

Kısa süre uykusuz bırakılan çocuk hastalarda oksidatif stres düzeyi artıyor mu?

Dose oxidative stress increase during short term sleep deprivation in children patients ?

Halit Halil, Can Demir Karacan

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Acil Kliniği, Ankara, Türkiye

Geliş Tarihi: 22.10.2018

Kabul Tarihi: 30.10.2018

Doi: 10.21601/ortadogutipdergisi.473475

Öz

Amaç: Oksidatif stres; hücrel metabolizma sırasında oluşan reaktif oksijen türlerinin artışı ile onları detoksifiye eden, antioksidanların yetersizliği sonucu oluşan oksidatif dengenin bozulması olarak tanımlanır. Reaktif oksijen türleri hücre içi lipid, protein ve DNA gibi makromoleküllere hasar vererek hücre ölümüne neden olur. Oksidatif stres, birçok kronik hastalığın patogenezinden sorumludur. Çalışmamızın amacı kısa süre uykusuz bırakılan çocuk hastaların oksidatif stres parametrelerinden biri olan serum tiyol-disülfid düzeyini belirleyerek, uykusuzluk süreleri ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Gereç veYöntem: Yaşları altı ay ile 6 yaş arasında değişen, manyetik rezonans görüntüleme

öncesi kliniğimize başvuran çocuk hastalar çalışmaya dahil edildi. Yüksek ateş, akut solunum yolu enfeksiyonu, ishal, kusma şikayetleri olan veya majör konjenital anomalisi olan veya kronik hastalığı nedeniyle sürekli ilaç kullanan hastalar çalışmaya alınmadı. Çekim öncesi en az 4 saat uykusuz bırakılan hastalar çalışma grubu, uykusunu tam alan hastalar kontrol grubu olarak belirlendi. Serum tiyol ve disülfid düzeyleri Erel ve ark.'nın geliştirdiği yeni kolorimetrik metot ile bakıldı.

Bulgular: Toplam 95 hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların 56'sı (%58,9) erkek, 39'u (41,1) ise kız çocuklardı. Hastaların ortanca (IQR) yaşı 2,0 (2,0) yıl, ortanca (IQR) vücut ağırlığı 13,0 (7,0) kg idi. Manyetik rezonans görüntüleme'den önce ortanca (IQR) uykusuzluk süresi 8,0 (4,0) saat idi. Nativ tiyol, total tiyol ve disülfid serum düzeyleri uykusuz ve kontrol hastaların arasında anlamlı istatistiksel farklılık saptanmadı. Disülfid/nativ tiyol, disülfid/total tiyol ve nativ tiyol/total tiyol gruplar arasında anlamlı bir istatistiksel farklılık saptanmadı. En az dört saat uykusuz olanlarda uykusuzluk süresi ile disülfid düzeyi arasında orta derecede korelasyon saptandı. Uykusuzluk süresi ile total tiyol arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı.

Sonuç: Kısa süre uykusuz bırakılan çocuklarda oksidatif stress dengesinin bozulmadığı kanaatindeyiz.

Anahtar Kelimeler: Tiyol, disülfid, çocuk, oksidatif stress, uykusuzluk

Abstract

Aim: Oxidative stress is defined as the imbalance in the detoxification of antioxidants and reactive oxygen products produced during cellular metabolism. The deficiency of antioxidant leads to errors in oxidative hemostasis. Reactive oxygen products make damage to the macromolecules of the cell like lipid, protein and DNA and this leads to cellular death. Oxidative stress plays role in the pathogenesis of many chronic diseases. We aimed to investigate the relationship between short period sleep deprivation and thiol disulfide parameters of oxidative stress.

Material and Method: Children between 6 months and 6 years were included in our study. Children with high fever, upper respiratory tract infection, diarrhea, vomiting, or who had any chronic infection or who use any drugs were excluded from the study. Children who were sleep deprived for more than 4 hours are assigned as the study group. Children who were not sleep deprived are assigned as the control group. Serum thiol and disulfide were calculated using the colorimetric method of Erel's.

Results: Ninety five patients were included in the study. Fifty six (58.9%) were male and 39 (41.1%) were females. The median (IQR) age was 2.0 (2.0) year, the median (IQR) weight was 13.0 (7.0) kg. The median (IQR) period of sleeplessness was 8.0 (4.0) hours. There were no significant differences between the two groups according to serum levels of native thiol, total thiol, disulfide and disulfide/native thiol and disulfide/ total thiol and native thiol/ total thiol ratios. There was mild correlation between serum disulfide level and the sleep deprivation periods, but no statistical correlation between serum thiol levels and sleep deprivation periods.

Conclusion: We conclude that the oxidative stress hemostasis was not affected by sleeplessness in pediatric patients.

Keywords: Thiol, disulfide, pediatrics, oxidative stress, sleep deprivation

Giriş

Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) gereken pediatrik hastalarda işlem sırasında hasta hareketlerinin görüntü kalitesini olumsuz etkilemesi sebebiyle pediatrik hastalar için genellikle sedasyon veya anestezi gerekli olabilmektedir [1]. Başarılı sedasyon veya anestezi sağlamak için çocuk hastalardan en az 4 saatlik uykusuzluk istenmektedir [2-3]. Literatürde, uykusuzluk süreleri ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi araştıran bir çok çalışma yapılmıştır [4-7]. Fakat bu alanda çocuk hastalarda her hangi bir çalışma yapılmamıştır. Uykusuz bırakılan yetişkin hastalarda ve deney hayvanlarında oksidatif strese ciddi bir dengesizlik oluştuğu ve potansiyel doku hasarına yol açabileceği rapor edilmiştir [5-6]. Öte yandan, 8 saatten kısa süre ve 3-14 günden uzun süre uykusuz bırakılan deney hayvanlarında oksidatif strese dengesizlik oluşmadığını belirten çalışmalar yayınlanmıştır [7].

Oksidatif stres; hücrel metabolizma sırasında oluşan hidroksil radikali, süperoksit radikali ve hidrojen peroksit gibi reaktif oksijen türlerinin artışı ile onları detoksifiye eden, antioksidanların yetersizliği sonucu oluşan oksidatif dengenin bozulması olarak tanımlanır. Oksidatif stresteki

artış sonucunda oluşan reaktif oksijen türleri hücre içi lipid, protein ve DNA gibi makromoleküllere hasar vererek hücre zedelenmesine ve hücre ölümüne neden olur [8]. Oksidatif stres, birçok kronik hastalığın patogenezinin sorumludur. Literatürde, etki mekanizmalarına yönelik çok sayıda araştırma yapılmakta olup, birçok hastalığın patogenezi ile ilişkili olduğu halen güncelliğini koruyan bir alandır [9-11]. Oksidan/antioksidan dengenin değerlendirilmesinde farklı belirteçler kullanılmaktadır [12-13]. Bunlar içinde en güncel olanlarından biri Erel ve ark. [14] 'nın geliştirdiği tiyol/disülfid dengesidir. Tiyol; reaktif oksijen türleri oluşumunu azaltması veya inaktivasyonu hızlandırması ile oksidatif stresi dengeler. Reaktif oksijen türleri ile ortamda bulunan tiyol grupları oksitlenerek reversibl disülfid bağlarına dönüşür. Disülfid ortamda bulunan oksidan moleküller tarafından oksitlenerek tersinir bağ yapılarına dönüşürler. Oluşan disülfid bağ yapıları tekrar tiyol gruplarına redüklenebilir ve böylece tiyol disülfid dengesi sürdürülür. Tiyol disülfid dengesi antioksidan savunma, detoksifikasyon, apoptozis, enzim aktivitelerinin düzenlenmesi ve transkripsiyon ve hücrel sinyal iletimi

mekanizmalarında kritik rollere sahiptir[15-16]. Serum nativ tiyol, total tiyol ve disülfid düzeyleri Erel ve ark. [14] 'nın geliştirdiği kit ile ölçülmektedir. Aynı yöntemle disülfid/tiyol, disülfid/total tiyol ve nativ tiyol/total tiyol oranları ve indeksleri hesaplanmaktadır. Oksidatif stress durumlarında nativ tiyol, total tiyol değerlerinin düşmesi beklenirken disülfid/tiyol, disülfid/total tiyol ve nativ tiyol/total tiyol indekslerinin yükselmesi beklenmektedir [14].

Yaptığımız araştırmalarda görebildiğimiz kadarıyla pediatrik hastalarda uykusuzluk süreleri ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi araştıran herhangi bir çalışma yayınlanmamıştır. Çalışmamızın amacı uykusuz bırakılan çocuk hastaların oksidatif stres düzeylerini belirleyerek, uykusuzluk süreleri ile oksidatif stres arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Çalışmamız Nisan 2018 ile Eylül 2018 tarihleri arasında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızı başlatmak için kurumsal etik kurulundan onay alındı. Çalışmamızı Helsinki İlkeler Deklerasyonuna (www.wma.net/e/policy/b3.htm) uyularak gerçekleştirilmiştir. Çalışmamıza katılan tüm hastaların ebeveynlerinden çalışma öncesi onam alındı. Yaşları altı ay ile 6 yaş arasında değişen, çeşitli sağlık nedenlerinden dolayı MRG çekimi ihtiyacı olan ve çekim sırasında hareketlerinin görüntü kalitesini olumsuz etkilemesi öngörülen (kooperasyon kurulamayan, ajite ve anksiyeteli olan) ve çekim öncesi başarılı sedasyon veya anestezi sağlamak için en az dört saat uykusuz bırakılan çocuk hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmaya dahil edilen hastalar çekim öncesi pediatri doktoru tarafından değerlendirilip fizik muayeneleri yapılmıştır. Yüksek ateş, akut solunum yolu enfeksiyonu, ishal, kusma şikayetleri olan veya majör konjenital anomalisi olan veya kronik hastalığı nedeniyle sürekli ilaç kullanan hastalar çalışmaya alınmamıştır. MRG çekimi öncesi uykusunu tam alan ve çekim sabahı aştığı saatinde uyanan hastalar kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Çekim öncesi en az 4 saat uykusuz bırakılan hastalar çalışma grubu olarak belirlenmiştir. Sedasyon veya anestezi için hastalara, damar yolu açılırken 3 ml kan örneği alınmıştır, 1 saat sonra 10 dakika boyunca 5000 rpm de santrifüj edildikten sonra oksidatif stress düzeyi çalışılana kadar -20 °C'de tutulmuştur. Serum nativ tiyol, total tiyol ve disülfid düzeyleri Erel ve ark. [14] 'nın

geliştirdiği metod ile otomatik spektrofotometrik metod ile (Cobas c501; Roche Hitachi, Basel, Swetzerland) $\mu\text{mol L}^{-1}$ olarak ölçülmektedir. [14]. Ölçülen parametreler ile birlikte disülfid/tiyol, disülfid/total tiyol ve nativ tiyol/total tiyol oranları da hesaplanmaktadır. İstatistiksel değerlendirmede SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 21.0 programı kullanılmıştır. Tüm değişkenlerin normal dağılıp dağılmadığını belirlemek için Kolmogorov-Smirnov testi ile kullanılmıştır. Sürekli sayısal değişkenlerde normal dağılıma uygun olanlar için ortalama±standart sapma (SD), normal dağılıma uygun olmayanlar için ortanca ve çeyrekler arası açıklık (IQR) kullanılmıştır. Kategorik değişkenler sayı (%) olarak belirtilmiştir. Gruplar arası sürekli sayısal değişkenlerin karşılaştırmasında normal dağılanlar için bağımsız örneklerde t testi, normal dağılmayanlar için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Kategorik verilerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanılmıştır. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

Bulgular

Çalışmamıza 95 hasta dahil edildi. Hastaların 56'sı (%58,9) erkek, 39'u (41,1) ise kız çocuklardı. Hastaların ortanca (IQR) yaşı 2,0 (2,0) yıl, ortanca (IQR) vücut ağırlığı 13,0 (7,0) kg idi. MRG'den önce ortanca (IQR) uykusuzluk süresi 8,0 (4,0) saat idi. En az dört saat uykusuz hastalarda ortanca (IQR) nativ tiyol düzeyi 557,3(75,0) $\mu\text{mol/L}$, total tiyol düzeyi 609,4 (85,1) $\mu\text{mol/L}$ ve disülfid düzeyi 24,57 (10,0) $\mu\text{mol/L}$ idi. Kontrol hastalarında ortanca (IQR) nativ tiyol düzeyi 573,2 (109,0) $\mu\text{mol/L}$, total tiyol düzeyi 623,9 (133,1) $\mu\text{mol/L}$ ve disülfid düzeyi 24,7(13,0) $\mu\text{mol/L}$ idi (Tablo 1). Serum nativ tiyol, total tiyol ve disülfid düzeyleri uykusuz hastalarda kontrol hastalarına göre daha düşüktü. Fakat her iki grup arasında serum nativ tiyol, total tiyol ve disülfid düzeyleri açısından anlamlı istatistiksel farklılık saptanmadı (Nativ tiyol ($p=0,304$), total tiyol ($p=0,304$) ve disülfid düzeyleri ($p=0,803$), (Tablo 1). Disülfid/tiyol ve disülfid/total tiyol oranları uykusuz hasta grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek idi. (Sırasıyla: 4,56, 4,16 ve 4,47, 4,10). Gruplar arasında oranların ortalamaları açısından anlamlı bir istatistiksel farklılık saptanmadı ($p > 0,05$), (Tablo 1). En az dört saat uykusuz olanlarda uykusuzluk süresi ile disulfid düzeyi arasında orta derecede korelasyon saptandı (R: -0,541 P: 0,025). Uykusuzluk süresi ile total tiyol arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı (R: -0,461 P: 0,063).

Tablo 1. Çalışma (en az dört saat uykusuz bırakılan) ve kontrol gruplarının disülfid/tiyol düzeylerinin karşılaştırılması.

Değişken	Çalışma grubu Median(IQR)	Kontrol grubu Median(IQR)	P
Nativ tiyol (µmol/L)	557,3(75,0)	573,2 (109,0)	(p= 0,850)
Total tiyol (µmol/L)	609,4 (85,1)	623,9 (133,1)	(p= 0,854)
Disülfid (µmol/L)	24,57 (10,0)	24,7(13,0)	(p= 0,437)
Disülfid/nativ tiyol*100	4,56(1,48)	4,47(1,91)	(p= 0,385)
Disülfid/total tiyol*100	4,16(1,20)	4,10(1,70)	(p= 0,385)
Nativ tiyol/total tiyol*100	91,63(2,30)	91,78(2,60)	(p= 0,385)
IQR: Interquartile range			

Tartışma

Çalışmamızda, kısa süre uykusuz bırakılan çocuklarda ve kontrol grubunda dinamik tiyol-disülfid homeostazi bakıldı. Uykusuzluk süreleri ile tiyol disulfide dengesi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Ulaşabildiğimiz kadarıyla pediatrik hastalarda uykusuzluk süreleri ile tiyol-disulfid dengesi arasındaki ilişkiyi araştıran herhangi bir çalışma yayınlanmamıştır. Bu çalışma sonucunda uykusuz olmayan kontrol hastalarında ve en az 4 saat uykusuz bırakılan çalışma grubunda oksidatif stres açısından istatistiksel farklılık saptanmamıştır.

Günümüzde, oksidatif stresin doku hasarı yaparak birçok kronik hastalığın etiyopatogenezinde rolü olduğu bilinmektedir [8-11]. Literatürde yapılan bazı çalışmalarda farklı hasta gruplarında ve hayvan çalışmalarında uykusuzluk ile oksidatif stres arasındaki ilişki araştırılmıştır [4-7]. Trivedi ve ark. [6] etkili antioksidan olan ve oksidatif stres markeri olarak bilinen glutatyonun serum düzeylerini gece boyu uykusuz bırakılan 21 yaşından büyük 19 yetişkin gönüllü hastada incelemişlerdir. Uykusuz bırakılan hastaların serum glutatyon düzeyleri kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur ve uykusuzluk ile oksidatif stres arasında pozitif bir ilişki olduğu rapor edilmiştir. Bir başka çalışmada Gopalakrishnan ve ark. [7] uykusuz bırakılan farelerin oksidatif stres ve doku hasarını gösteren süperoksit dismütaz enzim, lipid peroksidasyon ve protein oksidasyon aktivitelerini incelemişlerdir. Sekiz saat gibi kısa süre ve 3 ila 14 gün gibi uzun süre olarak iki farklı uykusuzluk süresi karşılaştırılmıştır. İki farklı uykusuzluk süresine

sahip farelerin beyin, karaciğer ve kas iskelet dokularında oksidatif hasar gelişmediğini ve serum oksidatif stres düzeylerinin artmadığını rapor etmişlerdir. Daha önce yapılan çalışmaların hiçbirinde çocuk hastalarda oksidatif stress düzeyi ile uykusuzluk ilişkisi araştırılmamıştır. Bizim çalışmamız bu açıdan ilktir.

Oksidatif stres dengesinin değerlendirilmesinde farklı yöntemler kullanılmaktadır. En güncel yöntemlerden biri Erel ve ark. [14] 'nın geliştirdiği serum tiyol ve disülfid parametrelerini ölçen yöntemdir. Oksidatif stress süresince tiyol serbest oksijen radikalleri ile oksidlenerek disulfide dönüşür, bu süreçte, tiyol oksidan düzeyleri azaltarak veya etkisizleştirerek oksidatif strese bağlı doku hasarını engeller [15-16]. Oksidatif stress durumu devam ettiği durumlarda tiyol serum düzeyi azalırken disulfid/ tiyol oranı artar. Çalışmamızda uykusuz bırakılan hasta grubunda serum natif tiyol, total tiyol ve disulfid düzeyleri ayrıca disulfid/ natif tiyol, disulfid/total tiyol ve natif tiyol/ total tiyol oranları çalışma grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel farklılık saptanmamıştır.

MRG çekimi için hastanemize başvuran hastaların sedasyonu etkin kılmak için çekim öncesi çocuk hastaların en az dört saat uykusuz bırakılması önerilmektedir. Uykusuz bırakılan çocuk hastaların ebeveyları zaman zaman uykusuzluğun bir yan etkisi olup olmadığı ile ilgili sorular sormaktadır. Bu nedenle çalışmamızda uykusuzluk süreleri ile oksidatif stress arasında anlamlı ilişki olup olmadığını araştırdık. Çalışmamızın sonucunda en az 4 saat uykusuz bırakılan çocuk hastalarda tiyol- disulfid dengesinin değişmediğini tespit ettik. Uykusuzluk süreleri ile oksidatif stres dengesi arasında ciddi korelasyon saptanmamıştır. Çalışma sonucunun ebeveynlerin çocuklarının uykusuzluğuyla ilgili endişeleri , özellikle ek sağlık sorunları gelişip gelişmeyeceği sorusuna cevap verilmesine yardımcı olacağı kanaatindeyiz..

Sonuç

Sonuç olarak; MRG çekimi için kısa süre uykusuz bırakılan çocuklarda oksidatif stress dengesi bozulmadığı kanısına varılmıştır.

Maddi Destek ve Çıkar İlişkisi:

Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur. Yazarların herhangi bir çıkar dayalı ilişkisi yoktur

Kaynaklar

1. Chugani HT. Imaging brain metabolism in the newborn. *J Child Neurol* 2018 Aug 16. doi: 10.1177/0883073818792308.
2. Greenberg SB, Faerber EN, Radke JL, Aspinall CL, Adams RC, Mercer-Wilson DD. Sedation of difficult-to-sedate children undergoing MR imaging: value of thioridazine as an adjunct to chloral hydrate. *AJR Am J Roentgenol* 1994 Jul; 163: 165-8.
3. Delgado J, Toro R, Rascovsky S, et al. Chloral hydrate in pediatric magnetic resonance imaging: evaluation of a 10-year sedation experience administered by radiologists. *Pediatr Radiol* 2015 Jan; 45: 108-14.
4. Villafuerte G, Miguel-Puga A, Rodríguez EM, Machado S, Manjarrez E, Arias-Carrión O. Sleep deprivation and oxidative stress in animal models: a systematic review. *Oxid Med Cell Longev* 2015; 2015: 234952.
5. Rodrigues NR, Macedo GE, Martins IK, et al. Short-term sleep deprivation with exposure to nocturnal light alters mitochondrial bioenergetics in *Drosophila*. *Free Radic Biol Med* 2018 May 20; 120: 395-06.
6. Trivedi MS, Holger D, Bui AT, Craddock TJA, Tartar JL. Short-term sleep deprivation leads to decreased systemic redox metabolites and altered epigenetic status. *PLoS One*. 2017 Jul 24; 12: 0181978.
7. Gopalakrishnan A, Ji LL, Cirelli C. Sleep deprivation in responses to oxidative stress. *Sleep* 2004 Feb 1; 27: 27-35.
8. Halis Süleyman, Vahdet Gül, Ertuğrul Erhan. Oksidatif stres ve doku hasarı. *Erzincan Tıp Derg* 2018; 1: 1-4
9. Altinel Acoglu E, Erel O, Yazilitas F, et al. Changes in thiol/disulfide homeostasis in juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Int*. 2018 Jun;60(6):593-96.
10. Uçaktürk SA, Alışık M, Uğur Ç, Elmaoğulları S, Mengen E, Erel Ö. Dynamic thiol/disulphide homeostasis in children and adolescents with non-autoimmune subclinical hypothyroidism. *Med Princ Pract* 2018; 27: 44-8.
11. Gulpamuk B, Tekin K, Sonmez K, Inanc M, Neselioglu S, Erel O, Yilmazbas P. The significance of thiol/disulfide homeostasis and ischemia-modified albumin levels to assess the oxidative stress in patients with different stages of diabetes mellitus. *Scand J Clin Lab Invest* 2018; 78: 136-42.
12. Ozcan Erel. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004; 37:112-9.
13. Ozcan Erel. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem* 2005; 38: 1103-11.
14. Erel O, Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clin Biochem* 2014 Dec; 47: 326-32.
15. Oliveira PVS, Laurindo FRM. Implications of plasma thiol redox in disease. *Clin Sci (Lond)* 2018 Jun 21; 132): 1257-80.
16. Erenler AK, Yardan T. Clinical utility of thiol/disulfide homeostasis. *Clin Lab* 2017 May 1; 63: 867-70.

Sorumlu yazar: Halit Halil, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Dr. Sami Ulus Kadın Doğum, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Acil Kliniği, Babur Caddesi No. 44, Altındağ 06080, Ankara, Turkey
E-mail: halidhalil@yahoo.com.