Biyokimyasal Korunma-Savunma Sistemleri ve Fonksiyonları", İnsan Biyokimyası, 4. Bas., İstanbul, İ.Ün. İ. Tıp Fak. 766, 1981.
12. Dewald, B. ve Baggiolini, M.: subcellular Localization of The Superoxide-Forming Enzyme in Human Neutrophils, J.Clin. Invest., 63:21, 1979.
13. Eser, S.: "Hemopoetik Sistem. Klinik Fizyopatoloji, İstanbul, Filiz kitabevi, Cilt I, 332, 1980.
14. Noyan, A.: "Kan Fizyolojisi", Fizyoloji ders Kitabı, 1. Bas. Eskişehir, Anadolu ün. Tıp Fak., 462, 1980.
15. Badwey, J.A. ve Karnovsky, M.L.: Production of Superoxide and Hydrogen Peroxide by an NADH Oxidase in Guinea Pig Polymorphonuclear Leukocytes, J. Biol. Chem, 254:1153, 1979.
16. Baehner, R.L. ve Karnovsky, M.L.: Deficiency of Reduced Nicotinamide-Adenine Dinucleotide Oxidase in Chronic Granulomatous Disease, Science, 162:1278, 1968.
17. Stossel, T.P.: Evaluation of opsonic and Leukocyte Function With a Spectrophotometric Test in Patients With Infection and With Phagocytic Disorders, Blood, 42:121, 1973.

18. Karan, A.: İnsan Polimorf Nüveli Lökositlerinden Fagositoz Esnasında ortama Lizozomal Enzim Salıverilişinin Kinetiği ve Oksolaminin etkisi, Doçentlik tezi, Hacetepe Ün. Ezc. Fak., Ankara, 1976.
19. Mc Phail, L.C., Henson, P.M. ve Johnston, R.B.: respiratory Burst enzyme in Human Neutrophils, Evidence for Multiple Mechanism of Activation, J. Clin.Invest. 67:710, 1981.
20. Spcerer, O.R.: The Spleen and Reticuloendothelial System. in Sodeman, W.A. and Sodeman T.M. (Ed.) Pathologic Pysiology, Mechanism of Disease 5 th ed, London, Saunders Co., 685, 1974.
21. Baehner, R.L., Gilman, N. ve Karnovsky, M.L.: Respiration and Glucose Oxidation in Human and Guinea Pig Leukocytes Comparative Studies, J. Clin, Invest., 49: 692, 1970.
22. Klebanoff, S.J.: Antimikrobiai Mechanism in Neutrophilic Polymorphonuclear Leukocytes, Semin. Hematol., 12: 117, 1975.
23. Spcerer, O.R.: Pathophysiology of Hematologic Disorders. In Sodeman W.A., and Sodeman, T.M. (Ed) Pathologic Physiology, Mechanism of Disease 5 th ed. London, Saunders Co, 604, 1974.
24. Karnovsky, M.L.: Chronic Granulomatous Disease-Pieces of A Cellular and Molecular Puzzle, Fed. Proc., 32: 1527, 1973.
25. Root, B.K., Metcale, J., oshino, N. and Chance, B.: H₂O₂ Release From, Human Granulocytes During Phagocytosis, I. Documentation, Quantitation, and Some Regulation Factors, J. Clin. Invest., 55:945, 1975.
26. Yenson, M.: "Vücut Moleküllerinin Fonksiyonları", İnsan Biyokimyası, 4. Bas, İstanbul, İ.ÜN. İ.Tıp Fak. 41-48, 1981.
27. Briggs, R.T., Karnovsky, M.L. and Karnovsky, M.J.: Cytochemical Demonstration of Hydrogen Peroxide in Polymorphonuclear Leukocyte Phagosomes. J. Cell. Biol., 64: 254, 1975.
28. Yüreğir, G.T.: "Elektron Transportu", Temel Biyokimya, 1. Bas., Adana, Çukurova Ün. Tıp Fak., Cilt I, 66, 1981.
29. Tekman, Ş. ve Öner, N.: "Enzimler", Genel Biyokimya Dersleri, 1. Bas, İstanbul, İ. Ün. Ecz., 355, 1981.
30. Winkelstein, J.A. and Drachman, R.H.: Phagocytosis, The Normal Process and its Clinically Significant Abnormalities, Pediatr. Clin. North Am. 21:551, 1974.
31. Quie, P.G.: Pathology of Bactericidal Power of Neutrophils, Semin. Hematol., 12:143, 1975.
32. Woeber, K.A., Doherty, G.F. and Ingbar, S.H.: Stimulation by Phagocytosis of The Deiodination of L-Thyroxine in Human Leukocytes, Science, 176:1039, 1972.
33. Marsh, J.C., and Boggs, D.R.: Leukocytes and Hematopoetic Stem Cells in Sodeman, W.A., and Sodeman, T.M. (Ed.) Sodeman's Pathologic physiology Mecnanism of Disease 7 th ed, Igaku-Shoin/Saunders international Ed. Tokyo, 598, 1985.
34. Robbins, S.L., Cotran, R.S., Kumar, V.: Pathologic Basis of Disease. 3 th ed, Tokyo, W.B. Saunders Co, 51, 1984.