مضادات الأكسدة الأنزيمية *Enzymatic Antioxidants*

وتشمل الإنزيمات مثل السوبر اوكساید ديسميوتيز Superoxide dismutase (SOD) وكاتاليز catalase (CAT) وكلوتاثيون بيروكسيديز Glutathion peroxidase (GSH-px) وكلوتاثيون ريدكتيز Glutathion reductase (GSH-rd)، وهذه الإنزيمات يكون تأثيرها على إزالة سمية الجذور الحرة وإرجاعها إلى مستواها الطبيعي بشكل مباشر أو غير مباشر من خلال سيطرتها على مستويات بعض الأيونات مثل الحديد والنحاس .

١-إنزيم Super Oxide Dismutase (SOD)

وظيفة هذا الإنزيم هو استعادة حيوية الخلايا وتقليل سرعة تدميرها، ويقوم بمعادلة نوع من الجذور الحرة، كما أن هذا الإنزيم يساعد في عمله على الاستفادة من النحاس والزنك والمنغنيز. أن مستويات هذا الإنزيم تميل إلى الانخفاض التدريجي مع تقدم السن (في الوقت الذي يزيد فيه إنتاج الجذور الحرة) وقدرته كعلاج مضاد للشيخوخة هي أمر قيد البحث حالياً. يوجد نوعان من هذا الإنزيم نوع بالنحاس ونوع بالزنك وكل من النوعين يعمل على حماية جزء خاص من الخلية، فالأول يعمل على حماية سيتوبلازم الخلية حيث تنتج الجذور الحرة كنتيجة للأنشطة الأيضية المختلفة وأما الآخر فيكون فعالاً في حماية ميتوكوندريا الخلايا التي تحتوي على المعلومات الوراثية الخاصة بالخلايا وتعمل كموقع لإنتاج الطاقة، ويعتبر إنزيم SOD من الإنزيمات التي تدخل في تحليل النواتج السامة للايض الخلوي، فهو يقوم بإزالة جذرالاوكسجين O_2 وذلك بتسريع معدل تحوله إلى H_2O_2 بمساعدة بعض المعادن مثل السيلينيوم والنحاس .

٢- إنزيم Catalase

يوجد إنزيم CAT في اغلب الكائنات الحية وفي كل أعضاء الجسم ويتركز خاصة في الكبد وكريات الدم الحمراء والكلى وبكميات قليلة في المخ والقلب والعضلات ويعمل على التخلص من H_2O_2 وذلك بتحويله إلى H_2O وO_2 لذا فهو يحول دون تراكم فوق أكسيد الهيدروجين الناتج من عمليات التنفس في الأنسجة والذي يسبب تراكمه تسمم الخلايا ومن ثم موتها .

يتواجد الكاتليز في جميع الكائنات ذات التنفس الهوائي وفي الخلايا التي تحتوي سايتوكروم وهو من أوائل الإنزيمات التي تمت دراستها وتنقيتها حيث تمت دراسة البكتيريا والطيور واكباد الحيوانات وكذلك كبد الإنسان وتمت تنقيته وبكميات كبيرة وذلك لأهميته الحيوية .

ان إنزيم Catalase من الإنزيمات المهمة في تحلل H_2O_2 المتولد إثناء الاجهادات وهو يمثل المرحلة الثانية من النظام الدفاعي في الخلايا والأنسجة النباتية بعد إنزيم SOD حيث يستلم H_2O_2 ويحوله إلى جزيئة ماء وأوكسجين ويتواجد إنزيم Cat في أعضاء معينة مثل Peroxisomes و Glyoxysomes وكذلك في المايتوكندريا وفي السايتوبلازم والبلاستيدات.

يتميز هذا الإنزيم بقدرته على استخدام فوق أكسيد الهيدروجين كمستقبل ومانح في أن واحد، أي أن عمل هذا الإنزيم هو أكسدة جزيء من فوق أكسيد الهيدروجين بجزيء آخر منه.

تشترك جزيئتان من فوق أكسيد الهيدروجين في التفاعل مع إنزيم الكاتاليز، فإحداهما تعمل كمانح للهيدروجين والجزيء الآخر يعمل كمستقبل له، أي أنه يتم أكسدة جزيء واختزال جزيء آخر من فوق أكسيد الهيدروجين ليعطي الأكسجين والماء .ان إنزيم الكاتليز يتركب من البروتينات الحاوية على مجموعة حديد وله ثلاث مشابهات إنزيمية وهي Cat_1، Cat_2 , Cat_3.

لقد أصبح واضحاً من خلال الدراسات المستفيضة إلى أن تأثيرات أنواع الاجهادات واضح في تقليل ضرر الأنظمة المضادة للأكسدة وتحديداً إنزيم الكاتليز حيث يتأثر تأثراً واضحاً بالاجهادات المختلفة مثل إجهاد الماء وكذلك الإجهاد الملحي وحالات التعمير. ولزيادة الجذور الحرة تأثير في تقليل فعالية CAT وغيرها من الإنزيمات المضادة الأخرى ومن ثم تسبب زيادة في انحلال وتأثيرات خلوية سمية بأكسدة لبيدات الغشاء والبروتينات الخلوية .

٣- إنزيم Glutathion Peroxidase (GPX)

ينتشر كل من إنزيم الكلوتاثيون بيروكسديز في العديد من الأنواع الخلوية، حيث يتمركز في المايتوكوندريا والسايتوسول ويعدان من أهم الأنظمة الإنزيمية المضادة للأكسدة وذلك لقدرته على إزاحة العديد من الجذور الحرة والهايدروبيروكسيدات الناتجة من الأكسدة .

الكلوتاثايون بيروكسديز إنزيم يبلغ وزنة الجزيئي 44000 دالتون وهو سيلينوبروتين Selenoprotein يتواجد في سايتوبلازم ومايتوكوندريا الخلايا لأنسجة الكبد وكريات الدم الحمر والبلازما والنطف .

يؤدي إنزيم (GPX) دوراً مهما في تنظيم مستوى البيروكسيدات المختلفة عن طريق تسريع تحول الكلوتاثايون المختزل Reduced glutathione (GSH) إلى الكلوتاثايون المؤكسد Oxidized glutathione (GSSG) بعد إزالة البيروكسيدات المختلفة (مثل بيروكسيد الهيدروجين أو بيروكسيدات الدهون LOOH أو البيروكسيدات العضوية ROOH (كما في المعادلات في أدناه)، إذ يمثل GPX جزءاً من نظام حماية الخلايا ضد الأكسدة ونواتجها وبذلك يقلل من تلف الخلايا الناتج عن زيادة الجذور الحرة (الإجهاد التأكسدي).

$$2GSH + H_2O_2 \xrightarrow{GPX} GSSG + 2H_2O$$

$$2GSH + LOOH \xrightarrow{GPX} GSSG + LOH + H_2O$$

$$2GSH + ROOH \xrightarrow{GPX} GSSG + ROH + H_2O$$

أن وجود السيلينيوم في تركيب إنزيم كلوتاثيون بيروكسديز يعمل على حماية مكونات الخلية والأغشية البيولوجية من ضرر الأكسدة لذلك فان تعرض الجسم إلى الأذى التأكسدي يؤدي إلى الانخفاض الكبير في مستوى الكلوتاثيون بيروكسديز، إذ أشار إلى الانخفاض المعنوي لمستوى إنزيم الكلوتاثيون بيروكسديز في مصل دم الفئران المعرضة للإجهاد التأكسدي والمستحث

بالميثوتريكسيت من خلال الحقن تحت الغشاء البريتوني يعد النحاس مكوناً أساسياً لفعالية الإنزيم، وله دور كبير في تكوينه وتركيبه، إذ يعد عاملاً مرافقاCofactor مهم لفعالية الإنزيم ، لذا فأن نقص تركيز النحاس في الدم ممكن أن يخفض من فعالية الإنزيم علاوة على أنه في حالة انخفاض تركيز هرمون الغدة الدرقية Hypothyroidism تنخفض فعالية الإنزيم.

الكلوتاثايون Glutathione (GSH) كمضاد أكسدة غير انزيمي :

وهو ببتيد مكون من ثلاثة أحماض أمينية وهي السستين Cysteine، كلوتاميت Glutamat والكلايسين Glycine. يعد الكلوتاثايون من المواد النايتروجينية غير البروتينية الحاوية على الكبريت بشكل كبير ويتميز بوزنه الجزيئي المنخفض وذات تركيب $C_{10}H_{17}N_3O_6S$

يوجد الكلوتاثايون في مختلف الكائنات الحية كالإنسان والحيوان والنبات والأحياء المجهرية ويعد من أوفر مركبات الثايول SH غير البروتينية الخلوية وهو من أهم مضادات الأكسدة غير الإنزيمية (داخلية المنشأ) ويطلق على الكلوتاثايون اسم معجزة مضادات الاكسدة ويعد من المركبات غير البروتينية الحاوية على الثايول ووجود مجموعة الثايول الحرة في الكلوتاثايون توفر حماية رئيسية ضد حالات الأكسدة الشديدة ويمتلك الكلوتاثايون شكلين هما الشكل المختزل (GSH) والشكل المؤكسد (GSSG) وفي معظم خلايا الإنسان تكون نسبة (GSSG/GSH) هي (١/١٥) ويذوب الكلوتاثايون في الماء ويختلف عن مضادات الأكسدة غير الإنزيمية الغذائية مثل فيتامين (A, C, E) والسيلينيوم ويمكن تكوينه في الجسم من الأحماض الأمينية (السستين والكلايسين والكلوتامين) وعملية تكوينه بشكل رئيس في الكبد وان للـ GSH دوراً كبيراً في المحافظة على الخلية من الأذى التأكسدي إذ يقوم الكلوتاثايون مع وجود إنزيم GPX باختزال H_2O_2 إلى ماء باستمرار مع أكسدة الكلوتاثايون المختزل وتحويله إلى الشكل المؤكسد .

أن وجود مجموعة الثايول SH في الكلوتاثايون توفر حماية رئيسة ضد حالات الأكسدة، إذ تعمل على إزالة أصناف الأوكسجين الفعالة حيث تتفاعل مع جذر الهيدروكسيل والبيروكسي نتريت والأوكسجين المنفرد، وبذلك تتأكسد مجموعة SH مباشرة مكونة مركباً ثنائي الآصرة الكبريتية (GSSG) الشكل المؤكسد الذي يعاد اختزاله إلى الشكل المختزل (GSH) من قبل إنزيم GSH-RD وبوجود (NADPH) الذي يعمل كعامل مساعد. ونظراً لاحتوائه على مجموعه الثايول فهو يعمل للمحافظة على الإنزيمات بشكلها المختزل. يوجد الكلوتاثايون بكميات قليلة في السوائل خارج الخلايا مثل اللمف والبلازما، وقد وجد أن مصدر الكلوتاثايون في الدم هي كريات الدم الحمر التي تحتوي على أكثر من ٩٩% منه. أن وجود مجموعة الثايول الحرة فيه توفر حماية رئيسية من حالات الأكسدة الشديدة، إذ تعمل على حماية المكونات الخلوية من خلال إزالة الجذور الحرة ولذلك فأن الشكل المختزل الكلوتاثايون يعمل بوصفة مانحاً للإلكترونات إذ تتأكسد مجموعة الثايول مكونة مركب ثنائي الآصرة الكبريتية وبذلك يمتلك الكلوتاثايون شكلين شكل الكلوتاثايون المختزل والكلوتاثايون المؤكسد. يعمل الكلوتاثايون كمرافق أنزيمي في العديد من المسارات الأنزيمية مثل تخليق (DNA)، وان تخليقه في الجسم من الأحماض الامينية السستين والكلايسين والكلوتاميت بواسطة عمل إنزيم Glutamyl Cysteine Synthase وإنزيم GSH Synthase واستخدام 2ATP وتتم عملية تخليقه بشكل رئيس في الكبد ، كما يعمل الجلوتاثيون كمساعد لإنزيم GPx Glutathion tranfrase .

أن الكلوتاثيون يستطيع التفاعل مباشرة مع الجذور الحرة مثل O_2. و .OH و .LO و .LOO حيث تفقد مجموعة الكبريت ذرة هيدروجين مما يؤدي إلى إنتاج جذر thiyl (GS) بإمكانه الانضمام إلى جذر أخر لتكوين جزيئة GSSG.

يدخل الكلوتاثايون في العديد من العمليات الحيوية المتضمنة نقل الأحماض الامينية و الدفاع عن الجسم من السموم والايض كما يشارك الكلوتاثايون في العديد من الظواهر الحيوية المهمة وتشمل تكوين البروتينات والنيوكليونيدات اضافة الى انه يساهم في فعالية بعض الإنزيمات من خلال وجوده كماده أساس Substrate أو مرافق إنزيمي Co-Enzyme لبعض

العمليات الإنزيمية في الخلية. وأثبتت الدراسات الطبية أن الكلوتاثايون يحمي الكبد ضد التأثيرات بالإشعاع والعلاج الكيمياوي، أكدت الدراسات الفسلجية أن الكلوتاثايون يعمل كمضاد للأكسدة حيث بالإمكان معرفة مستوى تركيز الأكسدة من خلال مستوى تركيز الكلوتاثايون المؤكسد غير الطبيعي .