

**HİPERTİROİDİLİ SIÇANLARIN KALP
DOKUSUNDAKİ OKSİDATİF STRES
PARAMETRELERİ ÜZERİNE
EGZERSİZİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Akar KARAKOÇ

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Abdulkadir YILDIRIM

Doktora Tezi - 2015

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

**HİPERTİROİDİLİ SIÇANLARIN KALP DOKUSUNDAKİ
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ ÜZERİNE
EGZERSİZİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Akar KARAKOÇ

**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Abdulkadir YILDIRIM**

**ERZURUM
2015**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**HİPERTİROİDİLİ SIÇANLARIN KALP DOKUSUNDAKİ
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ ÜZERİNE EGZERSİZİN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Akar KARAKOÇ

Tez Savunma Tarihi : 15.01.2015

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Abdulkadir YILDIRIM (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Ebubekir BAKAN (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Fatih AKÇAY (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Mustafa GÜL (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Hüseyin ÖZYURT (Gaziosmanpaşa Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

**Doktora Tezi
ERZURUM - 2015**

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLolar DİZİNİ	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Tiroid Bezi	4
2.2. Tiroid Hormonları	5
2.2.1. Tiroid Hormonlarının Sentez ve Salınımı	7
2.2.2. Sentez ve Salınımın Düzenlenmesi	9
2.2.3. Tiroid Hormonlarının Dolaşım Yolu ile Taşınması	10
2.2.4. Tiroid Hormonlarının Genel Etki Mekanizması	10
2.2.4.1. Genomik Etki Mekanizması	11
2.2.4.2. Nongenomik Etki Mekanizması	13
2.2.5. Tiroid Hormonlarının Genel Biyolojik Etkileri	14
2.3. Tiroid Hormonlarının Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkisinin Mekanizması ...	15
2.4. Hipertiroidi.....	17
2.4.1. Tanımı ve Prevalansı	17
2.4.2. Nedenleri ve Semptomları	17
2.5. Hipertiroidi ve Kalp Dokusu.....	18
2.6. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres	19
2.7. Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehit	22
2.8. Protein Oksidasyonu ve Protein Karbonilasyonu	24
2.8.1. Karbonil Gruplarının Oluşumu	25
2.9. Oksidatif Streste DNA Hasarı ve 8-Hidroksi-2-Deoksiguanozin.....	27
2.9.1. Guanininin 8-Hidroksi-2-Deoksiguanozine Oksidasyonu.....	28
2.10. Hipertiroidi, Oksidatif Stres ve Kalp Fonksiyon	29
2.11. Egzersiz, Oksidatif Stres ve Kalp Dokusu	30
3. MATERYAL VE METOT.....	32
3.1. Materyal	32
3.1.1. Deney Hayvanları	32

3.1.2. Deney Grupları	32
3.1.3. Numune Alınması ve Numunelerin İşlenmesi.....	33
3.1.4. Kullanılan Kimyasal, Cihaz ve Ekipmanlar	33
3.2. Metotlar.....	33
3.2.1. Malondialdehit Ölçümü	35
3.2.2. Proteinkarbonil Ölçümü.....	37
3.2.3. 8-Hidroksi-2-Deoksiguanozin Ölçümü.....	40
3.2.4. Total Antioksidan Kapasite Ölçümü.....	44
3.2.5. Total Oksidan Durum	45
3.2.6. Tiroid Sitümüle Edici Hormon Ölçümü	47
3.2.7. Serbest T ₃ ve Serbest T ₄ Ölçümü.....	47
3.2.8. İstatistiksel Analiz.....	48
4. BULGULAR.....	49
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	63
KAYNAKLAR	64
EKLER	77
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	77
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	78
EK-3. DOKTORA TEZ SAVUNMA SINAV TUTANAĞI.....	79

TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkılarıyla yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Abdulkadir YILDIRIM'a saygı ve şükranlarımı sunarım.

Doktora eğitimim süresince yakın ilgi ve bilimsel desteklerini gördüğüm Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ebubekir BAKAN'a ve anabilim dalının diğer değerli Öğretim Üyeleri Prof. Dr. Yaşar Nuri ŞAHİN'e, Prof. Dr. Nuri BAKAN'a, Prof. Dr. Fatih AKÇAY'a, Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ'a, Prof. Dr. Hülya AKSOY'a, Prof. Dr. Zuhale UMUDUM'a, Prof. Dr. M. Sait KELEŞ'e ve Yrd. Doç. Dr. Nurinnisa ÖZTÜRK'e, Biyokimya Anabilim Dalı'nda beraber çalıştığım araştırma görevlisi ile uzmanlara ve diğer tüm bölüm çalışanlarına; bu çalışmayı **2010/114** proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne ve bu günlere gelmemde aracı olan sevgili aileme teşekkür ederim.

Akar KARAKOÇ

2015

ÖZET

Hipertiroidili Sıçanların Kalp Dokusundaki Oksidatif Stres Parametreleri Üzerine Egzersizin Etkisinin Araştırılması

Amaç: Hipertiroidide oksijen tüketim hızındaki artışa bağlı olarak oksidatif stresin attığı bilinmektedir. Ayrıca literatürde düzenli olarak yapılan egzersizin oksidatif stresi azaltılabileceğine dair bilgiler mevcuttur. Bu çalışmanın amacı hipertiroidili sıçanların kalp dokusundaki oksidatif stres parametreleri üzerine düzenli dayanıklılık egzersizinin herhangi bir etkisinin olup olmadığını araştırmaktır.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada kullanılan 23 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kontrol grubu, egzersiz grubu, hipertiroidi grubu ve hipertiroidi+egzersiz grubu şeklinde dört gruba bölündü. Egzersiz grubundaki sıçanlar günde 45 dk boyunca 23 m / dk'lık bir hızda koşu bandında koşturuldu (8 hafta boyunca 5 gün/hafta). Hipertiroidi ile hipertiroidi+egzersiz grubundaki sıçanlarda L-tiroksin kullanılarak hipertiroidi oluşturuldu ve serum TSH, FT₃ ve FT₄ düzeyleri ölçülerek hipertiroidi durumu teyit edildi. Kalp dokusu örneklerinde MDA, PCO, 8-OHdG, TAK ve TOD düzeyleri ölçülerek oksidatif stress durumu değerlendirildi.

Bulgular: Kontrol, hipertiroidi ve egzersiz gruplarıyla karşılaştırıldığında Hipertiroidi+egzersiz grubundaki TOD değerleri istatistiki olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0.05$). Egzersiz ve hipertiroidi+egzersiz gruplarındaki MDA düzeyleri kontrol ve hipertiroidi gruplarındakinden önemli derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). Tüm gruplardaki PCO değeri kontrol grubundaki değerden önemli derecede farklı idi ($p<0.01$). Egzersiz ve hipertiroidi+egzersiz gruplarındaki 8-OHdG düzeyleri en yüksek olup kontrol ve hipertiroidi gruplarındaki değerlerin yaklaşık iki katı idi.

Sonuç: Bu çalışmanın sonuçları, hipertiroidili sıçanların kalp dokusundaki oksidatif stresi azaltması bakımından, düzenli dayanıklılık egzersizinin olumlu bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Dayanıklılık egzersizi, deneysel hipertiroidizm, oksidatif stres, malondialdehit, protein karbonil, 8-hidroksi-2-deoksiguanozin, total oksidan durum, total antioksidan kapasite

ABSTRACT

Investigation of the Effect of Exercise on Oxidative Stress Parameters in Heart Tissue of Hyperthyroidic Rats

Aim: It is known that oxidative stress is increased in hyperthyroidism due to increments in the rate of oxygen consumption in target tissues. In addition, there is some information in literature that regular exercise may improve oxidative stress in trained animals. The purpose of this study was to investigate whether a regular endurance exercise has any effect on oxidative stress parameters in heart tissue of hyperthyroidic rats.

Material and Method: Twenty-three male Sprague Dawley rats were divided into four groups: control, exercise, hyperthyroidism and hyperthyroidism+exercise. The rats in exercise groups were submitted to run on a treadmill at a speed of 23 m/min for 45 minutes, 5 day/week for 8 weeks. Hyperthyroidism was induced by L-thyroxine (0.25 mg/kg/day s.c. for 20 days), and was confirmed by the measurements of TSH, FT₃ and FT₄ in serum. The extent of oxidative stress was assessed by measuring the levels of the MDA, PCO, TAS, TOS and 8-OHdG in heart tissues.

Results: As compared with control, hyperthyroidism and exercise groups, TOD levels in hyperthyroidism+exercise group were significantly high ($p<0.05$). MDA levels of exercise and hyperthyroidism+exercise groups were statistically higher than those of control and hyperthyroidism groups ($p<0.05$). PCO levels in all groups were significantly different from the values in control group ($p<0.01$). 8-OHdG levels in exercise and hyperthyroidism+exercise groups were the highest of all groups and these values were about twice of the values in control and hyperthyroidism groups.

Conclusion: The results show that regular endurance exercise does not have a positive effect in terms of reducing oxidative stress in heart tissues of hyperthyroid rats.

Key Words: Endurance training, experimental hyperthyroidism, oxidative stress, malondialdehyde, protein carbonyls, 8-OH-2-deoxyguanosine, total oxidant status, total antioxidant status

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DNA	: Deoksiribonükleik asit
DNPH	: 2,4-dinitrofenilhidrazin
EIA	: Enzim immünoassay
ELISA	: Enzim bağı immunosorbent assay
FT₃	: Serbest T ₃
FT₄	: Serbest T ₄
GPx	: Glutasyon peroksidaz
MDA	: Malondialdehit
8-OHdG	: 8-hidroksi-2-deoksiguanozin
PCO	: Protein karbonil
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
T₃	: Triiyodotironin
T₄	: Tiroksin (tetraiyodotironin)
TAK	: Total antioksidan kapasite
TOD	: Total oksidan durum
TSH	: Tirotiropin (Tiroid sitümüle edici hormon)

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Tiroid bezi ve foliküllerin yapısı	5
Şekil 2.2. Tiroid hormonlarının ve ilişkili moleküllerin yapısı	6
Şekil 2.3. Tiroid hormonlarının sentez ve salınımı	7
Şekil 2.4. Tiroid hormonlarının negatif feed-back düzenlenmesi	9
Şekil 2.5. Tiroid hormonların genomik etki mekanizması	12
Şekil 2.6. Tiroid hormonlarının nongenomik etki mekanizması	14
Şekil 2.7. Lipid peroksidasyonu	23
Şekil 2.8. Lipid peroksidasyonu ile oluşan MDA ve diğer reaktif karbonil bileşikler..	24
Şekil 2.9. Bazı karbonilasyon ürünlerinin yapıları	26
Şekil 2.10. 2-Deoksiguanozinin 8-OHdG'ye oksidasyonu	29
Şekil 3.1. DNPH ile PCO reaksiyonu	38
Şekil 3.2. 8-OHdG'nin EIA ile ölçümünün şematize edilişi	43
Şekil 3.3. Asetilkolinesteraz tarafından katalizlenen reaksiyon	43
Şekil 4.1. Çalışma gruplarında MDA düzeyleri	51
Şekil 4.2. Çalışma gruplarında PCO düzeyleri	52
Şekil 4.3. Çalışma gruplarında 8-OHdG düzeyleri	53
Şekil 4.4. Çalışma gruplarında TAK düzeyleri	53
Şekil 4.5. Çalışma gruplarında TOD düzeyleri	54
Şekil 4.6. Çalışma gruplarında TSH düzeyleri	55
Şekil 4.7. Çalışma gruplarında FT ₃ düzeyleri	55
Şekil 4.8. Çalışma gruplarında FT ₄ düzeyleri	56

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Hipertiroidinin kardiyovasküler belirtileri ve bulguları.....	19
Tablo 3.1. Çalışma grupları.....	32
Tablo 3.2. Kullanılan kitler/kimyasal maddeler ve temin edilen firmalar	34
Tablo 3.3. Kullanılan cihaz ve aletlerin markası ile ilgili firma ve/veya ülke	35
Tablo 3.4. MDA ölçüm prosedürü	36
Tablo 3.5. 8-OHdG için ölçüm prosedürü	44
Tablo 3.6. TAK için ölçüm prosedürü	45
Tablo 3.7. TOD için ölçüm prosedürü	46
Tablo 3.8. TSH ölçüm prosedürü	47
Tablo 3.9. FT ₄ ve FT ₃ için ölçüm prosedürü	48
Tablo 4.1. Çalışma gruplarında ağırlık değişimi.....	49
Tablo 4.2. Çalışma gruplarında ölçülen değişkenler.....	49
Tablo 4.3. Korelasyon tablosu	50

1. GİRİŞ

Hipertiroidizm, tiroid bezinin aşırı aktif olması veya tiroid hormonlarının (T_3 ve/veya T_4 'ün) aşırı üretilmesi ile karakterize yaygın endokrin bir hastalıktır.¹⁻⁴ Tiroid hormonları birçok memeli türünde dokulardaki bazal metabolizmayı ve enerji metabolizmasını hızlandırmakta, buna bağlı olarak oksijen tüketimini artırmaktadır.⁵⁻⁷ Tiroid hormonları, doku üzerine metabolik ve termoregülatör etkilerinin yanında⁶ kalp ve vasküler sistemi etkileyerek kardiyak performansı da regüle eder.⁵ Kardiyovasküler sağlık için normal endokrin fonksiyon önemli olup endokrin sistemdeki bozukluklar kardiyovasküler sistem üzerinde çoklu etkiye sahiptir.³ Bir endokrin bozukluk olan hipertiroidi tedavi edilmez ise yaşam kalitesi düşmekte, özellikle kardiyovasküler sistem ve iskelet sistemiyle ilgili komplikasyonlardan dolayı morbidite ve mortaliteye neden olabilmektedir.⁸

Oksijenli solunum yapan canlılarda, reaktif oksijen türleri (ROT) oluşumu kaçınılmazdır.^{9,10} Başka bir deyişle ROT normal metabolizma sırasında da oluşmaktadır.¹⁰⁻¹³ Özellikle mitokondride yerleşik elektron transport zincirinde (ETZ) oksijenin indirgenmesi esnasında, vücutta gerçekleşen bazı enzimatik veya nonenzimatik reaksiyonlar sırasında ROT üretilmektedir.¹⁴ Dahası ROT, inflamasyon,¹⁴⁻¹⁷ ve bazı transkripsiyon faktörlerinin modülasyonu, sinyal iletimi,¹⁶ DNA sentezinin stimülasyonu, büyümeyle ilişkili bazı genlerin ekspresyonunun uyarılması ve hücre proliferasyonu gibi önemli fizyolojik süreçlerde rol oynamaktadır.¹⁵ ROT bu yararlı etkilerini fizyolojik konsantrasyonlarda gerçekleştirmektedir. ROT'un fizyolojik konsantrasyonlarını geçmesi halinde antioksidan savunma sistemi devreye girmektedir. Bu sistemle ROT'un zararlı etkileri nötralize edilmekte ve normal şartlarda ROT ile antioksidanlar arasında mevcut olan denge böylece korunmaktadır. Ancak ROT'un aşırı üretilmesi veya ROT'un zararlı etkilerini nötralize eden antioksidan savunmanın

yetersiz kalması halinde bu denge ROT lehine bozulmakta ve oksidatif strese yol açmaktadır.^{9,15,16,18-20}

ROT, lipid, protein, nükleik asit ve karbohidratlar dahil bir çok biyomolekölü olumsuz etkiler.^{14,21-23} Lipidler bu etkiye oldukça hassastır.^{21,24} Membran yapısındaki doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu membran hasar görmekte, hücre bütünlüğü bozulmaktadır. Ayrıca lipid peroksidasyonu sonucu, biyolojik olarak aktif olan ve hücrede toksik etki yapan aldehit yapılı ürünler de oluşmaktadır.^{24,25} Malondialdehit (MDA) bu ürünlerden bir tanesidir ve lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır.^{10,21,22,24-29} Lipid peroksidasyon reaksiyonlarının, kardiyovasküler hastalıklarla ilişkili olan ateroskleroz gelişiminde merkezi rol oynadığı ifade edilmektedir.³⁰

ROT'un etkilediği bir diğer durum proteinlerin oksidasyonu sonucu protein karbonillerin (PCO) oluşumudur. PCO, oksidatif stresin erken dönemlerinde oluşur ve oluşan ürün uzun süre stabil olup basit ve duyarlı yöntemlerle ölçülebilmektedir. Proteinlerin oksidatif modifikasyonunun, kalp-damar sistemi hastalıkları dahil bir çok hastalığın etyolojisinde ve ilerlemesinde rol oynayabileceği belirtilmektedir.³¹⁻³⁵ Benzer şekilde ROT'un DNA'da 20'den fazla hasar ürününün oluşmasına neden olduğu bildirilmiştir. 8-OHdG, guanozin bazı üzerinden oluşan hasar ürünlerinden bir tanesidir. 8-OHdG, oksidatif DNA hasarının direkt belirteci olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarının belirlenmesinde en sık ölçülen belirteç olarak karşımıza çıkmaktadır.^{26-28,36,37}

Son zamanlarda yapılan çalışmalar değişmiş tiroid durumuna ROT'un eşlik ettiğini göstermektedir. Hipertiroidizmde tiroid hormon etkisiyle ilgili yapılan çalışmalarda tiroid hormonları ile indüklenen serbest oksijen radikallerinin oksidatif strese neden olduğu belirlenmiştir.^{15,38,39} Patofizyolojik mekanizması tam olarak

açıklanamamasına rağmen, birçok hastalıkta olduğu gibi,^{20,24,40-44} hipertiroidizmin patogenezinin ve bazı komplikasyonlarından serbest oksijen radikalleri sorumlu tutulmaktadır.^{10,15,39,45,46}

Literatürde egzersiz-oksidatif stres konusuyla ilgili yapılan çalışmalarda birbiriyle çelişen sonuçlara rastlamak mümkündür.^{18,19,47-50} Bazı çalışmalar egzersizin lipid peroksidasyonunu azalttığını ve antioksidan parametreleri arttırdığını gösterirken^{47-49,51} bazılarında tam tersi durum söz konusu olabilmektedir.^{18,19,50} Egzersiz, bazı kardiyovasküler hastalıkların gelişimini önleyebilen bir aktivite olsa da şiddet ve süresine bağlı olarak oksidatif strese neden olabilmektedir.¹⁹ Aşırı fiziksel aktivite sırasında kas kontraksiyonları, enerji tüketimini ve metabolik aktiviteyi önemli ölçüde hızlandırmakta buna bağlı olarak oksijen tüketiminde artış olmaktadır. Aşırı egzersiz esnasında normalden 10 kat daha fazla oksijen tüketimi olduğu bildirilmektedir. Hipertiroidide olduğu gibi artan oksijen tüketiminin sonucunda ROT üretimi de artmaktadır.^{18,50} Ayrıca aşırı egzersizin iskelet ile kalp kasında hasara neden olduğu belirtilmiştir.^{18,52-55} Ancak düzenli yapılan dayanıklılık egzersizinin serbest oksijen radikallerinin oluşumunu bir miktar artırmasına rağmen aynı zamanda vücuttaki antioksidan sistemleri de uyarak antioksidan savunmayı güçlendirdiği rapor edilmiştir.^{14,56}

Bu tez çalışmasında deneysel olarak hipertiroidi oluşturulmuş sıçanların kalp dokusundaki bazı oksidatif stres parametreleri üzerine düzenli dayanıklılık egzersizinin bir etkisinin olup olmadığının araştırılması amaçlandı. Bu amaçla hipertiroidi oluşturulan sıçanların kalp dokusu homojenatlarında MDA, PCO, 8-OHdG, TAK ve TOD düzeyleri ölçüldü ve kontrol grubu değerleriyle karşılaştırıldı.

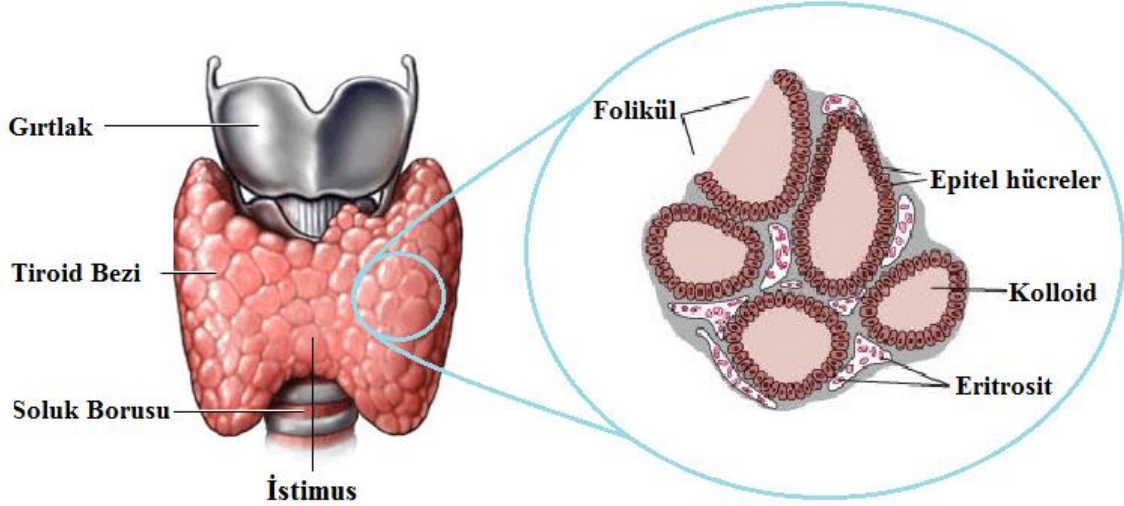
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tiroid Bezi

Tiroid terimi, Antik Yunan Dili'nde "kalkan şekilli" anlamına gelen "thyreoides" kelimesinden köken alır. Tiroid bezinin keşfi çok eskilere dayanmaktadır. Tiroid bezinin ikinci asırda ilk olarak Galen tarafında tarif edildiği, tiroid isminin ise 1656 yılında Thomas Wharton tarafından kullanıldığı bildirilmektedir.^{2,57-59} Tiroid bezinin salgı yaptığı 1836 yılında King tarafından ifade edilmiş, tiroid hücresinin tanımlanması ise ilk kez Gosselin tarafından yapılmıştır. Bir tiroid disfonksiyonu olan hipertiroidiyi Pary, Graves ve Basedow peş peşe tanımlamışlardır.⁶⁰

Tiroid bezi, trakenin her iki tarafına yerleşmiş iki lop ve istimustan (lopları birbirine bağlayan kısım) meydana gelen endokrin bir bezdir. Kalkana, H harfine veya kelebeğe benzetilen (Şekil 2.1.) bez yaklaşık 15-25 g ağırlığındadır.^{14,59,61} Tiroid bezi, tiroidin temel yapısını oluşturan yaklaşık 20-30 milyon folikülden meydana gelir.^{1,2,14,58,61} Her bir folikül, içi kolloidle dolu bir lümeni çepeçevre saran tek katlı kübik epitel ve bu epiteli çevreleyen bazal membrandan oluşur (Şekil 2.1). Tiroid bezinde esas olarak üç tip hücre vardır. Bunlar; folikül hücresi (tirosit), oksifilik hücreler (Askanazy hücresi, onkosit, Hürthle hücresi) ve parafoliküler hücrelerdir. Bu hücrelere sırasıyla A, B ve C hücreleri de denilmektedir. Folikül hücresi ve oksifilik hücreler hem foliküler lümen hem de bazal membranla ilişkide olan hücreler iken parafoliküler hücreler (C hücreleri) bazal membranla temas halinde olan ancak lümene teması olmayan hücrelerdir. Tiroid hormonlarının yapımı ve salınmasından sorumlu olan hücre folikül hücresidir (tirosit) ve tiroid stimüle edici hormon (TSH) hormonunun etkisi altındadır. B hücresi çok miktarda serotonin toplamaktadır ve tiroid hormonlarının prekürsörü olan tiroglobulini sentezleyebilmesine karşın fonksiyonu tam

olarak bilinmemektedir. C hücresi esas olarak kalsitonin hormonunun yapım ve salınmasından sorumludur.^{2,58-60}

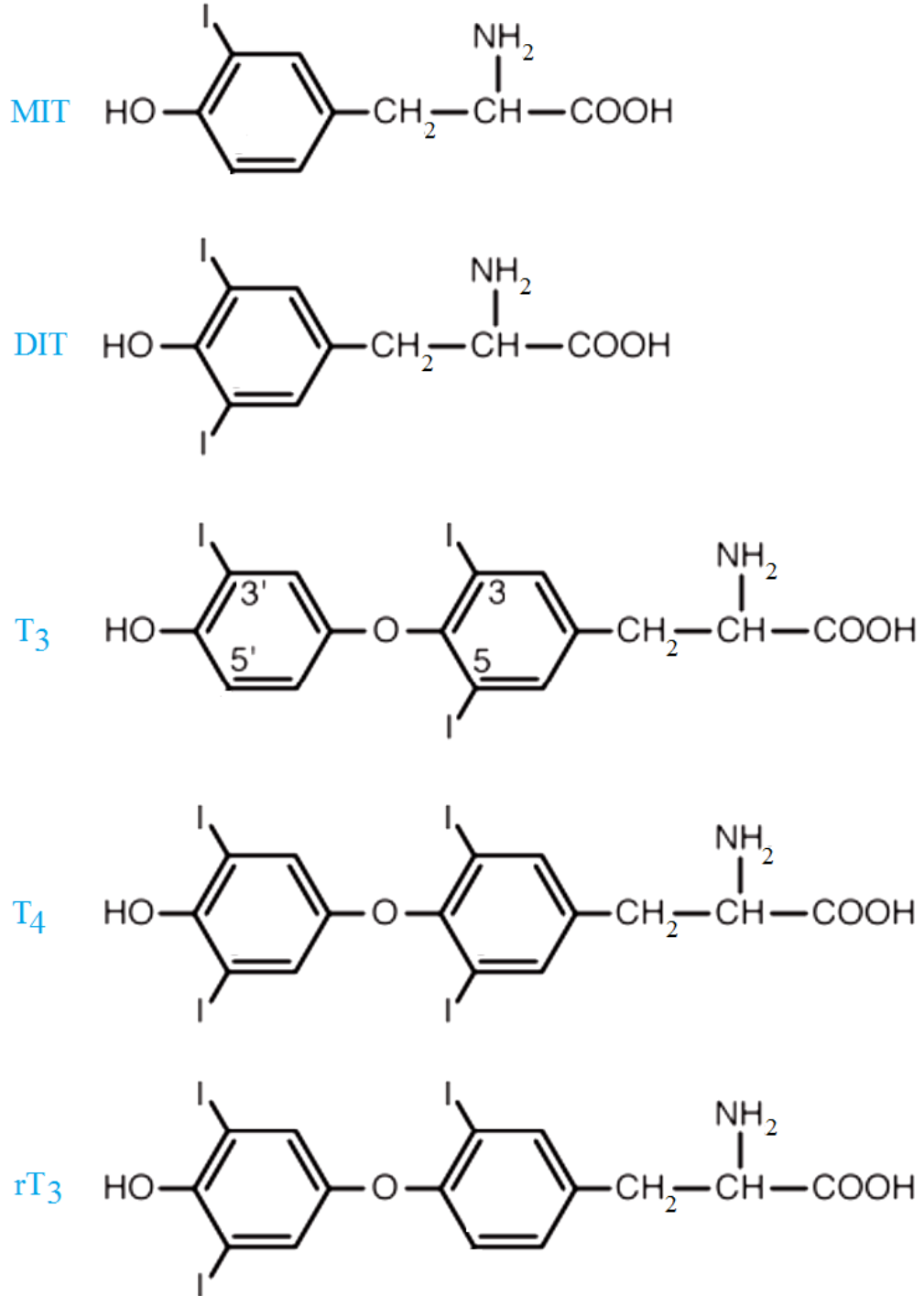


Şekil 2.1. Tiroid bezi ve foliküllerin yapısı

2.2. Tiroid Hormonları

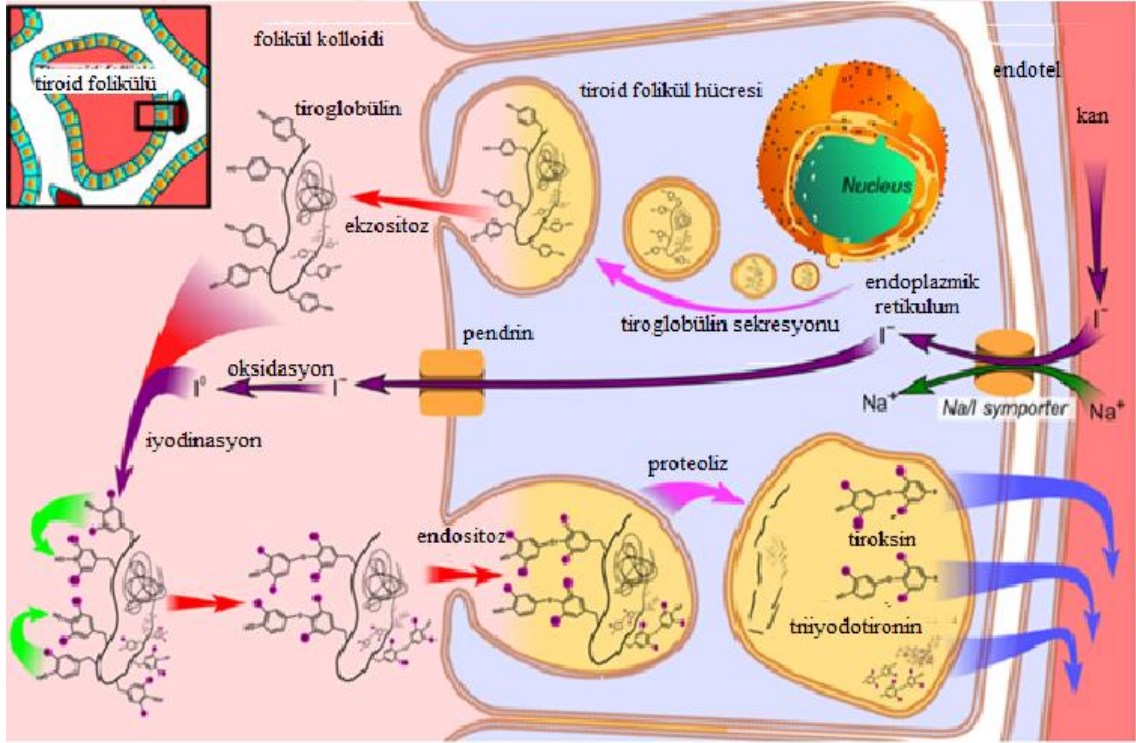
Tiroid bezinden, 3,5,3',5'-L-tetrayodotyronin (tiroksin, T_4), 3,5,3'-L-triiodotyronin (T_3) ve kalsitonin hormonları sentezlenip salgılanmaktadır.⁵⁹ Kalsitonin, tiroid bezi tarafından üretilip salgılansa da "tiroid hormonları" ifadesi çoğu zaman T_4 ve T_3 hormonları için kullanılmaktadır. Dört iyot bağlı hormon olan T_4 'ün tamamı tiroid bezinde sentezlenirken üç iyot içeren T_3 'ün sadece %15-20'lik kısmı bu bezde tarafından sentezlenir. T_3 'ün geriye kalan çoğu miktarı (%80-85) periferik organlarda T_4 'ün deiyodinasyonu (yapıdan iyot atomunun çıkarılmasıyla) oluşur (deiyodinasyon reaksiyonu 5'-monodeiyodinaz tarafından katalizlenir)^{5,61} Birçok kaynakta hedef hücrelerde T_3 'ün T_4 'e göre reseptöre daha yüksek affinite ile bağlandığı bundan dolayı T_3 'ün daha aktif hormon olduğu ve bu yüzden T_4 'ün, daha çok, T_3 'ün prohormonu niteliğinde olduğu ifade edilir.⁶² Ancak son kaynaklardan T_4 'ün T_3 'ten daha aktif olduğu yolların da mevcut olduğu anlaşılmaktadır (daha detaylı bilgi için "Tiroid

Hormonlarının Genel Etki Mekanizması” kısmına bakınız). T₃’ün yarılanma ömrü T₄’ün yarılanma ömründen kısa olup T₃’ün bir gün iken T₄’ün yedi gündür.⁵⁷



Şekil 2.2. Tiroid hormonlarının ve ilişkili moleküllerin yapısı

2.2.1. Tiroid Hormonlarının Sentez ve Salınımı



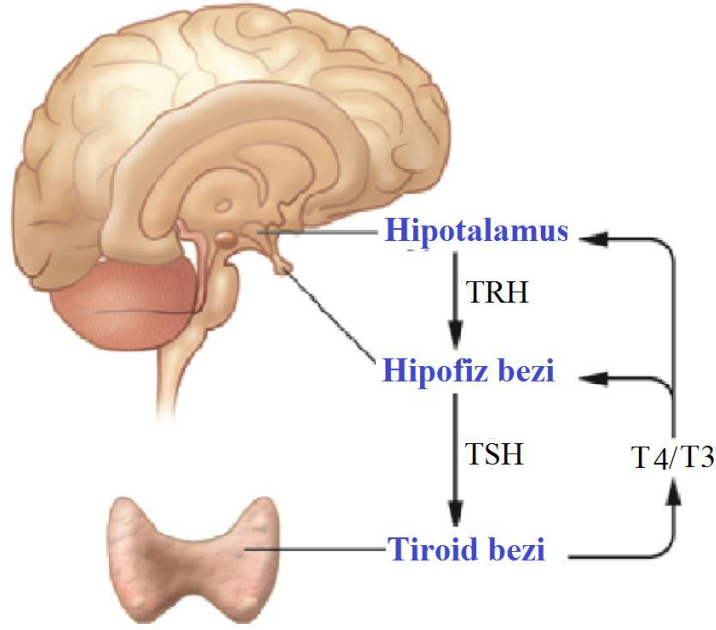
Şekil 2.3. Tiroid hormonlarının sentez ve salınımı

Tiroid hormonları tiroid bezinin temel proteini olan tiroglobülin üzerindeki tirozillerin iyodinasyonu sonucu oluşan amino asit türevi hormonlardır. Burdan anlaşılacağı üzere sentez için tiroglobülin ve iyota ihtiyaç vardır. Gerekli iyot ekzojen olarak beslenme yoluyla sağlanırken tiroglobülin tirositte sentezlenir.^{14,62,63} İyot besinlerle birlikte alındıktan sonra^{14,64} ince bağırsakta emilir, 1/3'ü kan yoluyla tiroid bezine taşınır.¹⁴ Tiroglobülin lümenal kolloidin temel maddesi olup^{14,64} tiroid proteinlerinin %75 kadarını oluşturur.^{14,61,62,64} Dimer yapıda¹⁴ ve 660 kDa ağırlığındadır. Herbiri potansiyel iyodinasyon noktası olan 115 tane tirozil ve %8-10 oranında karbohidrat içerir.⁶² Tiroid hormonlarının sentez ve salınım aşamaları aşağıdaki gibidir:

- 1. Tiroglobulin sentezi ve iyodürün tiroid bezine alınması (iyodür uptake, konsantrasyon):** Tiroid hormonlarının prekürsörü olan tiroglobulin, TSH kontrolünde tiroitin granüllü endoplazmik retikulumunda sentezlenir, düz endoplazmik retikulum ve golgide işlenerek glikozillenir. Ekzositozla folikül lümenindeki kolloide tranfer edilir. Eş zamanlı olarak dolaşımdaki iyodür bazolateral membran üzerinde bulunan sodyum-iyodür (Na/I) simporteri (NIS) aracılığı ile tirosite taşınır.⁶⁵ Taşıma aktif olup gerekli enerji foliküler hücrelerin bazal membranında yer alan Na^+/K^+ -ATPaz tarafından sağlanır (Na^+/K^+ -ATPaz tarafından sürdürülen Na^+ gradientiyle eşleşen sekonder aktif taşıma).⁶⁵ Tirocit içine alınan bu iyodür apikal membranda lokalize olan anyon değiştirici pendrin ile sitoplazmadan folikül lümenine aktarılır.^{63,65,66,67}
- 2. İyodürün aktivasyonu (oksidasyon) ve iyotun tirozin rezidülerine katılması (organifikasyon, iyodinasyon):** Lümene alınan iyodür, membrana bağlı tiroid peroksidaz (TPO) ile iyota okside edilir. Reaksiyon için H_2O_2 gerekli olup apikal membran üzerinde bulunan dual oksidaz 2 (DUOX2) tarafından üretilir⁶⁷]. Okside olan iyodür mono- ve diiyodotirozinleri (MIT, DIT) oluşturmak üzere tiroglobulin üzerindeki tirozin rezidülerine katılır.¹⁴
- 3. Bağlanma tepkimesi (konjugasyon, coupling) ve lümende depolanma:** Bu basamakta iki iyodotirozin ya T_3 ya da T_4 oluşturmak üzere eşleşir. T_3 , bir MIT ve bir DIT'in birleşmesiyle oluşurken T_4 , iki DIT'in birleşmesiyle oluşur. Oksidasyon ve organifikasyon gibi bağlanma tepkimesi de TPO enzimi tarafından katalizlenir. Sentez edilen iyodotirozinler tiroglobuline bağlı şekilde kolloid içinde depolanır. Bu depo formunun vücudun 1-3 aylık hormon ihtiyacını karşılayacak düzeyde olduğu ifade edilir.^{14,34}

4. İyodotiroglobulinlerin işlenmesi ve hormonların salınması: Folikül lümeninde depolanmış halde iyotlanmış tiroglobulin TSH uyarısıyla endositotik veziküller aracılığıyla tirozit içine alınır. Endositotik veziküllerin primer lizozomlarla birleşmesi sonucu iyodotiroglobulinler proteolitik enzimlerin etkisiyle hidroliz edilir. Serbestleşen T_3 ve T_4 , son zamanlarda tespit edilen ve bazolateral membranda bulunan monokarboksilat transporter (MCT8)^{63,68,69} ile dolaşıma salınır. Buna karşın MIT ve DIT, iyodotirozin dehalojenaz 1 enzimiyle (DHAP1) deiyodine edilir,⁶⁷ salınan iyot bir sonraki döngüde kullanılmak üzere lümene geri verilir.^{14,63}

2.2.2. Sentez ve Salınımın Düzenlenmesi



Şekil 2.4. Tiroid hormonlarının negatif feed-back düzenlenmesi⁷²

Tiroid hormonlarının oluşumu baskın olarak ön hipofizden salgılanan tirotropin (tiroid stimulan hormon, TSH) tarafından regüle edilir. (TSH'nın reseptörüne bağlanmasıyla hem Gs hem de Gq proteinleri aktive edilir. Gs büyümenin regülasyonunu, diferansasyonu ve tiroid hormon sekresyonunu aktive ederken Gq, H_2O_2

üretimi ve iyodun proteinlere bağlanmasını aktive eder). TSH salınımı ise hipotalamustan salgılanan tirotropin releasing hormonun (TRH) kontrolü altındadır. TSH uyarısı T_3 ve T_4 salınımını uyarırken, kandaki T_3 ve T_4 artışı hipofizden TSH, hipotalamustan TRH salınımını baskılar (negatif feed-back ile) (Şekil 2.4.). İyot yetmezliğinde tiroksin sentezi baskılandığından iyot da, düzenleyici faktör olarak kabul edilmektedir.^{2,6,14,59,60,67}

2.2.3. Tiroid Hormonlarının Dolaşım Yolu ile Taşınması

Tiroid hormonları tiroksin bağlayıcı globulin (TBG), tiroksin bağlayıcı prealbumin (transtiretin) ve albumin gibi serum proteinlerine bağlanarak taşınmaktadır.^{2,14,34,59} Proteinlere bağlanma küçük fraksiyonlar halinde bulunan hormonun böbrekten kaybını önlemesinin yanı sıra bağlı hormon rezervi, yedek depo görevi yapar. Ayrıca bu yolla serbest hormonun kanda gereken oranda bulunması sağlanabilir.³⁴ Tiroid hormonları için majör taşıyıcı TBG'dir ve T_4 'ün $\frac{3}{4}$ kadarını, T_3 'ün yaklaşık yarısını bağlar. Transtiretinin T_3 'e ilgisi olmayıp sadece T_4 'ün %15-20 kadarını taşır. Bu proteinlerle taşınmayan kısımlar olan T_3 'ün %50-60'ı, T_4 'ün %5-10'u albüminle taşınırken T_3 'ün %0.3'ü, T_4 'ün %0.03'ü dolaşımda serbest kalır.¹⁴ Tiroid hormonlarının sadece bu serbest fraksiyonu hormonal aktiviteye sahiptir.^{2,14,34,59}

2.2.4. Tiroid Hormonlarının Genel Etki Mekanizması

Son yıllarda yapılan çalışmalar tiroid hormonlarının, sadece, **genomik mekanizma** ile etki etmediğini, aynı zamanda bir **nongenomik mekanizmayla** da etki gösterdiklerini ortaya koymuştur. Nükleer bir mekanizma olan genomik mekanizma, hormonun hücre içine girişini gerektiren ve göreceli yavaş olan (birkaç saat veya daha fazla sürede gerçekleşen) bir mekanizmadır. Bu mekanizmada T_3 hormonu, hücre çekirdeğindeki reseptörleri (nükleer TR) ile kompleks oluşturmuş halde özgül DNA bölgelerine (tiroid yanıt elementine, TRE) bağlanarak gen ekspresyonu üzerinden etki

eder (T_4 de nükleer TR aracılığıyla aktivasyon gösterebilir ancak T_4 'ün reseptöre affinitesi T_3 'ünkünden çok düşük olduğundan T_3 , TR'nin doğal ligandı niteliğindedir). Genomik mekanizmadan daha hızlı olan (saniye veya dakikalar içinde gerçekleşen) nongenomik mekanizmada ise tiroid hormonunun, hücre yüzeyindeki veya sitoplazmadaki reseptörlere bağlanarak etki gösterdiği bildirilmektedir. Bu mekanizmada T_4 ve rT_3 'ün de aktif rol oynadığı ifade edilmektedir.^{5,70,71}

2.2.4.1. Genomik Etki Mekanizması

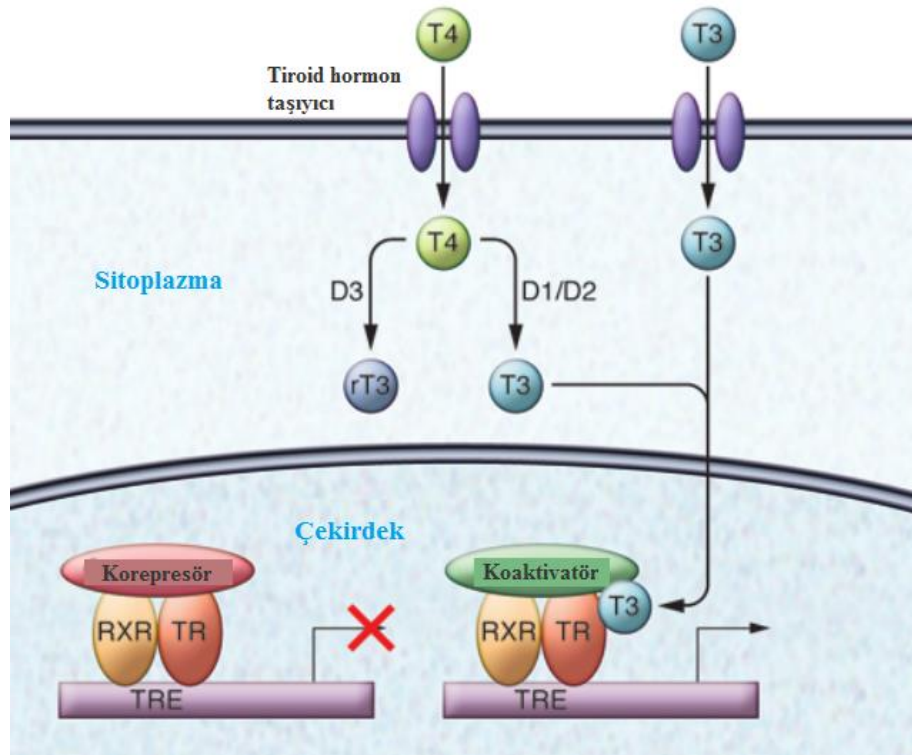
Hücre membranından tiroid hormon transportu: Hidrofobik özelliğe sahip olan tiroid hormonlarının, uzun müddet, pasif difüzyonla hücre membranını geçtiği düşünülmüştür. Ancak son yıllarda MCT ailesi ve organik anyon transporterler (OATPs) gibi tiroid hormon transporterleri tanımlanmıştır.⁷² MCT ailesinin bir üyesi olan MCT8 spesifik bir tiroid hormon transporteri olarak tanımlanır.^{68,72} ve yukarıda ifade edildiği gibi sekresyonda da önemli rol oynar.⁶³ MCT8'in X kromozomu üzerinde lokalize olduğu ve Allan-Herndon-Dudley sendromu gibi X'e bağlı ciddi mental retardasyon formlarına sahip bireylerde anormal tiroid fonksiyonun bulunduğu bildirilmektedir. Bir fare modelinde koroid pleksustan karşıya ve beyin içine tiroid transportunda OATP ailesinden olan OATP1C1'in önemli olabileceği gösterilmiştir.⁷²

Tiroid hormon nükleer reseptörü ve tiroid hormonun nükleer aksiyonu:

Nükleer tiroid hormon reseptörünü (TR) kodlayan TR geninin $TR\alpha$ ve $TR\beta$ şeklinde iki majör izoformu vardır.^{5,71,72}. $TR\alpha$ geni, $TR\alpha1$, $TR\alpha2$ ve $TR\alpha3$ olarak gösterilen üç ürüne sahiptir. Bunlardan $TR\alpha1$, baskın olarak kalp, beyin ve iskelet kasında eksprese edilir ve T_3 bağlayan üründür. Buna karşın $TR\alpha2$ ve $TR\alpha3$ formları T_3 bağlamayan ürünlerdir.⁷² Benzer şekilde $TR\beta$ izoformu da $TR\beta1$, $TR\beta2$ ve $TR\beta3$ şeklinde üç ürüne sahiptir. $TR\beta$ 'nın 3 ürünü de T_3 hormonunu bağlar. Bunlardan $TR\beta1$, $TR\beta$ 'nın majör transkripti

iken^{71,72} TR β 2 baskın olarak beyin, hipofiz,⁷¹ retina ve iç kulakta; TR β 3 ise böbrek, karaciğer ve akciğerde eksprese edilir.⁷²

Lipofilik hormonlar gen transkripsiyonu üzerinden etkisini, hormon yanıt elementi (HRE) olarak bilinen düzenleyici DNA bölgeleri aracılığıyla gösterirler. Her lipofilik hormonun, regüle ettiği genin promotör bölgesinde bulunan⁵ ve hormonun özgüllüğünü belirleyen bir HRE yapısı mevcuttur.¹⁴ Lipofilik hormonlardan olan tiroid hormonlarının özgül nükleer etkisini gösterdiği yanıt elementi TRE (tiroid hormon yanıt elementi)'dir. Hormon, nükleer reseptörü (TR) ve diğer elemanlar [retinoik asit X reseptör (RXR), koaktivatör] ile kompleks oluşturmuş halde TRE'ye bağlanır.^{14,15,71,72}



Şekil 2.5. Tiroid hormonların genomik etki mekanizması⁷²

Ligand (hormon) bağlı değilken TR, homodimerize⁷¹ veya RXR ile heterodimerize^{14,70,71} halde önce TRE'ye⁵, daha sonra bir korepresöre bağlanarak gen ekspresyonunu baskılar. Ligand bağlayıcı domaine tiroid hormonun bağlanmasıyla

karboksiterminal heliks12 değişikliğe uğrar. Bu durumda korepresör bağlanması bozulur, koaktivatör bağlanır. Bu bağlanma polimeraz III'ün aktifleşmesine ve sonuçta gen transkripsiyonunun başlamasına yol açar (Şekil 2.5.).^{15,71,72}

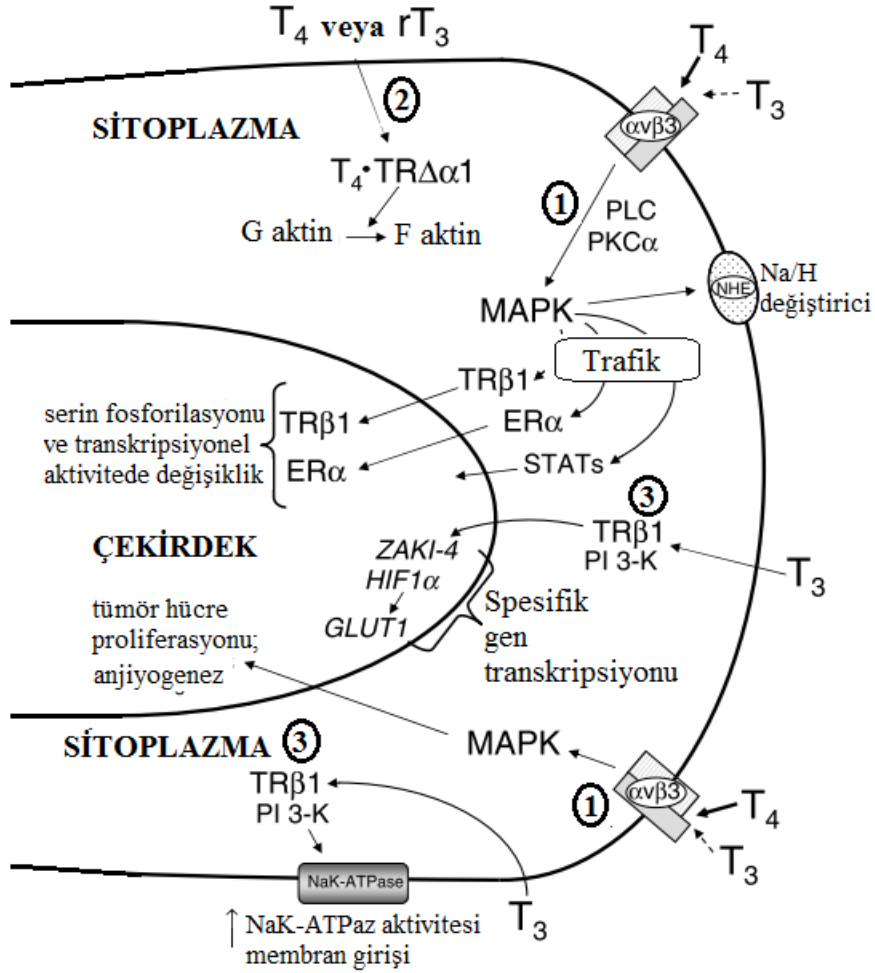
2.2.4.2. Nongenomik Etki Mekanizması

Tiroid hormonların nongenomik hareketi için bir plazma membran reseptörü veya sitoplazmada lokalize nükleer reseptörler gereklidir.

Plazma membran reseptörü üzerinden etki: Hücre yüzey reseptörü, tüm hücrelerin plazma membranının yapısal bir proteini olan integrin $\alpha V\beta 3$ 'ün üzerinde bulunur. Tiroid hormon reseptör domaininin, ekstraselüler proteinlerin integrin tarafından bağlanmasında önemli olan Arg-Gly-Asp tanıma bölgesinin üzerinde veya yakınında lokalize olduğu bildirilmektedir. T₄ hormonun reseptöre bağlanması mitojen ile aktiflenmiş protein kinaz (MAPK) sinyal iletim kaskadını harekete geçirir (Şekil 2.6, 1 yolu) [fosfolipaz C (PLC) ve protein kinaz Ca (PKC α) aracılığıyla]. T₄ ile aktive edilmiş MAPK, TR $\beta 1$ 'in serin üzerinden fosforilasyonu, intraselüler protein trafiğinin modülasyonu ve sodyum/proton değiştirici (NHE) membran iyon pompasının aktivasyonu, anjiyogenez ve tümör hücre proliferasyonu gibi birçok olaya aracılık eder. T₃ de integrin reseptör üzerinden etki gösterebilir. Ancak nükleer reseptördeki durumun aksine, T₄'ün bu reseptöre affinitesi T₃'ten daha yüksektir.⁷⁰

Sitoplazmada lokalize nükleer reseptörler üzerinden etki: Bu etkide sitoplazmada lokalize olan, nükleer TR $\alpha 1$ 'in bir türevi (TR $\Delta\alpha 1$) ve TR $\beta 1$ rol oynar. TR $\Delta\alpha 1$, T₄ ve rT₃ hormonlarının sinyaline aracılık ederken (Şekil 2.6, 2 yolu) TR $\beta 1$, T₃'ün sinyaline aracılık eder (Şekil 2.6, 3 yolu). Sitoplazmik TR $\Delta\alpha 1$ üzerinden olan etki globüler aktinin fibröz aktine dönüşümüyle sonuçlanır ki bu, santral sinir sisteminin normal gelişimi için gerekli olan hücre hareketinde önemlidir. Sitoplazmik TR $\beta 1$, fosfatidilinozitol 3-kinaz sinyal iletim yolağını harekete geçirir. Bu durum, membranda

yerleşmiş birçok pompada değişikliğe, artmış Na/K-ATPaz aktivitesine ve bazı spesifik genlerin (ZAKI-4 ve HIF1 α gibi) tanskripsiyonuna yol açar.⁷⁰



Şekil 2.6. Tiroid hormonlarının nongenomik etki mekanizması

2.2.5. Tiroid Hormonlarının Genel Biyolojik Etkileri

Tiroid hormonları, memelilerde büyüme, gelişme, enerji tüketiminin kontrolü, termogenez ve cinsel olgunlaşma için vazgeçilmezdir. Bu hormonlar özellikle iskelet ve fetal beyin gelişiminde kritik rol üstlenmekte olup intrauterin eksiklikleri mental retardasyona ve cüceliğe neden olur (kretenizm). Metabolik hızı arttırıcıdırlar.^{14, 61,64,71} Tiroid hormon salgısının artmasıyla metabolizma hızının %60-100 oranında artabildiği, salgının ortadan kalkmasıyla hızın normal haldekinin %40'ının altına düştüğü ifade

edilmektedir.⁵⁷ Tiroid hormonları eritrositlerde 2,3-difosfoglisarat konsantrasyonunu arttırarak oksijenin dokulara salıverilmesini kolaylaştırır, ATP'nin yapım ve kullanımını arttırır. Böylece oksijen ve enerji tüketimini arttırırlar.^{14, 61,64,71} Ayrıca mitokondrilerde oksidasyon olaylarını hızlandırır, membran yapısında yer alan enzimlerin aktivitesini kontrol ederler.⁷³ Mitokondriyal protein sentezinin ve oksidatif fosforilasyonla oksijen tüketiminin arttırılması sonucunda ATP'nin yapımı sağlanırken Na^+/K^+ -ATPaz aktivitesinin uyarılmasıyla ATP'nin kullanımına ve sonuçta termogenik etkinin oluşmasına neden olurlar. Kalp atım hızı ve kasılmasının uyarılması; protein sentezi ile karbohidrat metabolizmasının hızlandırılması; kolesterol ve trigliserit sentez ve yıkımının uyarılması; vitamin gereksiminin artması ve katekolaminlere karşı β -adrenerjik reseptörlerin duyarlılığının arttırılması bu hormonların diğer etkileridir.^{14, 61,64,71}

2.3. Tiroid Hormonlarının Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkisinin Mekanizması

Doku üzerine metabolik ve termoregülatör etkilerinin yanında tiroid hormonları kalp ve vasküler sistemi etkileyerek kardiyak performansı da regüle eder.⁵

T_3 'ün çoğunlukla, periferel dokularda T_4 'ten 5'-monodeiyodinaz aktivasyonuylu üretildiğı yukarıda belirtilmişti. Deiyodinazlar, kalp dokusunda aktif tiroid hormon formu olan T_3 'ün hazırda bulunmasını kontrol eder ve T_3 'ün kardiyak düzeylerini regüle eder. T_3 , hem kardiyak morfolojisini hem de kardiyak performansı muhafaza etmede önemlidir. Bu yüzden kalp, T_3 'ün lokal düzeylerinin azalışına özellikle hassastır. Tiroid hormon genomik ve nongenomik olarak kardiyak performansı etkiler ve strol volüm ile kalp hızını etkileyerek kardiyak outputu arttırır. Tiroid hormonun fizyolojik etkilerinin çoğı genomik nükleer etkilidir. Bu etkiler T_3 'ün spesifik nükleer reseptörlerine (TR) bağlanması sonucu meydana gelir. İnsan kalbinde iki TR geni eksprese edilir ($\text{TR}\alpha$ ve

TR β) ve bu genlerin herbiri reseptörlerin iki izoformunu (TR α 1, TR α 2, TR β 1 ve TR β 2) üretir.⁵ TR α , kalpte bol bulunan baskın reseptör izoformudur.^{5,71} TR α 1, T₃'ü yüksek afiniteyle bağlar ve bu yüzden fizyolojik fonksiyonların regüle edilmesini sağlayan fonksiyonel bir reseptördür. Aksine TR α 2, DNA üzerindeki TRE'ye bağlanır ancak T₃'ü bağlamadığından negatif bir düzenleyici olarak hareket eder ve TR α 1 transkripsiyonunu baskılayarak fonksiyon görür. Reseptörlerin T₃ tarafından işgalini (kofaktörlerle kombineli olarak) hormon reseptör kompleksinin spesifik DNA dizilerine bağlanması veya dizilerden ayrılması izler ki sonuçta spesifik hedef genlerin transkripsiyon hızı modifiye edilir.⁵

Sarkoplazmik retikulum kalsiyum ATPaz (SERCA2), α -miyozin ağır zincir (α MHC), β 1 adrenerejik reseptörler, Na/K ATPaz, voltaj kapılı potasyum kanalları (3 ve 4) ve guanin nükleotit regülatör proteinler T₃ ile transkripsiyonel olarak düzenlenen önemli yapısal ve fonksiyonel kardiyak proteinlerdir. Ayrıca T₃ vasküler düz kas hücrelerinde anjiotensin reseptörlerinin ekspresyonunu da modüle eder. β MHC, fosfolamban Na/Ca exchanger, TR α 1 ve adenilil siklaz tip V ve VI kardiyak genleri ise T₃ ile negatif olarak düzenlenir.⁵

Kardiyak miyosit ve periferal vasküler resistans üzerine tiroid hormon nongenomik etkileri nükleer reseptöre bağlanmayı gerektirmediğinden çok hızlı bir şekilde başlar. Bu etkiler plazma membranından iyon (Ca, Na ve K) transportunu glukoz ve amino asit transportunu kapsar.⁵

Yetişkin kalbinde tiroid hormonları proanjiogenik etkiye sahiptir ve miyokard enfarktüsü sonrası yanı sıra normal kalpte de arteriyolar büyümeyi stimüle edebilir. Proanjiogenik etki hem nongenomik hem de genomik mekanizmalar aracılığıyla oluşur.⁵

2.4. Hipertiroidi

Tiroid bozuklukları arasında hipertiroidizm, hipotiroidizm, tiroid ile ilişkili olmayan hastalıklar (nonthyroid illness, NTI), ötiroidi hastalık sendromu ile ilaç kullanımına bağlı hastalıklar bulunmaktadır.⁶¹

2.4.1. Tanımı ve Prevalansı

Hipertiroidizm, aşırı aktif tiroid veya tiroid hormonlarının (T_3 ve/veya T_4) aşırı üretilmesi olarak tanımlanır. Hipertiroidizmde baskılanmış TSH, yüksek veya yüksek-normal T_3 ve/veya T_4 seviyeleri mevcuttur (aşikar hipertiroidide serum TSH düzeyleri azalmış, T_3 veya T_4 artarken; subklinik hipertiroidide tiroid hormonların normal konsantrasyonuna rağmen TSH baskılanmıştır). Tiroid disfonksiyonu yaygındır. Birleşik Devletler popülasyonunun %1.2'sinde hipertiroidizm mevcuttur (aşikar hipertiroidi %0.5, subklinik hipertiroidi %0.7)⁷⁴ Prevalansı yaşla artar⁷⁵ ve kadın cinsiyette daha yüksektir.³ Vakaların %15'i 60 yaş üzerindedir.² Prevalans kadınlarda %2, erkeklerde %0.2 olarak tahmin edilmektedir.⁴

2.4.2. Nedenleri ve Semptomları

Graves hastalığı (vakaların yaklaşık %80'inde), toksik nodüler guatr veya subakut tiroiditin tirotoksik aşaması hipertiroidinin yaygın nedenidir⁴ (Normal popülasyondan farklı olarak yaşlılarda hipertiroidinin en sık nedeninin toksik nodüler guatr olduğu ifade edilmektedir⁷⁵). Hipertiroidinin daha az görülen nedenleri Hashimoto tiroiditinin erken fazı, iyot veya ilaçla indüklenmiş hipertiroidizm ve tiroid hormonunun egzojen alımıdır. Nadiren, neoplazmalar (örneğin, germ hücre veya hipofiz adenomları) veya tiroid hormonuna hipofiz direnci de hipertiroidiye yol açabilir.⁴

Hipertiroidizmin en yaygın formu olan Graves hastalığı otoimmün bir bozukluktur. Bu hastalıkta tiroidi sitümlü eden ve böylece aşırı miktarda hormon sentezine neden olan antikor (IgG antikor)¹ üretimi söz konusudur.^{2,8,57} Tiroid stimüle

edici immunglobulin (TSI) olarak adlandırılan bu antikorların, TSH'n bağlandığı reseptörlere bağlanarak cAMP sistemini sürekli aktive ederek hipertiroidiye neden olabileceği ifade edilmektedir.¹ TSI üretimi negatif feedback kontrolü ile denetlenemez ve böylece tiroid büyür, T₃ ve T₄ üretimi kontrolsüz bir şekilde devam eder.^{1,2,8,40,57} ve tiroid bezi büyümesinin sonucu olarak bir toksik guatr oluşabilir. Hipertiroidizm tedavi edilmez ise özellikle kardiovasküler ve iskeletle ilgili komplikasyonlardan⁷⁵ dolayı morbidite ve mortalitede artışa neden olur.⁸

Bazal metabolizma ve birçok sistem fonksiyonunda hızlanma, diplopi, dispne, yorgunluk, sıcağa ve ışığa duyarlılık, egzoftalmi, barsak motilitesinde artış, diyare, iştahta artışa rağmen kilo kaybı (artan total enerji tüketiminden dolayı⁶) aşırı terleme, kas güçsüzlüğü, emosyonel labilite (sinirlilik), hiperrefleksi, uyku bozuklukları, tremor, taşikardi, atrial fibrilasyon, tiroid bezi boyutlarında artış, kadınlarda oligomenore/amenore ve azalmış doğurganlık, erkeklerde azalmış libido ve jinekomasti hipertiroidide karşılaşılabilen semptomlardır.^{2,3,64,76}

2.5. Hipertiroidi ve Kalp Dokusu

Kardiyovasküler sağlık için normal endokrin fonksiyon önemlidir. Endokrin sistemdeki bozukluklar kardiyovasküler sistem üzerinde çoklu etkiye sahiptir.³ Kalp, tiroid hormonların ana hedef organlarından bir tanesidir ve bu yüzden tiroid hormon durumundaki herhangi bir değişiklik kardiyak fonksiyonları direk olarak etkiler. Hipertiroidili hastalarda sıklıkla mevcut olan kardiyovasküler sistemle ilgili bulgu ve semptomlar ile bunların prevalansı^{3,77} Tablo 2.1'de verilmiştir.

Hipertiroidizm önemli hemodinamik, kardiyak ve renal değişikliklerle birlikte olan endokrin bir hastalıktır.⁴⁵ Kardiyovasküler sistem hipertiroidinin başlıca etkilediği sistemler arasında olup⁷⁵ hipertiroidizmde kardiyak output, kalp hızı ve nabız basıncı artar; sistemik vasküler direnç azalır; taşikardi, aritmi ve ateroskleroz görülür.^{15,45,78} T₄

ile indüklenmiş hipertansiyon sonucu kardiyak hipertrofi oluşur.⁴⁵ Hipertiroidi tedavi edilmez ise atrial fibrilasyon, kalp yetmezliği, pulmoner hipertansiyon,⁴ anjina pectoris ve strok gibi kardiovasküler komplikasyonlardan⁷⁶ dolayı morbidite ve mortalitede artışa neden olur.^{8,79} Hipertiroidinin en yaygın kardiyak komplikasyonu olan atriyal fibrilasyon,^{4,77} inmeyle sonuçlanabilen embolik riske sahiptir.⁴

Tablo 2.1. Hipertiroidinin kardiyovasküler belirtileri ve bulguları

Semptom ve bulgular	Prevalans (%)	Semptom ve bulgular	Prevalans (%)
Çarpıntı	85	Geniş (Wide) nabız basıncı	75
Egzersiz intoleransı	65	Hiperaktif prekordiyum	75
Nefes darlığı	50	Sistolik murmurs	50
Yorgunluk	50	Sistolik hipertansiyon	30
Taşikardi	90	Atriyal fibrilasyon	15
Bounding pulses	75	Anjina pectoris	5

Tiroid hormon kaynaklı disfonksiyonun mekanizması multifaktöryeldir. Artan sinoatriyal aktivite, atrial etkinlik için daha düşük bir eşik ve kısalmış atriyal repolarizasyon nedeniyle kalp hızı artar. Renin-anjiyotensin sisteminin aktivasyonu sonucu, hacim preloadı artar. Artan metabolik talep ve kalp kası üzerine T₃'ün doğrudan etkisi sonucu kontraktilite artar. T₃ kaynaklı periferik vazodilatasyon sonucu sistemik vasküler direnç azalır. Bu etkilerin toplamı kardiyak outputta belirgin bir artış olmasıdır. Ayrıca tiroid hormonlarının pıhtılaşma ile ilgili etkileri de vardır. Hipertiroidizmin artan tromboz riski ile ilişkili olduğu bildirilmektedir.⁴

2.6. Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres

Oksijen organizmada enerji üretiminin esas bileşenidir. Normoksik şartlarda hücrel oksijen konsantrasyonu ne hipoksiye neden olacak kadar çok düşüktür ne de hasara yol açacak kadar yüksektir. Dokulardaki %0.5-5'lik göreceli düşük oksijen

konsantrasyonu hücreyi oksidatif hasardan korur. Aşırı yüksek oksijen konsantrasyonu çoğu yaşamsal yapılar için tehlikeli ve toksiktir.⁹

Oksijen molekülünden değişik sayıda serbest radikal veya oksidan molekül meydana gelebilmektedir. Serbest radikal, atomik veya moleküler yapısında eşleşmemiş tek elektron içeren kararsız (kısa yarı-ömürlü)^{12,53} moleküllerdir.¹⁴ Süperoksit (O_2^-), hidroksil ($\cdot OH$), alkoksil ($LO\cdot$) ve peroksil ($LOO\cdot$) gibi serbest radikaller ile serbest radikal olmayan hidrojenperoksit (H_2O_2) ve lipidhidroperoksit ($LOOH$) gibi bileşikler oksijenden türeyen yüksek derecede reaktif moleküller olup bunlara reaktif oksijen türleri (ROT) denilmektedir.^{15,53,80,81} ROT ekzojen veya endojen kaynaklı olarak oluşabilir. Başka bir deyişle radyasyon, toksik kimyasallar, metaller, sigara, alkol, vs. gibi dış etkenlerle ROT oluşabildiği gibi ETZ'de oksijenin indirgenmesi esnasında, vücutta gerçekleşen bazı enzimatik veya nonenzimatik reaksiyonlar sırasında da ROT üretilir.¹⁴

Metabolik prosesin bir parçası olarak hücreler sürekli ROT üretir,^{9,13,53} ve ROT, birçok biyolojik proseste önemli rol oynar.^{14,15,17,45} ROT, inflamasyonun modülasyonundada önemli etkilere sahiptir.¹⁵⁻¹⁷ İnflamatuvar yanıtta nötrofiller ve fagositik vukuollerde çeşitli reaksiyonlarla bakteriler için toksik veya öldürücü olabilen H_2O_2 ve süperoksit radikali oluşturulmakta böylece bakteriler etkisiz hale getirilmektedir.¹⁴ ROT, sinyal iletiminde,¹⁶ bazı transkripsiyon faktörlerinin modülasyonunda, hücre proliferasyonunda ve büyümede görev alır. Ayrıca DNA sentezini stimüle eder ve büyümeyle ilişkili bazı genlerin ekspresyonunu uyarır.¹⁵

ROT fizyolojik konsantrasyonlarda yararlı etkiye sahiptir. Yukarıda da ifade edildiği gibi ROT'un aşırısı hücrede hasara neden olur. ROT'un zararlı etkileri antioksidan savunma sistemi olarak adlandırılan bir sistem tarafından nötralize edilir [Antioksidan savunma sistemi enzimatik antioksidanlar (süperoksit dismutaz (SOD),

katalaz (CAT), glutatyon perosidaz (GPX)) ve nonenzimatik antioksidanlardan (A, E, C vitaminleri, flavonoidler, glutatyon, ubikinon, ürik asit, bilirubin, ferritin ve enzim kofaktörleri olan mikrobeyinler (Fe, Cu, Se, Zn, Mn)) oluşur]. Normal şartlar altında organizmada ROT ile antioksidanlar arasındaki bir denge vardır.^{15,18,20,83} Aşırı ROT üretimi durumunda ve/veya antioksidan savunmanın yetersiz kalması durumunda bu denge bozulur. Bunun sonucunda oksidatif stres (ROT üretimi ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengesizlik) denilen tablo meydana gelir.^{9,15,16,19,42,83} Oksidatif streste antioksidan savunmanın tamponlama kapasitesi aşılmış olup⁸¹ oksijen redüksiyonu tamamlanamamıştır.¹⁵

Aşırı yükselmiş ROT seviyeleri, özellikle antioksidan enzimler yetersiz kaldığında, lipid, protein, nükleik asit ve karbohidrat gibi birçok biyomolekülde oksidasyona yol açar.^{14-16,20,80,82} Lipidlerin peroksidasyonuna neden olarak hücre membranı ve selüler organel membranlarında hasara yol açar. Proteinlerin modifikasyonu sonucu kritik enzimlerin inaktivasyonuna ve denaturasyonuna neden olur. DNA zincirinde kırılmalar sonucu mutajenezeye neden olup böylece önemli derecede gen ekspresyonunu etkiler.¹⁵ Oksidatif stres çeşitli patolojik değişikliklere yol açar.¹⁸ Artmış ROT, kanser, diyabet, nörodejeneratif ve kardiyovasküler bozukluk gibi pekçok hastalıkta işe karışmaktadır.^{16,42,83,84} Ayrıca yaşlanmadan ve kardiyovasküler sistemlerdeki yaşla ilişkili değişikliklerden de ROT'un uzun dönemdeki kümülatif etkileri sorumlu tutulmaktadır.¹⁵

Biyolojik sistemlerde oksidatif stresin değerlendirilmesinde 3 metot kullanılır:⁵⁴

1. Serbest radikallerin direk dedeksiyonu: Spin rezonans teknik ROT'un direk ölçümünde başvurulabilecek bir teknik olmasına rağmen bu teknikte kullanılan maddelerin toksisitesinden dolayı insan için pratik bir teknik değildir.

2. Lipid, protein ve DNA oksidatif hasar ürünlerinin ölçümü: MDA, PCO, 8-OHdG vb. oksidatif hasar ürünlerinin ölçümünü kapsar.

3. Antioksidanların ölçümü: Enzimatik antioksidanların (SOD, CAT, GPX), antioksidan vitaminlerin (A, E, C) flavonoidlerin, indirgen ile okside glutatyonun ve total antioksidan kapasitesinin ölçümünü kapsar.

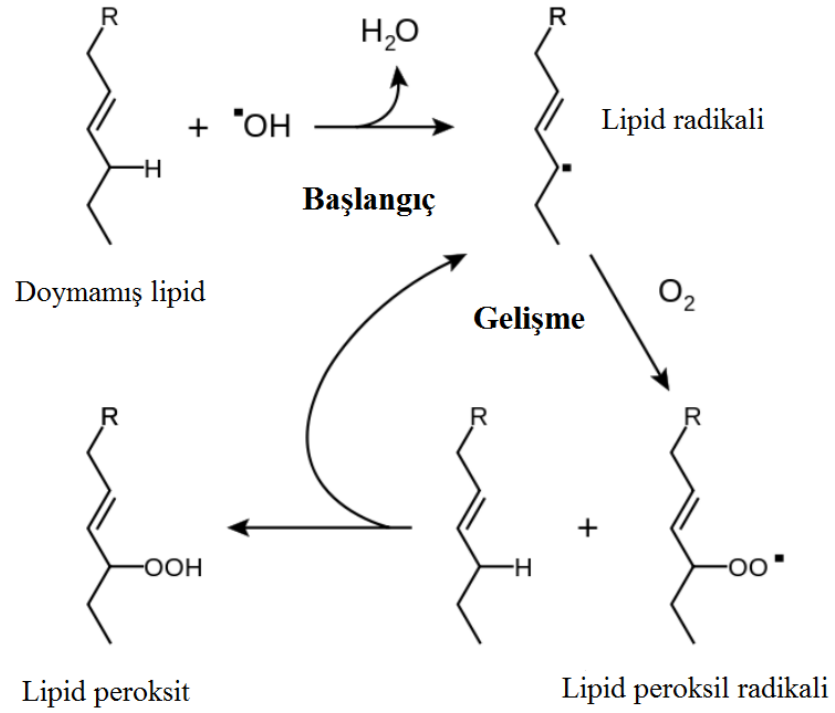
Doku ve vücut sıvılarında çok fazla sayıda bulunan antioksidanı ayrı ayrı ölçmek zor olduğundan bazen biyolojik örneklerde total antioksidan kapasite (TAK) denilen ve bütün antioksidanların toplamına karşılık gelen değer ölçülmektedir.^{12,23,29,54} Ancak besinsel etkilerden ve oksidatif strese adaptasyondan dolayı TAK'daki değişiklikleri yorumlamanın zor olacağı unutulmamalıdır.⁵⁴ Benzer şekilde total oksidan durum (TOD) denilen değer de ölçülerek toplam oksidan durumu değerlendirilebilmektedir.^{12,23,29}

2.7. Lipid Peroksidasyonu ve Malondialdehit

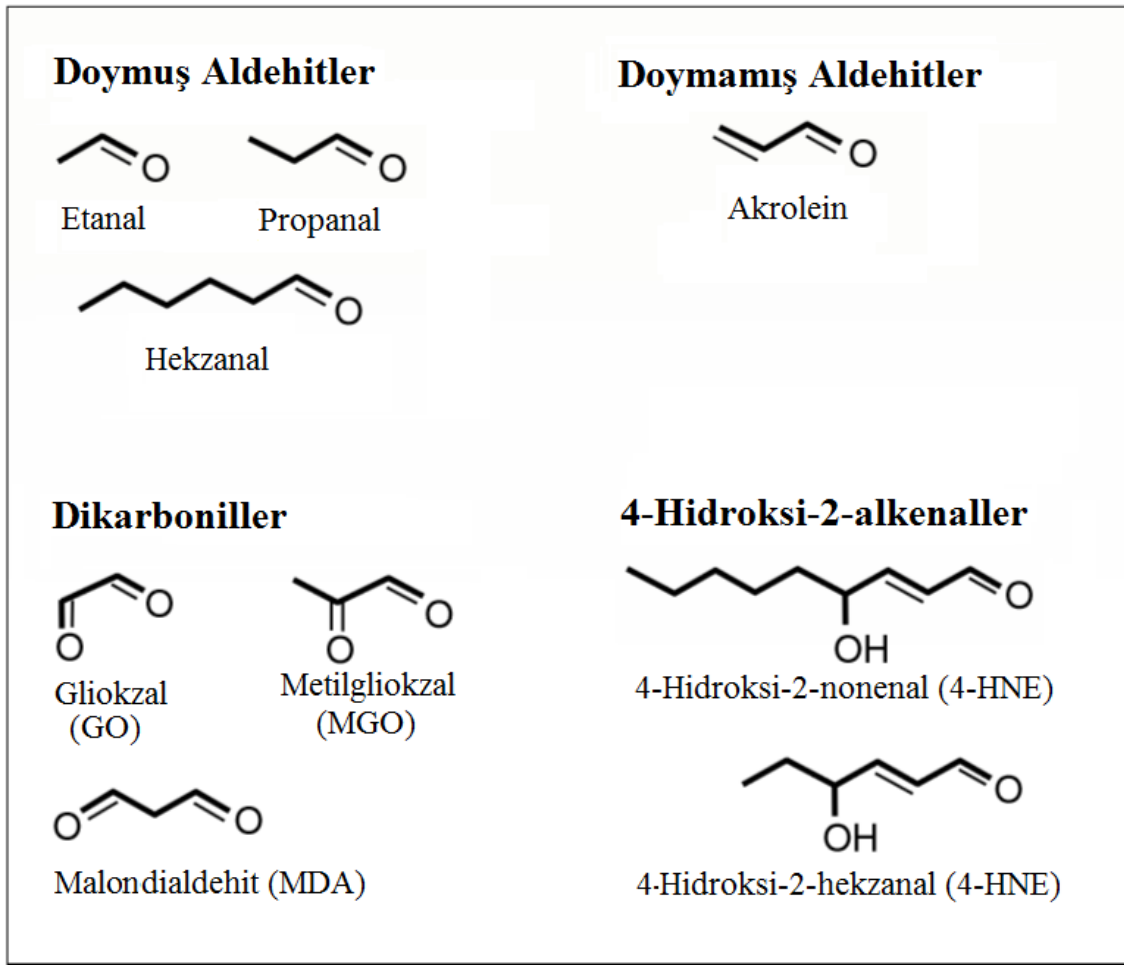
Lipidlerin ROT tarafından etkilenen biyomoleküllerden olduğu yukarıda ifade edilmişti.^{14,21,22} Lipidler ROT'un etkilerine oldukça hassastır.^{14,24,85} Membran yapısına veya lipoprotein bileşimine katılan doymamış yağ asitleri oksidasyonla lipid peroksit oluştururlar (Şekil 2.7.).^{30,86} Lipid oksidasyonu, kardiyovasküler hastalığın dahil olduğu çeşitli makrovasküler hastalıkların oluşmasında önemli rol oynar.⁸²

Lipid peroksidasyonu sonucu membran bütünlüğünün bozulması ve hasar görülmesinin yanı sıra hücrede toksik etki yapan biyolojik olarak aktif ürünler de oluşur (Şekil 2.8.).^{24,25,35,85} Bu ürünlerden bir tanesi olan malondialdehit (MDA), üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucu meydana gelir.^{21,22,24,25,85} MDA, mutajenik^{21,22} ve karsinojenik^{14,85} özelliklere sahip bir dialdehittir. Lipid peroksidasyon ürünü bu bileşik DNA ve proteinlerle reaksiyona girmekte ve bu biyomoleküllerin yapısında değişikliğe neden olmaktadır.^{14,18,31,35,81,87,88} Nükleik

asitlerde baz değişimi ve zincir kopması sonucu kromozomal yapıda olan değişiklikler sitotoksositeye; proteinlerin yapısındaki modifikasyonlar ise proteinlerin sekonder ve tersiyer yapısında (dolayısıyla fonksiyonlarında) bozulmaya yol açmaktadır.^{14,32,89} MDA lipid peoksidasyonunun büyüklüğü ile iyi bir korelasyon gösterir.^{21,22,85} Bu yüzden MDA, lipid peroksidasyon durumunun belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır.^{4,21,22,25,26,28}



Şekil 2.7. Lipid peroksidasyonu



Şekil 2.8. Lipid peroksidasyonu ile oluşan MDA ve diğer reaktif karbonil bileşikler³⁵

2.8. Protein Oksidasyonu ve Protein Karbonilasyonu

Protein oksidasyonu, proteinlerin ROT ile direkt veya oksidatif stresin sekonder ürünleri ile indirekt reaksiyonu sonucu meydana gelen modifikasyonudur. Tanımdan da anlaşılacağı üzere protein oksidasyonu sadece ROT ile indüklenmez aynı zamanda ROT etkisiyle oluşan lipid peroksidasyon ürünleri [MDA, 4-hidroksi-2-nonenal (4-HNE), 2-propenal vb.] ve şeker glioksidasyon ürünleri de proteinlerin aminoasit içeriğinde modifikasyonlara neden olmaktadır^{18,31,35,81,87,88} (Şekil 2.9.). Modifikasyon ile proteinler, polipeptit zincirlerinin fragmentasyonu ile düşük molekül ağırlıklı ürünler oluşturabilir veya protein-protein çapraz bağları ile yüksek molekül ağırlıklı ürünlere dönüşebilirler.^{14,32,89} Meydana gelen oksidatif değişiklikler hücrede önemli roller

üstlenen proteinlerin fonksiyonlarını etkiler. Oksidasyonla proteinlerin üç boyutlu yapısı bozulur. Bunun sonucunda protein agregasyon ve fragmentasyon hızında artış, enzim aktivitesinde azalma, protein fonksiyonlarında azalma, proteaz inhibitör aktivitesinde kayıp, proteolize artmış/azalmış yatkınlık, reseptör aracılı endositozda bozulma, gen transkripsiyonunda değişiklik, immünojen aktivitede artış görülür.^{32,89} Proteinlerin oksidatif modifikasyonu, kalp-damar sistemi rahatsızlıkları dahil bir çok bozukluk ile hastalığın etyolojisinde ve ilerlemesinde rol oynar.^{31-35,84}

PCO oluşumu, tiyol gruplarının kaybı, nitrozin oluşumu ve ileri oksidasyon protein ürünlerinin oluşumu protein oksidasyonuna yol açan başlıca moleküler mekanizmalardır. Oksidasyonla ilgili mekanizmaların çokluğundan dolayı proteinlerin oksidatif modifikasyonu ile ilgili kabul edilen genel bir sınıflandırma yoktur.^{31,32} Buna karşın oksidasyonun oluştuğu rezidünün ve oluşan ürünün özelliğine göre oksidasyon iki gruba ayrılabilir:

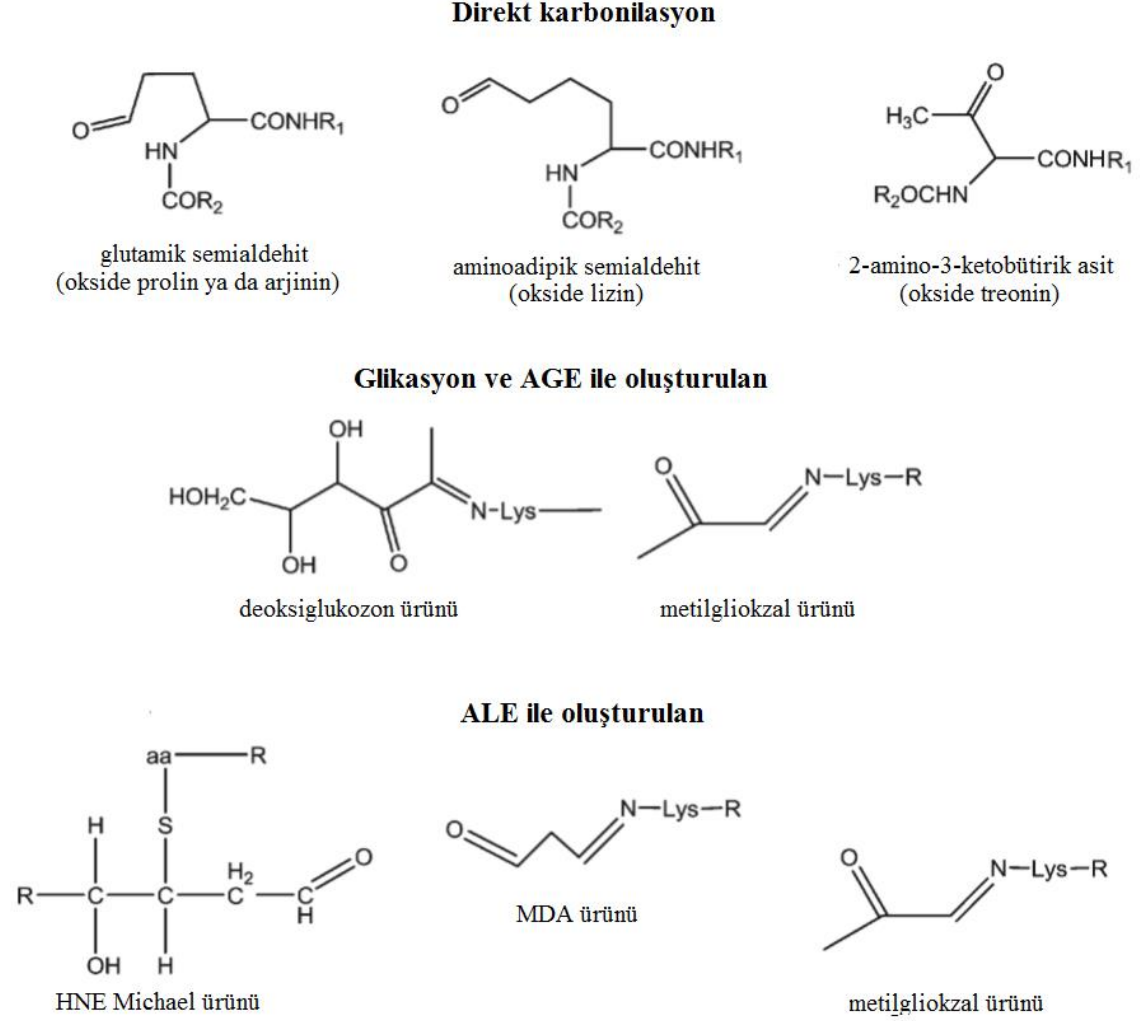
- 1. Global modifikasyon:** Bu modifikasyon türünde birden fazla rezidü okside olur ve birden fazla ürün oluşur. Karbonil gruplarının oluşumu bu modifikasyona örnektir.
- 2. Spesifik modifikasyon:** Spesifik bir rezidünün oksitlenerek spesifik bir ürün oluşturduğu modifikasyon çeşididir. Ditirozin oluşumu gibi.

2.8.1. Karbonil Gruplarının Oluşumu

PCO grupları protein oksidasyonunun majör formudur ve en çok kullanılan protein oksidasyon indikatörüdür.^{35,53,81,84} Genel olarak üç tip amino asit modifikasyonu PCO oluşumuna neden olur.^{35,81} Bunlar:

- 1. Direkt karbonilasyon:** Belli amino asit yan zincirleri üzerine (Glu, Thr, Asp, Lys, Arg ve Pro) ROT'un direk atağıyla oluşur.
- 2. Glikasyon ve ileri glikasyon son ürünleri (AGE) ile modifikasyon:** Şeker ve ileri glikasyon son ürünleri tarafından meydana getirilen modifikasyondur.

3. **İleri lipid peroksidasyon son ürünleri (ALE) ile modifikasyon:** MDA ve 4-HNE gibi lipid peroksidasyon ürünleri tarafından histidin, sistein ve lizin rezidülerinin modifikasyonu bu türdendir.



Şekil 2.9. Bazı karbonilasyon ürünlerinin yapıları

R: Polipeptit dizisi, aa: Lizin, histidin veya sistein

PCO birçok farklı mekanizma ile ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca stresin erken dönemlerinde oluşur ve oluşan ürün uzun süre stabil olup basit ve duyarlı yöntemlerle ölçülebilmektedir. Dolayısıyla PCO grupları, proteinlerdeki oksidatif hasarın en genel belirteci olarak kabul edilmekte ve yaygın olarak kullanılmaktadır.^{26,27,31,33,53,84}

PCO, UV ve görünür bölgede ayırt edici bir absorbansa/floresansa sahip olmadığından direkt olarak belirlenemez. Bu yüzden dedeksiyonda bazı spesifik kimyasal problemler kullanılır. Bu çalışmada kullanılan 2,4-dinitrofenilhidrazin (DNPH) bu problemlerden bir tanesidir.^{81,84}

2.9. Oksidatif Streste DNA Hasarı ve 8-Hidroksi-2-Deoksiguanozin

Çeşitli faktörlerin etkisiyle genetik materyalin moleküler bütünlüğünde meydana gelen tüm değişiklikler DNA hasarı olarak tanımlanır. Bu değişiklikler, replikasyon ve rekombinasyon gibi hücresel olaylar sırasında ve bazı hücresel metabolitlerin (ROT) etkisiyle endojen olarak oluşabileceği gibi çevresel faktörler, ilaç ve bazı kimyasal ajanların etkisiyle ekzojen olarak da oluşabilir.³⁶ DNA hasarı, hücrenin yaşamı boyunca sıklıkla karşılaştığı bir olaydır.^{9,36} İnsan vücudunda her hücrede günde 2×10^4 DNA hasarı olduğu tahmin edilmektedir. ROT bu hasarın önemli bir bölümünü oluşturmaktadır. DNA hasarı tamir mekanizmalarıyla sürekli olarak tamir edilmektedir. DNA’da meydana gelen düşük seviyedeki hasar minimal hatayla etkin bir şekilde onarılırken yüksek düzeylerdeki oksidatif hasar mutasyon, kanser, yaşlanma ve sonuçta hücre ölümüne yol açabilir.⁹ ROT, oksidatif DNA hasarına, protoonkogen ve tümör suprasör genlerde mutasyona neden olarak karsinogeneze katılmaktadır. Bir transkripsiyon faktörü olan P53 bu suprasör genlerde bir tanesidir ki birçok prooksidan ve antioksidan genin ekspresyonunu regüle eder.^{20,90}

Oksidatif strese maruziyet sonucunda, DNA üzerinde baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, abazik bölgeler, DNA-protein çapraz bağlanmaları meydana gelir.^{9,20,36} Çekirdek DNA’sının yanı sıra mitokondriyal DNA (mtDNA)’da da oksidatif hasar meydana geldiği dahası mitokondriyal DNA’da hasarın çekirdek DNA’sına göre en az 10 kat daha fazla olduğu bildirilmektedir. mtDNA’nın mitokondride serbest radikal oluşturan bölgelere (elektron taşıma zinciri gibi) çok yakın

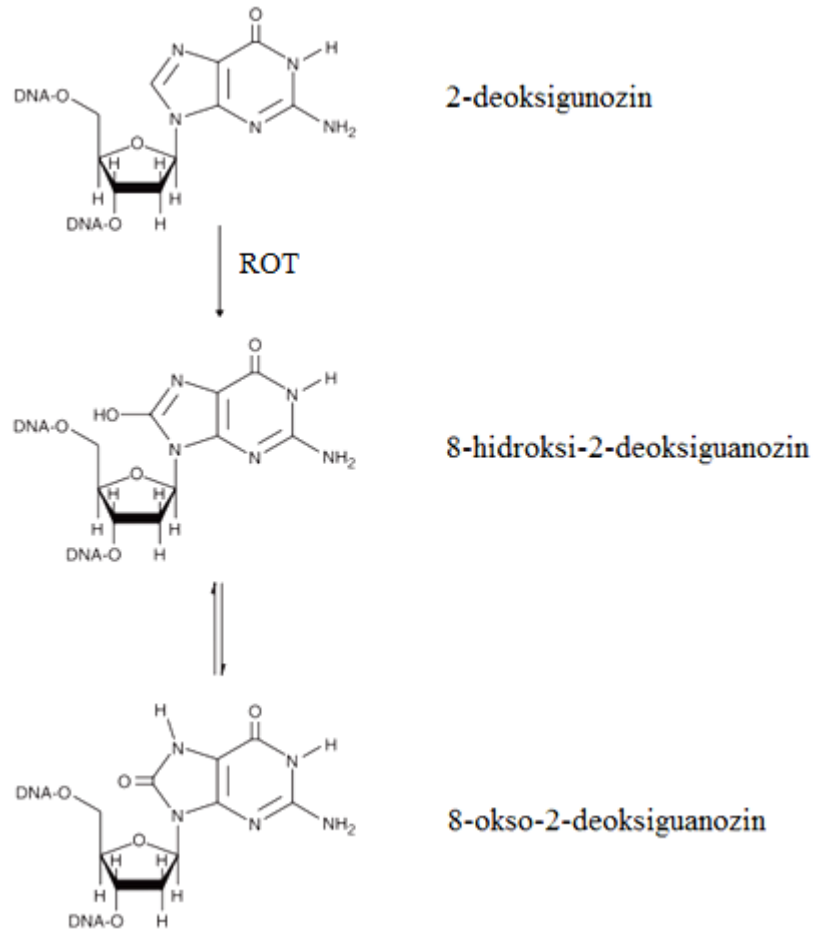
yerleşim göstermesi ve histonlar tarafından korunamaması, mtDNA'nın en önemli hücre içi ROT kaynağı olması, DNA hasar onarım sisteminin yetersiz olması mtDNA'da hasarın daha fazla görülmesinin olası nedenleri olarak sayılmaktadır.^{36,90}

Oksidatif DNA hasarının belirlenmesinde birçok tekniğin kullanıldığı ve bu tekniklerin çoğunun sadece bir hasar ürünü ölçülebildiği, bununla birlikte kütle spektrometrik tekniklerle hasar ürünleri hakkında daha fazla bilgi alınabileceği ifade edilmektedir. ROT'un DNA'da 20'den fazla hasar ürününün oluşmasına neden olduğu bildirilmektedir. 8-OHdG bu hasar ürünlerinden bir tanesidir. 8-OHdG, oksidatif DNA hasarının direkt belirteci olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarının tayininde en sık kullanılan ürün olarak karşımıza çıkmaktadır.^{26-28, 36,37}

2.9.1. Guanininin 8-Hidroksi-2-Deoksiguanozine Oksidasyonu

Guanin bazı, oksidasyona en yatkın DNA bileşenidir ve düşük iyonizasyon potansiyeline sahiptir. Guaninin, 4, 5 ve 8. pozisyonlarındaki karbon atomları üzerinden OH radikali ile reaksiyona girer ve DNA hasar ürünleri oluşturur. Bu hasar ürünlerinden biri olan 8-OHdG, guaninin 8. karbon atomuna hidroksil radikali atakları sonucu oluşur³⁶ (Şekil 2.10.).

8-OHdG, en sık karşılaşılan baz hasar ürünüdür ve mutajenitesi iyi bilinir. DNA replikasyonu sırasında G-C'den A-T'ye dönüşüme neden olarak mutasyona eğilimi artırır. Oksidatif DNA hasarının duyarlı bir göstergesi olup hasar tespitinde sıklıkla kullanılır.^{26,36}



Şekil 2.10. 2-deoksiguanozinin 8-OHdG'ye oksidasyonu

2.10. Hipertiroidi, Oksidatif Stres ve Kardiyak Fonksiyon

Hipertiroidizm, metabolizma hızının ve oksijen tüketiminin arttığı hipermetabolik bir durumdur.³⁹ Hipertiroidili hastalarda ROT'un arttığı bildirilmektedir.⁴⁶ Hipertiroidide oksidatif stresin arttığını gösteren birçok çalışma mevcuttur.^{15,9,45,46} Tiroid hormonun (T_3) kalorijenik etkilerinin ana hedefi olan mitokondri ile birlikte enerji metabolizması üzerine önemli rolü vardır. T_3 tarafından O_2 tüketiminin hızlandırılması hedef dokularda artmış ROT ve reaktif nitrojen türlerinin (RNS) üretimiyle birlikte hücrel antioksidanların daha fazla tüketimi ve antioksidan enzimlerin aktivasyonunda değişikliklerle ve böylece oksidatif stresin indüklenmesiyle sonuçlanır.^{15,39} Hipertiroidili hastalar üzerinde yürütülen bir çalışmada tedavi almamış hastaların yükselmiş MDA, SOD ve CAT ve azalmış GPX düzeylerinin antitiroid ilaçla

tedaviden sonra normal düzeylerde seyretmesi tiroid hormonların oksidatif stresle ilişkili parametreler üzerine etkisinin olduğunu gösterir.⁴⁶

TH'den dolayı oksidatif stres ile indüklenmiş doku hasarının bir primer intraselüler hedefi mitokondridir.¹⁵ Hipertiroidili kalpte mitokondri antioksidan kapasitesinin azaldığı ve bu durumun mitokondrilerin oksidanlara hassasiyetini arttırdığı vurgulanmaktadır.¹⁵ ROT'un koroner arter hastalığının patogenezinde önemli rol oynayabileceği öne sürülmektedir.¹⁵ ROT'un vasküler reaktiviteyi etkileyebileceği rapor edilmekte ve T₄'ün hipertansiyonu indüklediği bildirilmektedir. Moreno ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada hipertiroidizm, renal ve kardiyak dokudaki azalmış antioksidan enzim aktivitesi ile ilişkilendirilmiş, sıçanlardaki hipertiroidizmde artmış oksidatif stres parametrelerinin (plazma MDA, üriner 8-izoprostan) bir SOD mimesi olan tempol ile azaldığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada T₄ ile indüklenmiş hipertansiyonun ilerlemesinin tempol tarafından hafifletildiği de bulunmuştur.⁴⁵

2.11. Egzersiz, Oksidatif Stres ve Kalp Dokusu

Literatürde egzersizle ilgili çelişen sonuçlara rastlamak mümkündür.^{19,18,47-51} Bazı çalışmalar egzersizin lipid peroksidasyonunu azalttığını ve antioksidan parametreleri arttırdığını gösterirken^{47-49,51} bazılarında tam tersi durum söz konusu olabilmektedir.^{18,19,50}

Egzersizde şiddet ve süre önemli iki unsurdur. Egzersiz, şiddet ve süreye bağlı olarak oksidatif strese neden olabilmektedir. Fiziksel aktivite sırasında kas kontraksiyonları, enerji tüketimini ve metabolik aktiviteyi önemli ölçüde hızlandırmakta buna bağlı olarak oksijen tüketiminde artış olmaktadır. Hipertiroidide olduğu gibi ağır egzersizde artan oksijen tüketiminin sonucunda ROT açığa çıkabilmektedir.^{18,50}

Egzersiz kardiyovasküler hastalıkları önleyen bir aktivite olsa da¹⁹ birçok çalışma şiddet ve süresine bağlı olarak egzersizin oksidatif strese ve iskelet ile kalp

kasında hasara neden olduğunu bildirmektedir.^{18,52-55} Uzamış ve yorucu egzersiz iskelet kası ve kalp kası hücrelerinin sarkoplazmik membranlarında hasara, kas kontraktilitesinde ve miyofibril yapıda bozulmaya ve kan üre, kreatin kinaz, laktat dehidrogenaz gibi bazı biyokimyasal parametrelerde değişikliklere yol açmaktadır.¹⁸

Dayanıklılık egzersizi sırasında/sonrasında, maraton koşusu sonrasında akut miyokard enfarktüsü (AMI) belirtilerinin görüldüğü ve kardiyak troponin (akut miyokard enfarktüsü markeri) konsantrasyonunda artış gözlemlendiği ifade edilmektedir. Ayrıca uzamış egzersiz ile birlikte olan oksidatif stresin kardiyak troponin salımına neden olduğu öne sürülmektedir.⁵⁰ Egzersizde de (süre ve şiddete bağlı olarak) ROT, yukarıda ifade edildiği gibi antioksidan savunma mekanizmalarında değişikliğe; lipid, DNA ve hatta karbohidrat moleküllerinde oksidatif hasara neden olabilmekte; MDA, PCO ve 8-OHdG gibi oksidatif ürünlerin miktarında artışa yol açabilmektedir.¹⁸

3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Mevcut çalışmada Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilen 23 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Bu tez çalışması Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Etik Kurulunun 27.04.2011 tarih ve 2011.2.1/29 sayılı kararı ile onaylandı ve tüm deneysel aşamalar etik kurallara uygun bir şekilde yürütüldü.

3.1.2. Deney Grupları

Çalışmada kullanılan sıçanlar kontrol (n=6), egzersiz (n=6), hipertiroidi (n=5) ve hipertiroidi+egzersiz (n=6) olmak üzere dört gruba bölündü. Hipertiroidi ve hipertiroidi+egzersiz gruplarındaki sıçanlara, yirmi gün boyunca, 250 µg/kg dozunda subkutan L-tiroksin enjeksiyonu yapılarak hipertiroidi oluşturuldu.^{1,91} Kontrol ve egzersiz gruplarına ise deney süresince 0.5 ml subkutan izotonik (%0.9'luk NaCl) çözeltisi uygulandı. Egzersiz grubu ve hipertiroidi+egzersiz grubundaki sıçanlar 8 hafta boyunca her hafta 5 gün koşu bandında 23 m/dk hızla 45 dakika; kontrol ve hipertiroidi grubundaki sıçanlar ise 2 m/dk hızda 5 dakika koşturuldu.

Çalışma kapsamına alınan sıçanlardan oluşturulan gruplar ve grupların ortalama ağırlıkları Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışma grupları

Gruplar	Sayı (n)	Ortalama ağırlık (x±SD)*
1. Kontrol grubu	6	257.0±22.1
2. Hipertiroidi grubu	5	278.4±30.4
3. Egzersiz grubu	6	231.7±27.4
4. Hipertiroidi+egzersiz grubu	6	244.6±41.7

*x±SD: ortalama±standart sapma

3.1.3. Numune Alınması ve Numunelerin İşlenmesi

Deney prosedürleri sonunda her bir sıçan eter inhalasyonu ile uyutuldu ve hemen ardından göğüs kafesi açılarak intrakardiyak kan örnekleri alındı. Çıkarılan kalp dokuları soğuk serum fizyolojikle iyice yıkanarak temizlendi ve kurutma kâğıdı ile ıslaklığı giderildi; Kan örnekleri 3500 x g’de 5 dk santrifüj edilerek serum elde edildi ve biyokimyasal analizlerin yapılacağı güne kadar -80°C’de saklandı.

3.1.4. Kullanılan Kimyasal, Cihaz ve Ekipmanlar

Tablo 3.2’de çalışmada kullanılan kimyasallar ve bu kimyasalların temin edildiği firmalar gösterilmiştir. Çalışmada kullanılan cihaz ve aletlerle ilgili bilgi ise Tablo 3.3’te verilmiştir.

3.2. Metotlar

Tüm sıçan gruplarından sağlanan serum ve doku örneklerinden çeşitli parametreler çalışıldı. Serum örneklerinden TSH, T₄, T₃ düzeyleri; kalp dokusu örneklerinden TOD, TAK, protein oksidasyon belirteci PCO, DNA oksidasyon ürünü 8-OHdG ve lipid peroksidasyon belirteci olarak MDA düzeyleri belirlendi. MDA hariç diğer tüm parametreler ticari olarak temin edilen kitlerle ölçüldü. 8-OHdG ölçümü için doku örneğinden öncelikle DNA izole edildi. Daha sonra izole edilen DNA enzimlerle hidroliz edilerek enzim immünoassay (EIA) yöntem ile 8-OHdG düzeyleri ölçüldü.

Hipertiroidili sıçanların kalp dokusundaki bazı oksidatif stres parametreleri üzerine düzenli dayanıklılık egzersizinin bir etkisinin olup olmadığını araştırmak için yapılan bu çalışmada ölçülen tüm parametrelerin gruplar arası karşılaştırılması yapıldı ve parametreler arasındaki ilişki (korelasyon) analiz edildi. Bu amaçla SPSS istatistik programı kullanıldı.

Tablo 3.2. Kullanılan kitler/kimyasal maddeler ve temin edilen firmalar

Kit/Kimyasal Madde	Temin Edilen Firma
Doku DNA izolasyon kiti	Vivantis
8-OHdG ölçüm kiti	Cayman Chemical Company
PCO ölçüm kiti	Cayman Chemical Company
TAK tayin kiti	Rel Assay Diagnostics
TOD tayin kiti	Rel Assay Diagnostics
Sıçan TSH ELISA kit	CUSABIO
Sıçan FT ₃ ELISA kit	CUSABIO
Sıçan FT ₄ ELISA kit	CUSABIO
Kalsiyum klorür (CaCl ₂)	Merck
Hidroklorik asit (HCl), %35	Carlo Erba
Nükleaz P1	Sigma
Alkalen fosfataz	Sigma
Amonyum asetat (NH ₄ CH ₃ COO)	Merck
Sodyum klorür (NaCl)	Merck
Çinko(II)klorür (ZnCl ₂)	Merck
Sodyum hidroksit (NaOH)	Merck
Asetik asit (CH ₃ COOH)	Sigma-Aldrich
2-Tiyobarbütirik asit (TBA, C ₄ H ₄ O ₂ N ₂ S)	Sigma
Sodyum dodesilsülfat (SDS, C ₁₂ H ₂₅ NaO ₄ S)	Merck
1-Bütanol (C ₄ H ₉ OH)	Sigma-Aldrich
Piridin (C ₅ H ₅ N)	Merck
1,1,3,3-Tetraetoksi-propan (C ₁₁ H ₂₄ O ₄)	Sigma
Etilendiamintetra asetik asit disodyum tuzu (EDTA)	Sigma
Streptomisin sülfat	İ.E Ulagay
Potasyumdihidrojen fosfat (KH ₂ PO ₄)	Merck
Sodyumhidrojen fosfat sulu (Na ₂ HPO ₄ .12H ₂ O)	Merck

Tablo 3.3. Kullanılan cihaz ve aletlerin markası ile ilgili firma ve/veya ülke

Cihaz veya Alet	Firma ve/veya Ülke
Mikroplate okuyucu	Bio-tek PowerWave XS, The USA
Spektrofotometre	Beckman DU 500, China
Hassas terazi	Denver Instrument, Germany
Saf su cihazı	Mes mp minipure Su Arıtma Sistemleri, Türkiye
Derin dondurucular	1. Sanyo Ultra Low Temperature Freezer MDF-U281, Japan 2. Uğur USS 374 DTKL, Türkiye 3. Arçelik 2031 D, Türkiye
Su banyosu	Kotterman, Germany
Magnetik karıştırıcı	1. Fisher, USA 2. Yellowline MSH basic, Germany
Vorteks	Heidolph Reax Top, Germany
pH metre	Istek 730 P, Korea
Santrifüjler	Hettich Zentrifügen Rotofix 32, Germany; MSE mikro centaur Sanyo, U.K.
Otomotik pipetler (çeşitli tür ve hacimde)	Multikanallı finnpipette Labsystems; Tranferpette brand, Germany; Eppendorf research physioCare concept; Exelpette, elkay; medispec-plus
Otoklav	HMC-Hirayama, Japan.
Thermoblock	Biometra TB1, Germany
Thermomixer	Eppendorf Termomixer Comford, Germany
Homojenatör	OMNI International, USA
Sonikatör	Model XL2020, Labcaire Systems LTD

3.2.1. Malondialdehit Ölçümü

Lipid peroksidasyon ürünü olan MDA için ölçüm prensibi, MDA ile tiyobarbütirik asidin etkileşimi sonucu oluşan pembe renkli bileşiğin 532 nm’de absorbansının ölçülmesi esasına dayanmaktadır.^{22,25,82,92}

Kullanılan Çözeltiler:

1. SDS Çözeltisi (% 8.1): 8.1 g SDS saf suda çözünür, hacim 100 mL'ye tamamlanır.
2. Asetik Asit Çözeltisi (% 20): %100'lük asetik asitten 20 mL alınır ve saf suyla son hacim 100 mL'ye tamamlanır.
3. TBA Çözeltisi (% 0.9): 0.9 g TBA bir miktar saf suda hafifçe ısıtılarak çözünür (daha kolay çözünmesi için bir kaç damla NaOH çözeltisi ilave edilebilir), hacim 100 mL'ye tamamlanır. Çalışmadan hemen önce taze olarak hazırlanmalıdır.
4. Piridin/n-Bütanol Çözeltisi (1/15): 15 mL 1-bütanole 1 mL piridin eklenerek hazırlanır.
5. Stok Standart Çözeltisi (200 µM): 1,1,3,3-tetraetoksipropandan 25 µL alınıp 500 mL saf suda karıştırılarak çözünür. Taze hazırlanmalıdır. Seri dilüsyonla stok standarttan 200 (direkt stoğun kendisi kullanılır), 100, 50, 25, 12.5, 3 ve 0 (saf su kullanılır) µM'lık standartlar hazırlanır.

MDA Ölçümü

Numune olarak kalp dokusu homojenatı kullanıldı. Sıcaklığa dayanıklı, kapaklı deney tüplerine Tablo 3.4'deki pipetlemeler yapıldı.

Tablo 3.4a. MDA ölçüm prosedürü

	Numune Tüpü	Standart Tüpü	Kör Tüpü
SDS	200 µL	200 µL	200 µL
Asetik asit	1500 µL	1500 µL	1500 µL
TBA	1500 µL	1500 µL	1500 µL
Numune	200 µL	-	-
Standart	-	200 µL	-
Saf su	700 µL	700 µL	900 µL

Tüm tüpler kapatıldı, vortekslendi ve su banyosunda 95°C’de 1 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyondan sonra tüpler, fazlar karıştırılmadan, çeşme suyu altında soğutuldu. Her bir tüpün süpernatantından 600 µL alınarak karşılık gelen ependorfa aktarıldı. Her bir ependorfa aşağıdaki pipetlemeler yapıldı:

Tablo 3.4b. MDA ölçüm prosedürü

	Numune Tüpü	Standart Tüpü	Kör Tüpü
Saf su	150 µL	150 µL	150 µL
Piridin/n-Bütanol	750 µL	750 µL	750 µL

Ependorf içeriği iyice vortekslendi, 4000 rpm’de 10 dakika sentrifüjlendi. Fazlar karıştırılmadan üst fazdan 200 µL alınarak mikrokuyucuklu plakaya aktarıldı ve mikropate okuyucuda 532 nm’de köre karşı absorbanlar okundu. Standart grafik yöntemi ile cihazın yazılım programı (KC Junior) kullanılarak numunelerin konsantrasyonları hesaplandı. Konsantrasyon µmol/L olarak ifade edildi.

3.2.2. Proteinkarbonil Ölçümü

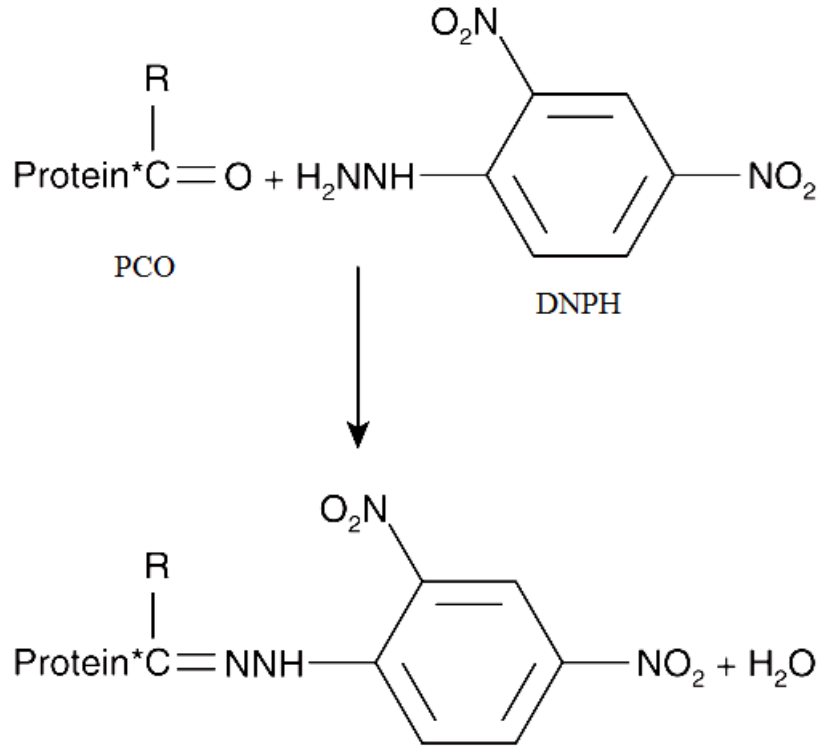
A. Protein karbonil ölçümü için doku homojenatının hazırlanması

1. Sıçan kalp dokusundan 200-300 mg kadar doku kesildi. Eritrosit veya pıhtı kalıntılarını uzaklaştırmak için (önemli miktarda hem, özellikle hemoglobin ölçümü interfere eder) doku fosfat tamponunda hazırlanmış tuz çözeltisiyle yıkandı.
2. 1 mM EDTA içeren ve pH’ı 6.7 olan 50 mM’lık soğuk fosfat tamponunun 1-2 mL’si ile doku örnekleri homojenize edildi.
3. Bütün homojenatlar 10000xg ve +4°C’de 1 dakika santrifüj edilerek süpernatant ayrıldı.
4. Numunede nükleik asit kontaminasyonu olup olmadığını belirlemek için 280 nm ve 260 nm’de süpernatant absorbanı kontrol edildi ve tüm numunelerde 280/260<1

olduğu görüldü. Nükleik asitleri uzaklaştırmak için numunelere son konsantrasyonu %1 olacak şekilde streptomisin sülfat stok çözeltisi (pH 7.2, 50 mM potasyum fosfat içinde hazırlanan %10'luk streptomisin) ilave edildi. Oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildikten sonra 6000xg ve +4°C'de 10 dakika santrifüj edilerek ölçüm için kullanılmak üzere süpernatant ayrıldı.

B. Protein karbonil ölçümü

PCO ölçümüticari kit kullanılarak yapıldı (Cayman's Chemical, Katalog No: 10005020). Ölçüm tekniği en güvenilir prosedür olarak kabul edilen DNPH ve PCO arasındaki reaksiyona dayalıdır. DNPH, PCO ile reaksiyona girerek, ilişkili hidrazonu üretmek üzere, bir Schiff baz oluşturur ki bu hidrazon bileşiği 370 nm'de spektrofotometrik olarak analiz edilebilmektedir.



Şekil 3.1. DNPH ile PCO reaksiyonu

PCO yönünden analiz edilen numuneler için aşağıdaki prosedür izlendi:

1. Her bir numune için iki tane 2 mL'lik ependorf tüp alındı. Her bir tüpe 200'er μ L numune transfer edildi (bir tüp numune diğeri kontrol tüpü olacak şekilde).
2. Numune tüplerine 800 μ L DNPH, kontrol tüplerine 800 μ L 2.5 M'lık HCl eklendi.
3. Tüm tüpler karanlık ortamda 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyon boyunca tüpler 15 dakikada bir nazikçe karıştırıldı.
4. Her bir tüpe %20'lik TCA'dan 1 mL ilave edildi ve tüpler vortekslendi. Tüpler buz üzerine yerleştirilerek 5 dakika inkübe edildi.
5. Bütün tüpler 10000xg ve +4°C'de 10 dakika santrifüj edildi.
6. Süpernatant atıldı ve pellet 1 mL %10'lik TCA içinde resüspanse edildi. Tüpler yine buz üzerine yerleştirilerek 5 dakika inkübe edildi.
7. Bütün tüpler 10000xg ve +4°C'de 10 dakika santrifüj edildi.
8. Süpernatant atıldı ve pellet bu kez 1 mL etanol/etil asetat (1:1) karışımı içinde resüspanse edildi. Bütün tüpler 10000xg ve +4°C'de 10 dakika santrifüj edildi.
9. Sekizinci basamakta yapılan işlemler iki kez tekrar edildi.
10. Son yıkama işleminden sonra protein pelletleri guanidin hidroklorür içinde vortekslenerek resüspanse edildi.
11. Bütün tüpler 10000xg ve +4°C'de 10 dakika santrifüj edildi.
12. Numune ve kontrol süpernatantlarından 220'şer μ L numune ve kontrol kuyucuklarına transfer edildi (numune ve kontroller çift çalışıldı).
13. Mikroplate okuyucu kullanılarak 370 nm dalga boyunda her bir kuyucuğun absorbansı tespit edildi.

C. Protein Karbonil Sonuçlarının Hesaplanması

Her numune ve kontrol için çift ölçülen absorbanlardan ortalama numune ve ortalama kontrol absorbanları hesaplandı. Ortalama numune absorbanlarından kontrollerin ortalama absorbanı çıkarılarak doğrulanmış absorban (CA) değeri belirlendi. CA değeri aşağıdaki formülde yerine yerleştirilerek protein karbonil konsantrasyonu hesaplandı.

$$\text{PCO (nmol/mL)} = [(\text{CA}) / (0.011 \mu\text{M}^{-1})] (500 \mu\text{L} / 200 \mu\text{L})$$

3.2.3. 8-Hidroksi-2-Deoksiguanozin Ölçümü

8-OHdG tayini üç aşamalı olarak yapıldı. İlk aşamada kalp dokusundan ticari doku DNA ekstraksiyon kiti (Vivantis GF-1 Tissue DNA Extraction Kit, Katalog No: GF-TD-100:100 preps) kullanılarak DNA izole edildi. İkinci aşamada izole edilen DNA nükleaz ve fosfataz enzimleriyle hidroliz edildi. Üçüncü aşamada ise ilk iki aşamadaki işlemlerle açığa çıkarılan 8-OHdG, EIA yöntemine dayalı ticari kit (Cayman's Chemical, Katalog No: 589320) kullanılarak tespit edildi.

A. Kalp Dokusundan DNA İzolasyonu

Kalp dokusundan DNA izolasyonu, doku DNA ekstraksiyon kiti kullanılarak yapıldı. DNA izolasyonu aşağıdaki aşamalar üzerinden gerçekleştirildi:

- 1. Doku lizisi:** Steril ependorflara 20 mg doku alındı. Üzerine 250 μL buffer TL ile 20 μL proteinaz K eklendi ve ependorf içeriği vortekslendi. 12 μL Lysis enhancer ilave edilerek hemen vortekslendi, 65°C'de gece boyunca inkübasyona bırakıldı.
- 2. Homojenizasyon:** Berrak bir karışım elde edilecek şekilde inkübasyona bırakılan karışımın üzerine hacminin yaklaşık iki katı (~560 μL) Buffer TB eklendi. Homojen bir solusyon elde edilene kadar karışım vorteksle iyice karıştırıldı.

3. **Etanol ilavesi:** Karışıma 200 µL mutlak etanol ilave edildi. Yüksek etanol konsantrasyonlarından dolayı nükleik asitin çökmemesi için alkol ilave edilir edilmez ependorflar vortekslendi.
4. **Kolona yükleme:** Temiz bir toplama ependorfuna yerleştirilen spin kolona alkol ilave edilen örneklerden 600'er µL aktarıldı ve 5000xg'de 1 dakika santrifüj edildi. Toplama ependorfundaki kalan kısım kolona bulaştırılmadan döküldü, kolon geri ependorfa yerleştirildi.
5. **Kolon yıkama:** 750 µL wash buffer (%95'lik etanol) eklenip kolonların 5000xg'de 1 dakika santrifüj edilmesiyle kolonlar yıkandı. Yine toplama ependorfundaki kısım atıldı. Yıkama işlemi bir kez daha tekrar edildi.
6. **Kolonun kurutulması:** Spin kolondan tüm etanol artığını çıkarmak için (kolonu kurutmak için) bu kez içindeki kolonla birlikte ependorflar boş olarak 10000xg'de 3 dakika çevrildi.
7. **DNA elüsyonu:** Santrifüjlemeden sonra kolonlar temiz ependorflara yerleştirildi, önceden 65°C'de ısıtılan elüsyon buffer'dan 200 µL ilave edilerek oda sıcaklığında 2 dakika bekletildi. 5000xg'de 1 dakika santrifüj edilmesiyle DNA kolondan elüe edildi.

DNA Konsantrasyonunun Hesaplanması: Hidroliz aşamasında eklenecek yaklaşık enzim miktarının hesaplanması için DNA konsantrasyonları belirlendi. Bu amaçla izole edilen her bir DNA numunesinin 260 nm dalga boyunda absorbansı ölçüldü (Quartz küvette, 195 µL saf su + 5 µL DNA). 260 nm'de okunan absorbans değeri kullanılarak aşağıdaki formülden DNA konsantrasyonu hesaplandı:

$$\text{DNA konsantrasyonu (ng/}\mu\text{L)} = A_{260} \times 50^* \times \text{Seyreltme Faktörü}$$

*Çift iplik DNA'nın 260 nm'de vermiş olduğu 1 absorbans 50 ng/µL dir.

B. DNA'nın Hidrolizi

1. Nükleaz P₁ ile hidroliz: Bu enzim baz spesifikliğı olmaksızın RNA ve sıcaklık ile denature edilmiş DNA'daki (enzim çift zincirli nükleik asitleri hidroliz edemez) 3'-5' fosfodiester bağı ve 3'-fosfat grubuyla sonlanan mono/oligo nükleotitlerdeki 3' - fosfomonoester bağına hidroliz eder.

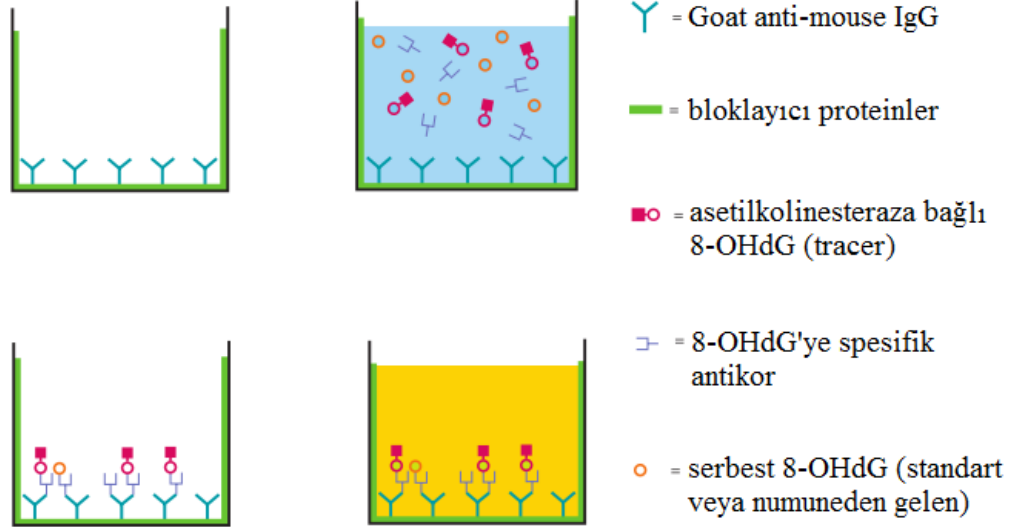
Üretici firmanın öngördüğü gibi enzim 0.1 M'lık amonyum asetat içinde çözüldü (0.2 g denature DNA'ya karşı en az 1 mg enzim olacak şekilde), 0.1 M'lık ZnCl₂ çözeltisinden ilave edildi (70°C'lik uzun süreli inkübasyonda stabilizasyon için). Enzim çift zincirli DNA'ya etki edemediğinden hidroliz için öncelikle DNA denature edildi. Bunun için DNA örnekleri 95°C'de 5 dakika inkübe edildi ve hızlı bir şekilde soğutuldu. Böylelikle denatürasyon işlemi gerçekleştirilmiş oldu. 200'er µl'lik denature DNA numunelerine enzim çözeltisinden 10'ar µL ilave edildi ve karıştırıldı. Bundan hemen sonra 70°C'de 30 dakika inkübasyona tabi tutularak nükleaz P₁ ile hidroliz aşaması tamamlanmış oldu.

2. Alkalen Fosfataz ile hidroliz: Nükleaz P₁ ile hidroliz edilen ve pH'sı 7.5-8.5 olan numunelere, 100 µg DNA başına en az 1 ünite alkalen fosfataz düşecek miktarda, dilüe edilmiş alkalen fosfatazdan ilave edildi. Numuneler karıştırıldı, 37°C'de 30 dakika inkübe edildikten sonra 10 dakika kadar kaynatıldı ve sonraki aşamada kullanılmak üzere buz üstünde tutuldu.

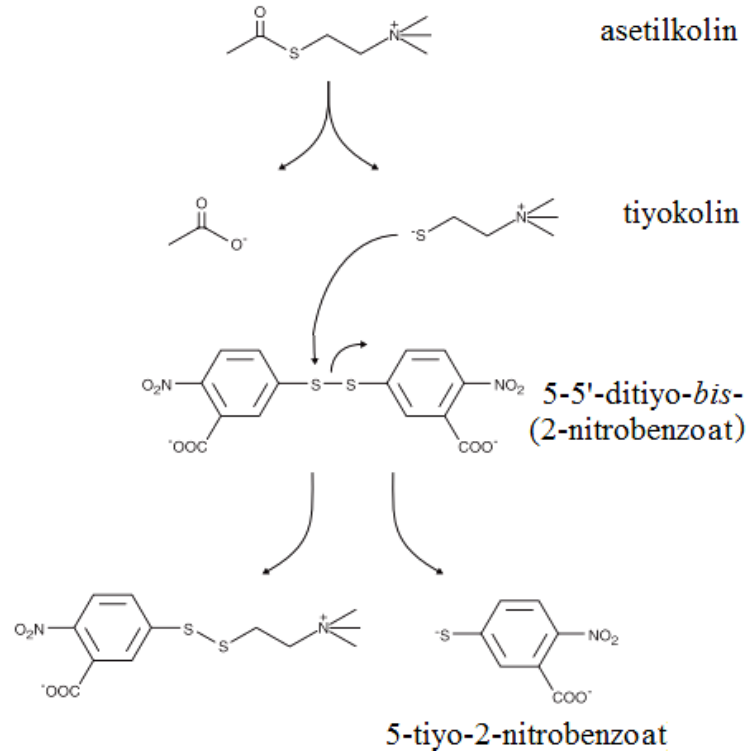
C. 8-Hidroksi-2-Deoksiguanozin Analizi

Yukarda da ifade edildiği gibi 8-OHdG ölçümünde EIA kullanılmış olup ölçüm, plate kuyucuğunu kaplayan sınırlı miktardaki 8-OHdG monoklonal antikor için, numuneden gelen 8-OHdG ile kitten gelen 8-OHdG-asetilkolinestaraz konjugatı (8-OHdG Tracer) arasındaki yarışmaya dayalıdır. Dolayısıyla sonuçta spektrofotometrik

olarak ölçülen renk yoğunluğu tracer ile doğru orantılı, numunedeki serbest 8-OHdG miktarıyla ters orantılıdır.



Şekil 3.2. 8-OHdG'nin EIA ile ölçümünün şematize edilişi



Şekil 3.3. Asetilkolinesteraz tarafından katalizlenen reaksiyon

Kit kitapçığında belirtildiği gibi gerekli ön işlem ve dilüsyonlar yapıldıktan sonra ölçüm için aşağıdaki protokol uygulandı.

Tablo 3.5. 8-OHdG için ölçüm prosedürü

Basamaklar	Reaktif	Kör	TA*	NSB**	B ₀ ***	Standart/numune
Reaktif ilavesi	EIA tamponu	-	-	100 µL	50 µL	-
	Standart/numune	-	-	-	-	50 µL
	Tracer	-	-	50 µL	50 µL	50 µL
	Antikor	-	-	-	50 µL	50 µL
İnkübasyon	Mikrokuyucuklu plakanın üstü kapatıldı, 4'de 18 saat inkübe edildi					
Yıkama	Tüm kuyucuklar 5 defa yıkandı					
Reaktif ilavesi	Tracer	-	5µL	-	-	-
	Ellman's	200 µL	200 µL	200 µL	200 µL	200 µL
İnkübasyon	Mikrokuyucuklu plakanın üstü kapatıldı, 90-120 dakika inkübe edildi					
Okuma	Mikroplate okuyucuda 412 nm dalga boyunda absorbans (B değerleri) okundu					

*Total aktivite

**Non-spesifik bağlanma

***Maksimum bağlanma

8-OHdG Sonuçlarının Hesaplanması

Numune ve standartlar için B/B₀ (numune veya standart bağlanması/maksimum bağlanma) hesaplandı. Standartlar için hesaplanan B/B₀ değerleri ve standart konsantrasyon değerleri kullanılarak standart eğri oluşturuldu. Bu eğriden elde edilen denklem kullanılarak numune konsantrasyonları hesaplandı.

3.2.4. Total Antioksidan Kapasite Ölçümü

TAK'ın belirlenmesi ticari olarak sağlanan (Rel Assay Diagnostics, Ürün Kodu: RL0017) ile yapıldı. Ölçüm, numunedeki antioksidanların koyu mavi-yeşil renkli 2,2'-azino bis(3-etil benzotiazolin-6-sülfonik asit (ABTS) radikalini renksiz indirgenmiş ABTS formuna indirgemesi esasına dayanır. 660 nm'deki absorbans değişimi numunedeki total antioksidan düzeyi ile ilişkilidir. Kit, stabil bir antioksidan standart olarak bir E vitamini analogu olan ve klasik olarak "trolox equivalent" diye adlandırılan

bir çözelti ihtiva eder. Ölçümde numune olarak kalp doku homojenatından elde edilen süpernatant kullanıldı.

Tablo 3.6. TAK için ölçüm prosedürü

	Numune	Standart	Kör
Ölçüm tamponu	200 µL	200 µL	200 µL
Numune	12 µL	-	-
Standart1 (1 mmol trolox eq/L)	-	12 µL	-
Standart2 (Deiyonize H₂O)	-	-	12 µL
İlk absorbans için 660 nm’de başlangıç absorbansları okundu ve değerler kaydedildi. Aşağıdaki işlemlere devam edildi.			
Renkli ABTS radikal çözeltisi	30 µL	30 µL	30 µL
Karıştırıldı, oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. İkinci absorbanslar için 660 nm’de okuma yapıldı.			

TAK Sonuçlarının Hesaplanması: Yukardaki tabloda belirtilen işlemler yapıldıktan sonra aşağıdaki formül kullanılarak TAK için sonuçlar hesaplandı. Sonuçlar “mmol trolox eq/L” olarak ifade edildi.

$$\text{Sonuç (mmol trolox eq/L)} = \frac{\Delta A_{S1} - \Delta A_N}{\Delta A_{S1} - \Delta A_{S2}}$$

ΔA_{S1} = Standart1’in ikinci absorbansı - Standart1’in ilk absorbansı

ΔA_{S2} = Standart2’nin ikinci absorbansı - Standart2’nin ilk absorbansı

ΔA_N = Numunenin ikinci absorbansı - Numunenin ilk absorbansı

3.2.5. Total Oksidan Durum

TOD ölçümü ticari olarak sağlanan kit (Rel Assay Diagnostics, Ürün Kodu: RL0024) ile yapıldı. Numunede mevcut oksidanlar, ferröz iyon-şelatör kompleksini ferrik iyon yükseltgeci. Oluşan ferrik iyon asidik ortamda kromojenle renkli bir kompleks meydana getirir. Spektrofotometrik olarak belirlenebilen renk yoğunluğu

numunede bulunan oksidan moleküllerin total miktarıyla ilişkilidir. Ölçümde numune olarak kalp doku homojenatından elde edilen süpernatant, standart olarak H₂O₂ çözeltisi kullanıldı. Kitin ölçüm prosedüründe belirtildiği gibi gerekli hazırlık ve dilüsyonlar yapıldıktan sonra Tablo 3.7.’de verilen pipetleme ve işlemler gerçekleştirildi.

Tablo 3.7. TOD için ölçüm prosedürü

	Numune	Standart	Kör
Ölçüm tamponu	250 µL	250 µL	250 µL
Numune	37.5 µL	-	-
Standart1 (deiyonize H₂O)	-	-	37.5 µL
Dilüe standart2 (20 µM H₂O₂)	-	37.5 µL	-
İlk absorbans için 530 nm’de başlangıç absorbanslar okundu ve değerler kaydedildi. Aşağıdaki işlemlere devam edildi.			
Prokromojen çözelti	12.5 µL	12.5 µL	12.5 µL
Karıştırıldı, oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edildi. İkinci absorbanslar için 530 nm’de okuma yapıldı.			

TOD Sonuçlarının Hesaplanması: Yukardaki tabloda belirtilen işlemler yapıldıktan sonra aşağıdaki formül kullanılarak TOD için sonuçlar hesaplandı. Sonuçlar “µmol H₂O₂ Eq/L” olarak ifade edildi.

$$\text{Sonuç (µmol H}_2\text{O}_2 \text{ Eq/L)} = \frac{\Delta A_N}{\Delta A_{S2}} \times C_{S2}$$

ΔA_N = Numunenin ikinci absorbansı – Numunenin ilk absorbansı

ΔA_{S2} = Standart2’nin ikinci absorbansı – Standart2’nin ilk absorbansı

C_{S2} = Standart2’nin konsantrasyonu (20 µmol H₂O₂ Eq/L)

3.2.6. Tiroid Sitümüle Edici Hormon Ölçümü

TSH düzeylerinin belirlenmesinde ELISA yöntemine dayalı olan ticari bir kit (Cusabio Biotech, Katalog No: CSB-E050115r) kullanıldı. İşlemlere başlamadan önce tüm reaktif ve numuneler oda sıcaklığına getirildi. Kit içinde bulunan ve TSH'a spesifik bir antikora kaplı olan mikrokuyucuklu plakaya aşağıdaki pipetleme ve işlemler yapıldı.

Tablo 3.8. TSH ölçüm prosedürü

Reaktif	Numune	Standart	Kör
Numune	100 µL	-	-
Standart	-	100 µL	-
HRP-konjugat	50 µL	50 µL	-
Karıştırıldı, 37°C'de 2 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra otomatik plate yıkayıcı kullanılarak 200 µL yıkama tamponu ile plate 3 kez yıkandı. Aşağıdaki pipetleme ve işlemlere devam edildi.			
Substrat A	50 µL	50 µL	50 µL
Substrat B	50 µL	50 µL	50 µL
Karıştırıldı, 37°C'de 15 dakika karanlıkta inkübe edildi.			
Stop solusyonu	50 µL	50 µL	50 µL
10 dakika içinde 450 nm dalga boyuna ayarlanmış plate okuyucu ile her bir numunenin konsantrasyonu standartlara karşı tespit edildi.			

3.2.7. Serbest T₃ ve Serbest T₄ Ölçümü

FT₃ ve FT₄ ölçümleri için ticari olarak üretilen ELISA kitler (Cusabio Biotech, FT₃ Katalog No: CSB-E05076r, FT₄ Katalog No: CSB-E05079r) kullanıldı. Ancak bu enzim immünoassay teknik yarışmalı inhibisyona dayalı idi. Numuneki FT₃ ve FT₄ kendilerine spesifik antikora kaplı plate kuyucuğuna bağlanmada sırasıyla biotin ile konjuge edilmiş FT₃ ve biotin ile konjuge edilmiş FT₄ ile yarıştırdı. Dolayısıyla ölçülen absorbans numunelerdeki FT₃ ve FT₄ miktarı ile ters orantılı idi. FT₃ ve FT₄ için ölçüm prosedürü aynı olup aşağıdaki gibidir.

Tablo 3.9. FT₄ ve FT₃ için ölçüm prosedürü

Reaktif	Numune	Standart	Kör
Numune	50 µL	-	-
Standart	-	50 µL	-
Konjugat	50 µL	50 µL	-
Karıştırıldı, 37°C'de 1 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra otomatik plate yıkayıcı kullanılarak 200 µL yıkama tamponu ile plate 3 kez yıkandı. Aşağıdaki pipetleme ve işlemlere devam edildi.			
HRP-avidin	50 µL	50 µL	50 µL
Karıştırıldı, 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Yukarıdaki yıkama işlemi uygulandı.			
Substrat A	50 µL	50 µL	50 µL
Substrat B	50 µL	50 µL	50 µL
Karıştırıldı, mavi renk oluşturmak üzere 37°C'de 15 dakika karanlıkta inkübe edildi.			
Stop solusyonu	50 µL	50 µL	50 µL
Mavi renk sarıya dönüştü. 10 dakika içinde 450 nm dalga boyuna ayarlanmış plate okuyucu ile her bir numunenin konsantrasyonu standartlara karşı tespit edildi.			

3.2.8. İstatistiksel Analiz

Bu çalışmanın istatistiksel analizleri PASW Statistics 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL) istatistik programı kullanılarak yapıldı. Verilerin normal dağılımı Kolmogorov-Smirnov Z testi ile analiz edildi. Gruplar arası karşılaştırmalarda nonparametrik Mann-Whitney U testi kullanıldı ve Spearman korelasyon analizi yapıldı. P<0.05 olan farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Ölçüm sonuçları ortalama ± standart sapma olarak verildi.

4. BULGULAR

Çalışma gruplarındaki sıçanların çalışma başlangıcı ve çalışma sonundaki (8. haftanın bitiminde) ortalama ağırlıkları ve ağırlık değişimleri Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Çalışma gruplarında ağırlık değişimi

Gruplar	İlk ortalama ağırlık (g) ($\bar{x} \pm SD$)*	Son ortalama ağırlık (g) ($\bar{x} \pm SD$)*	Değişim(g)
1. Kontrol	257.0 $\pm$ 22.1	306.0 $\pm$ 19,6	+49
2. Hipertiroidi	278.4 $\pm$ 30.4	254.4 $\pm$ 18.4	-24
3. Egzersiz	231.7 $\pm$ 27.4	261.3 $\pm$ 31.9	+29.6
4. Hipertiroidi $\pm$ Egzersiz	244.6 $\pm$ 41.7	265.3 $\pm$ 34.4	+20.7

* $\bar{x} \pm SD$: ortalama $\pm$ standart sapma

Tablo 4.2. Çalışma gruplarında ölçülen değişkenler

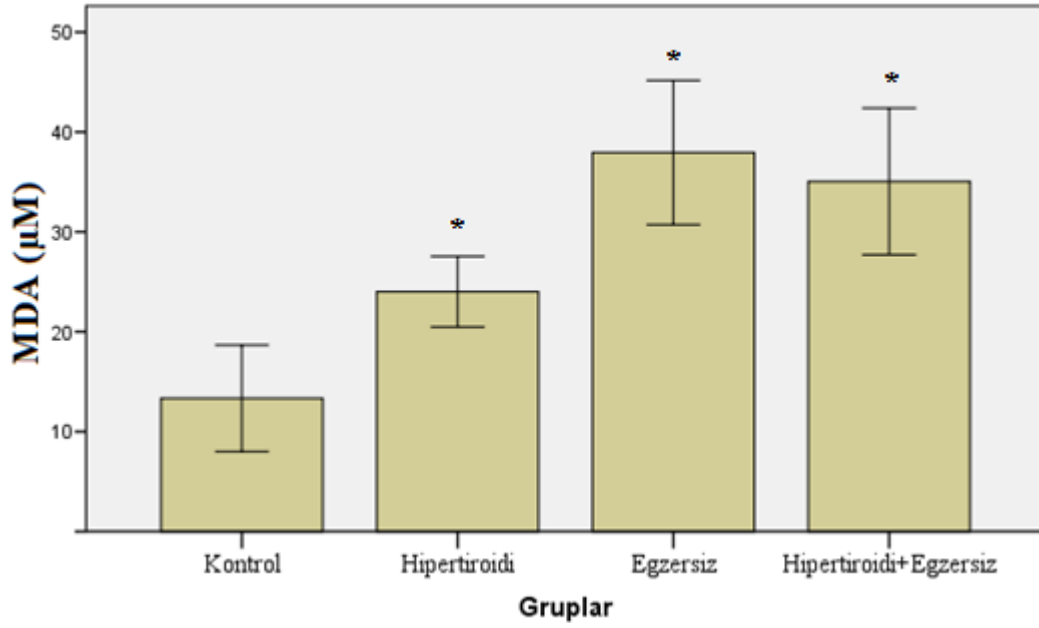
PARAMETRELER	GRUPLAR			
	Kontrol	Hipertiroidi	Egzersiz	Hipertiroidi+ Egzersiz
MDA (μ M)	13.34 $\pm$ 5.32	24.01 $\pm$ 3.54	37.95 $\pm$ 7.22	35.05 $\pm$ 7.34
PCO (nmol/mL)	7.99 $\pm$ 0.65	12.84 $\pm$ 3.07	18.66 $\pm$ 2.99	15.23 $\pm$ 4.93
8-OHdG (pg/mL)	53.1 $\pm$ 9.6	55.3 $\pm$ 7.1	112.0 $\pm$ 37.6	105.2 $\pm$ 71.3
TAK (mmol trolox eq/L)	1.23 $\pm$ 0.35	1.77 $\pm$ 0.51	1.14 $\pm$ 0.39	1.63 $\pm$ 0.45
TOD (μ mol H ₂ O ₂ eq/L)	6.24 $\pm$ 0.74	6.21 $\pm$ 0.76	6.97 $\pm$ 0.81	8.72 $\pm$ 1.19
TSH (μ U/mL)	1.54 $\pm$ 0.34	0.82 $\pm$ 0.16	1.71 $\pm$ 0.78	0.83 $\pm$ 0.09
FT ₃ (pg/mL)	2.07 $\pm$ 0.31	2.96 $\pm$ 0.47	2.44 $\pm$ 0.59	2.89 $\pm$ 0.45
FT ₄ (pmol/L)	7.99 $\pm$ 0.79	11.23 $\pm$ 1.35	9.04 $\pm$ 0.85	11.60 $\pm$ 1.72

*Sonnuçlar “ortalama $\pm$ standart sapma” olarak verildi.

Tablo 4.3. Korelasyon tablosu

		FT₄	FT₃	TSH	TOD	TAK	8-OHdG	PCO
MDA	r	0.193	0.185	0.074	0.457*	0.001	0.350	0.667*
	p	0.389	0.409	0.742	0.028	0.995	0.110	0.001
PCO	r	0.121	0.150	0.148	0.332	-0.060	0.622**	
	p	0.603	0.515	0.523	0.132	0.790	0.022	
8-OHdG	r	0.421	0.134	-0.051	0.486*	0.070		
	p	0.057	0.561	0.826	0.012	0.757		
TAK	r	0.537*	0.299	-0.527*	0.266			
	p	0.010	0.177	0.012	0.220			
TOD	r	0.410	0.242	-0.321				
	p	0.058	0.278	0.145				
TSH	r	-0.585**	-0.341					
	p	0.004	0.121					
FT₃	r	0.659**						
	p	0.001						

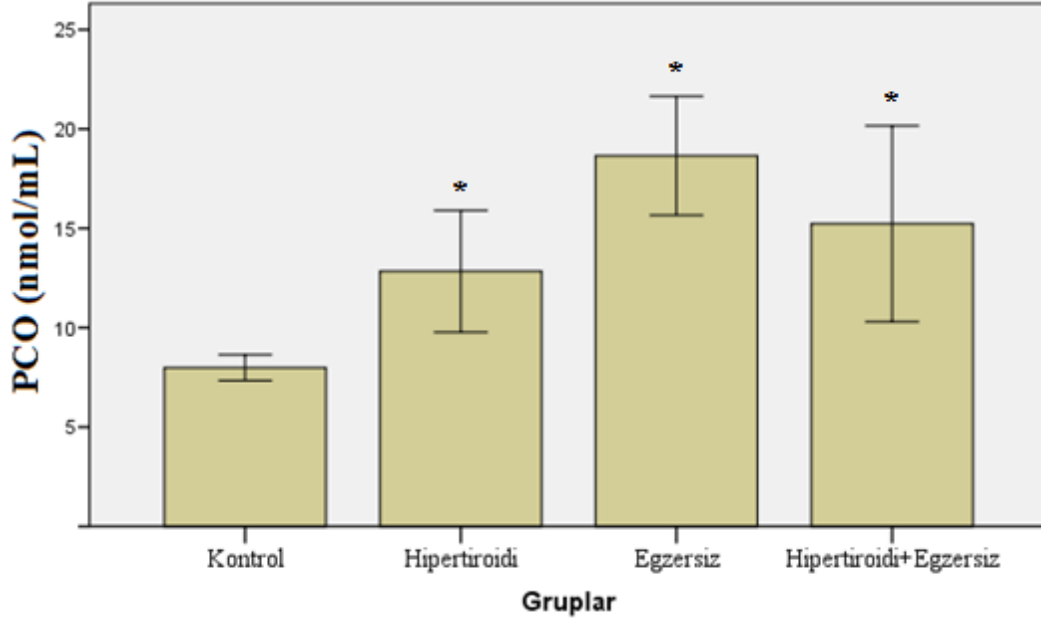
Hipertiroidi grubunda MDA düzeyleri ($24.01 \pm 3.54 \mu\text{M}$) kontrol grubundakinden ($13.34 \pm 5.32 \mu\text{M}$) anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.010$). En yüksek MDA düzeylerine egzersiz yaptırılan gruplarda (egzersiz, $37.95 \pm 7.22 \mu\text{M}$; hipertiroidi+egzersiz, $35.05 \pm 7.34 \mu\text{M}$) rastlandı. Her iki gruptaki yükseklik hem kontrol hem de hipertiroidi grubuna göre anlamlı derecede idi (kontrol grubuna göre $p_{\text{egzersiz}} < 0.004$, $p_{\text{hipertiroidi+egzersiz}} < 0.004$; hipertiroidi grubuna göre $p_{\text{egzersiz}} = 0.006$, $p_{\text{hipertiroidi+egzersiz}} = 0.028$). Ayrıca MDA ile TOD ve PCO arasında önemli pozitif korelasyon gözlemlendi (Tablo 4.3.).



Şekil 4.1. Çalışma gruplarında MDA düzeyleri. *Kontrol grubuna göre $p < 0.01$.

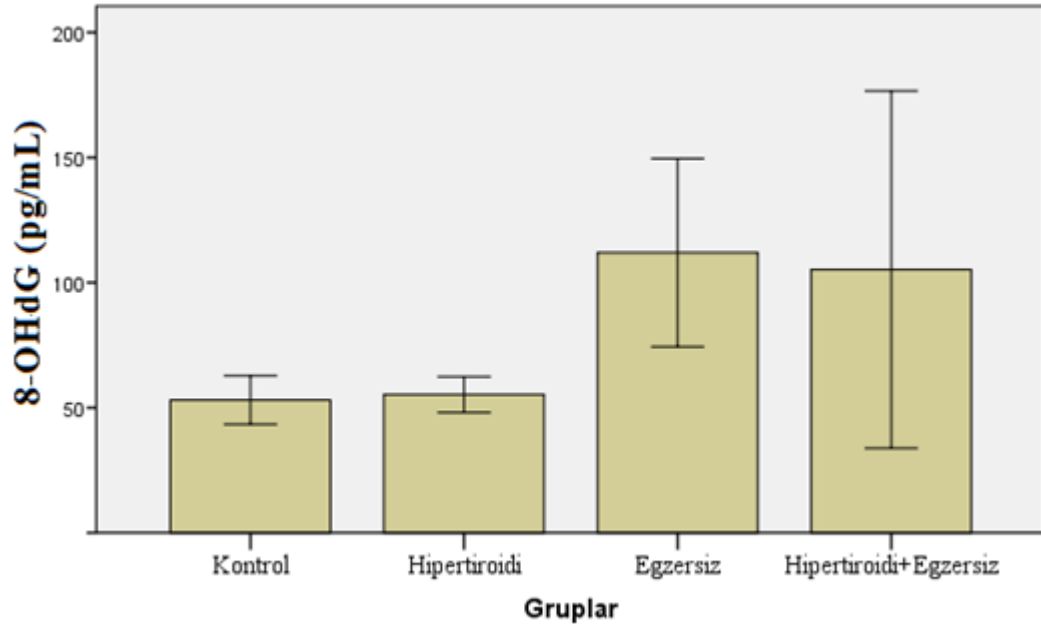
Kontrol grubundaki PCO seviyeleri ($7.99 \pm 0.65 \text{ nmol/mL}$) ile kıyaslandığında tüm gruplarda [hipertiroidi ($12.84 \pm 3.07 \text{ nmol/mL}$, $p=0.009$), egzersiz ($18.66 \pm 2.99 \text{ nmol/mL}$, $p=0.006$) ve hipertiroidi+egzersiz ($15.23 \pm 4.93 \text{ nmol/mL}$, $p=0.006$)] PCO seviyelerinin artmış olduğu ve bu artışın anlamlı düzeyde olduğu görüldü. Egzersiz grubundaki PCO düzeyi hem kontrol hem de hipertiroidi grubuna göre istatistiki olarak

önemli derecede yüksekti (sırasıyla $p<0.006$, $p=0.018$). Hipertiroidi+egzersiz grubundaki PCO artışı hipertiroidi grubununkinden anlamlı derecede farklı değilken kontrol grubuna göre önemli derecede yüksekti ($p=0.006$).



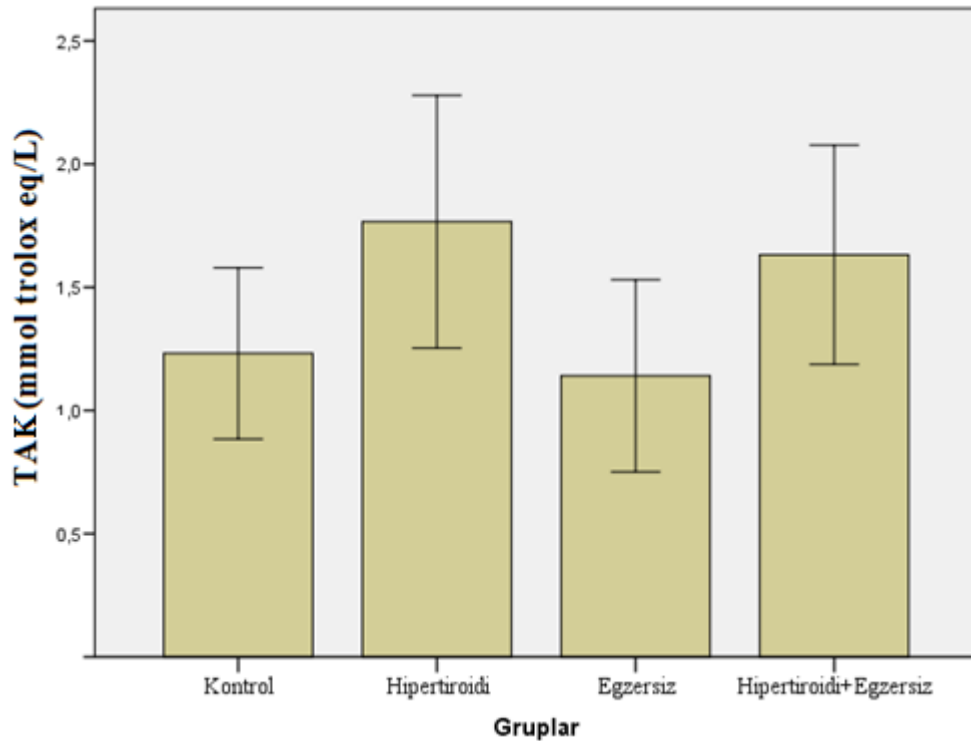
Şekil 4.2. Çalışma gruplarında PCO düzeyleri. *Kontrol grubuna göre $p<0.01$.

Bu çalışmada egzersiz yaptırılan gruplarda 8-OHdG düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli oranda artış gösterdiği gözlemlendi. Egzersiz ve hipertiroidi+egzersiz gruplarındaki 8-OHdG düzeyleri (sırasıyla 112.0 ± 37.6 , 105.2 ± 71.3 pg/mL) kontrol ve hipertiroidi gruplarındaki düzeylerin yaklaşık iki katı idi. Buna karşın hipertiroidi grubundaki 8-OHdG düzeyleri (55.3 ± 7.1 pg/mL) kontrol grubundakinden (53.1 ± 9.6 pg/mL) farklı değildi. Ayrıca bu çalışma sonucunda 8-OHdG ile TOD ve PCO arasında pozitif korelasyon bulundu.



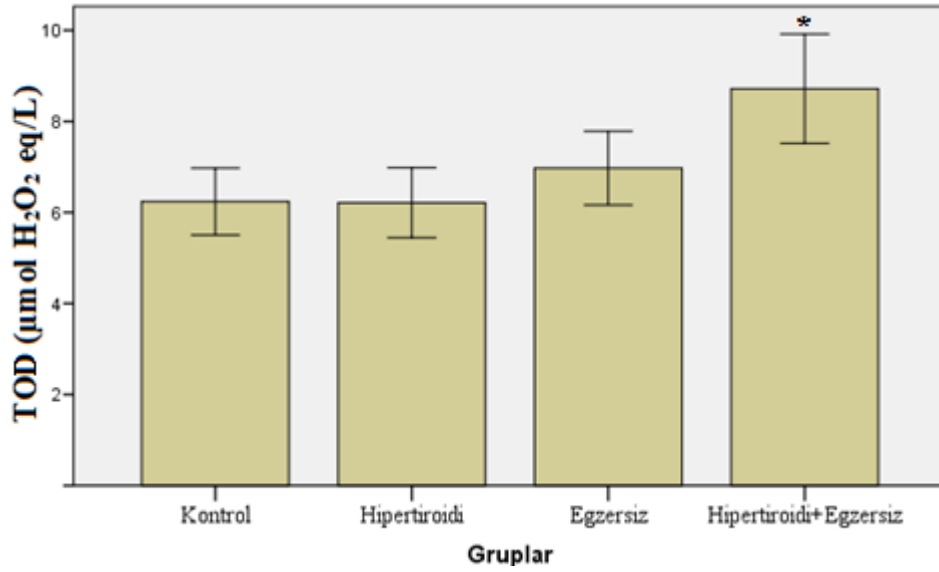
Şekil 4.3. Çalışma gruplarında 8-OHdG düzeyleri

Çalışma sonunda TAK düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak önemli bir farkın olmadığı görüldü ($p>0.05$). Bu çalışmada TAK ile ilgili elde edilen bir diğer bulgu ise TAK ile FT_4 arasında pozitif, TSH ile negatif korelasyon olduğudur.



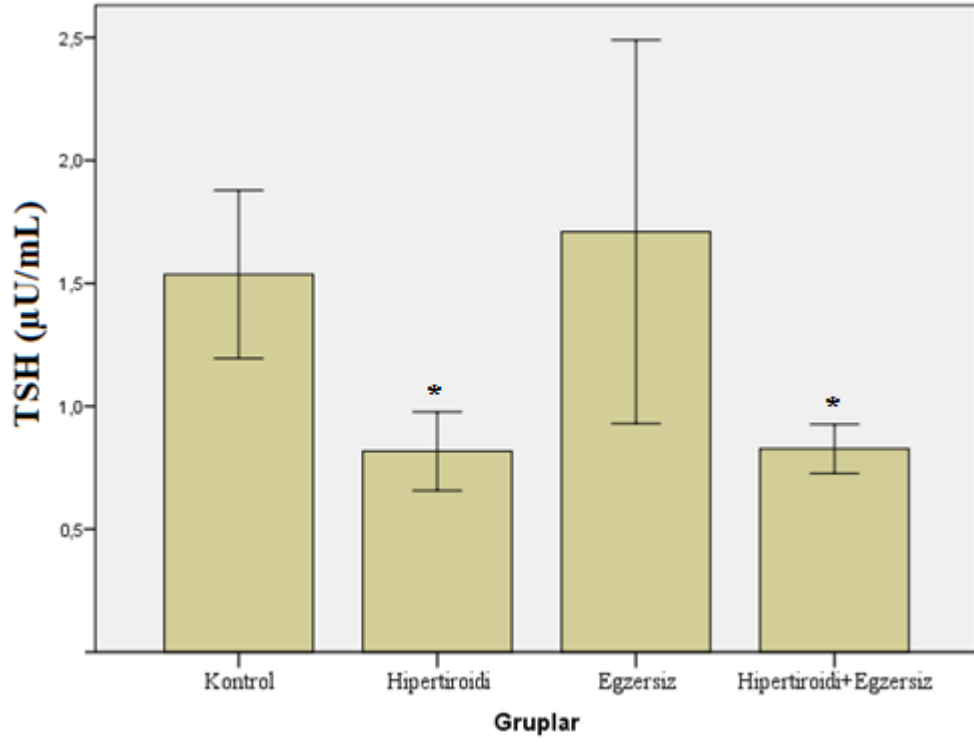
Şekil 4.4. Çalışma gruplarında TAK düzeyleri

Egzersiz yaptırılan gruplarda TOD düzeyleri kontrol grubuna göre artmış olup en yüksek TOD düzeyi hipertiroidi+egzersiz grubunda izlendi. Hipertiroidi+egzersiz grubundaki artış hem kontrol ($p=0.010$) hem hipertiroidi ($p=0.018$) hem de egzersiz ($p=0.025$) grubuna göre istatistiki olarak anlamlı idi. TOD düzeyleri açısından hipertiroidi grubu, kontrol ve egzersiz gruplarından farksız idi.

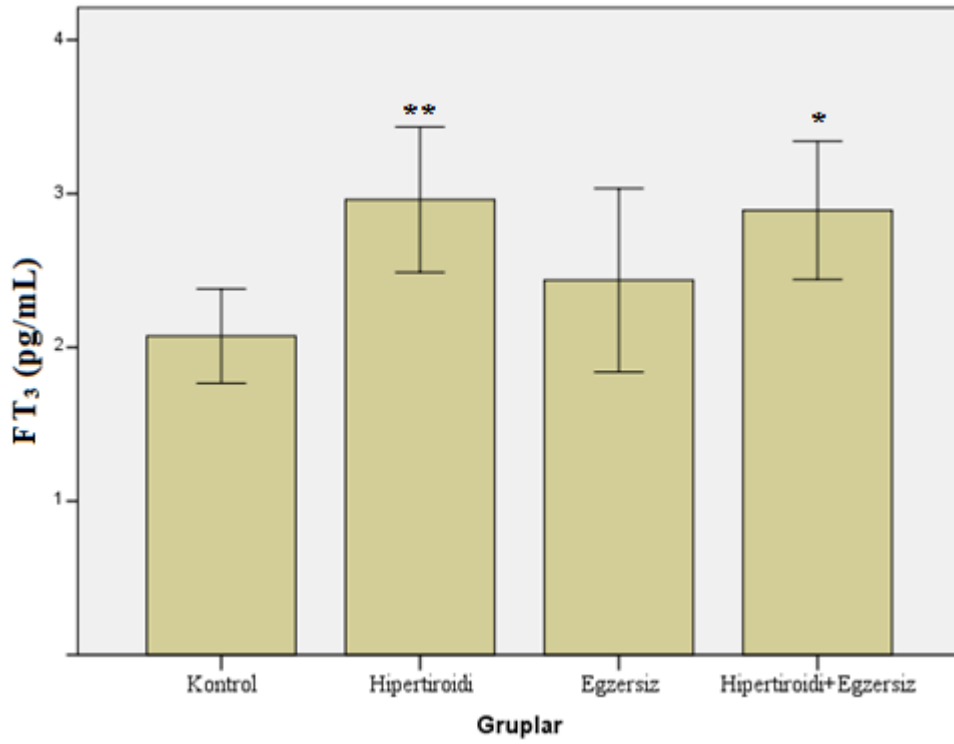


Şekil 4.5. Çalışma gruplarında TOD düzeyleri. *Kontrol grubuna göre $p<0.01$; hipertiroidi ve egzersiz gruplarına göre $p<0.05$.

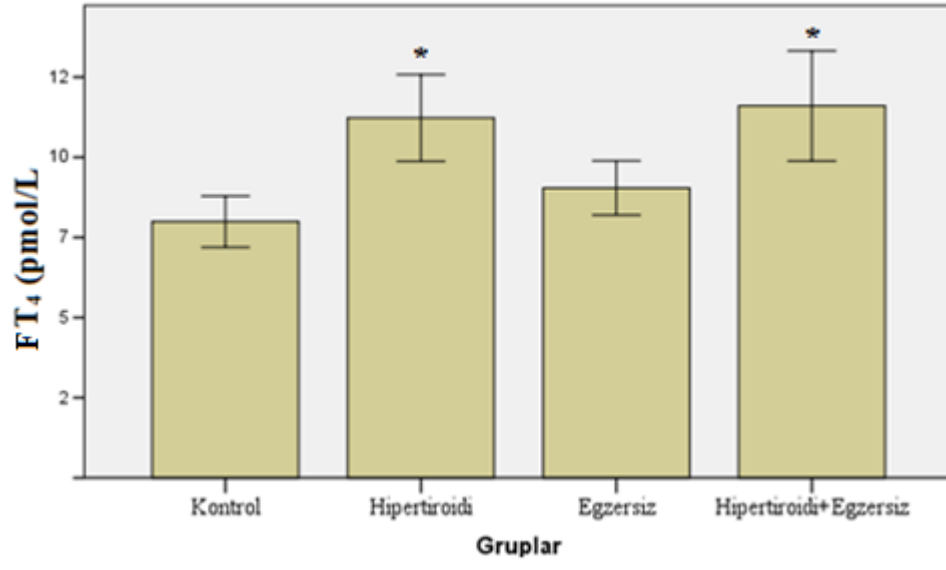
Kontrol grubu sıçanlarla karşılaştırıldığında L-tiroksin uygulanan hipertiroidi gruplarında anlamlı düzeyde FT_3 ve FT_4 düzeylerinin arttığı TSH düzeylerinin ise azaldığı tespit edildi (hipertiroidi ve kontrol grubu p değerleri: $p_{FT3} = 0.011$, $p_{FT4} = 0.006$ ve $p_{TSH} = 0.006$, hipertiroidi+egzersiz ve kontrol grubu p değerleri: $p_{FT3} = 0.006$, $p_{FT4} = 0.004$ ve $p_{TSH} = 0.004$).



Şekil 4.6. Çalışma gruplarında TSH düzeyleri. *Kontrol grubuna göre $p < 0.01$.



Şekil 4.7. Çalışma gruplarında FT₃ düzeyleri. *Kontrol grubuna göre $p < 0.01$; **Kontrol grubuna göre $p < 0.05$.



Şekil 4.8. Çalışma gruplarında FT₄ düzeyleri. *Kontrol grubuna göre p<0.01.

5. TARTIŞMA

Tiroid hormonları bazal metabolik hızı ve enerji metabolizmasını doğrudan etkilemektedir.^{5,6,7} Bu hormonların bazı mitokondriyal solunum zinciri komponentlerinin aktivite ve sayısını etkileyerek oksidatif fosforilasyon hızını ve oksijen tüketimini artırdığı ifade edilmektedir.⁹³ Tiroid hormonlarının uyardığı hipermetabolik durumda artan mitokondriyal solunum hızına paralel ubikinon bölgesinde süperoksit oluşumu da artmaktadır. Süperoksitler ise hidrojen peroksit, hidroksil radikali gibi birçok reaktif oksijen türünün oluşumuna öncülük ettiği bilinmektedir.³⁹

Egzersiz yapan kişide enerji tüketimi ve oksijen ihtiyacı artar. Kasların egzersiz esnasında daha fazla oksijen tüketmesi neticesinde reaktif oksijen türlerinin üretiminin arttığı, özellikle de akut ve ağır egzersizin oksidatif hasarı tetikleyebildiği belirtilmiştir.⁹⁴ Bununla birlikte düzenli yapılan fiziksel egzersizin antioksidan savunma sistemini güçlendirdiği ve lipid peroksidasyonunda azalmaya neden olduğu ileri sürülmektedir.^{48,49} Bu çalışmada düzenli yapılan dayanıklılık egzersizinin hipertiroidili sıçan kalp dokusunda bazı oksidan / antiosidan sistemle ilişkili parametreleri nasıl etkilendiğini araştırmayı amaçladık.

Daha önce yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde genellikle sıçanlarda deneysel hipertiroidi ya sıçanların günlük tükettiği içme sularına L-tiroksin katılarak^{95,96} ya da subkutan L-tiroksin enjeksiyonu yapılarak oluşturulduğu görülmektedir.^{1,91,97,98,99} Bu çalışmada 20 gün boyunca 250 µg/kg/gün dozunda subkutan L-tiroksin enjeksiyonu uygulanarak hipertiroidi oluşturuldu. Kafes içerisinde sıçanların serbestçe ulaşabildiği günlük tükettikleri içme sularına L-tiroksin katılarak oluşturulan hipertiroidi modeli, uygulama açısından daha kolay olmasına rağmen her bir sıçanın günlük alacağı L-tiroksin dozunu standardize etmek zordur. Yani günlük olarak az su tüketen sıçanların

daha az, çok su tüketen sıçanların ise daha çok L-tiroksin almış olma ihtimalleri vardı. Bundan dolayı, uygulaması çok daha zor olmasına rağmen, mevcut çalışmada 20 gün boyunca her bir sıçana 250 µg/kg/gün dozunda subkutan L-tiroksin enjeksiyonu uygulanarak hipertiroidi oluşturuldu.⁹¹ Hipertiroidi olup oluşmadığı serum FT₃, FT₄ ve TSH düzeyleri ölçülerek değerlendirildi. Kontrol grubu sıçanlarla karşılaştırıldığında L-tiroksin uygulanan hipertiroidi gruplarında anlamlı düzeyde FT₃ ve FT₄ düzeylerinin arttığı TSH düzeylerinin ise azaldığı tespit edildi (Tablo 4.2.). Bu bulgular mevcut çalışmada L-tiroksin ile deneysel hipertiroidi oluşturma modelinin başarılı olduğunu göstermektedir. Bu bulgulara ilave olarak sıçanların kilo takipleri değerlendirildiğinde çalışma süreci boyunca kontrol grubu sıçanlarda ortalama 49 gramlık bir kilo artışı gözlenirken hipertiroidi grubundaki sıçanlarda ortalama 24 gramlık bir kilo kaybı gözlemlendi (Tablo 4.1.). Hipertiroidi grubunda gözlenen kilo kaybının artan hipermetabolik durumdan kaynaklanmış olabileceği ve hipertiroidin klinik bulguları ile uyumlu olduğu düşünüldü. Bu durum deneysel hipertiroidin oluştuğunu gösteren diğer bir bulgu olarak değerlendirildi. Bununla birlikte şaşırtıcı bir sonuç düzenli egzersiz yapan hipertiroidili sıçanlarda kilo kaybının olmaması hatta ortalama 20 gramlık bir kilo artışının olması idi. Bu sonuç hipertiroidili sıçanlarda düzenli olarak yapılan dayanıklılık egzersizinin, sedanter hipertiroidili sıçanlarda gözlenen kas kitlesindeki kaybı önleyebileceğini düşündürmektedir.

Oksidatif stresin birçok hastalıkta olduğu gibi^{20,24,40-44} hipertiroidin etiyolojisi ve ilerlemesinde de rolünün olabileceği bildirilmiştir. Deneysel olarak T₃ verilerek hipertiroidi oluşturulan sıçanların kalp ile karaciğer dokusunda³⁸ ve hipertiroidili hastalarda^{39,10} lipid peroksidasyonun önemli derecede arttığı¹⁰ gösterilmiştir. Gür ve ark.³⁹ tarafından yapılan çalışmada tedavi almamış hipertiroidili hastalarda yüksek olan serum MDA düzeylerinin antitiroid ilaçla tedavi sonrasında anlamlı derecede düştüğü

rapor edilmiştir. Başka bir çalışmada Graves oftalmopati orbital fibroblast kültüründe ölçülen MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek olduğu ve oksidatif stresin bu hastalığın patogeneğinde önemli rol oynayabileceği belirtilmiştir. Buna karşılık aynı çalışmada orbital fibroadipoz dokuda da aynı parametreler incelenmiş ancak bu parametrelerin miktarı istatistiki olarak kontrol grubundan farksız bulunmuştur.⁴⁶ Bizim çalışmamızda ise L-tiroksin ile hipertiroidi oluşturulan sıçanlarda lipid peroksidasyonu belirteci olarak kalp dokusu homojenatlarında MDA düzeyleri ölçüldü. Hipertiroidi grubunda ölçülen MDA düzeyleri kontrol grubundakinden anlamlı derecede yüksek bulundu. Bu sonuç daha önce yayınlanmış literatür bilgileriyle uyumlu idi. Bunlara ilave olarak bizim çalışmamızda en yüksek MDA düzeyleri egzersiz ve hipertiroidi+egzersiz gruplarında ölçüldü. Bu sonuçlar egzersizin hipertiroidili sıçan kalp dokusunda lipid peroksidasyonunu daha da artırdığını göstermektedir. Ayrıca korelasyon analiz sonuçları değerlendirildiğinde MDA düzeylerinin TOD ve PCO düzeyleri ile önemli pozitif korelasyon gösterdiği görülmektedir.

ROT'un etkilediği diğer bir önemli biyomolekül grubu proteinlerdir. Proteinlerin oksidasyonunun göstergesi olarak PCO düzeyi ölçülmektedir. Oksidasyon sonucunda proteinlerin yapısı, buna bağlı olarak da fonksiyonları bozulmaktadır. PCO, oksidatif stresin erken dönemlerinde oluşur ve oluşan ürün uzun süre stabil olup basit ve duyarlı yöntemlerle ölçülebilmektedir. Proteinlerin oksidatif modifikasyonu, kalp-damar sistemi rahatsızlıkları dahil bir çok hastalığın etyolojisi ve ilerlemesinde rol oynayabileceği belirtilmektedir.³¹⁻³⁵ Hipertiroidi durumunda protein oksidasyonunun önemli derecede arttığı gösterilmiştir.¹⁰ Kahraman ve ark.¹⁸ yaptığı bir çalışmada ağır egzersiz yapan sporcularda egzersizin oksidatif stres ve antioksidan kapasite üzerindeki etkisi incelenmiş ve plazmada protein oksidasyon göstergesi olarak PCO düzeyi ölçülmüştür. Çalışma sonrasında plazma PCO düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı

olarak yüksek bulunmuş ve egzersizin oksidatif stresi arttırdığı ifade edilmiştir.¹⁸ Çelik Güzel ve ark.¹⁰ tarafından yapılan bir başka çalışmada, hipertiroidili kadınlarda PCO düzeyleri ötiroidili kadınlardan önemli derecede yüksek olduğu bulunmuştur. Bir protein oksidasyon belirteci olan PCO yönünden çalışmamızın bulguları değerlendirildiğinde; kontrol grubundaki PCO seviyeleri ile kıyaslandığında tüm gruplarda PCO seviyelerinin artmış olduğu ve bu artışın, hipertiroidi grubundaki artış hariç, anlamlı düzeyde olduğu görülmektedir. Egzersiz grubundaki POC düzeyi hem kontrol hem de hipertiroidi grubuna göre istatistiki olarak önemli derecede yüksekti. Hipertiroidi+egzersiz grubundaki PCO düzeyi ise kontrol grubuna göre önemli derecede yüksekti. Bu sonuçlar bize dayanıklılık egzersizi yaptırılan sıçanların kalp dokusunda PCO düzeylerinin arttığını göstermektedir. Protein oksidasyonunu reaktif oksijen türleri ile direk olarak, MDA gibi peroksidasyon ürünleriyle indirek olarak oluşabileceği daha önce ifade edilmişti. Bu literatür bilgisini teyit eder şekilde bizim çalışmamızda PCO ile ilgili elde edilen bir diğer bulgu ise PCO ile MDA arasında önemli bir pozitif korelasyon olmasıdır. Çelik Güzel ve ark.¹⁰ da yapmış oldukları çalışmada TBARS ve PCO arasında pozitif bir korelasyonun olduğunu rapor etmişlerdir. Bu pozitif korelasyon artan MDA düzeylerinin protein oksidasyonunu arttırdığını düşündürmektedir.

DNA hasarı, hücrenin yaşamı boyunca sıklıkla karşılaştığı bir olaydır.^{9,36} DNA'da meydana gelen düşük seviyedeki hasar DNA tamir mekanizmalarıyla sürekli olarak minimal hatayla etkin bir şekilde onarılırken yüksek düzeylerdeki oksidatif hasar mutasyon, kanser, yaşlanma ve sonuçta hücre ölümüne yol açabilmektedir.⁹ 8-OHdG, guanozin bazı üzerinden oluşan hasar ürünlerinden bir tanesidir. 8-OHdG, oksidatif DNA hasarının direkt belirteci olarak kabul edilmekte ve oksidatif DNA hasarının tayininde en sık kullanılan belirteç olarak karşımıza çıkmaktadır.³⁶ Tiroid hormonlarının

serbest oksijen radikallerini indüklediği ve sonuçta oksidatif strese neden olduğu ifade edilmiştir. Hara ve ark.¹⁰⁰ tarafından Graves hastalığı ve Hashimoto tiroiditi olan hastaların kültüre edilmiş mononükleer hücrelerinde oksidatif DNA hasar belirteci olarak 8-OHdG düzeylerini ölçmüşlerdir. Sağlıklı kontrol grubuna göre Graves Hastalığı olan bireylerde 8-OHdG seviyelerinin anlamlı olarak yüksek olduğunu Hashimoto tiroiditli hastalarda ise önemli bir farklılığın olmadığını rapor etmişlerdir. Graves oftalmopatii orbital fibroblast kültüründen yapılan bir diğer çalışmada ise DNA oksidasyon ürünü olan 8-OHdG düzeyleri kontrol grubuna göre önemli derecede yüksek bulunmuştur.⁴⁶ Bizim çalışmamızda ise hipertiroidi grubundaki 8-OHdG düzeyleri kontrol grubundakinden farklı değildi. Buna karşın egzersiz ve hipertiroidi+egzersiz gruplarında 8-OHdG düzeylerinin kontrol grubuna göre önemli oranda artış gösterdiği gözlemlendi. Ayrıca bu çalışma sonucunda 8-OHdG ile TOD ve PCO arasında pozitif bir korelasyon bulundu. 8-OHdG ile TOD arasında korelasyon beklenildiği üzere oksidan maddelerin artmasıyla 8-OHdG düzeylerinin arttığını göstermektedir.

Mevcut çalışmada ölçtüğümüz bir diğer parametre TOD düzeyleri idi. Bu parametre ölçümü ile toplam oksidan durumun değerlendirilmesi amaçlandı. TOD düzeyleri açısından hipertiroidi grubu ortalama değerleri, kontrol ve egzersiz gruplarından farksızdı. En yüksek TOD düzeyleri hipertiroidi+egzersiz grubunda izlendi. Diğer çalışma grupları ile karşılaştırıldığında hipertiroidi+egzersiz grubundaki bu artış istatistiki olarak anlamlı idi. Bu sonuçlar tek başına hipertiroidi veya egzersizin kalp dokusunda toplam oksidan durumu etkilemediği ancak sinerjik bir etki ile egzersizin hipertiroidili sıçanlarda toplam oksidan durumu anlamlı düzeyde artırdığını göstermektedir. Aşırı egzersiz esnasında normalden 10 kat fazla oksijen tüketildiği, aşırı oksijen tüketiminin de ROT'ta artışa neden olacağı^{18,101,102} ve hipertiroidi durumunda metabolik hızın ve dolayısıyla oksijen tüketiminin arttığı düşünüldüğünde

hipertiroidi+egzersiz grubunda TOD'un anlamlı düzeyde artışı şaşırtıcı değildir. Çalışma gruplarında ölçülen TAK düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arası farklılık istatistiki olarak anlamlı düzeyde değildi. Bununla birlikte TAK ile FT₄ arasında pozitif korelasyon, TSH ile ise negatif korelasyon tespit edildi.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında hipertiroidili sıçanların kalp dokusundaki MDA, PCO, 8-OHdG, TAK ve TOD konsantrasyonları üzerine düzenli dayanıklılık egzersizinin bir etkisinin olup olmadığı araştırıldı.

Hipertiroidi grubu ve hipertiroidi+egzersiz grubundaki sıçanlara, yirmi gün boyunca, 250 µg/kg dozunda subkutan L-tiroksin enjeksiyonu yapılarak hipertiroidi oluşturuldu. Hipertiroidi durumu ölçülen serum FT₃ ve FT₄ düzeyinde artış TSH düzeylerindeki baskılanma ile teyit edildi. Hipertiroidili sıçanlarda düzenli olarak yapılan dayanıklılık egzersizi, sedanter hipertiroidili sıçanlarda gözlenen kilo kaybını muhtemelen kas kitlesindeki kaybı önleyerek engelledi. Egzersiz hipertiroidili sıçan kalp dokusunda lipid peroksidasyonunu, protein oksidasyonunu ve toplam oksidan durumu artırdı. Kalp dokusunda ölçülen oksidatif DNA hasarı göstergesi olan 8-OHdG düzeyleri hipertiroidi durumundan etkilenmedi ancak dayanıklılık egzersizi yaptırılan sıçanlarda 8-OHdG düzeyleri önemli düzeyde artış gösterdi.

KAYNAKLAR

1. Bozoğlu H. Deneysel Hipertiroidi Oluşturulmuş Sıçanlarda Östrus Siklusunun Değişik Evrelerinde Dişi Genital Organlarda (Ovaryum ve Uterus) Östrojen ve Progesteron Reseptör Dağılımının İmmünohistokimyasal Olarak İncelenmesi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Edirne: Trakya Üniversitesi, 2013.
2. Kara EP. Tiroidektomi sonrası memnuniyet ve hastaların ameliyat sonrası takip ve tedavi uyumlarının araştırılması. Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği Şefliği. Uzmanlık tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı, 2009.
3. Rhee SS, Pearce EN. Update: Systemic Diseases and the Cardiovascular System (II). The endocrine system and the heart: a review. *Revista Española de Cardiología*, 2011, 64: 220-231.
4. Traube E, Coplan NL. Embolic risk in atrial fibrillation that arises from hyperthyroidism: review of the medical literature. *Texas Heart Institute Journal*, 2011, 38: 225-228.
5. Biondi B. Mechanisms in endocrinology: Heart failure and thyroid dysfunction. *European Journal of Endocrinology*, 2012, 167: 609-618.
6. Santini F, Marzullo P, Rotondi M, Ceccarini G, Pagano L, Ippolito S, Chiovato L, Biondi B. Mechanisms in endocrinology: the crosstalk between thyroid gland and adipose tissue: signal integration in health and disease. *European Journal of Endocrinology*, 2014, 171: 137-152.
7. Spadafranca A, Cappelletti C, Leone A, Vignati L, Battezzati A, Bedogni G, Bertoli S. Relationship between thyroid hormones, resting energy expenditure and cardiometabolic risk factors in euthyroid subjects. *Clinical Nutrition*, 2014, in press: 1-5.

8. Sundaresh V, Brito JP, Wang Z, Prokop LJ, Stan MN, Murad MH, Bahn RS. Comparative effectiveness of therapies for Graves' hyperthyroidism: a systematic review and network meta-analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2013, 98: 3671-3677.
9. Bilgici B. Behçet hastalığında genotoksisite. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi, 2005.
10. Çelik Güzel E, Güzel Ş, İlk B, Erhan Sayalı E, Ekizoğlu İ. Hipertiroidili Kadın Hastalarda E Vitamini Düzeyleri ve Oksidatif Stres. *Bakırköy Tıp Dergisi*, 2009, 5: 58-62.
11. Karataş F, Aşkın U, Halifeoğlu İ, Döndür E. Guatr'lı Hastalarda Antioksidan Vitaminler (A, E ve C), Selenyum ve Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Düzeylerinin Araştırılması. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2006, 20: 277-280.
12. Emecen Ö, Berçik İnal B, Erdenen F, Usta M, Aral H, Güvenen G. Evaluation of oxidant/antioxidant status and ECP levels in asthma. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 2010, 40: 889-895.
13. O Emin, A Hasan, D Aysegul, D Rusen. Total Antioxidant Status and Oxidative Stress and Their Relationship to Total IgE Levels and Eosinophil Counts in Children With Allergic Rhinitis. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 2012, 22: 188-192.
14. Onat T, Sözmen EY, Emerk K. *İnsan Biyokimyası*, 2. Baskı. Ankara, Palme Yayıncılık, 2006: 280-758.
15. Mishra P, Samanta L. Oxidative stress and heart failure in altered thyroid States. *The Scientific World Journal*, 2012, 2012: 741861.

16. Corbi G, Conti V, Russomanno G, Longobardi G, Furgi G, Filippelli A, Ferrara. Adrenergic signaling and oxidative stress: a role for sirtuins? *Frontiers in Physiology*, 2013, 324: 1-14.
17. Klein I, Danzi S. Thyroid disease and the heart. *Circulation*, 2007, 116: 1725-1735.
18. Kahraman A, Çakar H, Vurmaz A, Gürsoy F, Koçak S, Serteser M. Ağır egzersizin oksidatif stres üzerindeki etkisi. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 2003, 2: 33-38.
19. Mohammadi M, Ghaznavi R, Keyhanmanesh R, Sadeghipour HR, Naderi R, Mohammadi H. Voluntary exercise prevents lead-induced elevation of oxidative stress and inflammation markers in male rat blood. *The Scientific World Journal*, 2013, 2013: 1-5.
20. Ivanova D, Bakalova R, Lazarova D, Gadjeva V, Zhelev Z. The Impact of Reactive Oxygen Species on Anticancer Therapeutic Strategies. *Advances in Clinical and Experimental Medicine*, 2013, 22: 899-908.
21. Dursun H. Özofagus ve mide kanserli hastalarda eritrosit antioksidan enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyon düzeyleri. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2002.
22. Atasever A. Farklı avlanma metotlarının gökkuşağı alabalığı (*onchorynchus mykiss*) antioksidant enzim aktiviteleri üzerine etkisinin araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2002.
23. Demirpençe Ö, Sevim B, Yıldırım M, Ayan Nurlu N, Mert D, Evliyaoğlu O. Serum paraoxonase, TAK, TOD and ceruloplasmin in brucellosis. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2014, 7: 1592-1597.

24. Tamer MN. Aterotik kalp hastalığı olan tip II diabetes mellitus, yeni tanı almış komplikasyonsuz Tip II diabetes mellitus ve glukoz tolerans bozukluğu olan hastalarda antioksidan enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyonu. Tıp Fakültesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı. Uzmanlık tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, 1998.
25. Oğul YT. Romatoid artritli hastalarda antioksidan tablo ve eritrosit membran Na^+/K^+ ATPaz aktivitesinin incelenmesi. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı. Uzmanlık tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2006.
26. Moon GJ, Kim SJ, Cho YH, Ryoo S, Bang OY. Antioxidant effects of statins in patients with atherosclerotic cerebrovascular disease. *Journal of Clinical Neurology*, 2014, 10: 140-147.
27. Korkmaz GG, Uzun H, Cakatay U, Aydın S. Melatonin ameliorates oxidative damage in hyperglycemia-induced liver injury. *Clinical And Investigative Medicine*, 2012, 1: 370-377.
28. Gao H, Meng J, Xu M, Zhang S, Ghose B, Liu J, Yao P, Yan H, Wang D, Liu L. Serum Heat Shock Protein 70 Concentration in Relation to Polycystic Ovary Syndrome in a Non-Obese Chinese Population. *PLoS One*, 2013, 8: e67727.
29. Çevik MU, Acar A, Yücel Y, Varol S, Akıl E, Arıkanoglu A, Yüksel H. Investigation of Total Oxidants/Antioxidants in Patients with Intracerebral Haemorrhage. *Turkish Journal Of Neurology*, 2013, 19: 1-4.
30. Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes mellitus and oxidative stress. *Türk Biyokimya Dergisi*, 2006, 31: 51-56.
31. Gülbahar Ö. Protein oksidasyonunun mekanizması, önemi ve yaşlılıkla ilişkisi. *Turkish Journal of Geriatrics*, 2007, 10: 43-48.

32. Kayalı R, Çakatay U. Protein oksidasyonunun ana mekanizmaları. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 2004, 35: 83-89.
33. Büyükgüzel E. Protein Oksidasyonun Biyokimyasal ve Moleküler Mekanizması. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, 2013, 3: 40-51.
34. Herek B. T.C.S.B. İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesinde hastaların tiroid İİAB sonuçları ile ameliyat patolojilerinin karşılaştırılması. İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği. Uzmanlık tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı, 2009.
35. Negre-Salvayre A, Coatrieux C, Ingueneau C, Salvayre R. Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors. *British Journal of Pharmacology*, 2008, 153: 6-20.
36. Atmaca E, Aksoy A. Oksidatif DNA Hasarı ve Kromatografik Yöntemlerle Tespit Edilmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 2009, 20: 79-83.
37. Özdemir S, Özdemir O, Sezer S, Torun O, Celik HT, Soydas R, Atalay C, Serdar M, Yıldırımkaş M. The Measurement of Urinary 8-Hidroxy-2'deoxyguanosine Level with Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Method in Patients with Polycystic Ovary Syndrome. *Journal of Turkish Society of Obstetrics and Gynecology*, 2014, 11:21-28.
38. Venditti P, Balestrieri M, Di Meo S, De Leo T. Effect of thyroid state on lipid peroxidation, antioxidant defences, and susceptibility to oxidative stress in rat tissues. *Journal of Endocrinology*, 1997, 155: 151-157.
39. Gür B, Halifeoğlu İ, Telo S, İnanç Tolun F. Hipertiroid hastalarda tedavi öncesi ve sonrası malondialdehit ve antioksidan enzim düzeyleri. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 2005, 19: 221-226.

40. Tiwaria AK, Prasada P, Thelma BK, Kumarb KMP, Amminic AC, Gupta A, Gupta R. Oxidative stress pathway genes and chronic renal insufficiency in Asian Indians with Type 2 diabetes. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 2009, 23: 102-111.
41. Sözmen EY, Sözmen B, Delen D, Onat T. Catalase/superoxide dismutase (SOD) and catalase/paraoxonase (PON) ratios may implicate poor glycemic control. *Archives of Medical Research*, 2001, 32: 283-287.
42. Yildirim A, Sahin YN, Suleyman H, Yilmaz A, Yildirim S. The role of prednisolone and epinephrine on gastric tissue and erythrocyte antioxidant status in adrenalectomized rats. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 2007, 58: 105-116.
43. Köse M. Tip II diabetes mellituslu hastalarda eritrosit içi süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz düzeyleri. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, 1997.
44. Chakrabarti S, Jahandideh F, Wu J. Food-Derived Bioactive Peptides on Inflammation and Oxidative Stress. *BioMed Research International*, 2014, 2014: 1-11.
45. Moreno JM, Rodríguez Gómez I, Wangenstein R, Alvarez-Guerra M, de Dios Luna J, García-Estañ J, Vargas F. Tempol improves renal hemodynamics and pressure natriuresis in hyperthyroid rats. *American journal of physiology-Regulatory, integrative and comparative physiology*, 2008, 294: 867-873.
46. Tsai CC, Wu SB, Cheng CY, Kao SC, Kau HC, Chiou SH, Hsu WM, Wei YH. Increased oxidative DNA damage, lipid peroxidation, and reactive oxygen species in cultured orbital fibroblasts from patients with Graves' ophthalmopathy:

- evidence that oxidative stress has a role in this disorder. *Eye (Lond)*, 2010, 24: 1520-1525.
47. Revan S, Erol AE. Farklı Dayanıklılık Antrenmanlarının Oksidatif Stres Oluşumu ve Antioksidan Düzeyleri Üzerine Etkisi. *Selçuk Üniversitesi Beden Eğitimi ve Spor Bilim Dergisi*, 2008, 10: 11-20.
 48. Kurkcu R, Cakmak A, Zeyrek D, Atas A, Karacabey K, Yamaner F. Evaluation of Oxidative status in Short-Term Exercises of Adolescent Athletes. *Biology of Sport*, 2010, 27: 177-180.
 49. Clarkson, PM. Antioxidants and physical performance. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1995, 35: 131-141.
 50. Klinkenberg LJ, Res PT, Haenen GR, Bast A, van Loon LJ, van Dieijen-Visser MP, Meex SJ. Effect of antioxidant supplementation on exercise-induced cardiac troponin release in cyclists: a randomized trial. *PLoS One*, 2013, 19: e79280.
 51. Lee J, Park S, Kim WK. Exercise preconditioning reduces acute ischemic renal injury in Hsp70.1 knockout mouse. *Histology and Histopathology*, 2013, 28: 1223-1233.
 52. Van Dieijen-Visser M.P. The release of cardiac troponin when, where and how, Maastricht, Datawyse Universitaire Pers Maastricht, 2012, 16-18.
 53. Stanković M, Radovanović D. Oxidative stress and physical activity. *SportLogia*, 2012, 8: 1-11.
 54. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative stress: relationship with exercise and training. *Sports Medicine*, 2006, 36: 327-358.
 55. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, 2008, 88: 1243-1276.

56. Gul M, Demircan B, Taysi S, Oztasan N, Gumustekin K, Siktar E, Polat MF, Akar S, Akcay F, Dane S. Effects of endurance training and acute exhaustive exercise on antioxidant defense mechanisms in rat heart. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 2006, 143: 239-245.
57. Erbil OA. Tiroid kanserinin tiroid fonksiyonu ile ilişkisi. Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2.Genel Cerrahi Kliniği. Uzmanlık tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı, 2005.
58. Abanuz Ü. Hipertiroidide tiroid kanser insidansı. Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2.Genel Cerrahi Kliniği. Uzmanlık tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı, 2005.
59. Güvey A. Tiroid nodüler hastalıklarının tanısında ince iğne aspirasyon biyopsisi ile postoperatif histopatolojik değerlendirme sonuçlarının karşılaştırılması. Bezm-i Alem Valide Sultan Vakıf Gureba Eğitim ve Araştırma Hastanesi II. Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Kliniği. Uzmanlık tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı, 2006.
60. Karakan İH. İnce iğne aspirasyon biyopsisi ve frozen section yöntemlerinin tiroid kitlelerindeki cerrahi yaklaşım üzerine etkileri. İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi 4. Genel Cerrahi Kliniği. Uzmanlık tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı, 2008.
61. Onat T. Tiroid Fonksiyonu. İçinde: *Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler*, Aslan D, (Çeviri editörü). Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, Burtis CA, Ashwood ER. 5. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 2005: 839-856.

62. Granner DK. Tiroid Hormonları. İçinde: *Harper'in Biyokimyası*, Dikmen N, Özgünen T, (Çeviri editörleri). Harper's Biochemistry, Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. 24. Baskı, İstanbul, Barış Kitabevi, 1998: 551-559.
63. Bizhanova A, Kopp P. Controversies concerning the role of pendrin as an apical iodide transporter in thyroid follicular cells. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2011, 28: 485-490.
64. Adam B, Yiğitoğlu R. *Tıbbi Biyokimya*. İstanbul, Atlas Nobel Yayıncılık, 2012: 386-399.
65. Fong P. Thyroid iodide efflux: a team effort? *The Journal of Physiology*, 2011, 15: 5929-5939.
66. Dossena S, Nofziger C, Tamma G, Bernardinelli E, Vanoni S, Nowak C, Grabmayer E, Kössler S, Stephan S, Patsch W, Paulmichl M. Molecular and functional characterization of human pendrin and its allelic variants. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2011, 28: 451-466.
67. Ohye H, Sugawara M. Dual oxidase, hydrogen peroxide and thyroid diseases. *Experimental Biology and Medicine*, 2010, 235: 424-433.
68. Schweizer U, Johannes J, Bayer D, Braun D. Structure and function of thyroid hormone plasma membrane transporters. *European Thyroid Journal*, 2014, 3: 143-153.
69. Schutkowski A, Wege N, Stangl GI, König B. Tissue-Specific Expression of Monocarboxylate Transporters during Fasting in Mice. *PLoS One*, 2014, 9: 1-11.
70. Davis PJ, Leonard JL, Davis FB. Mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone. *Front Neuroendocrinol*, 2008, 29: 211-218.
71. Dillmann W. Cardiac hypertrophy and thyroid hormone signaling. *Heart Failure Reviews*, 2010, 15: 125-132.

72. Brent GA. Mechanisms of thyroid hormone action. *Journal of Clinical Investigation*, 2012, 122: 3035-3043.
73. Uzan SS. Bilateral subtotal tiroidektomi yapılan hastalarda paratiroid glandların korunmasının postoperatif hipokalsemi gelişimi üzerine etkileri. Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi II. Genel Cerrahi Kliniği. Uzmanlık tezi, İstanbul: Sağlık Bakanlığı, 2005.
74. Bahn Chair RS, Burch HB, Cooper DS, Garber JR, Greenlee MC, Klein I, Laurberg P, McDougall IR, Montori VM, Rivkees SA, Ross DS, Sosa JA, Stan MN; Hyperthyroidism and other causes of thyrotoxicosis: management guidelines of the American Thyroid Association and American Association of Clinical Endocrinologists. *Thyroid*, 2011, 21: 593-646.
75. Gül ÖÖ, Şahin S, Cander S, Gül B, Ünal OK, Akçalı Ü, Cangür Ş, Alkış N, Bayındır A, Ersoy C, İmamoğlu Ş. Endokrinoloji polikliniğine başvuran hastalarda tiroid fonksiyonlarının yaş ile olan ilişkisinin incelenmesi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2011, 37: 67-70.
76. Cooper DS. Hyperthyroidism. *The Lancet*, 2003, 362: 459-468.
77. Fadel BM, Ellahham S, Ringel MD, Lindsay J Jr, Wartofsky L, Burman KD. Hyperthyroid heart disease. *Clinical Cardiology*, 2000, 6: 402-408.
78. Ray CA, Sauder CL, Ray DM, Nishida Y. Effect of acute hyperthyroidism on blood flow, muscle oxygenation, and sympathetic nerve activity during dynamic handgrip. *Physiological Reports*, 2013, 1: 1-11.
79. Vonhoff C, Baumgartner A, Hegger M, Korte B, Biller A, Winterhoff H. Extract of *Lycopus europaeus* L. reduces cardiac signs of hyperthyroidism in rats. *Life Sciences*, 2006, 78: 1063-1070.

80. Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T. Reactive oxygen particles and antioxidant defence. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/ Office Journal of the Turkish Nephrology, Association*, 1997, 34: 92-95.
81. Yan LJ, Forster MJ. Chemical probes for analysis of carbonylated proteins: a review. *Journal of Chromatography B*, 2011, 879: 1308-1315.
82. Karakoç A. Paraoksonaz Polimorfizmleri ile Tip 2 Diabetin Makro ve Mikrovasküler Komplikasyonları Arasındaki İlişkinin Araştırılması. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2008.
83. Çığremiş Y, Köse M, Özüğurlu F, Türköz Y ve Eğri M. Tip II Diabetes Mellitus'lu Hastaların Eritrosit içi Cu,Zn-SOD, CAT ve GSH-Px Antioksidan Enzim Düzeylerinin Araştırılması. *Gazi Üniversitesi-Fen Bilimleri Dergisi*, 2003, 16: 239-244.
84. Acharya JD, Ghaskadbi SS. Protective effect of pterostilbene against free radical mediated oxidative damage. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 26: 1-10.
85. Kıran M. Tip 2 diabetes mellitus hastalarında periodontal tedavinin hastalığın metabolik kontrolüne etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Periodontoloji Anabilim Dalı. Doktora tezi, Ankara: Ankara Üniversitesi, 2002.
86. Lakshmana MR, Gottipatib CS, Narasimhanc SJ, Munozb J, Marmillotb P, Nylenc ES. Inverse correlation of serum paraoxonase and homocysteine thiolactonase activities and antioxidant capacity of high-density lipoprotein with the severity of cardiovascular disease in persons with type 2 diabetes mellitus. *Metabolism Clinical and Experimental*, 2006, 55: 1201-1206.

87. Madian AG, Regnier FE. Proteomic identification of carbonylated proteins and their oxidation sites. *Journal of Proteome Research*, 2010, 9: 3766-3780.
88. Madian AG, Myracle AD, Diaz-Maldonado N, Rochelle NS, Janle EM, Regnier FE. Differential carbonylation of proteins as a function of in vivo oxidative stress. *Journal of Proteome Research*, 2011, 10: 3959-3972.
89. Çakatay U, Telci A, Yılmaz İA, Akçay T, Sivas A. Yaşlanmanın Plazma Oksidatif Protein Hasarına Etkisi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 2000, 31: 220-223.
90. Yılmaz E, Altunok V. Kanser ve p53 Geni. *Adana Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 2011, 1: 19-23.
91. Halapas A, Lembessis P, Mourouzis I, PanTOD C, Cokkinos DV, Sourla A, Koutsilieris M. Experimental hyperthyroidism increases expression of parathyroid hormone-related peptide and type-1 parathyroid hormone receptor in rat ventricular myocardium of the Langendorff ischaemia-reperfusion model. *Experimental Physiology*, 2007, 93: 237-246.
92. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry*, 1979, 95: 351-358.
93. Özgeriş, F.B. Hiper ve hipotiroidli hastalarda plazma asimetrik dimetil arginin, nitrik oksit seviyeleri ve endotelial nitrik oksit sentaz aktivitesinin tayini. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı. Yüksek Lisans tezi, Erzurum: Atatürk Üniversitesi, 2011.
94. Dinçer C, Kayserilioğlu A. Egzersizde oluşan lipid peroksidasyonu ve E vitaminin koruyucu etkisi. *Spor ve Tıp*, 1995, 7: 20-23.
95. Bozhkov AI, Nikitchenko YV. Thermogenesis and longevity in mammals. Thyroxin model of accelerated aging. *Experimental Gerontology*, 2014, 60: 173-182.

96. Varedi M, Moattari A, Amirghofran Z, Karamizadeh Z, Feizi H. Effects of hypo- and hyperthyroid states on herpes simplex virus infectivity in the rat. *Endocrine Research*, 2014, 39: 50-55.
97. Navas PB, Redondo AL, Cuello-Carrión FD, Roig LM, Valdez SR, Jahn GA, Hapon MB. Luteal expression of thyroid hormone receptors during gestation and postpartum in the rat. *Thyroid*, 2014, 24: 1040-1050.
98. Messarah M, Saoudi M, Boumendje A, Boulakoud MS, Feki AE. Oxidative stress induced by thyroid dysfunction in rat erythrocytes and heart. *Environ toxicology pharmacology*, 2011, 31: 33-41.
99. Özgüner M, Şenol A, Ural M, İşler M. Deneysel hipertiroidinin erişkin sıçan testis dokusunda oluşturduğu histolojik değişiklikler. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2004, 11: 1-6.
100. Hara H, Sato R, Ban Y. Production of 8-OHdG and cytochrome c by cultured human mononuclear cells in patients with autoimmune thyroid disease. *Endocrine Journal*, 2001, 48: 671-675.
101. König D and Berg A. Exercise and oxidative stress Is there a need for additional antioxidants. *Sports Medicine*, 2002, 3: 6-15.
102. Skarpanska Stejnborn A, Szyszka K, et al. The influence of diet rich antioxidative vitamins on the glutathione level and the content of lipid peroxidation product in the blood of rowers. *Sports Medicine*, 2001, 5: 35-40.

EKLER

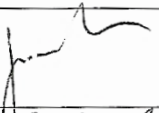
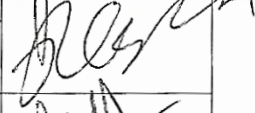
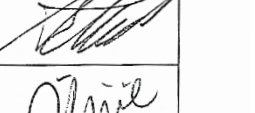
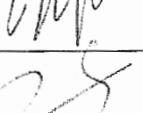
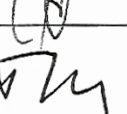
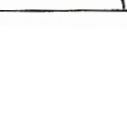
EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Akar KARAKOÇ Doğum tarihi: 10.07.1979 Doğum yeri: Erzincan Medeni hali: Bekâr Uyruğu: T.C. Adres: Atatürk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Tel: 0442 2315855 Faks: - E-mail: akarkarakoc@gmail.com, akar.karakoc@atauni.edu.tr
Eğitim
Lise: Kemah Lisesi (1996-1999) Lisans: Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü (1999-2003) Yüksek lisans: 1. Atatürk Üniversitesi Kazım Karabekir Eğitim Fakültesi (2003-2005) 2. Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı (2005-2008) Doktora: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı (2008-2015)
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce: İyi (ÜDS 68.75, Mart 2008)
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
-
İlgi Alanları ve Hobiler
Moleküler Biyokimya, PCR, Real Time PCR, Atomik Absorbsiyon Spektrofotometrisi, HPLC, Beslenme Biyokimyası; Kitap okumak, Yeni yerler gezmek, Müzik dinlemek.

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU

“2011. 2.1/ 29“SAĞLIK BİLİMLERİ ETİK KURUL KARARI 27.04.2011

2.1/ 29- Enstitümüz Tıp Biyokimya Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Akar KARAKOÇ’ un “ Tiroid Disfonksiyonlu Ratların Kalp Dokusundaki Biyokimyasal Parametreler Üzerine Egzersizin Etkisinin Araştırılması ” tez konusu görüldü; İlginin tez konusunun etik değerlere uygun olduğu mevcudun oybirliği ile,

ADI SOYADI	GÖREVİ	İMZA
Prof.Dr.Türkan PASİNLİOĞLU	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkanı	
Prof. Dr. Funda BAYINDIR	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Başkan Yardımcısı	
Prof. Dr. İsmail CEYLAN	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Prof. Dr. Mustafa ATASEVER	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Prof. Dr. Zekeriya AKTÜRK	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Prof. Dr. H. İnci GÜL	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Doç. Dr. Hakan USLU	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Doç.Dr. Abdulkadir YILDIRIM	Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurul Üyesi	
Yrd. Doç. Dr. İlhan ŞEN	Raportör	

EK-3. DOKTORA TEZ SAVUNMA SINAV TUTANAĞI



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



DOKTORA TEZ SAVUNMA SINAVI TUTANAĞI (Tez başlığı değişikliği önerisi olanlar için) (FORM: 22)

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ

Adı ve Soyadı : Akar KARAKOÇ

Danışmanı : Prof. Dr Abdulkadir YILDIRIM

Programı (Fakülte/Y.Okul) : Tıp Fakültesi

Ortak Danışman : -

Anabilim Dalı : Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 25/12/2014 ve 2014.42.2/d sayılı kararıyla oluşturulan tez savunma sınavı jürisi, *Tiroid Disfonksiyonlu Ratların Kalp Dokusundaki Biyokimyasal Parametreler Üzerine Egzersizin Etkisinin Araştırılması* başlıklı doktora tezini incelemiş ve aday 15.01.2015 tarihinde, saat 13:00'da tez savunma sınavına tabi tutmuştur.

DEĞERLENDİRME VE SONUÇ:

☒ Jüri raporlarının tartışılması sonucunda **başarıyla** savunulan tezin **KABUL EDİLMESİNE**,

☐ Jüri raporlarının tartışılması sonucunda, ... ay ek süre verilerek tezin **DÜZELTİLMESİNE**,

☐ Jüri raporlarının tartışılması sonucunda tezin **REDDEDİLMESİNE**,

☒ ancak konu ve içeriği değişmeksizin tez başlığının *Hipertiroidili Sıçanların Kalp Dokusundaki Oksidatif Stres Parametreleri Üzerine Egzersizin Etkisinin Araştırılması* olarak düzenlenmesine,

☒ OY BİRLİĞİ

☐ OY ÇOKLUĞU ile karar verilmiştir.

Tez Sınav Jürisi	Unvanı, Adı Soyadı	İmza
Başkan	:Prof. Dr Ebubekir BAKAN	
Üye	:Prof. Dr. Abdulkadir YILDIRIM	
Üye	:Prof. Dr. Fatih AKÇAY	
Üye	: Prof. Dr. Mustafa GÜL	
Üye	:Prof. Dr. Hüseyin ÖZYURT	
Üye	:	
Üye	:	