



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL HİPOTİROİDİZMDE KARDİOVASKÜLER BULGULAR VE KAFEİNİN ETKİLERİ

Duygu YÜKSEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Özlem ÖZMEN

BURDUR-2021

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL HİPOTİROİDİZMDE KARDİOVASKÜLER
BULGULAR VE KAFEİNİN ETKİLERİ**

Duygu YÜKSEL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER PATOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. Özlem ÖZMEN

Bu Araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 0642-YL-20 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR-2021

TEŞEKKÜR

Lisans, yüksek lisans ve tez çalışmam süresince engin bilgileriyle ve tecrübeleriyle yol gösteren, tez konumun seçilmesinden uygulaması ve yazılmasına kadar her konuda destek olan, yetişmemde büyük emek sahibi Sayın Prof. Dr. Özlem ÖZMEN'e,

Araştırmamın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen ve tecrübelerini paylaşarak yön veren hocam Sayın Prof. Dr. Zafer ÖZYILDIZ ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Volkan İPEK'e, ELİSA işlemlerinin yapılmasında özveri ile destekveren Dr. Öğr. Üyesi Ezgi ŞABABOĞLU'na, laboratuvar işlemlerini öğrenmemde yardımcı olan Uzm. Biyolog Dilnur İLERİ, Öğr. Gör. Leyla Elif Özgü AYÖZGER ve tüm yüksek lisans ile doktora öğrencisi arkadaşlarıma, son olarak da her zaman beni destekleyen aileme teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK	i
KABUL ve ONAY	ii
TEŞEKKÜR	iii
ETİK BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vi
TABLolar	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
TÜRKÇE ÖZET	x
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1.Tarihçe	2
2.2.Embriyoloji	2
2.3.Anatomi	3
2.4.Histoloji	4
2.5.Fizyoloji	4
2.6.Fonksiyonları	4
2.7.Tiroid Hastalıkları	6
2.7.1.Hipertiroidizm	6
2.7.2.Hipotiroidizm	6
2.8.Hipotiroidizmin Kardiovasküler Etkileri	7
2.9.Kafein	8
3. GEREÇ ve YÖNTEM	9
3.1.Deneysel Prosedür	9
3.2.Histopatolojik Yöntem	10
3.3.İmmunohistokimya Yöntemi	12
3.4.Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) metodu	13
3.5.İstatistiksel Analizler	13
4. BULGULAR	14
4.1. Klinik Bulgular	14
4.2. Makroskopik Bulgular	14
4.3. Plazma TSH, T3 ve T4 Analiz Sonuçları	17
4.4. Histopatolojik Bulgular	18
4.4.1.Tiroid Histopatopatoloji Bulguları	18
4.4.2.Kalp Histopatoloji Bulguları	24
4.5. Kardiyak Troponin'in İmmunohistokimyasal Bulguları	31

5. TARTIŞMA	37
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	40
KAYNAKLAR	41
ÖZGEÇMİŞ	45

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 3.1. PTU'nun intraperitoneal verilışı	9
Şekil 3.2. Kafeinin gavaj ile verilışı	10
Şekil 3.3. Takibi yapılarak parafine gömülen dokuların blokları	11
Şekil 4.1. Grup 1'deki bir ratın normal tiroid görünümü (oklar)	15
Şekil 4.2. Grup 2'deki bir ratın büyümüş tiroid dokusunun görünümü (oklar)	15
Şekil 4.3. Grup 2'deki bir başka ratın büyümüş tiroid dokusunun görünümü (oklar)	16
Şekil 4.4. Grup 3'deki bir ratın tiroid görünümü (oklar)	16
Şekil 4.5. Grup 4'deki ratın normal tiroid görünümü (oklar)	17
Şekil 4.6. Grup 1'deki bir ratın normal görünümdeki tiroidi (kalın oklar) ve trake kıkırdağı (ince ok), HE, Bar=200 µm	18
Şekil 4.7. Şekil 4.6'nın büyütülmüş görünümü, HE, Bar=100 µm	19
Şekil 4.8. Şekil 4.7'nin büyütülmüş görünümü, HE, Bar=50 µm	19
Şekil 4.9. Grup 2'deki bir ratın hipotiroidi oluşmuş tiroidinin görünümü (kalın oklar), tiroid kıkırdağı (ince ok) ve paratiroid (ok başı), HE, Bar=200 µm	20
Şekil 4.10. Şekil 4.9'un büyütülmüş görünümü, HE, Bar=100 µm	20
Şekil 4.11. Şekil 4.10'un büyütülmüş görünümü, lümeni olmayan asiniler (ince oklar), proliferen olmuş tubuler epiteliyal hücreler (kalın oklar) ve şiddetli hiperemik damarlar (ok başları), HE, Bar=50 µm	21
Şekil 4.12. Grup 3'teki bir ratın tiroidinin (kalın oklar) oldukça küçük foliküllerinin görünümü, paratiroid (ok başı) ve trake kıkırdağı (ince ok), HE, Bar=200 µm	21
Şekil 4.13. Şekil 4.12'nin büyütülmüş görünümü, HE, Bar=100 µm	22
Şekil 4.14. Şekil 4.13'ün büyütülmüş görünümü, HE, Bar=50 µm	22
Şekil 4.15. Grup 4'deki bir ratın normal görünümdeki tiroidi (kalın oklar) ve trake kıkırdağı (ince ok), HE, Bar=200 µm	23
Şekil 4.16. Şekil 4.15'in büyütülmüş görünümü, HE, Bar=100 µm	23
Şekil 4.17. Şekil 4.16'nın büyütülmüş görünümü, HE, Bar=50 µm	24
Şekil 4.18. Grup 1'deki bir ratın kalp damarlarında hafif şiddette hiperemi (oklar), HE, Bar=200 µm	25
Şekil 4.19. Şekil 4.18'in büyütülmüş görünümü, normal miyokardiyumun görünümü, HE, Bar=100 µm	25
Şekil 4.20. Şekil 4.19'in büyütülmüş görünümü, HE, Bar=50 µm	26
Şekil 4.21. Grup 2'deki bir ratın kabindeki damarlarda şiddetli hiperemi (oklar), HE, Bar=200 µm	26

Şekil 4.22.	Şekil 4.21'in büyütülmüş görünümü, damarlarda şiddetli hiperemi, HE, Bar=100 µm	27
Şekil 4.23.	Şekil 4.22'nin büyütülmüş görünümü, HE, Bar=50 µm	27
Şekil 4.24.	Grup 3'deki bir ratın kalbindeki normal hiperemik damarlar (oklar), HE, Bar=200 µm	28
Şekil 4.25.	Şekil 4.24'ün büyütülmüş görünümü, normal miyokardiyumun görünümü, HE, Bar=100 µm.	28
Şekil 4.26.	Şekil 4.25'in büyütülmüş görünümü, HE, Bar=50 µm	29
Şekil 4.27.	Grup 4'deki bir ratın kabindeki damarlarda normal hiperemik damarlar (oklar), HE, Bar=200 µm	29
Şekil 4.28.	Şekil 4.27'nin büyütülmüş görünümü, normal miyokardiyumun görünümü, HE, Bar=100 µm	30
Şekil 4.29.	Şekil 4.28'in büyütülmüş görünümü, HE, Bar=50 µm	30
Şekil 4.30.	Grup 1'deki bir ratın miyokard hücrelerinde belirgin kardiyak troponin ekspresyonları, streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm	31
Şekil 4.31.	Grup 1'deki bir başka ratın miyokardında şiddetli kardiyak troponin ekspresyonu, streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm	32
Şekil 4.32.	Grup 2'deki bir ratın miyokardiyumunda kardiyak troponin ekspresyonunda azalma ve negatif miyokard hücreleri (oklar), streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm	32
Şekil 4.33.	Grup 2'deki bir başka ratın miyokardiyumunda kardiyak troponin ekspresyonunda azalma ve negatif miyokard hücreleri (oklar), streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm	33
Şekil 4.34.	Grup 2'deki bir başka ratın miyokardiyumunda kardiyak troponin ekspresyonunda azalma ve negatif miyokard hücreleri (oklar), streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm	33
Şekil 4.35.	Grup 3'deki bir ratın miyokard hücrelerinde belirgin kardiyak troponin ekspresyonları, streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm	34
Şekil 4.36.	Grup 3'deki bir başka ratın miyokard hücrelerinde belirgin şekilde artmış kardiyak troponin ekspresyonları, streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm	34
Şekil 4.37.	Grup 4'deki bir ratın miyokard hücrelerinde belirgin kardiyak troponin ekspresyonları, streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm	35
Şekil 4.38.	Grup 4'deki bir başka ratın miyokard hücrelerinde belirgin kardiyak troponin ekspresyonları, streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm.	35

TABLÖLAR

Tablo 4.1.	Canlı ağırlıkların değışimlerinin istatistik analiz sonuçları	14
Tablo 4.2.	T3, T4 ve TSH plazma düzeylerinin istatistik analiz sonuçları	17
Tablo 4.3.	Kardiyak troponin immunohistokimyasal skorlarının istatistik analiz sonuçları	36

SİMGELER ve KISALTMALAR

T3	: Triiodotronin
T4	: Tiroksin
TSH	: Tiroid Stimulan Hormon
PTU	: Propylthiouracil
TRH	: Tirotropin Salgılatıcı Hormon
TBG	: Tiroksin Bağlayıcı Globülin
TBPA	: Tiroksin Bağlayıcı Prealbümin
NHANES III	: The Third National Health and Nutrition Examination Survey
PBS	: Fosfat Tamponlu Solüsyon
TSH	: Tiroid Stimulan Hormon
IP	: İntraperitoneal
HE	: Hematoksilen Eozin
Kg	: Kilogram
mg	: Miligram
µm	: Mikrometre
g	: Gram
DAB	: 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride
SD	: Standart Sapma
°C	: Santigrad Derece
%	: Yüzde
/	: Oran

ÖZET

Deneyisel Hipotiroidizmde Kardiovasküler Bulgular ve Kafeinin Etkileri

Tiroid hormonları birçok organın normal çalışması için gerekli hormonlardır. Bu hormonların eksiklik veya fazlalıkları organ ve sistemlerin çalışmalarının bozulmasına yol açar. Tiroid hormon bozukluklarından kardiovasküler sistemin de etkilendiği bildirilmektedir. Ancak bu alandaki çalışmalar oldukça kısıtlıdır. Hipotiroidizm hem insanlar hem de hayvanları etkileyen ve sık gözlenen problemlerdendir. Bu çalışmanın amacı propylthiouracil (PTU) ile hipotiroid oluşturulan ratlarda şekillenebilecek kardiovasküler bulguları incelemek ve kafeinin etkisini değerlendirmektir. Hipotiroid oluşturulan bu ratlarda kafeinin kalp, tiroid ve kan parametreleri üzerindeki etkisini patolojik olarak incelemektir. Çalışmada 250-300 gram ağırlığında Wistar albino ırkı toplam 40 dişi rat kullanıldı ve ratlar 10'ar hayvandan oluşan 4 gruba ayrıldı ve çalışma 2 ayda tamamlandı. Grup 1 (Kontrol grubu) normal su ile 2 ay süre ile ad libitum olarak beslendi. Grup 2 (PTU ile hipotiroidizm oluşturulan grup) 10 mg/kg/gün intraperitoneal enjeksiyon ile 2 ay boyunca uygulandı. Grup 3 PTU (10mg/kg/gün) intraperitoneal enjeksiyonu 1 ay uygulayarak hipotiroid oluşturduktan sonra kafein (10 mg/kg/gün) suya karıştırılıp gavaj yolu ile çalışma süresi (ilave 1 ay daha) boyunca verildi. Grup 4 Kafein (10 mg/kg/gün) suya karıştırılıp gavaj yolu ile çalışma süresi boyunca (2 ay) verildi. Çalışma sonunda ratlar anestezi altında dekapite edilerek histopatolojik inceleme için tiroid ve kalp örnekleri toplandı. TSH, T3 ve T4 analizleri için kan alındı ve plazması çıkarıldı. Nekropsi sırasında PTU verilen grupta tiroidlerin belirgin şekilde büyüdüğü dikkati çekti diğer gruptaki ratların tiroidleri normal görünümdeydi. Kalp örnekleri tüm gruplarda normal görünümdeydi. Plazma örneklerinde Grup 2'de TSH düzeyinde yükselme, T3 ve T4 düzeylerinde düşme gözlemlendi. Diğer grupların hormon düzeyleri normaldi. Histopatolojik incelemede tiroidlerin PTU uygulanan grupta tiroid epitellerinde belirgin proliferasyonlar dikkati çekti. Kalp dokularının histopatolojik incelemesinde PTU grubunda hiperemi gözlemlendi. Kalp örnekleri troponin yönünden immunohistokimyasal olarak değerlendirildi. Grup 2'deki ratların miyokardında troponin ekspresyonlarının hafif düzeyde azaldığı, PTU kesildikten sonra 4 hafta kafein uygulamasının troponin ekspresyonlarının düzeltilmesine katkıda bulunabileceğini gösterdi. Bu konu ile ilgili olarak değişik doz ve sürelerde kafein uygulamasının araştırılacağı çalışmalar yapılmalıdır.

* Bu çalışma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: 0642-YL-20).

Anahtar kelimeler: Hipotiroidi, İmmunohistokimya, Kafein, Kalp, Patoloji, Tedavi.

ABSTRACT

Cardiovascular Findings and Effects of Caffeine in Experimental Hypothyroidism

Thyroid hormones are necessary for the normal functioning of many organs. The deficiencies and excesses of these hormones cause the functions of organs and systems to deteriorate. It is reported that the cardiovascular system is also affected by thyroid hormone disorders. However, studies in this area are very limited. Hypothyroidism is a common problem that affects both humans and animals. The aim of this study is to examine the cardiovascular findings that may occur with propylthiouracil (PTU) in rats with hypothyroidism and to evaluate the effect of caffeine. To examine pathologically the effect of caffeine on heart, thyroid and blood parameters in these hypothyroid rats. In the study, a total of 40 female Wistar albino rats weighing 250-300 grams were used and the rats were divided into 4 groups of 10 animals and the study was completed in 2 months. Group 1 (Control group) they were fed with normal water for 2 months as adlibitum. Group 2 (PTU induced hypothyroidism group) was administered with 10 mg / kg / day intraperitoneal injection for 2 months. Group 3 administered PTU (10mg / kg / day) intraperitoneal injection for 1 month and induced hypothyroidism, then caffeine (10 mg / kg / day) was mixed with water and given by gavage for an additional 1 month. Group 4 caffeine (10 mg / kg / day) was mixed with water and given by gavage throughout the study period (2 months). At the end of the study, the rats were decapitated under anesthesia and thyroid and heart samples were collected for histopathological examination. Blood was taken and plasma was removed for TSH, T3 and T4 analyzes. During necropsy, it was noticed that thyroid grew significantly in the group given PTU and the thyroids of the rats in the other group were normal. Heart samples were normal in all groups. In plasma samples, an increase in TSH level and a decrease in T3 and T4 levels were observed in Group 2. Hormone levels of other groups were normal. In histopathological examination, prominent proliferations were noted in thyroid epithelium in the PTU group. Hyperemia was observed in the PTU group in the histopathological examination of the heart tissues. Heart samples were evaluated immunohistochemically for troponin. It showed that troponin expressions were slightly decreased in the myocardium of rats in Group 2, and that caffeine administration for 4 weeks after the PTU was discontinued may contribute to the correction of troponin expressions. The results of this study showed that caffeine administration after the cessation of PTU administration in rats with experimental hypothyroidism can help correct changes in both thyroid and heart.

Further studies should be conducted to investigate caffeine administration at different doses and durations on this subject.

*This study was supported by scientific Projects Commission of University of Burdur Mehmet Akif Ersoy (Project number: 0642-YL-20).

Key words: Caffeine, Heart, Hypothroidism, Immunohistochemistry, Pathology, Treatment.



1. GİRİŞ

Tiroid bezi, boynun ön kısmında larinkse yakın şekilde insanlarda kelebek şekilli, hayvan türlerine göre değişik şekilli olan bir bezdir. Tiroid bezi T3 (triiodotironin), T4 (tiroksin) ve kalsitonin hormonlarını salgılanması ve ayarlanmasından sorumludur. T4 ve T3 hormonları metabolik hormonlar olup çok önemli yaşamsal fonksiyonların düzenlenmesini sağlar. Tiroid hormonlarının salgılanması, hipofiz bezi tarafından salgılanan TSH (tiroid stimulan hormon) tarafından düzenlenir (Sadler ve Clark, 1999).

Tiroid hastalıkları prognoz açısından ciddi sorunlara yol açmasa da genellikle vücudun bütün sistemlerini etkileyen hastalıklar olduğu için önemlidirler. Hipotiroidi görülme sıklığı popülasyona ve tanı kriterlerine göre değişmektedir. Yapılan araştırmalara göre Türkiye nüfusunun % 8-9'unda tiroid hastalıkları görülmekle birlikte gün geçtikçe insidans ve prevalansı artmaktadır. Ülkemiz coğrafyasında endemik guatr yörelerine rastlanır ve bu yörelerde tiroid eksikliği mevcuttur. Genetik ve beslenme bu hastalık için oldukça önemlidir. ABD'de yapılan "NHANES III" çalışmasına göre; 12 yaş üzerinde hipotiroidi prevalansı belirgin hipotiroidi'de % 0,3, subklinik hipotiroidi'de % 4,3'tür. Hipotiroidi insidansı yıllık; kadınlarda 1000'de 3,5, erkeklerde 0,6 olarak verilmektedir. Hipotiroidi, kadınlarda erkeklere oranla 5-8 kat daha fazla görülmektedir (İşgör, 2000)

Tiroid problemlerinin kardiovasküler sisteme olan etkileri ile ilgili az sayıda insan çalışması bulunmaktadır (Gomberg-Maitland ve Frishman 1998; Coppola ve Landenson, 2003; Bengel ve ark., 2003). Benzer şekilde insanlarda hipo ve hipertiroidizmde lipid metabolizması ve kolesterol seviyelerindeki değişimleri inceleyen çalışmalar da bulunmaktadır (Hellstorm ve ark., 1997; Bakker ve ark, 2001; Cachefo ve ark., 2001).

Hayvanlarda tiroid hastalıklarına daha az rastlanır. Hayvancılıkta yemlerde iyot eksikliği görülen bölgelerde tiroid bezi hastalıkları daha büyük öneme sahiptir. Ciddi ekonomik kayıplara neden olabilmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Tarihçe

Guatr kelimesi latince boğaz anlamındaki ‘guttur’ sözcüğünden türetilmiştir ve tiroid bezi M.Ö. 2000’den bu yana Hindular tarafından bilinmektedir. Tiroid bezi tanımlaması ilk kez Bartholomeus Eustachius tarafından kullanılmış ancak çalışmaları onsekizinci yüzyıla kadar yayınlanmadığından dolayı basılı kaynaklarda tiroid tanımlaması ilk olarak Thomas Wharton’un Adenographia adlı eserinde (1656) kullanılmıştır. Tiroid problemlerinden hipertiroidizm ya da egzoftalmik guatr tanımlamaları ilk olarak Parry (1786), Greaves (1835) ve Basedow (1840) tarafından yapılmış; daha sonra Curling (1850) ve Gull (1875) hipotiroidizm tanımlamalarını yapmışlardır (Sadler ve Clark, 1999).

Guatr tedavisi çalışmalarında çok sayıda madde kullanılmıştır. Özellikle yosun bu amaçla sıklıkla kullanılmıştır. George Murrey, 1891’de bir koyun tiroidi ekstresini subkutan enjeksiyonla kullanarak ilk kez hipotiroidizme bağlı miksödemi tedavi etmeyi başarmıştır. Yine aynı dönemlerde Edward Fox, yarım koyun tiroidinin haftada bir defa yenilmesinin hipotiroidik hastalarda aynı etkiyi gösterdiğini saptamıştır. Kocher, 1909 yılında tiroid ile ilgili çalışmaları sebebiyle Nobel Tıp Ödülü almıştır. Kendall, 1915 yılında ilk olarak tiroksini kristalize etmiş; Harrington, 1926 yılında aktif hormon olan L-triiodotironin’i tanımlamıştır (Sadler ve Clark, 1999).

2.2. Embriyoloji

Tiroid bezi embriyonik olarak farinksin tabanından şekillenir. Tubuler bir kanal halinde boyuna doğru uzanır ve ucu ikiye çatallaşır (ductus thyroglossus). Tiroglossal kanal daha sonra kaybolur. Bu kanaldan meydana gelen tiroid bezi, larinksin sonu ve trakenin başlangıcının iki tarafında sağ ve sol lobuluslar halinde gelişir. Kranial ve kaudal tiroid arterleri tiroid bezine kan akımını sağlarlar (Sanders ve Cady, 1991; İşgör, 2000).

Brankial arkus ve faringeal poşlar gelişirken, yaklaşık 24. günde primitif farinksin tabanında orta hatta birinci ve ikinci poşlar arasında kalan bölgede, tiroid bezi bir divertikül şeklinde başlar ve ventrale doğru büyür. Divertikülün ağzı dil köküne açıktır ve foramen caecum adını alır. Embriyolojik olarak primitif mide barsak sisteminin bir uzantısıdır. Divertikülün distal lümeni hücrelerin hızla çoğalmasıyla kapanırken hem ventrale hem de her iki laterale doğru büyümeye devam ederek iki loblu tiroid haline döner ve boyun orta hattında hyoid kemik ve larinksi oluşturacak yapıların önünden aşağıya doğru inmeye başlar. Böylece tiroid gelişimi tamamlanmış olur (Sanders ve Cady, 1991; İşgör, 2000; Yılmaz, 2005).

2.3. Anatomi

Ergin bir insanda tiroid bezi, açık kahverengi, sert, ortalama 15-20 gram ağırlığında bir organdır. Ortada istmus ile birleşen iki lobdan oluşur. Loblar ortalama 4 cm uzunluğunda, 2 cm eninde ve 2 cm kalınlığındadır. Üstte tiroid kıkırdağına kadar uzanırlar. Genellikle orta hattın biraz solunda yerleşir (Skandalakis ve ark., 1995; Hansen, 1997).

Kedi ve köpeklerde tiroid bezi trakenin proksimaline yapışık sağlı sollu uzunlamasına yapılardır. 2.-5. trake halkaları arasına yerleşmişlerdir. Ortalama olarak normal büyüklükleri 1,5-2 cm uzunluğunda olup büyük ırklarda 5 cm'ye kadar değişebilir. İnsan ve domuzda iki yanal lobu birbirine bağlayan median lob bulunur. İnekte bağlantı oldukça geniş bir glandüler doku bandı şeklindedir. At, koyun, keçi, kedi ve köpeklerde, isthmus dar bir doku kalıntısıdır veya bulunmayabilir. Bezinin boyutu vücut ağırlığına oranla tüm hayvanlarda son derece küçük olup, vücut ağırlığının % 0,2'si kadardır (Maden ve Çuhadar, 2013).

2.4. Histoloji

Tiroid bezi kolloidin bulunduğu silindirik, kübik veya yassılaştırmış epitel hücreleriyle kaplı tipik foliküllerden oluşur. Hücrelerdeki morfolojik şekil değişiklikleri salgı üretme fonksiyonlarına göre şekillenir. Foliküllerin lümenleri normal bir tiroidde her zaman kolloid ile dolu bir görünümdeyir. Kolloid tiroid folikül hücreleri tarafından salgılanan tiroglobülin deposudur ve tiroid fonksiyonundaki aktivite düzeyine göre 3 aylık tiroid hormonu ihtiyacını karşılar. Foliküller arasında kapıllar damarlardan zengin bir fibröz bağ doku bulunur, ayrıca bu alanlarda kalsitonin hormonu sentezleyen “Parafoliküler ya da tiroidin C” hücreleri olarak adlandırılan hücre gruplarıdır. Tiroidin epitel hücreleri hipofizden salgılanan TSH etkisiyle hormon salgırlar. Tiroidin, salgı yapan diğeri bir hücre grubu olan C hücreleri kalsitonin içerirler ve salgırlar. Bunlar tek tek veya interfoliküler bağ dokuda, küçük gruplar halinde ve foliküler hücreler arasında bulunurlar. Tiroid loblarının, üst kısımlarına yerleşmişlerdir ve nöroektodermal hücrelerden köken alırlar (Henry, 1997).

2.5. Fizyoloji

Tiroid hormonlarının salgılanması, hipotalamustan tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) etkisiyle başlar. Bu hormon hipofiz bezinden TSH salgılanmasını sağlar. TSH ise tiroid bezinden tiroksin (T4) ve triiodotironin (T3) salgılanmasını sağlar (Masters ve Simons, 1996).

Tiroid bezinden normal hormon üretimi, tiroid bezine iyot alımı, tiroid bezinin büyümesi ve TSH’ın tiroid bezi üzerindeki etkilerine bağlı olarak şekillenir. Kandaki tiroid hormon seviyelerindeki değişiklik TSH salgılanmasında artış ya da azalışa sebep olarak dolaşımda tiroid hormon seviyelerinin korunmasını sağlar. TRH doğrudan etkisini TSH salgılayan hücreler üzerinde gösterir ve normal tiroid hormon seviyelerinin korunmasında önemli bir role sahiptir (Masters ve Simons, 1996; Levey ve Klein, 1994).

T4 ve T3 sentezi tiroid bezinde yapılır. T4 salgılanan başlıca hormondur ancak nispeten inaktiftir. Biyolojik olarak aktif hormon olan T3'ün %85'i, T4'den 5'-monodeiodinaz enzimi ile perifer dokularda oluşturulur (Levey ve Klein, 1994). Tiroid hormonlarının metabolik etkileri genellikle T3 hormonunun hücre reseptörlerine bağlanması sonucu şekillenir (Glass ve Holloway, 1990; Brent ve ark., 1991). T3 hormonunun hücre reseptörlerine T4 hormonundan daha yüksek afinite ile bağlanması T3'ün biyolojik olarak daha aktif olmasının sebebidir (Koerner ve 1979).

Tiroksinin (T4) kanda tamamına yakını alfa globüline bağlı halde bulunur, daha az tiroksin bağlayıcı prealbumin (TBPA)'ya bağlanırlar. TBPA tüm türlerde bulunur ancak tiroksin bağlayıcı globülin (TBG) hepsinde bulunmaz. Kedi, tavşan, sıçan, fare, Guinea pig, güvercin ve tavukta TBG yoktur ve en çok mono albümin tarafından taşınır. TBG'siz bu türlerde hormonların %50-80'i albümin tarafından taşınır (Singh ve Beigh, 2013; Refetoff ve Selenkow, 1968).

2.6. Fonksiyonları

Tiroid hormonu vücut doku hücrelerinin oksijen kullanımını artırır, karbonhidrat ve lipid metabolizmasının ayarlanmasına yardım eder. Tiroid hormon yetersizliğinde bazal metabolik hız normal değerden %30-40 kadar azalırken, aşırı salgılanmalarında %50-100 kadar artmaktadır. Hayvanlarda ve insanda büyüme ve gelişme, amfibiya da metamorfoz için gereklidir (Kaynaroğlu, 1996).

İnsanlarda olduğu gibi hayvanlarda da tiroid hormonları hemem hemen bütün dokuların metabolizma hızını artırır, hücrelerin gelişmesini, büyümesini ve normal çalışmasını düzenler, enerji sağlanmayı, kalp ve damar sisteminin etkinliklerinin normal biçimde sürdürülmesini ve negatif geri bildirim yoluyla TSH salınımının düzenlenmesini sağlar (Yılmaz 1999, Squires 2003). Tiroid hormonları hayvanlarda büyüme, gelişme, üreme, verim ve enerji metabolizmasında çok önemli görevlere sahiptirler (Yılmaz 1999).

2.7. Tiroid Hastalıkları

TSH düzeyi tiroid fonksiyonlarının iyi bir göstergesidir. Buna göre hipertirodi ve hipotirodi teşhisi konulabilir.

2.7.1. Hipertiroidizm

Tiroid bezinin fonksiyonlarının çeşitli sebeplerle artması ile çok çalışmasına hipertiroidizm denir ve fazla hormon üretmesiyle ortaya çıkan bir hastalıktır. Tiroid hormonlarının aşırı üretimi, vücuttaki çok sayıdaki fonksiyonun hızlanmasına sebep olur. Hipertiroidili hastalarda, ani kilo kayıpları, hızlı ve düzensiz kalp atımları ile kılılarda dökülmelere sebep olabilir. Hayvanlarda özellikle orta yaş ve üstü kedilerde sık görülmekle beraber köpeklerde nadirdir. Yapılan bir çalışmada genetik olarak Siyam ve Burmese ırkı kedilerin düşük risk altında olduğu bildirilmiştir. Hipertiroidizm sebepleri arasında tiroid bezini uyaran maddelerin alınması, ticari kedi mamalarına katılan bazı kimyasallar, konserve gıdalar, pire spreyleri, insektisitler, herbisitler, tiroid bezinde bilateral multinodüler adenomatöz hiperplaziler ve tiroid bezi tümörleri sayılabilir (Ateş, 2019).

2.7.2. Hipotiroidizm

Hipotiroidizm en basit açıklaması ile tiroid bezinin işlevi gereği üretmesi gereken hormonları az üretmesi ya da hiç üretememesi olarak tanımlanabilir. Hipotiroidi, tiroid hormonlarının eksikliği anlamına gelir. Etiyolojisinde; otoimmün hastalıklar, tiroidektomi, iyot eksikliği, ilaç tedavisi, radyasyon, hipofiz bozukluğu, gebelik gibi nedenler bulunur (Milli ve Hazıroğlu, 2000). Klinik olarak uyuşukluk, anksiyete, depresyon, kabızlık, aşırı kilo alımı, karotenemi, tüylerde değişiklikler, zayıf ve kırılğan saçlar ve tırnaklar ve/veya kuru cilt (kalın kaba deri, yüzde şişme, kaşlarda dökülme, göz çevresinde ödem, dilde büyüme), düşük libido, adet düzensizliği veya gebe kalmada yaşanan sorunlar, düşüklükler, düşük metabolizma,

bradikardi ile yüksek TSH ve düşük serum tiroid hormon konsantrasyonları gibi bulgular gözlenir (Hatemi, 1999).

Hayvanlarda yüksek risk altında görülen köpek ırkları arasında Airedale Terrier, Dachshund, Doberman Pinscher, Golden Retriever, Minyatür Schnauzer, Irish Setter, Shetland Çoban Köpeği, Cocker Spaniel, Pomeranian bulunur (Peterson, 2019). Kedilerde genellikle hipertiroidizmi tedavi etmek amacıyla tiroid'in tamamının cerrahi olarak çıkarılması veya tedavi amacı ile kullanılan radyoaktif iyotla tiroid bezinin yıkımlanması ile hipotiroidi şekillenir. Hipotiroidi yetişkin atlarda nadir, taylarda sık görülür (Singh ve Beigh, 2013). Ruminantlarda hipotiroidizmi indükleyen iki ana klasik yöntem tiroidektomi ve antitiroid ilaçlarının kullanımı olmuştur. Süt ineklerinde laktasyonun ilk trimesterinde T3 ve T4 düşük olduğu gözlenmiştir (Pethes ve ark, 1985). Kuzularda hipotiroidizmde ödem, bacaklarda eğilme ve tüylerde anormallikler ile alopesi şekillenir. Yenidoğanlarda hipotiroidizm solunum sıkıntısı ile sonuçlanır (Radostits ve ark, 2007).

2.8. Hipotiroidizmin Kardiyovasküler Etkileri

Tiroid hormonlarının kalp üzerinde pozitif inotropik ve kronotropik etkileri vardır. Hipertiroidizm'de görülen artmış adrenerjik duyarlılık artmış kalp hızı ve kontraktileteye yol açmaktadır. Tiroid hormonları aynı zamanda diyastolik ventriküler fonksiyonu etkilerler, periferik vasküler direnci azaltırlar ve intravasküler volumü artırır. Bu durum kardiyak debi'yi daha da artırmaktadır (Zhang ve Lazar, 2000; Baxter ve ark., 2001; Yen, 2001). Hipotiroidizmde meydana gelen hemodinamik değişiklikler ise hipertiroidizmde görülene zıt olarak bradikardiye neden olur. QT aralığının uzamasıyla desteklenen ventriküler aritmiler, atriyal aritmilerden daha sıktır (Klein ve Ojamaa, 2001). Arteriyel hipertansiyon ve dislipidemi gibi risk faktörleri, hipotiroidili hastalarda yüksek prevalansa sahiptir. Hipotiroidizm ayrıca sistemik inflamasyon, hiperhomosisteinemi, endotel disfonksiyonu, hiperkoagülabilité, bozulmuş fibrinoliz ve trombosit anormalliklerine neden olabilir (Cappola ve Ladenson, 2003).

2.9. Kafein

Kahvenin ana bileşenlerinden biri olan kafein (1,3,7-trimetilksantin), gastrointestinal sistem tarafından hızla emilen, karaciğer tarafından metabolize edilen ve tüm dokulara hızla dağılan metilksantin grubundan bir alkaloiddir (Higdon JV, Frei, 2006). Biyolojik yarılanma ömrü 2,5 ila 4,5 saat arasında değişir (Graham 2001). Kafeinin ana etki mekanizmaları arasında Ca^{+2} 'nin hücre içi mobilizasyonu, katekolamin artışı ve adenozin reseptör antagonizması sayılabilir (Paluska 2003).

Enerji dengesi, fiziksel egzersiz ve diyet hormonal konsantrasyonlarla uyarılır. Dolayısıyla kan dolaşımındaki tiroid hormonları enerji dengesini doğrudan etkiler. Kafein ve egzersiz tiroid hormonları artırma etkisine sahiptir, hormonların konsantrasyonları, enerji dengesi arttırır. İlaveten, fiziksel egzersiz tiroid hormonlarının değerlerini düşürür ve bu da enerji dengesinin düşmesine sebep olur. Kafein alımı metabolizmada değişikliğe sebep olur ve tiroid hormon konsantrasyonunda bir azalmaya neden olur (Silva 2017).

Bu çalışmanın amacı ratlarda PTU ile hipotiroidi oluşturduktan sonra iyileşme döneminde kalp bulgularına kafeinin bir etkisi olup olmadığının değerlendirilmesidir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. DeneySEL Prosedür

Çalışmada 250-300 gram ağırlığında Wistar albino ırkı toplam 40 dişi rat kullanıldı ve ratlar 10'ar hayvandan oluşan 4 gruba ayrılarak çalışma 2 ayda tamamlandı. Grup 1 (Kontrol grubu): normal su ile 2 ay süre ile ad libitum olarak beslendi. Grup 2 (PTU ile hipotiroidizm oluşturulan grup) 10 mg/kg/gün intraperitoneal enjeksiyon ile 2 ay boyunca uygulandı. Grup 3 (PTU+Kafein grubu): PTU (10 mg/kg/gün) intraperitoneal enjeksiyonu 1 ay uygulayarak hipotiroidi oluşturduktan sonra kafein (10mg/kg/gün) suya karıştırılıp gavaj yolu ile çalışma süresi (ilave 1 ay daha) boyunca verildi. Grup 4 (Kafein grubu): Kafein (10 mg/kg/gün) suya karıştırılıp gavaj yolu ile çalışma süresi boyunca (2 ay) verildi. Çalışma sonunda ratlar anestezi altında dekapite edilerek histopatolojik inceleme için tiroid ve kalp örnekleri toplandı. TSH, T3 ve T4 analizleri için kan alındı ve plazması çıkarıldı.



Şekil 3.1. PTU'nun intraperitoneal verililişi



Şekil 3.2. Kafeinin gavaj ile verilişi

Çalışma sonucunda ratlar intraperitoneal (IP) 90 mg/kg ketamin (Alfamin, Alfasan IBV) ve 10 mg/kg ksilazin (Alfazin, Alfasan IBV) anestezisi ile ötenazi edilerek kan, kalp ve tiroid örnekleri toplandı. Plazma örneklerinde TSH, T3 ve T4 düzeyleri ELİSA yöntemi ile değerlendirildi. Kalp ve tiroid örnekleri histopatolojik olarak değerlendirildi. Kalp örnekleri kardiyak troponin açısından immunohistokimyasal olarak incelendi.

3.2. Histopatolojik Yöntem

Çalışma süresi sonunda ratlar ksilazin ve ketamin anestezisi altında iken intrakardiyak kan örnekleri toplandıktan sonra dekapite edildi. Nekropsi sırasında kalp ve tiroid örnekleri toplandı. Toplanan örnekler %10'luk tamponlu formalin solüsyonu içinde tespit edildi. Tespit işlemi ardından tiroid ve kalp örnekleri trimlenerek her ratın numarası kasetler üzerine yazılmak suretiyle doku takip kasetlerine alındı ve bir gün daha formalin solüsyonu içerisinde tutuldu. Doku takibi tam otomatik doku takip cihazında (Leica ASP300S; Leica Microsystem, Nussloch, Almanya) yapıldı. Bu amaçla doku takip cihazı sepetlerine yerleştirilen kasetler günlük takip programına ayarlanan cihaza yerleştirildi. Dokuların takibi aşamasında gece boyunca düşük

dereceli alkollerden yüksek dereceli alkollere (%70'den %100'e) geçirilerek dokuda bulunan sular alındı. Ardından iki ksilol serisinden geçirilerek dokularda bulunan yağın alınması sağlandı. Su ve yağın alınması ile oluşan boşluklara sıcak parafinin dolması için iki ayrı parafin serisinden geçirilen dokular ertesi gün sabah parafine gömüldü ve dondurularak blokajları yapıldı. Parafin bloklar bir gün buzdolabında bekletilerek parafinin tamamen sertleşmesi gerçekleştirildi. Bloklar kesit için soğuk tablaya alındı ve Leica 2155 rotary mikrotomda 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Normal lama alınan kalp ve tiroid kesitleri hematoksislen eozin ile boyandı. Troponin ekspresyonları için kalplerden polilizinli lamlara alınan kesitler immunohistokimyasal olarak boyandı.



Şekil 3.3. Takibi yapılarak parafine gömülen dokuların blokları

Rutin hematoksislen-eozin (HE) boyaması için normal lamlara çekilen doku kesitlerinin etrafındaki ve doku içindeki parafinin uzaklaştırılması için 30'ar dakika süre ile 3 ayrı ksilol serisinden geçirildi. Daha sonra su bazlı boya olan hematoksislen ve eozinin dokuya infiltre olabilmeleri için sırasıyla %100, 96, 90, 80 ve 70'lik alkollerden geçirilerek dokulara su verilmesi sağlandı. Ardından kesitler hematoksislenle 15 dakika ve eozinle 3 dakika boyandı. Boyamanın ardından rezolüsyonun sağlanabilmesi için dokulardaki suyun alınması amacıyla bu kez

sırasıyla %70, 80, 90, 96 ve 100'lük alkollerden geçirilerek dokuların dehidre olması sağlandı. Ksilolde parlatılan dokuların üzerine entellan damlatılarak lamel yapıştırıldı ve ışık mikroskop altında incelendi.

3.3. İmmunohistokimya Yöntemi

İmmunohistokimyasal incelemeler için polilizinli lamlara çekilen kalp kesitleri streptoavidin-biotin kompleks peroksidaz yöntemine göre boyandı. İmmunohistokimyasal inceleme için FineTest (Çin) firmasının antikorları kullanıldı. Kesitler kardiyak troponin [anti-cardiac troponin I antibody (FNab09781), 1/100 dilüsyon] reaksiyonunun saptanması için immunohistokimyasal olarak boyandı. İmmunperoksidaz yöntemi için kesitlerin histopatoloji yönteminde olduğu gibi ksilol ve dereceli alkollerden geçirilerek deparafinize ve rehidre olmaları sağlandı. Ardından kesitler 10 dakika süreyle distile su içinde yıkandı. Yıkamanın ardından dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için dokular %3'lük metanolde hazırlanan hidrojen peroksit ile 20 dakika inkübe edildi. Sitrat tampon solüsyonu içinde 2 defa 5 dakika süreyle mikrodalga fırında kaynatıldı. Daha sonra 2 defa 10'ar dakika süreyle fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile yıkandı. Kesitlerdeki nonspesifik bağlanmaları önlemek için dokular normal serumda 45 dakika inkübe edildi. İnkübasyonun ardından yıkama yapılmadan primer antiserumlar kesitler üzerine damlatıldı ve +4°C'de bir gece inkübe edildi. Ertesi gün dokular PBS ile aynı şekil ve süreyle yıkandı, ardından streptoavidin ile 30 dakika inkübe edildi ve PBS'te 2 defa 10'ar dakika yıkandı. Ardından kesitlere biotinli serum uygulandı ve 30 dakika süreyle inkübe edildi. Dokular PBS ile yıkandıktan sonra hazırlanmış olan DAB (3,3'-diaminobenzidine) kromojen ile reaksiyon görünür hale getirildi. Sekonder kit olarak UltraVision Detection System Anti-Polyvalenti HRP kit (TP-060-HL) (Thermo Shandon Limited, Cheshire, İngiltere) ve kromojen olarak 3,3'-diaminobenzidine (DAB) kullanıldı. Negatif kontroller için primer antikolar yerine antikor sulandırma sıvıları ile inkübe edildi. Karşıt boyama için Harris hematoksilen ile boyandı ve preparatlar ışık mikroskopunda incelendi.

İmmunohistokimyasal boyanmalar 0-3 arasında skorlandı. 0= boyama yok, 1= hafif boyanma, 2= orta şiddette boyama ve 3= şiddetli boyama olarak değerlendirildi. Elde edilen skorlar istatistik olarak incelendi ve tablollaştırıldı.

3.4. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) metodu

Plazma hormon düzeyleri ELİSA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemiyle ölçüldü. ELİSA yöntemi için Rat T4 (Thyroxine) ELİSA Kit (Cat- ER1721- Fine Test –Çin); Rat T3 (Thiiodothyronine) ELİSA Kit (Cat- ER1720- Fine Test –Çin) ve Rat TSH (CEA463Ra- Cloud-Crone-Çin) ELİSA kitleri kullanıldı.

ELSA için “double antibody sandwich” yöntemi kullanıldı. Bunun için önce üretici firma önerileri doğrultusunda standartlar hazırlandı ve “ELISA plate” yerleştirildi. Ardından sırasıyla primer antikorlar, streptoavidin-HRP, kromojen solüsyonu ve stop solüsyonları protokole göre uygulandı. Sonuçlar 450 nm dalga boyunda okutuldu. OD değerlerine göre hesaplanarak grafikler hazırlandı. Yöntem için öncelikle standart çalışma solüsyonları hazırlandı. Her bir solüsyon kuyucuklara çift şekilde yerleştirildi. 37°de 90 dak. İnkübe edildi. Ardından biyotinli antikor eklendi ve 1 saat inkübe edildi. Yıkama işleminde sonra HRP konjugat eklendi, 30 dakika inkübe edildi. Yıkamanın ardından substrat eklendi, 15 dakika inkübe edildi ardından stop solüsyonu eklendi ve ELİSA okuyucuda okutuldu.

3.5. İstatik Analizler

Çalışmada immunohistokimyasal skorlar ve plazma TSH, T3 ve T4’ değerlerinin istatistik analizi One-way ANOVA testi ile SPSS 15.00 paket programda yapıldı. Gruplar arası farklar Duncan testi ile karşılaştırıldı. $P<0.05$ olan değerler istatistiksel olarak önemli kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Klinik Bulgular

Projenin deneysel aşamasında hiçbir gruptaki ratta ölüm saptanmadı. Çalışma süresince PTU verilen Grup 2'deki ratlarda hareketlerde yavaşlama gözlenirken, kafein verilen Grup 4'teki ratların diğerlerine göre daha agresif oldukları dikkati çekti. PTU ile hipotiroidi oluşturulduktan sonra kafein verilen grup ile kontrol olarak kullanılan Grup 1'deki ratların davranışlarında bir anormallik gözlenmedi. Çalışmanın başlangıcında benzer canlı ağırlıkta olan ratların PTU uygulaması ile ağırlıklarında azalma, kafein uygulaması ile artış olduğu gözlemlendi (Tablo 4.1.)

Tablo 4.1. Canlı ağırlıkların değişimlerinin istatistik analiz sonuçları

Gruplar	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	P
Başlangıç	187.90±17.83 ^a	194.15±21.89 ^a	203.75±6.35 ^a	196.30±21.84 ^a	>0.05
1 ay	221.65±17.34 ^a	199.05±21.66 ^b	199.35±11.58 ^a	237.33±21.13 ^b	<0.001
Son	254.70±16.84 ^a	188.10±18.73 ^b	234.18±10.51 ^c	260.16±20.81 ^a	<0.001

*:Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak verilmiştir.

**: Aynı satırda üst simgeleri aynı olan gruplar istatistik olarak benzer, farklı simgesi olan gruplar arası farklar istatistik olarak önemlidir.

4.2. Makroskopik Bulgular

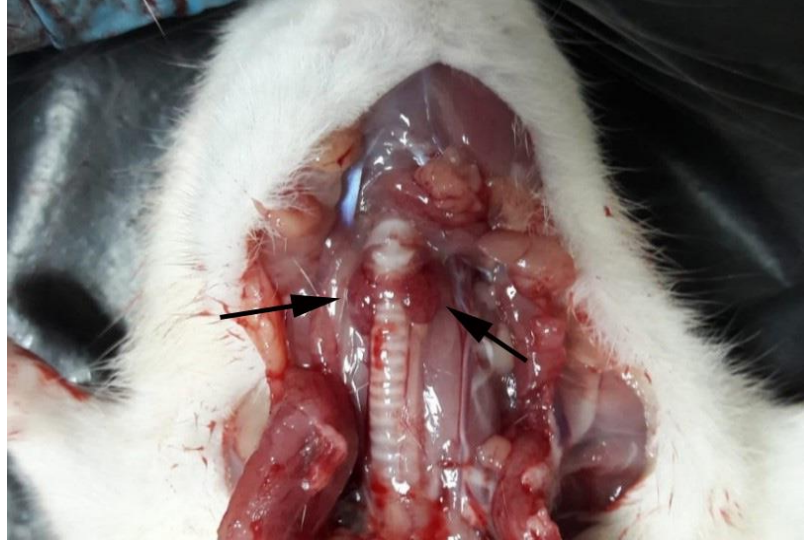
Nekropsi sırasında ratların tiroid ve kalp dokuları incelendi. Grup 2'deki ratların tümünde tiroidlerin büyüdüğü dikkati çekti. Tiroid damarları hiperemikti. Diğer gruplardaki hayvanların tiroidleri normal görünümdeydi. Kalplerin incelenmesinde Grup 2'deki ratların kalp damarlarında hiperemi dışında herhangi bir bulgu görülmedi.



Şekil 4.1. Grup 1'deki bir ratın normal tiroid görünümü (oklar)



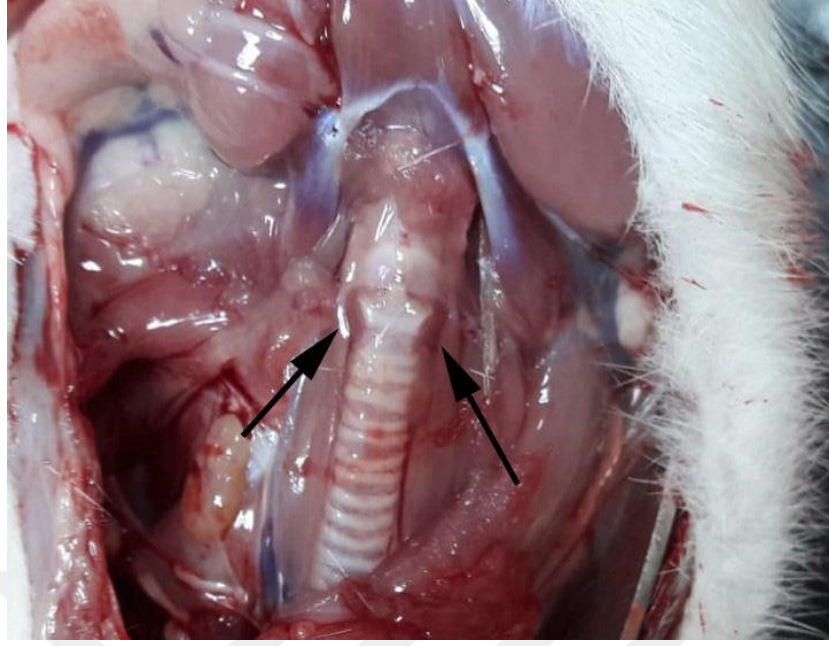
Şekil 4.2. Grup 2'deki bir ratın büyümüş tiroid dokusunun görünümü (oklar).



Şekil 4.3. Grup 2'deki bir başka ratın büyümüş tiroid dokusunun görünümü (oklar).



Şekil 4.4. Grup 3'deki bir ratın tiroid görünümü (oklar).



Şekil 4.5. Grup 4’deki ratın normal tiroid görünümü (oklar).

4.3. Plazma TSH, T3 ve T4 Analiz Sonuçları

Nekropsi sırasında alınan kan örnekleri santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı ve T3, T4 ve TSH düzeylerinin tespiti için -20 °C’de saklandı. Grup 2’deki ratların kan TSH düzeyleri diğer gruplarla karşılaştırıldığında önemli ölçüde yüksek, T3 ve T4 düzeyleri ise düşük olarak saptandı (Tablo 4.2.).

Tablo 4.2. T3, T4 ve TSH plazma düzeylerinin istatistik analiz sonuçları

Gruplar	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	P
TSH	0.50±0.08 ^a	0.72±0.11 ^b	0.52±0.13 ^a	0.40±0.04 ^a	<0.001
T3	1.54±0.23 ^{ab}	0.90±0.53 ^b	1.39±0.14 ^a	1.34±0.29 ^a	<0.05
T4	2.94±0.20 ^a	1.47±0.67 ^b	2.59±0.16 ^a	2.79±0.12 ^a	<0.01

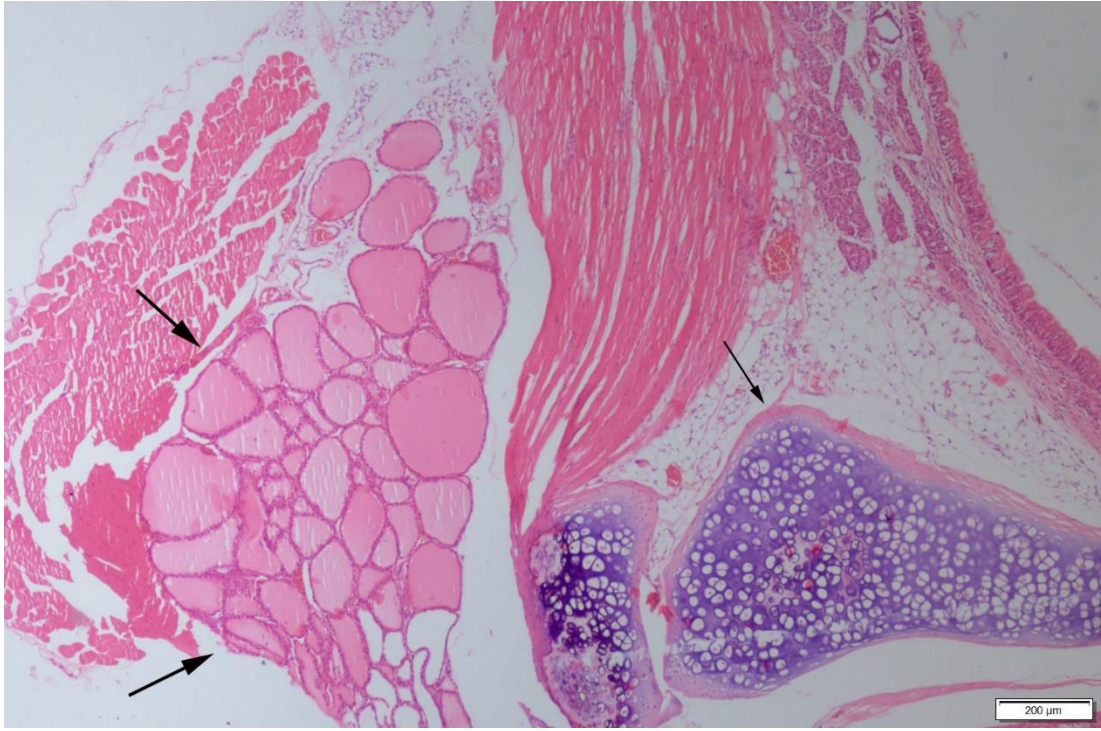
*:Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak verilmiştir.

**: Aynı satırda üst simgeleri aynı olan gruplar istatistik olarak benzer, farklı simgesi olan gruplar arası farklar istatistik olarak önemlidir.

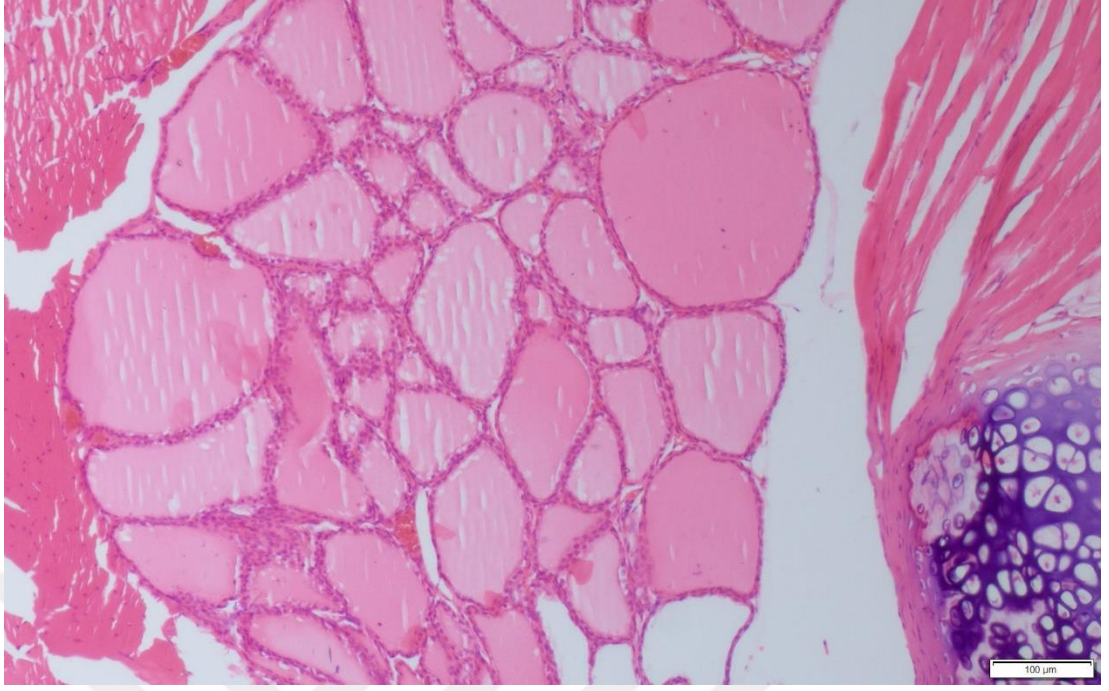
4.4. Histopatolojik Bulgular

4.4.1. Tiroid Histopatoloji Bulguları

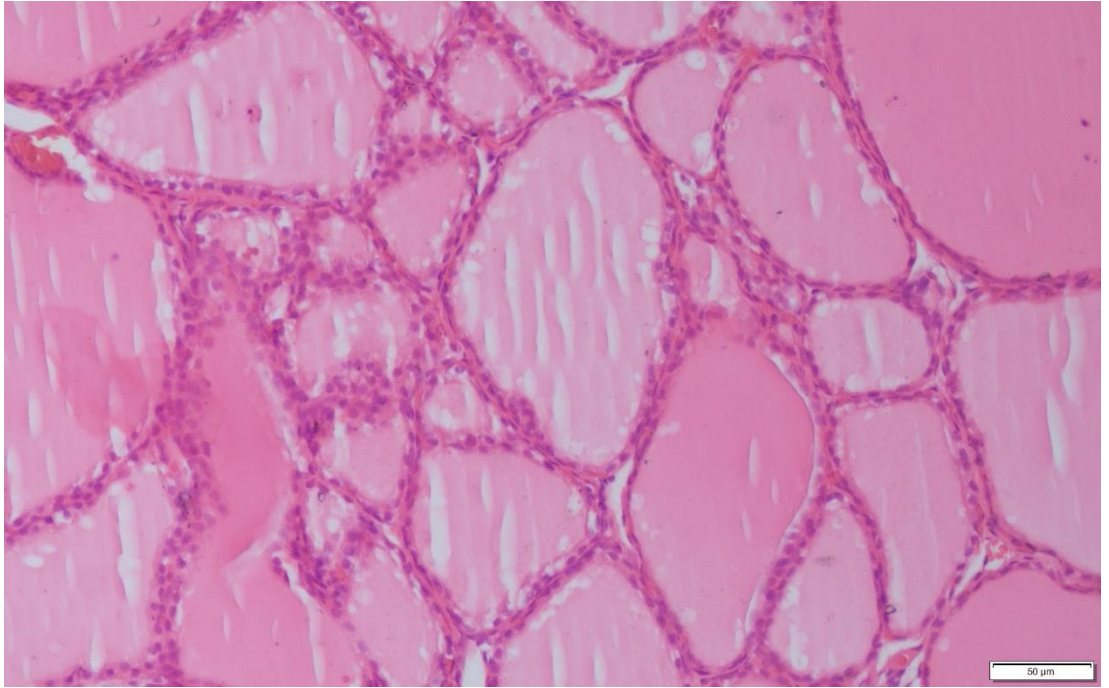
Grup 1'deki ratların histopatolojik incelemesinde tiroidlerin normal görünümde olduğu belirlendi. Grup 2'de ise tiroidlerde belirgin şekilde epitel hücre proliferasyonları görüldü. Kolloid oluşumu gözlenmedi. PTU ile hipotiroidinin şekillendiği saptandı. Grup 3'te tiroidlerin bez yapılarının küçük ve düzensiz görünümde olduğu ancak epitel yapılarının büyük ölçüde normale döndükleri ancak bazı bezlerde proliferatif görünümün tam olarak düzelmediği dikkati çekti. Grup 4'te de ratların tiroidlerinde patolojik bir bulgu saptanmadı (Şekil 4.6 - 4.17).



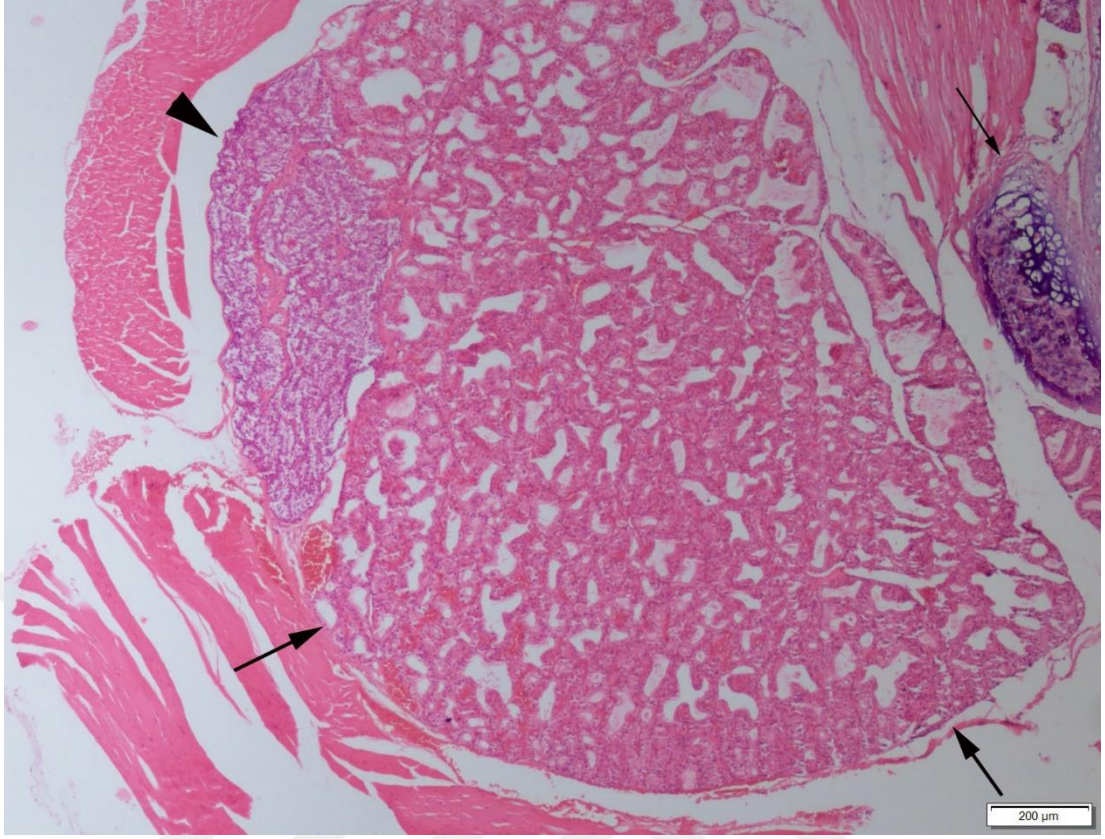
Şekil 4.6. Grup 1'deki bir ratın normal görünümdeki tiroidi (kalın oklar) ve trakea kıkırdağı (ince ok), HE, Bar=200 µm.



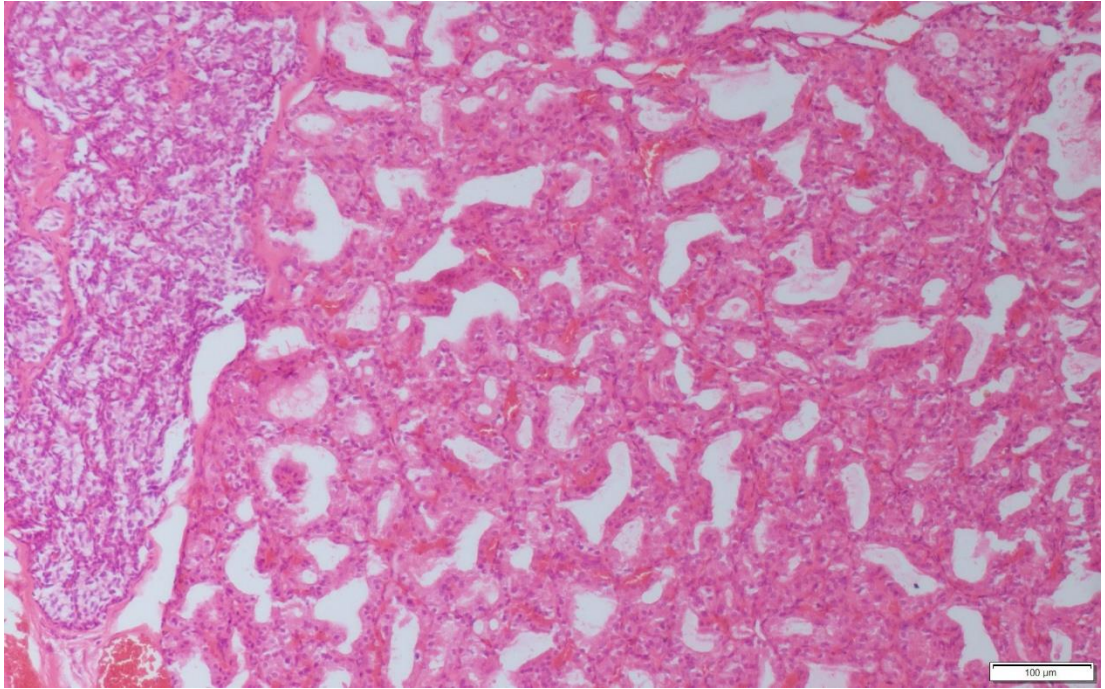
Şekil 4.7. Şekil 4.6'nın büyütülmüş görünümü, HE, Bar=100 µm.



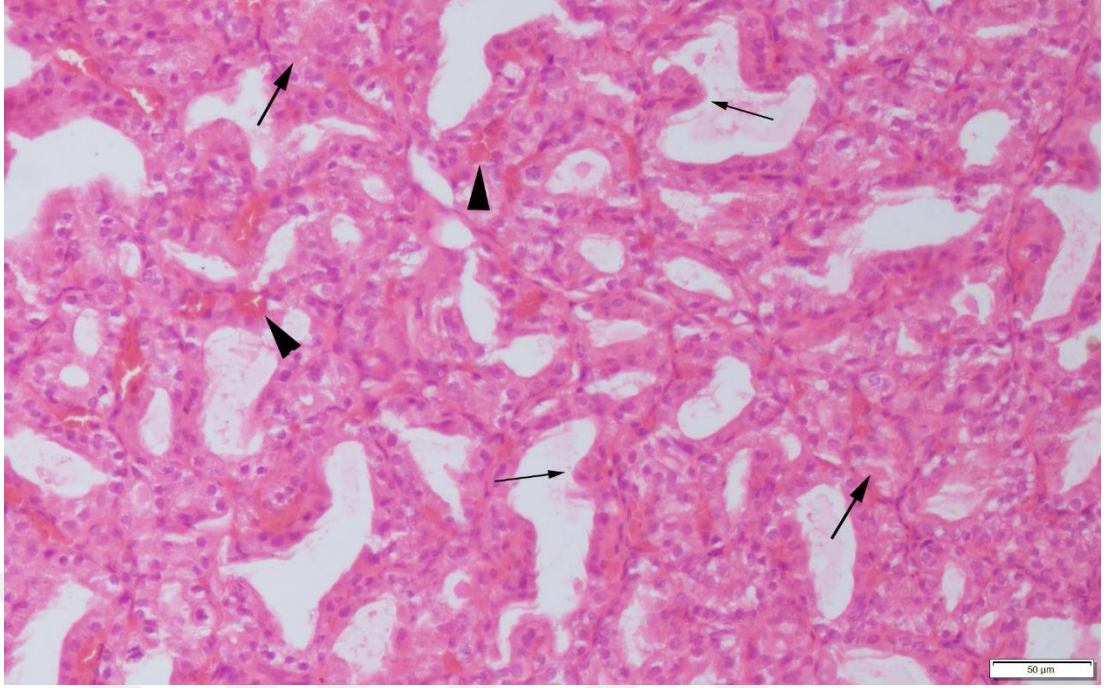
Şekil 4.8. Şekil 4.7'nin büyütülmüş görünümü, HE, Bar=50 µm.



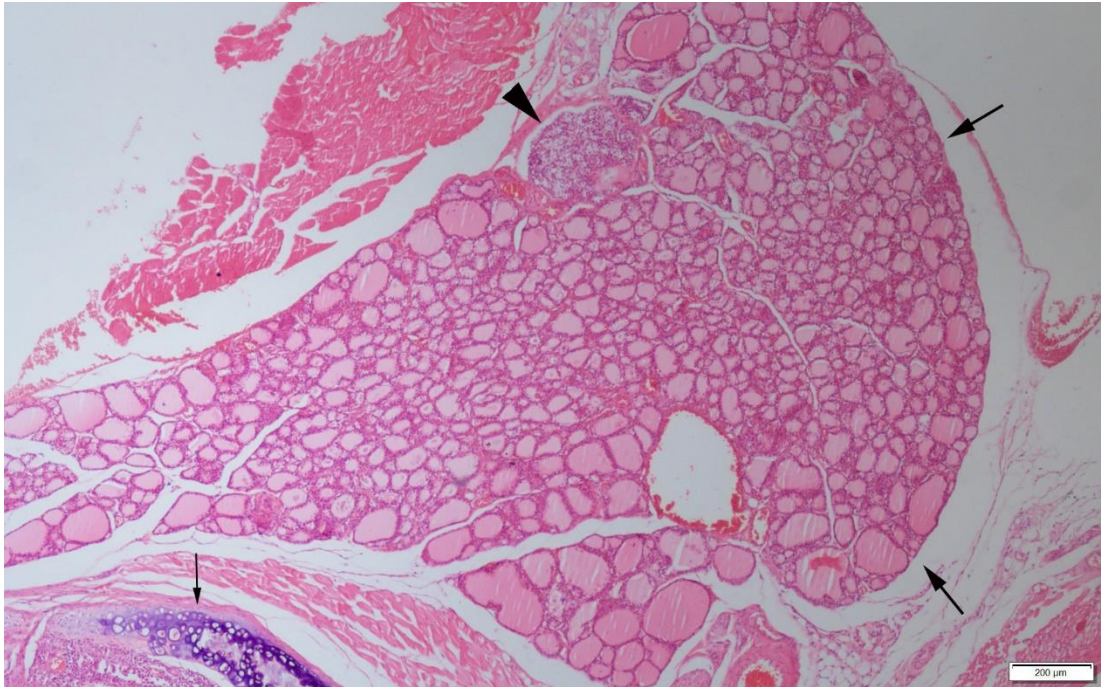
Şekil 4.9. Grup 2'deki bir ratın hipotiroidi oluşmuş tiroidinin görünümü (kalın oklar), tiroid kıkırdağı (ince ok) ve paratiroid (ok başı), HE, Bar=200 µm.



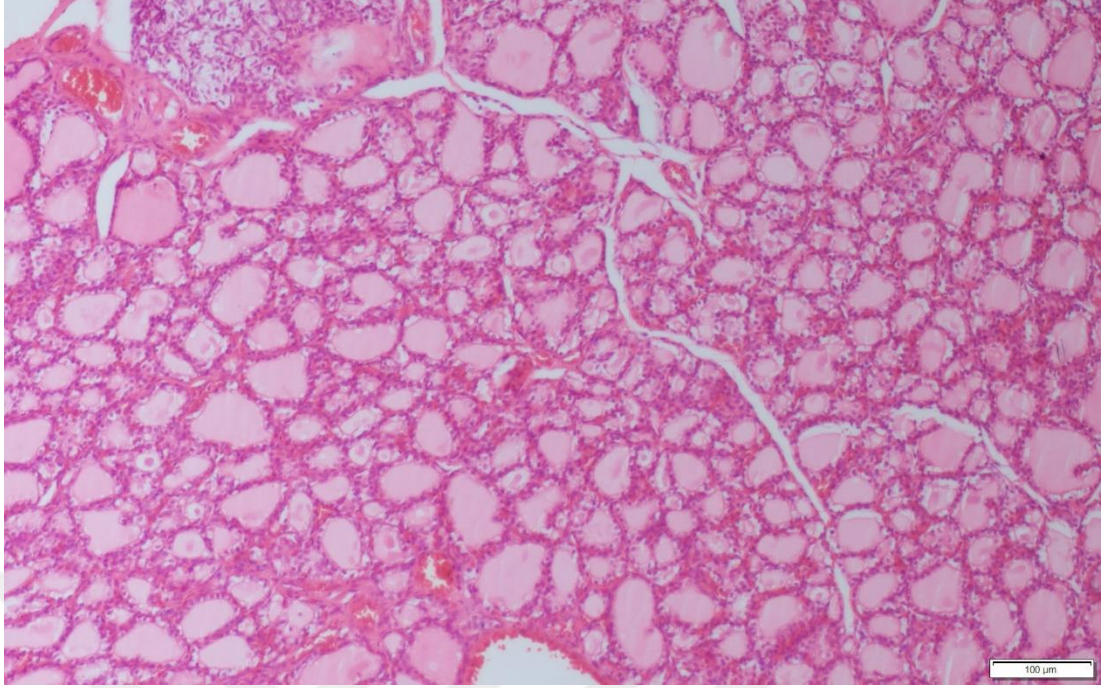
Şekil 4.10. Şekil 4.9'un büyütülmüş görünümü, HE, Bar=100 µm.



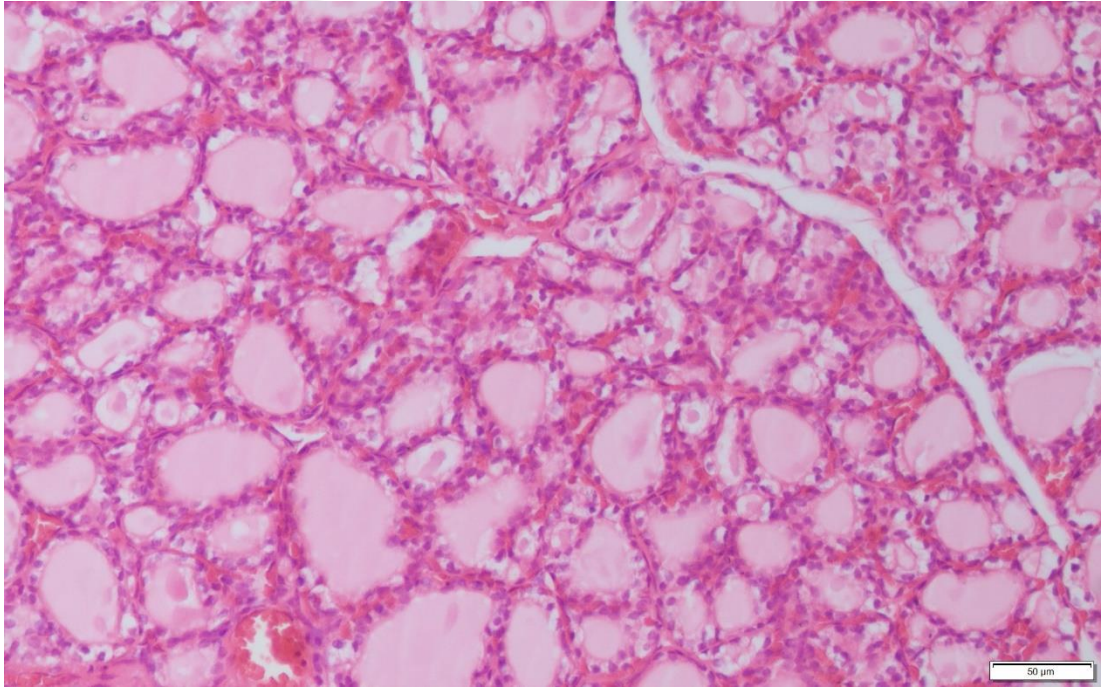
Şekil 4.11. Şekil 4.10'un büyütülmüş görünümü, lümeni olmayan asiniler (ince oklar), proliferen olmuş tubuler epiteliyal hücreler (kalın oklar) ve şiddetli hiperemik damarlar (ok başları), HE, Bar=50 µm.



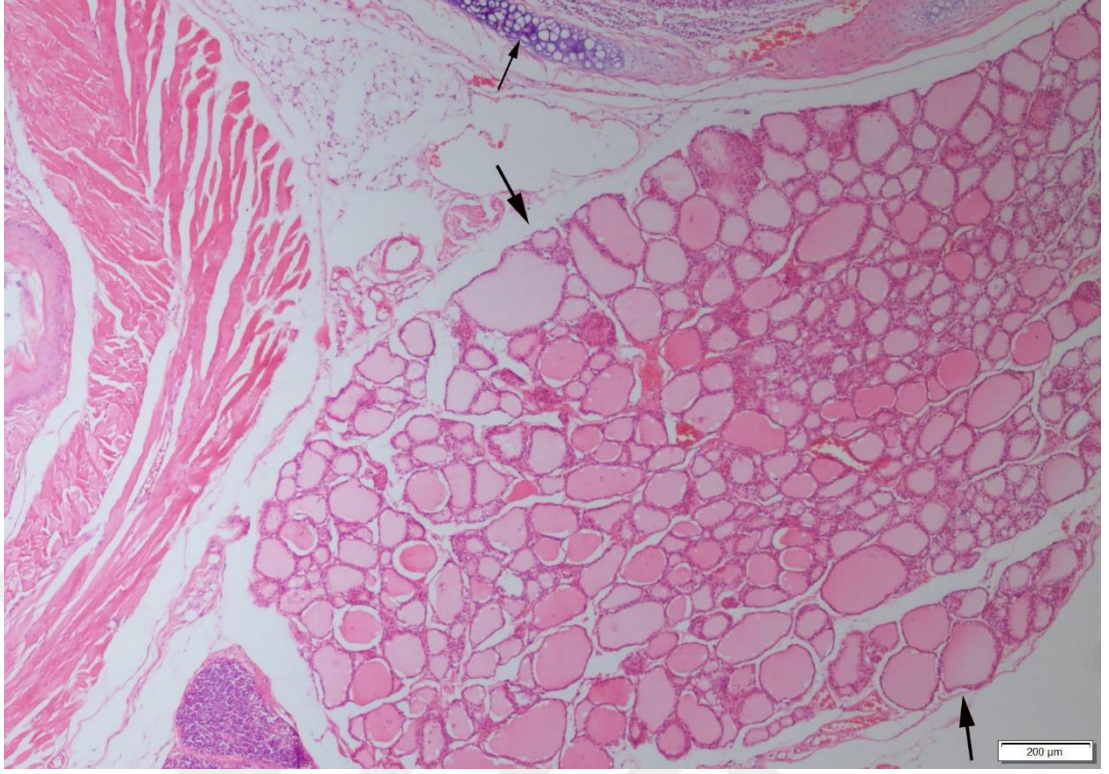
Şekil 4.12. Grup 3'teki bir ratın tiroidinin (kalın oklar) oldukça küçük foliküllerinin görünümü, paratiroid (ok başı) ve trake kıkırdığı (ince ok), HE, Bar=200 µm.



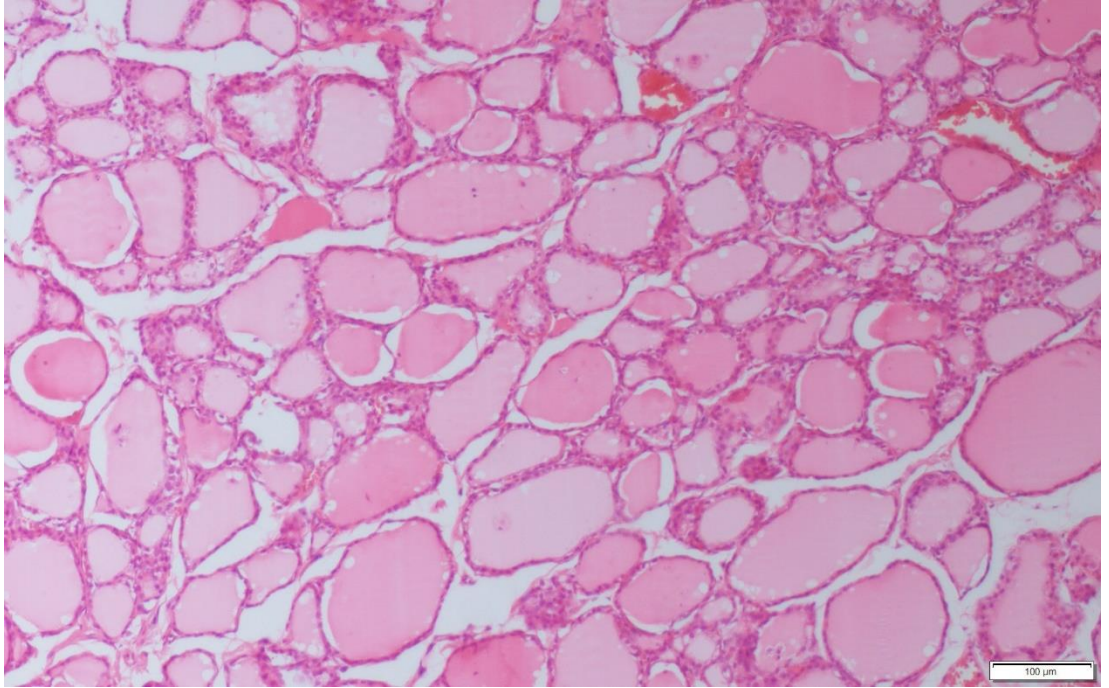
Şekil 4.13. Şekil 4.12'nin büyütülmüş görünümü, HE, Bar=100 µm.



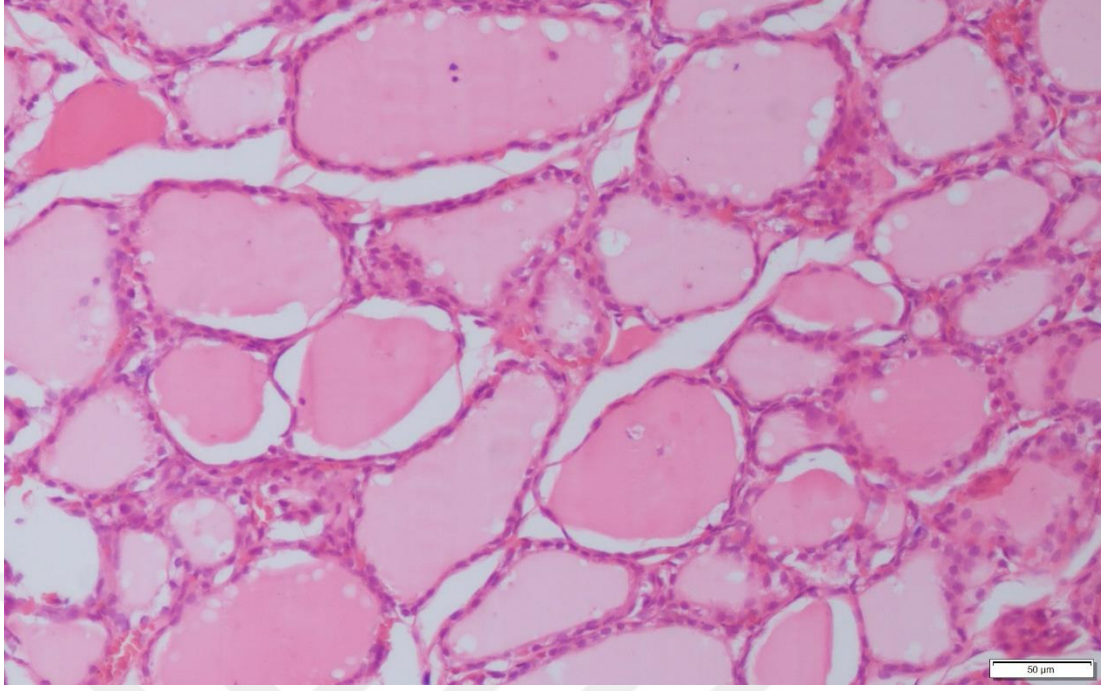
Şekil 4.14. Şekil 4.13'ün büyütülmüş görünümü, HE, Bar=50 µm.



Şekil 4.15. Grup 4'deki bir ratın normal görünümdeki tiroidi (kalın oklar) ve trake kıkırdağı (ince ok), HE, Bar=200 µm.



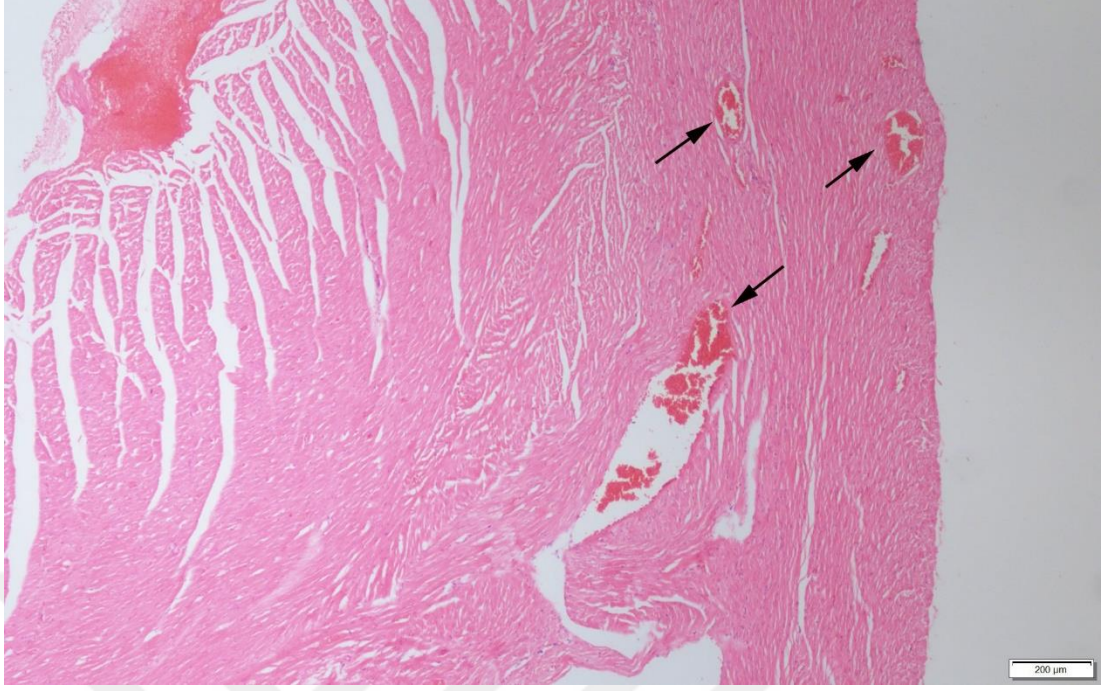
Şekil 4.16. Şekil 4.15'in büyütülmüş görünümü, HE, Bar=100 µm.



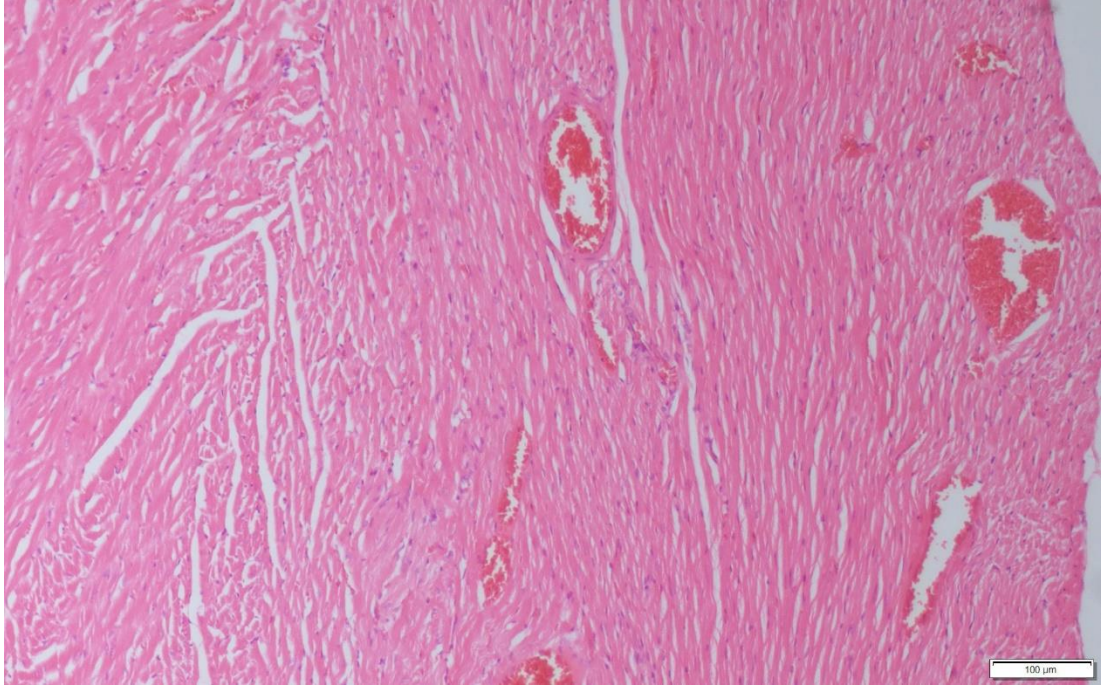
Şekil 4.17. Şekil 4.16'nın büyütülmüş görünümü, HE, Bar=50 µm.

4.4.2. Kalp Histopatoloji Bulguları

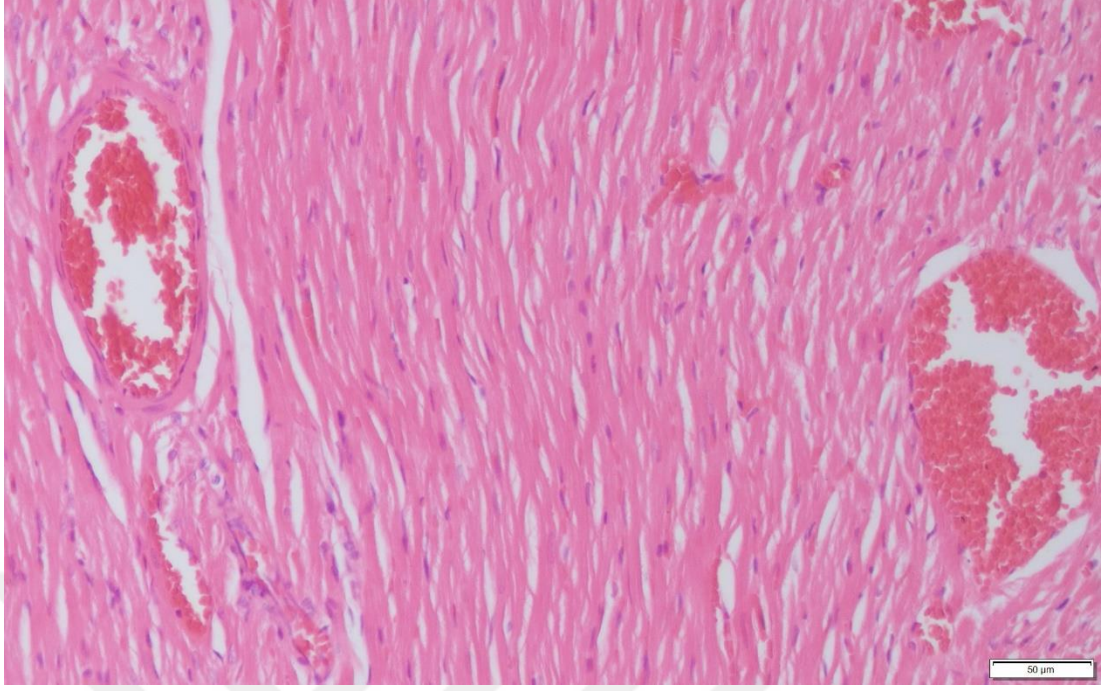
Gruplara göre kalp kesitleri incelendiğinde Grup'1de kalp dokularında normal görünüm dikkati çekerken, Grup 2'de kalp dokularının şiddetli hiperemik olduğu gözlemlendi. Grup 3 ve Grup 4'te normal doku saptandı (Şekil 4.18-4.23).



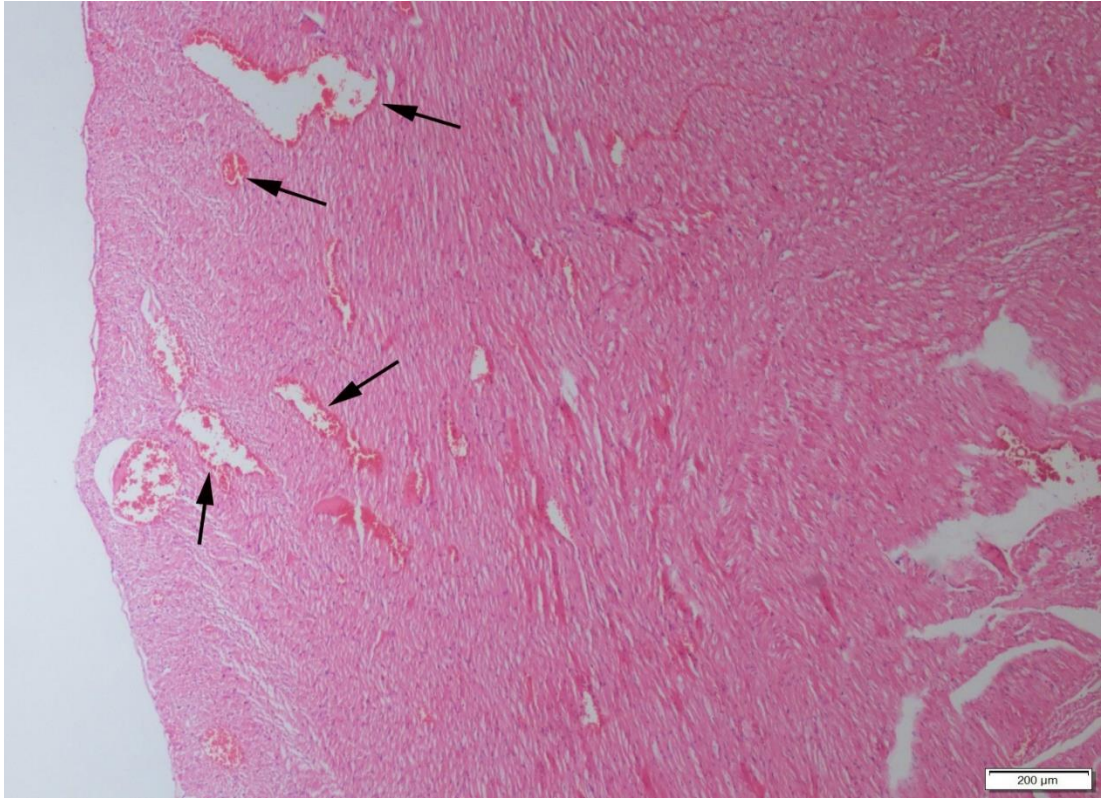
Şekil 4.18. Grup 1'deki bir ratın kalp damarlarında hafif şiddette hiperemi (oklar), HE, Bar=200 µm.



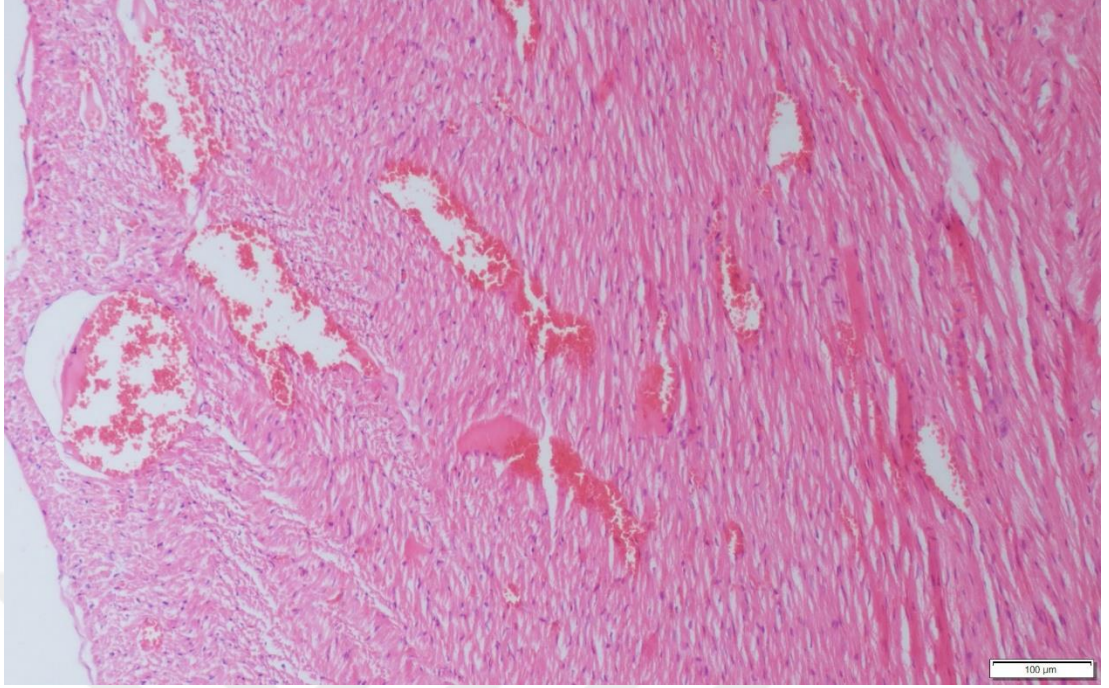
Şekil 4.19. Şekil 4.18'in büyütülmüş görünümü, normal miyokardiyumun görünümü, HE, Bar=100 µm.



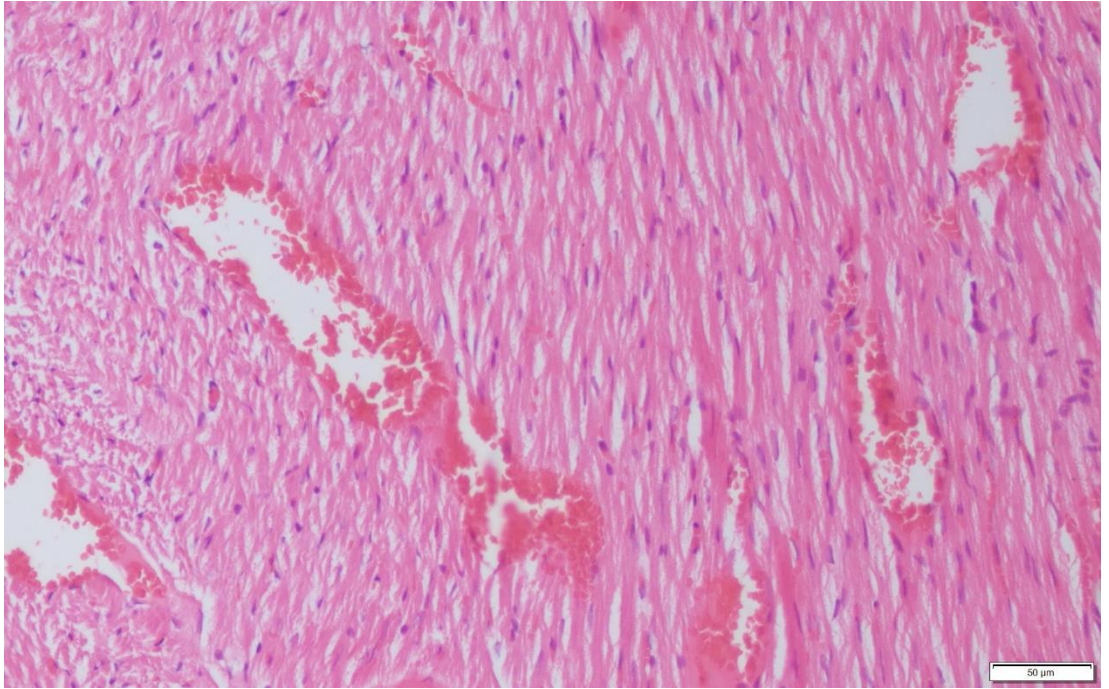
Şekil 4.20. Şekil 4.19'un büyütülmüş görünümü, HE, Bar=50 µm.



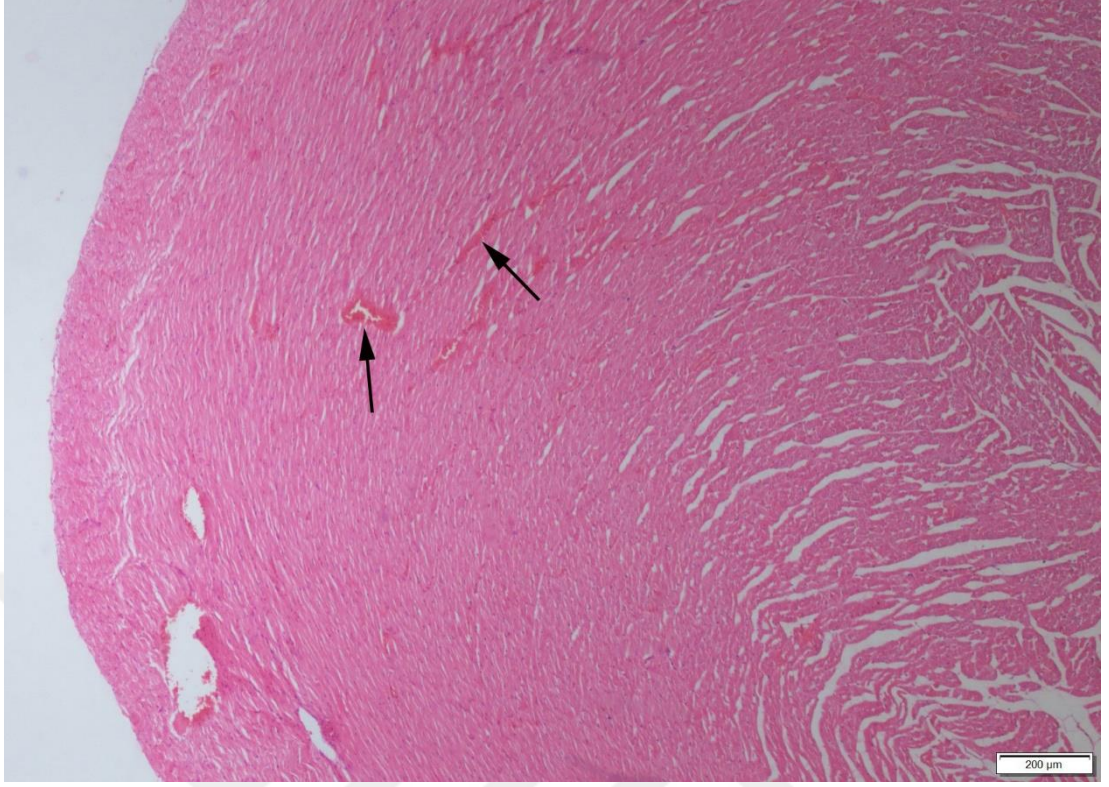
Şekil 4.21. Grup 2'deki bir ratın kabindeki damarlarda şiddetli hiperemi (oklar), HE, Bar=200 µm.



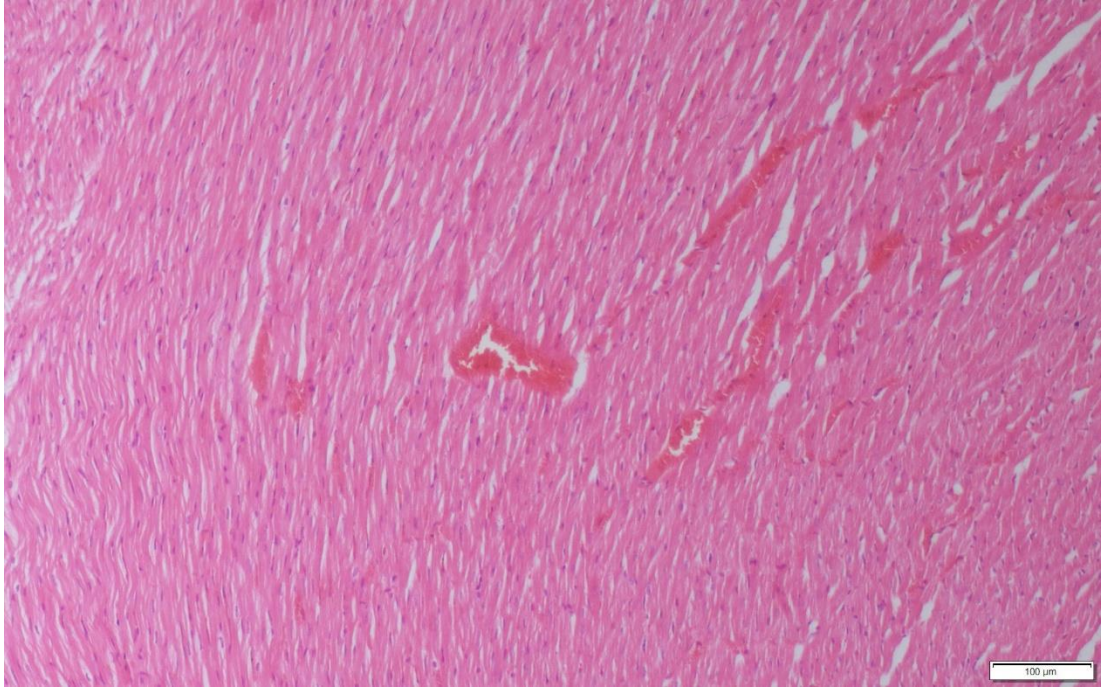
Şekil 4.22. Şekil 4.21'in büyütülmüş görünümü, damarlarda şiddetli hiperemi, HE, Bar=100 µm.



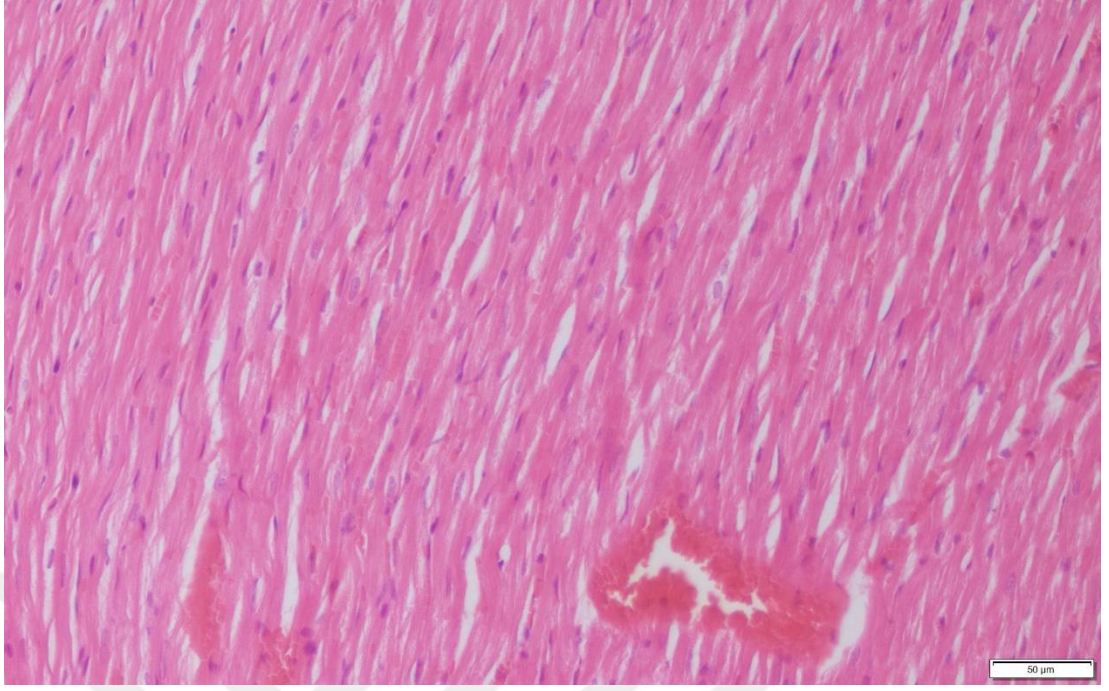
Şekil 4.23. Şekil 4.22'nin büyütülmüş görünümü, HE, Bar=50 µm.



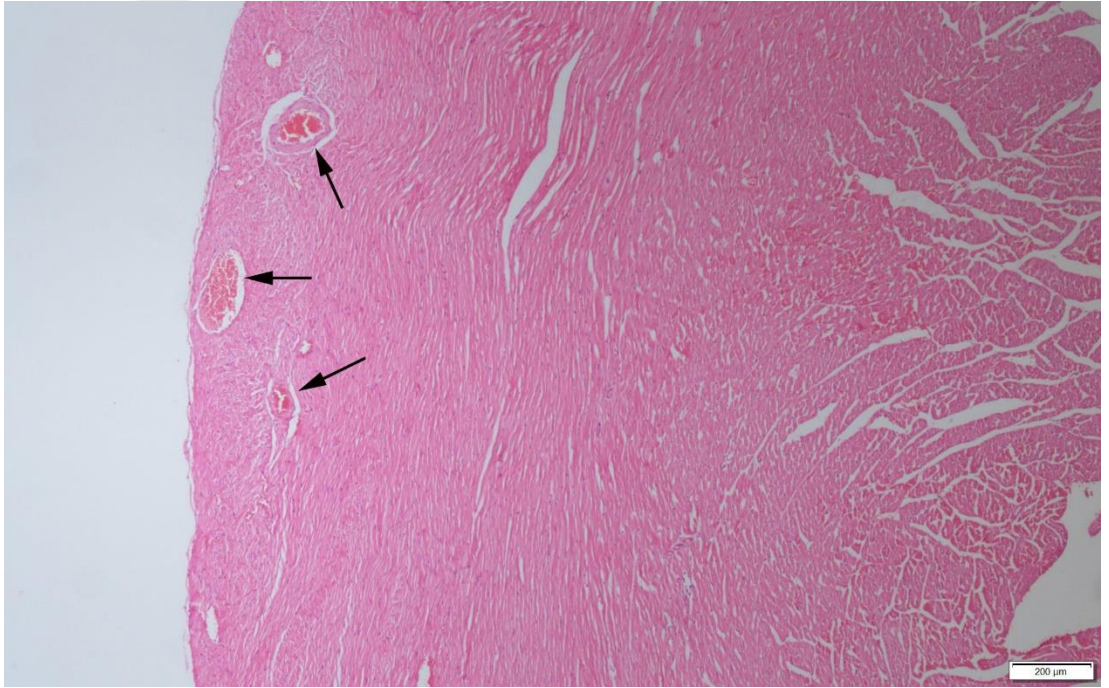
Şekil 4.24. Grup 3'deki bir ratın kalbindeki normal hiperemik damarlar (oklar), HE, Bar=200 µm.



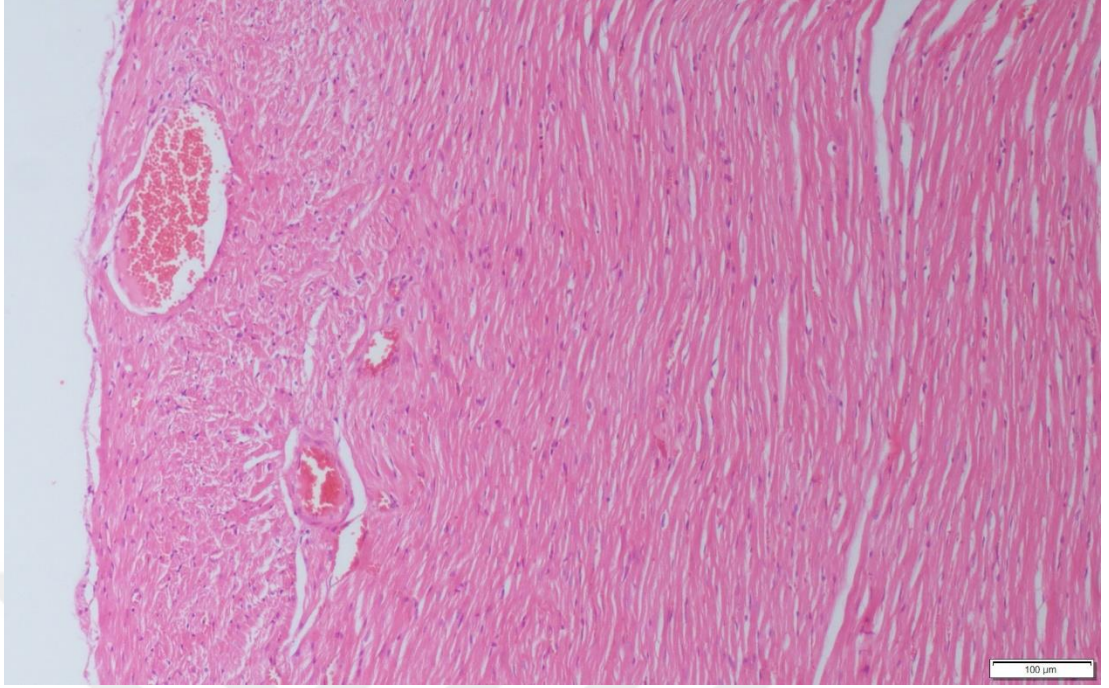
Şekil 4.25. Şekil 4.24'ün büyütülmüş görünümü, normal miyokardiyumun görünümü, HE, Bar=100 µm.



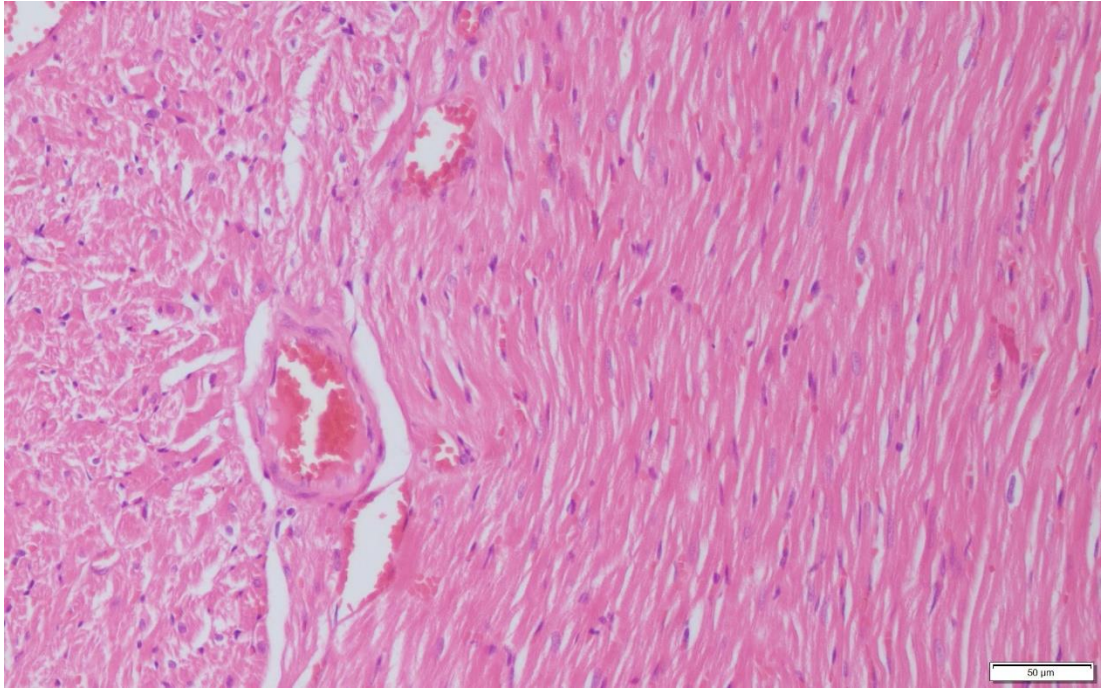
Şekil 4.26. Şekil 4.25'in büyütülmüş görünümü, HE, Bar=50 µm.



Şekil 4.27. Grup 4'deki bir ratın kabindeki damarlarda normal hiperemik damarlar (oklar), HE, Bar=200 µm.



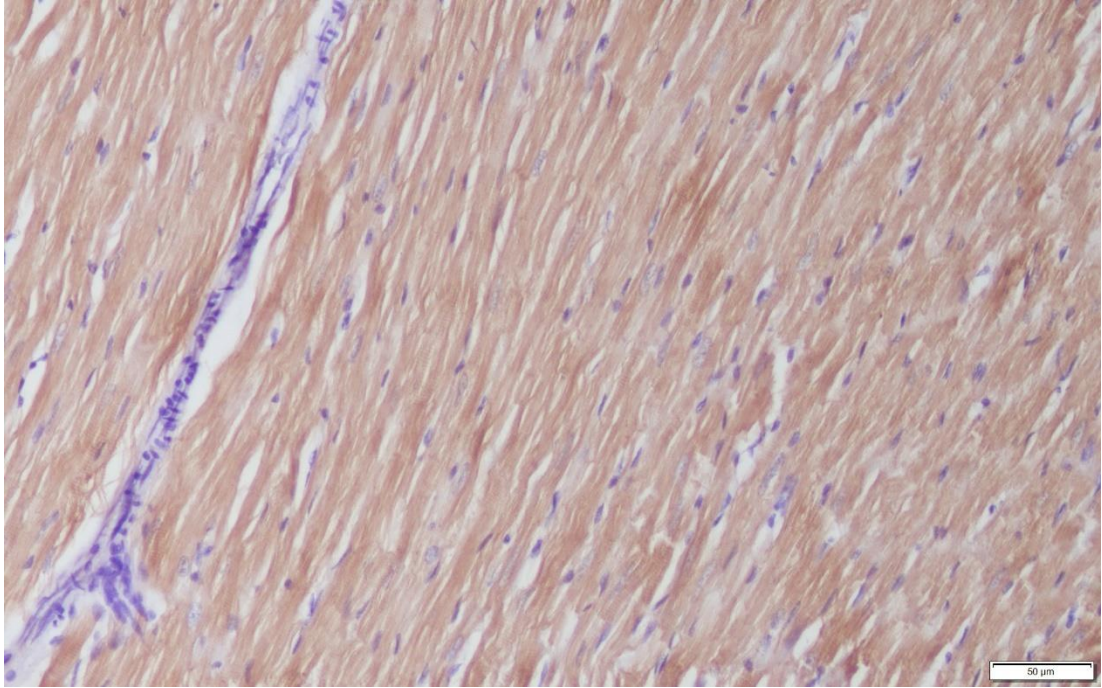
Şekil 4.28. Şekil 4.27'nin büyütülmüş görünümü, normal miyokardiyumun görünümü, HE, Bar=100 µm.



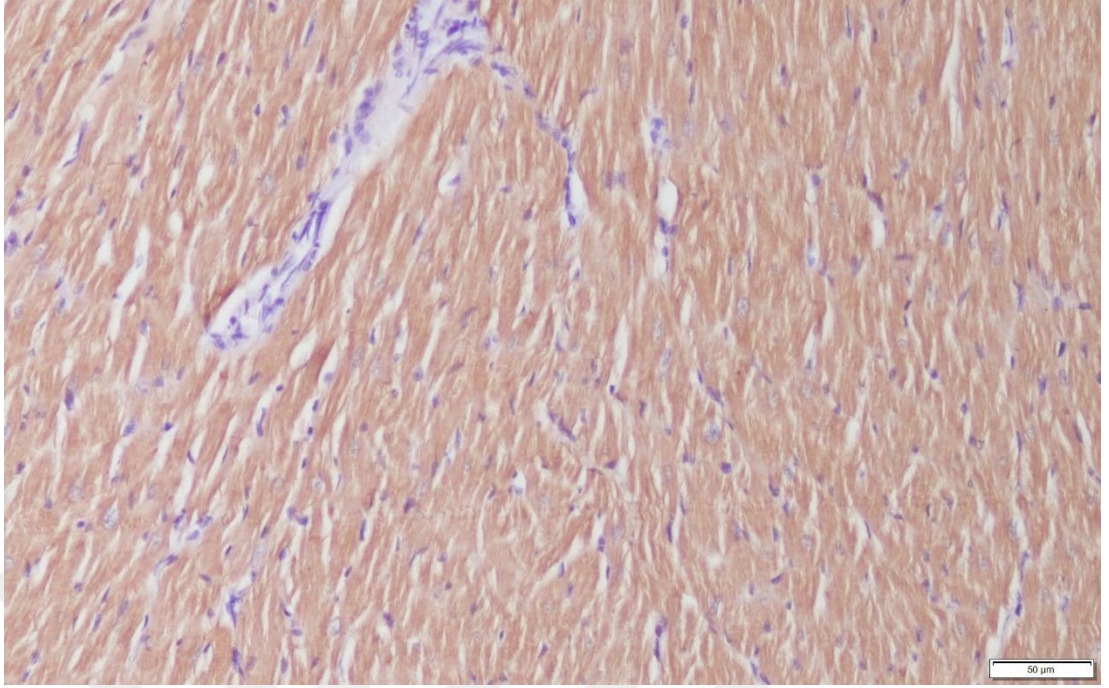
Şekil 4.29. Şekil 4.28'in büyütülmüş görünümü, HE, Bar=50 µm.

4.5. Kardiyak Troponin'in İmmunohistokimyasal Bulguları

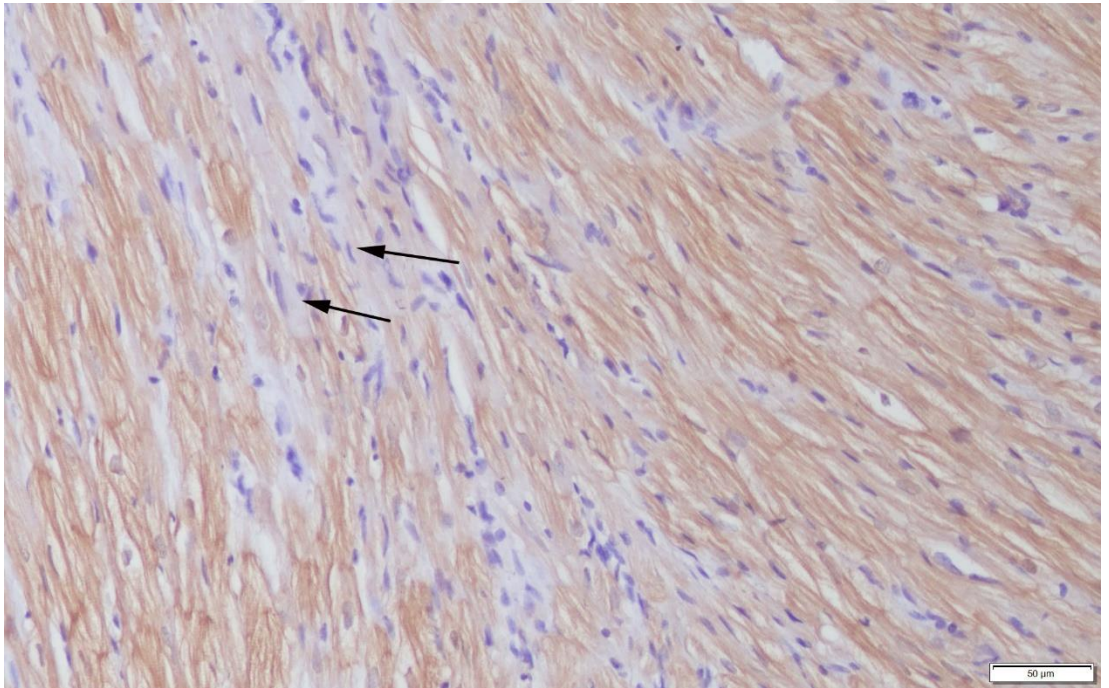
Kalplerin kardiyak troponin yönünden immunohistokimyasal incelemesinde Grup 1'deki ratların kalplerinde tüm miyokardiyal hücrelerde belirgin ve şiddetli pozitif reaksiyonlar gözlemlendi. Grup 2'deki ratların miyokardiyal hücrelerinde kardiyak troponin ekspresyonlarında azalma şekillendiği saptandı. Grup 3'teki ratların miyokardiyal hücrelerinde kardiyak troponin ekspresyonlarının artmış olduğu dikkati çekti. Grup 4'teki ratların miyokardiyal hücrelerinde şiddetli ekspresyonlar gözlemlendi (Şekil 4.30– 4.38). Kardiyak troponin ekspresyonlarının immunohistokimyasal skorlarının istatistik analiz sonuçları Tablo 4.2'de verilmiştir.



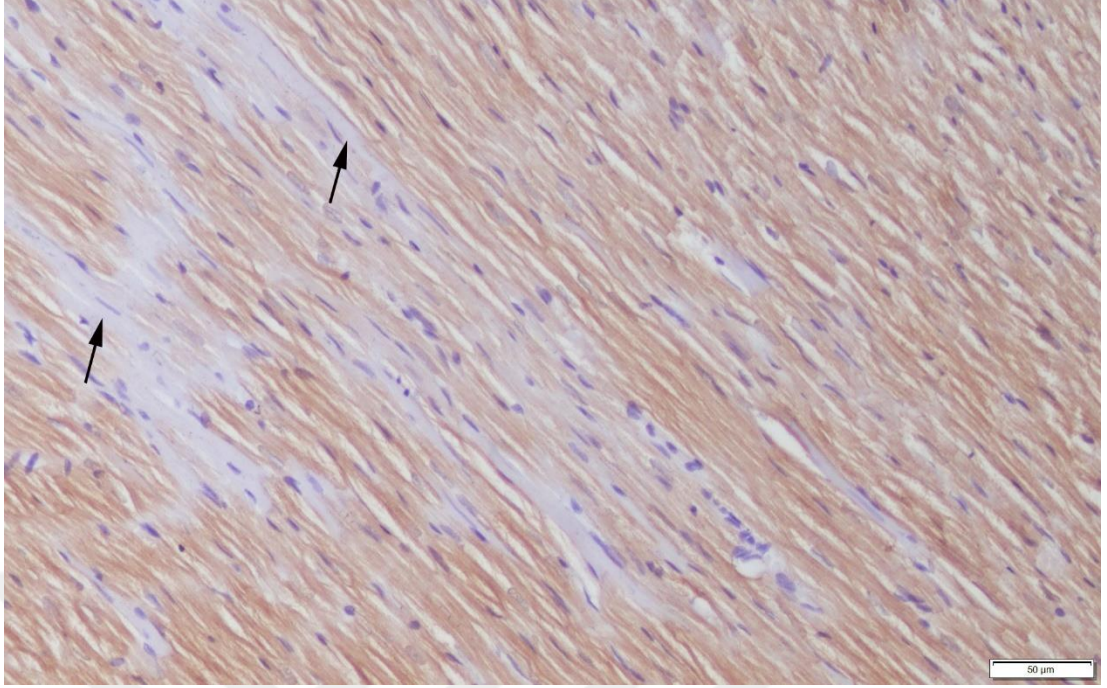
Şekil 4.30. Grup 1'deki bir ratın miyokard hücrelerinde belirgin kardiyak troponin ekspresyonları, streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm.



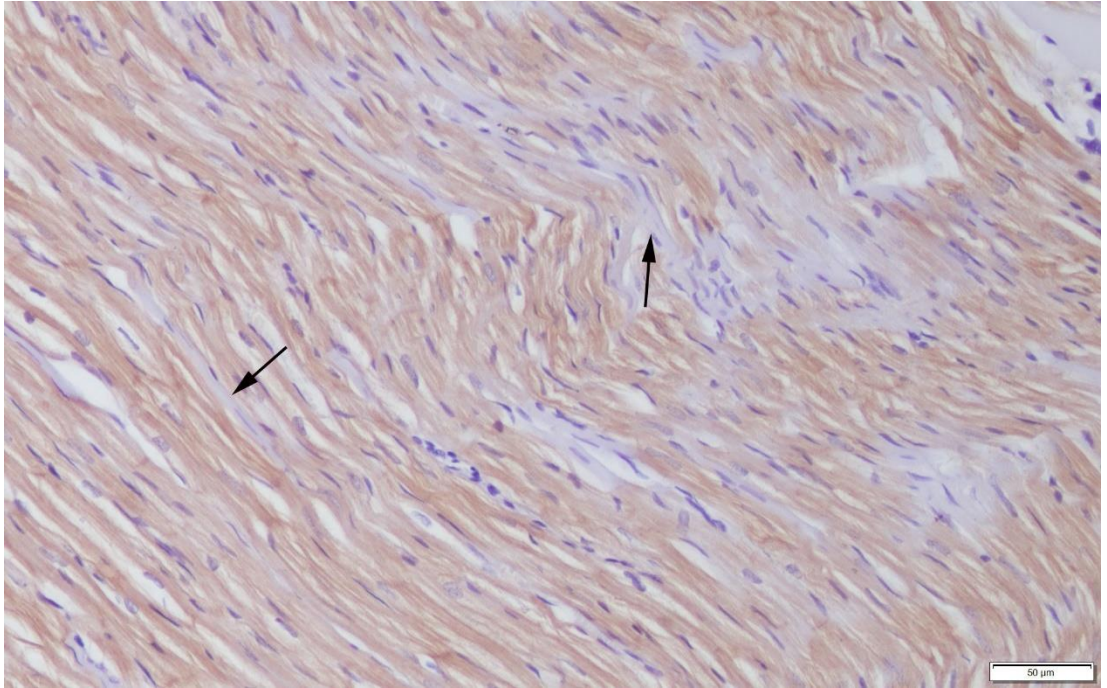
Şekil 4.31. Grup 1'deki bir başka ratın miyokardında şiddetli kardiyak troponin ekspresyonu, streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm.



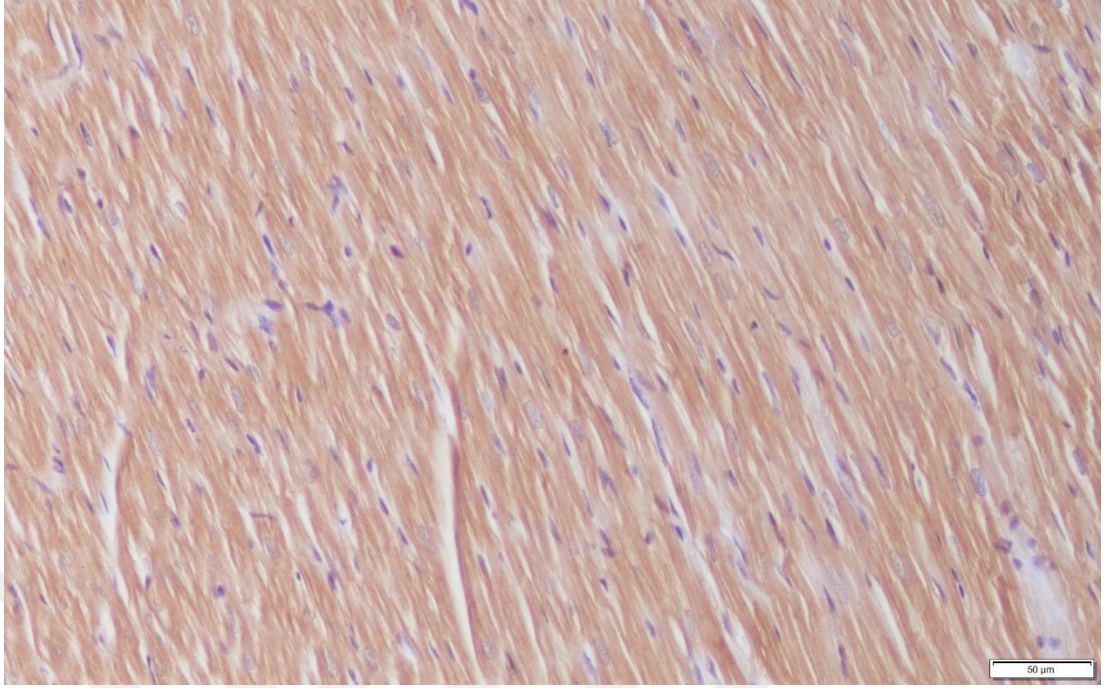
Şekil 4.32. Grup 2'deki bir ratın miyokardiyumunda kardiyak troponin ekspresyonunda azalma ve negatif miyokard hücreleri (oklar), streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm.



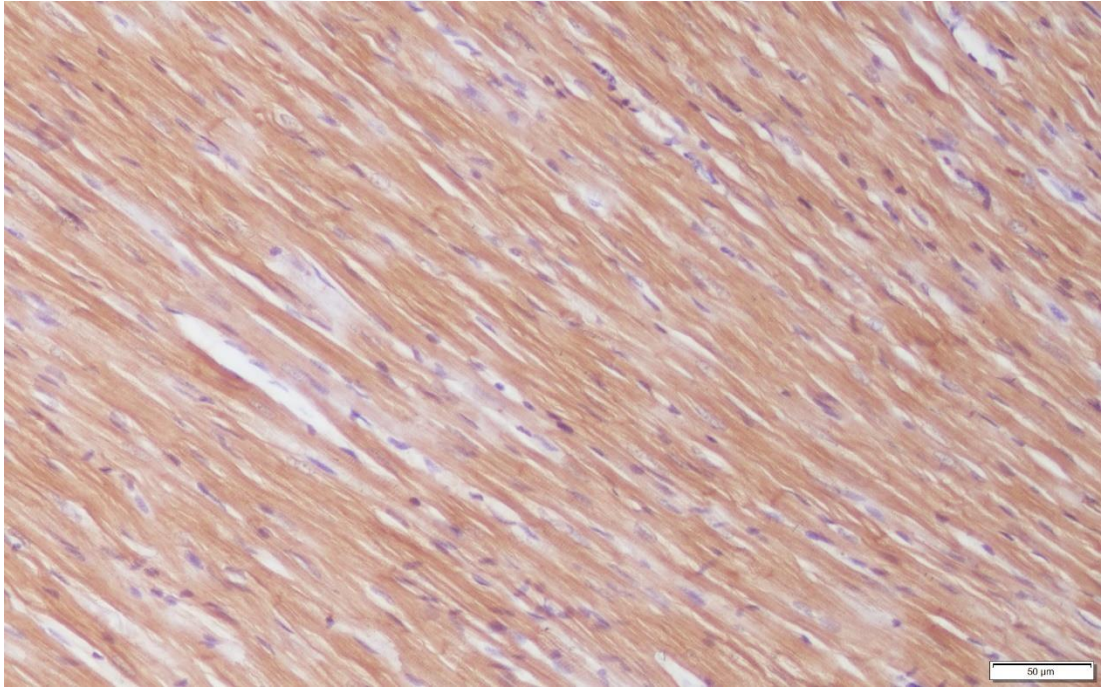
Şekil 4.33. Grup 2'deki bir başka ratın miyokardiyumunda kardiyak troponin ekspresyonunda azalma ve negatif miyokard hücreleri (oklar), streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm.



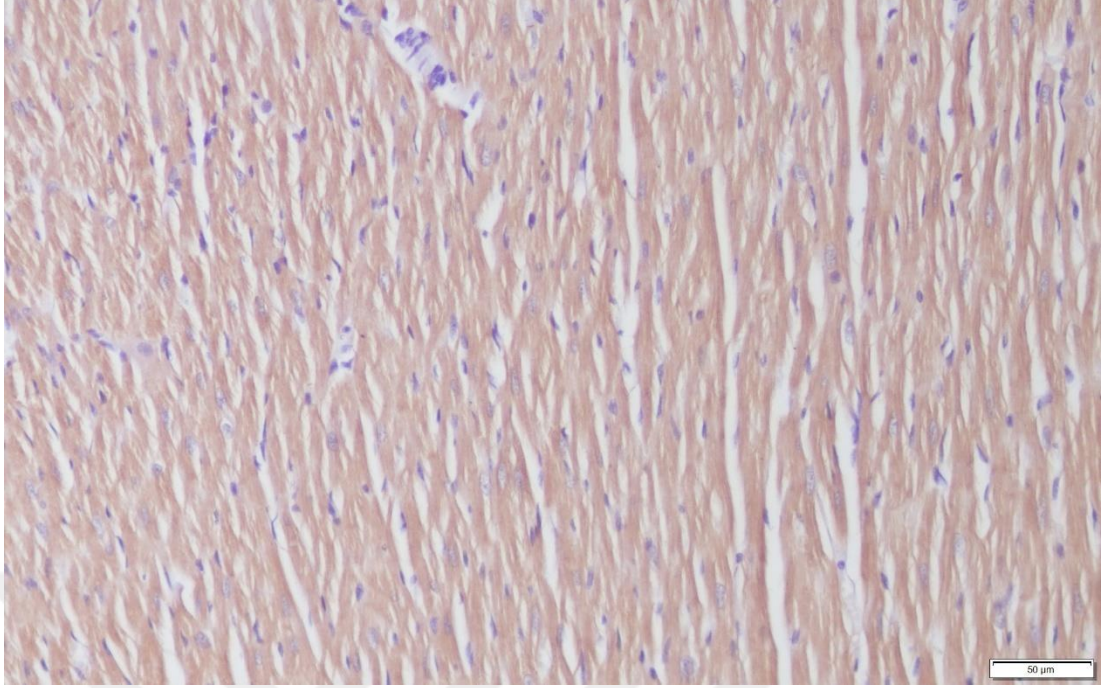
Şekil 4.34. Grup 2'deki bir başka ratın miyokardiyumunda kardiyak troponin ekspresyonunda azalma ve negatif miyokard hücreleri (oklar), streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm.



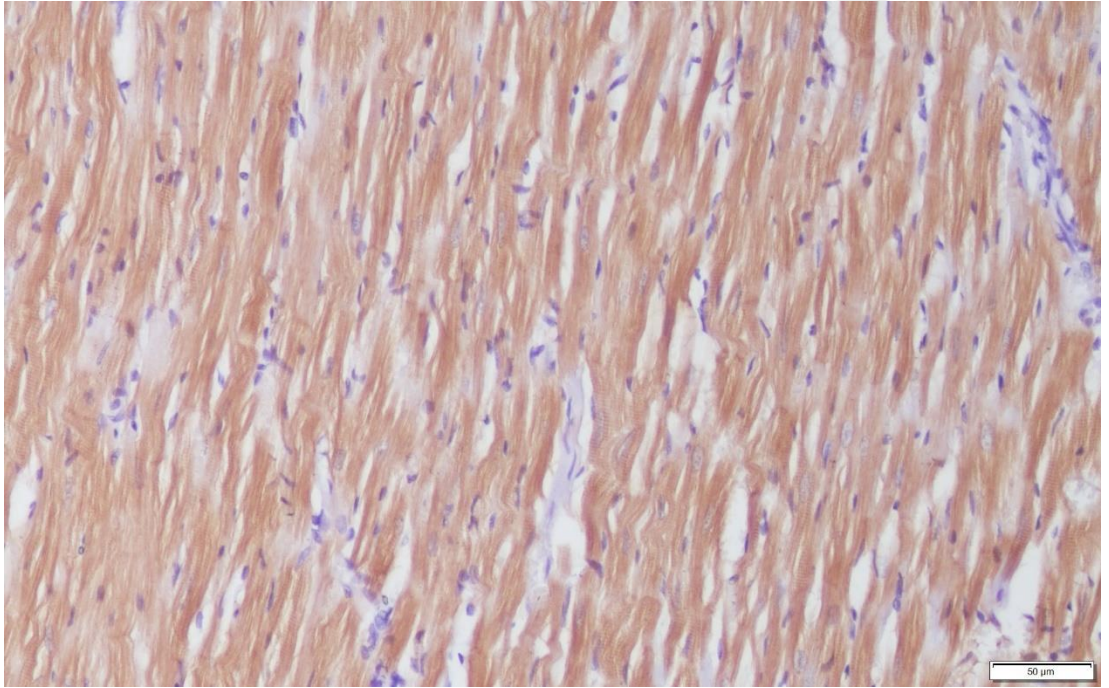
Şekil 4.35. Grup 3'deki bir ratın miyokard hücrelerinde belirgin kardiyak troponin ekspresyonları, streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm.



Şekil 4.36. Grup 3'deki bir başka ratın miyokard hücrelerinde belirgin şekilde artmış kardiyak troponin ekspresyonları, streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm.



Şekil 4.37. Grup 4'deki bir ratın miyokard hücrelerinde belirgin kardiyak troponin ekspresyonları, streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm.



Şekil 4.38. Grup 4'deki bir başka ratın miyokard hücrelerinde belirgin kardiyak troponin ekspresyonları, streptavidin biyotin peroksidaz metodu, Bar=50 µm

Tablo 4.3. Kardiyak troponin immunohistokimyasal skorlarının istatistik analiz sonuçları

Gruplar	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	P
Troponin	2.60±0.54 ^a	1.40±0.54 ^b	2.40±0.54 ^a	2.80±0.44 ^a	<0.001

*:Veriler mean ± standart sapma (SD) olarak verilmiştir.

** : Aynı satırda üst simgeleri aynı olan gruplar istatistik olarak benzer, farklı simgesi olan gruplar arası farklar istatistik olarak önemlidir.

Bu çalışmanın sonuçları hipototiroidizmin kalpte hiperemi ve mikrohemorajilere sebep olabileceğini ve troponin ekspresyonunu azaltabileceğini göstermiştir. Kafein ilavesinin hipotiroidinin kalp üzerindeki bulgularının azaltılmasında etkili olabileceği gözlenmiştir. Bu konuyu daha net değerlendirilebilmesi için ileri çalışmalar yapılmalıdır.

5. TARTIŞMA

Tiroid hormonları metabolizma için gerekli hormonlardır ve embriyonal dönemden itibaren birçok hücre tiroid hormonlarına gereksinim duyar. Tiroid bezi bu bakımdan hızlı çalışan bir organdır ve bu yoğun çalışma problemlerin sık görülmesine sebep olmuştur. Bu problemlerden biri olan hipotiroidizm hem insanlarda hem hayvanlarda yaşam boyu süren önemli bir hastalıktır. Hipotiroidi görülme sıklığı popülasyona ve tanı kriterlerine göre değişmektedir. Yapılan araştırmalara göre insidansı ve prevalansı artmaktadır. Bu çalışmada PTU ile oluşturulan hipotiroidizmde kardiovasküler bulgular ve kafeinin etkileri incelenmiştir.

Antitiroid ilaçlar olarak propiltiourasil (PTU) ve metimazol (MMI) 50 yıldan uzun bir süredir hipertiroidi tedavisinde önemli rol oynamıştır (Cooper ve Rivkees, 2009). PTU tiroid bezinde konsantre olarak hormon yapımını inhibe eder. İyodun organik bileşiklere çevrilmesini engeller ve iyodotirozinin iyodotironinleri yapmak üzere birbirleri ile bağlanmalarını da önler (Kırım, 2007). PTU'nun kalpte mitokondriyal etkilere yol açtığı bilinmektedir. Mitokondriyal membran geçirgenliğini arttıran Malat/Aspartat yolu, enerji üretiminde etkili olan glutamat ve taşıyıcı proteinler bulunmaktadır. Ratlarla yapılan çalışmada PTU ile oluşturulan hipotiroidinin bu yola ve taşıyıcı proteinlere herhangi bir etkisi olmadığı gösterilmiştir (Ralphe ve ark. 2005). Diğer bir çalışmada ise PTU ile oluşturulan hipotiroidiye bağlı gelişen antioksidan özelliğin mitokondriyal DNA'daki oksidatif hasarı azalttığı gözlenmiştir (Gredilla ve ark., 2001). Bu çalışmada PTU ile hipotiroidizm oluşturulan ratlarda histopatolojik incelemelerde belirgin hiperemi ve mikro hemorajiler gözlenmiş bunun dışında histopatolojik bulgu saptanmamıştır. Ancak kardiyak troponin ekspresyonunda azalma gözlenmiştir ki bu markırın azalması miyokardiyal hasarda etkili ve önemli bir göstergedir.

Tiroid bezi endokrin sistemdeki en büyük bezdir ve tiroid hormonlarını salgılar. Bu hormonlar metabolizma ile doğrudan ilgili olan hormonlar olup normal büyüme ve gelişmeyi ayarlarlar. Tiroid hormonlarının önemli görevlerinden biri de kalp hızı ile sistol ve diyastolün düzenlenmesidir (Yen, 2001; Zhang ve Lazar, 2000).

Hipotiroidizm ile yavaşlayan bazal metabolizma hızı, gerek insan ve gerekse hayvanlardaki reaktif oksijen türleri ile antioksidan savunma sistemi arasındaki dengede değişikliklere neden olabilmektedir (Venditti ve Di Meo 2006, Cano-Europa ve ark., 2012). Antioksidan savunma sisteminin yetersizliğinin oksidatif strese artış ve bu sebeple de protein, lipid ve DNA’da oksidatif stres hasarı oluşturduğu bilinmektedir (Kalyanaraman 2013). Bu çalışmada hipotiroidinin şiddetli hiperemi ve küçük kanamalara neden olarak ileri dönemlerde kardiyak hasara sebep olabileceği gözlenmiştir.

Hipotiroidizimli insanlarda kardiyak debide azalmayla karakterize olan ventriküler kontraksiyon bozuklukları, belirgin bir bradikardi ve periferik dirençte artma gözlenir. Elektrokardiyogram (EKG) incelendiğinde QRS voltajında düşmelere sıklıkla rastlanır. İleri ve uzun süren tedavi edilmemiş olgularda interstisyel ödem, nonspesifik nörofibriler şişme, sol ventriküler dilatasyon ve perikardiyal efüzyon sebebiyle kalpte belirgin büyümeler gözlenebilir. Kardiyak debi azalmasına rağmen pulmoner ödem ve konjestif kalp yetmezliği gibi semptomlar nadir gözlenen bulgular arasında sayılmaktadır. Hipotiroidizmin koroner arter hastalığına sebep olup olmadığı ile ilgili bilgiler çelişkilidir (Cappola ve Ladenson, 2003). Bu çalışmada sadece histopatolojik ve troponin yönünden immunohistokimyasal incelemeler yapılmıştır. İki aylık çalışma sonunda kalp lezyonları çok belirgin olarak şekillenmemiştir.

Hipotiroidizm insan ve hayvanların organlarında birçok yaşamsal faaliyeti etkileyen önemli bir hastalıktır. Ömür boyu tedavi edilmesi gereken bu hastalığın kalp hasarlarına da neden olduğu bilinir. Kafeinin ise kalp atımlarını artırdığı bilinmektedir (Brathwaite ve ark., 2011). Genel olarak, hipotiroidizmde ventriküler fibrilasyon insidansı azalır ve tiroid hormon düzeylerinin depresyonu, anjin ve akut miyokard enfarktüsü olan hastalarda bu durum faydalı olabilir. Bradikardi, özellikle altta yatan kardiyovasküler hastalığı olan hastalarda aritmojenik eşiği yükselttiği için faydalı olabilir (Tribulova ve ark., 2010; Udovcic ve ark, 2017). Kafeinin hipotiroidi tedavisine muhtemel katkısının hipotiroidinin oluşturduğu etkileri azaltması ve zaman zaman alındığında kalp atımlarını arttırarak kalp kasını güçlendirebilmesi nedeniyle olabileceği düşünülmektedir.

Kafein, kalp, beyin, düz kaslar, adipoziteler ve iskelet kasında bulunan adenozin hücre zarı reseptörlerine bağlanır. Kafein gibi ajanların miyofibrillerin kalsiyum iyonlarına duyarlılığını nasıl etkilediği bilinmemektedir (Palmer ve Kentish, 1994). Bu çalışmada kafeinin hipotiroidide oluşan kalp bulgularını düzeltici bir etkisi olabileceği gözlenmiştir. Literatürde hipotiroidinin kalp üzerinde daha belirgin etkileri olabileceği bildirilmesine rağmen (Klein ve Ojamaa, 2001) bu çalışmada çok şiddetli bozukluklar saptanmamıştır. Bu durum muhtemelen çalışma süresinin kısalığından kaynaklanmıştır.

Hipotiroidizm olgularında T3 ve T4 hormon düzeylerinin düşmesi bazal metabolizma hızının azalmasına ve metabolik olayların baskılanmasına sebep olmaktadır. Bu durum hücreleri yıkımlayan serbest radikal oluşumunun azalmasına ve dokuların özellikle lipid peroksidasyonuna karşı korunmasına neden olur (Costantini ve ark., 1998). Serbest radikaller tiroid hastalıklarının oluşumunda ve hastalığın ilerleyen aşamalarında diğer organlarda şekillenen birçok komplikasyondan sorumludur. Dolayısı ile hipertiroidizm hipotiroidizmden daha fazla hasara sebep olur (Bianchi ve ark. 1999). Hipotiroidizmin deneysel olarak oluşturulduğu ratlarda PTU uygulamasının bırakılmasından uzun süre sonra ve yavaş yavaş iyileşmeler olabileceği bildirilmiştir (Clozel ve ark., 1983). Bu çalışmada da PTU ile deneysel olarak oluşturulan hipotiroidide hem tiroidlerde hem de kardiovasküler bulgularda PTU kesildikten ve kafein verildikten sonra 1 ay içinde bulgular önemli ölçüde düzelmiştir. Bu hızlı iyileşmenin kafeinin etkisi ile olabileceği düşünülmüştür. Ancak bu konunun daha iyi araştırılması için değişik doz ve düzenlerde yeni çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Birçok çalışmada olduğu gibi tiroid hormonlarının kalp üzerine etkilerini inceleyen çalışmaların sonuçlarında çelişkiler bulunmaktadır. Bu farkların oluşumunda çalışmaların standardize edilememesi ile kötü bakım ve besleme koşullarının etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu sebeple bu alanda değişik süre, doz ve çalışma planları ile yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır. Bu çalışmamız da kafeinin hipotiroidili ratlarda kardiovasküler bulguların düzeltilmesinde olumlu yönde etkileri olabileceğini göstermektedir.

Bu çalışmada PTU ile oluşturulan hipotiroidide kardiovasküler bulgular ve kafeinin etkileri incelendi. Elde edilen veriler, PTU ile oluşturulan hipotiroidinin kalp dokularında şiddetli hiperemiye ve kardiyak troponin ekspresyonlarında azalmaya neden olduğunu gösterdi. Kafein uygulanan grupta ise kardiyak troponin ekspresyonlarının artmış olduğu dikkat çekerek tedaviyi destekleyici etkisi olabileceğini ortaya koydu.

Günümüzde farklı birçok etiyolojisi ve çeşitli tedavileri bulunan hipotiroidi hastalığı önemli bozukluklara neden olduğu için tedaviye destek olacak etmenler bu konuda önem kazanmıştır. Bu çalışmada kafeinin hipotiroidide şekillenen kalp lezyonları üzerine olumlu etkileri gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

Ateş DS, (2019). Hipertiroidili Kedilerde Alerjen Spesifik İn-Vitro IgE Analizleri, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İç Hastalıkları (Veteriner) Yüksek Lisan Programı, VİH-YL-2019-0006.

Bakker, Jan c. Ter Maaten, Corrie Popp-Snijders, Joris P. J. Slates SJL, Heine RJ, Gans ROB, (2001). The relationship between thyrotropin and low density lipoprotein cholesterol is modified by insulin sensitivity in healthy euthyroid subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **86**,1206-1211.

Baxter JD, Dillmann WH, West BL, Huber R, Furlow JD, Fletterick RJ, Webb P, Apriletti JW, Scanlan TS, (2001). Selective modulation of thyroid hormone receptor action. *J Steroid Biochem Mol Biol.*, **76**, 31-42.

Bengel FM, Lehnert J, Ibrahim T, Klein C, Bülow HP, Schwaiger SGN, (2003). Cardiac oxidative metabolism, function and metabolic performance hyperthyroidism: A noninvasive study using positron emission tomography and magnetic resonance imaging. *Thyroid*, **13**, 471-477.

Bianchi G, Solaroli E, Zaccheroni V, Grossi G, Bargossi AM, Melchionda N, Marchesini G (1999). Oxidative stress and anti-oxidant metabolites in patients with hyperthyroidism: effect of treatment. *Horm Metab Res.*, **31**, 620-624.

Brathwaite JM, Da Costa LA, El-Sohemy A, (2011). Catechol-o-methyltransferase genotype is associated with self-reported increased heart rate following caffeine consumption. *J Caffeine Res.* **1**, 123–130.

Brent GA, Moore DD, Larsen PR, (1991). Thyroid hormone regulation of gene expression. *Ann Rev Physiol.* **53**, 17-35.

Cachefo A, Boucher P, Vidon C, Dussere E, Diraison F, Beylot M, (2001). Hepatic lipogenesis and cholesterol synthesis in hyperthyroid patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **86**, 5353- 5357.

Cano-Europa B, Franco-Colin M, Ortiz-Butron R, (2012). The Relationship Between Thyroid States, Oxidative Stress and Cellular Damage. Oxidative Stress and Diseases. Gospodaryov VILaDV, InTech.

Cappola AR, Ladenson PW. Hypothyroidism and atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; **88**: 2438-2444.

Clark T, Savi N. (2000). History, ontogeny and anatomy. Wener I (ed). The Thyroid. 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1-5.

Clozel M, Branchaud CL, Tannenbaum GS, Dussault JH, Arandac JV, (1983). Effect of caffeine on thyroid and pituitary function in newborn rats. *Pediatr. Res.*, **17**, 592-595 (1983).

Coppola AR, Landenson PW, (2003). Hypothyroidism and atherosclerosis, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **88**, 2438-2444.

Costantini F, Pierdomenico SD, De Cesare D, De Remigis P, Bucciarelli T, Bittolo-Bon G, Cazzolato G, Nubile G, Guagnano MT, Sensi S, Cuccurullo F, Mezzetti A, (1998). Effect of thyroid function on LDL oxidation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* **18**, 732-737.

Glass CK, Holloway JM, (1990). Regulation of gene expression by the thyroid hormone receptor. *Biochem Biophys Acta* **1032**,157-176.

Gomberg-Maitland M, Frishman WH, (1998). Thyroid hormone and cardiovascular disease, *Am J.*, **135**,187-196.

Graham TE, (2001). Caffeine and exercise, metabolism, endurance and performance *Sports Med*, **31**, 785-807.

Hansen JT, (1997). Embryology and surgical anatomy of the lower neck and superior mediastinum. Faik SA (ed). Thyroid Disease, endocrinology, surgery, nuclear medicine and radiotherapy. 2nd ed. New York: Lippincott - Raven Publisher; 15-27.

Hatemi H, (1999). Hipotiroidi, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Tiroid Hastalıkları Sempozyumu, İstanbul, s. 43-47.

Hellstorm L, Wahrenberg H, Reynisdottir S, Arner P, (1997). Cathecolamine – induced adipocyte lipolysis in human hyperthyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **82**, 159-166.

Henry JF, (1997). Surgical anatomy and embryology of the thyroid and parathyroid glands and recurrent and external laryngeal nerves. Clark O.H, Duh Q.Y (ed). Textbook of endocrine surgery. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 8-14.

Higdon JV, Frei B. (2006). Coffee and health: a review of recent human research. *Crit Rev Food Sci Nutr.* **46**, 101–123.

İşgor A. Anatomi. İşgor A (ed). Tiroid Hastalıkları ve Cerrahisi. 1. baskı. İstanbul:Avrupa Tıp Kitapçılık; 2000. 515-540.

Kalyanaraman B, (2013). Teaching the basics of redox biology to medical and graduate students: Oxidants, antioxidants and disease mechanisms. *Redox Biol*, **1**, 244-57.

Kaynaroglu ZV, (1996). Tiroid Fizyolojisi ve Fonksiyon Testleri. İn: Sayek İ. (edit): Temel Cerrahi 2.; 15; 1523.

Klein I, Ojamaa K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *N Engl J Med* 2001; 344: 501-9.

Koerner D, Schwartz H, Surks MI, Oppenheimer JH, Jorgensen EC, (1975). binding of selected iodothyronin analogues to receptor sites of isolated rat hepatic nuclei: High correlation between structurel requirements for nuclear binding nad biological activity. *J Biol Chem.* **250**, 6417-23.

Levey GS, Klein I, (1994). Disorders of The Thyroid. In: Stein J, editor. Stei's textbook of Medicine. 2nd edition. Brown, p.1383-97.

Maden M, Çuhadar F, (2013). Kedi ve köpeklerde endokrin hastalıkların laboratuvar tanısı. *Türkiye Klin.*, **4**, 35-60.

Masters PA, Simons RJ, (1996). Clinical use of sensitive assays for thyroid stimulating hormone. *J Gen Intern Med.* **11**,115-127.

Milli ÜH, Hazıroğlu R. (2000). *Veteriner Patoloji I. Cilt.* 2.Baskı, Ankara, Medipres, s: 559,565.

Paluska SA, (2003). Caffeine and exercise. *Curr Sports Med Rep.* **2**, 213-219.

Peterson ME (2019). *Hypothyroidism in Animals.* MSD Veterinary Manual. <https://www.msddvetmanual.com/endocrine-system/the-thyroid-gland/hypothyroidism-in-animals#v3270964> (Erişim Tarihi: 16.12.2019)

Pethes G, Bokori J, Rudas P, Frenyo VL, Fekete S. (1985) Thyroxine, triiodothyronine, reverse-triiodothyronine, and other physiological characteristics of periparturient cows fed restricted energy. *J Dairy Sci.* **68**, 1148–1154

Radostits OM, Gay CC, Hinchliff KW, Constable PD (2007). Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Horses, Sheep, Pigs and Goats, *Veterinary medicine*, 10th.(Eds). 2045-2050

Refetoff S ve Selenkow HA (1968). Familial thyroxine binding globulin deficiency in a patient with Turner's syndrome (XO). *N. Engl. J. Med.* 278, 1081-1087.

Sadler GP, Clark OH. (1999). Thyroid and parathyroid. Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC (ed). Principles of Surgery. 7th ed. New York: McGraw-Hill; 1661-1687.

Sanders LE, Cady B. (1991). Embryology and developmental abnormalities. Cady B, Rossi RL (ed). Surgery of the Thyroid and Parathyroid Glands. 3th ed. Philadelphia: WB Saunders comp;. 5-12.

Silva LA, (2017). Relation between diabsetes mellitus, thyroid hormones and caffeine. *J Appl Pharm Sci*, 7,212-216.

Singh R and Beigh SA (2013), Disorders of thyroid function, Diseases of Thyroid in Animals and Their Management. *Insights Vet. Med.*, 9, 233-239.

Skandalakis JE, Skandalakis PN, Skandalakis LJ, (1995).Anatomy of the thyroid gland. Skandalakis JE (ed). Surgical Anatomy and Technique. 1st ed. New York: Springer - Verlag; 31-44.

Squires EJ, (2003). Applied animal endocrinology. Cabi Publusing, 234, USA.

Tribulova N, Knezl V, Shainberg A, Seki S, Soukup T, (2010). Thyroid hormones and cardiac arrhythmias. *Vascul Pharmacol.* 52,102– 112.

Udovcic M, Pene RH, Patham B, Tabatabai L, Kansara, K, (2017). Hypothyroidism and the Heart. *Methodist Debakey Cardiovasc J.* 13, 55–59.

Venditti P, Di Meo S, (2006). Thyroid hormone-induced oxidative stress. *Cell Mol Life Sci*, 63, 414-34.

Yen PM, (2001). Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiol Rev.* 81,1097-1142.

Yılmaz B, (1999). Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi. Feryal matbaacılık, 1. Basım, 588, Ankara.

Yılmaz C. (2005) Embriyoloji. Yılmaz C (ed). Tiroit, Paratiroit Hastalıkları ve Cerrahisi. 1. baskı. İstanbul: Nobel tıp kitabevi;. 6-8.

Zhang J, Lazar MA, (2000). The mechanism of action of thyroid hormones. *Annu Rev Physiol.* 62, 439-466.

