

Ksantin Oksidaz Enzimi ve Sütteki Önemi

Elif Dağdemir^{1*}, Salih Özdemir¹

¹Atatürk Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Erzurum
*elifdag@atauni.edu.tr

Özet

Ksantin oksido redüktaz (KOR), yağ globül membranında yer alan ve molibden içeren kompleks bir flavoenzimdir. KOR'un ana fonksiyonu ksantin ve hipoksantinin ürik asite metabolize edildiği pürin katabolizmasında anahtar enzim olarak görev yapmasıdır. Oksijeni indirgeyerek hidrojen peroksit, süperoksit gibi reaktif oksijen kaynakları oluşturabildiği ve aynı zamanda nitriti nitrit okside indirgeyerek kuvvetli antimikrobiyal etki gösteren peroksinitrit oluşumunda rolü olduğu bilinmektedir. İlâveten süt yağının salgılanmasında KOR'un enzim fonksiyonundan daha çok protein olarak rol üstlendiği ileri sürülmektedir. Ancak, günümüzde KOR'un pürin katabolizmasındaki rolü dışındaki diğer fizyolojik fonksiyonları halen tartışmalı olup, konu ile ilgili araştırmalar devam etmektedir. Bu çalışmada sütteki KOR enzimi ve fizyolojik rolleri üzerinde durulmaya çalışılmıştır.

Anahtar kelimeler: Ksantin oksidoredüktaz, Oksidaz, Dehidrogenaz, Süt

Giriş

Ksantin oksido redüktaz (KOR) bugüne kadar araştırılan tüm memeli sütlerinde yer alan ve molibden içeren bir flavoenzimdir (1,2). KOR'un ksantin dehidrogenaz (KD, EC 1.1.1.204) ve ksantin oksidaz (KO, EC 1.1.3.22) olmak üzere iki farklı formu bulunduğu, her iki formunun da oksijeni indirgeyebildiği, ancak sadece dehidrogenaz formunun NAD'i indirgeyebildiği belirlenmiştir. Hem KO hem de KD'nin aynı gen tarafından üretildiği, alt ünite kompozisyonları ile kofaktör isteklerinin de benzer olduğu bilinmektedir. (3). Genel olarak enzim ksantin dehidrogenaz olarak sentezlenmekte ve sülfidril gruplarının oksidasyonu ile ya da proteoliz ile kolaylıkla ksantin oksidaz formuna dönüştürülebilmektedir (4). Enzimin tüm formları (KD ve KO) ksantin oksidaz olarak bilinip kullanılmasına rağmen, ksantin oksido redüktaz olarak kullanımının daha doğru olacağı bildirilmektedir (5). KOR'un yağ globül membranında butyrophilinden sonra ikinci en önemli protein olduğu, membrandaki toplam proteinin yaklaşık %20'sine karşılık geldiği bilinmektedir (1). KO monomerinin bir adet molibden molekülü, iki adet Fe₂-S₂ grubu ve bir adet FAD molekülü içeren 146 kDa ağırlığındaki alt ünitelerden oluştuğu ve her bir alt ünitenin 1330 aminoasit rezidüsü (inek sütünde 1332 aminoasit rezidüsü) içerdiği belirlenmiştir (6). KOR enziminin en önemli

kaynağı inek sütü olup, krema ya da yayık altından ucuz ve kolaylıkla saflaştırılabildiği, süt dışında karaciğer ve bağırsakta da yüksek oranda bulunduğu bilinmektedir. KOR'un inek sütündeki aktivitesinin keçi ve koyun sütüyle karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu belirlenmiştir (5). Yapılan araştırmalarda anne sütündeki KOR aktivitesinin diğer memelilere oranla şaşırtıcı derecede düşük olduğu ve bu durumun enzimin molibden merkezinin inaktif olmasından kaynaklandığı bildirilmiştir (7). KOR'un ana fonksiyonu hidrojen peroksit ve süperoksit oluşumuna eşlik eden hipoksantin ve ksantin ürik aside parçalandığı pürin katabolizmasında rol almasıdır (4). Ancak son 20 yılda yapılan çalışmalar KOR'un başka bazı önemli fizyolojik ve teknolojik fonksiyonlarının da olabileceğini ortaya koymuştur.

Isıl işlem görmüş sütün kontrolünde KOR kullanımı:

KOR'un ısıl işlem görmüş sütün kontrolünde bir indiktor olarak kullanılabilirliği ile ilgili çelişkili görüşler mevcuttur. Nitekim Andrews vd. (8) 80-90 °C arasında ısıl işlem görmüş sütün kontrolünde KOR enziminin kullanılabilirliğini bildirirken, Griffiths (9) KOR'un sütteki aktivitesinin oldukça değişken olması nedeniyle süte uygulanan ısıl işlemin kontrolünde güvenilir bir kriter olamayacağını bildirmiştir.

Arteriyosklerosis oluşumunda KOR'un rolü

İlk kez 1971 yılında Oster (10) homojenize edilmiş sütteki yağ damlacıkları tarafından absorbe edilen KO'ın hücre membranlarında yer alan plasmalogenleri (kalp kası hücre membranlarının ana yapısını oluşturan esansiyel bir lipit bileşeni) okside ederek arteriyosklerose neden olduğunu öne sürmüştür. Clifford vd. ise (11) homojenize edilmiş süt ile KO enzimi arasında bir ilişkinin bulunmadığını ve plasmalogenlerin yıkımında KO'ın direkt bir rolünün olmadığını bildirmişlerdir. 1970'li yıllarda öne sürülen bu teori günümüzde hala tartışmalı bir konu olmayı sürdürmektedir.

KOR'un antimikrobiyal aktivitesi

İnek sütündeki KOR'un antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve bağışıklık sistemlerinin tam olarak gelişmediği dönemlerde yeni doğan yavruların bağırsaklarında antimikrobiyal etki gösterdiği uzun yıllardan beri bilinmektedir (5). 1943'te farklı araştırmacılar tarafından gerçekleştirilen çalışmalarda inek sütünden saflaştırılan KOR'un *Staphylococcus aureus*'un gelişimini inhibe ettiği belirlenmiştir (12,13). Stevens vd. (14) KOR'un *Escherichia coli* ve *Salmonella enterides*'e karşıda benzer etki gösterdiğini bildirmişlerdir. İlk bulgular KOR'un antimikrobiyal etkisinin sütteki laktoperoksidaz sisteminde substrat olarak yer alan hidrojen peroksitin oluşumuna neden olmasından kaynaklandığını göstermiştir (15). Son yıllarda yapılan çalışmalarda KOR'un inorganik nitritin nitrit okside (NO) anaerobik redüksiyonunu katalizlediğini, aynı zamanda nitriti özellikle

oksijen varlığında peroksinitrit oluşturmak üzere hızlıca NO ile reaksiyona girebilen süperoksite indirgeyebildiğini göstermiştir. KOR aktivitesi sonucu oluşan başta peroksinitrit olmak üzere bu reaktif nitrojen kaynaklarının antimikrobiyal etkiye sahip olduğu belirlenmiştir (16).

Süt yağının salgılanmasında KOR'un rolü

KOR'un en önemli fizyolojik fonksiyonlarından biri de meme dokusundan yağ globüllerinin salgılanmasında üstlendiği roldür. Süt yağının sentezlenmesi sırasında KOR'un rolü aşağıdaki şekilde özetlenebilir. Sütteki trigiliseridler hücrenin basal membranında lokalize olan endoplazmik retikulumda sentezlenmekte olup, burada mikrolipid damlacıkları haline dönüştürülerek adophilin adı verilen bir protein tabakası ile kuşatılırlar. Adophilin ile kuşatılmış olan yağ damlacıkları hücrenin apikal membranına doğru hareket eder ve burada sitoplazmik proteinler ile fosfolipidlerden oluşan ilave bir kaplama materyaliyle kuşatılırlar. Apikal membranda adophilin, butyrophilin (apikal membranda yer alan transmembran proteini) ve KOR ile disülfid bağıyla bağlanarak kompleks bir yapı oluşturur. Daha sonra KOR yağ globülünde bir kabarcıklanmaya neden olarak alveollerde serbest kalmasını sağlar. Süt yağının salgılanmasında KOR'un enzim olarak bir fonksiyonunun bulunmadığı, yağ globülü ile apikal hücre membranı arasında bağlanmaya aracılık ettiği bildirilmektedir (1,17).

Reaktif oksijen türlerinin kaynağı olarak KOR'un rolü

Yapılan araştırmalar KOR'un moleküler oksijeni süperoksit anyon ve hidrojen peroksite redüksiyonunu katalizleyebildiğini göstermiştir. KOR aktivitesi sonucu oluşan bu reaktif (süperoksit anyon, hidrojenperoksit) oksijen kaynaklarının çeşitli dokularda iskemi reperfüzyon hasarına yol açabileceği belirtilmiştir (18).

Sonuç

Bugüne kadar yapılan çalışmalar KOR'un kompleks bir enzim olduğunu ve bazı fizyolojik rollerinin halen tartışmalı olduğunu göstermiştir. KOR'un yapısal özellikleri ve pürin metabolizmasında üstlendiği rol tam olarak bilinmesine rağmen, bu enzimle ilgili daha araştırılması gereken birçok konunun olduğu açıktır. KOR'un daha iyi anlaşılması için sadece temel fonksiyonlarının değil aynı zamanda klinik ve besinsel uygulamalarına yönelik araştırmaların yapılması da gerekmektedir.

Kaynaklar

1. Fox PF, Kelly AL. 2006. Indigenous enzymes in milk: Overview and historical aspects-Part 1. *Int. Dairy J*, 16: 500–516.
2. Page S, Powell D, Benboubetra M, Stevens CR, Blake DR, Selase F, Wolstenholme AJ, Harrison R. 1998. Xanthine oxidoreductase in human mammary

epithelial cells: activation in response to inflammatory cytokines. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2:191-202

3. McManaman JL, Bain DL. 2002. Structural and conformational analysis of the oxidase to dehydrogenase conversion of xanthine oxidoreductase. *J. Biolog. Chem.*14: 21261–21268

4. Harrison R. 2002. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where we are now, *Free Radic. Biol. Med*, 33:774–797.

5. Harrison R. 2006. Milk xanthine oxidase: Properties and physiological roles. *Int. Dairy J*, 16: 546–554.

6. Abadeh S, Killacky J, Benboubetra M, Harrison R. 1992. Purification and partial characterisation of xanthine oxidase from human milk. *Biochim. Biophys. Acta* 1117:25–32

7. Enroth C, Eger BT, Okamoto K, Nishino T, Nishino T, Pai EF. 2000. Crystal structures of bovine milk xanthine dehydrogenase and xanthine oxidase: Structure-based mechanism of conversion. *PNAS*, 97:10723-10728.

8. Andrews AT, Anderson M, Goodenough P W. 1987. A study of the heat stabilities of a number of indigenous milk enzymes. *J. Dairy Res*, 54:237–246.

9. Griffiths MW. 1986. Use of milk enzymes as indices of heat treatment. *J Food Protect*, 49: 696–705.

10. Oster KA. 1971. Plasmalogen diseases: a new concept of the etiology of the atherosclerotic process. *Am J Clin Res*, 1:2:30.

11. Clifford AJ, Ho CY, Swenerton H. 1983. Homogenized bovinemilk xanthine oxidase: A critique of the hypothesis relating to plasmalogen depletion and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*, 38: 327–332.

12. Green DE, Pauli R. 1943. The antibacterial action of the xanthine oxidase system. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med*, 54:148–150.

13. Lipmann F, Owen CR. 1943. The antibacterial effect of enzymatic xanthine oxidation. *Science*, 98:246–248.

14. Stevens CR, Millar TM, Clinch JG, Kanczler JM, Bodamyali T, Blake DR. 2000. Antibacterial properties of xanthine oxidase in human milk. *Lancet*, 356:829–830.

15. Bjorck L, Claesson O. 1979. Xanthine oxidase as a source of hydrogen peroxide for the lactoperoxidase system in milk. *J. Dairy Sci*, 62:1211–1215.

16. Martin HM, Hancock JT, Salisbury V, Harrison R. 2004. Role of xanthine oxidoreductase as an antimicrobial agent. *Infection and Immunity*, 72:4933–4939

17. McManaman JL, Palmer CA, Wright RM, Neville MC. 2002. Functional regulation of xanthine oxidoreductase expression and localization in the mouse mammary gland: Evidence of a role in lipid secretion. *Journal of Physiology*, 545: 567–569.

18. Granger DN, Hollwarth ME, Parks DA. 1986. Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals. *Acta Physiol. Scand*, 548:47–63.