

**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**HİPOTİROİDİ HASTALARINDA ENDOTEL DİSFONKSİYONU
VE OKSİDATİF STRES**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. MUSTAFA ÜNLÜ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MURAT KAÇMAZ**

**KIRIKKALE
2015**

**T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**HİPOTİROİDİ HASTALARINDA ENDOTEL DİSFONKSİYONU
VE OKSİDATİF STRES**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. MUSTAFA ÜNLÜ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MURAT KAÇMAZ**

Bu tez Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2014/109 proje numarası ile desteklenmiştir.

**KIRIKKALE
2015**

T.C.
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı uzmanlık programı çerçevesinde yürütölmüş olan "HİPOTİROİDİ HASTALARINDA ENDOTEL DİSFONKSİYONU VE OKSİDATİF STRES" isimli çalışma, aşğıdaki jüri tarafından Dr. Mustafa ÜNLÜ'nün "UZMANLIK TEZİ" olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 12/05/2015

ÜYE
Prof. Dr. Hakan BOYUNAĞA

ÜYE
Prof. Dr. Murat KAÇMAZ

ÜYE
Prof. Dr. Mustafa KAVUTCU

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalıőmam boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım değerli danıőman hocam Prof. Dr. Murat Kaçmaz hocama, uzmanlık eğitimim boyunca her zaman desteğini gördüğüm Prof. Dr. Üçler Kısa hocama, Prof. Dr. Hakan Boyunağa hocama ve Prof. Dr. Osman ağlayan hocama teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca uyum içinde çalıőtığım meslektaőlarıma, teknisyen çalışma arkadaőlarıma ve Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakóltesi personeline teşekkür ederim.

Tez hazırlama sürecinde her türlü desteğini gördüğüm Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakóltesi İç Hastalıkları Anabilim Dalına, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakóltesi Endokrin Anabilim Dalı hocalarından Prof. Dr. őenay Arıkan hocama, diğer öğretim üyelerine ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakóltesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı hocalarından Prof. Dr. Mustafa Kavutcu hocama teşekkür ederim.

Bana her zaman destek olan aileme, anneme ve babama teşekkür ederim.

Dr. Mustafa ÜNLÜ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	IV
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
TABLolar LİSTESİ.....	VIII
ÖZET	IX
ABSTRACT.....	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	11
2. GENEL BİLGİLER	13
2.1. Hipotiroidizm.....	13
2.1.1. Tiroid Hormonları	14
2.1.2. Hipotiroidizm sınıflandırması	15
2.1.3. Hipotiroidizm Kliniği.....	15
2.1.4. Hipotiroidizm Laboratuvar Bulguları	15
2.2. Serbest Radikaller	16
2.2.1. Singlet Oksijen.....	17
2.2.2. Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$)	17
2.2.3. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	18
2.2.4. Hidroksil Radikali (OH^{\bullet}).....	18
2.2.5. Hipokloröz Asit (HOCl).....	19
2.2.6. Reaktif Nitrojen Türleri	19
2.3. Serbest Radikallerin Etkileri	20
2.4. Antioksidanlar	21
2.4.1. Enzim Antioksidanlar	22
2.4.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar	23
2.5. Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA)	24
2.6. Homosistein (Hcy)	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1. Gereçler.....	26
3.2. Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	26

3.3. Yöntemler	27
3.4. İstatistiksel İncelemeler	33
4. BULGULAR.....	34
5. TARTIŞMA	40
6.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	48
7.KAYNAKÇA.....	50



SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

H ₂ O	:	Su
H ₂ O ₂	:	Hidrojen peroksit
O ₂	:	Dioksijen
O ₂ ²⁻	:	Peroksit
O ₂ ^{•-}	:	Süperoksit radikali
OH [•]	:	Hidroksil radikali
OH ⁻	:	Hidroksit iyonu
HOCl	:	Hipoklorik asit
NO [•]	:	Nitrik oksit radikali
NO ₂ [•]	:	Nitrojen dioksit radikali
NO ₃ ⁻	:	Nitrat
NO ₂ ⁻	:	Nitrit
N ₂ O	:	Nitröz oksit
NO ₂ ⁺	:	Nitronyum iyonu
N ₂ O ₃	:	Dinitrojen trioksit
NOS	:	Nitrik oksit sentaz
eNOS	:	Endotelyal nitrik oksit sentaz
iNOS	:	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
nNOS	:	Nöronal nitrik oksit sentaz
T ₃	:	3,5-3' triiyodotironin
T ₄	:	3,5-3'5' tetraiyodotironin
FT ₃	:	Serbest triiyodotironin
FT ₄	:	Serbest tetraiyodotironin
rT ₃	:	3-3',5' (ters) triiyodotironin
Tg	:	Tiroglobulin
AntiTg	:	Antitiroglobulin antikoru

TPO	:	Tiroid peroksidaz
AntiTPO	:	Antitiroid peroksidaz antikor
TSH	:	Tiroid stimulan hormon
MIT	:	3-monoiodotirozin
DIT	:	3,5-diiodotiozin
Fe ²⁺	:	Ferröz demir
Fe ³⁺	:	Ferrik demir
Fe	:	Demir
NADPH	:	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (redükte)
NADP ⁺	:	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (okside)
SOD	:	Süperoksit dismutaz
GSH-Px	:	Glutatyon peroksidaz
GSH	:	Redükte glutatyon
GSSG	:	Okside glutatyon
GSSG-Rd	:	Glutatyon redüktaz
Hcy	:	Homosistein
PRMT I	:	Protein arjinin metiltransferaz I
DDAH	:	Dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz
ADMA	:	Asimetrik dimetilarjinin
Cr	:	Kreatinin
CETP	:	Kolesterol ester transferaz
LT ₄	:	Levotiroksin
TBARS	:	Tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren maddeler
TBG	:	Tiroksin bağlayıcı globulin
TBPA	:	Tiroksin bağlayıcı prealbumin
ANA	:	Antinükleer antikor
ROS	:	Reaktif oksijen türleri
LPO	:	Lipid peroksidasyonu
ONOO ⁻	:	Peroksinitrit

e ⁻	:	Elektron
PUVA	:	Poliansatüre yağ asitleri
LOO ⁻	:	Peroksil radikali
CAT	:	Katalaz
SOD	:	Süperoksit dismutaz
ETZ	:	Elektron taşıma zinciri
CBS	:	Sistation β sentaz
MS	:	Metiyonin sentaz
TRH	:	Tirotropin salgılatıcı hormon



ŞEKİLLER LİSTESİ

- Şekil 1:** Asimetrik Dimetil Arjinin.....25
- Şekil 2:** Homosistin, Homosistein ve Sistein-Homosistein.....25



TABLolar LİSTESİ

Tablo 1: Hipotiroidizm Sınıflandırması:	15
Tablo 2: Çalışma grubunun yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımları:	34
Tablo 3: Hipotiroidi Hasta ve Sağlıklı Kontrol Serum TSH, FT ₄ , ADMA, Hcy, MDA ve NO (ort±SD)	35
Tablo 4: Hipotiroidi Hasta Grubu YAŞ, TSH, FT ₄ , ADMA, Hcy, MDA ve NO korelasyonları.....	36
Tablo 5: Sağlıklı Kontrol Grubu YAŞ, TSH, FT ₄ , ADMA, Hcy, MDA ve NO korelasyonları	37
Tablo 6: Serum TSH düzeyi >12,6 olan Hipotiroidi Hasta Grubu ve Serum TSH düzeyi <12,6 olan Hipotiroidi Hasta Grubu YAŞ, TSH, FT ₄ , ADMA, Hcy, MDA ve NO (ort±SD).....	38

ÖZET

ÜNLÜ M. Hipotiroidi Hastalarında Endotel Disfonksiyonu ve Oksidatif Stres.
Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Uzmanlık Tezi, 2015

Hipotiroidi, tiroid hormonlarının serumda normal düzeyinin altında bulunması sonucu gelişen klinik tablodur. Tiroid hormonları organizmada oksidan ve antioksidan dengenin düzenlenmesinde çok kritik role sahiptir. Literatürde hipotiroidi hastalarında oksidatif stres ve endotel disfonksiyonu ile ilgili araştırmacıların farklı sonuçlar elde ettiği çok sayıda çalışma mevcuttur.

Hipotiroidi hastalarında endotel disfonksiyonunu ve oksidatif stresi değerlendirebilmek için, biz bu çalışmaya Nisan 2014 ile Eylül 2014 tarihleri arasında yeni tanı almış 40 hipotiroidi hastası ile 40 sağlıklı kontrolü dâhil ettik ve hipotiroidi hastaları ile sağlıklı kontrollerin serum TSH, FT₄, MDA, NO, Hcy ve ADMA parametreleri arasındaki ilişkiyi inceledik.

Çalışmamızın sonunda hipotiroidi hastalarında sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamlı artmış serum MDA düzeyi ve istatistiksel olarak anlamsız artmış serum NO, Hcy ve ADMA düzeyi bulunmuştur. Bizim çalışmamıza göre hipotiroidide artmış oksidatif strese bağlı lipid peroksidasyonunda artış ve bunun sonucunda kardiyovasküler risk gelişmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hipotiroidi, MDA, NO, Hcy, ADMA, endotel disfonksiyonu, oksidatif stres

ABSTRACT

ÜNLÜ M. Endothelial Dysfunction and Oxidative Stress in Patients with Hypothyroidism. Kırıkkale University Faculty of Medicine Department of Biochemistry, Thesis, 2015

Hypothyroidism is a clinical situation in which serum thyroid hormone levels are lower than normal levels. Thyroid hormones play critical role in regulating oxidant and antioxidant balance in organism. In literature, there are so many studies about endothelial dysfunction and oxidative stress in hypothyroid patients in which researchers have established very different results.

In order to determine endothelial dysfunction and oxidative stress in hypothyroid patients, we included 40 newly diagnosed hypothyroid patients and 40 healthy controls between April 2014 and September 2014. In this study we evaluated the relationship between serum TSH, FT₄, MDA, NO, Hcy and ADMA parameters.

As a result of our study, we found statistically significant high serum MDA levels in hypothyroid patients than healthy controls and statistically insignificant high serum NO, Hcy and ADMA levels in hypothyroid patients than healthy controls. According to our study, hypothyroidism raises cardiovascular risk via elevated lipid peroxidation and oxidative stress.

Keywords: Hypothyroidism, MDA, NO, Hcy, ADMA, endothelial dysfunction, oxidative stress

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hipotiroidizm, tiroid hormonlarının yetersiz salınması sonucu organizmada yetersiz tiroid hormon bulunması ile oluşan hipometabolik durumdur [1]. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan klinik bir çalışmada populasyonun % 0,3'ünde yüksek serum tiroid stimulan hormon (TSH) düzeyi, düşük serbest serum tetraiyodin hormon (FT₄) düzeyi ile karakterize klinik hipotiroizm; %4,3'ünde ise normal serum TSH düzeyi, düşük serum FT₄ düzeyi ile karakterize subklinik hipotiroidizm saptanmıştır [2].

Organizmada hücrelerin gelişmesi ve organların düzenli çalışmasında görevli tiroid hormonları, dokularda biyokimyasal reaksiyonları hızlandırarak metabolik hızı artırır. Bazal metabolik durumda metabolizmanın oksijen (O₂) tüketiminin ciddi hipotiroidizmli hastalarda %40'a varan oranda azalabildiği, bunun tam tersine serum tiroid hormon düzeylerinin yükselmesi ile karakterize tirotoksikozlu hastalarda metabolizmanın oksijen tüketiminin %25 ila %50 oranında artabildiği saptanmıştır [3]. Hipotiroidi hastalarında istirahat enerji tüketiminin tedavide verilen tiroid hormon dozuyla orantılı şekilde değiştiği gözlenmiştir [4]. Metabolizma enerji tüketimi ve O₂ tüketimi üzerinde belirleyici olan tiroid hormonlarının, çoğu O₂'den köken alan serbest radikal üretimi ve bu serbest radikallerin metabolizma üzerine etkileri üzerine bir çok bilimsel çalışma yapılmış ve ortaya çok farklı sonuçlar çıkmıştır [5-15]. Hipotiroidizmde oksidatif metabolizmanın azalışı ile beraber serum lipoprotein ve lipid düzeylerinde artış görülmektedir [9, 13, 16]. Hipotiroidizmde metabolizmanın yavaşlaması sonucu azalan serbest radikal üretimi ile oksidatif stresin azaldığını gösteren bilimsel çalışmalar olduğu gibi [17-19], hipotiroidizmde artan lipoproteinlerin lipid peroksidasyonu ve oksidatif stresi artırdığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır [5, 9, 10, 20].

Bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron (e⁻) içeren, bağımsız olarak bulunabilen herhangi bir kimyasal madde serbest radikal olarak değerlendirilir [21]. Serbest radikaller, organizmada en fazla O₂'den aerobik solunum sonucu oluşur ve organizmada antioksidan defans mekanizmaları ile kontrol altına alınırlar [22]. Organizmada kontrol altına alınamayan serbest radikaller bütün hücresel yapılara zarar verirler, bu durum oksidatif stres olarak adlandırılır [23]. Hücresel proteinlere, karbonitratlara, lipidlere

verilen zararlarla oluşan oksidatif stresin başta kardiyovaskuler sistem hastalıkları olmak üzere bir çok hastalığa neden olduğu bilinmektedir [24].

Organizmada tiroid hormonları O_2 tüketimini artırarak serbest radikal üretimini artırır. Bununla beraber tiroid hormonları ortamda bulunan serbest radikallerin kontrol altına alınması için gerekli olan antioksidan maddelerden olan A ve E vitamini gibi vitaminlerin sentezinde, antioksidan enzim seviyelerinin düzenlenmesinde ve antioksidan proteinlerin sentezinde görev alırlar [1]. Bu alışmamızda tiroid hormonlarının organizmada oksidan ve antioksidan denge üzerine olan karmaşık etkilerini değerlendirmeye aldık. Ayrıca hipotiroidizm tedavisinin olası faydalarını oksidatif stres üzerinden ortaya koymaya çalıştık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hipotiroidizm

Tiroid bezinin aktivitesinin azalması sonucu yetersiz tiroid hormon salınımı sonucu oluşan klinik tabloya hipotiroidizm denir. Toplumda %2-%15 arasında görülen hipotiroidizm kadınlarda daha sık görülmekle beraber her iki cinstede de yaşla birlikte görülme sıklığı artar.

Tiroid hormon biyosentezindeki defektler veya tiroid bezine zarar veren durumlar sonucu oluşan hipotiroidiye primer hipotiroidi, hipofiz veya hipotalamus bezindeki bozukluklara bağlı gelişen hipotiroidiye sekonder hipotiroidi adı verilir.

Primer hipotiroidi tiroid hormonları olan T₄ (tetraiyodotironin) ve T₃ (triiodotironin) biyosentezinin bozulması nedeniyle oluşur. İyotun yeterli olarak karşılandığı bölgelerde hipotiroidinin en sık nedeni otoimmün tiroidittir (Hashimoto Tiroiditi). Sık görülen diğer nedenler arasında iyot eksikliği, baş-boyun bölgesine uygulanan radyasyon, doğuştan tiroid bezinin gelişmemesi ve tiroid hormon biyosentezinin bozulmasına neden olan ilaçlar yer alır. Primer hipotiroidide sağlam olan hipofizden salgılanan TSH yüksekliğine düşük yanıt veren tiroid bezinde kompensatuar olarak büyüme görülebilir ve bu durum guatr olarak adlandırılır. Primer hipotiroidi guatrlı ve guatrsız olarak görülebilir. Primer hipotiroidide serum TSH düzeyi normal değeri olan 0,27-4,2 µU/mL'den yüksek, serum FT₄ düzeyi normal değeri olan 1-1,6 ng/dL'den düşük ve serum FT₃ (serbest triiodotironin) düzeyi normal değeri olan 2,6-4,4 pg/mL'den düşük bulunur.

Sekonder hipotiroidi, hipofiz bezinden yetersiz TSH salınması nedeniyle tiroid bezinden yetersiz T₄ ile T₃ salınması sonucu oluşur ve primer hipotiroidiye göre çok nadir görülür. Sekonder hipotiroidide serum TSH düzeyi düşük veya normal, serum FT₄ düzeyi düşük ve serum FT₃ düzeyi düşük veya normal bulunur.

2.1.1. Tiroid Hormonları

Tiroid bezinden başlıca T₃ ve T₄ hormonu salgılanır. Tiroid hormonunun sentezi için intrinsek substrat olan tiroglobulin ve ekstrinsek substrat olarak iyot gereklidir. İyot, foliküler hücrelere aktif transportla alınır ve bu basamak tiroid hormon sentezinde hız kısıtlayıcı basamaktır. Foliküler hücreler bu iyot uptake basamağında iyotu plazmaya göre 30 kattan daha fazla bir oranda konsantre ederler. Tiroid bezinde konsantre edilen iyot, tiroid peroksidaz enzimi (TPO) ile H₂O₂ ve NADPH kullanılarak okside ve aktive edilir. Aktif iyot, tiroglobulin (Tg) üzerindeki tirozin rezidülerine TPO ile H₂O₂ kullanılarak bağlanır. İyotlanma ilk 3. pozisyondaki tirozin üzerinde olur ve 3-monoiodotirozin (MIT) oluşur. İyotlanma ikinci olarak 5. pozisyondaki tirozin üzerinde olur ve 3,5-diiiodotirozin (DIT) oluşur. Bu basamağa organifikasyon denir. Bundan sonra iyotlanmış olan bu tirozin molekülleri birbirleri ile TPO veya coupling enzimi ile birleştirilirler. DIT'lerin birleşmesi ile 3,5-3'5' T₄ oluşur. Bir DIT ile bir MIT birleşmesi ile 3,5-3' T₃ veya 3-3',5' triiyodotironin (rT₃) oluşur. Tg üzerinde bağlı olan DIT, MIT, T₃ ve T₄ serbestleşerek sistemik dolaşıma katılırlar. Tiroid hormon sentezindeki her basamak TSH tarafından düzenlenir. TSH tiroid foliküler hücrelerinin sayı ve hacminin artmasını sağlar. Uzamış TSH stimülasyonu tiroid bezinde vaskulariteyi artırarak hipertrofik tiroid büyümesi olarak adlandırılan guatra yol açar.

T₄ kanda %99.97 oranında, T₃ ise kanda %99.8 oranında kanda proteinlere bağlı olarak taşınır. Tiroid hormonları kanda tiroksin bağlayan globülin (TBG), tiroksin bağlayan prealbumin (TBPA, transtiretin) ve albumine bağlı olarak taşınır. Kanda T₄'ün yalnızca %0,03'ü, T₃'ün ise yalnızca %0,2'si serbest olarak bulunurlar ve aktivite gösterirler. Taşıyıcı proteinlerin T₄'e daha yüksek afinite göstermesi nedeni ile T₄'ün yarı ömrü daha uzundur ve aktivitesi T₃'e göre daha düşüktür. T₄ kendisinden 3-8 kat daha aktif olan ve dokulara daha hızlı yayılabilen T₃'e 5'deiyonidizasyon ile dönüşür. Bu dönüşüm başlıca karaciğerde olmaktadır.

Tiroid hormonları vücutta hücrel metabolizmaları hızlandırarak bazal metabolik hızı düzenlerler, kemik oluşumunu ve rezorpsiyonunu artırır, fetüsün mental ve somatik gelişiminde rol oynarlar, miyokard hücrelerinin kasılma gücünü ve kasılma sayısını artırır, bağırsak ve mide motilitesini düzenlerler, hormona duyarlı lipaz enzimini uyararak yağ dokusundan serbest yağ asidi salınımını artırır, protein sentezini artırır, glikojenolizi ve glukoneogenezi artırarak hiperglisemiye neden olurlar [1, 25-27].

2.1.2. Hipotiroidizm sınıflandırması

Tablo 1: Hipotiroidizm Sınıflandırması

Primer Hipotiroidi	Santral Hipotiroidi (Sekonder ve Tersiyer)
-Hashimoto tiroiditi	-Hipofizyal TSH Eksikliği
-Endemik iyot eksikliği	-Kitle oluşturan lezyonlar (kraniyofarinjiyoma, hipofiz adenomu, menenjiyom, disgerminom)
-Tiroid agenez veya displazisi	-İnfiltrasyon oluşturan lezyonlar (sarkoidoz, tüberküloz, toksoplazmoz, hemokromatoz, sistinoz, sifiliz)
-İyatrojenik (cerrahi, radyoaktif iyot)	-Hipofiz atrofisi
-Antitiroid ilaçlar (lityum, thionamid)	-İyatrojenik (cerrahi, radyasyon)
-Subakut (geçici) tiroidit	-Hipotalamik TRH Eksikliği
-Hormon sentezinde kalıtsal defektler	-Konjenital defektler
-Tiroid bez infiltrasyonu (amiloidoz, sistinoz, sarkoidoz, hemokromatoz, skleroderma, Riedel Struması)	-Travma
-TSH'ya cevapsızlık	-İdiyopatik
-Tiroid hormon tedavisinin ani kesilmesi	
-İyot aşırı alımı	

2.1.3. Hipotiroidizm Kliniği

Tüm organizmada tiroid hormon yetersizliği sonucu bir dizi değişiklikler meydana gelir. Hipotiroidizmde genel bir uyuşukluk hali, üşüme hissi, kilo alma, deride kuruluk, bradikardi, kalp debisinde azalma, periferik ödem, solunum darlığı, plevral asit, karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklik, kaslarda kuvvetsizlik ve pareteziler, kadınlarda menstrüasyon bozuklukları, çocuklarda gelişme ve zeka geriliği görülebilir [3].

2.1.4. Hipotiroidizm Laboratuvar Bulguları

Hipotiroidizmde serum T₄ ve T₃ hormon düzeyleri düşük bulunur. Serum TSH hormon düzeyi primer hipotiroidide yüksek, sekonder ve tersiyer hipotiroidide düşük olarak tespit edilir. Kronik otoimmün tiroiditlerde antitiroid peroksidaz antikor (AntiTPO) ve antitiroglobulin antikor (AntiTg) pozitif olarak bulunabilir. Kronik

otoimmün tiroiditlerin guatr ile birlikte olan formu Hashimoto tiroiditi, guatr görülmeyen formu atrofik tiroidit olarak adlandırılır. Kronik otoimmün tiroiditte tiroid otoantikorları olan AntiTPO'ya ve AntiTg'ye bağlı olarak tiroid fonksiyonu bozulur. Hipotiroidizmin en sık görülen türü Hashimoto tiroiditidir. Hashimoto tiroiditi görülme sıklığı yaşla birlikte artmakla birlikte hastaların %95'i kadındır ve populasyonun %2'sini etkilenir. Hashimoto hastalığı asemptomatik olarak başlar, AntiTPO ve AntiTg pozitifliğinin artmasıyla birlikte semptomatik hale gelir. Kliniği hafif bir guatrdan yaygın bir miksödem tablosuna kadar ilerleyebilir. Tersiyer hipotiroidide tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) seviyesi düşük olarak bulunur. Hipotiroidi hastalarında sedimentasyon yüksekliği, karaciğer fonksiyon testlerinde yükseklik, poliklonal hipergamaglobulinemi veya antinükleer antikor (ANA) pozitifliği görülebilir [28]. Hipotiroidizmde serum kolesterol ve trigliserid değerleri artmış olarak bulunur [29].

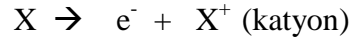
2.2. Serbest Radikaller

Atomun yapısında çekirdeğin etrafında zıt hareketli olarak çiftler halinde hareket eden belirli enerji düzeyinde e^- 'ler bulunur [30]. Dış yörüngelerinde bir veya daha fazla ortaklanmamış e^- içeren moleküller veya atomlar serbest radikal olarak değerlendirilir [31]. Serbest radikaller tamamlanmamış oktet ve eşlenmemiş e^- nedeni ile kimyasal olarak çok etkinlerdir, kararsızdırlar ve protein, lipit, karbonhidrat, DNA gibi maddelerle hücre içinde ve hücre dışında çok sık olarak reaksiyona girerler [32]. Bununla birlikte serbest radikaller otokatalitik reaksiyon ile normal molekülleri serbest radikallere dönüştürerek zincirleme reaksiyon başlatabilirler [33].

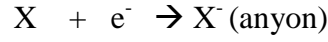
Serbest radikaller organizmada en çok O_2 'den oluşurlar. O_2 'nin yapısında eşlenmemiş iki e^- bulunur. Bu eşlenmemiş e^- 'ler paralel spinde olduğu için O_2 reaktivitesi maskelenmiş bir radikal olarak değerlendirilir. Organizmada kimyasal enerji ve ısı elde edilmesi için karbon içerikli maddeler O_2 ile okside edilir [21]. Moleküler O_2 bu reaksiyonda indirgenir ve sonuçta reaktif oksijen türleri (ROS) meydana gelir. ROS serbest radikal olabilirler veya olmayabilirler fakat kimyasal olarak çok aktiftirler [7, 31].

Serbest radikaller kimyasal olarak üç şekilde oluşurlar:

1- Normal bir molekülden veya atomdan e^- çıkarılması:



2- Normal bir moleküle veya atoma e^- eklenmesi:



3- Normal bir molekülün kovalent bağının ayrılması:



2.2.1. Singlet Oksijen

Moleküler oksijenin kimyasal olarak uyarılmış haline singlet oksijen denir. Paylaşılmamış e^- içermemesi nedeni ile serbest radikal olarak değerlendirilmemekle birlikte kimyasal olarak moleküler O_2 'den çok daha fazla aktiftir. Özellikle hücrede doymamış yağ asitleri ile kimyasal tepkimeye girerek peroksil radikalini meydana getirerek lipid peroksidasyonunu (LPO) çok ciddi düzeyde başlatabilmektedir. Tepkimeye girebildikleri diğer bileşikler arasında DNA, kolesterol, fenol, bilirubin, karoten, metiyonin, histidin gibi bileşikler yer almaktadır [35]. Singlet oksijenin meydana gelmesi fotokimyasal reaksiyonlarda önem arz etmektedir [21]. Ultraviyole ışınlarının fotosensitizasyon etkisi ile singlet oksijen üretimini potansiyalize eden 6-tiyoguanin gibi kanser ilaçları, singlet oksijenin hızlı bölünen kanser hücrelerinin DNA'ları üzerinde toksik etki oluşturması amacı ile kanser tedavisinde kullanılmaktadırlar [36].

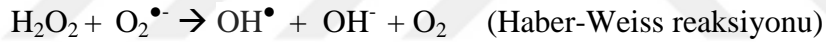
2.2.2. Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$)

$O_2^{\bullet-}$ moleküler O_2 'nin bir e^- alması sonucu oluşur. Hücre içinde normal hücre sel reaksiyonlar ve hücre dışında endotel hücreleri, lenfositler ve fibroblastlar tarafından başlıca sitokrom P_{450} sistemi tarafından oluşturulan $O_2^{\bullet-}$ zayıf bir oksidandır. $O_2^{\bullet-}$ askorbik asit ve tiyol gibi bileşikleri zayıf oksitleyebilir. Düşük pH'da protonlanarak daha güçlü oksidan hidroperoksil radikaline dönüşebilir [21, 34]. Genel olarak oksitleyici, bazı metal iyonlarını indirgeyici etkileri olan $O_2^{\bullet-}$ oksidatif strese neden olan reaksiyonları başlatabilir [35]. $O_2^{\bullet-}$ fizyolojik bir bileşik olan nitrik oksit (NO^\bullet) ile

reaksiyona girerek oldukça güçlü doku hasarına yol açan peroksinitrit radikalini (ONOO⁻) oluşturabilir [37].

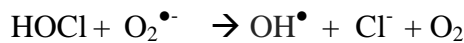
2.2.3. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Moleküler O₂'ye iki e⁻ eklenmesi veya O₂^{•-}'ye bir e⁻ eklenmesi sonucu peroksit (O₂²⁻) oluşur. O₂²⁻'ye iki proton eklenirse H₂O₂ meydana gelir. H₂O₂ organizmalarda en sık olarak süperoksit dismutaz enzimi (SOD) tarafından katalizlenen O₂^{•-}'in dismutasyonu sonucu oluşur. Ürat oksidaz, glukoz oksidaz ve d-amin oksidaz gibi enzimlerle oksijene e⁻ eklenmesi ile H₂O₂ oluşabilir. H₂O₂ yüksüz ve kovalent bir yapıda olmakla birlikte oldukça stabildir, düşük oksidan ve redüktan özellik göstermesi nedeni ile serbest radikal olarak değerlendirilmez; fakat ortamda Fe²⁺ veya diğer geçiş metallere varlığında "Fenton reaksiyonu" sonucu veya O₂^{•-}'nin varlığında "Haber-Weiss reaksiyonu" sonucu en oksidan ve reaktif serbest oksijen radikali olan hidroksil radikali (OH[•]) oluşturabilmesi nedeni ile ROS olarak değerlendirilir. Hücre zarından kolaylıkla geçebilen H₂O₂ hücrelerden katalaz, glutatyon peroksidaz ve bazı peroksidaz enzimlerinin katalizlediği reaksiyonlarla uzaklaştırılır [21, 35].



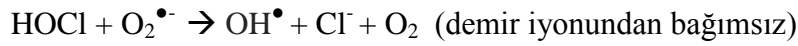
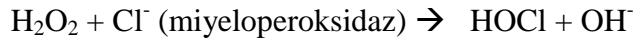
2.2.4. Hidroksil Radikali (OH[•])

OH[•] radikali bir oksijen atomu ile bir hidrojen atomunun kovalent olarak bağlanması sonucu oluşur ve organizmada bulunan en kuvvetli oksidandır. Organizmada Fenton reaksiyonu, Haber-Weiss reaksiyonu, yüksek enerjili iyonize edici radyasyonla suyun hemolitik ayrılması sonucu, ONOO⁻'nin parçalanması veya hipokloröz asidin (HOCl) O₂²⁻ ile reaksiyonu sonucu oluşabilir. OH[•] radikali son derece kararsız ve güçlü bir oksidandır. OH[•] radikalinin suya indirgenmesi ile ortama büyük bir enerji açığa çıkar. Organizmada yağ asidi gibi maddelerden proton koparan OH[•] radikali yeni serbest radikaller meydana getirir [38].



2.2.5. Hipokloröz Asit (HOCl)

HOCl organizmada miyeloperoksidaz enzimi içeren aktive edilmiş nötrofil hücrelerinde H₂O₂'den ve klorit iyonundan (Cl⁻) oluşur [39]. HOCl'den demir iyonu bağımlı veya demir iyonundan bağımsız olarak bir e⁻ vericisi ile reaksiyonundan hidroksil radikali oluşabilmektedir [40, 41]. Aktive edilmiş nötrofillerden ekstraselüler alana salınan miyeloperoksidaz enzimi, ortamda bulunan H₂O₂'leri HOCl'ye çevirerek LPO'yu, protein oksidasyonunu ve diğer serbest radikal reaksiyonlarını başlatabilir [42].

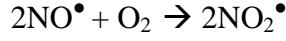


2.2.6. Reaktif Nitrojen Türleri

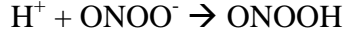
Nitrik oksit organizmada çok farklı görevleri olan kimyasal bir mediatördür. Nitrik oksit (NO[•]) nitrik oksit sentaz enzimi (NOS) tarafından L-arginin aminoasidinden endotel hücrelerinde, sinir hücrelerinde, makrofajlarda, düz kas hücrelerinde ve daha çok çeşitli hücrede sentezlenir. Organizmada vazodilatasyonda, platelet agregasyonunun regülasyonunda ve sinirsel iletimde nörotransmitter olmak üzere bir çok aktivitede görev alır. NO[•] küçük bir molekül olması ve lipofilik özellik taşıması nedeni ile hücre zarından kolaylıkla geçer. Yarı ömrü çok kısa olan NO[•]'nun etkileri lokaldır [43].

NOS'un organizmada iNOS (indüklenebilir NOS), eNOS (endotelial NOS) ve nNOS (nöronal NOS) olmak üzere üç izoformu bulunmaktadır. NOS izoformlarının tümü L-arginininden NO[•] sentezini katalizler. eNOS tarafından sentezlenen NO[•] vazodilatasyonun temel mediatörüdür. nNOS tarafından üretilen NO[•] nöronal sinyal iletiminde rol alır. Fizyolojik süreçte ekspres edilmeyen iNOS inflamatuvar süreçte ekspres edilir ve iNOS tarafından sentezlenen NO[•] hücre sel toksisitede rol alır [44].

NO[•] organizmada O₂ ile reaksiyona girerek nitrite (NO₂⁻), nitrate (NO₃⁻), nitroz okside (N₂O), nitrojen diokside (NO₂[•]) veya O₂²⁻ ile reaksiyona girerek ONOO⁻'ya dönüşebilir. Meydana gelen bu bileşiklerden NO₂⁻ ve NO₃⁻ stabildir, reaktiviteleri azdır. Nitroz oksit (N₂O) kuvvetli bir oksidandır ve NO[•] ile reaksiyona girerek daha zayıf oksidan olan dinitrojen triokside (N₂O₃) dönüşür [45].



ONOO⁻ organizmada protonlanarak peroksinitröz aside (ONOOH) dönüşür. ONOOH parçalanarak ortama kuvvetli oksidan özelliği bulunan NO₂[•], OH[•] veya nitronyum iyonu (NO₂⁺) radikalini meydana getirebilir [46].



NO[•]'nun sistein aminosidine ait tiyol gurubu ile kovalent bağ kurması S-nitrozilasyon olarak isimlendirilir ve proteinlerin posttranslasyonel modifikasyonunda çok önemli bir mekanizmadır [47]. S-nitrozilasyona uğramış bağlar, metal-sistein formunda veya sistein-sistein formunda olabilir [48]. NO[•] metabolitleri üzerinden prooksidan özellik göstermesi ile birlikte geçiş metalleri ile gerçekleştirdiği nitrozilasyon reaksiyonu ile kuvvetli oksidanların ortaya çıkmasını engelleyerek antioksidan özellik de göstermektedir [49].

NO[•]'nun stabil oksidatif metabolitleri olan NO₂⁻'nin konsantrasyonu Griess reaksiyonu ile ve NO₂⁻'ün düzeyi Cortas ve arkadaşlarını metodu ile serumda ölçülerek NO[•] tayini yapılabilmektedir [50].

2.3. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller kimyasal olarak çok aktiftirler ve organizmada lipidler, karbonhidratlar, proteinler ve nükleik asitler ile reaksiyona girerek ilgili molekülün yapısında hasar oluştururlar [22].

Biyolojik sistemlerde poliansatüre yağ asitlerinin (PUVA) serbest radikaller ile oksidasyonuna LPO denmektedir. PUVA'da bulunan metilen bağından (-CH₂-) bir hidrojen atomu (H[•]) koparılması ile LPO başlar. H[•] koparılması ile PUVA'da çift bağ ve çift bağda bulunan karbon atomunda (C) serbestlenmemiş bir e⁻ oluşur. Oluşan bu yapıdan H[•] koparılması kimyasal olarak kolaylaşır ve peroksidasyona daha hassas bir yapı oluşur. Oluşan karbon merkezli yapı konjuge dien oluşturmak için yeniden yapılır ve O₂ ile birleşerek peroksil radikalini (LOO⁻) meydana getirir. LOO⁻ diğer

PUVA'lerden H^\bullet koparacak kadar aktiftir ve bu sayede zincirleme reaksiyon başlar. Zincirleme reaksiyonu durduracak bir antioksidan devreye girmediği veya substrat tükenmediği müddetçe reaksiyon devam eder [21].

LPO aldehid ve karbonil bileşiklerinin meydana gelmesi ile son bulur. Meydana gelen bileşiklerden olan malondialdehitin (MDA) hücre yüzeyinde çapraz bağlanma ve agregasyona neden olması MDA'nın karsinojenik ve mutajenik etkilerini ortaya koyar [51]. MDA düzeyi, MDA'nın tiyobarbitürik asit (TBA) ile 90-95C°'de reaksiyona girerek pembe renkli kromojeni oluşturması ile ölçülebilmektedir [52].

Serbest radikaller, içerdikleri aminoasit kompozisyonlarına bağlı olarak proteinleri oksitlemektedirler. Metiyonin, sistein ve serin gibi kükürt içeren aminoasitler serbest radikallerle etkileşime en duyarlı aminoasitler olmakla birlikte, bu aminoasitlerin serbest radikallerle etkileşmeleri sonucu karbon merkezli serbest radikaller ve sülfür radikalleri meydana gelebilmektedir [35].

İyonize edici ajanlarla oluşan serbest radikaller DNA'nın yapısını bozarak hücre ölümüne veya hücre mutasyonuna neden olabilir [34]. 6-tiyoguanin gibi kanser ilaçları serbest radikaller oluşturup DNA üzerine toksisite göstererek kanser hücrelerini öldürmeyi hedefler [36].

2.4. Antioksidanlar

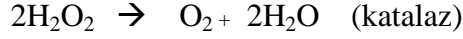
Fizyolojik dozda organizmanın enfeksiyon ajanlarına veya yabancı cisimlere karşı korunmasını sağlayan oksidan ajanlar belirli bir dozu aştıklarında organizmanın yapısını oluşturan proteinleri, lipidleri, karbonhidratları ve DNA'yı oksitleyerek organizmaya zarar verirler [53]. Antioksidanlar organizmada oksidasyona bağlı oluşabilecek zararları önlemekle görevli maddelerdir ve görevlerini oksidan maddelerin ortaya çıkmasını engelleyerek veya ortamdaki oksidan maddeleri etkisizleştirerek yerine getirirler [30].

Antioksidanlar, yapılarına göre enzim olanlar veya enzim olmayanlar, görev yaptıkları yere göre hücre içi veya hücre dışı, fonksiyonlarına göre de oksidan maddelerin ortaya çıkmasını engelleyenler veya oksidan maddeleri etkisiz hale getirenler olarak sınıflandırılabilirler [30, 34, 40, 54].

2.4.1. Enzim Antioksidanlar

2.4.1.1. Katalaz (CAT)

CAT hücrede sitozolde ve peroksizomlarda bulunan, H_2O_2 'i H_2O ve O_2 'ye çeviren reaksiyonu katalizleyen, HEM grubu içeren bir enzimdir [21, 35].

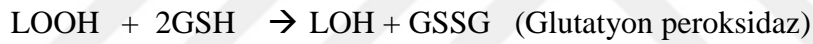


2.4.1.2. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px sitoplazmada bulunan, tetramerik yapıda, H_2O_2 'i H_2O 'ya çeviren ve selenyum içeren bir enzimdir. GSH-Px katalizlediği reaksiyonlarda glutatyonu (GSH) proton vericisi olarak kullanır ve bu reaksiyonlarda GSH yükseltgenmiş glutatyona (GSSG) dönüştür [55].

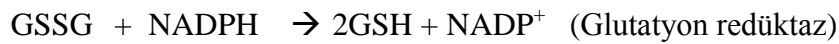


GSH-Px lipid peroksitleri alkole indirgeyerek lipid peroksidasyonunu sonlandıran reaksiyonu katalizler [56].



2.4.1.3. Glutatyon Redüktaz (GSSG-Rd)

GSSG-Rd sitoplazmada ve mitokondride bulunan, GSH-Px tarafından katalizlenen reaksiyonlarda ortaya çıkan GSSG'leri GSH'a indirgeme reaksiyonunu katalizleyen enzimdir [57].



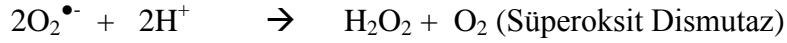
2.4.1.4. Sitokrom Oksidaz

Sitokrom Oksidaz mitokondride bulunan, e^- transport zincirinin (ETZ) son basamağında $O_2^{\bullet-}$ 'nin H_2O 'ya dönüşüm reaksiyonunu katalizleyen enzimdir ve $O_2^{\bullet-}$ 'nin çok daha oksidan OH^{\bullet} radikaline dönüşmesini engeller [58].



2.4.1.5. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD, metalloprotein yapısında; sitoplazmada, mitokondride ve hücre dışı alanda farklı izoenzimleri bulunan, $O_2^{\bullet-}$ 'nin H_2O_2 ve O_2 ye dönüşüm reaksiyonunu katalizleyen enzimdir ve $O_2^{\bullet-}$ 'nin çok daha oksidan OH^{\bullet} radikaline dönüşmesini engeller [30, 59].



2.4.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar

2.4.2.1. Askorbik Asit

Organizmada askorbik asidin başlıca görevleri $O_2^{\bullet-}$ ve OH^{\bullet} radikalleri ile reaksiyona girerek bu oksidanların etkisini kaldırmak ile oksidan tokoferoksil radikalini, α -tokoferole dönüştürerek tokoferoksil radikalinin etkisini kaldırmaktır. Askorbik asit bu reaksiyonları sürekli dehidroaskorbik aside ve tekrar askorbik asite dönüşerek yerine getirir [35, 60].

2.4.2.2. β -karoten (A Vitamini öncülü)

β -karoten organizmada A vitamininin öncül maddesidir ve OH^{\bullet} , $O_2^{\bullet-}$ ve singlet oksijen gibi serbest radikallerin etkilerini azaltarak antioksidan özellik gösterir [35].

2.4.2.3. α -tokoferol (E Vitamini)

Organizmada α -tokoferolün başlıca görevi hücre zarında bulunan fosfolipidleri $O_2^{\bullet-}$ ve OH^{\bullet} gibi radikallerin oksidan etkilerine karşı korumaktır. α -tokoferol LPO zincirini sonlandırdığı için zincir kırıcı ajan olarak adlandırılır. α -tokoferol, antioksidan etki gösterdiği reaksiyonlarda zayıf radikal tokoferoksil radikaline dönüşse de bu etki askorbik asit, ubikinon ve glutatyon tarafından tersine çevirilir [35, 61, 62].

2.4.2.4. Seruloplazmin

Seruloplazmin serumda bakır taşımakla görevli bir proteindir. Seruloplazmin Fe^{2+} 'i Fe^{3+} 'e okside ederek Fe^{3+} 'ün transferine bağlanmasını sağlar ve Fe^{2+} vasıtası ile üretilebilecek ROS'a karşı koruyucu etki gösterir [63]. Seruloplazmin miyeloperoksidaza spesifik olarak bağlanarak HOCl radikalinin üretimini durdurabilir [63, 64].

2.4.2.5. Haptoglobin

Hemoglobulin molekülü, bulundurduğu HEM grubu ve demir iyonları ile LPO sürecini başlatabilir. Haptoglobulin hemoglobuline bağlanarak antioksidan aktivite gösterir [65].

2.4.2.6. Albumin

Albumin serumda birçok molekülün taşınmasında görev alır. Albumine bağlı olarak taşınan bakır iyonları (Cu^{2+}) oksidan etki gösteremezler. Albumine bağlı olarak taşınan yağ asitleri de peroksidasyondan korunmuşlardır. Ayrıca albumin kuvvetli bir HOCl yakalayıcısıdır [66].

2.4.2.7. Ürik Asit

Ürik asit Cu^{2+} ve Fe^{2+} gibi oksidasyona neden olan iyonlar ile peroksil, alkoksil ve HOCl gibi radikalleri bağlayarak antoksidan özellik gösterir [66].

2.4.2.8. Transferrin

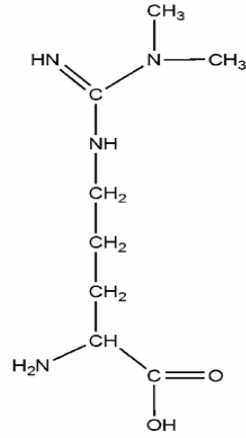
Transferrin serumda Fe^{3+} 'ün taşınmasında görevlidir ve transferine bağlı Fe^{3+} serbest radikal üretimine katkı sağlayamaz [63].

2.4.2.9. Laktoferrin

Laktoferrin organizmada nötrofiller tarafından ortama verilir ve serbest demiri bağlayarak antioksidan özellik gösterir [66].

2.5. Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA)

ADMA kimyasal formülü $\text{C}_8\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2$ olan endojen olarak proteinlerin arjinin rezidülerinin metillenmesi ile meydana gelen stabil bir moleküldür [67]. ADMA stabil bir molekül olması nedeni ile hücreler arası serbestçe dolaşım etkilerini çok farklı yerde gösterebilir. Hücre içinde protein arjinin metiltransferaz enzimi (PRMT I) tarafından sentezlenen ADMA, dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz enzimi (DDAH) ile yıkılır ve idrar ile organizmadan atılır [68]. Protein yıkımı ile sentezi artan ve arjininden NO sentezini yarışmalı olarak inhibe eden ADMA endotel gevşemesini engeller, endotel adhezivitesini artırır ve vazokonstriksiyona bağlı hipertansiyona neden olur [69]. Kronik böbrek yetmezliğinde serum ADMA düzeyi artmaktadır ve gelişen vasküler komplikasyonlardan ADMA sorumlu tutulmaktadır [70].

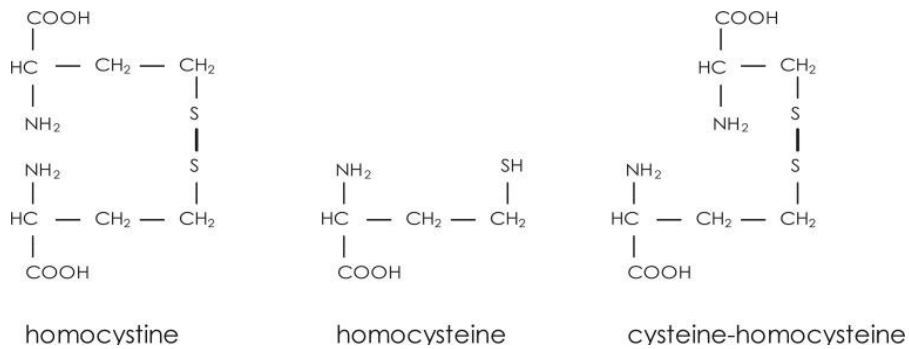


Şekil 1: Asimetrik Dimetil Arjinin

2.6. Homosistein (Hcy)

Hcy metiyoninin sisteine dönüşümü sırasında ortaya çıkan ara ürün bir aminoasittir [71]. Kimyasal formülü $C_4H_9NO_2S$ olan Hcy protein sentezine katılmaz [72]. Hcy, kofaktörü B6 vitamini olan ve transsülfürasyon reaksiyonu gerçekleştiren sistation β sentaz enzimi (CBS) ile sisteine veya kofaktörü B12 vitamini olan ve remetillasyon reaksiyonu gerçekleştiren metiyonin sentaz enzimi (MS) ile metiyonine çevrilebilir [73].

Hiperhomosisteinemi plazma Hcy düzeyinin $15 \mu\text{mol/L}$ 'den yüksek olması durumu olarak tanımlanır [74]. Hcy LPO'ya yol açarak trombosit agregasyonuna ve endotel disfonksiyonuna neden olur [75]. Hcy'nin tromboza neden olan olası mekanizmaları arasında protein C inaktivasyonu, prostasiklin sentez inhibisyonu, Von Willebrand ve Faktör V oluşumu yer almaktadır ve Hcy kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörü olarak değerlendirilmektedir [76].



Şekil 2: Homosistin Homosistein ve Sistein-Homosistein [77]

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

- 1- Otomatik pipetler (20µl, 100µl, 1000µl ve 10-200 µl 8'li otomatik pipet)
- 2- Otomatik pipet uçları
- 3- Cobas e601 kemiluminesans cihazı
- 4- Manyetik Karıştırıcı
- 5- Shaker (IKA-Schuttler MTS 2)
- 6- Vortex (Velp Scientifica)
- 7- pHmetre
- 8- Hassas terazi (Shimadzu AY220)
- 9- Otomatik strip yıkayıcı (Biotek Instruments Inc.)
- 10- Mikro 22R Hettich santrifüj cihazı
- 11- Nüve NF1000R Soğutmalı santrifüj cihazı
- 12- Mikroplate spektrofotometresi (µQuant, Biotec)
- 13- Benmari (Nüve ST402)

3.2. Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

- 1- Dodesil sülfat (Merck)
- 2- Asetik asit % 100 (Merck)
- 3- Sodyum asetat trihidrat (Carlo Erba)
- 4- Tiyobarbiturik asit (TBA) (Merck)
- 5- Tetrametoksiopropan (TMP)(Sigma)
- 6- Vanadyum klorür (VCl₃) (Merck)
- 7- Sodyum nitrat (HI-media)

- 8- Sulfanilamid (Sigma-Aldrich)
- 9- N-(1-Naptil) etilendiamin dihidroklorit (NEDD) (Sigma)
- 10- Hidroklorik asit (Merck)

3.3. Yöntemler

Bu çalışmamızda hasta grubuna Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Polikliniğine veya Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Dahiliye Polikliniğine başvuran yaş ortalamaları $42,5 \pm 13,91$ olan, yeni hipotiroidi tanısı alan ancak daha önce hipotiroidi tanısı veya tedavisi almamış, kronik hastalık veya ilaç kullanım öyküsü olmayan, bilinci açık, koopere, oryante, gebe olmayan, 18 yaşından büyük ve 70 yaşından küçük olan 10 erkek ve 30 kadın olmak üzere 40 hasta dahil edildi. Sağlıklı kontrol grubuna da Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Endokrinoloji Polikliniğine veya Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Dahiliye Polikliniğine başvuran yaş ortalamaları $36,7 \pm 13,27$ olan, daha önce hipotiroidi tanısı veya tedavisi almamış, kronik hastalık veya ilaç kullanım öyküsü olmayan, bilinci açık, koopere, oryante, gebe olmayan, 18 yaşından büyük ve 70 yaşından küçük olan 12 erkek ve 28 kadın olmak üzere 40 sağlıklı kontrol dahil edildi.

Serum TSH düzeyi normal düzeyin ($0,27-4,2 \mu\text{U/mL}$) üzerinde olan ve serum FT₄ düzeyi normal düzeyin ($1-1,6 \text{ ng/dL}$) altında olan hastalar klinik hipotiroidi olarak kabul edildi.

Serum TSH ve FT₄ düzeyi Roche-Cobas otomatik kemiluminesans cihazı ile aynı gün içinde çalışıldı ve çalışılan serum numuneleri -80°C 'de MDA, NO, ADMA ve Hcy düzeyi ölçüleceği güne kadar saklandı. MDA, NO, ADMA ve Hcy düzeyi serum numuneleri -80°C den çıkarılıp oda sıcaklığına getirildikten sonra aynı gün içerisinde çalışıldı.

3.3.1.1. Serum MDA Düzeylerinin Ölçülmesi

Yağı'nin yöntemi modifiye edilerek çalışıldı [78].

Reaktifler:

- 1- % 8,1 w/v, Dodesil Sülfat (DS): 810 mg DS 10 mL distile suda çözüldü.
- 2- %20 v/v, pH 3,5 Asetik Asit (AA) : 14,4 mL AA, 1,84 gr sodyum asetat pH ayarlanarak toplam hacim 80 mL olacak şekilde hazırlandı.
- 3- % 0,53 w/v, Tiyobarbitürik Asit (TBA): 424 mg TBA 80 mL distile su içinde çözüldü.

Standartlar:

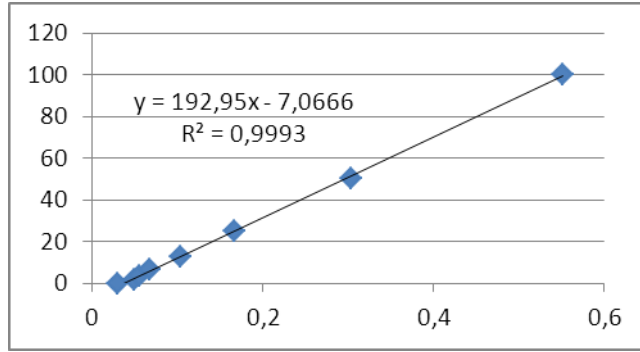
10 µmol/mL standart için 82 µL tetrametoksipropan (TMP), 40 mL distile su ve 40 damla %37 HCl karıştırıldı, distile su ile total hacim 50 mL'ye tamamlandı. Bu standart çözeltiden;

100 nmol/mL, 50 nmol/mL, 25 nmol/mL, 12,5 nmol/mL, 6,25 nmol/mL, 3,125 nmol/mL, 1,5625 nmol/mL seri dilüsyonlar hazırlandı.

Testlerin Çalışılması:

- 1- Vidalı kapaklı cam tüplere 50 µL numuneler ve standartlar pipetledikten sonra tüplere 50 µL DS, 375 µL AA, 375 µL TBA ve 150 µL distile su eklendi. Reaktif körü için bir tüpe 50 µL DS, 375 µL AA, 375 µL TBA ve 200 µL distile su pipetlendi.
- 2- Tüpler karıştırılıp ağızları kapatılarak sıcaklığı 95°C'ye getirilmiş benmaride 1 saat bekletildi.
- 3- Tüpler benmariden çıkarılıp oda sıcaklığına geldikten sonra 3500 rpm de 10 dakika santrifüj edildi.
- 4- Üst fazlardan numune pipetlenerek primer dalga boyu 532 nm, sekonder 700 nm olacak şekilde bikromatik ölçüm yapıldı.

- 5- Standart absorbanlar kullanılarak çizilen grafikten elde edilen formülden numune MDA konsantrasyonları nmol/mL birimi üzerinden hesaplandı.



3.3.1.2. Serum NO Düzeylerinin Ölçülmesi

Miranda ve arkadaşlarının yöntemine göre çalışıldı [79].

Reaktifler:

- 1- 80 mL Etanol
- 2- Vanadyum klorür (VCl_3): 320 mg VCl_3 , 36,68 mL distile su içine eklenip, 3,32 mL %37'lik HCl ile 40 mL'ye tamamlandı.
- 3- %0,1 N-(1-Naphthyl)etilendiamin dihidroklorit (NEDD): 10 mg NEDD 10 mL distile suda çözüldü.
- 4- % 2 Sülfanilamid: 200 mg sülfanilamid, 1,136 ml %37'lik HCl 8,864 mL distile su ile 10 mL çözelti hazırlandı.

Standartlar:

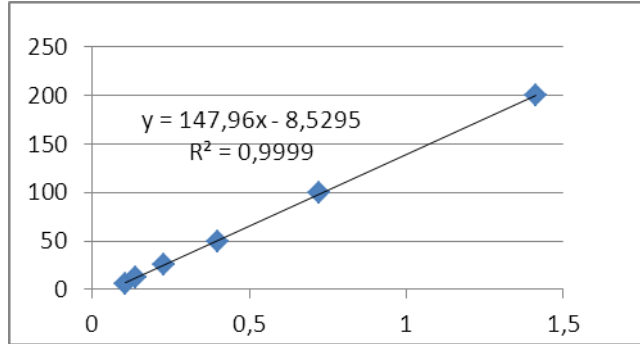
17 mg sodyum nitrat 100 mL distile suda çözülerek 2 mM sodyum nitrat standart çözeltisi hazırlandı. Bu standart çözeltilerden 200 $\mu\text{mol/L}$, 100 $\mu\text{mol/L}$, 50 $\mu\text{mol/L}$, 25 $\mu\text{mol/L}$, 12,5 $\mu\text{mol/L}$, 6,25 $\mu\text{mol/L}$, 3,125 $\mu\text{mol/L}$ olacak şekilde seri dilüsyonlar hazırlandı.

Testlerin Çalışılması:

- 1- Deproteinizasyon: 200 μL serum 600 μL etanol ile eppendorf tüp içinde vortekslendi.
- 2- Eppendorflar $+4^\circ\text{C}$ 'de 3000 g'de 10 dakika santrifüj edildi.

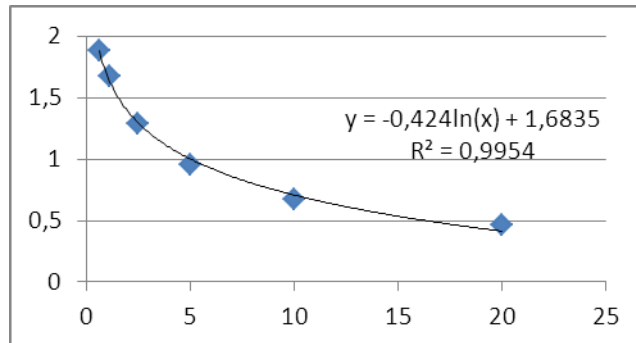
	Analiz	Analiz K�r�
Numune	100�L	100�L
VCl3	100�L	100�L
Sülfanilamid	50�L	-
NEDD	50�L	-
Distile su		100�L

- 3- Deproteinizasyon sonucu oluşan süpernatandan ve standartlardan 100  L analiz ve numune k r  küvetine pipetlendi.
- 4- Her iki küvete 100  L VCl₃ eklendi. 50  L Sülfanilamid ve 50  L NEDD analiz küvetine eklendi. 100  L distile su numune k r  küvetine konu.
- 5- 30 dakika 37 C'de inkübasyon yapıldı.
- 6- 540 nm'de mikroplate okuyucuda absorbands ölümü yapıldı. Analiz absorbandslarından k r absorbandsları çıkarıldı. Standartlar kullanılarak çizilen grafikten elde edilen formülden numune NO konsantrasyonları  mol/L birimi üzerinden hesaplandı.
- 7- Sonuçlar dilüsyon faktörü ile çarpılarak konsantrasyonlar hesaplandı.



3.3.1.3. Serum ADMA Düzeylerinin Ölçülmesi

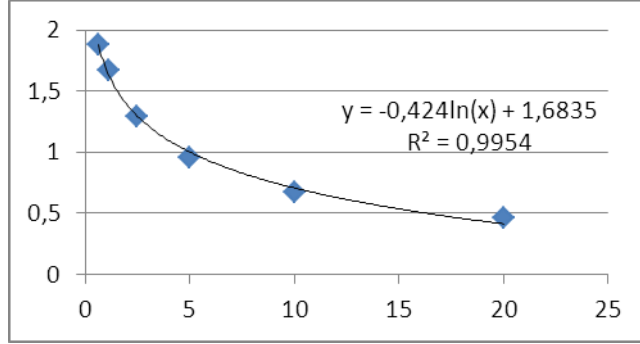
- 1- -80°C sıcaklıkta tutulan serum numuneleri testlerin çalışılacağı gün çıkarılarak oda sıcaklığına getirildi.
- 2- Testler Elabscience marka Human ADMA ELISA kiti ile ELISA-sandwich tekniği kullanılarak çalışıldı.
- 3- Oda sıcaklığına gelen serum örnekleri vorteksenerek homojenize edildikten sonra insan ADMA'ya spesifik antikor içeren 96 kuyucuklu çalışma kitine aktarıldı.
- 4- Kitte bulunan 5µmol/L konsantrasyonundaki standart, standart dilüsyon tamponuyla seri dilüe edildi ve 2,5µmol/L, 1,25µmol/L, 0,625µmol/L, 0,313µmol/L, 0,156µmol/L, 0,078µmol/L ve 0 µmol/L konsantrasyonda standart solüsyonları hazırlandı.
- 5- Kuyucuklara 50µl standart, çalışma veya kontrol grubu örnekleri konuldu. Reaktif körü olarak ayrılan kuyucuklara 50µl sample diluent koyuldu.
- 6- Kuyucuklara 50 µl biotin solüsyonu koyuldu ve kuyucuklar 37°C sıcaklıkta 45 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 7- Kuyucuklar hazırlanan yıkama solüsyonu ile otomatik ELISA plate yıkayıcısı (ELX50, BIO-TEK Instruments) ile 3 kez yıkandı.
- 8- Kuyucuklara 100µl HRP-konjugat solüsyonu koyuldu ve kuyucuklar üzerleri kapatılarak 37°C sıcaklıkta 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 9- Kuyucuklar hazırlanan yıkama solüsyonu ile ELISA plate yıkayıcısı (ELX50, BIO-TEK Instruments) ile 3 kez yıkandı.
- 10- Kuyucuklara 90µl substrat solüsyonu koyuldu ve kuyucuklar üzerleri kapatılarak 37°C sıcaklıkta 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 11- Kuyucuklara 50µl stop solüsyonu koyuldu.
- 12- Kuyucuklar 450 nm dalga boyunda okundu ve çizilen standart grafiğinden elde edilen formülden numune ADMA konsantrasyonları hesaplandı.



3.3.1.4. Serum Hcy Düzeylerinin Ölçülmesi

- 1- -80°C sıcaklıkta tutulan serum numuneleri testlerin çalışılacağı gün çıkarılarak oda sıcaklığına getirildi.
- 2- Testler Elabscience marka Human Homocystein ELISA kiti ile ELISA-sandwich tekniği kullanılarak çalışıldı.
- 3- Oda sıcaklığına gelen serum örnekleri vorteksenerek homojenize edildikten sonra İnsan Hcy'ye spesifik antikor içeren 96 kuyucuklu çalışma kitine aktarıldı.
- 4- Kitte bulunan 40 µmol/L konsantrasyonundaki standart, standart dilüsyon tamponuyla seri dilüe edildi ve 20 µmol/L, 10 µmol/L, 5 µmol/L, 2,5 µmol/L, 1,25 µmol/L, 0,625 µmol/L ve 0 µmol/L konsantrasyonda standart solüsyonları hazırlandı.
- 5- Kuyucuklara 100µl standart, çalışma veya kontrol grubu örnekleri konuldu. Reaktif körü olarak ayrılan kuyucuklara 100µl sample diluent koyuldu. Kuyucuklar üzerleri kapatılarak karıştırıcıda bir süre karıştırıldıktan sonra 37°C sıcaklıkta 90 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 6- Kuyucuklardaki sıvılar aspire edildi, kuyucuklara 100µl biotin solüsyonu koyuldu ve kuyucuklar 37°C sıcaklıkta 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 7- Kuyucuklar hazırlanan yıkama solüsyonu ile otomatik ELISA plate yıkayıcısı (ELX50, BIO-TEK Instruments) ile 5 kez yıkandı.
- 8- Kuyucuklara 100µl HRP-konjugat solüsyonu koyuldu ve kuyucuklar üzerleri kapatılarak 37°C sıcaklıkta 30 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 9- Kuyucuklar hazırlanan yıkama solüsyonu ile ELISA plate yıkayıcısı (ELX50, BIO-TEK Instruments) ile 5 kez yıkandı.
- 10- Kuyucuklara 90µl substrat solüsyonu koyuldu ve kuyucuklar üzerleri kapatılarak 37°C sıcaklıkta 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- 11- Kuyucuklara 50µl stop solüsyonu koyuldu.

12- Kuyucuklar 450 nm dalga boyunda okundu ve çizilen standart grafiğinden elde edilen formülden numune Hcy konsantrasyonları hesaplandı.



3.4. İstatistiksel İncelemeler

Verilerin istatistiksel analizi SPSS 11 programı ile yapıldı. İki grup arasındaki farklılıklar Independent-Samples T testi, Mann-Whitney U testi ve Chi-square testi ile analiz edildi. Parametreler arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde Pearson's Correlation testi kullanıldı. $p < 0,05$ olan analiz sonuçları istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışma grubuna yaş ortalaması $42,5 \pm 13,91$ olan 40 (10 erkek ve 30 kadın) hipotiroidi hastası ve yaş ortalaması $36,7 \pm 13,27$ olan 40 (12 erkek ve 28 kadın) sağlıklı olmak üzere toplam 80 kişi alındı.

Tablo 2: Çalışma grubunun yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımları

	Cinsiyet		Yaş (SD)
	E	K	
Hipotiroidi Hasta (n:40)	10 (%25)	30 (%75)	42,5 (13,91)
Sağlıklı kontrol (n:40)	12 (%30)	28 (%70)	36,7 (13,27)

$p > 0,05$ (ki-kare testi)

Her iki grup arasında yaş açısından anlamlı fark yoktu. ($p=0,06$).

Her iki grup arasında cinsiyet açısından anlamlı fark yoktu. ($p=0,616$).

Tablo 3: Hipotiroidi Hasta ve Sağlıklı Kontrol TSH, FT₄, ADMA, Hcy, MDA ve NO (ort±SD)

	TSH (μ U/mL)	FT₄ (ng/dL)	ADMA (μ mol/L)	Hcy (μ mol/L)	MDA (nmol/mL)	NO (μ mol/L)
Hipotiroidi Hasta (n:40)	18,269* ±28,345 med:7,45 min:4,24 max:100	0,815* ±0,207 med:0,855 min:0,023 max:0,984	0,405 ±0,179 med:0,342 min:0,187 max:0,869	11,47 ±8,52 med:9,1 min:6,46 max:59	19,86* ±24,06 med:10,49 min:1,42 max:98,48	26,27 ±15,21 med:21,32 min:11,01 max:73,7
Sağlıklı Kontrol (n:40)	1,7132* ±0,808 med:1,53 min:0,57 max:4,03	1,22* ±0,16 med:1,23 min:1 max:1,56	0,358 ±0,126 med:0,352 min:0,104 max:0,877	9,74 ±3,37 med:8,69 min:4,17 max:20,4	9,98* ±9,607 med:5,66 min:1,23 max:38	22,02 ±14,17 med:15,06 min:8,18 max:61,4

*: Hipotiroidi hasta grubu sağlıklı kontrol grubundan anlamlı farklı p<0,05

Hipotiroidi hasta grubunun serum TSH düzeyi sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (p=0,001).

Hipotiroidi hasta grubunun serum FT₄ düzeyi sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu (p=0,000).

Hipotiroidi hasta grubunun serum ADMA düzeyi ile sağlıklı kontrol grubunun serum ADMA düzeyi arasında istatistiksel fark bulunmadı (p=0,188).

Hipotiroidi hasta grubunun serum Hcy düzeyi ile sağlıklı kontrol grubunun serum Hcy düzeyi arasında istatistiksel fark bulunmadı (p=0,235).

Hipotiroidi hasta grubunun serum MDA düzeyi sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (p=0,02).

Hipotiroidi hasta grubunun serum NO düzeyi ile sağlıklı kontrol grubunun serum NO düzeyi arasında istatistiksel fark bulunmadı (p=0,201).

Tablo 4: Hipotiroidi Hasta Grubu YAŞ, TSH, FT4, ADMA, Hcy, MDA ve NO korelasyonları

		YAŞ	TSH	FT4	ADMA	Hcy	MDA	NO
YAŞ	r	-	0,115	-0,162	-0,125	0,368	0,029	0,198
	p	-	0,48	0,317	0,442	<u>0,02*</u>	0,86	0,22
TSH	r	0,115	-	-0,852	-0,213	0,042	-0,128	0,133
	p	0,48	-	<u>3,2E-12*</u>	0,186	0,797	0,431	0,414
FT4	r	-0,162	-0,852	-	0,141	0,051	0,059	-0,209
	p	0,317	<u>3,2E-12*</u>	-	0,386	0,755	0,718	0,195
ADMA	r	-0,125	-0,213	0,141	-	-0,157	0,101	-0,009
	p	0,442	0,186	0,386	-	0,335	0,537	0,955
Hcy	r	0,368	0,042	0,051	-0,157	-	-0,19	-0,144
	p	<u>0,02*</u>	0,797	0,755	0,335	-	0,242	0,377
MDA	r	0,029	-0,128	0,059	0,101	-0,19	-	0,117
	p	0,86	0,431	0,718	0,537	0,242	-	0,471
NO	r	0,198	0,133	-0,209	-0,009	-0,144	0,117	-
	p	0,22	0,414	0,195	0,955	0,377	0,471	-

*: $p < 0,05$ düzeyinde belirgin korelasyon mevcut.

Hipotiroidi hasta grubunun serum TSH düzeyi ile serum FT4 düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon bulundu ($p=3,24E-12$) ($r= -0,852$).

Hipotiroidi hasta grubunun YAŞ düzeyi ile serum Hcy düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon bulundu ($p=0,02$) ($r=0,368$).

Tablo 5: Sağlıklı Kontrol Grubu YAŞ, TSH, FT₄, ADMA, Hcy, MDA ve NO korelasyonları

		YAŞ	TSH	FT₄	ADMA	Hcy	MDA	NO
YAŞ	r	-	0,015	0,09	-0,06	0,187	0,209	0,056
	p	-	0,925	0,58	0,714	0,25	0,195	0,734
TSH	r	0,015	-	-0,063	0,152	-0,039	-0,047	0,194
	p	0,925	-	0,701	0,35	0,814	0,773	0,23
FT₄	r	0,09	-0,063	-	-0,088	-0,2	-0,016	0,015
	p	0,58	0,701	-	0,59	0,217	0,922	0,926
ADMA	r	-0,06	0,152	-0,088	-	0,138	-0,03	0,09
	p	0,714	0,35	0,59	-	0,394	0,858	0,582
Hcy	r	0,187	-0,039	-0,2	0,138	-	-0,186	-0,044
	p	0,25	0,814	0,217	0,394	-	0,252	0,787
MDA	r	0,209	-0,047	-0,016	-0,03	-0,186	-	0,374
	p	0,195	0,773	0,922	0,858	0,252	-	<u>0,018*</u>
NO	r	0,056	0,194	0,015	0,09	-0,044	0,374	-
	p	0,734	0,23	0,926	0,582	0,787	<u>0,018*</u>	-

*: p<0,05 düzeyinde belirgin korelasyon mevcut.

Sağlıklı kontrol grubunun serum MDA düzeyi ile serum NO düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif korelasyon bulundu.

(p=0,018)(r=0,374).

Tablo 6: Serum TSH düzeyi >12,6 olan Hipotiroidi Hasta Grubu ve serum TSH düzeyi <12,6 olan Hipotiroidi Hasta Grubu YAŞ, TSH, FT₄, ADMA, Hcy, MDA ve NO (ort±SD)

	YAŞ	TSH (µU/mL)	FT ₄ (ng/dL)	ADMA (µmol/L)	Hcy (µmol/L)	MDA (nmol/mL)	NO (µmol/L)
Hipotiroidi Hasta TSH<12,6 (n:30)	41,6 ±14,833 med:41 min:19 max:67	6,755* ±2,091 med:5,92 min:4,24 max:12	0,89* ±0,072 med:0,925 min:0,743 max:0,984	0,433* ±0,184 med:0,362 min:0,242 max:0,869	11,233 ±9,32 med:9,33 min:6,55 max:59	21,121 ±24,149 med:11,05 min:1,42 max:98,48	23,745* ±13,49 med:19,27 min:11,01 max:63,12
Hipotiroidi Hasta TSH>12,6 (n:10)	45,2 ±10,901 med:43 min:33 max:68	52,81* ±41,22 med:31,38 min:13,73 max:100	0,589* ±0,307 med:0,708 min:0,023 max:0,91	0,319* ±0,136 med:0,287 min:0,187 max:0,664	12,056 ±5,82 med:10,4 min:6,46 max:26	16,101 ±24,666 med:8,66 min:4,18 max:85,4	33,853* ±17,984 med:29,51 min:12,04 max:73,7

*: TSH düzeyi<12,6 olan hipotiroidi hasta grubu TSH düzeyi>12,6 olan hipotiroidi hasta grubundan anlamlı farklı p<0,05

Serum TSH düzeyi<12,6 olan hipotiroidi hasta grubunun YAŞ düzeyi ile serum TSH düzeyi >12,6 olan hipotiroidi hasta grubu YAŞ düzeyi arasında istatistiksel fark bulunmadı (p=0,552).

Serum TSH düzeyi<12,6 olan hipotiroidi hasta grubunun serum TSH düzeyi serum TSH düzeyi >12,6 olan hipotiroidi hasta grubunun serum TSH düzeyinden istatistiksel olarak düşük bulundu (p=2,757E-06).

Serum TSH düzeyi<12,6 olan hipotiroidi hasta grubunun FT₄ düzeyi serum TSH düzeyi >12,6 olan hipotiroidi hasta grubunun serum FT₄ düzeyinden istatistiksel olarak yüksek bulundu (p= 0,000157).

Serum TSH düzeyi<12,6 olan hipotiroidi hasta grubunun serum ADMA düzeyi serum TSH düzeyi >12,6 olan hipotiroidi hasta grubunun serum ADMA düzeyinden istatistiksel olarak yüksek bulundu (p=0,01482).

Serum TSH düzeyi<12,6 olan hipotiroidi hasta grubunun serum Hcy düzeyi ile serum TSH düzeyi >12,6 olan hipotiroidi hasta grubu serum Hcy düzeyi arasında istatistiksel fark bulunmadı (p=0,521).

Serum TSH düzeyi<12,6 olan hipotiroidi hasta grubunun serum MDA düzeyi ile serum TSH düzeyi >12,6 olan hipotiroidi hasta grubu serum MDA düzeyi arasında istatistiksel fark bulunmadı (p=0,211).

Serum TSH düzeyi<12,6 olan hipotiroidi hasta grubunun serum NO düzeyi serum TSH düzeyi >12,6 olan hipotiroidi hasta grubunun serum NO düzeyinden istatistiksel olarak düşük bulundu (p=0,036).

5. TARTIŞMA

İnsan organizmasında bazal metabolik hızın ve enerji tüketiminin artırılması, esas olarak tiroid hormonları ile düzenlenir. Oksijenli solunumun insan organizmasında enerji üretiminde ana yol olduğu ve bu yol sırasında ROS meydana geldiği düşünüldüğünde, bu mekanizmayı düzenleyen tiroid hormon düzeyi oksidatif stresle ilişkilendirilmiştir [12]. Yapılan bazı bilimsel çalışmalarda oksijenli solunumun hızlandığı hipertiroidide, oksidan maddelerin üretim hızının artmasına bağlı oksidatif stresin gelişeceği, tam tersi bir durum olan hipotiroidi durumunda ise oksidan maddelerin ortaya çıkış hızının azalmasına bağlı olarak oksidatif stresin azalacağı yönünde sonuçlar elde edilmiştir. Buna karşıt sonuçlar ortaya koyan bilimsel çalışmalar da literatürde mevcuttur. Bu bilimsel çalışmalara göre metabolik hızın azaldığı hipotiroidi durumunda organizmada bulunan lipid, karbonhidrat ve kolesterol gibi organizmanın temel bileşenlerini oluşturan unsurların turnover süresinin uzaması oksidasyonun yolunu açmaktadır ve hipotiroidi oksidatif strese neden olmaktadır. Bu görüşü destekleyen nitelikteki yayınlar hipotiroidide antioksidan üretimin azaldığını ve oksidan maddelerin gerek antioksidanlar tarafından gerekse organizmadan boşaltım ve solunum vb, sistemler ile uzaklaştırılmasının azalmasından ötürü oksidatif stresin arttığını belirtmişlerdir.

Venditti ve arkadaşları hipotiroid, hipertiroid ve sağlıklı kontrol ratlarda oksidatif stresi değerlendirmek üzere kas, kalp ve karaciğer dokularında MDA düzeyi çalışmışlardır ve MDA düzeylerini hipertiroid ratların kalp ve karaciğer dokularında hipotiroidi ve sağlıklı kontrol ratların MDA düzeyine göre artmış, kas dokusunda ise sadece hipertiroid ratlarda hipotiroidi ratlara göre yüksek bulmuşlardır. Söz konusu çalışmada sağlıklı kontrol ve hipotiroid grubun arasında MDA düzeyi açısından fark bulunmamıştır. Tiroid hormonunun en önemli özelliklerinden biri oksijenli solunumu hızlandırmasıdır. Tiroid hormonu bu etkisini oksijenli solunumda görev alan komplekslerin sayısını ve aktivitesini artırarak gösterir. Oksijenli solunumun hızlanması sonucu ubikinon kısmında superoksit üretimi artar. Süperoksit kendisinden çok daha oksidan hidroksil radikalinin de içinde bulunduğu serbest radikallere dönüşerek oksidan stresi artırır. Metabolik yavaşlamanın ön planda olduğu hipotiroidide tam tersi bir durum beklenebilir fakat hipotiroidide azalmış antioksidan üretimi oksidan-antioksidan

dengeini bozarak oksidatif stresi artırabilir. Venditti ve arkadaşlarının çalışmasında antioksidan sistemin tamamı göz önüne alındığında her iki hipotiroid ve hipertiroid durumunda antioksidan kapasitenin birbirinden ayrı ve bağımsız komponentlerinin azalması nedeni ile antioksidan kapasite ötiroid durumuna göre azalmış olarak değerlendirilmiştir [12].

Goudonnet ve arkadaşlarının çalışmasına göre prooksidan olarak etki gösteren ksenobiyotiklerin metabolizmasından sorumlu karaciğerde bulunan mikrozomal P-450 enzim miktarının hipotiroid ratlarda arttığı ve hipotiroidide bu sayede antioksidan etki sağlandığı gösterilmiştir [80].

Tiroid hormonları Vitamin A, Vitamin E, β -karoten gibi antioksidan vitaminlerin sentezinin ve yıkımının düzenlenmesi ile birlikte antioksidan enzimlerin düzeyinin düzenlenmesinde önemli rol oynar. Serum lipid ve kolesterol düzeyleri hipotiroidide ötiroid ve hipertiroid duruma göre belirgin olarak yüksektir. LDL kolesterol reseptörlerinin azaldığı hipotiroidide serumda dolaşan LDL'nin ömrü uzar ve LDL oksidasyona daha açık hale gelir. Constantini ve arkadaşlarının çalışmasında hipotiroid hastalarda kolesterol düzeyi normal olan kontrollere göre artmış lipid peroksidasyonu gözlenmiştir [5]. Bizim çalışmamızda bulduğumuz hipotiroid hastalarda sağlıklı kontrollere göre artmış serum MDA düzeyi bu çalışmayla uyumludur.

Nedrebo ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada hipotiroid hastaların serum kreatinin (Cr) düzeyi sağlıklı kontrollere ve hipertiroid hastalara göre istatistiksel olarak yüksek, hipertiroid hastaların ise serum Cr düzeyi sağlıklı kontrollere göre düşük bulunmuştur. Bu çalışmada hipotiroid hastaların serum Hcy düzeyi yüksek olarak bulunmuş ve bu durum çok değişkenli analizlerde serum Cr yüksekliği ile açıklanamamıştır ve Hcy yüksekliği hipotiroid hastalarda bağımsız bir kardiyovasküler risk faktörü olarak değerlendirilmiştir [81]. Biz çalışmamızda hipotiroidi hastalarının serum Hcy düzeyini sağlıklı kontrollere göre istatistiksel olarak anlamsız bulduk fakat hipotiroidi hastalarının serum Hcy düzeyinin yaşla birlikte istatistiksel olarak arttığını tespit ettik.

Lien, Nedrebo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada tiroid kanseri nedeni ile tiroidektomi geçiren hastaların tiroid hormon tedavisi 6 hafta kesilerek hastalar hipotiroid hale getirilmiş ve bu hastaların plazma Hcy, serum Cr, ve serum kolesterol düzeyi ölçülmüştür ve daha sonra bu hastalar tiroid replasmanı ile ötiroid duruma

getirilerek aynı parametreler tekrar çalışılarak aradaki istatistiksel fark değerlendirilmiştir. Hipotiroid hale getirilmiş bu hastaların serum Cr, serum Hcy ve serum kolesterol düzeyi birbirine paralel ve sürekli olarak artmış, tiroid replasmanı ile bu değerler hızla en baştaki değerlerine geri dönmüştür. Tiroid hormonları kardiyojenik ajanlardır ve kardiyak outputu artırıp sistemik direnci azaltarak renal kan akımını artırır. Bu çalışmaya göre hipotiroidi nedeniyle artmış kas kitlesinden Hcy ve Cr üretiminin artması 6 haftada olası görünmemektedir ve hipotiroidi hastalarının böbrek fonksiyonlarının azalması sonucu Hcy klerensinin azalması, serum Hcy düzeyinin yükselmesinin olası nedenidir. Kolesterol düzeyi değişikliklerinin de olası nedeni tiroid hormonlarının kolesterol metabolizmasını artırma yönündeki rolü olabilir [82]. Diekman ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ötiroid hale getirilen hipertiroid hastaların serum Cr ve Hcy düzeyi artmış, ötiroid hale getirilen hipotiroid hastaların ise serum Cr ve Hcy düzeyi azalmıştır [83]. Hiperhomosisteinemi serum Hcy düzeyinin 15 µmol/L düzeyinin üzerinde olması durumudur. Hiperhomosisteinemi genetik defektlerden, böbrek yetmezliğinden veya B12 vitamini, folik asit eksikliği gibi nedenlerden kaynaklanabilir. Hcy düzeyinin artışının yapılan bazı araştırmalarda endotel bağımlı vazomotor yanıtı bozarak kan damarlarının fonksiyonlarını bozduğu gösterilmiştir ve bu durum Hcy düzeyinin artışının ateroskleroza başlatmaktan ziyade aterosklerozun komplikasyonlarını artırdığını ortaya koymuştur [74].

Bakker ve arkadaşları yaptıkları çalışmada serum tiroid homon düzeyinin LDL düzeyini insülin direncinden bağımsız olarak düşürdüğünü belirtmişlerdir. Tiroid hormonlarının karaciğer üzerinde kolesterol sentezini artırıcı etkisi mevcuttur fakat bu etki tiroid hormonlarının karaciğer ve periferik LDL reseptörlerinin sayısını artırarak LDL klerensini artırmasıyla tersine çevrilir, net etki serum kolesterolünü azaltma yönündedir [84]. Tanis ve arkadaşlarının yaptığı çalışma bu görüşü destekler nitelikte tiroid hormon replasmanının serum TG düzeyini HDL düzeyini etkilemeden belirgin düşürdüğünü ortaya koymuştur [85]. Bakker ve arkadaşlarına göre yapılacak daha büyük saha çalışmaları, normal TSH düzeyi hedeflenmesinden ziyade normal TSH düzeyi aralığının içinde en düşük TSH düzeyinin hedeflenmesinin daha doğru olacağı şeklindedir [84].

L-argininden sentezlenen NO, endotel bağımlı gevşeme faktörünün güçlü vazodilatasyon etkisinden sorumludur. Endojen sentezlenen ADMA, NOS enziminin güçlü bir inhibitörüdür. Hermenedilgo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada serum

NO düzeyi hipertiroid hastalarda hipotiroid hastalardan ve normal sağlıklı kontrollerden belirgin olarak düşük, bununla beraber serum ADMA düzeyi hipertiroid hastalarda hipotiroid ve normal sağlıklı kontrollerden belirgin olarak yüksek olarak bulunmuştur. Hipertiroidide yükselen serum ADMA düzeyinin serum NO düzeyini baskıladığı düşünülmüştür ve bu ilişkiyi incelemek için yapılan korelasyon analizlerinde istatistiksel olarak serum T₄ düzeyi ile serum ADMA düzeyinin doğru orantılı ($p<0,001$ $r=0,6$), serum T₄ düzeyi ile serum NO düzeyinin ise ters orantılı ($p<0,005$ $r=0,31$) olduğu tespit edilmiştir. Hipotiroid hastalar ile sağlıklı kontrol hastalar arasında serum ADMA ve NO düzeyi arasında istatistiksel bir farka rastlanmamıştır. Yüksek ADMA düzeyinin olası nedenleri arasında azalmış renal atılım, artmış sentez veya azalmış yıkım gösterilebilir. Hermenedilgo ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada gruplar arası serum Cr değeri arasında istatistiksel bir fark olmaması dolayısı ile serum ADMA düzeyinin yüksekliği sentez veya degradasyona bağlanmıştır. Var olan kanıtlara göre ADMA argininin metillenmesinden daha çok metile proteinlerin yıkımı sonucu oluşur. Tiroid hormonlarının PRMT I enzim aktivitesini artırıp, DDAH enzim aktivitesini azaltarak serum ADMA düzeyini yükselttikleri iddia edilebilir [86].

Biz çalışmamızda hipotiroidi hastaları ile sağlıklı kontroller arasında serum NO ve ADMA düzeyi arasında istatistiksel fark tespit etmedik fakat serum TSH düzeyleri, üst sınır olarak kabul ettiğimiz 4,2 $\mu\text{U/mL}$ düzeyinin 3 katı olan 12,6 $\mu\text{U/mL}$ düzeyinin üzerinde bulunan ileri hipotiroidi hastalarında hipotiroid hastalarına göre istatistiksel olarak anlamlı serum ADMA düzeyi düşüklüğü ve anlamlı serum NO düzeyi yüksekliği tespit ettik.

İn vitro çalışmalarda T₄'ün apoprotein B'ye spesifik olarak bağlandığı ve LDL'yi oksidasyondan koruduğu gösterilmiştir [87]. Bizim çalışmamızda hipotiroid hastaların serum MDA düzeyinin sağlıklı kontrollerden yüksek olması bu bilgi ile uyumludur.

Hipotiroidide arteriyel diyastolik kan basıncının atması ve hiperkoagülabiliteye yatkınlık da kardiyovasküler riskleri artırmaktadır [88].

LDL reseptörlerinin T₃ hormon bağlama bölgesi bulunur, tiroid hormonları ile sayıları ve aktiviteleri artırılır. Tiroid hormonları kolesterol ester transferaz enzimini (CETP) aktive ederek HDL den VLDL ye kolesterol esteri, VLDL'den HDL'ye TG transferini sağlar ve lipoprotein lipaz enzimi ile TG içeriği zengin lipoproteinler olan

şilomikronları (CM) ve VLDL'yi yıkar ve ortamdan uzaklaştırır. Hipotiroidide azalmış CETP aktivitesi ile serum HDL düzeyi artışı ve azalmış hepatik trigliserit lipaz (HTGL) aktivitesi ile TG içeriği zengin CM ve VLDL artışı görülür. Aynı zamanda tiroid hormonları hücre çekirdeğinde tiroid hormon bağlanma bölgesine bağlanarak sterol düzenleyici bağlayıcı protein (SREBP-2) sentezini artırır. SREBP-2 LDL reseptör up-regulasyonundan sorumludur ve hipotiroidi de azalmış SREBP-2 sentezi LDL reseptörlerinin sayısının azalmasına dolayısı ile artmış serum LDL, IDL ve VLDL düzeyine neden olur. Liberopoulos ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada levotiroksin (LT₄) tedavisinin hipotiroidi hastalarında görülen bu serum lipid düzeyi bozukluklarını düzelttiği vurgulanmıştır [89]. Muğı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bu verilerle uyumlu olarak hipotiroidi hastalarının serum ApoB-48 düzeyi hipertiroid ve normal kontrollerden belirgin yüksek olarak bulunmuştur. ApoB-48 proteini CM ve CM kalıntılarında (CMR) bulunur. Organizmada CMR birikmesi ateroskleroz plağının oluşması ile ilişkilendirilmiştir ve bu nedenle serum ApoB-48 düzeyi ölçülmesi kardiyovasküler risk düzeyini ortaya koyabilir [8].

Singh ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tedavi öncesi hipotiroid hastaların serum TG, TC, LDL, MDA ve Hcy düzeyinin sağlıklı kontrol gruba göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek, serum HDL düzeyi ise sağlıklı kontrol gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur [20]. Carantoni ve arkadaşlarının çalışmasında da hipotiroidi hastalarında serum HDL düzeyi düşük bulunmuştur [90]. Wang ve arkadaşlarının sublinik hipotiroid, sublinik hipertiroid ve ötiroid hasta grupları ile yaptığı çalışmada serum TSH düzeyi ile serum HDL düzeyi arasında korelasyon tespit edilmemiştir [16]. Bilimsel çalışmalar hipotiroidi hastalarında serum HDL düzeyi üzerinde çok çelişkili sonuçlar ortaya koymaktadır.

Yılmaz ve arkadaşları yaptıkları çalışmada deneysel olarak hipotiroidi haline getirilmiş ratlarda MDA düzeyini karaciğerde kontrol grubuna göre artmış, kalp ve beyin dokusunda ise azalmış olarak tespit etmişlerdir. Bu çalışmada kontrol grubunun MDA düzeyinin yaşlanma ile birlikte böbrek, kas ve tiroid dokusunda değişmediği, beyin, timüs ve kalp dokusunda arttığı, karaciğer ve plazmada ise azaldığı rapor edilmiştir [15].

Oge ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tedavi öncesi hipertiroid ve hipotiroid hastaların LDL'lerinde dien miktarının yüksek olduğunu, her iki grubun ötiroid hale getirilmesi ile bu düzeylerin mormale döndüğü ve her iki hipotiroid ve hipertiroid

durumun da LDL oksidasyonuna bağlı kardiyak hastalık riskini artırabileceği rapor edilmiştir [91].

Çetinkaya ve arkadaşlarının yaptıđı çalıřmada subklinik hipertiroidi hastalarının serum MDA ve SOD düzeyi normal kontrol gruba göre yüksek bulunmuř, SOD yüksekliđinin organizmanın artan oksidatif strese karřı korunma amaçlı gerçekleřtirdiđi dűřünűlműřtir [92].

Yapılan bilimsel çalışmalarda hipertiroidinin neden olduğu kardiyak output artışının endotel üzerinde oluşturduğu stres artmış NO üretimine sebep olmaktadır, hipotiroidide tam tersi bir durum söz konusudur. Tiroid hormonlarının NOS sentezini nongenomik olarak artırması faktörlerden biri olarak değerlendirilebilir. Tiroid hormon bozukluklarının böbrek fonksiyonları, su ve tuz metabolizması üzerine etkileri vardır. Hipotiroidide artmış su ve tuz atılımı sonucu azalmış tuz ve su tutulumu görülür. Hipotiroidinin deneysel arteryal hipertansiyondan koruyucu etkisi bu şekilde açıklanabilir [11].

Literatürdeki çalışmalarda hipotiroidinin serum NO ve ADMA düzeyi ile ilişkisinde birbirine zıt sonuçlar mevcuttur. Arıkan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hipotiroid ve hipertiroid hasta grubunun ikisinde de normal kontrol grubuna göre serum ADMA düzeyinin arttığı ve hipertiroid hastaların serum ADMA düzeyinin yaşla birlikte arttığı tespit edilmiştir [69].

Çakal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada subklinik hipotiroid ve belirgin hipotiroid hastaların tedavi öncesi ve sonrası plazma Hcy düzeyi çalışılmış, subklinik hipotiroid hastaların ve sağlıklı kontrollerin plazma Hcy düzeyi benzer çıkarken, belirgin hipotiroid hastaların plazma Hcy düzeyi sağlıklı kontrollerden yüksek çıkmıştır ve hipotiroid hastaların plazma Hcy düzeyleri LT₄ tedavisi ile dűřműřtür [93]. Orzechowska-Pawilojc ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tedavi öncesi hipotiroid hastalarının serum Hcy düzeyi sağlıklı kontrole göre yüksek fakat istatistiksel olarak anlamsız çıkmıştır ve hipotiroidi hastalarının serum Hcy düzeylerinin LT₄ tedavisi ile dűřtűđü gösterilmiştir [94]. Bu alışma sonuçları bizim çalışmamızla uyumludur.

Turhan ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada subklinik hipotiroidi hastalarının serum Hcy düzeyini sağlıklı kontrollerden istatistiksel olarak anlamsız bulunmuş ve subklinik hipotiroidi hastalarının artmış koroner hastalığı riskinin hiperhomosisteinemiden çok hiperlipidemi nedeni ile olabileceğini belirtilmiştir [95].

Coria ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada serumda tiyobarbitürik asit ile reaksiyona giren maddeler (TBARS) hipotiroid, subklinik hipotiroid ve ötiroid hastalar arasında fark göstermezken, serum NO düzeyi hipotiroid hastalarda subklinik hipotiroid ve ötiroid hastalara nazaran yüksek tespit edilmiştir [96].

Ittermann ve arkadaşları yaptıkları çalışmada subklinik hipotiroid hastaların serum TSH düzeyinin okside LDL/LDL oranını değiştirmediğini tespit etmişlerdir ve serum TSH düzeyinin, LDL oksidasyonundan daha çok LDL'nin üretimini ve klerensini etkilediğini belirtmişlerdir [97].

Okside lipidler çok potent proaterosklerotik mediatördürler [98] ve arter duvarını oluşturan endotel hücrelerinde bir dizi değişikliğe neden olarak, arter duvarına makrofajların ve monositlerin göç etmesi ile birlikte aterosklerozdan sorumlu köpük hücrelerinin oluşumuna neden olurlar [7, 99]. Endotel disfonksiyonu, endotel bağımlı vazodilatasyonun bozulmasına bağlı olarak damar duvarında plak oluşumu ve ilerlemesi ile karakterize bir durumdur ve aterosklerozun erken belirtecidir [100].

Tiroid hormonları β -karotenin A vitaminine dönüşümünü artırıcı etkiye sahiptir. Aktuna ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hipotiroid hastaların serum β -karoten düzeyi ötiroid ve hipertiroid hastalara göre artmış olarak bulunmuştur. Hipotiroid hastalarda artmış serum lipid ömrü ve azalmış serum A vitamini artmış okside lipid düzeyini açıklayabilir [101].

Tejovathi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hipotiroidi hastalarının plazma ADMA ve MDA düzeyleri ötiroid hasta grubundan belirgin yüksek, hipotiroidi hastalarının plazma NO düzeyleri ise ötiroid hasta grubundan belirgin düşük bulunmuştur. Bu çalışmada hipotiroid hastalarında MDA ve ADMA arasında pozitif bir ilişki bulunması, hipotiroidide oksidatif stresin endotel disfonksiyonunda kuvvetli bir etkisi olduğunu düşündürmüştür [10].

Yeni ortaya çıkan veriler vasküler endotelin tiroid hormonlarının hedefi olduğunu ve endotelial NO üretiminin hipertiroidide ortaya çıkan vazodilatasyonda rolü olduğunu göstermektedir. Elde edilen deliller hipotiroidinin lipid peroksidasyonu gibi birçok alanda hipertiroidinin tam tersi bir etki oluşturmadiğını göstermektedir. Bizim çalışmamızda serum NO düzeyinin sağlıklı kontrollerden istatistiksel olarak anlamsız bulunması bu durumlardan biri olarak değerlendirilebilir.

Santi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada serum TBARS düzeyleri subklinik hipotiroid hastalarda kontrol hastalarına göre artmış olarak bulunmakla birlikte subklinik hipotiroid hastaların serum TBARS düzeyinin serum LDL, TSH ve TC düzeyi ile orantılı olarak arttığı tespit edilmiştir. Bu çalışmada TC düzeyleri kontrol alınan subklinik hipotiroid hastaların serum TSH ve TBARS ilişkisinin anlamsız hale gelmesi subklinik hipotiroid hastalarda artmış LPO'nun yüksek serum lipid düzeyi nedeni ile oluştuğunu düşündürmüştür [9].



6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Hipotiroidi hastalarında oksidatif stresi ve endotel disfonksiyonunu değerlendirmek için yaptığımız bu çalışmada çok önemli olduğunun düşündüğümüz verilere ulaştık. Yavaşlayan metabolik hızla birlikte azalmış oksidatif süreci beklenen hipotiroidi bize bu çalışmada tam tersi sonuçlar vermiştir. Hipotiroidide azalan oksidan sürece rağmen, antioksidan sistemin daha fazla azalması, ortaya artan bir oksidan durum çıkarmaktadır.

Hipotiroidi hastalarında serum MDA düzeyinin sağlıklı kontrollere karşı istatistiksel olarak yüksek bulmamız, halihazırda hiperlipidemi nedeni kardiyovasküler riski artırdığı bilinen hipotiroidinin kardiyovasküler sistem riskini çok daha fazla artırdığını bize düşündürmüştür. Hipotiroidide yaşlanmış, okside olmuş ve reseptörleri tarafından tanınamayarak organizmadan eliminasyonu iyice azalmış kolesterol ve lipid ürünleri hipotiroidinin kronik zemininde en önemli risk olarak değerlendirilebilir. Organizmada sistemik kan dolaşımına ihtiyaç duymayan organ veya doku bulunmamaktadır, dolayısı ile sistemik dolaşım üzerine tehdit oluşturan hipotiroidinin tedavisi çok önemlidir ve bu tedavinin düzenlenmesinde tiroid hormonları ile birlikte antioksidan tedavi ve serum lipid düzeyini düşürücü tedavi faydalı olabilir.

Biz bu çalışmada endotel fonksiyonlarının değerlendirilmesi amacı ile çalıştığımız serum NO ve ADMA düzeyi ile bağımsız kardiyovasküler risk faktörü olarak değerlendirilen serum Hcy düzeyini hipotiroidi hastalar ve sağlıklı kontroller arasında anlamsız olarak bulduk. Hipotiroid hastalarının yaşla birlikte Hcy düzeyinin istatistiksel olarak yükseldiğini tespit ettik ve serum TSH düzeyi, normal düzeyin üst sınırı 4,2 $\mu\text{U/mL}$ 'nin 3 katı olan 12,6 $\mu\text{U/mL}$ 'nin üzerindeki hipotiroidi hastalarının serum ADMA düzeyleri diğer hipotiroidi hastaların serum ADMA düzeyine göre istatistiksel olarak düşük, serum NO düzeyleri ise diğer hipotiroidi hastaların serum NO düzeyine göre istatistiksel olarak yüksek bulduk. Bu konuda yapılacak daha geniş saha çalışmaları, değişken özellik gösteren bu parametrelerin daha ayrıntılı değerlendirilmesi için gereklidir.

Bu çalışma ışığında önerilerimiz:

- 1- Hipotiroidi tedavisi, tanı sonrasında ivedilikle başlatılmalıdır.
- 2- Hipotiroidi tedavisinde normal düzey içerisinde en düşük TSH düzeyi hedeflenmelidir.
- 3- Hipotiroidi tedavisinde oksidatif stres düşünülerek antioksidan desteği göz önünde bulundurulmalıdır.
- 4- Hipotiroidi tedavisinde serum lipid düzeylerinde mümkün olan en düşük düzey hedeflenmelidir.
- 5- Hipotiroidi hastlarında serum Lp(a), Hcy düzeyi gibi yeni parametreler rutin olarak değerlendirilmelidir.
- 6- Hipotiroidi üzerine yapılan bilimsel çalışmaların sayısı artırılarak hipotiroidi tanısının ve tedavisinin standartları daha bilimsel olarak belirlenmelidir.
- 7- Hipotiroidi tedavisinde kullanılması önerilen antioksidan tedavinin hipotiroidi tedavisindeki niteliğini ve yerini belirlemek üzere yapılacak bilimsel çalışmalar artırılmalıdır.

7.KAYNAKÇA

1. Burtis, C.A., E.R. Ashwood, and D.E. Bruns, *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 2012: Elsevier Health Sciences.
2. Hollowell, J.G., et al., *Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III)*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002. **87**(2): p. 489-99.
3. Melmed, S. and R.H. Williams, *Williams Textbook of Endocrinology*. 2011: Elsevier/Saunders.
4. al-Adsani, H., L.J. Hoffer, and J.E. Silva, *Resting energy expenditure is sensitive to small dose changes in patients on chronic thyroid hormone replacement*. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997. **82**(4): p. 1118-25.
5. Costantini, F., et al., *Effect of thyroid function on LDL oxidation*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998. **18**(5): p. 732-7.
6. Kutluturk, F., et al., *Changes in metabolic and cardiovascular risk factors before and after treatment in overt hypothyroidism*. *Med Glas (Zenica)*, 2013. **10**(2): p. 348-53.
7. Mishra, P. and L. Samanta, *Oxidative stress and heart failure in altered thyroid States*. *ScientificWorldJournal*, 2012. **2012**: p. 741861.
8. Mugii, S., et al., *Thyroid function influences serum apolipoprotein B-48 levels in patients with thyroid disease*. *J Atheroscler Thromb*, 2012. **19**(10): p. 890-6.
9. Santi, A., et al., *Association of Lipids with Oxidative Stress Biomarkers in Subclinical Hypothyroidism*. *International Journal of Endocrinology*, 2012. **2012**: p. 7.
10. Tejavathi, B., et al., *Association of lipid peroxidation with endothelial dysfunction in patients with overt hypothyroidism*. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2013. **121**(5): p. 306-9.
11. Vargas, F., et al., *Vascular and renal function in experimental thyroid disorders*. *Eur J Endocrinol*, 2006. **154**(2): p. 197-212.
12. Venditti, P., et al., *Effect of thyroid state on lipid peroxidation, antioxidant defences, and susceptibility to oxidative stress in rat tissues*. *J Endocrinol*, 1997. **155**(1): p. 151-7.
13. Vicinanza, R., et al., *Oxidized low-density lipoproteins impair endothelial function by inhibiting non-genomic action of thyroid hormone-mediated nitric oxide production in human endothelial cells*. *Thyroid*, 2013. **23**(2): p. 231-8.
14. Villanueva, I., C. Alva-Sanchez, and J. Pacheco-Rosado, *The role of thyroid hormones as inductors of oxidative stress and neurodegeneration*. *Oxid Med Cell Longev*, 2013. **2013**: p. 218145.
15. Yilmaz, S., et al., *Oxidative damage and antioxidant enzyme activities in experimental hypothyroidism*. *Cell Biochem Funct*, 2003. **21**(4): p. 325-30.
16. Wang, C.Y., T.C. Chang, and M.F. Chen, *Associations between subclinical thyroid disease and metabolic syndrome*. *Endocr J*, 2012. **59**(10): p. 911-7.
17. Pereira, B., et al., *Control of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rat lymphoid organs by thyroid hormones*. *J Endocrinol*, 1994. **140**(1): p. 73-7.
18. Paller, M.S., *Hypothyroidism protects against free radical damage in ischemic acute renal failure*. *Kidney Int*, 1986. **29**(6): p. 1162-6.

19. Brzezińska-Ślebodzińska, E., *Influence of hypothyroidism on lipid peroxidation, erythrocyte resistance and antioxidant plasma properties in rabbits*. Acta Veterinaria Hungarica, 2003. **51**(3): p. 343-351.
20. Singh, S. and P. Dey Sarkar, *Serum lipids, tHcy, hs-CRP, MDA and PON-1 levels in SCH and overt hypothyroidism: effect of treatment*. Acta Biomed, 2014. **85**(2): p. 127-34.
21. Gutteridge, J.M., *Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage*. Clin Chem, 1995. **41**(12 Pt 2): p. 1819-28.
22. Gutteridge, J.M. and B. Halliwell, *Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future*. Ann N Y Acad Sci, 2000. **899**: p. 136-47.
23. Kalyanaraman, B., *Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms*. Redox Biology, 2013. **1**(1): p. 244-257.
24. Mancini, A., et al., *Thyroid hormones and antioxidant systems: focus on oxidative stress in cardiovascular and pulmonary diseases*. Int J Mol Sci, 2013. **14**(12): p. 23893-909.
25. Bhagavan, N.V., *Medical Biochemistry*. 2002: Harcourt/Academic Press.
26. Ha, C.E. and N.V. Bhagavan, *Essentials of Medical Biochemistry: With Clinical Cases*. 2011: Elsevier Science.
27. Harvey, R.A., R.A. Harvey, and D.R. Ferrier, *Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry*. 2011: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins.
28. Yasavul, Ü., et al., *Hacettepe İç Hastalıkları Ders Kitabı*. Hacettepe İç Hastalıkları Ders Kitabı, ed. Ü. Yasavul. 2004, Ankara: Hacettepe Üniversitesi.
29. Longo, D., et al., *<Harrison's Principles of Internal Medicine, 18E (2 Vol Set) 2011 [PDF][Dr.Carson] VRG.pdf>*. 2011, McGraw Hill Professional.
30. Çavdar, C., A. Sifil, and T. Çamsarı, *REAKTİF OKSİJEN PARTİKÜLLERİ VE ANTİOKSİDAN SAVUNMA*. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Nephrology, 1997. **6**(3-4): p. 092-095.
31. Xing, M., *Oxidative stress: a new risk factor for thyroid cancer*. Endocr Relat Cancer, 2012. **19**(1): p. C7-11.
32. Akinci, M., et al., *Oxidant/antioxidant balance in patients with thyroid cancer*. Acta Cir Bras, 2008. **23**(6): p. 551-4.
33. Gutteridge, J.M. and B. Halliwell, *Antioxidants: Molecules, medicines, and myths*. Biochem Biophys Res Commun, 2010. **393**(4): p. 561-4.
34. Cheeseman, K.H. and T.F. Slater, *An introduction to free radical biochemistry*. Br Med Bull, 1993. **49**(3): p. 481-93.
35. Akkuş, İ., *Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri*. 1995, Mimoza: Konya.
36. Peacock, M., et al., *DNA repair inhibition by UVA photoactivated fluoroquinolones and vemurafenib*. Nucleic Acids Res, 2014. **42**(22): p. 13714-22.
37. Chen, H.J., et al., *Response of the nitrenergic system to activation of the neuroendocrine stress axis*. Front Neurosci, 2015. **9**: p. 3.
38. Halliwell, B. and J.M. Gutteridge, *Biologically relevant metal ion-dependent hydroxyl radical generation. An update*. FEBS Lett, 1992. **307**(1): p. 108-12.
39. Thomas, E.L., *Myeloperoxidase, hydrogen peroxide, chloride antimicrobial system: nitrogen-chlorine derivatives of bacterial components in bactericidal action against Escherichia coli*. Infection and Immunity, 1979. **23**(2): p. 522-531.

40. Candeias, L.P., et al., *Free hydroxyl radicals are formed on reaction between the neutrophil-derived species superoxide anion and hypochlorous acid*. FEBS Lett, 1993. **333**(1-2): p. 151-3.
41. Candeias, L.P., M.R. Stratford, and P. Wardman, *Formation of hydroxyl radicals on reaction of hypochlorous acid with ferrocyanide, a model iron(II) complex*. Free Radic Res, 1994. **20**(4): p. 241-9.
42. Panasenکو, O.M., et al., *Generation of free radicals during decomposition of hydroperoxide in the presence of myeloperoxidase or activated neutrophils*. Biochemistry (Mosc), 2005. **70**(9): p. 998-1004.
43. Choudhari, S.K., et al., *Nitric oxide and cancer: a review*. World J Surg Oncol, 2013. **11**: p. 118.
44. Forstermann, U. and W.C. Sessa, *Nitric oxide synthases: regulation and function*. Eur Heart J, 2012. **33**(7): p. 829-37, 837a-837d.
45. Grisham, M.B., D. Jourdain, and D.A. Wink, *Nitric oxide. I. Physiological chemistry of nitric oxide and its metabolites: implications in inflammation*. Am J Physiol, 1999. **276**(2 Pt 1): p. G315-21.
46. Bartosz, G., *Peroxynitrite: mediator of the toxic action of nitric oxide*. Acta Biochim Pol, 1996. **43**(4): p. 645-59.
47. Hess, D.T., et al., *Protein S-nitrosylation: purview and parameters*. Nat Rev Mol Cell Biol, 2005. **6**(2): p. 150-66.
48. Anand, P. and J.S. Stamler, *Enzymatic mechanisms regulating protein S-nitrosylation: implications in health and disease*. Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany), 2012. **90**(3): p. 233-244.
49. Hill, B.G., et al., *What part of NO don't you understand? Some answers to the cardinal questions in nitric oxide biology*. J Biol Chem, 2010. **285**(26): p. 19699-704.
50. Cortas, N.K. and N.W. Wakid, *Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method*. Clin Chem, 1990. **36**(8 Pt 1): p. 1440-3.
51. Freeman, B.A. and J.D. Crapo, *Biology of disease: free radicals and tissue injury*. Lab Invest, 1982. **47**(5): p. 412-26.
52. Esterbauer, H. and K.H. Cheeseman, *Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal*. Methods Enzymol, 1990. **186**: p. 407-21.
53. Sentürker, S., et al., *Oxidative DNA base damage and antioxidant enzyme levels in childhood acute lymphoblastic leukemia*. FEBS Letters, 1997. **416**(3): p. 286-290.
54. Halliwell, B., *Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease*. Am J Med, 1991. **91**(3c): p. 14s-22s.
55. Lubos, E., J. Loscalzo, and D.E. Handy, *Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities*. Antioxid Redox Signal, 2011. **15**(7): p. 1957-97.
56. Mari, M., et al., *Mitochondrial glutathione, a key survival antioxidant*. Antioxid Redox Signal, 2009. **11**(11): p. 2685-700.
57. Peters, L.P., et al., *Differential responses of the antioxidant system of ametryn and clomazone tolerant bacteria*. PLoS One, 2014. **9**(11): p. e112271.
58. Denis, M., *Structure and function of cytochrome-c oxidase*. Biochimie, 1986. **68**(3): p. 459-70.
59. Day, B.J., *Antioxidant therapeutics: Pandora's box*. Free Radic Biol Med, 2014. **66**: p. 58-64.

60. Sung, C.C., et al., *Oxidative stress and nucleic acid oxidation in patients with chronic kidney disease*. *Oxid Med Cell Longev*, 2013. **2013**: p. 301982.
61. Abdala-Valencia, H., S. Berdnikovs, and J.M. Cook-Mills, *Vitamin E isoforms as modulators of lung inflammation*. *Nutrients*, 2013. **5**(11): p. 4347-63.
62. Bowry, V.W., et al., *Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in ubiquinol-10-free human low density lipoprotein*. *J Biol Chem*, 1995. **270**(11): p. 5756-63.
63. Wiggins, J.E., et al., *Antioxidant ceruloplasmin is expressed by glomerular parietal epithelial cells and secreted into urine in association with glomerular aging and high-calorie diet*. *J Am Soc Nephrol*, 2006. **17**(5): p. 1382-7.
64. Conley, L., T.L. Geurs, and L.A. Levin, *Transcriptional regulation of ceruloplasmin by an IL-6 response element pathway*. *Brain Res Mol Brain Res*, 2005. **139**(2): p. 235-41.
65. Gutteridge, J.M., *The antioxidant activity of haptoglobin towards haemoglobin-stimulated lipid peroxidation*. *Biochim Biophys Acta*, 1987. **917**(2): p. 219-23.
66. Halliwell, B. and J.M. Gutteridge, *The antioxidants of human extracellular fluids*. *Arch Biochem Biophys*, 1990. **280**(1): p. 1-8.
67. Vallance, P. and J. Leiper, *Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine:dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004. **24**(6): p. 1023-30.
68. Ogawa, T., et al., *Metabolism of NG,NG-and NG,N'G-dimethylarginine in rats*. *Arch Biochem Biophys*, 1987. **252**(2): p. 526-37.
69. Arikan, E., C.H. Karadag, and S. Guldiken, *Asymmetric dimethylarginine levels in thyroid diseases*. *J Endocrinol Invest*, 2007. **30**(3): p. 186-91.
70. MacAllister, R.J., et al., *Concentration of dimethyl-L-arginine in the plasma of patients with end-stage renal failure*. *Nephrol Dial Transplant*, 1996. **11**(12): p. 2449-52.
71. Keles, T., et al., *Relation of homocysteine levels with patency and flow rate of infarct-related artery in patients receiving fibrinolytic therapy*. *Anadolu Kardiyol Derg*, 2010. **10**(5): p. 410-5.
72. Tehlivets, O., *Homocysteine as a Risk Factor for Atherosclerosis: Is Its Conversion to S-Adenosyl-L-Homocysteine the Key to Deregulated Lipid Metabolism?* *Journal of Lipids*, 2011. **2011**: p. 11.
73. Keshteli, A.H., V.E. Baracos, and K.L. Madsen, *Hyperhomocysteinemia as a potential contributor of colorectal cancer development in inflammatory bowel diseases: A review*. *World J Gastroenterol*, 2015. **21**(4): p. 1081-1090.
74. Lentz, S.R., *Does homocysteine promote atherosclerosis?* *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001. **21**(9): p. 1385-6.
75. Welch, G.N. and J. Loscalzo, *Homocysteine and atherothrombosis*. *N Engl J Med*, 1998. **338**(15): p. 1042-50.
76. Clarke, R., et al., *Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease*. *N Engl J Med*, 1991. **324**(17): p. 1149-55.
77. Plazar, N. and M. Jurdana, *Hyperhomocysteinemia and the role of B vitamins in cancer*. *Radiology and Oncology*, 2010. **44**(2): p. 79-85.
78. Yagi, K., *Lipid peroxides in hepatic, gastrointestinal, and pancreatic diseases*. *Adv Exp Med Biol*, 1994. **366**: p. 165-9.
79. Miranda, K.M., M.G. Espey, and D.A. Wink, *A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite*. *Nitric Oxide*, 2001. **5**(1): p. 62-71.

80. Goudonnet, H., et al., [*Influence of 3,5,3'-triiodo-L-thyronine on the hepatic enzyme activities responsible for the metabolism of xenobiotics during the development of the chick embryo*]. C R Seances Soc Biol Fil, 1988. **182**(3): p. 316-23.
81. Nedrebo, B.G., et al., *Plasma total homocysteine levels in hyperthyroid and hypothyroid patients*. Metabolism, 1998. **47**(1): p. 89-93.
82. Lien, E.A., et al., *Plasma total homocysteine levels during short-term iatrogenic hypothyroidism*. J Clin Endocrinol Metab, 2000. **85**(3): p. 1049-53.
83. Diekman, M.J., et al., *Determinants of changes in plasma homocysteine in hyperthyroidism and hypothyroidism*. Clin Endocrinol (Oxf), 2001. **54**(2): p. 197-204.
84. Bakker, S.J., et al., *The relationship between thyrotropin and low density lipoprotein cholesterol is modified by insulin sensitivity in healthy euthyroid subjects*. J Clin Endocrinol Metab, 2001. **86**(3): p. 1206-11.
85. Tanis, B.C., G.J. Westendorp, and H.M. Smelt, *Effect of thyroid substitution on hypercholesterolaemia in patients with subclinical hypothyroidism: a reanalysis of intervention studies*. Clin Endocrinol (Oxf), 1996. **44**(6): p. 643-9.
86. Hermenegildo, C., et al., *Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine, an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase, is elevated in hyperthyroid patients*. J Clin Endocrinol Metab, 2002. **87**(12): p. 5636-40.
87. Diekman, T., et al., *Increased oxidizability of low-density lipoproteins in hypothyroidism*. J Clin Endocrinol Metab, 1998. **83**(5): p. 1752-5.
88. Jung, C.H., et al., *Thyroid dysfunction and their relation to cardiovascular risk factors such as lipid profile, hsCRP, and waist hip ratio in Korea*. Korean J Intern Med, 2003. **18**(3): p. 146-53.
89. Liberopoulos, E.N. and M.S. Elisaf, *Dyslipidemia in patients with thyroid disorders*. Hormones (Athens), 2002. **1**(4): p. 218-23.
90. Carantoni, M., et al., [*Low levels of HDL cholesterol in hypothyroid patients with cardiovascular diseases*]. Minerva Endocrinol, 1997. **22**(4): p. 91-7.
91. Oge, A., E. Sozmen, and A.O. Karaoglu, *Effect of thyroid function on LDL oxidation in hypothyroidism and hyperthyroidism*. Endocr Res, 2004. **30**(3): p. 481-9.
92. Cetinkaya, A., et al., *Levels of Malondialdehyde and Superoxide Dismutase in Subclinical Hyperthyroidism*. Mediators of Inflammation, 2005. **2005**(1): p. 57-59.
93. Cakal, B., et al., *Homocysteine and fibrinogen changes with L-thyroxine in subclinical hypothyroid patients*. J Korean Med Sci, 2007. **22**(3): p. 431-5.
94. Orzechowska-Pawilajc, A., et al., *Homocysteine, folate and cobalamin levels in hypothyroid women before and after treatment*. Endocr J, 2007. **54**(3): p. 471-6.
95. Turhan, S., et al., *Plasma homocysteine concentrations and serum lipid profile as atherosclerotic risk factors in subclinical hypothyroidism*. Ann Saudi Med, 2008. **28**(2): p. 96-101.
96. Coria, M.J., A.I. Pastran, and M.S. Gimenez, *Serum oxidative stress parameters of women with hypothyroidism*. Acta Biomed, 2009. **80**(2): p. 135-9.
97. Ittermann, T., et al., *Are serum TSH levels associated with oxidized low-density lipoprotein? Results from the Study of Health in Pomerania*. Clin Endocrinol (Oxf), 2012. **76**(4): p. 526-32.
98. Heinecke, J.W., *Oxidants and antioxidants in the pathogenesis of atherosclerosis: implications for the oxidized low density lipoprotein hypothesis*. Atherosclerosis, 1998. **141**(1): p. 1-15.

99. Berliner, J.A. and J.W. Heinecke, *The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis*. Free Radic Biol Med, 1996. **20**(5): p. 707-27.
100. Cai, H. and D.G. Harrison, *Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress*. Circ Res, 2000. **87**(10): p. 840-4.
101. Aktuna, D., et al., [*Beta-carotene, vitamin A and carrier proteins in thyroid diseases*]. Acta Med Austriaca, 1993. **20**(1-2): p. 17-20.

