

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HİPERTİROİDİLİ VE HİPOTİROİDİLİ HASTALARDA
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ VE ADENOZİN
DEAMİNAZ AKTİVİTESİ**

DOKTORA TEZİ

**Tuğba Raika KIRAN
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Aysun Bay KARABULUT**

MALATYA

2007

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HİPERTİROİDİLİ VE HİPOTİROİDİLİ HASTALARDA
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ VE ADENOZİN
DEAMİNAZ AKTİVİTESİ**

DOKTORA TEZİ

**Tuğba Raika KIRAN
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Aysun Bay KARABULUT**

MALATYA

2007

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca deneyim ve desteğini esirgemeyen, etik kurallara bağlılığına, insana duyduğu saygıya ve bilimselliğine hayran kaldığım, kendisiyle çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum saygıdeğer danışman hocam; Doç.Dr.Aysun Bay Karabulut'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım saygıdeğer hocalarım Prof. Dr Tayfun Güldür'e, Doç. Dr. İsmail Temel'e, Doç. Dr. Yusuf Türköz'e, Doç. Dr. Elif Özerol'a, Yrd. Doç. Dr. Ahmet Çıgılı'ya, Yrd. Doç. Dr. Çağatay Taşkapan'a, yardım ve desteklerini esirgemeyen asistan arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Hasan Şahin, Arş. Gör. Dr. Kamuran Yılmaz'a ve tüm biyokimya personeline teşekkür ederim.

Hastaların bana ulaşması konusunda desteğini esirgemeyen engin bilgi ve tecrübesinden yararlandığım saygıdeğer hocam Doç. Dr. İbrahim Şahin'e, Uzm. Dr. Zuhale Karaca'ya ve Endokrinoloji bölümü personeline;

İstatistiksel değerlendirmeyi yapan sevgili arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Cemil Çolak'a;

Hayatımda anlamlı bir renk olan, her zaman yanımda olan ve daima yanımda olacağım yüreği sevgi dolu fedakar dostum Seyide Ertek ve Ülkü Karaman'a;

Eğitimim boyunca destekleri ve sevgileriyle her zaman yanımda olduklarını hissettiğim canım fedakar anneme, babama, kayınvalidem ve kayınpederim ve kardeşlerime teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmalarım boyunca gösterdiği hoşgörü ve desteği anlatacak kelimeler bulamadığım sevgili eşim, can dostum Nihat Kıran'a;

Beni sabırla bekleyen canlarım İlayda ve Kayra'ya en yürekten duygularıyla

TEŞEKKÜR EDERİM....

İÇİNDEKİLER	S. No
TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ŞEKİLLER	III
TABLOLAR VE GRAFİKLER DİZİNİ.....	IV
KISALTMALAR.....	V
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Tiroid Bezi Üzerine Etkili Hormonlar.....	3
2.1.1. Tirotropin Salgılatıcı Hormon (TRH).....	3
2.1.2. Tiroid Uyarıcı Hormon (TSH).....	4
2.2. Tiroid Hormonlarının Yapımı.....	4
2.3. Tiroid Hormonlarının Yapısı.....	10
2.4. Tiroid Hormonlarının ve Metabolitlerinin Taşınması.....	11
2.5. Tiroid Hormonlarının Metabolizması.....	12
2.6. Tiroid Hormonlarının Metabolik Etkileri.....	13
2.7. Tiroid Hormonlarının Regülasyonu.....	15
2.8. Benign Tiroid Hastalıkları.....	17
2.9. Tiroid Fonksiyon Testleri.....	20
2.10. Serbest Radikaller.....	22
2.11. Oksidatif Stres.....	33
2.12. Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehit.....	34
2.13. Nitrik Oksit.....	37
2.14. Antioksidan Savunma Mekanizmaları.....	40
2.14.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) (E.C. 1.15.1.1).....	41
2.14.2. Katalaz (CAT) (E.C. 1.11.1.6).....	42
2.14.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) (E.C. 1.11.1.9).....	42
2.14.4. Glutasyon S-Transferaz (GST) (E.C. 2.5.1.18).....	43
2.14.5. Glutasyon Redüktaz.....	44
2.14.6. Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz	44
2.14.7. Glutasyon (GSH).....	44
2.15. Adenozin Deaminaz (ADA).....	47
3. MATERYAL METOD.....	50
3.1. Örneklerin Toplanması.....	50
3.2. Metodlar.....	51
3.2.1. Plazma Adenozin Deaminaz (ADA) Aktivitesinin Ölçümü.....	51
3.2.2. Plazma Glutasyon Seviyesinin Ölçümü.....	53
3.2.3. Plazma Malondialdehit (MDA) Seviyesi Ölçümü.....	55
3.2.4. Plazma Total Nitrik Oksit Ölçümü.....	57
3.3. Verilerin Analizi.....	60
4. BULGULAR.....	61
5. TARTIŞMA.....	72
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	85
7. ÖZET.....	86
8. SUMMARY.....	88
9. KAYNAKLAR.....	90
10. EKLER.....	102
11. ÖZGEÇMİŞ.....	106

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekiller.....	S. No
Şekil 1: Tiroid bezinin anatomisi.....	2
Şekil 2 : Tirotropin salgılatıcı hormonun yapısı.....	3
Şekil 3. Vücutta iyot metabolizması.....	5
Şekil 4: Monoiyodotirozin (MIT) ve Diiyodotirozin (DIT) oluşumu	8
Şekil 5. Tiroid hormonlarının biyokimyasal yapıları	9
Şekil 6: İyodür siklusu.....	10
Şekil 7 : Hipotalamus-Hipofiz-Tiroid eksenini	16
Şekil 8: Oksidatif stres oluşumu.....	33
Şekil 9: Oksidatif stres	34
Şekil 10: Bir Poliansatüre yağ asidinin (PUFA) peroksidasyonu.....	36
Şekil 11: Nitrik oksidin NOS enzimi etkisiyle L-arginin aminoasidinden sentezlenmesi	37
Şekil 12: Nitrik oksit (NO) kaynakları ve oluşumu. Nitrik oksit sentezleyen enzim (iNOS)	38
Şekil 13: Glutatyon sentezi ve siklusu	45
Şekil 14: Glutatyonun okside ve redükte formları.....	46
Şekil 15: Pürin nükleotidlerinin yıkımı.....	47

TABLolar VE GRAFİKLER DİZİNİ

Tablolar ve Grafikler	S. No
Tablo 1: Oksijenden ve nitrik oksitten oluşan başlıca reaktif türler.....	24
Tablo 2: Hücredeki serbest oksijen radikal kaynakları	29
Tablo 3: Nitrik oksit sentezleyen enzimler	39
Tablo 4: Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma sistemi	41
Tablo 5: Adenozin deaminaz deney protokolü.....	53
Tablo 6: Glutasyon deney protokolü.....	54
Tablo 7: Malondialdehit deney protokolü.....	56
Tablo 8: Deproteinizasyon işleminin uygulanma prosedürü.....	58
Tablo 9: Nitrit ölçüm prosedürü.....	59
Tablo 10: ADA, GSH, NO ve MDA değişkenlerine ait tanımlayıcı değerler.....	63
Tablo 11: Yaş, TSH, T ₃ , T ₄ , ST ₃ ve ST ₄ değişkenlerinin karşılaştırma değerleri.....	64
Tablo 12: ADA, GSH, NO, MDA, YAŞ, TSH, T ₃ , T ₄ , ST ₃ ve ST ₄ değişkenlerinin kontrol grubuna (Grup 3) göre değişimleri.....	65
Tablo 13: ADA, GSH, NO ve değişkenleri yönünden cinsiyetin karşılaştırılması.....	66
Tablo 14: Yaş ile ADA, GSH, NO ve MDA değişkenlerine ait korelasyonlar....	66
Tablo 15: Grup 1'e ait korelasyon analiz sonuçları.....	67
Tablo 16: Grup 2'e ait korelasyon analiz sonuçları.....	68
Tablo 17: Grup 3'e ait korelasyon analiz sonuçları.....	69
Tablo 18: NO, T ₃ , T ₄ , ST ₃ , ST ₄ , TSH değişkenleri yönünden çoklu stepwise regresyon analiz sonuçları.....	70
Tablo 19 : MDA, T ₃ , T ₄ , ST ₃ , ST ₄ , TSH değişkenleri yönünden çoklu stepwise regresyon analiz sonuçları.....	70
Tablo 20: ADA, T ₃ , T ₄ , ST ₃ , ST ₄ , TSH değişkenleri yönünden çoklu stepwise regresyon analiz sonuçları.....	70
Tablo 21: GSH, T ₃ , T ₄ , ST ₃ , ST ₄ , TSH değişkenleri yönünden çoklu stepwise regresyon analiz sonuçları.....	71
Grafik 1 : GSH Standart grafiği.....	55
Grafik 2 : MDA Standart grafiği.....	57
Grafik 3 : NO Standart grafiği.....	60
Grafik 4: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'e ait ortalama \pm standart hata NO değerleri	61
Grafik 5: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'e ait ortalama \pm standart hata MDA değerleri.....	62
Grafik 6: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'e ait ortalama \pm standart hata ADA değerleri.....	62
Grafik 7: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'e ait ortalama \pm standart hata GSH değerleri.....	63

KISALTMALAR

TSH	: Tiroid Uyarıcı Hormon
TRH	: Tirotropin Salgılatıcı Hormon
T₃	: Triiyoditironin
T₄	: L-Tiroidin
ST₃	: Serbest T ₃
ST₄	: Serbest T ₄
rT₃	: Reverse T ₃
NIS	: Na-I Simporter
TPO	: Tiroid Peroksidaz
TG	: Tiroglobulin
RER	: Retiküler Endoplazmik Redikulum
MIT	: Monoiyodotirozin
DİT	: Diyyodotirozin
TBG	: Tiroidin Bağlayıcı Globulin
TTR	: Transtiretin
ST₄I	: ST ₄ İndeks
BMH	: Bazal Metabolik Hız
TSH-R	: TSH Reseptörü
TH	: Tiroid Hormon
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
LH	: Luteinize edici Hormon
GH	: Büyüme Hormonu
Anti-TPO	: Mikrozomal Antikor
Anti-TG	: Anti-Tiroglobulin
AST	: Aspartat Aminotransferaz
LDH	: Laktik Dehidrogenaz
CRP	: C Reaktif Protein
TSI	: Tiroid Stimulan İmmunoglobulin
TSAB	: Uyarıcı TSH Reseptör Antikorları
TSH-RAB	: TSH Reseptör Antikoru
RAIU	: Radyoaktif İyot Uptake

hCG	: İnsan Koryonik Gonodotropin
ATPaz	: ATP Sentetaz
GGT	: Gamma-Glutamil Transferaz
ANTİ TG Ab	: Antitiroglobulin Antikorları
TSHR Ab	: TSH Reseptörüne Karşı Gelişen Otoantikorlar
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
O₂[·]	: Süperoksit Radikal Anyonu
·OH	: Hidroksil Radikali
ROO[·]	: Peroksil Radikali
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
NO₂[·]	: Azot Dioksit
NO₂⁺	: Nitronyum İyonu
H₂O[*]	: Uyarılmış Su Molekülü
¹O₂	: Singlet Oksijen
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
ETZ	: Elektron Transport Zinciri
ALT	: Alanin Amino Transferaz
CPK	: Kreatin Fosfokinaz
Mn-SOD	: Mangan Süperoksit Dismutaz
NO₂	: Nitrojen Dioksit
ONOO[·]	: Peroksinitrit
N₂O₃	: Dinitrojen Trioksit
NO[·]	: Nitroksil İyonu
PUFA	: Poliansature Yağ Asitleri
OH[·]	: Hidroksil İyonu
RO[·]	: Alkoksil radikali
HO₂[·]	: Hioperoksil radikali
R[·]	: Lipid Radikali
ROOR	: Endoperoksit radikali
NO	: Nitrik Oksit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Hidrojen Fosfat
FAD	: Flavin Adenin Dinükleotid
FMN	: Flavin Mononükleotid

BH₄	: Tetrahidrobiyopterin
iNOS	: İndüklenebilir NOS
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
eNOS	: Endotel NOS
nNOS	: Nöral NOS
SOD	: Süperoksit dismutaz
CAT	: Katalaz
PLGSH-PX	: Fosfolipid Hidroperoksid Glutatyon Peroksidaz
PLOOH	: Fosfolipid Hidroperoksitleri
GSSG	: Okside Glutatyon
GSSG-R	: Glutatyon Redüktaz
GST	: Glutatyon S-Transferaz
ADA	: Adenozin Deaminaz
MDA	: Malondialdehit
E₂	: Östradiol
B₁₂	: Kobalamin
r	: Pearson Korelasyonu
Grup 1	: Hipertiroidi hasta grubu
Grup 2	: Hipotiroidi hasta grubu
Grup 3	: Kontrol (sağlıklı) birey grubu

1. GİRİŞ

Hipertiroidi tiroid hormon yapımının artışıyla oluşan klinik tablodur. Tiroksikoz, kanda tiroid hormonlarının (T_3 , T_4) artmasıyla metabolizmanın hızlanması sonucu oluşan hastalıktır (1,2). Enerji metabolizması ve ısı oluşumu normale nazaran daha çok uyarıldığından bazal metabolizma hızı artmaktadır (2,3).

Hipotiroidi, tiroid hormonlarının eksikliği veya nadiren etkisizliği sonucu ortaya çıkan sendrom olup metabolik yavaşlama sözkonusudur (3). Enerji metabolizmasında oluşan yavaşlama O_2 tüketiminde azalmaya, bazal metabolizma hızının düşmesine ve dolayısıyla metabolik baskılanmaya neden olmaktadır (1,4).

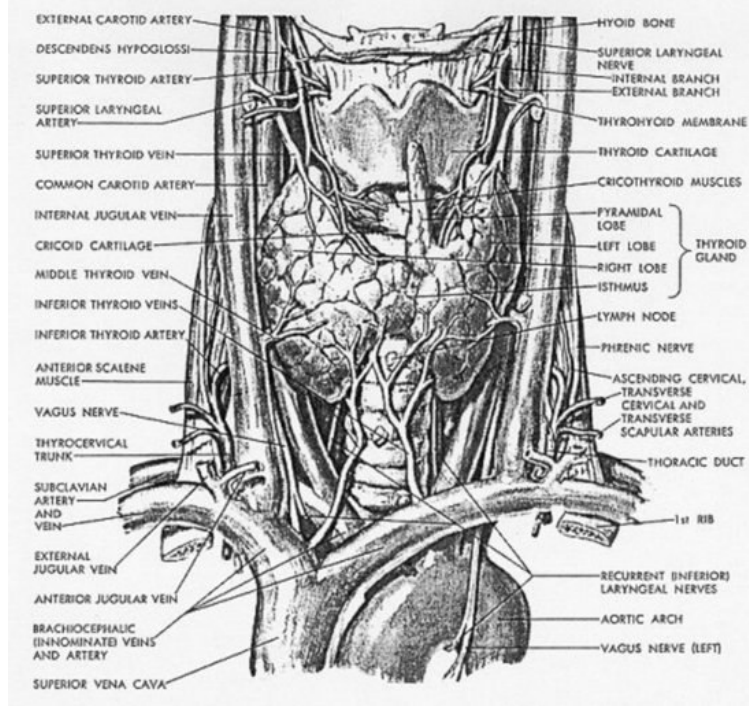
Tiroid hormonlarının enerji metabolizması üzerindeki etkisinin oksijen tüketiminde, mitokondriyal oksidatif fosforilasyonda ve bazı mitokondriyal solunum zinciri komponentlerinin aktivite ve sayısında değişikliklere sebep olarak mitokondriyal solunumu artırma şeklinde olduğu bilinmektedir (5,6).

Hipertiroidili ve hipotiroidili hastalarda oksidatif stres parametreleri değişik çalışmalarda incelenmiştir. Hipertiroidide oluşan hipermetabolik durum lipid peroksidasyonuna zemin hazırlamaktadır ve oksidatif metabolizmada artış olmaktadır (6,7,8). Hipotiroidizmde metabolik baskılanma sonucu serbest radikal oluşumunun azaldığı ve dokuların lipid peroksidasyonuna karşı korunduğu rapor edilmiştir (6). Çalışmada hipertiroidi ve hipotiroidi hastalarında tiroid hormonları ile oksidatif stres parametrelerinden NO ve MDA düzeyleri, antioksidan bir ajan olan GSH seviyesi, hücrel immunité belirteci olan adenozin deaminaz aktivitesi, yaş ve cinsiyet arasındaki ilişkisinin incelenilmesi amaçlanmıştır.

Serbest radikallerin tiroid hastalıklarının patogeneğinde ve hastalığın ilerleyen safhalarında gözlenen komplikasyonlardan sorumlu olduğu bildirilmiştir (5). Ülkemizde ve dünyada çok yaygın olan tiroid hastalıklarının kalp yetmezliği, solunumsal bozukluklar ve mental yetersizlik gibi ciddi sorunlara yol açabileceği bilinen bir gerçektir. Hipertiroidizm ve hipotiroidizm hastalıklarında oksidatif stresin hastalığın ilerleyen safhalarında gözlenen komplikasyonlarından da sorumlu olması sebebiyle, hem tedavi hem de teşhis açısından bu çalışmanın önemli olacağını düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

Tiroid bezi (glandula thyroidea), yaklaşık 15 -20 gr ağırlığında bir organdır. Trakea ve larenksin her iki tarafında yer alan oval loblarla bunları birleştiren isthmustan meydana gelmiştir. Tiroid bezinin anatomisi Şekil 1'de gösterilmiştir (9,10,11,12,13).



Şekil 1: Tiroid bezinin anatomisi (13)

Bez her biri 20 - 40 follikülden oluşan lobüllere bölünmüştür. Bireyde ortalama 3×10^6 folikül vardır. Her bir hücre küboidal epitelyumla döşeli ve epitelyum hücrelerinin tiroid uyarıcı hormonu (TSH) kontrolü altındaki kolloid sekresyonu ile doludur. Tiroid parankim hücreleri TSH ile uyarıldığında, aktif iken Columnar forma dönüşürler. Kolloid tiroid parankim hücreleri tarafından salgılanan tiroglobulin deposudur. Tiroid aktivitesi derecesine göre 3 aylık tiroid hormonu ihtiyacını karşılar. Triiyodotironin (T_3) ve tiroksin (T_4) biyosentezi tiroglobulin içinde gerçekleştikten sonra hücre içerisinde hidrolize olur ve salınır (3,14).

Tiroidin, ikinci bir sekretuar hücre grubu da C hücreleri ya da parafoliküler hücrelerdir. Bu hücreler; kalsitonin içerir ve salgırlar (15).

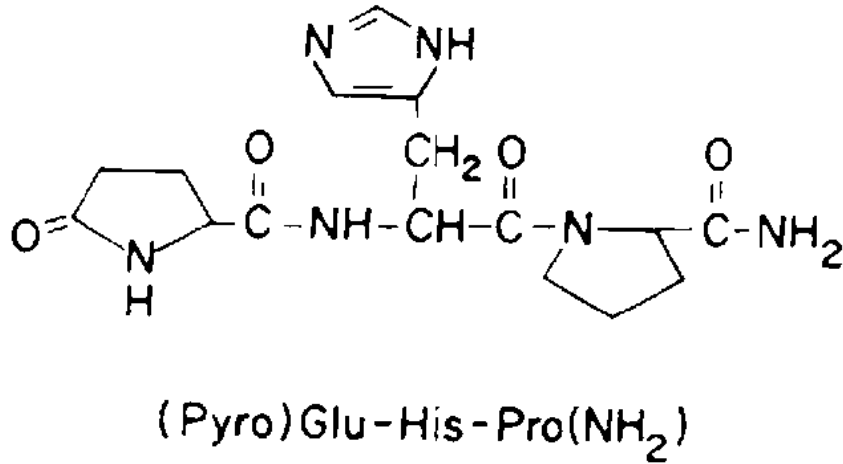
2.1. Tiroid Bezi Üzerine Etkili Hormonlar

2.1.1. Tirotropin Salgılatıcı Hormon (TRH)

Tirotropin salgılatıcı hormon, hipotalamusun paraventricüler nükleuslarında yer alan parvosellüler nöronal sistemde yapılır. TRH hipotalamusun Median eminence'ında depolanır, sonra hipofizin portal venöz sistemiyle adenohipofize taşınır (12,16).

Tirotropin salgılatıcı hormon, hipotalamusta proTRH halinde sentezlenir. ProTRH'nin molekül ağırlığı 359,5 kDa olup yapısı (pro) Glutamyl-Histidyl-Proline amide'dir. Beynin farklı bölgelerinde bir dizi posttranskripsiyonel işlemden geçtikten sonra aktif TRH haline gelir (Şekil 2). Bu hormon, hedef hücre yüzeyinde reseptöre bağlanarak adenilat siklazı uyarır. Hücre içi siklik AMP (cAMP) artışı üzerinden etkisini gösterir (12,16,17).

Tirotropin salgılatıcı hormon hipotalamusun diğer bölgelerinde, beyinde, medulla spinalis'de de bulunur ve nörotransmitter olarak görev yapar. Hipotalamus kaynaklı TRH, reseptörlerine bağlanarak adenohipofizin TSH sentez ve salgısını uyarır. Sentezlenen TSH'nin salınımı da TRH'nin kontrolü altındadır (3,16,17).



Şekil 2 : Tirotropin salgılatıcı hormonun yapısı (16)

2.1.2. Tiroid Uyarıcı Hormon (TSH)

Tiroid uyarıcı hormon, glikoprotein yapısındadır. Tiroid glandının endokrin fonksiyonunu düzenleyen anterior hipofizdeki tirotroplarda yapılır ve salgılanır. Molekül ağırlığı 30 kDa olan tirotropik hormon, 92 aminoasitten oluşan alfa (α) ve 118 aminoasitten oluşan Beta (β) olmak üzere; iki polipeptit zincirinin non-kovalen bağlarla birleşmesi, zincire karbonhidrat moleküllerinin katılması ile oluşur. Hormonun etkisi β alt birimindedir (12,16,18).

Tiroid uyarıcı hormon, α reseptör etkili katekolaminler, vazopressin TSH yapım ve salınımını uyarırken; somotastatin, dopamin ve tiroid hormonları TSH'ı baskılayıcı etkiye sahiptir (3,12,17).

Tiroid uyarıcı hormon tiroide follikül hücrelerini uyarır; iyod uptake'ini, T_3 ve T_4 sentez ve salgısını artırır. TSH, tiroid adenil siklazı aktive ederek hücrel cAMP'de artış oluşturur. TSH'ın nükleer düzeye aynı şekilde etki ederek protein sentezini arttırdığı bilinmektedir (16,19).

Sağlıklı bir kişide; uykudan birkaç saat önce serum TSH seviyesi artmaya başlar, gece maksimum düzeye ulaşır ve sabaha doğru azalarak öğlen vakti minimum seviyeye düşer. Buna TSH'ın sirkadien ritmi denir. Normal insanda TSH oluşum hızı yaklaşık 50-200mU/gün' dür. Fakat primer hipotiroidizmde bu değer günlük 4000mU kadar yükselebilir (16).

2.2. Tiroid Hormonlarının Yapımı

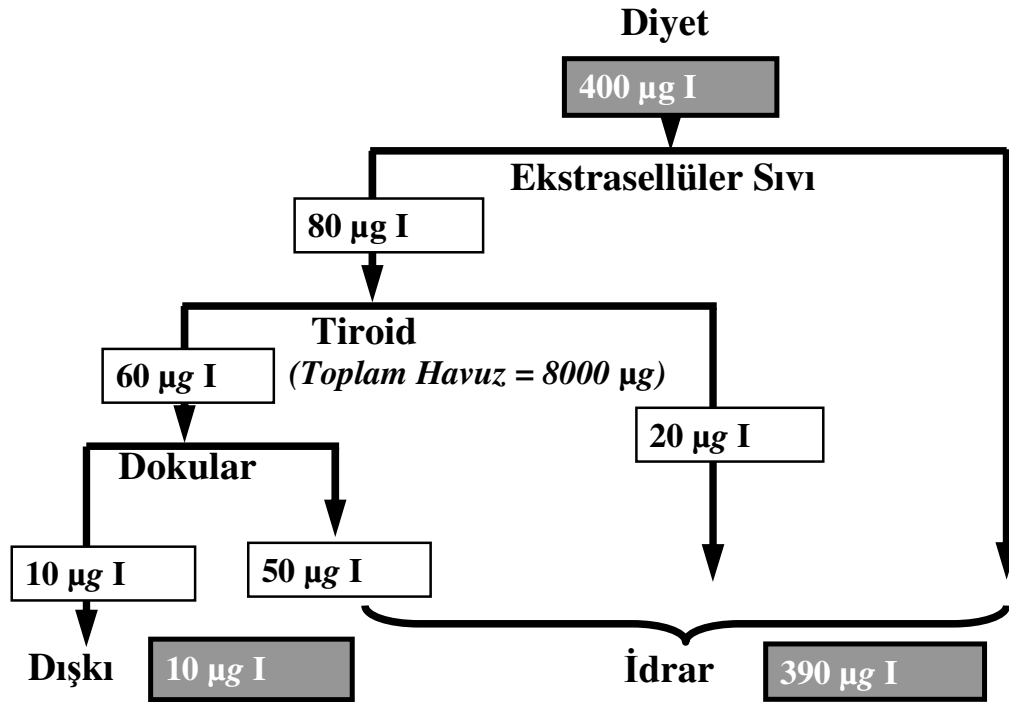
İyodun genel biyokimyası

İyot, en fazla toprakta olmak üzere su ve havada bulunan bir eser elementtir. Et, süt, yumurta ve tahıllardaki mevcut iyot miktarı, bölgenin iyot düzeyine ve mevsimlere göre değişmektedir (20,21).

Tüm yüksek canlılar, çok az iyot bulundurlar ve canlıların vücutlarında bulunan iyodun yarısından fazlası tiroid bezinde bulunmaktadır. Günlük önerilen iyot miktarı 150 μ g düzeyindedir (21).

Günlük iyot gereksiminin %90'ı gıdalardan, %10'u içme suyundan sağlanırken, gıdalarda bulunan iyodun yaklaşık %50'si emilmektedir. İyon şekline dönüşen iyot, bağırsakta kolaylıkla emilir. Serumda taşınması serbest iyon şeklinde veya proteine bağlı biçimde olurken tiroid bezinde depolanmaktadır. İyot, tiroid hormonlarının bir komponenttir. Tiroid hormonları parçalandığında iyot serbestlenir ve serbestlenen iyotlar yeniden tiroid bezine dönerek geri kazanılırlar (12,13).

Plazmada inorganik iyot halinde bulunurlar. Çünkü böbreklerin iyodür iyonları için plazma kleransı çok yüksektir (dakikada 35mg). Emilen iyodürün beşte dördü idrarla atılırken, beşte biri tiroid bezi hücreleri tarafından kandan alınır ve tiroid hormonlarının sentezi için kullanılır (Şekil 3) (12,20,22).



Şekil 3: Vücutta iyot metabolizması (12)

Tiroid içerisindeki organik iyot miktarı, artan iyot alımına bifazik yanıt oluşturmaktadır. Başlangıçta artarken, daha sonra azalır. İyot alımı arttığında organik iyot miktarındaki azalmaya **Wolff-Chaikoff etkisi** denir. Bu tiroid içindeki inorganik

iyot birikimine bağlı oluşmaktadır. Sağlıklı tiroid dokusunda belli bir süre sonra organik bağlanma ve iyodotironin yapımındaki inhibisyon kısmen düzelir. Buna kaçış veya adaptasyon denir (11).

Plazmadaki iyodürlerin, follikül hücrelerine alınması (uptake) ve konsantr edilmesi

Plazmadaki iyodun başlıca kaynağı, besinlerle alınan iyodürlerdir. Tiroid hormonlarının yıkılması ve iyod içeren ilaçlar da birer iyod kaynağıdır (19,20).

Tiroid hormonlarının oluşumundaki ilk aşama, iyodürlerin kandan tiroidin glandüler hücrelerine ve folliküllerine taşınmasıdır. Bu transportta Na - I simporter (NIS) önemli rol oynar. Tiroid hücresi bazal membranı, iyodu aktif olarak hücre içine pompalayabilmektedir. Bu olaya iyod uptake denir. İyodür pompası, normal bir bezde iyodürü kandaki konsantrasyonunun yaklaşık 30 katı kadar konsantr edebilir. Tiroid bezinin en aktif olduğu anda, konsantrasyon oranı 250 kata kadar yükselebilir (10).

Tiroid follikül hücresi membranında bulunan NIS inorganik iyodun hücreye girişini sağlar. Pendrin ise klor/iyot transportunu gerçekleştiren proteindir. Pendrin, iyodun hücrenin apikal membrandan geçerek lümendeki kolloide alınmasını sağlar. NIS membrandan iki sodyum iyonu ve bir iyod iyonu geçirir. TSH; NIS ekspresyonunu stimüle ederken, NIS iyot transportunu artırır. NIS'ın etkisini tiyosiyanat ve perklorat önler (1,20).

İyot uptake başlıca iki mekanizma ile kontrol edilir:

Ekstrinsek mekanizma: TSH aracılığı ile yapılan kontrol mekanizmasıdır. TSH iyot uptake'ni stimüle eder.

İntrinsek mekanizma: Tiroid bezi içinde, iyod miktarı azaldığında uptake hızı artar; tiroid glandündeki iyod miktarı arttığında ise uptake hızı azalmaktadır (19).

Tiroid Peroksidaz (TPO)

Tiroid peroksidaz 9 kDa ağırlığında, 926 aminoasit içeren hemoglikoprotein yapısında bir enzimdir. Foliküler lümenin apikal membranına yerleşmiştir. Enzim

aktivitesi yapısındaki ferriprotoporfirin IX veya porfirin grubuna bağlıdır. Prostetik grubun kimyasal olarak uzaklaştırılması enzimi inaktive etmektedir. İnsan tiroidinde apoprotein prostetik grubuyla tamamen sature olmamıştır. Bazı konjenital guatrlı çocuklarda zayıf peroksidaz fonksiyonunun olması apoproteininin hem grubuna zayıf bağlı olmasıyla ilişkilendirilmiştir (1,20).

Tiroid peroksidaz, hidrojen peroksit (H_2O_2) ile birlikte inorganik iyodürün, organik iyodin haline gelmesi ve tiroglobuline bağlanmasında önemli rol oynar (12,20).

Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit, kalsiyum ve nikotinamid dinükleotid hidrojen fosfata (NADPH) gereksinim duyan NADPH tiroid oksidaz enzimi tarafından apikal plazma membranında üretilir. H_2O_2 oluşumu, O_2 molekülünün NADPH oksidaz'la süperoksit anyonuna indirgenmesi ve süperoksit dismutazla H_2O_2 'ye dönüşüyle gerçekleşir. İkinci yol ise O_2 molekülünden H_2O_2 'nin direkt oluşumudur. TSH, NADPH oksidaz aktivitesini ve H_2O_2 oluşumunu stimule eder. Düşük konsantrasyonlarda ve kısa dönem inkübasyonda iyodür H_2O_2 oluşumunu artırırken, yüksek iyodür konsantrasyonlarında H_2O_2 oluşumu inhibe olur (20).

Tiroglobulin (Tg)

Tiroglobulin, tiroidin en önemli glikoproteinlerinden biridir ve tiroid hormonlarının yapımı ve depolanmasında önemli rol oynar (1,20).

Tiroglobulin tiroid bezinde en bol miktarda bulunan proteindir ve tiroid ağırlığının %75'ini oluşturur. Tg, 660 kD ağırlığında ve 5000 aminoasit içerir. İnsan tiroglobulini yaklaşık 110 tirozin rezidüsü (%1) içerir. Tirozinin iyotlanmasıyla tiroid hormonları sentezlenir. Folliküler lümendeki konsantrasyonu 200-300 g/L'ye ulaşabilir. Asıl görevi; tiroid hormonlarının sentezi ve depolanması için gerekli polipeptid zincirini sağlamaktır (19).

Tiroid uyarıcı hormonun etkisiyle tiroglobulinin retiküler endoplazmik redikulumda (RER) yapımı başladıktan sonra golgi cisimlerine geçer ve glikolize olur. Glikolizasyonu bitmiş tiroglobulin molekülünde 134 tirozil grubu mevcuttur. Normalde

bunların 18 tanesi iyodine olur ve iyodotirozinler (MIT-DİT) ortaya çıkar. Olgun Tg molekülü ise kolloid lümenine salınır (12,20).

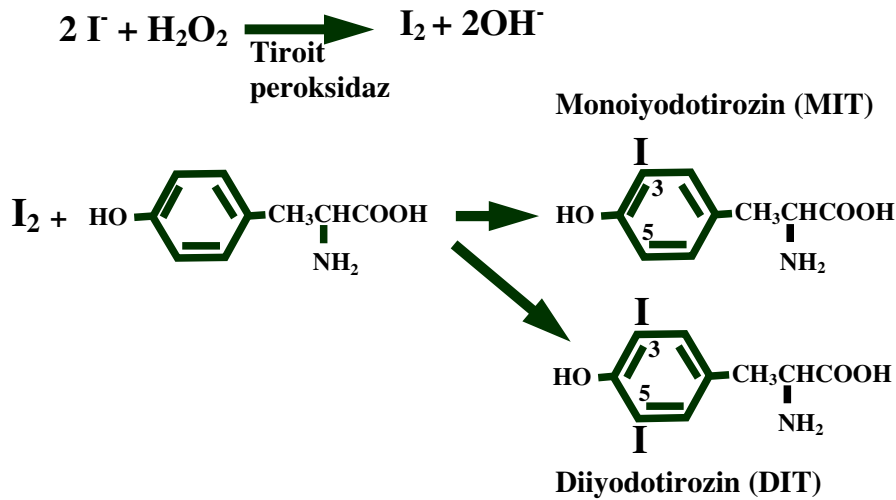
Tiroglobulinler ihtiyaç halinde endositoz yoluyla kolloid lümeninden lizozomlara gelir. T₃ ve T₄ ayrıldıktan sonra Tg'lerin %90'ı lizozomal enzimler aracılığı ile aminoasitlerine parçalanır. Geriye kalanlar ise, lenfatik sistem aracılığıyla dolaşıma geçer (10,12,20).

İyodürün, iyoda dönüşümü (oksidasyon) ve organikleşmesi (iyodinasyon)

Apikal membrana gelen inorganik iyodürün, tiroglobülindeki tirozil gruplarını iyodize edebilmesi için organik iyodine dönüşmesi gerekmektedir (20).

İyodür iyonlarının okside iyoda dönüşümü hidrojen peroksit ve peroksidaz enzimi ile sağlanır. Bu dönüşüm folliküler hücrelerin luminal yüzeyinde meydana gelir (10,19,20).

Atomik iyod (I₂) aktiftir ve hücre içinde tiroglobuline kovalent bağla bağlanır. Bu bağlanmaya organikleşme denir. Tirozin, iyoda affinitesi olan tek aminoasittir. Bir protein iyodlandığında, iyod tiroglobulinin tirozine bağlı fenil kısmının 3. ve 5. karbonlarına bağlanır. Bu bağlanmayı tirozin iyodinaz enzimi katalizler. Sonuç olarak; tiroglobulin içinde iyodlanan tirozin rezidüleri, monoiyodotirozin (MIT) ve diiyodotirozin (DİT) yapısını oluştururlar (Şekil 4) (1,12,19,20).

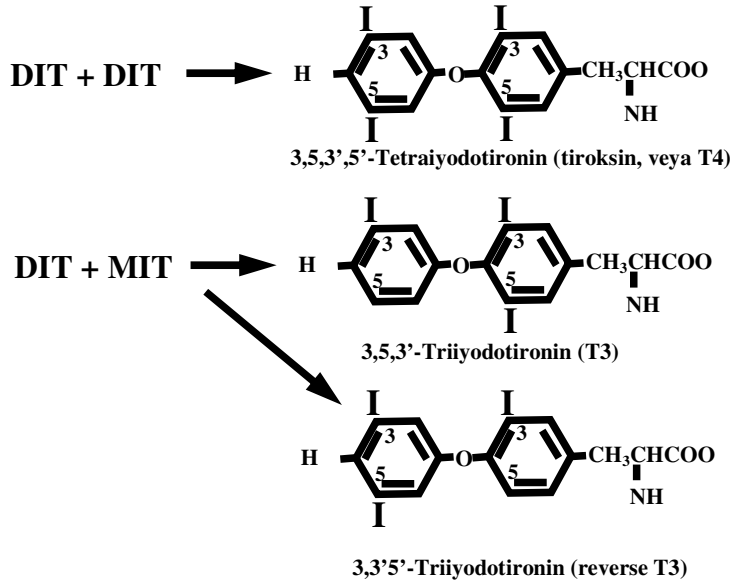


Şekil 4: Monoiyodotirozin (MIT) ve Diiyodotirozin (DİT) oluşumu (12).

İyod oksidasyona uğradıktan sonra, organik bileşiklere katılır (iyodinasyon). Bu basamağı thiourasil inhibe eder. İnorganik iyodür birikmesini, perklorat ve tiyosiyonat anyonları engellerler. (1,19,20).

Kenetlenme (Coupling)

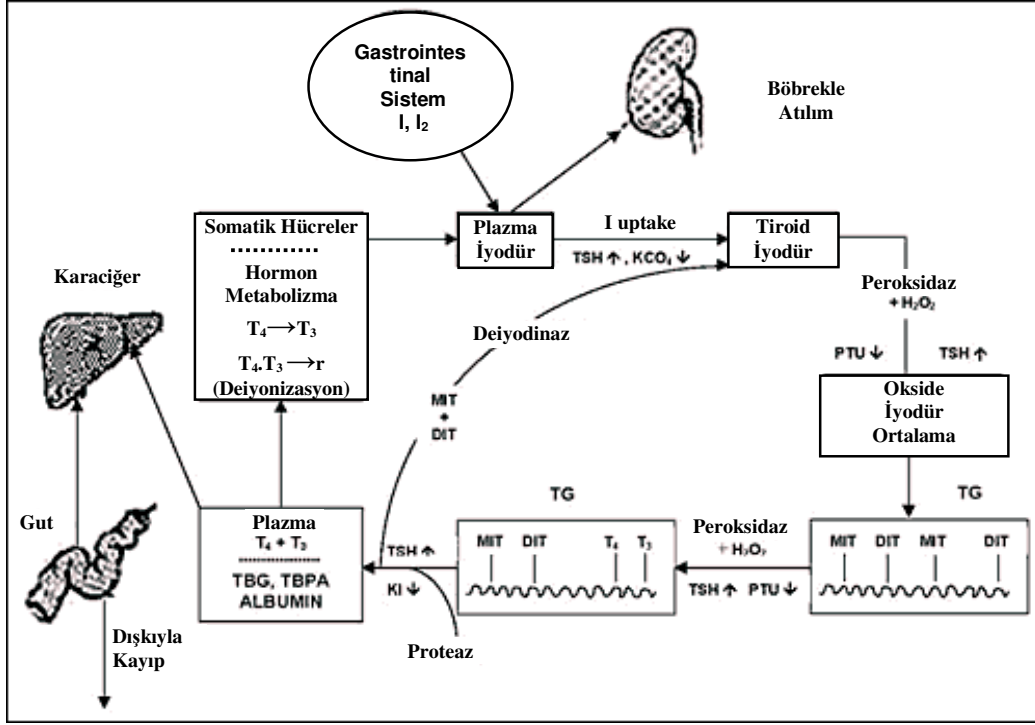
Tiroglobulin içinde iyodlanan tirozin rezidüleri, MİT ve DİT haline geçerler. Bu iyodlanmış rezidülerin bir kısmı molekülden kopar ve peroksidaz enzimi tarafından oksitlenir. Aktif hale geçen MİT ve DİT, alaninden oluşmuş alifatik yan zincirini kaybeder ve tiroglobulin içerisinde iyodlanmış DİT ile oksijen köprüsü oluşturarak birleşir. Tiroglobulin içerisinde tiroksin (T₄) veya triyodotironin (T₃) sentezlenmiş olur. Bu olaya kenetlenme denir (Şekil 5) (12,19,20).



Şekil 5: Tiroid hormonlarının biyokimyasal yapıları (12)

Depolanma ve salınmaları

Tiroglobulin molekülü içinde sentezlenen tiroid hormonları kolloid içinde depolanırlar. Depolanan hormonun salınması, tiroglobulin molekülünün kolloidden tekrar follikül hücresine geçmesi (endositoz), proteolitik parçalanma sonucu (proteaz veya peptid enzimleriyle) T₃ ve T₄' ün serbestlenir. Bu parçalanma esnasında MİT ve DİT de açığa çıkar. Hormonların kana salınması, TSH tarafından kontrol edilir (Şekil 6) (1,19,20).



Şekil 6: İyodür siklusu(20).

2.3. Tiroid Hormonlarının Yapısı

a. Tirosin (3',5'-3,5 tetraiyodotironin; T₄)

Tirosin iki DİT molekülünün birleşmesi ile oluşmaktadır. Tiroglobulindeki iyodinin yaklaşık % 30-40'ı T₄ üzerindedir. Serumda ise proteinlere bağlı iyodinin % 90'ı T₄'e aittir. T₄ hormonunun tamamı tiroide yapılır. Serum normal değeri ortalama 7,5 µg/ml olup, yarı ömrü 7 gündür. T₄'ün çok az bir kısmı (% 0.03) serumda serbest halde bulunur (12,20).

b. Triiyodotironin (3'-3,5 triiyodotironin; T₃)

Sağlıklı bir insanda serum total T₃ düzeyi 110-180 ng/dl olup, total T₃'ün yaklaşık % 0,3'ü serbest halde bulunur. Dolaşımdaki T₃'ün % 20'si tiroidden salınırken; % 80'i periferik dokularda T₄'den 5' iyodinaz enzimi aracılığıyla oluşur. T₃'ün yarı ömrü bir gündür (1,20).

2.4.Tiroid Hormonlarının ve Metabolitlerinin Taşınması

Tiroid hormonları, serumda taşıyıcı proteinlere bağlanarak taşınırlar. % 0,03 T₄, % 0,3 T₃ serbest fraksiyonları dokuların hormon ihtiyacını karşılamak ya da metabolik ürünleri oluşturabilmek için aktif haldedir. Bunlara serbest T₃ ve serbest T₄ adı verilir (1,3).

Tiroid hormonlarını taşıyan serum proteinleri, tiroksin bağlayan globulin (TBG), tiroksin bağlayan prealbumin veya transtiretin (TTR), albumin ve lipoproteinlerdir. Albuminin serum konsantrasyonu TTR'den 100 kat fazlayken, TBG'den 2000 kat fazladır. T₄'ün TBG'ye affinitesi TTR'den 50 kat yüksektir, albuminden ise 7000 kat daha fazladır. Sonuç olarak TBG serum T₄'ünün % 75'ini bağlarken TTR % 20'sini, albumin ise % 5'ini bağlar (1,23).

a. Tiroksin Bağlayan Globulin (TBG)

Tiroksin bağlayan globulin hepatositlerde yapılan ve salınan 54 kDa ağırlığında asidik bir glikoproteindir. Normal yetişkin serum konsantrasyonu 1,1-2,1 mg/dl'dir, yarı ömrü yaklaşık 5 gündür. T₄'ün TBG'ye bağlanma eğilimi T₃'den fazladır. TBG serum T₄ ve T₃'ün % 75'ini bağlar (19,23).

Protein serumda stabildir. Fakat 55 °C üstünde ve pH 4'ün altında hormon bağlanma özelliklerini kaybeder (19).

Tiroksin bağlayan globulin konsantrasyonu östrojen düzeyinden etkilenir. Gebelik veya oral kontraseptif kullanımı esnasında serum östrojen düzeylerinin artışına bağlı olarak TBG konsantrasyonu 2,5 kat kadar yükselir. Ayrıca kronik karaciğer hastalığı, akut hepatit TBG konsantrasyonunu arttırırken, androjenik ve anabolik hormonlar, glukokortikoid ilaçlar, sistemik bazı hastalıklar, akromegali gibi nedenler TBG'yi azaltırlar (19).

b. Transtiretin (TTR)

Transtiretinin çoğunluğu karaciğerde, pankreas adacık hücrelerinde ve beyin koroid pleksusunda bulunmaktadır. 55 kDa ağırlığında tetramer yapıdadır. Yarı ömrü

yaklaşık 2 gündür. Normal serum konsantrasyonu 25 mg/dl'dir. Maksimal bağlanma kapasitesi yaklaşık 300 µg T₄/dl' dir (maksimal T₄ bağlama kapasitesi) (1,12,19).

Tirotoksinin TTR'ye bağlanma eğilimi albuminden fazla, TBG'den azdır. T₃'ün TTR'ye affinitesi T₄'den azdır (19).

c. Albumin

Albumin 66.5 kDa ağırlığında ve karaciğerde sentezlenen proteindir. T₄'ün albumine bağlanma eğilimi TBG ve TTR'den azdır. Serum albumin düzeyi yüksek olduğundan T₄'ün yaklaşık % 20'si, T₃'ün ise % 10'u albumine bağlanarak taşınır (1,19,23).

d. Lipoproteinler

Lipoproteinlere T₄ bağlanması TTR'ye bağlanmasıyla benzerdir. Bu proteinler total T₄'ün yaklaşık % 3'ünü, total T₃'ün yaklaşık % 6'sını taşırlar (19,23).

2.5. Tiroid Hormonlarının Metabolizması

Sağlıklı insanlarda, tiroid glandı prohormon T₄ ile birlikte az miktarda biyoaktif T₃ hormonu üretir. Yani dolaşımdaki T₃'ün yaklaşık % 15'ini tiroid bezi karşılar. Geri kalan % 85'lik kısım ise T₄'ün dış halkasından bir iyod kaybetmesi ve T₃'e dönüşmesi ile sağlanır. Bu olay daha çok karaciğerde gerçekleşir (10).

Tirotoksin iç halkasından da iyod kaybedilebilir. Karaciğer dışında oluşan reaksiyon sonucunda reverse T₃ (rT₃) meydana gelir. rT₃ çok düşük metabolik aktiviteye sahiptir. Kronik böbrek ve karaciğer hastalıkları, açlık ve karbonhidrattan fakir diyetle beslenme serum T₃ düzeyi azaltırken, rT₃ düzeyini artırır (19).

Tirotoksinin etkili olabilmesi ve hücreye girmesi için aktif hormon T₃'e dönüşümü 5' deiyodinaz enzimleri ile sağlanır. Üç tip deiyodinaz enzimi vardır. Tip 1, 5' deiyodinaz enzimi karaciğer, dalak ve diğer dokularda bulunur. En önemli fonksiyonu plazmaya T₃ sağlamasıdır. Tirotoksikozda artan deiyodinaz aktivitesi propiltiyourasil tarafından bertaraf edilir. 5' deiyodinasyon reaksiyonu 5' deiyodinaz enzimleri

tarafından katalizlenir ve fenolik halkadan 5' ya da 3' pozisyonundaki iyot atomunun ayrılmasıyla oluşur (1,3,24).

Tip 2, 5' deiyodinaz ise beyin ve hipofizde yer alır. Asıl fonksiyonu merkezi sinir sisteminde ve adenohipofizde hücre içi T_3 seviyesini sabit tutmaktır. Propiltiyourasilden etkilenmez. Fakat dolaşımdaki T_4 'e karşı hassastır. Serum T_4 düzeyi yükseldiğinde, enzim yoğunluğunu düşürerek beyni artmakta olan T_3 etkisine karşı korur. Dolaşımdaki T_4 düzeyi de aynı şekilde ayarlanır (3,24).

Tip 3, 5' deiyodinaz, plasenta ve merkezi sinir sisteminde bulunur. Tip 3, 5' deiyodinaz enzimi ise tirozin halkasının 5 ya da 3 pozisyonundaki iyodun ayrılmasını gerçekleştirir. Fonksiyonu T_4 'i biyoaktif olan rT_3 'e, T_3 'ü de biyoaktif olan 3,3' diiyodotironine çevirerek fetus ve beyni T_4 'de olan ani değişikliklere karşı korumaktır (3).

Plazma ve hücre içi serbest tiroid hormonu oluşumunda denge mevcuttur. Denge bozulduğunda bağlı olan tiroid hormonlarından ayrılan serbest fraksiyonlar ve tiroidden salınan hormonlar dengeyi tekrar kurarlar (3,24).

2.6.Tiroid Hormonlarının Metabolik Etkileri

Genel olarak;

1. Vücudumuzda bazal metabolizma hızını arttırırlar.
2. Karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasını arttırır.
3. Isı oluşumunu arttırırlar.
4. Glikoliz hızını arttırırlar.
5. Mitokondrilerde protein sentezini arttırırlar.
6. Mitokondri sayısı ve aktivitesini arttırırlar (10,13,24,25).

a. Moleküler Düzeyde Tiroid Hormonu Etkileri

Plazmada proteine bağlı olarak dolaşan tiroid hormonlarının (T_3 ve T_4) serbest fraksiyonları, pasif difüzyon veya özel taşıyıcılar vasıtasıyla hücre membranını ve sitoplazmasını geçerler ve hücre nükleusuna ulaşırlar.

1. Periferik hücre içerisine giren dolaşımdaki ST_3

2. Hücre içerisindeki Tip 2, 5' deiyodinaz aracılığı ile T_4 'ün dönüşümü ile oluşan sT_3 spesifik reseptör olan kromatinlerdeki nükleer asidik proteinlere bağlanır. Bu bağlanma ile RNA transkripsiyonel aktivitesi artar ve protein sentezi uyarılır (3,13,19).

b. Bazal Metabolik Hız (BMH)

Bazal metabolik hız, oksijen harcanmasını yansıtır. Vücutta elde edilen enerjinin yaklaşık % 40'ı adenzin trifosfat (ATP) şeklinde depolanmaktadır. Tiroid hormon fazlalığında, depolanamayan enerji ısı şeklinde açığa çıkar (13).

Tiroid hormonları, plazma membranında Na^+/K^+ ATP sentetaz (ATPaz) aktivitesini uyarır, böylece Na^+-K^+ hücre membranından geçer. Na^+/K^+ pompası ile dış ortamdaki yüksek konsantrasyon nedeniyle hücre içine sızan Na^+ 'un fazlası hücre dışına pompalanırken K^+ ise hücre içine alınır. Böylece iyon dengesi korunur. Gereken enerji hücre membranında yer alan Na^+-K^+ -ATPaz enzimi ile hidrolize edilen ATP'den sağlanır, böylelikle ATP kullanımı artar. Tüm organizma tarafından tüketilen oksijenin büyük kısmı bu transport sisteminin devamı için kullanılır. (3,13).

Bazal metabolik hız hipertiroidizmde artar, hipotiroidizmde ise azalır. Hipertiroidizmde membran Na-K pompasının aşırı çalışmasıyla BMH'de artış meydana gelir, yağ dokusunda ve kas kitlesinde azalma olur (13,19).

c. Karbonhidrat Metabolizması

Tiroid hormonlarından T_3 , karaciğerde fosforilaz kinaz ve lizozomal α oksidaz aktivitesini artırır ve karaciğerde glikojen depolarının mobilizasyonuna sebep olur. Glikozun absorpsiyonu, kullanımı ve üretimi artar (12,13).

d. Yağ Metabolizması

Tiroid hormonları yağ dokusunda katekolaminleri uyararak lipolizi artırır, serumda serbest yağ asitlerinin artmasına neden olur (13).

Hipertiroidizmde, lipid depoları azalır, kolesterol yapımında artış olmasına karşılık kullanım ve safrayla atılım arttığından serum kolesterol seviyesi düşüktür, hipotiroidide ise serum kolesterol düzeyi yüksektir (13,19).

e. Protein Metabolizması

Tiroid hormonları yaklaşık 5 saat içinde protein sentezini artırır. Bu etki messenger RNA (mRNA)'daki artışa bağlıdır. Hipertiroidizmde yıkım, yapımdan fazla olduğundan negatif azot dengesi ve kas kitlesinde kayıp oluşur (13,19).

f. Kalsiyum, Fosfor Metabolizması

Tiroid hormonları kalsiyum absorpsiyonunu azaltırken, atılımı hızlandırırlar. Osteoblastik aktivite artışının yanı sıra kemik resorpsiyonunu da artırır. Uzun süreli tiroid hormon fazlalığında kemik demineralizasyonu gelişir (3,19,26).

2.7. Tiroid Hormonlarının Regülasyonu

Tiroid hormonlarının yapımının ve salınmasının kontrolü hipotalamus-hipofiz-tiroid eksenini ile periferik dokulardaki tiroid hormon seviyeleri ile düzenlenmektedir (16).

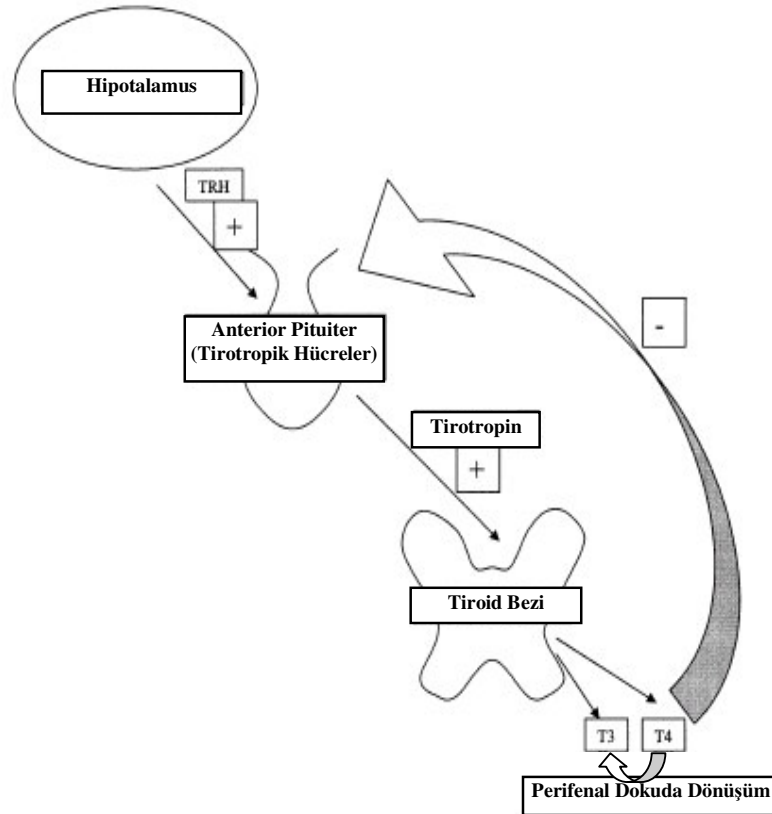
Tirotropin salgılatıcı hormon, hipotalamusun supraoptik ve supraventriküler bölgesindeki nukleusların hormonları tarafından sentezlendikten sonra hipotalamusun median eminence'ında depolanır. Hipofizin portal venöz sistemi ile adenohipofize taşınır. Adenohipofizde tirotrofların spesifik membran reseptörlerine bağlanır ve TSH salınımını sağlar (10,16).

Böylece G proteinin aktivasyonu sağlanmış olur. Fosfolipaz C'nin reseptöre bağlanması ve aktivasyonunun eşleşmesi özgün G proteini ile gerçekleşir. Fosfolipaz C,

fosfatidil inozitol 4, 5 bifosfatın inozitol trifosfat ve 1, 2 diaçil gliserol'e hidrolizini katalizler (3,16).

Diaçil gliserol, protein kinaz C'yi aktifleyebilme kapasitesine sahiptir. **Fosfatidil inozitol** 4, 5 bifosfatın hidrolizi protein kinaz C'nin aktivasyonunu sağlar ve sitoplazmik kalsiyum iyonu artışını uyarır. Hücre içi Ca^{+2} iyon konsantrasyonunun artışı TSH'ın ilk salınımını uyarır. TRH, TSH'ın glikolizasyonunu sağlayarak biyolojik aktivitesini artırır (3,16,27).

Tiroid hormonları ile adenohipofiz kaynaklı TSH ve hipotalamus kaynaklı TRH arasında negatif feedback mekanizması mevcuttur (Şekil 7). Ancak bu mekanizma serbest T_3 ile TRH ve TSH arasında işler. Serbest T_3 (sT_3), prepro-TRH geninin transkripsiyonunu ve böylece TRH'nun hipotalamustaki sentez ve sekresyonunu önler. Diğer taraftan T_3 , TSH yapımı üzerine de inhibitör etkilidir. Öyleyse hipofizde TSH'yı baskılayan T_3 'ün yarısı, hipofizdeki T_4 'ün T_3 'e dönüşümünden, diğer yarısı ise dolaşımdan gelir (3,12,16).



Şekil 7: Hipotalamus-Hipofiz-Tiroid eksenini (12)

Tirotroplardaki T₃ düzeyindeki artışın sonucunda;

1. Triiyodotironin; TRH'ı uyararak, TSH üzerinde inhibitör etki yapar.
2. Triiyodotironin, membrandaki TRH reseptör sayısını azaltır ve TSH'nun TRH'na cevabını zayıflatır.
3. Tiroid stimulan hormon; TRH'ın parçalanmasını sağlayan proglutaminopeptidaz enzimini aktive eder ve mRNA transkripsiyonunu inhibe eder (3,16,20).

2.8. Benign Tiroid Hastalıkları

A. Hipotiroidi

Hipotiroidi, tiroid hormonlarının eksikliği veya nadiren etkisizliği sonucu ortaya çıkan sendromdur ve hipotiroidide metabolik yavaşlama sözkonusudur (3).

Hipotiroidi bebeklik (kretinizm) ve çocukluk döneminde (Jüvenil hipotiroidizm ve jüvenil miksödem) ortaya çıktığında kayda değer büyüme ve gelişme geriliğine sebep olduğundan erken tanı ve zamanında tedavi önemlidir (1,3).

Hipotiroidi, primer tiroid patolojisine bağlı olarak Primer Hipotiroidi (tiroid bezi kökenli) veya Sekonder Hipotiroidi (hipofiz kaynaklı TSH yetersiz) veya Tersiyer Hipotiroidi (hipotalamus kaynaklı, TRH yetersiz) gibi sınıflandırılabilir. Bazen tiroid hormonlarının periferik etkisizliğe bağlı oluşabilmektedir (4,11).

Metabolizmadaki Değişiklikler

Enerji metabolizmasında oluşan yavaşlama O₂ tüketiminde azalmaya, bazal metabolizma hızının düşmesine, iştah azalmasına, bazal beden ısısının azalmasına ve soğuk intoleransına neden olur (1,4).

Protein sentezinde ve degradasyonunda azalma söz konusudur. Kemik ve yumuşak dokularda büyüme duraklaması hem büyüme hormonunun sekresyonunun hem de etkisinin azalması sonucu oluşur. Bu da tiroid hormon kaynaklıdır (19,26).

Lipidlerin sentez ve degradasyon hızı düşmüştür. Post-heparin lipolitik aktivite azalmış, lipidlerin degradasyon bölgelerine geçişi yavaşlamıştır. Primer hipotiroidide kolesterol yüksekliği mevcuttur. Trigliseridlerde artış olabilir. Yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterol ve serbest yağ asitleri azalmıştır, düşük dansiteli lipoprotein (LDL) yükselmiştir. Serbest yağ asitlerinin mobilizasyonu yavaşlamıştır (1,4,26).

Hipotiroidi Tanısı

Tanıda önemli parametreler tiroid hormonları ve TSH'dır. Duruma göre tiroid oto antikorları, tiroid hormon (TH) antikorları, TSH testi istenebilir. Tiroid hormonlarının total ve serbest fraksiyonları ölçülür (3,4).

Serbest T₄ (sT₄) düşük ve TSH değeri yüksek ise primer hipotiroidi tanısı konur. Serum T₃ düzeyleri değişkendir. Belirgin hipotiroidide TSH genellikle >20IU/L'dir. Tüm hipotiroidi tiplerinde serum T₄ ve ST₄ indeks (ST₄I) (T₄*T₃U) düşüktür. Primer hipotiroidizmde, T₃ azalması T₄'e göre daha azdır ve bu da tanıda önemsizdir. Yüksek TSH düzeyine rağmen, normal sT₄ düzeyi subklinik hipotiroidi göstergesidir (1,11).

Sekonder hipotiroidide TSH azalmasının yanısıra diğer ön hipofiz hormonlarının adrenokortikotropik hormon (ACTH), folikül uyaran hormon (FSH), luteinizan hormon (LH), büyüme hormonu (GH) azalması da söz konusudur (1,3,11).

Tiroid antikorları, otoimmün hipotiroidizmin tanısını kesinleştirir. Mikrozomal antikor (Anti TPO) ve anti-TG antikorlar pozitif olması durumunda Hashimoto tiroiditini düşündürür (1,4,28).

Tiroid hormonlarına direnç durumunda ise tiroid hormonları yüksek bulunur, TSH'da yüksek veya azalmamış vaziyettedir (1,3).

I-131 yakalama testi genellikle düşük olmakla beraber normal veya çok yüksek de bulunabilir (3).

Primer hipotiroidi de TRH testine başvurulduğunda, aşırı TSH artışı şeklinde cevap alınabilir. Hipofizer yetmezliğe bağlı hipotiroidide TRH'dan sonra TSH artışı görülmez. Hipotalamik hipertiroidide ise ya kısmi cevap mevcuttur veya TSH artışı

normal sınırlardadır. Fakat zamanlama farkı vardır; normale kıyasla artış daha geç oluşmaktadır (1,4).

Hipotiroidide bazal metabolizma hızı düşüktür. Aspartat amino transferaz (AST), laktik dehidrogenaz (LDH), kreatin fosfokinaz gibi enzimler artabilir. Kolesterol, trigliserid, karsino embriyonik antijen ve karoten sıklıkla yükselmiş, angiotensin konverting enzim azalmıştır (1,3).

Kolesterol düzeyindeki artışın nedeni ise hepatik LDL reseptör sayısının ve lipoprotein lipaz aktivitesindeki azalmadır. Homosistein ve C-reaktif protein (CRP) düzeyleri de artar. Bu lipid profili aterosklerotik olup, koroner arter hastalığının hipotiroidili hastalarda sık görülmesinin başlıca nedenidir (1,4,11).

B. Tirotoksikoz (Hipertiroidi)

Hipertiroidi tiroid hormon yapımının artışıyla oluşan klinik tablodur. Tiroid hormonları bazı durumlarda ektopik olarak struma ovarii ve metastatik folliküler kanser gibi dokulardan da salgılanır, bu durumda hepsine birden tirotoksikoz denir (1,3).

Tirotoksikoz, kanda tiroid hormonlarının (T_4 , T_3) artması sonucunda metabolizmanın hızlanması ve sempatik sinir sistemi aktivasyonu ile seyreden bir hastalıktır (1,2).

Graves hastalığında ise TSI (Tiroid Stimulan Immunoglobulinler) 'in varlığı sözkonusudur. TSH reseptörüne (TSH-R) karşı gelişen uyarıcı TSH reseptör antikörlerinin (TSH-RAB) etkisi ile meydana gelir. Graves hastalığında tespit edilebilen TSH-RAB tiroid dokusunda değişik etkileri görülür. Bunlardan en önemlisi, tiroid hormon sentezini artırır. Reseptör antikörleri, hücre proliferasyonuna ve guatr oluşumuna sebep olabilecek veya tiroid hormon yapımını ve hücre büyümesini engelleyebilecek etkiler gösterebilirler (2,3,11,29).

Metabolizmadaki Değişiklikler:

Enerji metabolizması ve ısı oluşumu normale nazaran daha çok uyarılır. Bu durum da bazal metabolizma hızını, iştahı, bazal vücut ısısını artırırken, sıcağa tahammülü azaltır. Gıda alımı arttığı halde kilo kaybı söz konusudur. Bunun sebebi ise kişinin

kendini aşırı enerjik hissetmesidir. Fakat sağlıklı bir bireye göre daha çabuk yorulurlar (2,3).

Protein sentezinde artış mevcuttur fakat katabolizma derecesi daha çok arttığından, vücut doku proteinleri parçalanır. İdrarla nitrojen atımı artar ve negatif nitrojen dengesi söz konusudur. Trigliserid ve kolesterol sentezi artmıştır, fakat yıkım hızı daha fazla olduğundan plazma yağ asidi düzeyi yükselir, kolesterol düzeyi düşer (1,26).

Hipertiroidi Tanısı

Tiroid stimulan hormon saptanamayacak kadar düşük veya baskılıdır. ST₃ ve ST₄ düzeyleri yüksektir. Tiroglobulin düzeyi yüksektir. Aşırı T₄ alınmasına bağlı gelişen hipertiroidi de tiroglobulin düzeyleri düşük bulunur (1,3).

Otoimmunitenin varlığını tespit etmek için, anti-TPO (mikrozomal antikor) ve anti-TG (tiroglobulin) antikorları istenebilir. Karaciğer enzimlerinde aspartat aminotransferaz (AST), alanin amino transferaz (ALT), alkale fosfataz (ALP), gamma glutamil transferaz (GGT) artış söz konusudur. Kolesterol ve trigliserid gibi lipid düzeylerinde azalma saptanır (2,3,11).

2.9. Tiroid Fonksiyon Testleri

a. Direkt Tiroid Fonksiyon Testleri

Direkt olarak tiroid fonksiyonu radyoaktif iyodun tiroid dokusu tarafından tutulma oranının hesaplanmasıyla araştırılır. Radyoaktif iyodun oral yolla verilmesinden sonra, maksimum tutulumun olduğu 24. saatte tiroid bölgesinde radyoaktivite ölçülür (1,30).

Tiroid içi iyodun organifikasyonu verilen radyoaktif iyodun, potasyum perklorat ile geri atılımı ölçülerek belirlenir. Normal organifikasyona sahip kişide yeni iyot uptake'i oluşmaz, tiroide toplanan iyodun % 0,5'inden daha azı atılır. Organifikasyon bozukluğu söz konusu ise, tiroidden atılan iyot miktarı bu değerlerin üstüne çıkar (11,31,32).

b. Hipotalamik-Hipofizer-Tiroid Eksenine İlgili Testler

Hipotiroidizm ve tirotoksikozun tanısında ve tedavisinin takibinde bazal serum TSH tayini kullanılır. Duyarlı TSH sağlıklı kişilerde 0,3-3 mU/L arasındadır. Tirotoksikozda serum TSH düzeyi ölçülemeyecek kadar düşük (< 0.1 mU/L) bulunur (11).

Tirotropin salgılatıcı hormon uyarı testi, TSH'ın salgılanma mekanizmasını araştırmak için yapılır. Damar yolu ile verildikten sonraki 20-45 dk. arasında TSH'da maksimum artış gözlenir. Tiroid hormon direnci olmayan vakalarda ve tirotoksikozda TRH'nuna TSH'nun yanıtı cevapsız, hipotiroidizmde ise aşırı cevap şeklindedir (1,11,30,31).

Triiyodotironin süprasyon testi, tiroid fonksiyonlarını belirler. Sağlıklı kişilerde tiroid bezinin aktivitesi dışarıdan verilen tiroid hormonları ile baskılanırken tirotoksikozda bu etki oluşmaz (3,11,31).

c. Tiroid Hormonlarının Kandaki Miktarı ve Bağlanması İle İlgili Testler

Klinik olarak tiroid hastalığından şüphe edildiğinde, TSH ve serbest T₄ ve/veya serbest T₄ indeksi tayini en doğru bilgiyi verir. Sağlıklı kişide, bağlayıcı proteinler normal aralıkta ise, total T₄ 5-11 µg/dl (64-142 nmol/l)'dir. Serum T₃ düzeyi, TSH ve ST₄/ST₄ I' i tanıyı destekleyici testlerdir (11,30).

Klinik olarak hipertiroidizmli, düşük TSH ve ST₄/ST₄ I normal olan hastalarda T₃ tayini yapılmalıdır. Normal T₃ değeri 70-190 ng/dl (1,1-2,9 nmol/l)'dir. İn vitro uptake testleri, TBG'nin tiroid hormonlarınca bağlanmamış bölgelerini gösterir. Hipertiroidide artarken, hipotiroidide azalır (3,11,31).

d. Tiroid Hormonlarının Metabolik Etkileri ile İlgili Testler

Bu testler periferik dokular üzerinde hormon etkisinin olup olmadığını araştırır. Tiroid hormonları, enerji sarfiyatını ve ısı üretimini artırır. BMH vücudun ısı üretimindeki oksijen kullanımını ölçer. Kullanılan oksijen miktarı, hastanın vücut yüzeyine göre değerlendirilir. Sonuç % 150 ise BMH +50 anlamındadır ve tirotoksikozu düşündürür. Normal sınırlar (-20 ile +10) arasındadır (11,30).

e. Diğer Testler

Serum kolesterolü ile tiroid fonksiyonları arasında ters ilişki vardır. Tirotoksikozda serum kolesterolü azalır, primer hipotiroidizmde ise artar (3,11).

Otoimmün tiroid hastalıklarında tiroid antijenlerine karşı gelişen otoantikolar tanıya yararlıdır. Antimikrozomal ve antitiroperoksidaz antikoları kronik otoimmün tiroid hastalıklarının % 90'ından fazlasında, Hashimoto tiroitinin % 100'ünde ve Graves hastalığının % 80'inde pozitif çıkmaktadır. Antitiroglobulin (Anti TgAb) antikoları, Anti TPOAb'ye göre daha az duyarlıdır (1,3,30).

Tiroid stimulan hormon reseptörü Graves hastalığından sorumlu otoantijendir. TSH-RAB, TSH reseptörü ile bağlanarak adenilat siklazı uyarır ve tiroidin büyümesini sağlarlar. Tiroid hormonlarının yapımını ve salınımını sağlarlar (11,30,31).

2.10. Serbest Radikaller

Atomlar ve kimyasal bileşiklerin sahip oldukları elektronlar, her orbitalde ikişer tanesi eşleşmiş biçimde ve ters spinli olarak bulunurlar. Orbitalerin ters spinli elektronlarla doyurulması atom ve moleküllerin kararlılığını artırır, reaktivitelerini azaltır (33).

Serbest radikaller, atomik veya moleküler yörüngesinde bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş elektron bulduran molekül veya iyonlardır. Radikal türleri pozitif, negatif yüklü olabilecekleri gibi, yüksüz de olabilir (33,34,35).

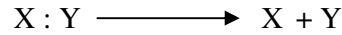
Serbest radikaller ortaklanmamış elektronlara sahip olmalarından ötürü oldukça reaktiftirler ve bu yüzden çevrelerindeki atom ve moleküllere saldırırlar. Kısa ömürlüdürler. Radikal olmayan maddelerle kolay etkileşime girmeleri onları da radikal yapmaları ve bir dizi zincir reaksiyonu başlatmalarından ötürü çok tehlikelidirler (33,34).

Radikaller aerobik hücrelerde metabolizma esnasında veya patolojik durumlarda yan ürün olarak oluşabilmektedir ve hücrelerde geri dönüşümlü veya dönüşümsüz değişikliklere sebep olabilmektedirler. Oksidasyon, fragmantasyon, köprüleşme (disülfid, protein-protein, protein-lipid bağlantısı), protein sarmalında kesilme, floresans

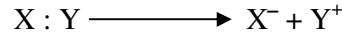
şeklindeki değişimler sonucunda hücrelerde doku ve/veya organ hasarı oluşabilir. Hücreler serbest radikallerin verdiği hasardan endojen radikal süpürücü proteinler, enzimler ve kimyasal bileşikler sayesinde korunur (34,36).

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler:

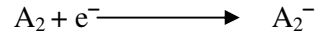
1. Homolitik Parçalanma: Kovalent bağlı bir molekülde bağın ayrılmasıyla her bir radikalde ortak elektronlardan birinin kalarak homolitik bölünmesidir.



2. Heterolitik Parçalanma: Molekülün bir elektron kaybı veya heterolitik bölünmesidir. İki farklı yüklü iyon oluşur.

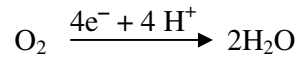


3. Elektron Transferi: Bir moleküle bir elektronun eklenmesi veya çıkarılmasıyla oluşur (34,36,37).

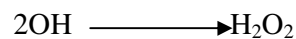
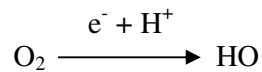
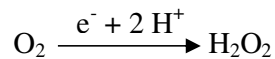
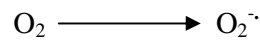


A. Serbest oksijen radikalleri ve reaktif oksijen türleri

Organizmada oluşan serbest radikallerin çoğunluğu metabolik reaksiyonlar sırasında oksijenin tek elektronlu indirgenmesiyle oluşur (36).



Bu reaksiyonun birer elektronlu basamakları:



Oksijen atomunun dış yörüngesindeki orbitalde iki elektron eksikliğinin olmasından dolayı “diradikal” terimi kullanılır. Bu özellik ona diğer radikallerle reaksiyona girme kolaylığını sağlar. Radikal olmayanlarla ise daha yavaş reaksiyona girer. Oksijen, metabolizmada en son suya indirgenir. Kısmi olarak indirgendiğinde çok sayıda reaktif oksijen türleri oluşmaktadır (Tablo 1) (34,37,38).

Serbest radikal reaksiyonları, bağışıklık sistemi hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin savunma mekanizması için gereklidir. Bunun yanı sıra fazla üretimi doku hasarı ve hücre ölümüne yol açmaktadır (34,35,38).

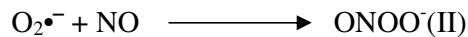
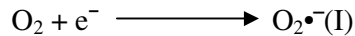
Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbohidratlar gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler ve yapılarının bozulmasına neden olurlar. Biyolojik sistemlerdeki reaktif oksijen türleri (**ROT**), süperoksit anyonu (**O₂^{-•}**), hidroksil radikali (**•OH**), nitrik oksit (**NO•**), peroksil radikali (**ROO•**) gibi serbest radikaller ve radikal olmayan hidrojen peroksit (**H₂O₂**) oksidatif stresin başlıca nedenleridir (37).

Tür	Adı	Tür	Adı
¹ O ₂	Singlet oksijen	NO	Nitrik oksit
O ₂ ^{-•}	Süperoksit	NO ₂ [•]	Nitroje dioksit
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit	NO ₂ ⁺	Nitril katyonu
OH	Hidroksil radikali	NO ^{-•}	Nitroksil
ROO•	Peroksi radikali	NO ⁺	Nitrozil (nitrozonyum iyonu)
ROOOH	Hidroperoksit	ONOO ^{-•}	Peroksinitrit
RO•	Alkoksi radikali	ONOO•	Peroksinitrit radikali
ROOR	Endoperoksit	N ₂ O ₃	Dinitrojen trioksit
HO ₂ [•]	Hidroperoksi radikali	N ₂ O ₄	Dinitrojen tetroksit

Tablo 1: Oksijenden ve nitrik oksitten oluşan başlıca reaktif türler (38).

1. Süperoksit Radikali (O₂^{-•})

Hemen hemen tüm aerobik hücrelerde, oksijenin bir elektron alarak indirgenmesiyle süperoksit radikal anyonu (O₂^{-•}) (I) meydana gelir. Süperoksit nitrik oksitle reaksiyona girerek azot dioksit (NO₂), hidroksil radikali (•OH), nitronyum iyonu (NO₂⁺) gibi toksik ürünlere dönüşebilen peroksinitriti(II) (ONOO^{-•}) oluşturur (34,39,40).

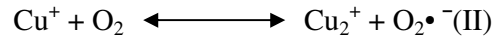
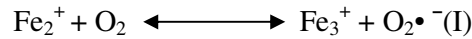


Süperoksit radikali membranları kolaylıkla geçemediğinden, belli başlı tahrip edici etkisi yoktur. Genellikle hidrojen peroksit kaynağı ve geçiş metalleri indirgeyicisi olarak bilinir (36).

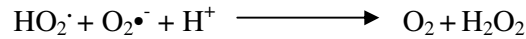
Süperoksit radikali mitokondriyal solunum sırasında oluşur. Mitokondrielerde kullanılan oksijenin % 2'si süperoksit haline dönüşür. Oksijen mitokondride indirgendiğinde primer ürün sudur (38,41).

Süperoksit anyonu ve hidroksil radikali diğer moleküllerin elektronlarını çekerek enerji gereksinimlerini karşılarlar, hem oksitleyici hem de redükleyici anyonlar olarak bilinirler (34,38).

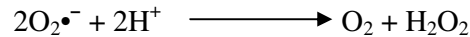
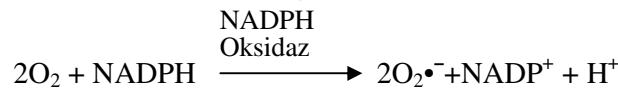
Süperoksit indirgenmiş geçiş metallerinin otooksidasyon reaksiyonu ile de oluşabilmektedir. Bu reaksiyonlar geri dönüşümlüdür.



Süperoksit düşük pH' da protonlanarak perhidroksil ($\text{HO}_2\bullet$) radikalini oluşturur. Süperoksit ve perhidroksil radikali süperoksit dismutaz (SOD) enzimi aracılığı ile etkileştiğinde biri okside olurken diğeri indirgenir. Bu dismutasyon reaksiyonunda O_2 ve H_2O_2 oluşur (34,39).

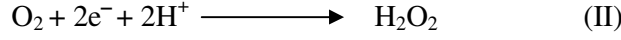
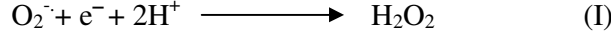


Fagositik hücreler (nötrofiller, monositler, makrofajlar, eozinofiller) bazı biyolojik hedeflerin tahrip olmasına sebep olan ve enfeksiyonlara karşı hücrel cevabı başlatan hücrelerdir. Nötrofillerde süperoksit radikali NADPH oksidaz enzimi aracılığı ile yapılır. Önce fagosit uyarılır ve sonra NADPH oksidaz enzimi aktive olur, redükte piridin nükleotidlerinden (NADPH) iki elektron iki molekül oksijene transfer edilir. Böylece iki molekül $\text{O}_2\bullet^-$ oluşur (34,38).



2. Hidrojen Peroksit

Moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron alması (I), süperoksitin ise bir elektron almasıyla (II) hidrojen peroksit oluşur (34).



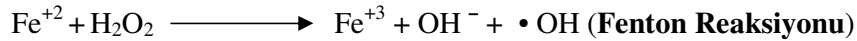
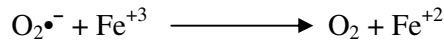
Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin başlıca üretimi süperoksit dismutasyonu ile gerçekleşir. İki süperoksit molekülü iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar. Reaksiyon sonunda radikal olmayan ürünler meydana geldiğinden; bu bir dismutasyon reaksiyonudur. Bu reaksiyon, spontan olarak veya süperoksit dismutaz enzimi tarafından katalizlenir (34,40).



Hidrojen peroksit, süperoksit radikali ile etkileşime girerek, en reaktif ve zarar verici olan hidroksil radikalini oluşturabildiğinden reaktif oksijen türleri (ROT) içinde tanımlanır (36).



Katalizörsüz ortamda H_2O_2 ve $\text{O}_2^{\bullet-}$ antioksidanlar tarafından temizlenir. Demir gibi geçiş metalleriyle katalizlenen tepkimeler çok daha hızlı oluşur. Tepkimede önce ferri demir (Fe^{+3}), süperoksit tarafından ferro demire (Fe^{+2}) indirgenir. Bu ferro demirle Fenton Tepkimesi aracılığıyla hidrojen peroksitten $\bullet\text{OH}$ ve OH^- üretilir (38).

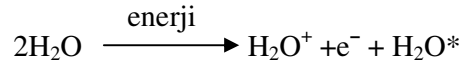


Hidrojen peroksit, peroksizomlarda katalaz (CAT) mitokondri ve sitozolde glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimleri tarafından suya dönüştürülerek indirgenir (41,42).

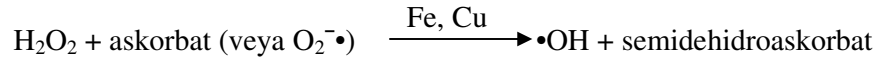
3. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali çok reaktif ve kısa yarı ömürlü oksitleyici bir ajandır. Nonradikal moleküllerle zincirleme reaksiyonları başlatabilme kapasitesi olduğundan büyük hasara neden olur (34).

Hidroksil radikali, iyonize edici radyasyonun etkisiyle sulu ortamda su moleküllerinin iyonlaşmasıyla oluşur. Uyarılmış su molekülü (H_2O^*) homolitik parçalanma ile; H_2O^+ ise bir başka su molekülü ile reaksiyona girerek hidroksil radikalini oluşturur (38).



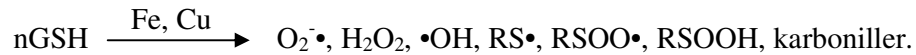
Hidrojen peroksitin iki elektronla indirgenmesiyle su oluşurken, tek elektronla indirgenmesi sonucu $\bullet OH$ oluşur. Bu tepkime Fe, Cu gibi metal iyonlarıyla katalizlenir. Askorbik asit, süperoksit gibi indirgeyici ajanların varlığında, okside metal iyonu tekrar indirgenir ve H_2O_2 'ten $\bullet OH$ yapımı devamlı hale gelir (43).



Haber-Weiss tepkimesi ile $\bullet OH$ oluşum miktarı, üretilen H_2O_2 derişimine ve metal iyonunun varlığına bağlıdır. Süperoksitin H_2O_2 'nin prekürsörü ve aynı zamanda metal iyonlarını indirgeyici rolünden dolayı; biyolojik koşullarda süperoksit yapımının arttığı ortamda $\bullet OH$ üretimi de artar (38,44,45).

Hidroksil radikali, eşleşmemiş elektron içeren dış orbitaline elektron alma ilgisine sahiptir. Bu sebeple; a) Elektron transfer tepkimeleri, b) Hidrojen çıkarma tepkimeleri ve c) Katılma tepkimelerine katkıda bulunmaktadır (38).

Metal iyonları varlığında glutatyon (GSH) ve askorbik asit gibi antioksidanlar prooksidan gibi davranırlar.



Canlılarda metal iyonları •OH yapımını katalizledikleri için radikal hasarlarından birinci derecede sorumludur. Metal iyonları proteine bağlı formda tutuldukları takdirde bu etkiye sahip değildirler (38,43,44).

4. Singlet Oksijen (¹O₂)

Singlet oksijen (¹O₂), dış yörüngesinde ortaklanmamış elektronu olmadığından nonradikal reaktif oksijen molekülüdür. Oksijenin enerjetik uyarılmasıyla oluştuğundan spin kısıtlaması yoktur ve reaktivitesi çok yüksektir. Oksijen elektronlarından birinin enerji alarak kendi spininin ters yönündeki bir başka orbitale yer değiştirmesiyle oluşmaktadır (34,36).

Singlet oksijen, uyarılmış elektronların daha düşük enerji seviyesine düşmesiyle ışık yayar. Kimyasal bir bileşikle etkileşimi sonucunda meydana gelen kemilüminesans ölçülerek reaktif oksijen türlerinin direkt tayini yapılabilmektedir (34,38).

Pigmentlerin (flavin içeren nükleotidler, renital, bilirubin gibi) oksijenli ortamda ışığı absorplamasıyla, metal varlığında katalizlenen hidroperoksitlerin yıkım reaksiyonlarında, spontan oluşan dismutasyon tepkimelerinde (fagozom içerisinde), prostaglandin endoperoksit sentaz reaksiyonları ve bazı sitokrom P450 tepkimelerinde vücutta singlet oksijen meydana gelebilir (34,38).

Singlet oksijen diğer moleküllerle karşılaştığında mevcut enerjisini transfer edebileceği gibi kovalent tepkimelere de girebilir. Karbon-karbon çift bağları sayesinde, peroksi radikalini (ROO•) meydana getirir ve lipid peroksidasyonunu başlatabilir (38,43).

B. Serbest Radikal Kaynakları

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu, anabolik ve katabolik reaksiyonlar sırasında elektron kaçakları sonucunda meydana gelebilir. Ayrıca bazı yabancı maddelerin (ksenobiyotikler) metabolize edilmesi ve organizmanın radyasyon gibi dış etkenlere maruz kalmasıyla da oluşabilir. Bu nedenle serbest radikal oluşumunu sağlayan mekanizmalar endojen ve eksojen kaynaklar olarak ikiye ayrılmaktadır (Tablo 2) (34,36,46).

Endojen Kaynaklar	Eksojen Kaynaklar
Mitokondriyal elektron transport zinciri	İlaç oksidasyonları (Ör.Parasetamol, CCL)
Kloroplast elektron transport zinciri	İyonize radyasyon
Oksidan enzimler: Ksantin oksidaz	Güneş ışığı
İndolamindioksijenaz	X-ışınları
Triptofan dioksijenaz	UV-ışınları
Galaktoz oksidaz	Isı şoku
Siklooksijenaz	Glutasyonu okside eden maddeler
Lipooksijenaz	Ortam havası
Mono aminooksidaz	Sigara dumanı
Fagositik hücreler:	Ozon
Nötrofiller	Kükürtdioksit
Monosit ve makrofajlar	Egzos gazları
Eozinofiller	
Endotelial hücreler	
Oto-oksidasyon reaksiyonları (Fe ⁺ , epinefrin)	

Tablo 2: Hücredeki serbest oksijen radikal kaynakları (46)

1. Endojen Serbest Radikal Kaynakları

Aerobik metabolizma esnasında serbest radikal yapısında ara ürünler sürekli olarak meydana gelmektedir (36).

Küçük Moleküllerin Otoksidasyonu

Tiyoller, hidrokinonlar, katekolaminler, flavinler, tetrahidrobiyopterin gibi pek çok bileşik otoksidasyon ile serbest radikal oluşumuna sebep olmaktadır (47).

Enzimler ve Proteinler

Ksantin oksidaz, aldehit oksidaz ve triptofan dioksijenazın katalitik reaksiyonları sırasında serbest radikaller açığa çıkar (34).

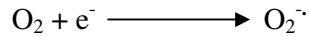
Ksantin oksidaz normalde nikotinamid adenin dinükleotid (NAD)-bağımlı dehidrogenaz olarak etki eder. Fakat iskemi döneminde enzim ksantin dehidrogenaz formundan ksantin oksidaza dönüşür ve dokuda ksantin oksidaz oranı % 10'luk fizyolojik oranın üstüne çıkar. Reperfüzyonla moleküler oksijenin fazla miktarda dokuya girmesi ve ksantin oksidazla reaksiyonu sonucunda ürik asit ve süperoksit anyon radikali (O₂⁻) oluşur (34,47,48,49).

Hemoglobine oksijen bağlanmasıyla güçlü bir oksidan olan süperoksit anyonu oluşur (50).

Ksantin oksidaz ve aldehit oksidaz enzimlerinin substratlarının çoğu aynı olup, süperoksit radikali üretirler. Bunların haricinde dihidroorotat dehidrogenaz, flavoprotein dehidrogenaz, aminoasit oksidaz ve triptofan dioksijenaz gibi enzimler de radikal oluşumuna neden olurlar (34).

Mitochondriyal Elektron Transport Zinciri

Mitochondriyal elektron transport zincirinden (ETZ) elektronların kaçıp moleküler oksijenle direkt olarak reaksiyona girmesi O_2^- radikalini oluşturur. Oluşan serbest radikaller önce mitokondride ve sonra hücrede hasara yol açmaktadır. Hasar ROT oluşumunu daha da arttırmaktadır (47,51,52).



Süperoksit radikallerinin üretimi ve salınımı iç mitokondri membranından sitozole doğrudur. Mangan süperoksit dismutaz (Mn-SOD) aktivitesinin yüksek oluşundan dolayı süperoksit miktarı dengede tutulabilirken hidrojen peroksit mitokondri membranını geçer ve sitoplazmaya ulaşır (47).

Mikrozomal Elektron Transport Zinciri

Endoplazmik retikulumda birçok endojen maddelerin ve ksenobiyotiklerin metabolizması sırasında serbest radikaller üretilir. Elektron kaçaklarının olduğu en önemli yapı NADPH sitokrom P₄₅₀ redüktaz enzimidir (34,47).

Burada oksijen kaynağı olarak moleküler oksijen ve peroksitler kullanabilir, böylece peroksidaz gibi etki eder. Bazı durumlarda, sitokrom P₄₅₀ aşırı miktarda süperoksit üreten bir izoenzime dönüşür (34).

Elektron transport sistemlerinin metabolizmasında sadece oksijen türevi radikaller oluşur fakat ksenobiyotiklerin metabolizması sırasında yüksek toksiteye sahip karbon merkezli radikaller de oluşabilir (34,38).

Peroksizomlar

Peroksizomlar hücre içi hidrojen peroksit kaynağıdır. Burada süperoksit radikalinden bağımsız olarak bol miktarda H₂O₂ üretimi gerçekleşir. Katalaz aktivitesi çok yüksek olduğundan organelden sitozole geçebilen H₂O₂ miktarı bilinmemektedir (34).

Solunum Patlaması

Fagositoz esnasında nötrofiller, NADPH oksidaz ve myeloperoksidaz enzimleri aracılığıyla serbest oksijen radikallerini ve yüksek okside edici güce sahip hipoklorik asit gibi antibakteriyal ajanları üretirler. Kan hücreleri tarafından reaktif oksijen türleri (ROT) fazla salgılanırsa yarar yerine zarar verici olur (47,52).

2. Ekzojen Serbest Radikal Kaynakları

Dış etkenlerin etkisiyle oluşan reaksiyonlar sonucunda da serbest radikaller açığa çıkabilmektedir (34,47).

Bu etkenler şu şekilde sıralanabilir;

-Antineoplastik ajanlar

-Radyasyon

-Alışkanlık yapan maddeler: Alkol ve uyuşturucular.

-Çevresel ajanlar: (Ksenobiyotikler, hava kirliliği yapan fotokimyasal maddeler, hiperoksi, pestisitler, sigara dumanı, solventler, anestezi maddeler, aromatik hidrokarbonlar).

-Stres: Streste katekolamin düzeyi artar. Katekolaminlerin oksidasyonu ise serbest radikal kaynağıdır (34,42,53,54).

C. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşiklerine etki ederler. Nötralize edilemeyen serbest radikaller vücutta ciddi hasarlar meydana getirebilir.

1. Membran lipid ve proteinlerini yıkarak hücre membranını sertleştirir ve hücre fonksiyonunu engellerler. Membrandaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle zincirleme tepkimeye girerek lipid peroksidasyonunu başlatır ve bunun sonucunda lipid radikalleri oluşur. Radikaller biraraya gelerek konjuge dienleri oluştururlar. Oksidasyonla konjuge dienler parçalanır ve malondialdehit ara ürün olarak meydana gelir. Malondialdehit miktarındaki artış hasarın ciddiyetini yansıtır. Oluşan membran hasarı geri dönüşümsüzdür (34,55).

2. Nüklear membranını yararak nükleusdaki genetik materyale etki edip DNA çift sarmalının ayrılmasına veya nükleik asit baz değişimlerine neden olurlar. Bu da DNA'yı kırılma ve mutasyonlara hazır hale getirir. Hidroksil radikalının DNA hasarı veya lipid peroksidasyonu aracılığıyla membran hasarı ve tümör oluşumuna katkıda bulunduğu bilinmektedir (34,56).

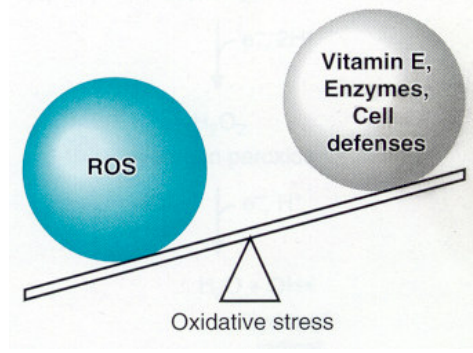
3. Reaktif oksijen türleri protein aminoasit yan zincirlerinde oksidasyon ve protein-protein çapraz bağ oluşumuna yol açarlar. Bunun sonucunda proteolizise yatkınlık oluşur ve normal protein fonksiyonu azalır. Böylece reseptörlerin, transport sistemlerinin ve enzimlerin rol aldığı hücresel olaylar oksidatif protein hasarından etkilenir (34,57).

4. Monosakkaritlerin okside olmasıyla hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler oluşur. Okzoaldehitler DNA, RNA ve proteinler ile çapraz bağ yapabildiklerinden antimitotik etki göstererek kanser ve yaşlanmaya katkıda bulunurlar (34,58).

5. Bağışıklık sistemindeki hücreleri tahrip ederek bağışıklık sisteminin bozulmasına sebep olurlar. Bu etkiler oksidatif stres olarak bilinen DNA mutasyonları, hücre ölümleri ve hastalıklar gibi ciddi hasarlara neden olur (34,59).

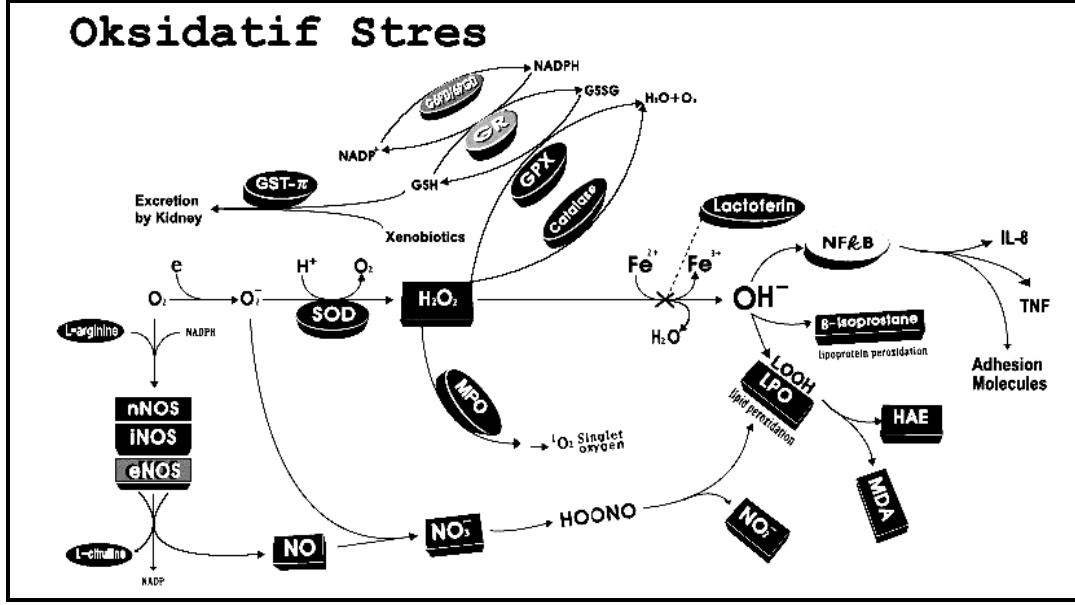
2.11. Oksidatif Stres

Reaktif oksijen türlerinin biyomoleküllerle tepkimeye girmesi sonucunda oluşan toksik etkiler nedeniyle gelişen patolojik duruma 'oksidatif stres' denir (Şekil 8) (33,49).



Şekil 8: Oksidatif stres oluşumu (44)

Oksidatif stres sadece oksijen radikallerinin üretimindeki artışla oluşmaz. Vücutta oksijen radikallerinin sentezinde artış olmasa dahi indüksiyonlar sonucu artan NO sentezi tek başına oksidatif strese neden olabilir. Nitrik oksit (NO) kaynaklı reaktif türler de oksijen radikalleri gibi lipid peroksidasyonunu başlatabilir. DNA'da zincir kırılmaları ve baz modifikasyonlarına neden olabileceği gibi metal iyonlarının oksidasyonunu değiştirebilir, proteinleri oksitleyebilir ve antioksidan tüketimine sebep olabilirler (Şekil 9) (33,50,60).



Şekil 9: Oksidatif stres (60)

Nitrik oksidin oksidasyonu sonucu oluşan ve oksidatif strete etkili olan başlıca reaktif türler nitrojen dioksit (NO_2), peroksinitrit (ONOO^-), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve nitroksil iyonudur (NO^+) (33,38).

2.12. Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehit

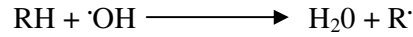
Serbest radikaller savunma mekanizmalarının kapasitesini aşacak düzeyde oluştuğlarında organizmada çeşitli bozukluklara yol açarlar. Oksijen radikallerinin ilk hedefi poliansatüre yağ asitleri (PUFA)'dır. PUFA'nın oksidatif yıkımı lipid peroksidasyonu olarak bilinmektedir. Serbest radikal kaynakları plazma membranı ve hücre içi organellerde lipid peroksidasyonunu tetikler. Lipid peroksidasyon reaksiyonları ortamdaki Fe ve Cu gibi transizyonel metallerin varlığında katalizlenebilir. Bu zincirleme reaksiyon tüm yeni oluşan serbest radikaller tükeninceye kadar devam eder (61,62,63,64,65,66).

Lipid peroksidasyonu üç aşamada gerçekleşmektedir:

1. Başlangıç basamağı (initiation): Hız kısıtlayıcı basamak olup organizmada oluşan oksijen kaynaklı radikallerin membran yapısındaki PUFA'ya ait metilen ($-\text{CH}_2-$) grubundaki hidrojen atomunu koparması ile lipid peroksidasyonu başlar. Yağ asidinde

mevcut olan çift C-H bağı zayıflatılarak H⁺ atomunun uzaklaştırılması kolaylaştırılmaktadır (39,43,61,63,67).

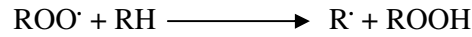
İlk hidrojen atomunu kopartacak reaktivitedeki radikaller, hidroksil (OH), alkoksil (RO), peroksil (ROO) ve hidroperoksil (HO₂) radikalleridir. Süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit daha az reaktif olduklarından bu reaksiyonu başlatamamaktadır. Bir H atomunun uzaklaşması ile PUFA'nın karbon zinciri doymamış lipid radikali (R) haline gelir (34,39,63,65).



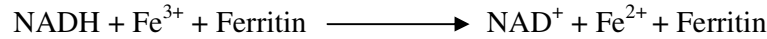
2. İlerleme basamağı: Lipid radikali kararsız olduğundan dien konjugasyonu ile bağların yeri değişir ve dien konjugatı oluşur. Oluşan dien konjugatı oksijenle reaksiyona girerek lipid peroksil radikalini oluşturur (39,43,63,67).



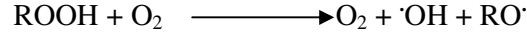
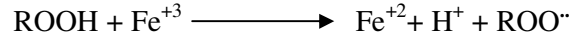
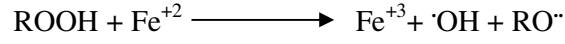
Oluşan lipid peroksil radikali diğer PUFA'ından hidrojen atomu kopararak lipid hidroperoksidi ve yeni lipid radikalini oluştururlar. Yani yeni zincir tepkimeleriyle bu dönüşüm defalarca tekrarlanarak lipid hidroperoksitlere dönüşür (39,43,61,63).



Reaksiyonun uzaması membrandaki lipid/protein oranına bağlıdır. Oluşan hidroperoksitler fizyolojik koşullarda kararlıdır. Fakat perhidroksil radikali, süperoksit anyonu, geçiş metal iyonları veya metal kompleksleri ile karşılaştıklarında parçalanabilmektedirler (62,63,67).

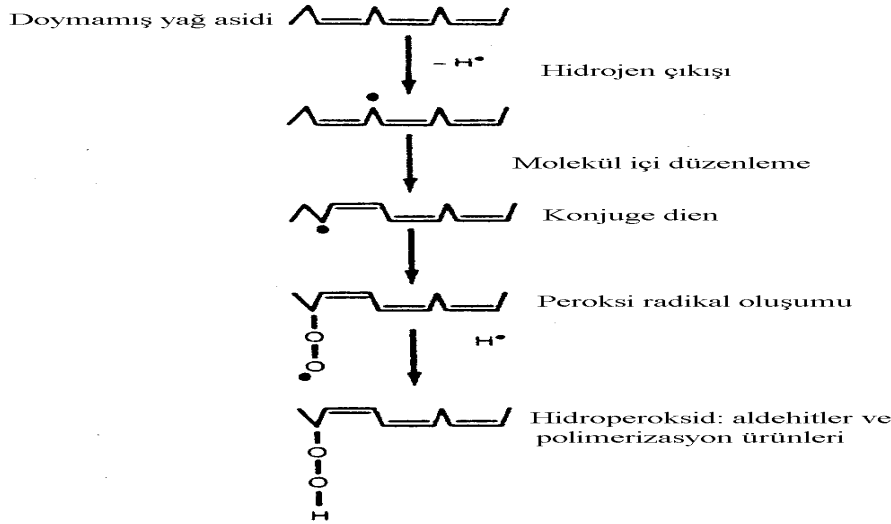
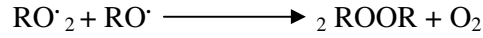


Redükte metal iyonları (Fe²⁺ ve Cu⁺) lipid hidroperoksidi ile reaksiyon vererek lipid alkoksil radikalini (RO[•]), okside metal iyonları ise (Fe³⁺ ve Cu²⁺) alkoksil ve peroksil (ROO[•]) (ROO[•], lipid aldehit, alkil radikaller vb.) radikallerini oluşturmaktadır (39,63,66).



Serbest radikallerin tiroid hastalıklarının patogeneğinde ve hastalığın ilerleyen safhalarında gözlenen komplikasyonlardan sorumlu olduğu bildirilmiştir (5).

3. Sonlanma basamağı: Lipid peroksidasyon zincir reaksiyonları, iki lipid peroksid radikali birbiriyle etkileşinceye (annihilasyon) kadar devam etmektedir. Sonuç itibariyle endo peroksid (ROOR) oluşmaktadır (Şekil 10) (39,61,63,67,68).



Şekil 10: Bir Poliansatüre yağ asidinin (PUFA) peroksidasyonu(68)

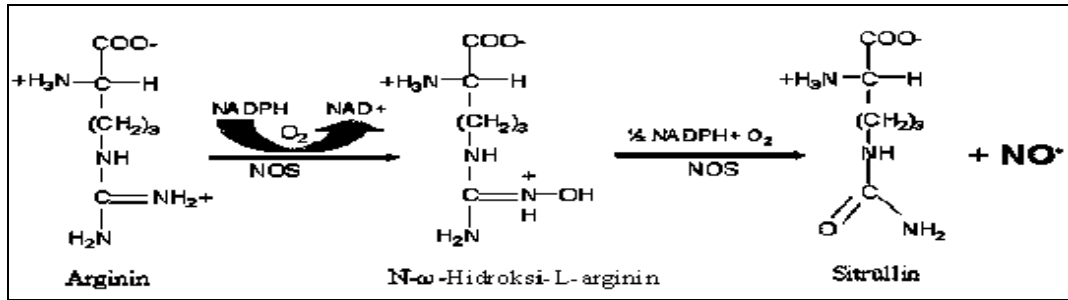
Lipid peroksidasyonu, karbon bağlarının kopması ile aldehid yapısındaki yıkım ürünlerinin ortaya çıkmasını sağlamaktadır. Oluşan 4-hidroksinonenal ve malondialdehit lipid aldehitleri (MDA) hücrenin farklı kısımlarına diffüz olabildiklerinden hasarın boyutunu attırabilirler. MDA protein tiyolleri ile reaksiyona girer. Lipid ve proteinler arasında çapraz köprüler oluşturarak hasara yol açar. Bunun sonucunda deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirir. Bu etkiler MDA'nın

mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklar. Malondialdehit miktarının artması hasarın göstergesidir (39,66,67).

Aktif bir bileşik olan 4-hidroksinonenal ise trombosit agregasyonunu ve aktif adenilat siklazı inhibe eder (36,39,66).

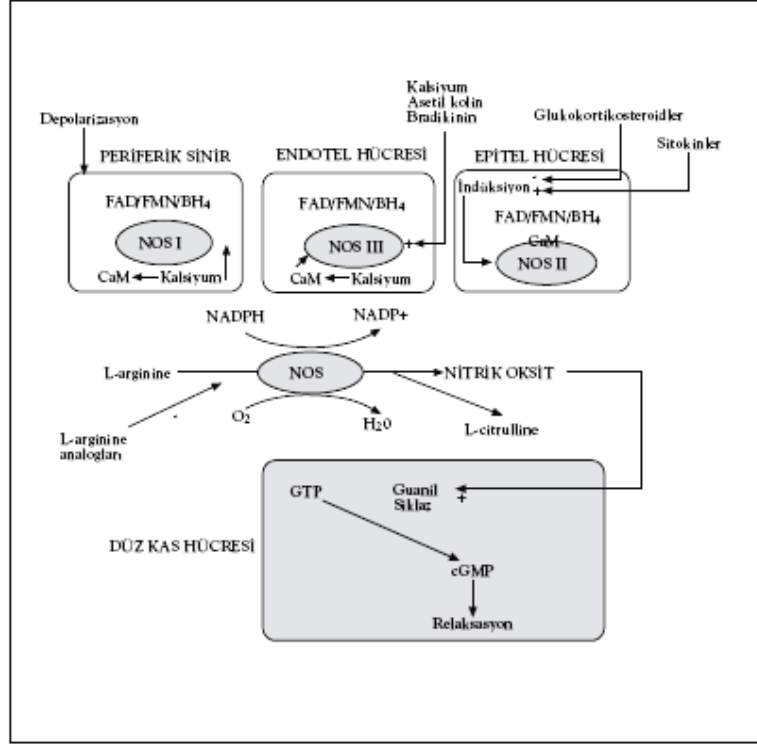
2.13. Nitrik Oksit

Nitrit oksit (NO), molekül ağırlığı 30 kD olan, yağda çözünen, biyolojik membranlardan kolaylıkla geçebilen, 3-5 sn gibi çok kısa yarı ömre sahip, serbest radikal özelliğinde renksiz bir gazdır. Nitrojen oksit türevlerinden biri olan NO radikali endojen olarak da sentezlenmektedir. NO sentezi bazı hücrelerde bir reseptöre bir stimülatorün bağlanması sonucunda veya nöronlarda sinir uyarısına cevap aşamasında oluşur. NO çeşitli reseptörlerin aktivasyonu sonucu L-arjinin ve oksijenden, **nitrik oksit sentaz** enzimi aracılığı ile sentezlenir (Şekil 11). NO sentezi sırasında moleküler oksijen ile, kofaktör olarak nikotinamid adenin dinükleotid, (NADPH), flavin adenin dinükleotid (FAD), flavin mononükleotid (FMN) ve tetrahydrobiopterin (BH₄)'e ihtiyaç duyulur (33,69,70,71).



Şekil 11: Nitrik oksidin NOS enzimi etkisiyle L-arginin aminoasidinden sentezlenmesi (68).

Nitrik oksit sentezi insanda vasküler tonüs düzenlenmesinde, kan basıncı ve böbrek fonksiyonunun kontrolünde kesin bir role sahiptir. NO vasküler endotel hücrelerde oluşan önemli bir vazodilatördür. NO, düz kas hücrelerine girerek 3',5'-siklik GMP (cGMP) oluşturmak üzere soluble (çözünebilir) (sGC) guanilat siklazı stimüle eder (Şekil 12). Hücrede cGMP konsantrasyonunun artmasıyla, cGMP bir veya daha fazla protein kinazı aktive eder. Aktive protein kinazlar düz kas relaksasyonu ve damar dilatasyonundan sorumludurlar (33,72,73).



Şekil 12: Nitrik oksit (NO) kaynakları ve oluşumu. Nitrik oksit sentezleyen enzim (iNOS) (73).

Diğer radikal türlerinden farklı olarak (oksijen ve karbon merkezli radikaller), nitrik oksit radikalinde paylaşılmamış elektron sadece nitrojen atomu üzerinde değil, nitrojen ve oksijen atomları üzerindedir. Bu özellikle nitrik oksit radikalinin reaktivitesi baskılanırken stabilitesini arttırmaktadır. Biyolojik şartlarda sentez yerinden uzak mesafelere difüzyonunu kolaylaştırır. Karbon merkezli radikaller ve oksidatif radikallerde, paylaşılmamış elektron tek atom üzerinde lokalize durumdadır. Bu türler son derece reaktif, kısa ömürlü ve difüzyonları kısıtlıdır (33,38).

Endojen NO oluşturan tek kaynak nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleridir (Tablo 3). NOS, fizikokimyasal ve kinetik özelliklerine göre iki gruba (konstitütif ve indüklenebilir) ayrılır. NOS'ları sentezleyen 3 gen bulunur ve bu genlerden herbiri bir NOS izoformunu oluşturur (NOS1, NOS2, NOS3) Bu enzimin izoformları nöronal (nNOS), endotelial (eNOS) ve indüklenebilir olmak üzere üç şekildedir. nNOS ve eNOS izoformları aktif hale gelmek için Ca^{+2} ye ihtiyaç duyduğundan konstitütif (yapısal) enzimler olarak adlandırılırlar. Bu enzimler tarafından üretilen düşük derişimdeki NO sinir sistemi ve düz kaslarda hücre içi ve hücreler arası haberci olarak görev alır. Böylece sیتoplazmik guanyilat siklazı aktive eder ve hücrelerde cGMP

derişimini arttırır. cGMP çeşitli enzimler aracılığı ile hücre içi kalsiyum derişiminin düzenlenmesini sağlar. Nöral NOS (nNOS) ve endotel kökenli NOS (eNOS) izoformlarının düşük miktarda sentezlenmesinin sebebi hücre içi iyonize kalsiyum konsantrasyonunun azalmasıyla enzimin inaktif duruma geçmesidir (33,69,71,73,74).

Enzimin indüklenebilir (iNOS) formu ilk önce fagositik lökositler olmak üzere endotoksin ve/veya değişik sitokinlere cevap olarak makrofajlar ve diğer hücre tiplerinin uyarılmasıyla salgılanır. iNOS enziminin aktivitesi kalsiyumdan bağımsızdır. Ortamda arjinin olduğu sürece aktiftir. Bu durumda uzun süreli ve yüksek derişimde NO sentezini katalizleyebilir (33,69,71,73,75).

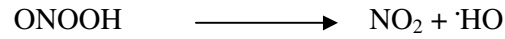
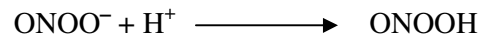
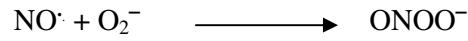
NOS İzoform	Diğer Adı	Salınım	Kaynak	Regülasyon	NO miktarı	Kromozom
Tip I	nNOS	Devamlı	Sinir hücreleri	Kalsiyuma bağımlı	Düşük (picomol)	12
Tip II	iNOS	İndüklendiğinde	Makrofaj, damar düz kası, damar endoteli, miyokard, eendokart, hepatosit, immün, hücreler, hava yolu epiteli	Sitokinler, endotoksin, ve oksidanlar tarafından indüklenme	Yüksek (nanomol)	17
Tip III	eNOS	Devamlı	Vasküler endotel hücreleri, plateletler, miyokard ve endokart, mast hücreleri, nötrofiller	Kalsiyuma bağımlı	Düşük (picomol)	7

NO nitrik oksit, NOS nitrik oksit sentezleyen enzim, nNOS nöral NOS, iNOS indüklenebilir NOS, eNOS endotel kökenli NOS

Tablo 3: Nitrik oksit sentezleyen enzimler (73)

Fizyolojik miktarda üretilen NO'nin aktivitesi, hem içeren proteinlerle özellikle oksihemoglobin metilen mavisi ve süperoksit anyonu tarafından nitrata (NO_3^-) ve/veya nitritlere (NO_2) oksitlenerek sonlandırılır. Nitrik oksiti ortamdan uzaklaştıran özel bir enzim yoktur. NO metabolitleri böbrek yoluyla 5-8 saatte atılır. Aerobik ortamda NO stabil değildir. NO derişiminin artması sonucu oksidasyonu hızlanır. Bu nedenle ortamdaki derişimi ile ömrü arasında ters bir orantı vardır. iNOS enziminin indüksiyonuyla NO derişimi artar ve oksidasyonu da hızlanır. Bunun sonucunda çeşitli reaktif nitrojen oksit türleri oluşur. Bunlar hücrel moleküllerin nitrozilasyonuna, nitrasyonuna, nitrozasyonuna ve protein/enzim inaktivasyonuna neden olabilirler (33,38,71,76).

Düşük reaktiviteli NO radikali, metal içeren merkezler ve radikallerle hızlı tepkimeye girer. Hücre zarında lipid radikalleri ile etkileşime girmesi NO'e antioksidan etki kazandırır. Süperoksit ve NO'in tepkimesi sonucunda oluşan peroksinitrit (ONOO⁻), hidroksil radikaliyle benzer aktiviteye sahiptir. ONOO⁻; güçlü bir oksidan olarak biyolojik sistemlerde membranlarda lipid peroksidasyonuna ve protein oksidasyonuna neden olmakta ve ileri dekompozisyonla nitrojen dioksit ve hidroksil radikalinin oluşumuna yol açmaktadır (77,78,79,80).



Biyolojik olarak HO'ın yıkıcı bir molekül olduğu bilinmektedir. Peroksinitrit ise tirozin gibi fenolik aminoasitleri nitrolayarak toksik nitro-türevlerinin (nitrotirozin) oluşumuna yol açmaktadır. Ayrıca DNA, enzim, protein, lipid ve tiyol gruplarını okside edip inaktifleştirebildiğinden yüksek toksisiteye sahiptir (62,78,79,80).

2.14. Antioksidan Savunma Mekanizmaları

Canlı hücrelerdeki protein, lipid, karbonhidrat ve DNA gibi maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar denir. Antioksidanlar serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı organizmayı korurlar ve buna antioksidan savunma denir (34,38,52).

Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engelleyerek ve/veya reaktif oksijen türlerini toplayarak, lipid peroksidasyonunu inhibe ederek, peroksitleri alkol gibi nonradikal ürünlere dönüşümünde etkin rol oynayarak etkilerini gösterirler. Membran lipidlerine etki ederek peroksit oluşturabilen singlet oksijeni (¹O₂) baskılayabilir ya da temizleyebilirler. Okside substratın oksidasyonunu geciktirir veya inhibe ederler (34,81).

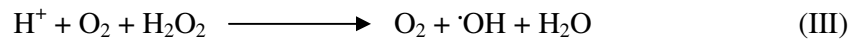
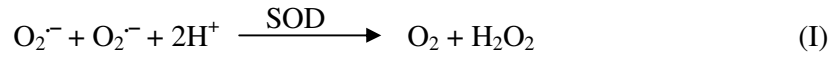
Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Ayrıca enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar (Tablo 4). Hücrelerin hem sıvı hem membran kısımlarında bulunurlar (34,46).

Enzimatik	Nonenzimatik	
Süperoksit dismutaz (SOD) Katalaz (KAT) Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) Fosfolipid hidroperoksit glutasyon Peroksidaz (PLGSH-Px) Glutasyon S-transferanz (GST) Glutasyon redüktaz (GSSG-R)	Glutasyon (GSH) A-Tokoferol (vit E) Askorbat (vit C) B-Karoten Flavonoidler Ürat Bilirubin	Albumin Seruloplazmin Transferin Ferritin Laktoferrin Melatonin Sistein

Tablo 4: Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma sistemi (46)

2.14.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) (E.C. 1.15.1.1)

Süperoksit dismutaz, süperoksitin hidrojen perokside dismutasyonunu katalize eden bir metaloenzimdir. İnsanda SOD'nin iki tip izoenzimi mevcuttur. Sitozolda dimerik, Cu ve Zn içeren izomeri (Cu-Zn SOD) ile mitokondride tetramerik, Mn içeren izomeri mevcuttur (Mn-SOD). Prokaryotlarda Fe içeren bir izomeri daha vardır (Fe-SOD). Ayrıca 1982 yılında glikoprotein yapısında olan ekstrasellüler SOD (EC-SOD) tanımlanmıştır (34,82,83).



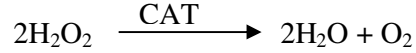
Süperoksit dismutaz II. reaksiyonun hızını artırırken, III. reaksiyonun oluşumunu engeller. Enzimin fizyolojik fonksiyonu; oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksidin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Böylece lipid peroksidasyonunu inhibe eder (34).

Süperoksit dismutaz, aerobik canlılarda süperoksitlerin H_2O_2 'e çevrilmesinde katalitik aktivitesi yüksek olan enzimdir (38).

Süperoksit dismutaz fagosite olmuş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde rol oynar. Lenfositlerde granülositlerden daha fazla miktarda SOD bulunmaktadır (34).

2.14.2. Katalaz (CAT) (E.C. 1.11.1.6)

Katalaz, dört hem grubu içeren bir hemoprotein olup hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalar (84).



Daha çok peroksizomlarda bulunur. Karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kas ve eritrositlerde aktivitesi yüksektir. İndirgeyici aktivitesi hidrojen peroksit, metil ve etil hidroperoksitler gibi küçük moleküllere karşıdır. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlere etki etmez (34,85).

2.14.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) (E.C. 1.11.1.9)

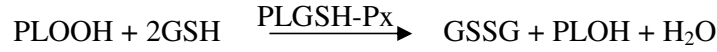
Molekül ağırlığı 85 kD olan tetramerik, dört selenyum atomu ihtiva eden ve sitozolik enzim olan glutasyon peroksidaz hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Enzim aktivitesinin en yoğun olduğu dokular eritrosit ve karaciğerdir (34,86).

Glutasyon peroksidaz aşağıdaki reaksiyonları katalizler.



Enzim aktivitesinin % 60-75'i ökaryot hücrelerin sitoplazmasında bulunur. % 25-40'ı ise mitokondridedir. (34).

Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) enziminin molekül ağırlığı 20 kD'dur. Monomerik yapıda, selenyum ihtiva eden sitozolik enzimdir. Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz enzimi membran fosfolipid hidroperoksitleri (PLOOH) alkole indirger. E vitamini yetersizliğinde PLGSH-Px membranı peroksidasyona karşı korur (34,87,88).



Hidroperoksitlerin redüklenmesi sonucu oluşan okside glutasyon (GSSG), glutasyon redüktazın (GSSG-R) katalizlediği reaksiyonla tekrar redükte forma dönüşür (34).



Eritrositlerde GSH-Px oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açmaktadır (34,84,86).

2.14.4. Glutasyon S-Transferaz (GST) (E.C. 2.5.1.18)

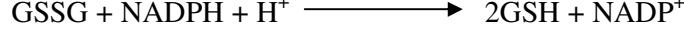
Selenyuma bağlı olmayan GSH-Px olup, araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitler olmak üzere lipid peroksitlere karşı GSH-Px gibi aktivite göstererek defans mekanizmasını oluşturur. Bu enzim ailesinin hem detoksifikasyon yapıcı hem de hücre içi bağlayıcı ve taşıyıcı görevleri mevcuttur. Ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda, glutasyonun birçok elektrofilik bileşikle konjugasyonunda rol oynar (34,87).



Glutasyon transferazlar, karaciğerde sitokrom P₄₅₀ enzim sistemi tarafından reaktif ara ürünlere dönüştürülen yabancı maddelerin daha az reaktif konjugatlara dönüşümünü katalizler. Bu işlemi yaparken glutasyon (GSH)'daki sisteine ait -SH grubunu yabancı maddelere bağlayarak elektrofilik bölgelerini nötralize eder ve ürünü daha fazla suda çözünür hale getirerek organizmadan atılımını sağlar (34).

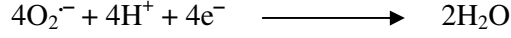
2.14.5. Glutatyon Redüktaz

Hidroperoksitlerin redükte olmasıyla oluşan okside glutatyonun (GSSG), redükte hale (GSH) dönüşmesini katalizler. Reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH'a ihtiyaç vardır (34).



2.14.6. Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz, aşağıdaki reaksiyonla süperoksidi detoksifiye eder.

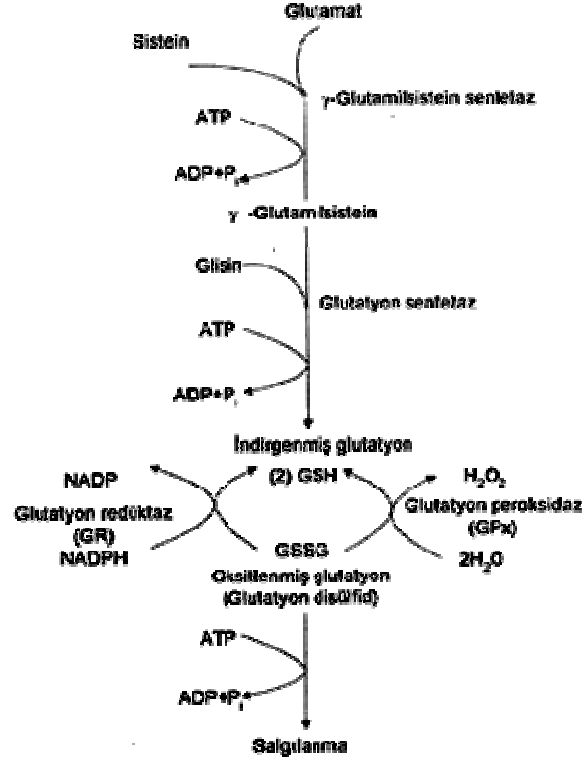


Bu reaksiyon, fizyolojik şartlarda sürekli oluşan reaksiyondur. Bu reaksiyonla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi sağlanır (34).

2.14.7. Glutatyon (GSH)

Glutatyon (γ - **Glutamil Sisteinil Glisin**), karaciğerde genetik bilgiye ihtiyaç olmadan sentezlenebilen düşük molekül ağırlıklı önemli bir tripeptiddir. GSH intrasellüler bir antioksidan olup ekstrasellüler mesafede düşük konsantrasyonlarda bulunur. GSH bünyesindeki sisteine bağlı tiyol grubundan ve yüksek konsantrasyonundan dolayı (0.1-10mM) hücre içinde önemli bir antioksidandır. Hücre içinde redoks potansiyeli yüksek bir ortam oluşturarak hücreyi oksidatif hasara karşı korur (49,89,90).

Glutatyon, eritrosit hariç tüm memeli hücrelerinde bol miktarda salınır. GSH sentezinin birinci basamağı, GSH'ın prekürsör amino asitleri olan glutamat ve sisteinden, γ -glutamilsisteinin oluşumu γ -glutamilsistein sentetaz enzimi aracılığı ile gerçekleşir. İkinci basamakta, glutatyon sentetaz enzimi glisin ve γ -glutamil-sisteinden glutatyonu katalizler. GSH negatif feed-back mekanizmasıyla glutamilsisteinin oluşum hızını ve sentezini de kontrol edebilmektedir. Bir molekül GSH sentezi için 2 molekül ATP hidroliz olmaktadır (Şekil 13) (89,90,91).



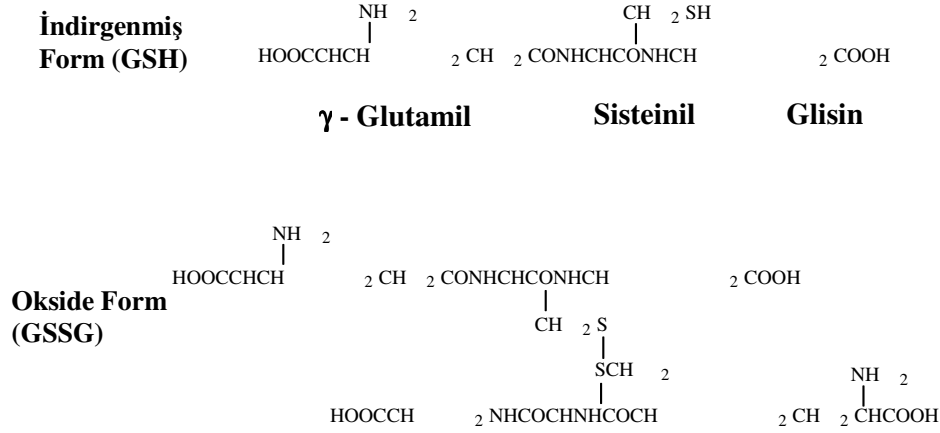
Şekil 13: Glutatyon sentezi ve siklusu (89).

Glutatyonun derişimi, sentezinde kullanılan substratların varlığına ve reaksiyonu katalizleyen enzimlerin derişimine bağlıdır. Hücreler glutamat ve glisinden zengindir, fakat sistein sınırlı miktarda bulunur. Sistein oluşumu bazı hücrelerde serin amino asitinin metiyonin tarafından transsülfürasyonu, doku proteinlerinin yıkımıyla ve diyetle alınan proteinlerden sağlanır (90).

Hücre içinde sentezlenen glutatyon membrana bağlı transpeptidazlarla taşınmaktadır. Hücresel glutatyon taşınımı, tiyol gruplarını ve α -tokoferol gibi dimer membran bileşiklerini korur (90).

Glutatyon ve glutatyon peroksidazın aktivitesinin yeterli olması durumunda, hücrelerin ksenobiyotiklere ve ksenobiyotik kaynaklı serbest radikallere karşı direnci artar. Eğer aktivite eksikliği varsa hücre membranlarındaki poliansatüre yağ asitleri radikaller tarafından oksitlenir ve hücrelerde patolojik değişiklikler meydana gelir. Glutatyon, hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil (OH), süperoksit (O_2^-), alkoksil (RO) radikalleri ile direkt etkileşime girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur ve diğer

tarafından proteinlerin sülfidril gruplarının redükte halde kalmasını sağlayarak protein ve enzimlerin inaktivasyonunu önler (Şekil 14) (48,92,93).



Şekil 14: Glutatyonun okside ve redükte formları (93).

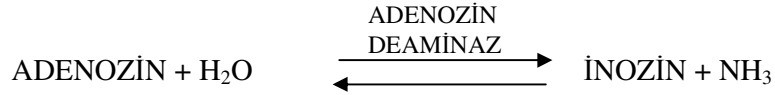
Reaktif oksijen ürünlerinin detoksifikasyonu, glutatyonun redükte formundan (GSH) okside dimer formuna (GSSG) dönüşümü ile sağlanmaktadır. Bu reaksiyonu glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzimi katalizlemektedir. Oksidasyon reaksiyonu sonucunda oluşan okside GSSG ise glutatyon redüktaz enzim aracılığıyla tekrar GSH'a rejenere olmaktadır. Geri dönüşümlü olan döngünün devamı pentoz fosfat yolundan elde edilen NADPH + H⁺'in kullanılması ile mümkün olmaktadır (89,94,95).

Glutatyon hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol almaktadır. Glutatyon (GSH) yabancı bileşiklerin detoksifikasyonunu ve aminoasitlerin membranlardan transportunu da sağlamaktadır. Glutatyon (GSH) eritrositler, lökositler ve göz lensini oksidatif strese karşı korumada etkilidir (50).

Karaciğer hastalıkları, akciğer hastalıkları, kronik viral enfeksiyonlar, parkinson hastalığı, ateroskleroz, kanser ve yaşlanma gibi birçok hastalığın patofizyolojisinde GSH eksikliği söz konusudur (90).

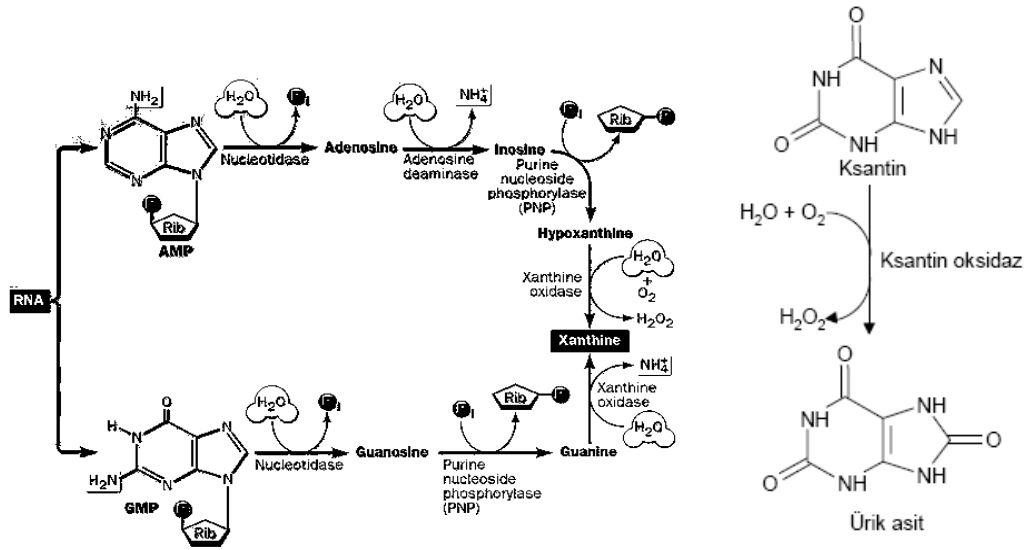
2.15. Adenozin Deaminaz (ADA) (E.C. 3.5.4.4)

Adenozin deaminaz, pürin nükleotidlerinin katabolizmasında rol oynayan, adenozin ve deoksiadenozini irreversibl olarak inozin ve deoksiinozine deaminize eden aminohidrolazdır (Şekil 15) (96,97,98,99,100).



Fungal ve bakteriyal adenozin deaminazlar (ADA), adenozin fosfat ve bilinen diğer nükleotidleri deamine ederken; memelilerde ADA enzimi sadece adenozin, deoksiadenozin ve bilinen ribozidleri katalizler (97).

Enzimin varlığı 1939'da ilk kez Conway EJ. ve Coke R. tarafından gösterilmiştir. Spencer ve arkadaşları, Starch-gel elektroforezis yöntemini kullanarak insan eritrosit ADA'nın genetik tiplerini 1968'de göstermeyi başarmışlardır. Eritrosit lizatlarında yaptıkları çalışmalarda enzimin elektroforetik olarak üç farklı genetik fenotipini (ADA 1, ADA 1-2 ve ADA 2) saptamışlardır. Bu üç ADA formunun farklı optimal pH'a, farklı Michaelis sabitine ve farklı relatif substrat spesifitesine sahip olduğu tespit edilmiştir (97,101).



Şekil 15: Pürin nükleotidlerinin yıkımı (100).

Adenozin deaminazın fenotiplerinden ADA₁ özellikle lenfosit ve monositlerde, ADA₂ ise monosit ve makrofajlarda ağırlıklı olarak bulunmaktadır. ADA₁, adenozin ve 2'-deoksiadenozine karşı yaklaşık eşit affineteye sahip olup, 2'-deoksiadenozin deaminaz / ADA aktivite oranı yaklaşık olarak 0.75'dir. ADA₂ ise adenosine daha fazla affinite göstermektedir. ADA₂ formunun 2'-deoksiadenozin deaminaz / ADA aktivite oranı yaklaşık olarak 0.25'dir (101).

Adenozin deaminaz, insan dokusunda multiple moleküler formda bulunur. Enzimin insan dokusunda geniş bir dağılıma sahip olduğu görülmüştür, yapısal geni 20. kromozomdadır (96,97,98).

Adenozin deaminazın spesifik katalitik aktivitesi normal lenfoid dokuda yüksektir; özellikle timus, dalakta, T lenfositlerde yüksektir. Ayrıca ADA aktivitesi timositlerde, torasik kanal, lenf nodu, dalak ve kemik iliğinden alınan lenfositlerinkinden 3-10 kat daha fazla bulunmuştur. Timositlerdeki ADA aktivitesinin yüksekliği kortikal timositlerle ilişkilendirilmiştir. Karaciğer, serebral korteks ve böbrekte göreceli düşük ADA aktivitesi saptanmıştır (97).

İnsan dokularının hemen hepsinde bulunan ADA'nın majör fizyolojik rolü lenf nodları, dalak ve timus gibi lenfoid sistemin farklılaşması ve olgunlaşması ile ilgilidir. ADA aktivitesi lenfositik hücrelerde, eritrositlere kıyasla 10 kat daha fazla bulunmaktadır (96,102).

T lenfosit ADA aktiviteleri B lenfositlere göre daha yüksektir ve ayrıca T hücre farklılaşması esnasında özellikle immatür ve undiferansiye basamaklarında ADA aktivitesinde belirgin artış olur. Tüm bu sebeplerden dolayı birçok araştırmacı ADA'nın hücrel immünite belirteci olduğunu düşünerek farklı hastalıklarda ADA serum seviyelerini tespit etmişlerdir. Artmış serum ADA aktivitesi hücrel immünitinin uyarıldığı tifo, infeksiyöz mononükleoz, bruselloz, akut pnömoni, tüberküloz, sarkodiyoz, karaciğer hastalıkları, akut lösemi, çeşitli maligniteler ve romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus (SLE), Behçet Hastalığı gibi otoimmün hastalıkların aktivasyon döneminde gösterilmiştir (97,103).

Adenozin deaminaz enzim eksikliği, eritrosit enzim eksikliği defektleri arasında otozomal dominant kalıtım gösteren tek enzimopatidir. ADA enzim eksikliği sonucu B

ve T lenfositler fonksiyonel özelliklerini yitirirler. Lenfositlerde nükleozid kinaz ve kurtarma yolu enzimlerinin çokluğundan ötürü dATP konsantrasyonu artmaktadır. Bu artışla ribonükleotid redüktaz inhibe edilir ve böylece dNTP'lerin oluşumu durdurulmuş olur. Sonuç olarak DNA sentezi yapılamamaktadır. DNA sentezi yapılamadığından lenfositler görevini yerine getiremez ve immün yetmezlik ortaya çıkar (104).

Özellikle adenzin ve deoksiadenozinin hücre içi seviyelerinin kontrolü açısından adenzin deaminaz enziminin pürin metabolizmasında önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir. Araştırmacılar bu iki pürin nükleozidi yıkım yolunun veya kurtarma ara yolunun substratı olarak kabul etmektedirler (105).

Son yapılan çalışmalarda, akut lenfositik lösemili hasta lenfositlerinde ADA aktivitesinin çok yüksek olduğu ve periferik kanda lenfosit sayısının azaldığı gösterilmiştir. ADA yetmezliğinde, hem hücresel, hem de humoral immünite bozulmuş durumdadır. Bu değerlendirmeler sonucunda ADA aktivitesinin, normal lenfosit fonksiyonu için önemli olduğu tespit edilmiştir (97).

T hücre markerı kabul edilen adenzin deaminaz enzimi hücre aracılı immünite uyarımının gerçekleştiği hastalıklarda vucut sıvısı veya plazmada artmaktadır (106).

Bu bilgilerin ışığında NO, MDA, GSH, ADA parametrelerinin yaş, cinsiyet, hipertiroidizm ve hipotiroidizm hastalıklarıyla ilişkisini incelemeyi amaçladık.

3. MATERYAL METOD

3.1. Örneklerin Toplanması

İnönü Üniversitesi Turgut Özal Tıp merkezi Endokrinoloji Bölümü'ne başvurup hipertiroidi ve hipotiroidi tanısı alan hastalar arasından sigara, alkol ve en az 20 gündür ilaç kullanmayan hastalar çalışma grubunu oluşturmuştur. Her hastaya çalışma hakkında genel bilgi verilerek araştırmaya katılmak isteyenlerden 5 ml kan alınmıştır. 20 Hipertiroidi ve 20 hipotiroidi hastası deney gruplarını oluşturmuştur. Kontrol grubunu ise sigara ve alkol kullanmayan sağlıklı ve gönüllü 20 birey oluşturmuştur.

a. Veri Toplama Aşaması

Araştırmaya başlamadan önce etik kurul raporu alınmıştır (Ek: 1). Çalışmanın amacı olan hipertiroidili ve hipotiroidili hasta gruplarında oksidatif stres parametreleri ve adenzin deaminaz aktivitesini belirlemek üzere anket formu düzenlenmiştir (Ek: 2). Ayrıca her hastaya hasta bilgilendirme formu doldurulmuş ve imzalatılmıştır (Ek: 3) .

b. Anket Formunun Geliştirilmesi

Kan alınması esnasında uygulanmak üzere oksidatif stres parametreleri üzerine etkili olabileceği düşünülen verilerin toplanması amacıyla bir anket geliştirilmiştir.

Anket sigara, alkol ve ilaç kullanımının çalışılacak parametreler üzerine etkisini bertaraf etmek ve yaş ve cinsiyet açısından oksidatif stres parametrelerini ve adenzin deaminaz aktivitelerini değerlendirmek amacıyla geliştirilmiştir.

c. Kullanılan Araç Gereç ve Kimyasal Malzemeler

Kimyasal Malzemeler

Disodyum tetra borat decahidrat ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), sodyum nitrat (NaNO_3), glisin ($\text{H}_2\text{NCH}_2\text{COOH}$), sodyum hidroksit (NaOH), bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), çinko sülfat ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), sodyum dihidrojen fosfat dihidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), potasyum klorür (KCl), trisodyum sitrat dihidrat kristali ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_7$), disodyum hidrojen fosfat dekahidrat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) MERCK (Darmstadt, Germany) firmasından,

sülfanilamid ($C_6H_8N_2O_2S$), N-(1-Naftil) etilen diamin dihidroklorit ($C_{12}H_{14}N_2 \cdot 2HCl$), 2-thiobarbiturik asid (% 98), DTNB reagent ($C_{14}H_8N_2O_8S_2$), fhenol-nitroprusside çözeltisi SİGMA-Aldrich (Steinheim, Germany) firmasından, sülfirik asit (% 36-38) (H_2SO_4), triklor asetik asit (Cl_3CCOOH), disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4), amonyum sülfat ($(NH_4)_2SO_4$) J.T BAKER (Deventer, Holland) firmasından, kadmiyum granülleri (% 99.9), 1 bütanol ($C_4H_{10}O$) FLUKA Chemie (Buchs, Switzerland) firmasından, fosforik asit (H_3PO_4) CARLO Erba Reagent (Rodano) firmasından ve sodyum hipoklorit çözeltisi ($ClNaO$) Acros Organics (New Jersey, USA) firmasından firmasından temin edilmiştir.

Kullanılan Araç Gereçler

Hettich Universal 320 R marka santrifüj, Memmert marka su banyosu, Medisis marka pipet, Thermo Orion 420 marka pH metre, Denver APX-153 marka hassas terazi ve Shimadzu UV-1201V marka spektrometre, Immulate 2000 marka kemilüminesans kullanılmıştır.

d. Numune alınması ve numunelerin hazırlanması

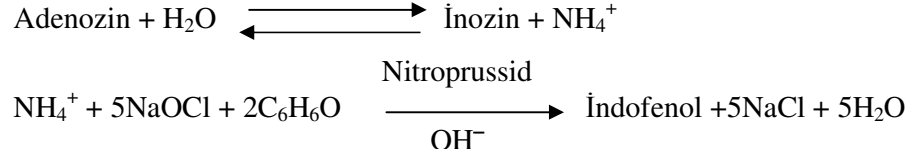
Plazma numunelerinin hazırlanması

Hasta ve kontrol gruplarından 5 ml heparinize kan alınmıştır. Alınan kanlar yavaşça cam tüplere ilave edilmiştir. Kanlar 3000 rpm'de $+4^{\circ}C$ 'de 10 dk santrifüj edildikten sonra üstteki plazma kısmı pastör pipeti ile ayrı ependroflarda $-40^{\circ}C$ 'de çalışma zamanına kadar saklanmıştır.

3.2. Metodlar

3.2.1. Plazma Adenozin Deaminaz (ADA) Aktivitesinin Ölçümü

Adenozinden adenozin deaminaz enziminin etkisiyle açığa çıkan amonyum iyonu, Boertholet reaksiyonu sonucunda yeşil mavi renkli indofenol kompleksini oluşturur. Oluşan rengin şiddeti ortamdaki enzim konsantrasyonu ile orantılı olarak artmaktadır. Bu kompleks spektrofotometrede 632 nm dalga boyunda okunmuştur. Ellis ve Goldberg'in geliştirdiği metod kullanılmıştır (107) .



a. Kullanılan Reaktifler:

Fosfat Tamponu (pH: 6.5; 50mM): 4.73g sodyum hidrojen fosfat monohidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) bidistile suyla eritilip hacmi 1lt'ye tamamlanmıştır. Çözeltinin pH'ı 6.5'a ayarlanarak + 4 °C'de saklanmıştır.

Adenozin Çözeltisi (pH: 6.5; 21mM): 140 mg adenozin ($\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{N}_5\text{O}_4$) 25 ml fosfat tamponu içerisinde eritilmiş ve pH'ı 6.5'e ayarlanmıştır.

Fenol-Nitroprusside Çözeltisi: Sigma firmasından alınmıştır.

Sodyum Hipoklorit Çözeltisi: Sigma Aldric firmasından alınmıştır.

Standartlar

Amonyum Sülfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) Stok Çözeltisi (15mM): 1.982g anhidrat amonyum sülfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) bidistile suda çözülmüş ve 1 lt'ye tamamlanmıştır. Çözelti kullanılana kadar + 4 °C'de saklanmıştır.

Amonyum Sülfat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) Standart Çözeltisi(75µM: 0.15µmol NH_3 /ml): Çalışmadan önce 0,5 ml amonyum sülfat stok çözeltisi fosfat tamponu ile 100ml'ye tamamlanmıştır.

Standart ölçümü için 15mM stok standart solüsyonundan sırasıyla 75; 50; 25; 10; 5 µmol/L'lik seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Numunelere uygulanan işlemlerin aynı standartlara da uygulanmıştır.

b. Deneyin Yapılışı

Adenozin deaminaz'ın deney protokolü Tablo 5'de verilmiştir.

Tablo 5: Adenozin deaminaz deney protokolü

	Numune A ₁	Numune Körü A ₂	Standart A ₃	Standart Körü A ₄
Fosfat Buffer	-	-	50µl	550µl
Adenozin	0.5 ml	0.5 ml	-	-
Standart Solusyonu	-	-	0.5 ml	-
Numune (Plazma)	50 µl	-	-	-

Tüpler karıştırıldıktan sonra 60' (dk) 37°C su banyosunda inkübe edilmiştir.

Fenol-nitroprusside	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml
Numune (Plazma)		50 µl		
Sodyum hipoklorit	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml	1.5 ml

Bu işlemler tamamlandıktan sonra tüpler vortekslenip 630 nm'de suya karşı spektrofotometrede okunmuştur.

c. Adenozin Deaminaz Aktivitesinin Hesaplanması: A₁, A₂, A₃, A₄ başlıkları altında okunan numune ve standart absorbanları aşağıdaki formüle yerleştirilerek ADA aktivitesi µmol/l olarak hesaplanmıştır.

$$\left[\frac{A_1 - A_2}{A_3 - A_4} \right] \times 50$$

A₁ : Numune absorbansı, A₂ : Numune körü absorbansı, A₃ : Standart absorbansı, A₄ : Standart körü absorbansı, 50 : Sulandırma faktörü

3.2.2. Plazma Glutasyon Seviyesinin Ölçümü:

Glutasyon tayini Elman ayırıcı ile sülfidril gruplarının reaksiyonu sonucu oluşan sarı renkli ürünün absorbansı 410 nm'de spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Fairbanks ve Klee'nin geliştirdiği yöntem kullanılmıştır (108).

a. Kullanılan Reaktifler:

Triklorasetik asit (Cl_3CCOOH) (% 10'luk): 27.25g TCA tartılarak 250 ml distile su içerisinde çözülmüştür.

Sodyum Hidrojen fosfat (Na_2HPO_4) Çözeltisi (0.3M): 21.8g Na_2HPO_4 tartılıp 200 ml distile suda çözülmüştür.

Trisodyum Sitrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) Çözeltisi (% 1): 300 mg sodyum sitrat alınıp 30 ml distile suda çözülmüştür.

DTNB Reagent ($\text{C}_{14}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_8\text{S}_2$) Çözeltisi: 12 mg DTNB reagent tartılıp hazırlanan trisodyum sitrat çözeltisi içinde çözülmüştür.

Standartlar

1000 μmol GSH stok Çözeltisi: 31 mg GSH 100 ml distile suda çözülmüştür.

Standart ölçümü için 1000 μmol stok standart solüsyonundan sırasıyla 500; 100; 50; 25; $\mu\text{mol/L}$ 'lik seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Numunelere uygulanan işlemlerin aynısı standartlara da uygulanmıştır.

b. Deneyin Yapılışı

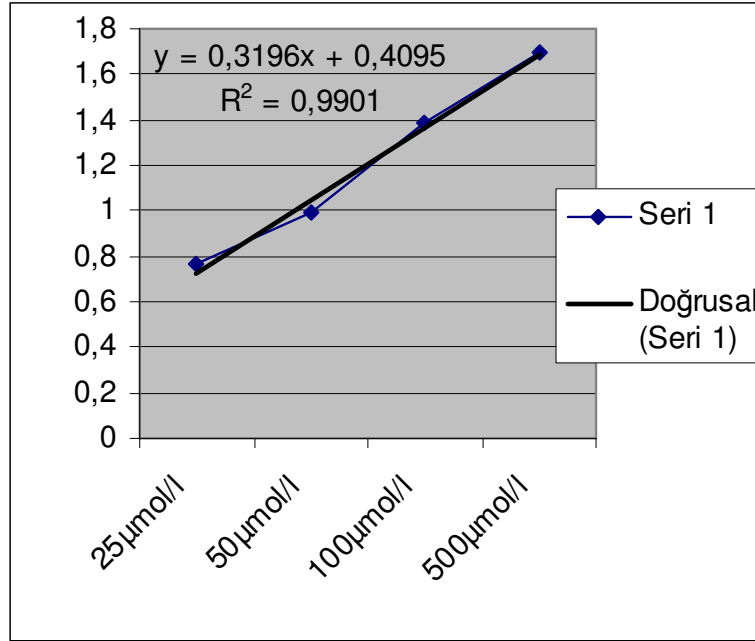
0.5 ml numune üzerine 0.9 ml TCA çözeltisi ilave edildikten sonra 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Deney protokolü Tablo 6'da verilmiştir.

Tablo 6: Glutasyon deney protokolü

	KÖR	STD	Numune
Distile su	0.5 ml	-	-
Numune (Plazma)	-	-	0.5 ml
Standart	-	0.5 ml	-
0,3M Na_2HPO_4	4 ml	4 ml	4 ml
DTNB reagent	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml

Tüpler karıştırıldıktan sonra ağzaları kapatılıp 10 dk karanlıkta bekletildikten sonra spektrofotometrede 410 nm'de köre karşı okuması yapılmıştır.

c. GSH Aktivitesinin Hesaplanması: Numune absorbanları standart grafiğinden elde faktörle de çarpılarak GSH aktivitesi $\mu\text{mol/l}$ olarak hesaplanmıştır.



Grafik 1: GSH Standart grafiği

3.2.3. Plazma Malondialdehit (MDA) Seviyesi Ölçümü:

Lipid peroksidasyonu ürünü olan MDA'nın ölçümü TBA ile 95°C 'deki reaksiyonu sonucu oluşan pembe kırmızı rengin absorbansı spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir. Oluşan rengin şiddeti ortamdaki MDA miktarı ile orantılı olarak artmaktadır. Ortamdaki n – butanole ekstrakt oluşturularak geçen serum MDA düzeyi spektrometrede 532 nm 'de ölçülmüştür. Plazma MDA düzeyine Uchiyama ve Mihara yöntemi (109) ile bakılmıştır.

a. Kullanılan Reaktifler:

29mmol/L TBA çözeltisi: 418 mg TBA 75mmol $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ çözeltisinde (1.170 gr tartılıp distile su ile 80 ml'ye tamamlanmıştır.) pH'ı 0,1N HCl ile 2.8'e ayarlanmış ve hacmi daha sonra 100 ml'ye tamamlanmıştır.

% 1,5 KCl çözeltisi: 1.5gr KCl tartılıp 100ml distile suda çözülmüştür.

% 1 H₃PO₄ çözeltisi: 11.8 ml %85'lik H₃PO₄'den alınıp 1000ml'ye distile su ile tamamlanmıştır.

Standartlar :

20 mmol/L stok standart solüsyonu hazırlamak üzere 329 µl 1, 1, 3, 3 tetrametoksipropene etanolle 100 ml'ye tamamlanmıştır. Bu çözelti + 4 °C'de 1 ay stabildir.

Standart ölçümü için 20 mmol/L stok standart solüsyonundan sırasıyla 10; 8; 6; 4; 2; 1; 0.5 µmol/L'lik seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Numunelere uygulanan işlemlerin aynısı standartlara da uygulanmıştır.

b. Deneyin Yapılışı

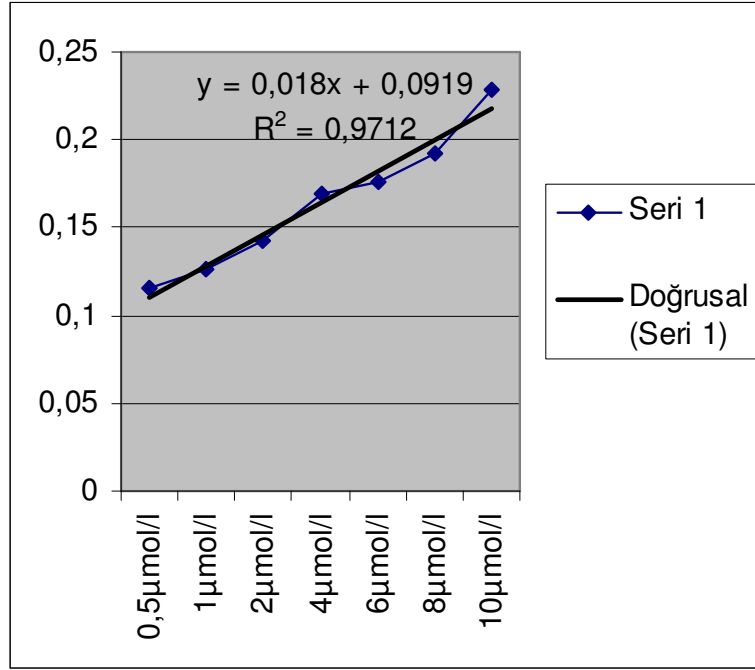
Malondialdehit deney protokolü Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 7: Malondialdehit deney protokolü

	Numune	Standart	Kör
Distile Su	-	-	500 µl
Numune(Plazma)	250 µl	-	-
Standart	-	500 µl	-
KCl	250 µl	-	-
H ₃ PO ₄	3 ml	3 ml	3 ml
TBA solüsyonu	1 ml	1 ml	1 ml

Deney tüpleri 5 sn vortekslenmiştir. 100°C'de su banyosunda 45 dk inkübasyondan sonra buz banyosunda soğutulmuştur. Numunelerin her birine 4 ml n-bütanol ilave edildikten sonra 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edilerek üstte oluşan faz ayrılıp spektrofotometrede 532 nm'de okunmuştur.

c. Malondialdehit Aktivitesinin Hesaplanması: Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standartlar, numunelerle aynı şartlarda çalışılmış ve standart grafiği çizilmiştir. Numune absorbansları sulandırma faktörü olan 10 ile çarpıldıktan sonra standart grafiğinden elde faktörle de çarpılarak MDA miktarı nmol/L olarak hesaplanmıştır.



Grafik 2 : MDA Standart grafiği

3.2.4. Plazma Total Nitrik Oksit Ölçümü

Nitrik oksit sentaz enzimleri tarafından sentezlenen NO, aerobik sulu ortamda kendiliğinden hızla oksitlenerek nitrat oluşturur. Nitrik oksit (NO[•]), üretildikten sonra, 2-30 sn gibi çok kısa serede nitrit (NO₂) ve daha sonra da nitrata (NO₃) oksitlenir. Nitrat formu, nitrik oksit türevlerinin en kararlı yapısıdır. Nitrik oksit stabil yapıda olmaması nedeniyle direkt ölçmek çok zordur. Bu nedenle nitrata kadmiyum ile nitrite indirgemek suretiyle nitrit miktarı esas alınarak NOS aktivitesi ölçülmüştür. Ortamdaki NOS aktivitesi ile oluşan NO, nitrit üzerinden Griess reaktifi ile tepkimeye girdiğinde oluşan renkli bileşik spektrofotometrede 545 nm’de ölçülmüştür. Cortas ve Wakid yöntemi ile bakılmıştır (110).

a. Kullanılan Reaktifler

1. Kadmiyum Granülleri: 0.1 mol/L H₂SO₄ içerisinde 9 ay stabil saklanabilir.

2. **Glisin-NaOH buffer:** 15 gr glisin bir miktar distile suda çözüldükten sonra pH'ı 2mol/L NaOH çözeltisi ile 9.7'ye ayarlanmıştır. Son hacim 1 litre olacak şekilde distile su ile tamamlanmıştır. Bu çözelti 1 ay 0-8 °C'de stabildir.

3. **Sülfanilamid:** 5 gr sülfanilamid 3 mol/L HCl asit içinde çözülmüştür. 1 yıl oda sıcaklığında stabildir.

4. **N-Naphthylethylene diamine(NNDA):** 50 mg NNDA 250 ml distile suda çözülmüştür. Bu çözelti 2 ay 0-8 °C'de stabildir.

5. **Çinko Sülfat (ZnSO₄):** 75mmol/L; 10.8 mg alınıp 500 ml'ye distile su ile tamamlanmıştır.

6. **Bakır Sülfat (CuSO₄):** 5mmol/L; 250 mg alınıp 200 ml'ye distile su ile tamamlanmıştır.

7. **Sodyum Hidroksit (NaOH):** 55mmol/L; 1.1 gr alınıp 500 ml'ye distile su ile tamamlanmıştır.

Standartlar:

NaNO₃ standartı: 85 mg sodyum nitrat tartılıp 10mmol/L sodyum tetra borat (Na₂B₄O₇.10H₂O) içerisinde çözülmüştür.

b. Deneyin Yapılışı

Nitrik Oksit deney protokolü Tablo 8, 9'da verilmiştir.

Deproteinizasyon

Tablo 8: Deproteinizasyon işleminin uygulanma prosedürü

	Numune	Kör
Numune (Plazma)	0.5 ml	-
Distile Su	-	0.5 ml
Çinko Sülfat	2 ml	2 ml
Sodyum Hidroksit	2.5 ml	2.5 ml

Oda ısısında 10 dakika bekletildikten sonra 4000 x g 'de 20 dk santrifüj edilmiştir.

Kadmiyum granüllerinin aktivasyonu

Granüller 3 defa distile su ile yıkanmıştır. 1-2 dakika CuSO_4 çözeltisi içinde bekletildikten sonra vortekslenmiş ve 3 defa da Glisin-NaOH buffer ile yıkanmıştır. 10 dakika içinde kullanılmak üzere kurutma kağıdı yardımıyla kurutulmuştur.

c. Nitrit Ölçümü

Tablo 9: Nitrit ölçüm prosedürü

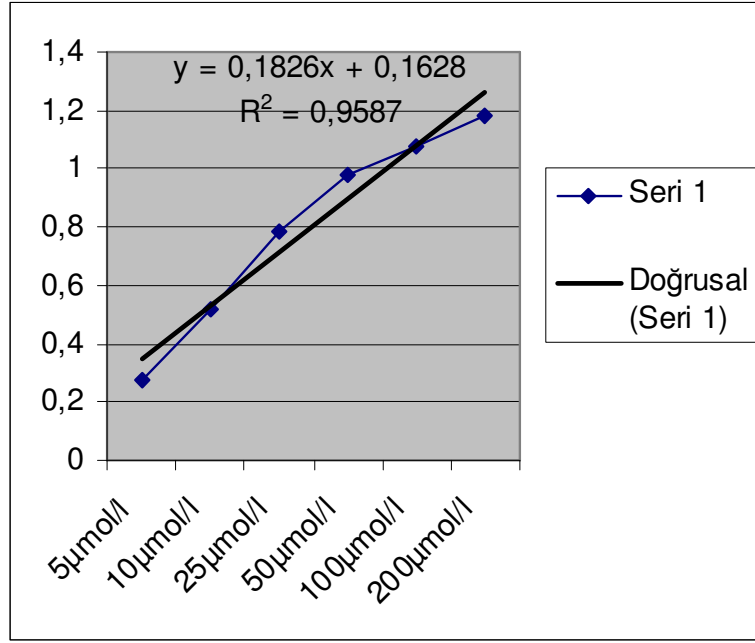
	Numune	Standart	
Glisin-NaOH buffer	1 ml	1ml	
Deproteinize sample	1ml	-	
Standart dilusyonu		1 ml	
2.5-3 gr Cd granülleri (indirgenmiş)	-		
90 dakika oda ısısında inkübasyon			
	Numune	Standart	Kör
Distile Su	-	-	1 ml
Numune (indirgenmiş)	1 ml	-	-
Standart	-	1 ml	-
Sülfanilamid	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml
N-Naphthylethylene diamine	0.5 ml	0.5 ml	0.5 ml

d. Standart Ölçümü

Standart ölçümü için 10 mmol/L NaNO_3 stok çözeltisinden 5; 10; 25; 50; 100; 200 $\mu\text{mol/L}$ 'lik seri dilusyonlar hazırlanmıştır. Numunelere uygulanan işlemlerin aynısı standartlara da uygulanmıştır.

e. Nitrat Aktivitesinin Hesaplanması

545 nm'de okunan numune absorbansları sulandırma faktörü olan 10 ile çarpılıp, elde edilen değer nitrat standard eğrisinden elde edilen faktörle çarpılıp sonuç $\mu\text{mol/L}$ olarak hesaplanmıştır.



Grafik 3 : NO Standart grafiği

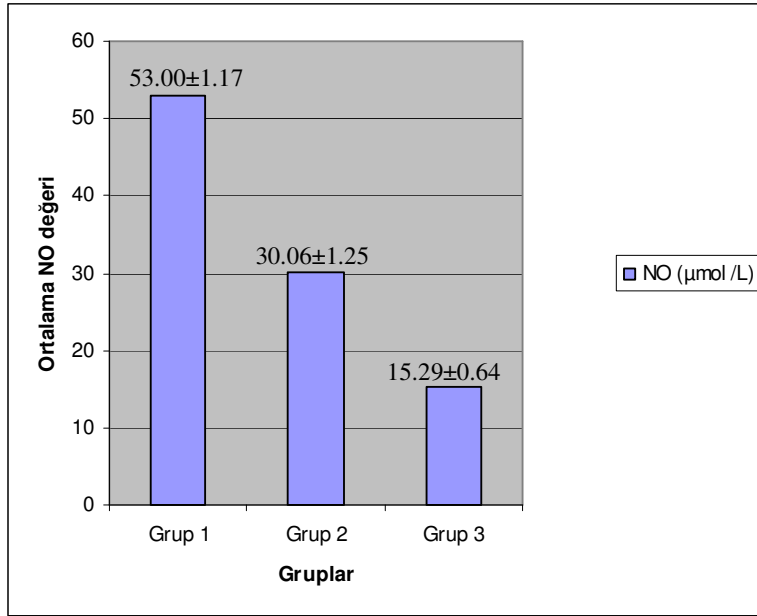
3.3. Verilerin Analizi:

Veriler, ortalama ve standart hata olarak verilmiştir. Normallik testi, Kolmogorov Smirnov Z testi ile yapılmıştır. İstatistiksel değerlendirmede bağımsız gruplarda Ts ek yönlü varyans analizi, Bağımsız t testi ve Pearson korelasyon analizi kullanılmıştır. Çoklu karşılaştırmalar ise Bonferroni testi ile gerçekleştirilmiştir. $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir. İstatistiksel analizde SPSS 13 for Windows (SPSS Inc., Chicago, USA) paket programı kullanılmıştır (111).

4. BULGULAR

a. Plazma NO Sonuçları

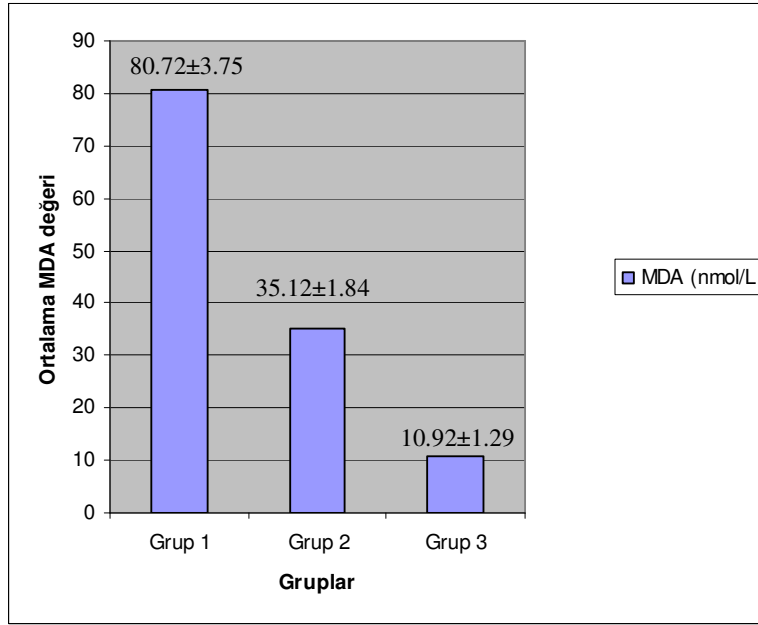
Hipertiroidi (Grup 1), Hipotiroidi (Grup 2) ve Kontrol (Grup 3) grubu bireylerinin NO düzeylerine ait sonuçlar Grafik 1’de verilmiştir. NO değerleri Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 için sırasıyla 53.00 ± 1.17 , 30.06 ± 1.25 ve 15.29 ± 0.64 $\mu\text{mol/L}$ bulunmuştur ($p=0.001$).



Grafik 4: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3’e ait ortalama \pm standart hata NO değerleri

b. Plazma MDA Sonuçları

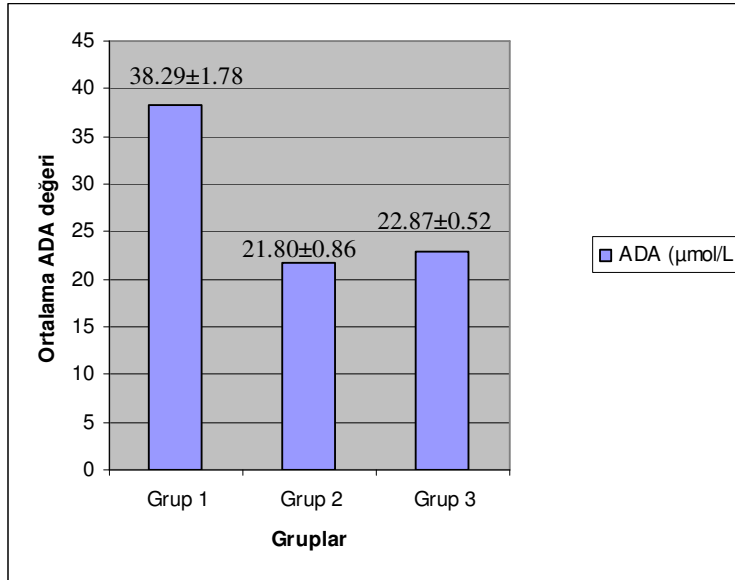
Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 MDA değerleri sırasıyla 80.72 ± 3.75 , 35.12 ± 1.84 ve 10.92 ± 1.29 nmol/L olarak bulunmuştur ($p=0.001$). Gruplara ait ortalama MDA değerleri Grafik 2’de verilmiştir.



Grafik 5: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'e ait ortalama \pm standart hata MDA değerleri

c. Plazma ADA Aktivitesi Sonuçları

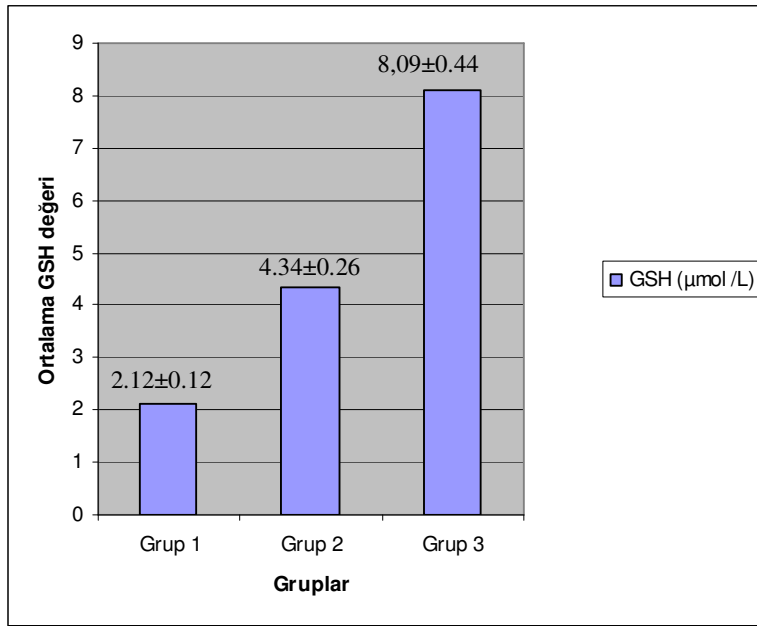
Çalışmamızda 20 hipertiroidi (Grup 1), 20 hipotiroidi (Grup 2) ve 20 kontrol (Grup 3) grubu bireylerinin ADA düzeylerine ait sonuçlar Grafik 3'deki gibidir. ADA değerleri Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 için sırasıyla 38.29 ± 1.78 , 21.80 ± 0.86 , 22.87 ± 0.52 $\mu\text{mol/L}$ şeklinde bulunmuştur ($p=0.001$).



Grafik 6: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'e ait ortalama \pm standart hata ADA değerleri

d. Plazma GSH Aktivite Sonuçları

Çalışmamızda 20 hipertiroidi (Grup 1), 20 hipotiroidi (Grup 2) ve 20 kontrol (Grup 3) grubu bireylerinin GSH düzeylerine ait sonuçlar Grafik 4'deki gibidir. GSH değerleri Grup 1, Grup 2 ve Grup 3 için sırasıyla 2.12 ± 0.12 , 4.34 ± 0.26 , 8.09 ± 0.44 $\mu\text{mol/L}$ şeklinde bulunmuştur ($p=0.001$).



Grafik 7: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3'e ait ortalama \pm standart hata GSH değerleri

NO, MDA, ADA ve GSH değişkenlerine ait tanımlayıcı değerler Tablo 10'de verilmiştir.

Tablo 10: ADA, GSH, NO ve MDA değişkenlerine ait tanımlayıcı değerler

Değişken	Grup 1 (n=20)	Grup 2 (n=20)	Grup 3 (n=20)	P değeri
ADA ($\mu\text{mol/L}$)	$38.29^{a,b} \pm 1.78$	21.80 ± 0.86	22.87 ± 0.52	0.001
GSH ($\mu\text{mol/L}$)	$2.12^{a,b} \pm 0.12$	$4.34^c \pm 0.26$	8.09 ± 0.44	0.001
NO ($\mu\text{mol/L}$)	$53.00^{a,b} \pm 1.17$	$30.06^c \pm 1.25$	15.29 ± 0.64	0.001
MDA(nmol/L)	$80.72^{a,b} \pm 3.75$	$35.12^c \pm 1.84$	10.92 ± 1.29	0.001

a = Grup 1 ile Grup 2 arası istatistiki olarak fark anlamlı; ($p= 0.001$), b = Grup 1 ile Grup 3 arası istatistiki olarak fark anlamlı; ($p= 0.001$), c = Grup 2 ile Grup 3 arası istatistiki olarak fark anlamlı; ($p= 0.001$)

ADA, GSH, NO ve MDA değişkenleri için hipertroidi, hipotroidi ve kontrol grupları arası fark istatistiksel olarak önemlidir (p=0.001). Grupların ikişerli karşılaştırılması sonucunda da ADA, GSH, NO ve MDA değişkenleri için karşılaştırmalar istatistiksel olarak önemlidir (p=0.001).

e. Yaş, TSH, T₃, T₄, ST₃ ve ST₄ değişkenlerinin karşılaştırma bulguları

Çalışmada hipertiroidi ve hipotiroidi tanısı almış olan hastaların yaş grubu hipertiroidilerde 42.45 ± 3.81, hipotiroidilerde 39.85 ± 2.76 ve kontrol grubunda 33.60 ± 1.32 dir. Yaş, TSH, T₃, T₄, ST₃ ve ST₄ değişkenleri için yapılan ikili karşılaştırma sonuçları Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11: Yaş, TSH, T₃, T₄, ST₃ ve ST₄ değişkenlerinin karşılaştırma değerleri

Değişken	Grup 1 (n=20)	Grup 2 (n=20)	Grup 3 (n=20)	P değeri
YAŞI	42.45 ± 3.81	39.85 ± 2.76	33.60 ± 1.32	0.083
TSH	0.28 ^{a,b} ± 0.19	34.65 ^c ± 8.94	1.94 ± 0.17	0.001
T₃	260.13 ^{a,b} ± 26.71	126.14 ^c ± 9.16	130.40 ± 2.95	0.001
T₄	14.19 ^{a,b} ± 0.95	4.84 ^c ± 0.66	7.65 ± 0.40	0.001
ST₃	5.05 ^{a,b} ± 0.41	2.57 ^c ± 0.23	3.01 ± 0.11	0.001
ST₄	2.37 ^{a,b} ± 0.21	0.69 ^c ± 0.09	1.96 ± 0.16	0.001

a = Grup 1 ile Grup 2 arası istatistiki olarak fark anlamlı; (p= 0.001), b = Grup 1 ile Grup 3 arası istatistiki olarak fark anlamlı; (p= 0.001), c = Grup 2 ile Grup 3 arası istatistiki olarak fark anlamlı; (p= 0.001)

Yaş ile gruplar arası karşılaştırma sonucunda istatistiki olarak anlamlı fark bulunamamıştır (p=0.083). TSH, T₃, T₄, ST₄ ve ST₃ değişkenlerinin karşılaştırma sonuçlarına göre gruplar arası fark istatistiki olarak önemli bulunmuştur (p=0.001).

f. ADA, GSH, NO, MDA, Yaş, TSH, T₃, T₄, ST₃ ve ST₄ değişkenlerinin kontrol grubuna (Grup 3) göre değişim bulguları

Tablo 12 : ADA, GSH, NO, MDA, Yaş, TSH, T₃, T₄, ST₃ ve ST₄ değişkenlerinin kontrol grubuna (Grup 3) göre değişimleri

Değişkenler	Gruplar	Ort. ±Std.Hata	Değişim %
ADA	Grup 1	38.29 ± 1,78	67.42
	Grup 2	21.80 ± 0,86	-4,67
	Grup 3	22.87 ± 0,52	0
GSH	Grup 1	2.12 ± 0,12	-73.79
	Grup 2	4.34 ± 0,26	-46.35
	Grup 3	8.09 ± 0,44	0
NO	Grup 1	53.00 ± 1.17	246.63
	Grup 2	30.06 ± 1.25	96.59
	Grup 3	15.29 ± 0.64	0
MDA	Grup 1	80.72 ± 3.75	639.19
	Grup 2	35.12 ± 1.84	221.61
	Grup 3	10.92 ± 1.29	0
YAŞ	Grup 1	42.45 ± 3.81	26.33
	Grup 2	39.85 ± 2.76	18.60
	Grup 3	33.60 ± 1.32	0
TSH	Grup 1	0.28 ± 0.19	-85.56
	Grup 2	34.65 ± 8.94	1686.08
	Grup 3	1.94 ± 0.17	0
T₃	Grup 1	260.13 ± 26.71	99.48
	Grup 2	126.14 ± 9.16	-3.26
	Grup 3	130.40 ± 2.95	0
T₄	Grup 1	14.19 ± 0.95	85.49
	Grup 2	4.84 ± 0.66	-36.73
	Grup 3	7.65 ± 0.40	0
ST₃	Grup 1	5.05 ± 0.41	67.77
	Grup 2	2.57 ± 0.23	-14.61
	Grup 3	3.01 ± 0.11	0
ST₄	Grup 1	2.38 ± 0.22	21.42
	Grup 2	0.69 ± 0.09	-64,79
	Grup 3	1.96 ± 0.16	0

g. ADA, GSH, NO ve MDA değişkenlerinin cinsiyetle karşılaştırma bulguları

ADA GSH, NO ve MDA, değişkenleri bakımından cinsiyetin karşılaştırılma sonuçları Tablo 13’de verilmiştir.

Tablo 13: ADA, GSH, NO ve MDA değişkenleri yönünden cinsiyetin karşılaştırılması

Değişken	Kadın (n=47)	Erkek (n=13)	P değeri
ADA	12.91 ± 1.67	16.26 ± 2.98	0.34
GSH	4.51 ± 0.36	6.06 ± 0.98	0.08
NO	34.08 ± 2.38	28.09 ± 4.44	0.24
MDA	44.39 ± 4.52	34.50 ± 8.85	0.31

ADA, GSH, NO ve MDA değişkenleri bakımından cinsiyetkarşılaştırılmasında anlamlı fark tespit edilmemiştir (p>0.05).

h. ADA, GSH, NO ve MDA değişkenlerinin yaşla ilişkisi

Yaş ile ADA, GSH, NO ve MDA değişkenlerine ait korelasyonlar Tablo 14’de verilmiştir.

Tablo 14: Yaş ile ADA, GSH, NO ve MDA değişkenlerine ait korelasyonlar

		ADA	GSH	NO	MDA
Yaş	r	-0.27	-0.25	0.29	0.29
	p	0.03	0.05	0.02	0.02
	n	60	60	60	60

ADA, NO ve MDA için korelasyonlar anlamlı olup, yaş ile NO ve MDA arasında pozitif yönde anlamlı ilişki varken, ADA ve GSH ile arasında ters yönde anlamlı ilişki vardır.

1. Grup 1 ADA, GSH, NO, MDA, TSH, T₃, T₄, ST₃, ST₄, yaş değişkenleri korelasyon analiz bulguları

Grup 1'e ait ADA, GSH, NO, MDA, TSH, T₃, T₄, ST₃, ST₄, yaş değişkenleri korelasyon analiz sonuçları Tablo 15'da verilmiştir.

Tablo 15: Grup 1'e ait korelasyon analiz sonuçları

		ADA ($\mu\text{mol/l}$)	GSH ($\mu\text{mol/l}$)	NO ($\mu\text{mol/dl}$)	MDA (nmol/l)	YAŞI	TSH	T ₃	T ₄	ST ₃	ST ₄
ADA ($\mu\text{mol/L}$)	r	1	.055	.091	.066	-.099	.305	.164	.050	-.115	-.045
	P		.812	.702	.783	.677	.191	.489	.832	.629	.851
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
GSH ($\mu\text{mol/L}$)	r	.055	1	.581	.481	-.156	.128	.033	-.310	-.219	-.321
	P	.812		.007	.031	.512	.589	.888	.182	.354	.167
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
NO ($\mu\text{mol/L}$)	r	.091	.580	1	.832**	.274	-.170	.047	-.079	-.291	-.175
	P	.702	.007		.0001	.243	.473	.843	.738	.213	.460
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
MDA(nmol/L)	r	.066	.481	.832	1	.218	-.112	.207	-.016	-.039	-.034
	P	.783	.032	.0001		.356	.638	.381	.945	.870	.888
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
YAŞI	r	-.099	-.156	.274	.218	1	-.357	.363	.274	-.032	.285
	P	.677	.512	.243	.356		.122	.116	.241	.895	.223
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
TSH	r	.305	.128	-.170	-.112	-.357	1	-.207	-.221	-.252	-.361
	P	.191	.589	.473	.638	.122		.382	.363	.285	.118
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
T ₃	r	.164	.033	.047	.207	.363	-.207	1	.320	.684	.519
	P	.489	.890	.843	.381	.116	.382		.168	.001	.019
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
T ₄	r	.050	-.310	-.079	-.016	.274	-.215	.320	1	.421	.790
	P	.832	.182	.739	.945	.241	.361	.168		.064	.0001
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
ST ₃	r	-.115	-.219	-.291	-.039	-.032	-.252	.684	.421	1	.656
	P	.629	.354	.213	.870	.895	.285	.001	.064		.002
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
ST ₄	r	-.045	-.321	-.175	-.034	.285	-.361	.519	.790	.656	1
	P	.850	.167	.460	.888	.223	.118	.019	.0001	.002	
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20

Tabloda görüldüğü gibi MDA ile NO arasındaki korelasyon katsayısı 0.83 olup, pozitif yönde güçlü bir ilişki vardır. Anlamlı korelasyonlar tabloda koyu renkle belirtilmiştir.

i. Grup 2 ADA, GSH, NO, MDA, TSH, T₃, T₄, ST₃, ST₄, yaş değişkenleri korelasyon analiz bulguları

Grup 2'e ait ADA, GSH, NO, MDA, TSH, T₃, T₄, ST₃, ST₄, yaş değişkenleri korelasyon analiz sonuçları Tablo 16'de verilmiştir.

Tablo 16: Grup 2'ye ait korelasyon analiz sonuçları

		ADA (µmol/l)	GSH (µmol/l)	NO (µmol/dl)	MDA (nmol/l)	YAŞI	TSH	T ₃	T ₄	ST ₃	ST ₄
ADA (µmol/L)	r	1	.653	-.046	-.064	-.254	.325	-.090	-.079	-.179	-.084
	P		.002	.849	.789	.279	.187	.705	.741	.449	.724
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
GSH (µmol/L)	r	.653	1	-.051	-.003	.229	.307	-.280	-.251	-.356	-.148
	P	.002		.832	.991	.330	.214	.231	.284	.122	.531
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
NO (µmol/L)	r	-.046	-.051	1	.948**	-.093	-.371	.129	.298	.151	.190
	P	.849	.832		.0001	.696	.129	.587	.203	.524	.421
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
MDA(nmol/L)	r	-.064	-.003	.948	1	-.067	-.319	.077	.185	.116	.174
	P	.789	.991	.0001		.780	.181	.745	.435	.625	.462
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
YAŞI	r	-.254	.229	-.093	-.067	1	-.123	.020	.134	.201	.255
	P	.279	.330	.696	.780		.627	.935	.575	.394	.276
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
TSH	r	.325	.307	-.371	-.329	-.122	1	-.718	-.873	-.709	-.755
	P	.187	.214	.129	.181	.627		.001	.0001	.001	.001
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
T₃	r	-.090	-.280	.129	.077	.020	-.718	1	.593	.663	.408
	P	.705	.231	.587	.745	.935	.001		.006	.002	.073
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
T₄	r	-.079	-.252	.298	.185	.134	-.873	.593	1	.578	.842
	P	.741	.284	.203	.435	.575	.0001	.006		.007	.0001
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
ST₃	r	-.171	-.333	.103	.052	.201	-.709	.663	.578	1	.675
	P	.483	.164	.674	.831	.394	.001	.001	.007		.001
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
ST₄	r	-.122	-.030	-.076	-.026	.255	-.755	.408	.842	.675	1
	P	.619	.902	.759	.914	.276	.001	.073	.0001	.001	
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20

Tabloda görüldüğü gibi MDA ile NO arasındaki korelasyon katsayısı 0.94 olup, pozitif yönde çok güçlü bir ilişki vardır. Diğer anlamlı korelasyonlar koyu olarak tabloda belirtilmiştir.

j. Grup 3 ADA, GSH, NO, MDA, TSH, T₃, T₄, ST₃, ST₄, yaş değişkenleri korelasyon analiz bulguları

Grup 3'e ait ADA, GSH, NO, MDA, TSH, T₃, T₄, ST₃, ST₄ ve yaş değişkenleri korelasyon analiz sonuçları Tablo 17'de verilmiştir.

Tablo 17: Grup 3'e ait korelasyon analiz sonuçları

		ADA ($\mu\text{mol/l}$)	GSH ($\mu\text{mol/l}$)	NO ($\mu\text{mol/dl}$)	MDA (nmol/l)	YAŞI	TSH	T ₃	T ₄	ST ₃	ST ₄
ADA ($\mu\text{mol/L}$)	r	1	.186	.156	.234	.420	-.225	-.287	.016	.139	.053
	P		.432	.510	.320	.065	.341	.219	.945	.558	.824
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
GSH ($\mu\text{mol/L}$)	r	.186	1	-.004	.106	-.156	.279	.101	-.118	-.197	.348
	P	.432		.987	.655	.510	.233	.673	.617	.406	.133
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
NO ($\mu\text{mol/L}$)	r	.156	-.004	1	.850**	.242	-.169	.142	-.016	-.099	.005
	P	.510	.987		.0001	.303	.477	.551	.948	.677	.983
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
MDA(nmol/L)	r	.234	.106	.850	1	-.007	.128	.020	-.142	.022	.398
	P	.320	.656	.0001		.975	.592	.933	.549	.928	.082
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
YAŞI	r	.420	-.156	.242	-.007	1	-.502	.081	.145	-.064	-.172
	P	.065	.510	.303	.975		.024	.735	.541	.790	.469
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
TSH	r	-.225	.279	-.169	.128	-.502	1	-.170	-.530	-.162	.374
	P	.341	.233	.477	.592	.024		.475	.016	.495	.105
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
T ₃	r	-.287	.101	.142	.020	.081	-.170	1	.668	-.066	.238
	P	.219	.673	.551	.933	.735	.475		.001	.781	.312
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
T ₄	r	.016	-.118	-.016	-.142	.145	-.530(*)	.668	1	-.102	.049
	P	.945	.619	.948	.549	.541	.016	.001		.668	.837
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
ST ₃	r	.139	-.197	-.099	.022	-.064	-.162	-.066	-.102	1	.101
	P	.558	.406	.677	.928	.790	.495	.781	.668		.672
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
ST ₄	r	.053	.348	.005	.398	-.172	.374	.238	.049	.101	1
	P	.824	.133	.983	.082	.469	.105	.312	.837	.672	
	N	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20

MDA ile NO arasındaki korelasyon 0.850 olup, pozitif yönde güçlü ilişki vardır. Anlamli korelasyonlar tabloda **koyu** olarak belirtilmiştir.

k. NO değişkenine ait çoklu stepwise regresyon analiz bulguları

Tablo 18: NO, T₃, T₄, ST₃, ST₄, TSH değişkenleri yönünden çoklu stepwise regresyon analiz sonuçları

	Katsayı	Std. Hata	R ²	P
Sabit	14.134	3.343	0.55	0.0001
T ₄	2.537	0.516		0.0001
ST ₄	-9.012	2.267		0.0002
T ₃	0.065	0.021		0.002

NO ile T₃, T₄, ST₃, ST₄, TSH arasındaki ilişki modellendiği zaman, tahminlenen modelde önemli değişkenler olarak T₃, ST₄ ve T₄ bulunmuştur (p<0.05). Modele ait belirleme katsayısı ise 0.55 olarak tespit edilmiştir .

l. MDA değişkenine ait çoklu stepwise regresyon analiz bulguları

Tablo 19: MDA, T₃, T₄, ST₃, ST₄, TSH değişkenleri yönünden çoklu stepwise regresyon analiz sonuçları

	Katsayı	Std. Hata	R ²	P
Sabit	4.940	6.567	0.53	0.455
T ₃	0.142	0.041		0.001
T ₄	4.130	1.014		0.001
ST ₄	-14.036	4.454		0.002

MDA ile T₃, T₄, ST₃, ST₄, TSH değişkenleri için stepwise regresyon analiz sonucunda, T₃, ST₄ ve T₄ değişkenleri modeldeki önemli değişkenler olarak tespit edilmiştir (p<0.05). Modele ait belirleme katsayısı ise 0.53 olarak bulunmuştur.

m. ADA değişkenine ait çoklu stepwise regresyon analiz sonuçları

Tablo 20: ADA, T₃, T₄, ST₃, ST₄, TSH değişkenleri yönünden çoklu stepwise regresyon analiz sonuçları

	Katsayı	Std. Hata	R ²	P
Sabit	20.626	2.806	0.35	0.0001
T ₄	-1.330	0.433		0.003
ST ₄	7.425	1.903		0.0002
T ₃	-0.044	0.017		0.013

ADA ile T₃, T₄, ST₃, ST₄, TSH değişkenleri çoklu stepwise regresyon analiz sonucunda, T₃, ST₄ ve T₄ anlamlı değişkenler olarak tespit edilmiştir (p<0.05).

n. GSH değişkenine ait çoklu stepwise regresyon analiz bulguları

Tablo 21: GSH, T₃, T₄, ST₃, ST₄, TSH değişkenleri yönünden çoklu stepwise regresyon analiz sonuçları

	Katsayı	Std. Hata	R²	P
Sabit	9.144	0.805	0.58	0.0001
T₄	-0.475	0.090		0.0001
ST₄	2.107	0.399		0.0001
TSH	-0.033	0.012		0.012
ST₃	-0.895	0.230		0.0002

GSH ile T₃, T₄, ST₃, ST₄, TSH arasındaki ilişki modellendiğinde, modelde önemli değişken olarak T₃, ST₄, TSH ve T₄ bulunmuştur (p<0.05). Modele ait belirleme katsayısı ise 0.58 olarak tespit edilmiştir.

5. TARTIŞMA

Dünyada ve ülkemizde giderek artmakta olan tiroid hastalıklarının kalp yetmezliği, solunumsal bozukluk ve mental yetersizlik gibi ciddi sağlık problemlerine yol açtığı bir gerçektir. Tiroid hormonlarının dokulardaki bazal metabolik hızı ve enerji metabolizmasını etkilediği bilinmektedir. Tiroid hormonlarının enerji metabolizması üzerine etkisi oksijen tüketiminde, mitokondriyal oksidatif fosforilasyonunda ve bazı mitokondriyal solunum zinciri komponentlerinin aktivite ve sayısında değişikliklere yol açarak mitokondriyal solunumu artırma şeklindedir (5,6,7,112).

Hipertiroidide tiroid hormonları sebebiyle oluşan hipermetabolik durumun mitokondriyal elektron transport bölgesinde süperoksit radikalinin oluşumunda artışa yol açtığı bildirilmiştir. Artan süperoksit radikalleri lipid peroksidasyonunun başlamasında rol oynayan radikal türlerinin oluşumuna zemin hazırlamakta ve mitokondride serbest radikal oluşumu hızlandırmaktadır. Böylece antioksidan koruma sisteminde de değişiklikler oluşmaktadır. Bu durum oksidatif metabolizmada artışa sebep olurken, lipid ve lipoprotein plazma seviyelerinde düşüşe neden olur (6,7,8,113).

Hipotiroidizmde ise tiroid hormon seviyesindeki azalma bazal metabolizma hızının düşmesine ve metabolik baskılanmaya yol açmaktadır. Bunun sonucu olarak serbest radikal oluşumunun azaldığı ve dokuların lipid peroksidasyonuna karşı korunduğu rapor edilmiştir (6).

Serbest radikallerin tiroid hastalıklarının patogeneğinde ve hastalığın ilerleyen safhalarında gözlenen komplikasyonlardan sorumlu olduğu bildirilmiştir (5).

Nitrik oksidin inflamasyon ve hastalıklarda sentezinin arttığı ve üretilen NO düzeyindeki artışın doku hasarına doğrudan katkıda bulunduğunu destekleyen çalışmalar da vardır (114,115, 116) .

Nitrik oksidin oksidasyonu sonucu oluşan peroksinitrit (ONOO⁻), nitrojen dioksit (NO₂), dinitrojen trioksit (NO₂O₃) ve nitroksil iyonu oksidatif strese yol açabilmektedir. Nitrojen oksit türleri oksijen radikalleri gibi lipid peroksidasyonunu başlatabilir. NO'den kaynaklı reaktif türlerinin enzim inhibisyonuna, DNA parçalanmasına, baz modifikasyonlarına, zar lipidlerinin oksidatif yıkımına ve hücrel antioksidan

tüketimine neden olabildiği bilinmektedir. Ayrıca metal iyonlarının oksidasyonunu değiştirebildiği, proteinleri oksitleyebildiği ve antioksidan tüketimine neden olabildikleri de bilinmektedir. Tüm bunların yanı sıra vücutta oksijen kaynaklı serbest radikallerinin sentezi artmamış olsa dahi indüksiyonlar sonucu artmış NO sentezi tek başına nitrozatif strese neden olabilmektedir (33).

Plazma NO düzeylerinin; hipertiroidili hastalarda kontrol grubuna göre % 246, hipotiroidili hastalarda ise kontrol grubuna göre % 96 artış gösterdiği gözlenmiştir (Tablo 12). Gruplar arası yapılan istatistiki karşılaştırmada NO düzeyindeki artış ile kontrol grubu arasındaki ilişkide istatistiki olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Çalışmamızla paralel olarak Seven ve ark. (117) Basedow (Hipertiroidi) hasta grubunda triiyodotiroinin (T_3) ve tiroksin (T_4) hormon düzeylerinin arttığını ve tiroid stimulan hormon (TSH) seviyelerinin kontrol grubuna göre düştüğünü tespit etmişlerdir. Ayrıca NO seviyesinin kontrol grubuna nazaran anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Hastaların bir ay propiltiourasil ile tedavi sonrasında NO düzeylerinde azalma gözlemlendiği rapor edilmiştir.

Hipertiroidizm oluşturulan ratlarda endotelial kaynaklı NO ve bazal NO düzeylerinin yükseldiği bildirilmiştir (118,119). Yine ilaçla hipertiroidi oluşturulan ratların karaciğer dokularında NO üretiminin kontrollere kıyasla arttığı rapor edilmiştir (120). Iwata ve ark. da (121) deneysel hipotiroidizm oluşturdukları ratlarda hastalığın erken döneminde bazal NO oluşumu ve salınımının azaldığını saptamışlardır. Huffman ve ark. (122) hipertiroidili ratlarda NO salınımının arttığını, hipotiroidili ratlarda ise azaldığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda da hipertiroidili hasta plazma NO düzeylerinde anlamlı artış gözlenmiştir ($p=0.001$). Ancak hipotiroidili hasta gruplarında Huffman ve ark.'ın elde ettiği gibi bir düşüş gözlenmemiştir. Bu durum ratlarda oluşturdukları hipotiroidizm hastalığının henüz erken fazda oluşundan kaynaklandığı şeklinde açıklanabilir.

Mc Allister ve ark. (123) deneysel olarak hipotiroidizm ve hipertiroidizm oluşturdukları ratların arteriyal damarlarında NO oluşumunun artış gösterdiğini ve Rodriguez-Gomez ve ark. (124) hipertiroidili ratlarda plazma NO düzeylerinin arttığını rapor etmişlerdir.

Bizim çalışma sonuçlarımıza göre hipertiroidili ve hipotiroidili hasta gruplarının plazma NO düzeyleri kontrol grubuna kıyasla yüksek olduğu belirlenmiştir. Tiroid hastalığının ağır tablosundan kaynaklı artan lipid peroksidasyon ürünleri sonucunda hücreler aşırı miktarda oksidanla karşı karşıya kalmış olabilir. Bunun sonucunda organizmada oksidatif strese neden olmuş olabilir.

Oksidan stres reaksiyonlarının şiddeti, yine bir başka oksidan olan lipid peroksidasyon son ürünü olan malondialdehitin (MDA) plazma konsantrasyonu ile de belirlenmektedir.

Çalışmamızda plazma MDA değerleri; kontrol grubuna kıyasla hipertiroidili hastalarda % 639, hipotiroidili hastalarda ise % 221 artış olmuştur (Tablo 12). Gruplar arası yapılan istatistiki karşılaştırma sonucunda, MDA düzeylerinde anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir (Tablo 10, Grafik 2, $p < 0.05$).

Yaptığımız çalışma ile paralel olarak, Mano ve ark. (125) ve Guerra ve ark. (126) Graves'(Hipertiroidi) hastaları MDA konsantrasyonlarını kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Yine Graves hastalarında yapılan bir çalışmada hipertiroidili hastaların serum MDA düzeylerinin ötroidili kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuş olup idrar MDA düzeyleri ile serum MDA düzeylerinin paralel olduğu tespit edilmiştir (127). Yine Danis ve ark. (128) farklı derecelerde diffuz guatrli hasta serum MDA düzeylerinde kontrol grubuna göre artışın ve vitamin E düzeylerinde ise azalmanın sonucunda olduğunu rapor etmişlerdir. Artan MDA düzeyi ve azalan vitamin E seviyesi tirotoksikozda vitamin E eksikliğinin oluşabileceğini bildirmişlerdir.

Alicigüzel ve ark. da (129) toksik nodüler guatrli hastalarda plazma MDA seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede yükseldiğini rapor etmişlerdir. Çetinkaya ve ark. (130) subklinik hipertiroidili hasta plazmalarında MDA düzeylerinin kontrol grubuna nazaran anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Adali ve ark. (131) hipertiroidili hastaları; propiltiyourasil (PTU) tedavisi alanlar, PTU + propranolol (PRP) tedavisi alanlar ve PTU + PRP + vitamin E (vit E) tedavisi alanlar şeklinde üç gruba ayırmışlardır. Tedavi öncesi plazma MDA düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır ($p < 0.001$). Tedavi sonrası her üç grubun plazma MDA düzeylerinde azalmalar olduğunu tespit etmişlerdir ($p < 0.001$ PTU + PRP, PTU + PRP + vitE gruplarında, $p < 0.01$ PTU grubunda).

Gür ve ark. (132) hipertiroidli hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası MDA ve antioksidan enzim düzeyleri üzerine yaptıkları bir çalışmada tedavi sonrası dönemde, tedavi öncesine kıyasla serum MDA düzeylerinde anlamlı bir azalma tespit etmişlerdir ($p<0.05$) Dumitriu ve ark. da (133) tedavi edilmemiş yetişkin hipertiroidi hastaları, tiroidektomili yetişkin hipotiroidi hastaları (en az onbeş gün tedavisi kesilmiş olan hastalar) ve yetişkin kontrollerden oluşan üç grup oluşturmuşlardır. Hipertiroidili ve hipotiroidili hasta serumlarında MDA düzeylerini kontrol grubuna kıyasla yüksek bulmuşlardır. Ortalama seruloplazmin seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Tiroidektomi sonrası hipotiroidizmde artan lipid peroksidasyon sonucunda, serum seruloplazmin (CP) düzeylerinin düşmüş olabileceğini rapor etmişlerdir.

Dirican ve ark. (134) deneysel hipertiroidizm oluşturdukları ratları hipertiroidili (grup H), hipertiroidili ve vitamin E uygulaması yapılan (grup H+E), hipertiroidili ve vitamin C uygulaması yapılan (grup H+C) diye üç gruba ayırarak MDA düzeylerini karşılaştırmışlardır. Grup (H+C) ve grup (H+E)'nin plazma MDA seviyeleri grup (H)'ye kıyasla anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Vitamin E ve C uygulamasının lipoproteinleri bakır bağımlı oksidasyondan koruduğunu savunmuşlardır. Yine Baydas ve ark. (135) deneysel hipertiroidizm oluşturdukları ratlarda hipertiroidi, hipertiroidi +melatonin, kontrol grubu olmak üzere üç grup oluşturmuşlar. Hipertiroidili grubun T_3 , T_4 ve MDA düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bir antioksidan hormon olan melatonin verilen grubun MDA düzeylerinde hipertiroidili grubun değerlerine göre anlamlı azalma olurken, melatonin T_3 , T_4 konsantrasyonlarını etkilememiştir. Yüksek doz melatoninin hipertiroidi kaynaklı lipid peroksidasyon ve oksidatif hasarın etkisini azalttığını rapor etmişlerdir. Ayrıca Mogulkoc ve ark. (136) hipertiroidi oluşturdukları ratların testis ve böbrek dokusunda pinealektominin oksidan hasarı arttırdığı hipotezini savunmuşlar ve hipertiroidili grubun testis ve böbrek dokusunda MDA seviyelerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir.

Özdem ve ark. (137) Toksik Multinodüler Guatr hastalarının plazma MDA düzeylerini incelemişler, hasta plazma MDA düzeylerinin kontrol grubu MDA seviyesine kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu tespit etmişlerdir ($p<0.001$). Yine Çıkmış ve ark (138) yaptığı benzer bir çalışmada Toksik Multinodüler Guatrlı (TMG)

hastaların tedavi öncesi plazma MDA düzeylerinin, tedavi sonrası MDA düzeylerinden anlamlı derecede yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Homosistein düzeylerinin ise düşük olduğunu rapor etmişlerdir. TMG grubunda artan bazal metabolik hızın glomerular filtrasyon hızının artışına ve böylece homosisteinin daha fazla katabolize edilmesine bağlı olarak düzeyinin düşük bulunduğunu rapor etmişlerdir.

Yılmaz ve ark. da (139) hipotiroidi oluşturdukları 30 ve 60 günlük rat karaciğer dokularında MDA düzeylerinin kontrollere kıyasla arttığını, kalp ve tiroid dokularında ise azaldığını tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada hipotiroidizm oluşturulan ratların plazma, kırmızı kan hücreleri, karaciğer, kalp ve iskelet kasında MDA düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla artış gözlenmiş olup vitamin E uygulanan hipotiroidili grubun MDA düzeyleri hipotiroidili rat grubuna göre düşük bulunduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada ayrıca vitamin E uygulamasının hipotiroidizm kaynaklı oksidatif strese karşı koruyucu rol oynadığı rapor edilmiştir (140).

Hipotiroidizm oluşturulan ratlarda ise plazma, kırmızı kan hücreleri, karaciğer ve böbrek dokusunun MDA düzeylerinin kontrol grubu ratlarına ait MDA düzeyinden yüksek olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada hipotiroidili rat grubunun MDA seviyesinin taurin verilen hipotiroidili grubun MDA düzeyine kıyasla düşük bulunduğu rapor edilmiştir. Hipotiroidizm sonucu artan oksidatif strese karşı taurinin koruyucu rol oynadığı savunulmuştur (141). Bilgihan ve ark. (142) ise hipertiroidili rat göz dokusunda MDA düzeyinin kontrol grubuna kıyasla arttığını ve glutatyon peroksidaz aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla düştüğünü tespit etmişlerdir. Hipotiroidili ratların göz dokusunda MDA düzeyinin kontrol grubuna kıyasla artarken glutatyon peroksidaz aktivitesinin kontrol grubuna göre anlamlı değişiklik göstermediğini gözlemlemişlerdir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlardan farklı olarak; Mogulkoc ve ark. (143) yüksek doz tiroksinin, deneysel hipotiroidizmde oluşan oksidatif hasar üzerine etkilerini araştırmışlardır. Kontrol, hipotiroidi ve tiroksin verilen hipotiroidi grubu olmak üzere üç grup oluşturmuşlardır. Tiroksin verilen hipotiroidili rat grubunun serebral, hepatik ve kardiak doku MDA düzeylerinin kontrol ve hipotiroidili grubun MDA düzeylerinden yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca aynı parametreler hipotiroidili gruba nazaran kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur. Bunun sebebi olarak da çalışılan dokularda hipotiroidizmin oksidatif hasarı azalttığını rapor etmişlerdir.

Bir başka çalışmada dişi tavşanlarda deneysel hipertiroidizm oluşturulmuş ve hipertiroidili serum MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış gösterdiği tespit edilmiştir. Serbest radikal vericisi olan 2,2'-azobis (2-amidinopropan) hidrokloride maruz bırakılınca oksidatif strese karşı eritrosit rezistansı düşmüştür. Oksidatif strese karşı eritrosit rezistansının ve oksijen radikallerine karşı plazmanın koruyucu yeteneğinin ölçülmesinde tiroid hormonlarının defans mekanizmasında lipid peroksidasyonuna karşı modölatör etkisinin bulunduğu belirtilmiştir (144). Yine Mogulkoc ve ark. (145) hipertiroidizmin rat testis ve böbrek dokularında lipid peroksidasyonuna sebep olduğunu ileri sürmüşlerdir. Ramları hipertiroidi, hipertiroidi + melatonin ve kontrol grubu olmak üzere üç gruba ayırmışlardır. Deneysel hipertiroidizm oluşturdukları ratlara intraperitoneal melatonin vermişlerdir. Çalışma sonucunda hipertiroidili grubun testis ve böbrek doku homojenat MDA düzeylerinin kontrol ($p<0.001$) ve melatonin verilen hipertiroidili gruba ($p<0.001$) kıyasla yüksek olduğunu rapor etmişlerdir.

Çalışmamızdan farklı olarak; Sener ve ark. (146) deneysel hipotiroidizm oluşturdukları ratlara ışın tedavisi uygulanmasının oksidatif organ hasarı üzerine etkisini araştırmışlardır. Uygulama sonrası ratların akciğer, karaciğer, böbrek ve ileum doku MDA düzeylerinin önemli derecede arttığını gözlemlemişlerdir. Propiltiourasil tedavisinin biyokimyasal sonuçları tersine çevirdiğini saptamışlardır. Antioksidan mekanizmalar ve üretimi azalan reaktif oksijen türleriyle ilişkili olarak hipotiroidinin çalışılan doku örneklerinde oksidatif hasarın etkisini azalttığını rapor etmişlerdir.

Cehade ve ark. (147) hipertiroidili ve hipotiroidili rat serebral dokusunda MDA düzeylerini ve tiroid hormonuna etkisini incelemişlerdir. Hipotiroidili ratlarda plazma MDA proteinlerinde serebral doku ve kontrole kıyasla önemli derecede azalma olduğunu rapor etmişlerdir. Hipertiroidide ise önemli bir ilişkiye rastlanmamıştır. Mogulkoç ve ark.(148) hipertiroidizm oluşturdukları rat beyin, karaciğer ve kalp doku MDA seviyelerinin kontrol grubu rat doku MDA seviyelerine kıyasla anlamlı yüksek olduğunu rapor etmişlerdir ($p<0.001$). Hipertiroidi+melatonin grubuna ait rat beyin, karaciğer ve kalp doku MDA düzeyleri hipertiroidili grubun değerlerine oranla anlamlı derecede düşüş göstermiştir ($p<0.001$). Cehade ve ark. da (149) hipotiroidizm oluşturdukları genç ratların kalp dokusunda MDA konsantrasyonlarının ötiroidili ratlara göre anlamlı derecede düştüğünü, genç hipertiroidili rat doku MDA seviyelerinin

ötiroidili ratlara kıyasla yüksek olduğunu bulmuşlardır. Yaşlı ratlarda hem hipertiroidizmde hem de hipotiroidizmde MDA konsantrasyonlarının yüksek olduğu rapor edilmiştir. Yine Dariyerli ve ark. (150) hipotiroidizm oluşturdukları rat kan örneklerinde elde edilen MDA değerlerinin kontrol grubu ile arasında anlamlı bir fark olmadığını rapor etmişlerdir.

Hipertiroidili ratların MDA düzeylerinde görülen anlamlı artış bulgularımızı desteklemektedir. Fakat hipotiroidili rat MDA seviyelerinin kontrol grubuna göre düşük çıkması bizim çalışma sonuçlarımızla uyumlu değildir. Çalışmamızda hipertiroidili grubun plazma MDA değerleri kontrol grubu ve hipotiroidili grubun MDA değerlerine göre anlamlı yüksek bulunmuştur. Hipertiroidizmde bazal metabolik hızın artmasıyla tetiklenen lipid peroksidasyon zincir reaksiyonları sonucunda oluşan malondialdehit (MDA) düzeyindeki artış ile açıklanabilir.

Hipotiroidili hasta grubunda da plazma MDA düzeyleri kontrol grubu MDA düzeylerinden yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular bize hipotiroidizmin oksidatif stres nedeniyle peroksidasyona sebep olup plazma MDA düzeylerinde artış şeklinde yansıdığını düşündürmüştür.

Çalışmamızda hipertiroidi, hipotiroidi ve kontrol grubu ile yaş, TSH, T₃, T₄, ST₃ ve ST₄ değişkenleri için yapılan ikili karşılaştırma sonuçlarının değerlendirilmesinde TSH, T₃, T₄, ST₄ ve ST₃ değişkenleri ile gruplar arası önemli farklılık gösterirken ($p < 0.005$) yaşla, gruplar arasında istatistiki olarak önemli fark bulunmamıştır ($p = 0.083$, Tablo 11). Bu durum hastaların yaşı ile TSH, T₃, T₄, ST₄ ve ST₃ değerlerinin farklılık gösterdiği şeklinde açıklanabilir. Ancak hastaların yaşı ile hipertiroidizm, hipotiroidizm grupları arasında bir ilişki bulunamadığından her grupta görülebileceği düşünülmüştür. Yapılan bir çalışmada TSH değerlerinin 60 günlük hipotiroidili rat grubunda 30 günlük gruba kıyasla yüksek olduğu belirlenmiştir (139). Yapılan bu çalışma da tiroid hormonlarının yaşdan etkilendiğini desteklemektedir.

GSH, ADA, NO ve MDA değişkenleri bakımından cinsiyetin karşılaştırılmasının değerlendirilmesinde ise fark tespit edilmemiştir (Tablo 13, $p > 0.005$). Bu durum hasta ve kontrol grubuna göre GSH, ADA, NO ve MDA parametrelerinin cinsiyetten etkilenmediği şeklinde açıklanabilir.

Yaş ile GSH, ADA, NO ve MDA değişkenlerine ait korelasyon analiz sonucunda yaş ile NO, MDA arasında pozitif yönde ilişki bulunurken ADA ve GSH ile arasında ters yönlü ilişki tespit edilmiştir (Tablo 14). Yaşla, NO ve MDA arasındaki pozitif korelasyon artan oksidatif stresle açıklanabilir. Yaşla ADA arasındaki ters yönlü ilişki yaşla hücrel immunitenin azaldığının göstergesi olabilir. Yaş ile GSH arasında ters yönlü ilişki, yaşlanma ile artan antioksidan tüketimiyle açıklanabilir. Yılmaz ve ark. deneysel hipotiroidizm oluşturdukları ratları 30 günlük hipotiroidi, 60 günlük hipotiroidi, 30 günlük ötiroidi, 60 günlük ötiroidi şeklinde gruplandırmış, plazma ve bazı doku MDA düzeylerini incelemişlerdir. Yaşla 60 günlük hipotiroidili rat karaciğer doku MDA düzeylerinin kontrol grubu ratlarına kıyasla yüksek bulunurken kalp ve beyin dokularında düşük olduğu bulunmuştur. 30 günlük hipotiroidili rat grubunun timus doku MDA düzeylerinde artış olurken 60 günlük ratlarda aynı ilişki kurulamamıştır. Kontrol grubunda MDA düzeyleri yaşla böbrek, kas, tiroid dokularında değişmezken; beyin, kalp ve timusda artmış, karaciğer ve plazmada azalmıştır. Hipotiroidide lipid peroksidasyonunun yaşdan etkilendiğini rapor etmişlerdir (139). Buna paralel olarak çalışmamızda da yaş ilerledikçe NO ve MDA düzeyinde artışın olduğu belirlenmiştir. Yapılan literatür taramasında tiroid hastalıklarında yapılan araştırmalarda ADA ve GSH parametrelerinin yaşdan etkilenip etkilenmediğine dair bir bulguya rastlanmamıştır.

ADA aktivitesi ile T lenfositlerin farklılaşması, olgunlaşması ve çoğalması arasında güçlü bir ilişki mevcuttur. T lenfositlerin artışıyla hücrel immun cevabın uyarılmasında, makrofaj ve ADA aktivitesinin artışının sözkonusu olduğu açıklayan pek çok çalışma mevcuttur. Bu yüzden ADA'nın hücrel immunitenin göstergesi olduğu düşünülmektedir (151,152). Fakat tiroid hastalıklarında ADA aktivitesi ile ilgili kısıtlı çalışma vardır (153,154,155,156,157).

Çalışmamızda plazma ADA düzeylerinde; kontrol grubuna kıyasla hipertiroidili hastalarda % 67 artış, hipotiroidili hastalarda ise % 4 azalma olmuştur (Tablo 12). Grup 1'in ADA düzeylerinin Grup 2 ve Grup 3'den yüksek bulunması sonucunda yapılan istatistiki karşılaştırmaya göre, bu gruplar arasında anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir (Tablo 10, Grafik 3, $p<0.05$).

Karbownik ve ark. (152) Graves (Hipertiroidi) ve Hashimato (Hipotiroidi) tiroid hastalıklarında ADA aktivitesinin lökositlerde kontrollere kıyasla anlamlı derecede arttığını tespit etmişlerdir. Yine Nishikawa ve ark. (153) Graves hasta serumlarında total ADA ve ADA₂ aktivitelerini kontrol grubuna göre yüksek bulmuşlardır. Çalışma sonuçlarımıza göre hipertiroidili hasta plazmalarında görülen ADA aktivitesi artışı yapılan çalışmalara ait sonuçlarla uyumludur. Çalışma sonuçlarımız, hipertiroidizmde artan metabolik hızın ADA enzim aktivitesinde artışa yol açabileceğini düşündürmüştür.

Bizim çalışmamızdan farklı olarak Smolenski ve ark. da (154) hipertiroidizm oluşturulan rat kalp doku homejanatlarında ADA aktivitesinde kontrollere nazaran % 15'lik düşüş tespit etmişlerdir. Saggerson ve ark. (155) deneysel hipotiroidizm oluşturdukları rat adipositlerinde ADA aktivitesinin düştüğünü rapor etmişlerdir.

Ancak Köse ve ark. da (156) Psoriasis'li hastalara PTU ve Tiroksin uygulaması sonucu geçici hipotiroidizm oluşturmuşlardır. Doku ve plazma ADA aktivitelerinin tedavi öncesine kıyasla düştüğünü eritrosit ADA aktivitesinin ise yükseldiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmalara paralel olarak, bizim çalışmamızda da hipotiroidili hasta plazmalarında ADA aktivitesinin kontrollere kıyasla anlamlı derecede düştüğü tespit edilmiştir (p<0.05). Hipotiroidili hasta plazmalarında elde ettiğimiz yüksek NO ve MDA düzeylerinin artan oksidan stresi yansıttığı düşünülmüştür. Hipotiroidizmde elde edilen düşük ADA aktivitesi artan oksidatif stres tablosundan kaynaklanıyor olabilir. Mazurkiewicz ve ark. (157) ise hipotiroidizm oluşturdukları rat beyinlerinin çeşitli bölgelerinde ADA aktivitesini çalışmışlar ve anlamlı bir değişim tespit edememişlerdir.

Lipid peroksidasyonun ve ROT oluşumunun oksidatif stres ve hasara yol açtığı bilinmektedir. Bu ürünlerin detoksifikasyonu, glutatyonun redükte formunun (GSH) okside formuna (GSSG) dönüşümü ile gerçekleşir. Bu reaksiyon glutatyon peroksidaz enzimi ile katalizlenir. Okside glutatyon tekrar redükte hale glutatyon redüktaz enzimi aracılığıyla dönüşür (34).

Hücreler aşırı miktarda oksidanla karşı karşıya kaldığında, glutatyonun okside dimer formunun (GSSG) oluşumunun metabolik sınırı aştığından dolayı oksidatif stres oluşur. Bu durumda detoksifiye edilemeyen oksidanlar hücrede proteinleri, membran lipidlerini, DNA'yı, karbonhidratları ve enzimleri olumsuz etkilemektedir (34,89).

Çalışmamızla paralel olarak, Adalı ve ark. (158) hipertiroidili hasta gruplarında GSH aktivitesinin kontrol grubuna kıyasla düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Tedavi sonrası GSH aktivitesinde tedavi öncesine göre anlamlı bir artış olduğu bildirmişlerdir. Kurnar ve ark. (159) hipertiroidili hasta plazma redükte GSH seviyelerini kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulmuşlardır ($p<0.05$) Konukoğlu ve ark. (160) hipertiroidili hastaları tedavi öncesi ve 4 haftalık Propiltiourasil (PTU) tedavisi sonrası olmak üzere gruplandırmışlardır. Tedavi öncesi grubun eritrosit GSH seviyeleri kontrol grubuna kıyasla düşük bulunmuştur ($p<0.05$). Tedavi sonrası GSH düzeylerinin tedavi öncesine kıyasla anlamlı derecede artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p<0.05$).

Yine Seven ve ark. yaptıkları bir çalışmada Basedow hastalarının tedavi başlangıcında eritrosit GSH konsantrasyonunun kontrol grubuna kıyasla azalma gösterdiğini tespit etmişlerdir ($p<0.05$). Propiltiourasil (PTU) tedavisi sonrası bayan hastaların eritrosit GSH konsantrasyonu tedavi başlangıcında tespit edilen GSH düzeylerine kıyasla anlamlı artışlar gösterirken, erkek hasta tedavi sonrası eritrosit GSH konsantrasyonunun ise yalnızca kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede artış gösterdiğini tespit etmişlerdir ($p<0.05$) (116). Baydas ve ark. (161) deneysel hipertiroidizm oluşturdukları rat serum GSH seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Hipertiroidizm ve demir tedavisinin kardiyak oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkisini incelemek üzere düzenlenen bir çalışmada, ratlar L-tiroksin verilerek hipertiroidili hale getirilmiştir. L-tiroksin uygulamasıyla hipertiroidizm oluşturulan rat kalp dokusu GSH düzeyinin kontrol grubundan yüksek olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Demir + L-tiroksin tedavisi uygulanan rat kalp dokusu GSH düzeyinin sadece L-tiroksin uygulanan grubun GSH düzeyinden anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuştur ($p<0.05$). Demir takviyesinin hipertiroidizmde lipid peroksidasyonu arttırdığını savunmuşlardır (162). Bir başka benzer çalışmada L-tiroksin uygulamasıyla hipertiroidizm oluşturdukları rat kalp dokusunda redükte ve total GSH aktivitesini incelemişlerdir. Hipertiroidili rat kalp doku GSH aktiviteleri kontrol gruplarına nazaran sırayla % 46 ve % 21 düşüş göstermiştir. Antioksidan / Oksidan göstergesi olan redoks durumu (GSH/GSSG) hipertiroidili ratlarda önemli oranda (% 82) düşük bulunmuştur ($p<0.05$) (163). Çalışmamızda plazma GSH aktivitesi, kontrol grubuna kıyasla hipertiroidili hastalarda % 73, hipotiroidili hastalarda ise % 46 azalma olmuştur (Tablo 12). Hipertiroidili hasta

grubunun GSH aktivitesinde elde ettiğimiz düşük sonuçlar ($p<0.05$) literatür bilgileriyle uyumluluk göstermektedir.

Antioksidan ajanlarla desteklenen bir başka çalışmada, Mogulkoç ve ark (147) hipertiroidizm oluşturdukları ratların beyin, karaciğer ve kalp dokularında GSH seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğunu tespit etmişlerdir ($p<0.001$). Hipertiroidili rat grubuna melatonin verilmesi ile oluşturulan grubun doku GSH düzeylerinin hipertiroidili grubun GSH değerlerine kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu rapor etmişlerdir ($p<0.001$).

Yine paralel olarak, Choudhury ve ark. (164) deneysel hipotiroidizm oluşturdukları yetişkin rat testis doku GSH aktivitesini kontrol grubuna kıyasla düşük bulmuşlardır. Engin ve ark. (165) bipolar psikiyatri hastalarına tedavi süresi ortalama 2.2 ± 0.4 yıl olacak şekilde lityum uygulanmıştır. 12 hastada primer hipotiroidi teşhis edildikten sonra lityum tedavisi yanında tiroksin tedavisi uygulanmıştır. Tiroksin yerine koyma tedavisi uygulanan hipotiroidili hasta eritrosit GSH düzeylerinin lityum tedavisi gören sağlıklı bireylere nazaran anlamlı düşüşler gösterdiğini tespit etmişlerdir ($p=0.000$). Das ve ark. (166) propiltiourasil verilerek deneysel hipotiroidizm oluşturdukları rat karaciğer mitokondrisinde non-protein-SH (GSH) ve protein-SH içeriklerini incelemişlerdir. T_3 tedavisi uygulanan hipotiroidili rat karaciğer doku total GSH (GSH+GSSG) seviyesi hipotiroidili ve eutiroidili rat karaciğer dokularından elde edilen sonuçlara kıyasla anlamlı derecede düşük olduğunu rapor etmişlerdir ($p<0.05$). Rahaman ve ark. da (167) PTU vererek deneysel hipotiroidizm oluşturdukları 16 günlük gebe dişi rat ve normal rat serebrasında ilaç uygulamasının 1. 5. 15. ve 25. günlerinde oksidatif stres parametreleri incelemişlerdir. Normal rat beynine kıyasla hipotiroidili rat beyin GSH düzeylerinin 1. 5. 15. ve 25. günlerde sırasıyla % 26, % 46, % 57 ve % 61 düşüş gösterdiğini fakat embroyonik yaşın 18. gününde önemli bir farklılık görülmediğini rapor etmişlerdir. Çalışmamızda da hipotiroidili hasta plazma GSH aktivitesi kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük bulunurken hipertiroidili gruba göre yüksek bulunmuştur ($p<0.05$) (Grafik 7, Tablo 10). Hipertiroidizm ve hipotiroidizmde tespit edilen GSH düzeyindeki düşüş oluşan oksidatif stres karşısında azalan antioksidan kapasite ile açıklanabilir.

ADA, GSH, NO ve MDA parametreleri için hipertiroidi, hipotiroidi ve kontrol grupları arası fark istatistiksel olarak önemlidir ($p=0.001$). Grupların ikişerli karşılaştırılması sonucunda da ADA, GSH, NO ve MDA değişkenleri için karşılaştırmalar istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p=0.001$) (Tablo 10). Yapılan literatür taramalarında hipertiroidi ve hipotiroidi hasta gruplarında ADA, GSH, MDA, NO, parametrelerinin tümü ile korele yapılan çalışmaya rastlanmamıştır.

Hipertiroidili hasta grubunun ADA, GSH, NO, MDA, TSH, T_3 , T_4 , ST_3 , ST_4 , yaş değişkenleri korelasyon analiz sonuçlarına (Tablo 15) göre MDA ile NO arasında pozitif yönde çok güçlü ilişki mevcuttur ($r=0.83$) ($p<0.01$).

Hipotiroidili hasta grubunun ADA, GSH, NO, MDA, TSH, T_3 , T_4 , ST_3 , ST_4 , yaş değişkenleri korelasyon analiz sonuçlarına göre (Tablo 16) MDA ile NO arasında pozitif yönde çok güçlü ilişki mevcuttur ($r=0.94$) ($p<0.01$).

Kontrol grubunun ADA, GSH, NO, MDA, TSH, T_3 , T_4 , ST_3 , ST_4 , yaş değişkenleri regresyon analiz sonuçlarına göre (Tablo 17) MDA ile NO arasında pozitif yönde çok güçlü ilişki mevcuttur ($r=0.85$) ($p<0.01$).

Nitrik oksidin oksidasyonu ile oluşan ve oksidatif strese etkili olan başlıca reaktif türlerin nitrojen dioksit (NO_2), peroksinitrit ($ONOO^-$), dinitrojen trioksit (NO_2O_3) ve nitroksil iyonu (NO^-) olduğu bilinmektedir (33). Oluşan NO_2 ve $ONOO^-$ reaktif türlerinin lipid peroksidasyonunu başlatabilme yeterliliği NO ile MDA arasındaki pozitif korelasyonla açıklanabilir (Tablo 15,16,17).

Plazma malondialdehit düzeyi ile T_3 , T_4 , ST_3 , ST_4 , TSH değişkenleri stepwise regresyon analiz sonuçlarına göre (Tablo 19) T_3 , ST_4 , T_4 önemli değişkenler olarak bulunmuştur ($R^2=0.53$) ($p<0.05$).

Plazma nitrik oksit konsantrasyonu ile T_3 , T_4 , ST_3 , ST_4 , TSH değişkenleri stepwise regresyon analizi sonuçlarına göre (Tablo 18) önemli değişkenler T_3 , ST_4 , T_4 olarak tespit edilmiştir ($R^2=0.55$) ($p<0.05$).

Plazma adenozin deaminaz aktivitesi ile T_3 , T_4 , ST_3 , ST_4 , TSH değişkenleri stepwise regresyon analizi sonuçlarına göre (Tablo 20) önemli değişkenler T_3 , ST_4 , T_4 olarak tespit edilmiştir ($R^2=0.35$) ($p<0.05$).

Plazma glutatyon aktivitesi ile T₃, T₄, ST₃, ST₄, TSH değişkenleri stepwise regrasyon analiz sonuçlarına göre (Tablo 21) T₃, ST₄, T₄, TSH değişkenleri önemli bulunmuştur (R²=0.58) (p<0.05).

Elde edilen bulgulara göre, plazma MDA, NO, ADA düzeylerindeki değişimde T₃, ST₄, T₄ değişkenleri önemli bulunmuş olup, plazma MDA, NO, ADA düzeylerindeki değişimin sırasıyla % 53, % 55, % 35' ini açıklayabilmektedir. Plazma GSH aktivitesindeki değişime T₃, ST₄, T₄, TSH hormonlarının % 58 katkısının olduğu tespit edilmiştir.

Hipertiroidili ve hipotiroidili hasta plazma MDA ve NO değerlerinin kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunması tiroid hastalıklarının metabolizmada oksidatif strese neden olabileceği görüşünü desteklemektedir. Hipertiroidi hasta grubunun plazma MDA ve NO değerlerinin hipotiroidili grubun değerlerine göre anlamlı derecede yüksek olması hipertiroidizmde oluşan oksidatif stres tablosunun daha ağır olabileceği ve daha fazla hasara sebep olabileceğini düşündürmektedir. Sonuç olarak birer oksidan radikal olan, hem lipid peroksidasyon son ürünü olan malondialdehit düzeyinin artışı hem de NO seviyesindeki artışın yanısıra artan antioksidan (GSH) tüketimi hipertiroidi ve hipotiroidili hasta gruplarında mevcut oksidan stresin şiddetinin göstergesi olduğunu düşündürmektedir.

ADA enzimi pürin katabolize edici bir enzim olduğundan hipertiroidizmde bazal metabolik hızın artması enzimin artış sebebi olabileceğini düşündürmektedir. Bu durum hipertiroidizmde protein yıkımının, yapımından daha fazla olabileceğini düşündürmektedir. Bu da elde edilen literatür bilgilerinin ışığında, hipertiroidizmde olası negatif azot dengesinin oluşumu şeklinde açıklanabilir (13,19). Hipotiroidizmde ADA aktivitesindeki azalma, hipotiroidizmdeki artan oksidatif stresle açıklanabilir.

Hipertiroidili ve hipotiroidili hasta gruplarında oluşan serbest radikal hasarı ve antioksidan aktivitenin azalması, oksidatif strese cevabın azalmış olabileceğini düşündürmektedir. Hipertiroidi ve hipotiroidi hastalıklarında ADA aktivitesi değişimi bu enzimin tiroid parametrelerine ilave olarak hastalığın prognozunun ve tedavisinin izlenmesinde bir gösterge olabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmanın hipertiroidi ve hipotiroidi gibi tiroid hastalıklarında oluşan oksidatif stres tablosunun araştırıldığı daha geniş kapsamlı deneysel veya klinik çalışmalara ışık tutacağı kanısındayız.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmada 20'şer kişilik hipertiroidi, hipotiroidi ve kontrol grubunda oksidatif stres parametreleri çalışılmış ve oksidan radikal olan NO ve MDA düzeyleri hipertiroidili ve hipotiroidili hasta gruplarında kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Hücrel immunité göstergesi olan ADA aktivitesi hipertiroidili hasta grubunda hipotiroidili ve kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunmuş ve yapılan istatistiki değerlendirme sonucunda gruplar arasında anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir. Hipertiroidili grubun plazma GSH aktivelerinin hipotiroidili ve kontrol grubuna kıyasla düşük olması istatistiki değerlendirmeye göre anlamlı bulunmuştur. Yaşla ADA, GSH, NO ve MDA arasındaki korelasyon anlamlı bulunmuş olup; yaşla ADA, GSH arasında ters yönde zayıf ilişki tespit edilmiştir. Hipertiroidi, hipotiroidi ve kontrol gruplarında yapılan korelasyon analiz sonucunda NO ile MDA arasında pozitif yönde çok güçlü ilişki tespit edilmiştir.

Araştırma bulgularına dayanarak;

1. Hipertiroidi ve hipotiroidi hasta gruplarında belirli zaman aralıklarıyla NO, MDA, ADA ve GSH parametrelerinin değerlendirilmesi,
2. Hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası NO, MDA, ADA ve GSH parametrelerinin değerlendirilmesi,
3. Hastaların tedavilerine ek olarak antioksidan ajanların verilebileceği,
4. Çalışmadaki hasta grubu sigara ve alkol kullanmayan kişilerden seçilmiş olup bu parametrelerinde eklendiği çalışmaların planlanması,
5. Çalışmadaki hastalar 30 yaş ve üzerinde seçilmiş olup bu yaş grubunun altındaki hastalarında değerlendirmeye alındığı çalışmaların planlanması,
6. Çalışmadaki hasta gruplarının sayıca artırıldığı çalışmaların planlanması önerileri sunulmuştur.

7. ÖZET

Hipertiroidizm dokuların yüksek miktarda tiroid hormonları ile karşılaşması sonucu bazal metabolik hız artışına sebep olan klinik bir durumdur.

Hipotiroidizmde ise tiroid hormonlarının eksikliği veya etkisizliği sonucu metabolik yavaşlama görülür.

Hipertiroidizm ve hipotiroidizmde oksidatif stres parametreleri ile adenzin deaminaz aktivitesinin çalışılması amaçlanmıştır. Bu amaçla plazmada nitrit + nitrat seviye indikatörü nitrik oksit, lipid peroksidasyon son ürünü malondialdehit, pürin katabolize edici enzim adenzin deaminaz ve antioksidan ajan olan glutatyon seviyelerini belirlemek üzere; sigara, alkol ve en az 20 gündür ilaç kullanmayan 20 hipertiroidi, 20 hipotiroidi hastası ve 20 sağlıklı birey seçilmiştir.

Plazma NO düzeylerinin; hipertiroidili hastalarda kontrol grubuna göre % 246, hipotiroidili hastalarda ise kontrol grubuna göre % 96 artış gösterdiği gözlemlendi. Bu sonuçların gruplar arası istatistiki karşılaştırmalarında anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

Plazma MDA değerleri; kontrol grubuna kıyasla hipertiroidili hastalarda % 639, hipotiroidili hastalarda ise % 221 artış olmuştur. Gruplar arası yapılan istatistiki karşılaştırmada anlamlı fark olduğu tespit edilmiştir. NO ve MDA'nın cinsiyete göre karşılaştırmasında anlamlı fark bulunamazken, yaşla pozitif yönde zayıf ilişki vardır.

Plazma ADA düzeylerinin; kontrol grubuna kıyasla hipertiroidili hastalarda % 67 artış, hipotiroidili hastalarda ise % 4 azalma olmuştur. Sonuçlar istatistiki olarak anlamlı bulunmuştur. ADA aktivitesinin cinsiyetle karşılaştırmasında anlamlı fark bulunamazken, yaşla ters yönlü ilişki vardır.

Plazma GSH aktivitesi, kontrol grubuna kıyasla hipertiroidili hastalarda % 73, hipotiroidili hastalarda ise % 46 azalma olmuştur. Gruplar arasında istatistiki anlamlı fark bulunmuştur. GSH düzeyinin ile cinsiyetle karşılaştırmasında anlamlı fark bulunamazken, yaşla ters yönlü ilişki tespit edilmiştir.

Gruplar ile yaş arasında yapılan korelasyonunda önemli fark bulunmazken; TSH, T₃, T₄, ST₄ ve ST₃ ile yaş arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Hipertiroidili,

hipotiroidili ve kontrol grubunun korelasyon analiz sonucunda MDA ile NO arasında pozitif yönde çok güçlü korelasyon tespit edilmiştir.

Birçok hastalığın patogenezinde rol oynayan oksidatif stresin tiroid hastalıklarında da hastalığın sebebi mi yoksa sonucu olarak mı oluştuğu tam olarak açıklanamadığından bulgularımızın gelecek çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz. Hipertiroidi ve hipotiroidi hastalıklarında hücrel immunité göstergesi olan adozin deaminaz aktivitesinin anlamlı değişimi gelecekteki çalışmalarda birlikte bu enzimin tiroid parametrelerine ilave olarak hastalığın prognozunu ve tedavisinin izlenmesinde bir gösterge olabileceğini düşündürmektedir. Aynı zamanda çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular ile tiroid hastalıklarının aktif döneminde artan oksidatif stresin tedavide ilave antioksidan ajanların kullanıldığı çalışmalarda ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Hipertiroidizm, Hipotiroidizm, Oksidatif stres, ADA aktivitesi

8. SUMMARY

Oxidative stress parameters and adenosine deaminase activity in patents with hyperthyroidism and hypothyroidism

Hyperthyroidism is a clinical condition that characterized by increased basal metabolism as a result of excessive production of thyroid hormones in tissues.

On the other hand hypothyroidism is characterized by decreased metabolism resulting from insufficient production or ineffectiveness of thyroid hormones.

The aim of this study was to examine oxidative stress parameters and adenosine deaminaz activity in patient with hyperthyroidism and hypothyroidism. In this purpose, subjects were chosen for the study included 60 individuals (20 patents with hyperthyroidism, 20 patents with hypothyroidism, and 20 healthy subjects as the control group) who do not smoke or drink alcohol and have not taken and medication at least for 20 days in order to measure the nitrit + nitrat levels as an indicator of nitric oxide, malondialdehyde as a marker of lipid peroxidation end product, adenosine deaminase as a purin catobolyzing enzym, and glutathione levels as an antioxidant agent in plasma.

Plasma NO levels were observed to have increased in patents with hyperthyroidism and hypothyroidism 246 % and 96 % respectively compared to the control group. Statistically significant difference was found in comparison between groups.

Plasma MDA levels were observed to have increased in patents with hyperthyroidism and hypothyroidism 639 % and 221 % respectively compared to the control group. Statistically significant difference was found in comparison between the groups. While no significant difference was observed in NO and MDA levels in terms of gender variable, a positive low correlation was observed in terms of age.

Plasma ADA levels were observed to have increased in patents with hyperthyroidism by 67 % and decreased in patents with hypothyroidism 4 % compared to the control group. Differences were found statistically significant. While no significant difference was observed in terms of gender variable, a negative correlation was observed in terms of age.

Plasma GSH activity was decreased in patients with hyperthyroidism and hypothyroidism 73 % and 46 % respectively, compared to the control group. A statistically significant difference was found between the groups. While no significant difference was observed in terms of gender variable, a negative correlation was observed in terms of age.

While no significant correlation was found between the groups and in terms of age, the correlation with age was found significant for TSH, T₃, T₄, ST₄ and ST₃. A positive and high correlation was found between MDA and NO levels as a result of correlation analysis of groups with hyperthyroidism and hypothyroidism and control group.

Results of this study will shed a light to the future studies as it is not yet proved fully whether oxidative stress, as an actor in the pathogenesis of a number of diseases, is developed as a result or reason of thyroid diseases. Moreover the significant change in the adenosine deaminase activity indicates that this enzyme can be used as an indicator, in addition to thyroid parameters, in tracing the prognosis and treatment of the disease with the help of future studies. In addition to the findings from this study, there is a need for future studies in which additional antioxidant agents are used in the treatment of oxidative stress increasing in the active stage of the thyroid diseases.

Key words: Hyperthyroidism, Hypothyroidism, Oxidative Stress, ADA Activity

KAYNAKLAR

1. Özata M. Tiroid Hastalıkları Tanı ve Tedavisi. Tiroid hormonları ve tiroid hastalıklarının fizyopatolojisi. Gata Basımevi:1-15, 2003
2. www.thyroidmanager.org. Leslie J., DeGroot MD. Graves' Disease and the manifestations of thyrotoxicosis. The Thyroid and Its Diseases. 2007
3. Koloğlu S. Endokrinoloji Temel ve Klinik. Medical Network & Nobel. 1.Baskı: s. 139-158, 1996
4. www.thyroidmanager.org. Wiersinga WM. Adult hypothyroidism. The Thyroid and Its Diseases. 2004
5. Bianchi G., Solaroli E., Zaccheroni V. Oxidative stress and anti-oxidant metabolites in patients with Hyperthyroidism: effect of treatment. *Horm Metab Res.* 31:620-624, 1999
6. Constantini F., Pierdomenico S.D., Domenico D.S., Pierluigi D.R., Bucciarelli T., Bittolo G., Cazzolato G., Nubile G., Guagnano M.T., Sensi S., Cuccurullo F., Mezzetti A. Effect of thyroid function on LDL oxidation. *American Heart Association: 732-737*, 1998
7. Venditti P., Balestrieri M., Di Meo S., De Leo T. Effect of thyroid state on lipid peroxidation, antioxidant defences and susceptibility to oxidative stress in rat tissues. *J Endocrinol.* 155:151-157, 1997
8. Cornejo P., Tapia G., Puntarulo S., Galleano M., Videla LA., Fernandez V. Iron-induced changes in nitric oxide and superoxide radical generation in rat liver after lindane or thyroid hormone treatment. *Toxicol Lett.* 28; 119(2):87-93, 2001
9. Kazancıgil A, Atay T. Anatomi Atlası Karın ve İç Organlar. Cerrahpaşa, s. 1986
10. Guyton & Hall, Tiroidin Metabolik Hormonları. Tıbbi Fizyoloji. 10.Edisyon. s. 858-868, 2001
11. Sencer E. Endokrinoloji Metabolizma ve Beslenme Hastalıkları. Nobel Tıp Kitapevi. s. 94-95, 2001
12. Ede B. Tiroit cerrahisinde tiroit hormonlarının peroperatif değişimleri. Uzmanlık Tezi, İstanbul, 2006
13. www.thyroidmanager.org. Dumont JE., Maenhaut C., Christophe D., Vassart G., Roger PP. The phylogeny, ontogeny, anatomy and regulation of the iodine metabolizing thyroid. The Thyroid and Its Diseases. 2005
14. www.thyroidmanager.org Georg-Hennemann MD., Theo-Visser PhD. Cellular uptake of thyroid hormones. The Thyroid and Its Diseases. 2005
15. www.geocities.com/pakizedemirkalem/tiroid.html

16. www.thyroidmanager.org Mariotti S. Normal physiology of the hypothalamic-pituitary-thyroidal system and relation to the neural system and other endocrine gland. The Thyroid and Its Diseases. 2006
17. Altan N. Biyokimya Olgu Sunumlu Yaklaşım. Palme Yayıncılık. Altıncı baskıdan çeviri. Ankara, s. 559-593, 2000
18. Kaynaroğlu ZV. Tiroid Fizyolojisi ve Fonksiyon Testleri. ed: Sayek İ. Temel Cerrahi: 2.baskı. Güneş Kitapevi. Ankara, s. 1523-1524, 1996
19. Adam B., Göker Z., Ardıçoğlu Y. Hormonlar. Temel ve Klinik Biyokimya. Atlas yayıncılık. Ankara, s. 150-171.
20. www.thyroidmanager.org, Bernard A., Rousset PhD., Dunn JT. Thyroid hormone synthesis and secretion. The Thyroid and Its Diseases. 2004
21. Üstüdal M., Karaca L., Türköz Y. Biyokimya. Medipress. Malatya, s. 173-174, 2003
22. Gökhan N., Çavuşoğlu H. Tiroid Bezi ve Metabolik Hormonlar. Tıbbi fizyoloji. 3.Baskı. Nobel Tıp Kitapevi. İstanbul, s. 1293-1309, 1989
23. www.thyroidmanager.org. Refetoff S. Thyroid hormone serum transport proteins: Structure, properties, genes and transcriptional regulation. The Thyroid and Its Diseases. 2007
24. www.thyroidmanager.org. Visser TJ. Hormone metabolism. The Thyroid and Its Diseases. 2003
25. Şimşek E. Biyokimya; Hacettepe Taş Kitapçılık: s. 327-330, 1992
26. Noyan A. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. Meteksan Anonim Şirketi, 8. Baskı: s. 1007-1033, 1993
27. Tokullugil A., Dirican M., Ulukaya E. Lippincott's Illustrated Reviews Serisinden: Biyokimya, Nobel Tıp Kitapları, 2.Baskı: s. 80-84, 1997
28. www.thyroidmanager.org Amino N., DeGroot MD. Hashimoto's thyroiditis. The Thyroid and Its Diseases. 2003
29. www.thyroidmanager.org. Pacini F., DeGroot LJ., Thyroid nodules. The Thyroid and Its Diseases. 2004
30. Mehmetoğlu İ. Klinik Biyokimya Laboratuvarı El Kitabı. Yelken Basım Dağıtım, 3. Baskı. Konya: s. 265-268, 2004
31. www.thyroidmanager.org Spencer C. Assay of thyroid hormones and related substances. The Thyroid and Its Diseases. 2004
32. www.thyroidmanager.org Stockigt J. Clinical strategies in the testing of thyroid function. The Thyroid and Its Diseases. 2004

33. Kılınç A, Kılınç K. Nitrik Oksit Biyolojik Fonksiyonları ve Toksik Etkileri. Palme Yayıncılık, 1. Baskı, Ankara, s. 1-68, 2003
34. Akkuş I. Serbest Radikaller ve Fizyoterapik Etkileri. Mimoza Basım, Konya, s. 4-113, 1995
35. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem. J.* 222:1-15, 1984
36. Tanırgan G., Koldaş M., Uras F. Serbest radikaller: An introduction to free radical biochemistry. *Haseki Tıp Bülteni.* 32(4):304-308, 1994
37. Altan N., Dinçel A., Koca C. Diabetes Mellitus ve oksidatif stres. *Türk J.Biochem.* 31(2):51-56, 2006
38. Kılınç K., Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Temel Tıptan Kliniği. *Hacettepe Tıp Derg.* 33(2):110-118; 2002
39. Karabulut Bay A. Hepatit B'li hastalarda eritrosit ve lenfosit antioksidan enzimler, nitrik oksit düzeyleri ve plazma stokinleri. Doktora Tezi, Malatya. 2001
40. Halliwell B., Packer L., Cadenas E. Handbook of Antioxidants. Taylor and Francis Groups. 9-10, 2002
41. Farber JL. Mechanisms of cell injury by activated oxygen species. *Environ Health Perspect.* 102(10):17-24, 1994
42. Mercan U. Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak Derg.* 15 (1-2):91-96, 2004
43. Halliwell B., Chirico S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, significance. *Am J Clin Nutr.* 57:715-25, 1993
44. De Wolf LD., Van Zutphen LFM., Beynen AC. The possible role of copper in development of oxidative stress and associated disease. Chapter 3. Department of laboratory animal science and nutrition, faculty of veterinary medicine, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands. s. 31-46, 2002
45. Hurnanen D. The protective effect of metallothionein against lipid peroxidation caused by retinoic acid in human breast cancer cells. A thesis submitted to the faculty of graduate studies and research in partial fulfillment of the requirements of the degree of Master of Science. School of dietetics and human Nutrition McGill University, Montreal. s. 1-111, 1996
46. Tekkes Y. Streptozotosin ile diabet oluşturulmuş farelerde aspirin ve E vitaminin dokularda lipid peroksidasyonu ve antioksidan sisteme etkisinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş. 2006
47. Akyol Ö. Şizofrenide oksidatif stres. *Kocatepe Tıp Dergisi.* 5. Ek Sayı 15-25, 2004

48. Aydoğdu N., Kaymak K., Yalçın Ö. Sıçanlarda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında n-asetilsisteinin etkileri. *Fırat Tıp Derg.*10(4):151-155, 2005
49. İşlekel H., İşlekel S., Güner G. Biochemical mechanism and tissue injury of cerebral ischemia and reperfusion. *Tissue Injury Review Article Norol Bıl D.* 17:2, 2000
50. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/21-adsem-01.pdf>
51. Burçak G., Andican G. Oksidatif DNA hasarı ve yaşlanma. *Cerrahpaşa Tıp Derg.* 35 (4):159-169, 2004
52. Çavdar C., Sifil A., Çamsarı T. Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Nef Diy ve Transplan Derg.* 3-4: 92-95, 1997
53. Şan M. Antioksidanlar ve koroner kalp hastalığı. *Lipid Gündem*, 8-12, 2002
54. Özyurt H. Deneysel olarak Bleomisin ile sıçan akciğerinde oluşturulan fibroziste serbest radikallerin rolü ve fibrozis oluşturan mekanizmalar üzerine kafeik asit fenetil esterinin (CAPE) etkisi. Doktora Tezi, Malatya. 2002
55. Salman E., Bayraktaroğlu M., Doğan O.V., Yörükoğlu Y., Yücel E., Kösebalaban Ş., Özer N. Askorbik asit'in serbest oksijen radikal temizleyici olarak açık kalp cerrahisinde kullanımı. *GKD Cer. Derg.* 2:216-220, 1994
56. Özkurt S., Demir S., Köseoğlu MH., Enli Y., Aslan D., Sevinç C. Akciğer kanserli hastalarda plazma malondialdehit düzeyi ve total sülfidril içeriği. *Solunum 2:* 96-99, 2000
57. Çakatay U., Telci A. Oksidatif protein hasarı ve saptanmasında kullanılan marker'lar. *İst. Tıp Fak. Mecmuası.* 63:3, 2000
58. Gürer R. İdiopatik parkinson hastalığı etyopatogenezinde seruloplazminin yeri ve proton mr spektroskopisi ile verifikasyonu. Uzmanlık Tezi, İstanbul. 2005
59. http://www.genetikbilimi.com/gen/serbest_radikaller.htm
60. www.woongbee.com
61. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J.* 222:1-15, 1984
62. Kurban S., Mehmetoğlu İ. Okside düşük dansiteli lipoprotein otoantikörleri ve klinik önemi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* 25:73-84, 2005
63. www.neurosurgicalwindows.net/spinal_kord_yaralanmalari.doc
64. Dirican M. LDL oksidasyonu ve aterosklerozla ilişkisi. *Biyokimya Dergisi,* 1(24):41-48, 1999
65. Diplock AT., Charleux JL., Crozier-Willi G., Kok FJ., Rice-Evans C., Roberfroid M., Stahl W., Vin'a-Ribes J. Functional food science and defence against reactive oxidative species. *British Journal of Nutrition.* 80(1):77-112, 1998

66. Söğüt S. Sıçan akciğerinde bleomisin ile oluşturulan fibroziste oksidan/antioksidan sistemin rolü ve erdosteinin fibrozis üzerine etkisi. Doktora Tezi, Malatya. 2002
67. <http://www.odevsitesi.com/odevler/arsiv2/51936-oksitatif-stres.htm>
68. Özekin A., Değer O. LDL oksidasyonu ve etkileri *İbni Sina Tıp Dergisi*, 6:125-132, 2001
69. Gensert JM., Ratan RR. The metabolic coupling of arginine metabolism to nitric oxide generation by astrocytes. *Antioxidants & Redox Signaling*, 8:5-6, 2006
70. Büyükaşar K. Nitrik oksidin fizyolojik ve fizyopatolojik olaylardaki rolü. Türk Farmakoloji Derneği Nitrik Oksidin Farmakolojisi 27 Mayıs Mersin Seminer Özetleri. 2005
71. Aladağ A., Türköz Y., Özerol İB. Nitrik oksit ve nörofizyopatolojik etkileri *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 20:107–111, 2000
72. Görmüş U., Özmen D. C Gmp ve klinik önemi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*. 25(5):678–687, 2005
73. Özkan M., Yüksekol İ., Nitrik oksit ve akciğerler. *Toraks Dergisi*, 4(1):88-94, 2003
74. A.Vallance P., Collier J. Biology and clinical relevance of nitric oxide. *BMI*. 309:453-7, 1994
75. Atalık KE., Doğan N. Nitrik oksit ve fizyolojik etkileri. *Genel Tıp Derg.* 7(3):167–169, 1997
76. Güray A., Samancı N., Ovalı F., Dağoğlu T. Nitric oxide: Physiology and clinical importance. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*. 17: 115–119, 1997
77. Demiryürek Ş., Turan NN., Demiryürek AT. Peroksinitritin akciğerlerdeki etkileri ve akciğer hastalıklarındaki rolü. *Genel Tıp Derg.* 14(4):163–169, 2004
78. Kayalı R., Çakatay U. Protein oksidasyonunun ana mekanizmaları. *Cerrahpaşa J Med*. 35:83-89, 2004
79. Berlett BS., Stadtman ER. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stres. Minireview: *The Journal Of Biological Chemistry*, 272(33):20313–20316, 1997
80. Hekimoğlu A. Terapötik gazlar: Oksijen, karbondioksit, nitrik oksit ve helyum. *Dicle Tıp Dergisi*, 34(1):61-69, 2007
81. Şimşek F. Free radicals, antioxidants and lipid peroxidation. *Türkiye Klinikleri J Pediatr*. 8(1):42-47, 1999
82. Öztürk Ç., Gözükara EM., Uysal A. Kronik lösemilerde eritrosit içi süperoksit dismutaz aktiviteleri. *Journal of Turgut Özal Medical Center*, 4(1):33–36, 1997

83. Marklund, S.L., Properties of extracellular superoxide dismutase from human lung. *Biochem J.* 15; 220(1):269-72, 1984
84. Buettner GR. Antioxidant enzymes and function. 1:1-20, 1998
85. Bay Karabulut A., Özerol E., Temel İ., Gözükara EM., Akyol Ö. Yaş ve sigara içiminin eritrosit katalaz aktivitesi ve bazı hematolojik parametreler üzerine etkisi. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9(2):85-88, 2002
86. Rencüzoğulları N. Ratlarda deneysel olarak oluşturulan kadmiyum toksikasyonu üzerine likopenin etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Hatay. 2006
87. Aköz M., Vatansev H., Gürbilek M., Akkuş İ., Vatansev C., Kaptanoğlu B. Glutasyon S transferaz (GST) izoenzimlerinin çeşitli kanser vakalarında araştırılması. *Genel Tıp Derg.* 10(1):1-6, 2000
88. Andreoli SP. Reactive oxygen molecules, oxidant injury and renal disease. *Pediatr Nephrol.* 5:733-742, 1991
89. Ulakoğlu ZE, Gümüştas MK, Belce A, Altuğ T, Kökoğlu E. The relationship between endogenous glutathione depletion and energy metabolism in stress-induced gastric mucosal injury. *Cerrahpaşa J Med.* 29 (3):127-131, 1998
90. Aksoy Y. Antioksidan mekanizmada glutasyonun rolü. *T Klin J Med Sci.* 22:442-448, 2002
91. Öztürk M, Güzelhan Y, Sayar K, Tüzün Ü. Yaygın gelişimsel bozukluğu olan çocuklarda plazma malondialdehit ve glutasyon düzeylerinin araştırılması. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 11:155-159, 2001
92. Sarıcı SÜ. Bronkopulmoner displazi: Tanımı, patogenezi, epidemiyolojisi ve patolojisinde yeni görüşler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 49:60-70, 2006
93. <http://web.inonu.edu.tr/~tsahin/dokuman/toksikoloji/7-ADME-2.ppt>
94. Salman E, Bayraktaroğlu M, Doğan OV, Yörükoğlu Y, Yücel E, Kösebalaban Ş, Özer N. Askorbik asit'in serbest oksijen radikal temizleyici olarak açık kalp cerrahisinde kullanımı. *GKD Cer. Derg.* 2:216-220, 1994
95. Aydoğdu NA., Kaymak K., Yalçın Ö. Sıçanlarda böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında nasetilsisteinin etkileri. *Fırat Tıp Dergisi*, 10(4):151-155, 2005
96. Ateş Y., Ergün H., Tüzün A., Bağcı S., Kurt İ., İnal A., Polat Z., Karaeren N., Dağalp K. Ailesel Akdeniz Ateşi olan hastalarda lenfosit alt grupları ve serum adenozin deaminaz düzeyleri. *Ankara Akademik Gastroenteroloji Dergisi*, 4(2):112-116, 2005
97. www.toraks.org.tr/kisokulu2-ppt-pdf/Sadik_Ardic.ppt

98. Alataş F., Uslu S., Moral H., Alataş Ö., Metintaş M., Erginel S., Uçgun İ. Akciğer tüberkülozunda serum adenzin deaminaz aktivitesi. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*, 51(3):277-281, 2003
99. Özvaran MK., Okur H., Özgel M., Ertuğrul M., Baran R. Tüberküloz plörezi de adenzin deaminaz ve izoenzimlerinin tanı değeri. *Toraks Dergisi*, 5(3):166-170, 2004
100. <http://www.mustafaaltinisik.org.uk/34-1-4-15.ppt>
101. Valdes L., San Jose E., Alvarez D., Vale JM. Adenosine deaminase (ADA) isoenzyme analysis in pleural effusions:diagnostic role, and relevance to the origin of increased ADA in tuberculous pleurisy. *Eur Respir. J.* 9:747-751, 1996
102. Örmen B., Örmen M., Türker N., Coşkun NA., Önvural B., Kaptan F., El S., Ural S., Vardar İ. Tüberküloz meninjitte beyin-omurilik sıvısında adenzin deaminaz aktivitesi. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal of Infection)*, 19(4):415-418, 2005
103. Hatipoğlu K., Yüksekol İ., Özkan M., Balkan A., Koparan EZ., Bedirhan İ., Bilgiç H., Demirci N. Tüberküloz tanısında serum adenzin deaminaz ölçümünün önemi. *Gülhane Tıp Dergisi*, 45(2):165–168, 2003
104. <http://www.baskent.edu.tr/tip/3a.pdf>
105. Özgen G., Yasa H., Bektaş A., Beyler AR., Büyükkoçak S., Canpolat O. Rektum kanserinde adenzin deaminaz aktivitesi. *T. Klin. Tıp Bilimleri*, 18:369-371, 1998
106. Köse K., Utaş S., Yazıcı C., Akdaş A., Keleştimur F. Effect of propylthiouracil on adenosine deaminase activity and thyroid function in patients with Psoriasis. *British Journal of Dermatology*, 114:1121-1126, 2001
107. Ellis G., Goldberg DM. A reduced nicotinamide adenine dinucleotide-linked kinetic assay for adenosine deaminase activity. *J. Lab. Clin. Med.* 76:507-517, 1970
108. Fairbanks V., Klee GG. Biochemical aspects of hematology. In: N.W. Tietz Editor, Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders, Philadelphia. 1532–1534, 1986
109. Uchiyama M., Mihara M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.*34:271-8, 1978
110. Cortas NK., Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium reduction method. *Clin Chem.* 36:1440-1443, 1990
111. Özdamar K. SPSS ile Biyoistatistik. Kaan Kitabevi. 2007
112. Goswami K., Nandakumar DN., Koner BC., Bobby Z., Sen SK. Oxidative changes and desialylation of serum proteins in hyperthyroidism. *Clin Chim Acta.* 337:163-168, 2003
113. Das K., Chainy GB. Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defence system by thyroid hormone. *Biochim Biophys Acta.* 1537:1-13, 2001

114. Uncugil F., Ögüş E., Erbay AR., Düzoylum A., Yücel D. Kardiyomiyopatilerde nitrik oksit metabolitleri ve kardiyak troponin. *T Biyokim Derg.* 29 (2):199-203, 2004
115. Kundak AA., Erbaş H., Gülen Ş., Dökmeci G., Çelik H., Özcan T. C ve E vitaminlerinin, kronik olarak alkolle beslenen sıçanlarda beyin dokusu arjinaz aktivitesi, ornitin ve üre düzeylerine etkileri. *Trakya Üniv Tıp Fak Derg.* 24 (1):049-055, 2007
116. Özkan M., Yüksekol İ. Nitrik oksit ve akciğerler. *Toraks Derg.* 4(1):088-094, 2003
117. Seven R., Gelisgen R., Seven A., Erbil Y., Bozbora A., Burcak G. Influence of propylthiouracil treatment on oxidative stress and nitric oxide in Basedow disease patients. *J Toxicol Environ Health A.* 6;62(7):495-503, 2001
118. Bussemaker E., Popp R., Fisslthaler B., Larson CM., Fleming I., Busse R., Brandes RP. Hyperthyroidism enhances endothelium-dependent relaxation in the rat renal artery. *Cardiovasc Res.* 1;59(1):181-8, 2003
119. Honda H., Iwata T., Mochizuki T., Kogo H. A fluctuation in adrenoceptor- and muscarinic receptor-mediated blood pressure responses in acute Hyperthyroid rats. *Vascul Pharmacol.* 40(1):1-6, 2003
120. Cornejo P., Tapia G., Puntarulo S., Galleano M., Videla LA., Fernandez V. Iron-induced changes in nitric oxide and superoxide radical generation in rat liver after lindane or thyroid hormone treatment. *Toxicol Lett.* 28;119(2):87-93, 2001
121. Iwata T., Honda H., Matsuda H., Kondo M., Taniguchi J., Miwa T., Kumasaka K., Moroe H., Notoya Y. Hypothyroidism changes adrenoceptor- and muscarinic receptor-mediated blood pressure responses. *Eur J Pharmacol.* 10;507(1-3): 311-6, 2005
122. Huffman LJ., Judy DJ., Rao KM., Frazer DG., Goldsmith WT. Lung responses to Hypothyroidism, Hyperthyroidism, and lipopolysaccharide challenge in rats. *J Toxicol Environ Health A.* 15;61(7):623-39, 2000
123. McAllister RM., Albarracin I., Price EM., Smith TK., Turk JR., Wyatt KD. Thyroid status and nitric oxide in rat arterial vessels. *J Endocrinol.* 185(1):111-9, 2005
124. Rodriguez-Gomez I., Wangenstein R., Moreno JM., Chamorro V., Osuna A., Vargas F. Effects of chronic inhibition of inducible nitric oxide synthase in Hyperthyroid rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 288(6):1252-7, 2005
125. Mano T., Shinohara R., Iwase K., Kotake M., Hamada M., Uchimuro K., Hayakawa N., Hayashi R., Nakai A., Ishizuki Y., Nagasaka A. Changes in free radical scavengers and lipid peroxide in thyroid glands of various thyroid disorders. *Horm Metab Res.* 29(7):351-4, 1997
126. Guerra LN., Moiguer S., Karner M., De Molina MC., Sreider CM., Burdman JA. Antioxidants in the treatment of Graves Disease. *IUBMB Life.* 51(2):105-9, 2001

127. Guerra LN., Ríos de Molina Mdel C., Miler EA., Moiguer S., Karner M., Burdman JA. Antioxidants and methimazole in the treatment of Graves' Disease: effect on urinary malondialdehyde levels. *Clin Chim Acta.* 352(1-2):115-20, 2005
128. Danis IuK., Marchiulanite DIu., Danite EIU., Cherniauskene RCh. Vitamin E and malondialdehyde in the blood serum of thyrotoxicosis patients. *Probl Endokrinol (Mosk).* 36(5):21-4, 1990
129. Alicigüzel Y., Ozdem SN., Ozdem SS., Karayalçın U., Siedlak SL., Perry G., Smith MA. Erythrocyte, plasma, and serum antioxidant activities in untreated toxic multinodular Goiter patients. *Free Radic Biol Med.* 15;30(6):665-70, 2001
130. Cetinkaya A., Kurutas EB, Buyukbese MA., Kantarceken B., Bulbuloglu E. Levels of malondialdehyde and superoxide dismutase in subclinical Hyperthyroidism. *Mediators Inflamm.* 24(1):57-9, 2005
131. Adali M., Inal-Erden M., Akalin A., Efe B. Effects of propylthiouracil, propranolol, and vitamin E on lipid peroxidation and antioxidant status in Hyperthyroid patients. *Clin Biochem.* 32(5):363-7, 1999
132. Gür B., Halifeoğlu İ., Telo S., Tolun Fİ. Hipertiroid hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası malondialdehit ve antioksidan enzim düzeyleri. *F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi,* 19(3):221-226, 2005
133. Dumitriu L., Bartoc R., Ursu H., Purice M., Ionescu V. Significance of high levels of serum malonyl dialdehyde (MDA) and ceruloplasmin (CP) in Hyper- and Hypothyroidism. *Endocrinologie.* 26(1):35-8, 1988
134. Dirican M., Taş S. Effects of vitamin E and vitamin C supplementation on plasma lipid peroxidation and on oxidation of apolipoprotein B-containing lipoproteins in experimental Hyperthyroidism. *J Med Invest.* 46(1-2): 29-33, 1999
135. Baydas B., Meral I. Effects of melatonin on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity in rats with experimentally induced Hyperthyroidism. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 32(7):541-4, 2005
136. Mogulkoc R., Baltacı AK., Aydın L., Oztekin E., Tuncer I. Pinealectomy increases oxidant damage in kidney and testis caused by Hyperthyroidism in rats. *Cell Biochem Funct.* 24(5):449-53, 2006
137. Özdem S., Alicigüzel Y., Özdem SS., Karayalçın Ü. Effects of propylthiouracil treatment on antioxidant activities in blood of Toxic-Multinodular Goiter patients. *Pharmacology,* 61:31-36, 2000
138. Çıkım G., Ozan G., Güllü F., Baykan D., Gürsu MF. Toksik Multinodüler Guatrli olgularda homositein düzeyi ve lipid peroksidasyonu. *Fırat Tıp Dergisi,* 9(4):116-119, 2004
139. Yılmaz S., Ozan S., Benzer F., Canatan H. Oxidative damage and antioxidant enzyme activities in experimental Hypothyroidism. *Cell Biochem Funct.* 21(4):325-30, 2003

140. Sarandöl E., Taş S., Dirican M., Serdar Z. Oxidative stress and serum paraoxonase activity in experimental Hypothyroidism:Effect of vitamin E supplementation. *Cell Biochem Funct.* 23:1-8, 2005
141. Taş S., Dirican M., Sarandöl E., Serdar Z. The effect of taurine supplementation on oxidative stress in experimental Hypothyroidism. *Cell Biochem Funct.* 24(2):153-8, 2006
142. Bilgihan K., Bilgihan A., Diker S., Ataoglu O., Dolapci M., Akata F., Hasanreisioğlu B., Turkozkan N. Effects of Hyper- and Hypothyroidism on oxidative stress of the eye in experimental acute anterior uveitis. *Acta Ophthalmol Scand.* 74(1):41-3, 1996
143. Mogulkoc R., Baltaci AK., Aydin L., Oztekin E., Sivrikaya A. The effect of thyroxine administration on lipid peroxidation in different tissues of rats with Hypothyroidism. *Acta Physiol Hung.* 92(1):39-46, 2005
144. Brzezińska-Slebodzińska E. Effects of triiodothyronine-induced Hyperthyroidism on lipid peroxidation, erythrocyte resistance and iron-binding and iron-oxidizing antioxidant properties of plasma in the rabbit. *Vet Res Commun.* 29(8):661-70, 2005
145. Mogulkoc R., Baltaci AK., Oztekin E., Aydin L., Tuncer I. Hyperthyroidism causes lipid peroxidation in kidney and testis tissues of rats: protective role of melatonin. *Neuro Endocrinol Lett.* 26(6):806-10, 2005
146. Sener G., Kabasakal L., Atasoy BM., Erzik C., Velioglu-Ogüncü A., Cetinel S., Contuk G., Gedik N., Yeğen BC. Propylthiouracil-induced Hypothyroidism protects ionizing radiation-induced multiple organ damage in rats. *J Endocrinol.* 189(2):257-69, 2006
147. Chehade J., Kim J., Pinnas JL., Mooradian AD. Malondialdehyde binding of rat cerebral proteins is reduced in experimental Hypothyroidism. *Brain Res.* 829 (1-2):201-3, 1999
148. Mogulkoç R., Baltacı AK., Öztekin E., Aydın L., Sivrikaya A. Melatonin prevents oxidant damage in various tissues of rats with Hyperthyroidism. *Life Sciences,* 79, 311-315, 2006
149. Chehade J., Kim J., Pinnas JL., Mooradian AD. Age-related changes in the thyroid hormone effects on malondialdehyde-modified proteins in the rat heart. *Proc Soc Exp Biol Med.* 222(1):59-64, 1999
150. Dariyerli N., Toplan S., Akyolcu MC., Hatemi H., Yigit G. Erythrocyte osmotic fragility and oxidative stress in experimental Hypothyroidism. *Endocrin.* 25(1):1-5, 2004
151. Baganha MF., Pego A., Lima MA., Gaspar EU., Pharma B. Serum and pleural adenosine deaminase correlation with lymphocytic populations. *Chest.* 97(3): 605-610, 1990

152. Bondy, PK., Rosenberg, LE. Metabolic control and disease. Philadelphia, W.B. Saunders Co. 777-937, 1980
153. Karbownik M., Zasada K., Wyczeschowska D., Lewinski A., Fabianowska-Majewska K. Purine metabolism in leukocytes and erythrocytes in Graves or Hashimoto's Disease. *Endocr Res.* 28(3):207-15, 2002
154. Nishikawa Y., Nakamura., Fukumoto K., Matsumoto M., Tanaka Y., Yoshinara H.. Adenosin deaminase isoenzymes in patients with Graves' Disease. *Rinsho Byrori.* 43(10):1057-60, 1995
155. Smolenski RT., Yacoub MH., Seymour AM. Hyperthyroidism increases adenosine transport and metabolism in the rat heart. *Mol. Cel Biochem.*143(2):143-9, 1995
156. Saggerson ED., Jamal Z. Enzymes involved in adenosine metabolism in rat white and brown adipocytes. *Biochem J.* 245:881-886, 1987
157. Mazurkiewics D., Saggerson D. Changes in the activities of adenosine-metabolizing enzymes in six regions of the rat brain chemical induction of Hypothyroidism. *Biochem J.* 261(2):667-72, 1989
158. Adalı M., Erden-İnal M., Akalın A., Efe B. Effects of propylthiuracil, propranolol and vitamin E on lipid peroxidation and antioxidant status in Hyperthyroid patients. *Clin Biochem.* 32:363-367, 1999
159. Kurnar M., Bobby Z., Selvaraj N., Das A.K., Koner BC., Sen SK., Ramesh R., Rangonathan P. Possible link between glycated hemoglobin anal lipid peroxidation in Hyperthyroidism. *Clinca Chiminica Acta.* 342:187-192, 2004
160. Konukoğlu D., Yeke HK., Hatemi H., Sabuncu T. Effects of oxidative stress on the erythrocyte Na⁺, K⁺ ATPase activity in female hyperthyroid patients. *Journal of Toxicology and Environmental Health,* 63:289-295, 2001
161. Baydas B., Meral İ. Effect of melatonin on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity in rats with experimentally induced hyperthyroidism *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiolog.* 32:541-544, 2005
162. Civelek S., Seymen O., Seven A., Yiğit G., Hatemi H., Burçak G. Oxidative stress in heart tissue of Hyperthyroid and iron supplemented rats. *Journal of Toxicology and environmental Health,* 64:499-506, 2001
163. Araujo ASR., Riberio MFM., Enzweiler A., Schenkel P., Fernandes TRG., Partata WA., İrigoyen MC., Lleuy S., Bellö-Klern A. Myocardial antioxidant enzyme activities and concentration anal glutathione metabolism in experimental Hypertiroidism. *Molecular ve Cellular Endocrinology,* 249:133-139, 2006
164. Choudhury S., Chainy GBN., Mishro MM. Experimentally induced Hypo- and Hyperthyroidism influence on the antioxidant defence system in adult rat testis *Andrologia.* 35:131-140, 2003

165. Engin A., Altan N., Işık E. Erythrocyte glutathione levels in lithium induced Hypothyroidism. *Drugs R D.* 6(1):35-40, 2005
166. Das K., Chainy GBN. Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defence system by thyroid hormone. *Biochimica et. Biophysica Acta.* 1537:1-13, 2001
167. Rahaman SO., Ghosh S., Mohanakumar KP., Das S., Saykar PK. Hypothyroidism in the developing rat brain is associated with marked oxidative stress and aberrant intraneuronal accumulation of neurofilaments. *Neuroscience Research.* 40:273-279, 2001

10. EKLER

1. Etik Kurul Raporu
2. Hasta Bilgilendirme Formu
3. Bilgilendirilmiş Olur Formu Örneği (İlaç-dışı Araştırmalar İçin)

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURULU KARARI
ÖN ONAY

Toplantı Tarihi : 19/07/2005
Toplantı Yeri : TÖTM.-MALATYA
Araştırmanın Protokol No.su : 2005/1

“Hipertroidili ve hipotroidili hastalarda tedavi öncesi ve tedavi sonrası oksidan ve antioksidan parametrelerinin araştırılması” konulu araştırma incelenmiştir.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi yönergesinde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve 10.madde gereği sorumluluk araştırmacıya ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakıncanın bulunmadığına karar verildi . Proje bütçesinin desteklendiğine ait belge Etik Kurulumuza ulaştırıldığında kesin onay verilecektir.

Prof.Dr. Ercüment Ölmez Başkan imza	Prof.Dr. İsmet Aydoğdu Başkan Yrd. imza	Prof.Dr.Tayfun Güldür Üye imza
Doç.Dr.Savaş Demirbilek Üye imza	Doç.Dr.M.Mutlu Meydanlı Üye imza	Doç.Dr.Hale Kırımlıoğlu Üye imza
Yr.Doç.Dr.Osman Celbiş Üye imza	Yrd.Doç.Dr.Yaşar Bayındır Üye imza	Ecz.Özlem Özgür Arıkan Raportör imza

HASTA BİLGİLENDİRME FORMU

Hastanın :
Sıra No :
Adı Soyadı :
Cinsiyeti :
Oturduğu İl :
Medeni Hali :

Sigara kullanıyor musunuz? Evet Hayır
Alkol kullanıyor musunuz? Evet Hayır
Kaç yıldan beri tiroid hastası/sınız? Evet Hayır
İlaç kullanıyor musunuz? Evet Hayır
Kullanıyor iseniz isimleri?

Araştırma Konusu :

Yukarıda belirtilen ifadeleri okuduğumu, onayladığımı ve ayrıca bu testin uygulanabilmesi için 5cc kan vermeyi kabul ediyorum.

Hastanın İmzası

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU ÖRNEĞİ (İlaç-dışı Araştırmalar İçin)

HASTA (Veli/Vasi) BİGİLENDİRME FORMU

Bu klinik çalışmanın amacı, Hipertiroidi, Hipotiroidi ve Ötiroidi hastalarda oksidan ve antioksidan parametrelerin araştırılması isimli tıbbi uygulamanın etkinliğini değerlendirmektir.

Bu tıbbi uygulamanın hastalığınıza yapılacak olan tedavinin etkinliğini artırmada iyi olacağı düşünülmektedir.

Fakültemiz Etik Kurulu tarafından, bu çalışmanın Helsinki Deklerasyonunda belirtilen maddelere göre ahlaki, vicdani ve tıbbi kurallara uygun olduğu onaylanmıştır.

Çalışma öncesinde bu tıbbi uygulama ile ilgili tedaviyi istediğinize dair bir evrak imzalamanız gerekmektedir.

Bu çalışmaya katılmakta karar tamamen size aittir (özgürsünüz). Başlangıçta kabul edip, daha sonra fikir değiştirip, hiç gerekçe göstermeden çalışmadan ayrılabilirsiniz. Bu durumda sizinle ilgili tıbbi özende bir değişiklik olmayacaktır.

HASTA (Veli/Vasi) RIZA FORMU

Aşağıda imzası bulunan ben Hipertroidi, Hipotroidi ve Ötroidi hastalarda oksidan ve antioksidan parametrelerinin araştırılması isimli, planlanan klinik çalışma hakkında, Biyokimya Uzm. Tuğba Raika KIRAN'dan tam olarak bilgi aldığımı beyan ederim.

Bu tıbbi uygulamanın etik açısından Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) kurallarına uygun olarak incelendiğini ve insanlara uygulanmasının sakıncalı olmayacağı bana anlatıldı.

Bana verilen bu bilgiler temelinde, istediğim herhangi bir zaman, hiçbir sakınca olmadan, çalışmadan çekilebileceğimi teyid ediyorum

Hasta No	:		
Hastanın Adı Soyadı	:	İmzası	:
Hastanın Doğum Tarihi	:		
Hastanın veli/vasisinin Adı Soyadı	:	İmzası	:
Araştırmacının İmzası	:		
Tarih	:		

11. ÖZGEÇMİŞ:

Osmaniye'nin Kadirli ilçesinde 1974 yılında doğmuştur. İlk, orta, lise öğrenimini İskenderun'da tamamlamıştır. 1994 yılında Fırat Üniversitesi Fen –Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde üniversite eğitime başlamış ve 1997 yılında mezun olmuştur. 2000 yılında Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyokimya dalında yüksek Lisans eğitime başlamış ve 2002'de bitirmiştir. 2003 yılında İnönü Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalında doktora eğitime başlamıştır. Halen eğitimini sürdürmektedir.

Evli ve iki çocuk annesidir.