

Uyku Deprivasyonunun Antioksidan Sisteme Etkisi

Bilal Aytac¹, Aycan Kayhan², Erdiñ Devrim³, Ilker Durak⁴, İmge Ergüder³

ÖZET:

Uyku deprivasyonunun antioksidan sisteme etkisi

Amaç: Uyanıklık ve uyku ritminin oksidan-antioksidan sistemle ilişkili olduğu ve/veya bu sistemde değişikliklere yol açtığı ileri sürülmektedir. Uyanıklıkta serbest radikallerde artış olduğu, bunların uyku sırasında temizlendiği iddia edilmiştir. Hayvanlarda kısa süreli ve uzun süreli uyku deprivasyonunun oksidan-antioksidan sisteme etkileri ise çelişkili sonuçlar sunmaktadır. Bu çalışmada 24 saat uykusuzluğun kan ve tükürük örneklerinde oksidan/antioksidan durum üzerine olan etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışmada 11 sağlıklı gönüllü hemşirede 24 saatlik uykusuzluk sonrası sabah, normal uyku sonrası sabah ve akşam tükürük ve kan örneklerinin oksidan ve antioksidan durumları belirlenmiştir. Hemşirelerden elde edilen kan ve tükürük örneklerinde üstte anılan 3 farklı dönemde lipit peroksidasyonu göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyleri ve süperoksit radikali üreten ksantin oksidaz (XO) aktivitesi ile hücre içi antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) aktiviteleri ölçüldü.

Bulgular: Hemşirelerden akşam, 24 saat uykusuzluk ve normal uyku sonrası sabah alınan örneklerde çalışılan parametreler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Sonuç: Bu bulgular ile 24 saatlik uykusuzluğun eritrosit, plazma ve tükürükte oksidan ve antioksidan dengesini etkilemediği sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: Uyku deprivasyonu, oksidatif stres, oksidan/ antioksidan durum

Klinik Psikofarmakoloji Bülteni 2007;17:130-133

ABSTRACT:

The effects of sleep deprivation on oxidant/antioxidant status

Objective: It is suggested that the circadian rhythms of sleep and wakefulness might be related to oxidant/antioxidant status. It has been proposed that free radicals or oxygen reactive species produced during waking are removed during sleep. However, the effects of short and prolonged sleep deprivation on oxidant-antioxidant status in animals are on debate. The aim of this study was to determine the effect of 24 hours sleep deprivation on the oxidant-antioxidant status in blood and saliva samples.

Methods: Eleven healthy nurse were chosen as the study group, blood and saliva were obtained from the nurses. In these samples, malondialdehyde (MDA), xanthine oxidase (XO), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase (CAT) activities were measured.

Results: There were no statistically significant differences in enzyme activities and MDA levels among the samples taken after the normal sleep and before and after the sleep deprivation.

Conclusion: According to the results, it was concluded that 24 hours sleep deprivation did not influence oxidant/antioxidant status in erythrocytes, plasma and saliva from the subjects.

Key words: Sleep deprivation, oxidative stres, oxidant/antioxidant status

Klinik Psikofarmakoloji Bülteni 2007;17:130-133

GİRİŞ

Uyanıklık ve uyku ritmi ve dönemlerinin oksidan-antioksidan sistemle ilişkisi, son 10 yıldır özellikle hayvanlarda araştırılmaktadır. Bu konuda ileri sürülen ilk hipotezlerden biri uyanıklıkta beyinde serbest radikallerin biriktiği, bunun uyku sırasında temizlendiği şeklindedir (1). Uykuda özellikle uridin ve glutatyon yoluyla beyinde oksidatif detoksifikasyon olduğu ileri sürülmüş ve bu detoksifikasyon GABAerjik ve Glutamaterjik transmisyon ile de ilişkilendirilmiştir (2).

Uyku deprivasyonunun oksidan-an-

tioksidan sistemle ilişkisi ise hayvanlarda araştırılmıştır (3-5). Uyku deprivasyonunun insanda oksidatif hasara yol açmadığı veya uykunun oksidatif strese karşı koruyucu rol oynayıp oynamadığı da tam olarak bilinmemektedir.

Bu çalışmada 24 saat uykusuzluğun kan ve tükürük örneklerinde oksidan/antioksidan durum üzerine olan etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma 24 saatlik uykusuzluk sonrası sabah, normal gece uykusu öncesi akşam ve sonrası sabah alınan kanlar-

¹Uzm. Dr., Sağlık Bakanlığı Tedavi Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Ankara-Türkiye

²Uzm. Dr., Nöroloji AD, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Malatya-Türkiye

³Uzm. Dr., ⁴Prof. Dr., Biyokimya AD, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara-Türkiye

Yazışma Adresi / Address reprint requests to:

Uzm. Dr. Bilal Aytac, Sağlık Bakanlığı Tedavi Hizmetleri Genel Müdürlüğü, Sıhhiye

Ankara-Türkiye

Telefon / Phone: +90-505-539-6738

Elektronik posta adresi / E-mail address:

bilalaytac@hotmail.com

Kabul tarihi / Date of acceptance:

6 Ocak 2007 / January 6, 2007

dan elde edilen plazma ve eritrositler ile tükürükte oksidan ve antioksidan düzeylerini araştırmak üzere planlandı. Bu amaçla, Turgut Özal Tıp Merkezi'nde çalışan ve aynı klinikte ayda 3 ile 6 gün (ortalama 4,2 gün) 12 saat gece nöbeti tutan sağlıklı ve gönüllü 11 hemşire örneklem olarak alındı. Hemşirelerin hiçbiri sigara kullanmıyor, ilaç ya da başka bir tedavi almıyorlardı. Çalışma menstruasyon dönemleri dışında yapıldı. Hemşirelerden çalışma gününde hastanede verilen yemek dışında yiyecek yememeleri istendi.

Hemşirelerden 12 saat nöbet tutacakları gecenin öncesindeki sabah, normal vakitlerinde uyanan hemşirelerden kahvaltı öncesi saat 7.00'de, aynı günün akşamı yemek öncesi saat 5.00'te, 12 saat nöbeti takiben yine kahvaltı öncesi saat 7.00'de kan ve tükürük örnekleri alındı. EDTA'lı tüplere alınmış olan kan örneklerinden plazmaları ayrıldıktan sonra eritrosit hemolizatları elde edildi (6). Bu örneklerde lipid peroksidasyonun göstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyleri ve süperoksit radikali üreten ksantin oksidaz (XO) aktivitesi ile hücre içi antioksidan enzimlerden süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz (CAT) aktiviteleri çalışıldı.

Malondialdehit düzeyi ölçümünde temeli MDA ile tiyobarbiturik asitin (TBA) oluşturduğu pembe renkli kompleksin 532 nm dalga boyunda verdiği absorbansın ölçülmesine dayanan Dahle'nin spektrofotometrik

lanmıştır. Katalaz enziminin aktivitesi hidrojen peroksidin (H₂O₂) 240 nm dalga boyunda verdiği absorbans değerindeki azalmanın spektrofotometrik olarak izlenmesi temeline dayanan yöntemle ölçüldü (9). Spektrofotometrik olarak 340 nm dalga boyunda NADPH absorbansının düşmesinin izlenmesiyle GSH-Px aktivitesi belirlendi (10). Ksantin oksidaz ölçüm yönteminin ilkesi ksantinden ürik asit oluşumunun 293 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesidir. Oluşan ürik asitin absorbansı XO aktivitesiyle doğru orantılıdır (11). Katalaz, GSH-Px ve XO enzim aktivitelerinin belirlenmesinde sırasıyla H₂O₂, NADPH ve ürik asitin molar absorpsiyon katsayıları kullanıldı.

Sonuçlar aritmetik ortalama \pm standart sapma (Ort. \pm SD) olarak verildi. İstatistiksel değerlendirmede eşli t testi kullanıldı. P değeri 0,05'in altında olması anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Sağlıklı ve gönüllü 11 hemşirenin yaşları 20-27 arasında idi (yaş ort. \pm standart sapma: 23,7 \pm 2,4). Yirmidört saat uykusuzluk sonrası sabah, normal gece uykusu sonrası sabah ve akşam plazma, tükürük ve eritrosit MDA düzeyleri ile eritrosit GSH-Px, XO, SOD ve CAT aktivite düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 1).

Tablo 1: On bir sağlıklı ve gönüllü hemşirede, uykusuzluk öncesi akşam ve uykusuzluk ve normal uyku sonrası sabah plazma, tükürük ve eritrosit MDA düzeyleri ile eritrosit GSH-Px, XO, SOD ve CAT aktivite düzeyleri (ortalama \pm standart sapma).

	Akşam	Uykusuzluk Sonrası Sabah	Normal Uyku Sonrası Sabah
Ert SOD (U/ml)	4662,9 \pm 356,1	4895,9 \pm 368,6	4933,2 \pm 433,0
Ert GSH-Px (IU/ml)	18,2 \pm 2,7	19,7 \pm 1,9	21,6 \pm 1,6
Ert XO (IU/ml)	0,030 \pm 0,005	0,038 \pm 0,004	0,038 \pm 0,007
Ert MDA (nmol/ml)	319,3 \pm 46,9	342,3 \pm 40,1	330,2 \pm 30,4
Ert Katalaz	49875,8 \pm 7764,2	60115,5 \pm 5233,9	57681,6 \pm 5841,2
Plz MDA (nmol/ml)	0,913 \pm 0,348	1,035 \pm 0,687	1,256 \pm 0,298
Tükürük MDA (nmol/ml)	3,288 \pm 0,699	2,898 \pm 1,078	2,655 \pm 1,034

yöntemi kullanıldı (7). Süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin belirlenmesinde ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafından oluşturulan süperoksit radikalının SOD enziminin ortadan kaldırılamadığında reaksiyon ortamında bulunan nitroblue tetrazolium (NBT) bileşiğinin indirgenmesi esasına dayanan yöntem kullanıldı (8). Buna göre SOD enzim aktivitesi (1 U), NBT'nin indirgenmesini % 50 inhibe eden enzim miktarı olarak tanımlanmıştır.

TARTIŞMA

Oksidatif stres kanser, ateroskleroz, diyabetes mellitus ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok patolojik tablonun patogeneğinde olduğu gibi biyolojik yaşlanmanın mekanizmasında da rol almaktadır. Oksidatif stres oksidan üretimi ile antioksidan korunma arasındaki imbalans nedeniyle ortaya çıkar. Bu imbalans ok-

sidan üretimi artışına ve/veya antioksidan korunmadaki azalmaya bağlı olabilir. Hücresele düzeyde ise bu imbalans protein, lipid ve nükleik asitlerin oksidatif modifikasyonu nedeniyle yapısal hasarla sonuçlanabilir (12).

Temel hücresele oksidanlar reaktif oksijen türlerini (ROT, O₂⁻ ve H₂O₂ gibi) ve reaktif nitrojen türlerini (RNT; NO gibi) içerir. Her ne kadar ROT'lar büyük oranda elektron transport zincirinin bir ara ürünü ise de, NADPH oksidazlar ve nitrik oksit sentazlar gibi mitokondri dışı kaynaklar yoluyla da üretilebilir (13).

Uyanıklıkta beyinde oksidan etkinlikte artış olduğu oksidanların uyku sırasında temizlendiği teorik olarak ileri sürülmüş (1), fakat insanlarda yapılan uyku ve uyanıklıkta beyin metabolizmasındaki değişimleri gösteren çalışmalar (14-17) ve hayvanlarda yapılan beyin ve perifer dokuların uyku ve uyanıklıktaki oksidan antioksidan durumunu inceleyen çalışmalar (3-5,18) çelişkili sonuçlar vermiştir.

Hemen tümüyle mitokondriyal respirasyona dayanan beyin enerji metabolizması, uyanıklıkta ve REM uyku döneminde non-REM uyku dönemine göre daha fazladır (11). Periferik metabolik hız, serebral korteks glutamaterjik iletim ve ekstrasellüler nitrik oksit konsantrasyonu spontan uyanıklıkta ve uyku deprivasyonunda non-REM uyku dönemine göre artmıştır (14,15). Fakat uzun süreli uyku deprivasyonu sonrasında serebral glikoz utilizasyonunda azalma olmaktadır (19). Bu bulgular beyin enerji metabolizmasının uyku-uyanıklık ritminden daha öte spontan uyanıklık, kısa süreli ve uzun süreli uykusuzluk, REM uykusu ve non-REM uykusu dönemlerinin her birinde farklılıklar gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Beyinde ve/veya periferel dokularda spontan uyanıklıkta, uyku deprivasyonunda uykunun REM ve non-REM dönemlerinde oksidan ve antioksidan sistemin ne durumda olduğu ile ilişkili hayvanlarda bir çok çalışma yapılmıştır. D'Almeida ve arkadaşları hayvanlarda REM uyku deprivasyonunun lipid peroksidasyonu veya antioksidan defansta bir değişikliğe yol açmadığını bildirmiştir (18). Fakat daha sonra aynı araştırmacılar uyku deprivasyonunun hipotalamus ve talamusta glutatyon seviyesinde azalmaya yol açtığını saptadıklarını belirtmişlerdir (3). Fakat bu çalışmaya metodolojik yönden kimi itirazlar olmuştur (20). Ratlarda uyku deprivasyonu ile antioksidan enzim olan SOD aktivitesinin hipokampus ve beyin sapında azaldığı saptanmıştır (5). Fakat yakın zamanda yine ratlarda yapılan daha detaylı bir çalışmada ise ne kısa süreli ne de uzun süreli uyku deprivasyonunun beyinde ya da periferel dokularda oksidatif strese neden olmadığı saptanmıştır (20).

Uzun süreli uyku deprivasyonunda beyin metabolizmasındaki nisbi azalma ve noradrenerjik sistem etkinliğindeki değişikliklerin oksidatif ürünlerin potansiyel artışına karşı koruyucu rol oynayacakları da ileri sürülmüştür (20).

Uyku deprivasyonunun eritrosit oksidan-antioksidan düzeylerine etkisini inceleyen bu çalışmada da 24 saatlik uykusuzluğun anlamlı bir etkisinin olmadığı bulundu. Olgu sayımız az olsa da bu bulgu literatür taramamıza göre insanlarda bu konuda yapılmış ilk çalışmadır. Daha fazla sayıda olgu ile kısa ve uzun süreli uyku deprivasyonları sonrası yapılacak çalışmalar konu hakkındaki bilgilerimizi netleştirebilir.

Kaynaklar:

1. Reimund E. The free radical flux theory of sleep. *Med Hypotheses* 1994;43:231-233
2. Inoue S, Honda K, Komoda Y. Sleep as neuronal detoxification and restitution. *Behav Brain Res* 1995;69:91-96
3. D'Almeida V, Lobo LL, Hipolide DC et al. Sleep deprivation induces brain region-specific decreases in glutathione levels. *Neuroreport* 1998;9:2853-2856
4. D'Almeida V, Hipolide DC, Lobo LL et al. Melatonin treatment does not prevent decreases in brain glutathione levels induced by sleep deprivation. *Eur J Pharmacol* 2000;390:299-302
5. Ramanathan L, Gulyani S, Nienhuis R et al. Sleep deprivation decreases superoxide dismutase activity in rat hippocampus and brainstem. *Neuroreport* 2002;13:1387-1390
6. Beutler, E. 1975. Glucose 6-phosphate dehydrogenase. In: Beutler, E. (Ed.), *Red Cell Metabolism: A Manual Biochemical Procedure*. Grune & Stratton, New York, pp. 66-69
7. Dahle LK, Hill EG, Hollman RT. The thiobarbituric acid reaction and the autoxidations of polyunsaturated fatty acid methyl esters. *Arch Biochem Biophys* 1962; 98: 253-261
8. Durak İ, Canbolat O, Kavutcu M, Öztürk HS, Yurtaslanı Z. Activities of total cytoplasmic and mitochondrial superoxide dismutase enzymes in sera and pleural fluids from patients with lung cancer. *J Clin Lab Anal* 1996; 10: 17-20
9. Aebi H. Catalase. In: Bergmayer HU, ed. *Methods of Enzymatic Analysis*. New York and London: Academic Press Inc. 1974: 673-677

10. Paglia DE, Valentine WN: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158-169
11. Hashimoto S. A new spectrophotometric assay method of xanthine oxidase in crude tissue homogenate. *Anal Biochem* 1974; 62: 425-435
12. Poon HF, Calabrese V, Scapagnini G et al. Free radicals and brain aging. *Clin Geriatr Med* 2004;20:329-359
13. Halliwell B, Gutteridge JM. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radical Biol Med* 1995;18:125-126
14. Bettendorff L, Sallanon-Moulin M, Touret M et al. Paradoxical sleep deprivation increases the content of glutamate and glutamine in rat cerebral cortex. *Sleep* 1996;19:65-71
15. Bonnet MH, Berry RB, Arand DL. Metabolism during normal, fragmented, and recovery sleep. *J Appl Physiol* 1991;71:1112-1118
16. Maquet P. Functional neuroimaging of normal human sleep by positron emission tomography. *J Sleep Res* 2000;9:207-231
17. Maquet P. Current status of brain imaging in sleep medicine. *Sleep Med Rev* 2005;9:155-156
18. D'Almeida V, Hipolide DC, Azzalis LA et al. Absence of oxidative stress following paradoxical sleep deprivation in rats. *Neurosci Lett* 1997;235:25-28
19. Everson CA, Smith CB, Sokoloff L. Effects of prolonged sleep deprivation on local rates of cerebral energy metabolism in freely moving rats. *J Neurosci* 1994;14:6769-6778
20. Gopalakrishnan A, Ji LL, Cirelli C. Sleep deprivation and cellular responses to oxidative stress. *Sleep* 2004;27:27-35