ANKARA MEDICAL JOURNAL

Araştırma Makalesi

Ankara Med J, 2021;(1):92-98 // 10.5505/amj.2021.14890

ACİL SERVİSTE AKUT PULMONER TROMBOEMBOLİ TANISI KONULAN HASTALARDA DİNAMİK TİYOL DİSÜLFİT DENGESİ

DYNAMIC THIOL DISULPHIDE HOMEOSTASIS IN PATIENTS DIAGNOSED WITH ACUTE PULMONARY THROMBOEMBOLISM IN EMERGENCY DEPARTMENT

Gül Pamukçu Günaydın[1], Fatih Tanrıverdi[1], Serkan Demircan[1]
Ferhat İçme[2], Yavuz Otal[2], Yucel Yuzbasioglu[3]
Erdem Haytaç[1], Pervin Baran[4], Cemile Bicer[5]

[1]Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Acil Tıp Anabilim Dalı, Ankara
[2]Ankara Şehir Hastanesi, Acil Tıp Kliniği, Ankara
[3]Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Gülhane Tıp Fakültesi, Gülhane SUAM, Acil Tıp Anabilim Dalı, Ankara
[4]Ankara Şehir Hastanesi, Tıbbi Biokimya Kliniği, Ankara
[5]Yıldırım Beyazıt Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara

Yazışma Adresi / Correspondence:
Dr. Öğr. Üyesi Gül Pamukçu Günaydın (e-posta: gulpamukcu@gmail.com)
Geliş Tarihi: 27.07.2020 // Kabul Tarihi: 18.03.2021

Ankara Yıldırım Beyazıt University Faculty of Medicine
Department of Family Medicine

ANKARA MEDICAL JOURNAL

Öz

Amaç: Acil serviste akut pulmoner trombo emboli tanısı alan hastaların erken dönemde dinamik tiyol-disülfit dengesinin araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Acil serviste akut pulmoner emboli tanısı konulan 58 hastadan alınan venöz kan örneklerinde serum tiyol-disülfit düzeyleri yeni geliştirilen Erel- Neşelioğlu yöntemi ile ölçüldü, burdan elde edlilen veriler sağlıklı kontrol grubu ölçümleri ile karşılaştırıldı. Acil serviste pulmoner emboli ön tanısı klinik ve laboratuvar bulguları ile düşünüldü ve kontrastlı toraks bilgisayarlı tomografi anjiyo ile tespit edildi.

Bulgular: Ortalama native tiyol ve total tiyol seviyeleri pulmoner emboli hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü (308,53±78; 414,13±50,86; p<0,002; 346,03±81,13; 453,05±52,46 µmol/l, p<0,003 sırasıyla). Disülfit/nativ tiyol ve disulfit/total tiyol oranları pulmoner emboli hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0,001).

Sonuç: Pulmoner emboli hastalarında tiyol-disülfit dengesi oksidatif yönde değişmiştir. Bu durumun hastalığın patogenezinde rolü olabilir.

Anahtar Kelimeler: Pulmoner emboli, tiyol disülfit dengesi, acil servis.

Abstract

Objectives: This study aims to investigate the dynamic thiol-disulfide balance in the early period of patients diagnosed with acute pulmonary thromboembolism in the emergency department.

Materials and Methods: Serum thiol-disulfide levels in venous blood samples drawn from 58 patients diagnosed with acute pulmonary embolism in the emergency department were analyzed using the newly developed Erel-Neşelioğlu method, and the results were compared with the measurements of the healthy control group. In the emergency department, the pre-diagnosis of pulmonary embolism was considered with clinical and laboratory findings and confirmed with contrast-enhanced thorax computed tomography angiogram.

Results: Mean native thiol and total thiol levels were significantly lower in pulmonary embolism patients compared to the control group (308.53 ± 78; 414.13 ± 50.86; p <0.002; 346.03 ± 81.13; 453.05 ± 52.46 µmol/l, p <0.003 respectively). Disulphide/native thiol and disulphide/total thiol ratios were found to be significantly higher in pulmonary embolism patients compared to the control group (p <0.001).

Conclusion: Thiol-disulfide balance is altered oxidatively in patients with pulmonary embolism. This may play a role in the pathogenesis of the disease.

Keywords: Pulmonary embolism, disulfides, sulfhydryl compounds, emergency medicine.

ANKARA MEDICAL JOURNAL

Giriş

Pulmoner tromboemboli'nin (PTE) artmış inflamasyon, endotel hasarı ve disfonsiyonu ve oksidatif stresle ilişkili olabileceği gösterilmiştir.[1,2] Oksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin bozulması olarak tanımlanan oksidatif stres, protein oksidasyonu ve lipid peroksidasyonu gibi mekanizmalarla doku hasarına neden olur. Oksidatif stres antioksidan seviyelerindeki düşüklük ya da reaktif oksijen türleri ve serbest radikallerin artmış üretimi nedeni ile meydana gelir. Oksidatif stres aralarında PTE akut myokard enfarktüsü, geçici iskemik atak, inme ve akut mezenterik iskemi gibi tromboembolik hadiselerin de bulunduğu organizmadaki birçok patolojik süreçte rol almaktadır.[3,4]

Albumin plasma proteinlerinin yaklaşık %50'ini oluşturur. Albumin'in pekçok çalışmada antioksidan özellikleri gösterilmiştir.[5] Fizyolojik koşullarda albüminin 2/3'ü redükte formdadır ve Cys-34 rezidüsünde serbest tiyol grupları vardır.[6] Tiyoller total oksidatif strese karşı koruyucu antioksidan seviyelerinin önemli bir kısmını oluştururlar ve radikal oksijen türlerine karşı savunmada önemlidirler.[1] Tiyoller bir karbon atomuna bağlı sülfidril [–SH] grubu içeren organik bileşiklerdir.[1,7,8] Plazma tiyol havuzunun çok büyük bir kısmını albumin ve diğer proteinler oluştururken, küçük bir kısmını da sistein, sisteinil glisin, glutatyon, homosistein ve γ-glutamilsistein gibi düşük molekül ağırlıklı tiyoller oluşturmaktadır.[1,8,9] Oksidatif stres varlığında proteinlerin tiyol grupları, düşük molekül ağırlıklı bileşiklerin tiyol grupları, sistein rezidüleri ve diğer tiyol grupları, ortamda bulunan oksidan moleküller tarafından oksitlenerek tersinir disülfit [-S-S-] bağları oluştururlar.[1,8] Oluşan disülfit bağ yapıları tekrar tiyol gruplarına redüklenebilir ve böylece tiyol disülfit dengesi sürdürülür.[2,8] Tiyol-disülfit dengesi, sürekli değişen dinamik bir denge olup metabolizma ve homeostazda yaşamsal önem sahiptir.[1] Tiyol/ disülfit oranı (TDO) detoksifikasyon antioksidan koruma, sinyal iletimi, enzimatik regülasyon, apoptoz ve hücresel sinyal mekanizmalarında sürecinde kritik rol oynar.[8,10,11] Tiyol-disülfit dengesi birçok bozuklukta araştırılmıştır. Plasma disülfit seviyeleri dejeneratif hastalıklarda yüksek bulunurken (diyabet, obesite, pnömoni gibi) proliferatif hastalıklarda ise (multipl myelom, ve kanser gibi) düşük bulunmuştur.[8] Anormal tiyol/ disülfit denge düzeyleri; diyabetes mellitus, kardiyovasküler hastalıklar,kanser, romatoid artrit, kronik böbrek yetmezliği, parkinson Hastalığı, alzheimer hastalığı, multiple sklerozis ve karaciğer hastalıkları gibi çeşitli hastalıkların patogenezinde yer almaktadır.[1,8]

Dinamik tiyol [-SH]/ disülfit [-S-S] dengesi değerlendirilmesi native tiyol [-SH], dinamik disülfit [-S-S], toplam tiyol [(-SH)+(S-S)] düzeylerinin ölçümü ile yapılır. Bu denge 2014 yılına kadar tek taraflı olarak ölçülebiliyorken, artık Erel ve Neselioglu'nun geliştirdiği yeni bir yöntemle artık iki taraflı olarak ölçülebilmektedir.[8] Bu çalışmada acil serviste PTE tanısı konulan hastalarda tiyol-disülfit dengesinin ve albümin seviyesinin kontrol sağlıklı kişilere göre farklı olup olmadığını araştırdık.

Materyal ve Metot

Çalışma prospektif, gözlemsel, analitik bir vaka- kontrol çalışması olarak planlandı ve yaklaşık yıllık hasta sayısı 150.000 olan şehir içinde yer alan bir eğitim araştırma hastanesi acil servisinde, 2015 yılı Ocak-Haziran ayları arasında yapıldı. Çalışma başlamadan önce Yerel Etik Kurul çalışma protokolünü onayladı. Çalışmaya dahil edilen tüm katılımcılardan bilgilendirilmiş onam alındı.

Acil servise 18 yaş ve üzeri akut PTE düşündüren şikayetler ile başvuran ve endikasyon dahilinde pulmoner bilgisayarlı tomografi anjiyo çekilerek akut PTE tanısı kesinleşen 58 hasta çalışmaya dahil edildi.

Çalışmadan dışlanma kriterleri: hamileler, oksidatif stres parametrelerini etkileyebilecek bilinen başka hastalığı olan (hipertansiyon, diyabet, koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık, obezite, pulmoner hipertansiyon, akut- kronik böbrek yetmezliği, karaciğer hastalığı, KOAH, pnömoni, aktif enfeksiyöz süreç, kalp yetmezliği, romatolojik hastalıklar, yakın zamanlı cerrahi, neoplastik hastalıklar), sigara içen, alkol kullanan ya da düzenli vitamin preparatı ya da antioksidan preparatları kullanan hastalar, çalışmaya katılmayı kabul etmeyen hastalar, daha önce geçirilmiş PTE hikayesi olan hastalar, acil servise başvurmasına neden olan şikayetlerinin başlangıcından itibaren 24 saatten fazla zaman geçen hastalar idi.

Akut PTE tanısı koyulan 58 olgudan, tanı konulduktan sonra herhangi bir tedavi başlanmadan önce venöz kan örnekleri alındı ve bekletilmeden laboratuvara gönderilerek yine bekletilmeden Erel ve Neşelioğlu tarafından geliştirilen otomatik spektrofotometrik yöntem kullanılarak serum nativ tiyol ve total tiyol düzeyleri ölçüldü. Disulfit düzeyleri, total ve nativ tiyol düzeyleri arasındaki farkın 2'ye bölünmesi ile hesaplandı. Sonrasında disulfit/total tiyol, disülfit/nativ tiyol ve nativ tiyol/total tiyol oranları hesaplandı.[7] Elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi. Ayrıca tüm olguların diğer biyokimyasal testleri (elektrolitler, karaciğer ve böbrek fonksiyon testleri) ile arter kan gazı örnekleri de çalışıldı.

Kontrol grubu hastaneye sağlık taraması (*check-up*) nedeni ile başvuran ve bilinen bir sağlık problemi olmayan, ilaç kullanmayan, akut- kronik PTE hikayesi olmayan yaş ve cinsiyet olarak benzer 73 sağlıklı gönüllüden oluşturuldu.

İstatistiksel analizler IBM SPSS for Windows version 20.0 programı kullanılarak yapıldı. Sürekli değişkenler ortalama ± SD ya da normal dağılıma uymuyor ise çeyrekler arası aralık kullanılarak, kategorik değişkenler ise sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Değişkenlerin normal dağılıp dağılmadığının kontrolünde Kolmogorov-Smirnov Testi kullanıldı. Normal dağılım gösteren numerik değişkenlerin ortalamaları arasındaki farkların karşılaştırılmasında T testi, ANOVA testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen sayısal değişkenlerin

karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenler kikare testi ile karşılaştırıldı. p≤0.05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya 58 pulmoner emboli hastası ve 73 kontrol grubu katılımcı dahil edildi. Katılımcıların demografik özellikleri ve üre, kreatin, sodyum, potasyum, total protein sonuçları Tablo 1 de gösterilmiştir. Gruplar arasında ortalama yaş, cinsiyet açısından anlamlı farklılıklar yoktu. Hastaların ve kontrollerin nativ tiyol, total tiyol, disülfit, disülfit/ nativ tiyol ve disülfit/ total tiyol, nativ tiyol/ total tiyol oranı sonuçları, albümin seviyeleri Tablo 2 de gösterilmiştir.

Tablo 1. Hasta ve kontrol gruplarının yaş, cinsiyet ve laboratuvar sonuçlarının karşılaştırılması

	Hasta (n=58)	**Kontrol (n=73)**	**p**
Yaş (yıl)	68,5 (25,6)	63,0 (18,0)	0,212
Cinsiyet Erkek n(%)	26 (%44,82)	33 (%45,20)	0.492
Üre (mg/dL)	35,0 (20,88)	33,0 (15,0)	0,194
Krea (mg/dL)	0,895 (0,39)	0,8 (0,36)	0,558
Sodyum (mmol/L)	138 (4,0)	138 (3,0)	0,025
Potasyum (mmol/L)	4,3 (0,60)	4,3 (0,55)	0,745
Total Protein (g/dL)	6,695 (1,06)	7,11 (1,06)	<0,001

Tablo 2. Hasta ve kontrol gruplarının albümin ve tiyol/disülfit parametrelerinin karşılaştırılması

	Hasta (n=58)	**Kontrol (n=73)**	**p**
Albumin (g/dL)	3,76 ± 0,54	4,46 ± 0,33	<0,001
Nativ Tiyol (µmol/L) (-SH)	308,53 ± 78,00	414,13 ± 50,86	<0,002
Total Tiyol (µmol/L) [(-SH)+(-S-S-)]	346,03 ± 81,13	453,05 ± 52,46	<0,003
Disülfit (µmol/L) (-S-S-)	18,75 ± 8,45	19,46 ± 6,63	0,589
Disulfit/ Native Tiyol (%)	6,42 ± 3,33	4,78 ± 1,81	0,001
Disulfit/ Total Tiyol (%)	5,54 ± 2,55	4,31 ± 1,48	0,002
Nativ Tiyol/ Total Tiyol (%)	88,91 ± 5,10	91,37 ± 2,95	0,002

Tartışma

Endotel hasarı ve disfonksiyonu tromboemboli için risk faktörüdür ve her ikisi de artmış oksidatif stres ve inflamasyonla ilişkilidir.[1] PTE'de pulmoner dolaşımdaki yetmezliğine bağlı hipoperfüzyon, hipoksi, iskemi nedeniyle oksidatif stres meydana gelir. Oksidatif stres ve PTE ilişkisini inceleyen pekçok çalışma yapılmıştır ve bunlarda PTE'nin artmış inflamasyon, endotel hasarı ve oksidatif stres ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.[2] Daha önce oksidatif stresi gösteren total antioksidan status, total oksidan status ve paraoxonase ve arilesteraz enzimlerinin venöz tromboembolide değiştiği ve PTE de gama glutamil transferaz ve iskemi modifiye albumin'in de değiştiği gösterilmiştir.[2]

PTE'de bahsettiklerimizin dışında da pekçok biyomarker çalışımış olmasına rağmen hala erken tanı, risk belirleme ve yönetiminin nasıl yapılması gerektiği konularında bilgi açığı mevcuttur.[2]

Çalışmamızda PTE hastalarında nativ tiyol ve total tiyol seviyelerinin sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük olduğunu, bulduk. Disülfit/nativ tiyol ve disulfit/total tiyol oranları pulmoner emboli hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ayrıca nativ tiyol/total tiyol oranı ise PTE hastalarında istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştı. Bulgularımız literatürdeki diğer çalışmalar ile uyumludur.[1,2] Bu durum bize PTE hastalarında nativ ve total tiyol havuzunun sağlıklılara göre azalmış olduğunu gösterir. Disülfit/ nativ tiyol oranı oksidasyonu gösterir ve bizim çalışmamızda PTE'li hastalarda bu oran artmıştır. Bu durum bize PTE'de dinamik tiyol/ disülfit dengesinin disulfit oluşumu yönüne kaydığını ve oksidatif stresin artmış olduğunu gösterir.

Topuz ve arkadaşlarının çalışmasında ve Parlak ve arkadaşlarının çalışmasında çalışmamıza benzer olarak ortalama nativ tiyol ve total tiyol seviyeleri PTE'li hastalarda kontrol grubuna göre düşükken; disülfit/total tiyol oranları ise yüksek bulunmuştur.[1,2] Bizim çalışmamızda disülfit seviyelerinin ise PTE ve kontrol gruplarına benzer olduğunu bulduk. Parlak ve arkadaşlarının çalışmasında da bizim çalışmamıza benzer şekilde PTE grubu ile kontrol grubu disülfit ortalamaları arasında fark bulunmamıştır.[1] Ancak Topuz ve arkadaşlarının çalışmasında PTE grubunda disulfit ortalaması yüksektir. Bu farkın nedeni bizim çalışmamızdaki hastaların ciddiyetinin Topuz ve ark. çalışmasındakine göre daha az olması ya da çalışmamızdaki hasta sayısının daha az olması olabilir. Bu iki çalışma ve bizim çalışmamızdaki bulgular PTE'li hastalarda tiyol/disülfit dengesinin disülfit tarafına doğru kaydığı ve PTE'de oksidatif stresin artmış olduğunu göstermektedir.[1,2]

Azalmış nativ tiyol, artmış disülfit seviyeleri ve artmış disulfit/total tiyol oranları artmış oksidatif stresle ilişkilidir.[2] Topuz ve arkadaşları PTE'de azalmış native tiyol ve artmış disülfit seviyelerinin PTE ilişkili hastane içi mortalite ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır.[2] Aynı çalışmada hastalar PESI (pulmoner emboli ciddiyet

indeksi) skoruna göre yüksek ve düşük olarak iki gruba ayrılmıştır. Yüksek PESI grubunda hem kontrol grubuna hem de düşük PESI grubuna göre ortalama disülfit seviyeleri artmış, nativ tiyol ve total tiyol seviyeleri azalmış olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada PESI skoru arttıkça nativ tiyol seviyeleri azalmakta, disulfit seviyeleri ise artmaktadır. Çalışmamızda ise PTE hastaları ile kontrol grubu ortalama disülfit seviyeleri arasında anlamlı fark bulunamamıştır.[2] Bunun nedeni bizim çalışmamızdaki hastaların PESI skorlarının Topuz ve arkadaşlarının çalışmasına göre düşük olması olabilir, ancak çalışmamızda PESI skoru hesaplanmamıştır.

Serum albümininin tromboz oluşumunu azaltan pek çok fonksiyonu (platelet aggregasyonunu inhibe etme, endotel stabilizasyonu, anti inflamatuvar etkileri, anti oksidan etkileri) çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir.[5,6] PTE hastalarında hipoalbuminemi olması 30 ve 90 günlük mortalite için diğer faktörlerden bağımsız bir risk faktörü olarak bulunmuştur.[6] Çalışmamızda da PTE grubunun albümin ortalaması kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktür ancak prognoz ile ilişkisi incelenmemiştir.

Örneklem büyüklüğünün küçük olması, çalışmaya alınan hastaların hepsinin tek bir merkezden toplanması, diğer oksidatif stres parametrelerinin (örneğin total antioksidan status, total oksidatif status ve iskemi modifiye albümin) bakılmamış olması, hastaların PESI gibi bir skorla ağırlıklarının değerlendirilmemiş olması çalışmamızın kısıtlılıklarıdır.

Sonuç olarak, pulmoner emboli hastalarında tiyol-disülfit dengesi oksidatif tarafa kaymıştır. Bu durumun hastalığın patogenezisinde rolü olabilir. PTE hastalarının ilk başvuruları genellikle acil servislere olur. Bu emboli hastalarında oksidatif stresin bir göstergesi olan tiyol-disülfit dengesinin tespit edilmesi bir prognostik biomarker olarak hizmet edebilir.

Etik onay

Çalışma için hastane etik kurulundan onay alınmıştır (Onay tarih/ no: 3.12.2014/ 215).

Çıkar Çatışması

Yazarlar herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan ve taahhüt ederler.

Kaynaklar

1. Parlak ES, Alisik M, Karalezli A, Sayilir AG, Bastug S, Er M, Hasanoglu HC, Erel O. Are the thiol/disülfite redox status and HDL cholesterol levels associated with pulmonary embolism?. Thiol/disülfite redox status in pulmonary embolism. Clin Biochem. 2017 Dec;50(18):1020-4. (doi:10.1016/j.clinbiochem.2017.07.018).
2. Topuz M, Kaplan M, Akkus O, et al. The prognostic importance of thiol/disulfide homeostasis in patients with acute pulmonary thromboembolism. Am J Emerg Med. 2016;34(12):2315-9. (doi:10.1016/j.ajem.2016.08.039).
3. Bulkey GB. The role of oxygen free radicals in human disease process. Surgery 1983;94:407-11.
4. Muhl D, Furedi R, Cristofari J, et al. Evaluation of oxidative stress in the thrombolysis of pulmonary embolism. J Thromb Thrombolysis 2006;22:221-8.
5. Roche M, Rondeau P, Singh NR, Tarnus E, Bourdon E. The antioxidant properties of serum albumin. FEBS Lett. 2008 Jun 11;582(13):1783-7. (doi:10.1016/j.febslet.2008.04.057).
6. Hoskin S, Chow V, Kritharides L, Ng ACC. Incidence and Impact of Hypoalbuminaemia on Outcomes Following Acute Pulmonary Embolism. Heart Lung Circ. 2020 Feb;29(2):280-7. (doi:10.1016/j.hlc.2019.01.007).
7. Sen CK, Packer L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. Am J Clin Nutr. 2000;72:653–69.
8. Erel O, Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. Clin Biochem. 2014;47:326–32.
9. Turell L, R adi R, A lvarez B. The thiol pool in human plasma:the central contribution of albumin to redox processes . FreeRadic Biol Med. 2013;65:244 – 53.
10. Biswas S, C hida A S, R ahman I . R edox modifi cations of protein – thiols: emerging roles in cell signaling. Biochem Pharmacol. 2006;71:551–64.
11. Circu ML, A w TY. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. Free Radic Biol Med. 2010;48:749–62. (doi:https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2009.12.022).