

T.C.  
İstanbul Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Biokimya Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Emine Kökoğlu

111690

TİROİD HASTALIKLARINDA TİROİD  
DOKU HOMOJENATI, MİTOKONDİRİ  
VE MİKROZOM FRAKSİYONLARINDA  
PEROKSİDAZ AKTİVİTELERİ  
ÖLÇÜMÜNÜN ÖNEMİ

DOKTORA TEZİ

111690

F. Ezel USLU  
Biokimya Uzmanı

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM BAKANLIĞI  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İSTANBUL — 1993

Eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği olan,engin bilgi ve tecrübelerinden her zaman faydalandığım , alaka ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam, Profesör Doktor Emine Kökoğlu'na,

Her konuda yakın ilgilerini gördüğüm,geniş deneyimlerinden yararlandığım, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Profesör Doktor Nevzat Baban'a,

Değerli hocalarıma, arkadaşlarıma,herzaman desteğini gördüğüm eşime ve bütün emeği geçenlere sonsuz teşekkür ederim.

## KISALTMALAR

BSA	: Sığır albumini
Ca <sup>2+</sup>	: Kalsiyum iyonu
Cyt C	: Sitokrom C
DIHPPA	: 3,5 diiyodo,4 hidroksi fenil pirüvik asid
DIT	: Diiyodo tirozin
DNA	: Deoksiribonükleik asid
GU	: Guaiacol ünitesi
HIO	: Hipoiyodoz asid
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit
IV	: intravenöz
I <sup>125</sup>	: Molekül ağırlığı 125 olan iyod izotopu
I <sup>131</sup>	: Molekül ağırlığı 131 olan iyod izotopu
I <sup>•</sup>	: iyodonyum
I	: iyodür
Ig G	: immunglobulin G
KDa	: KiloDalton
LPO	: Laktoperoksidaz
MMI	: Methimazol
MIT	: Monoiyodo tirozin
Mg	: Miligram
NADH	: Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
OD	: Optik dansite
PTU	: Propiltiourasil
Sc	: Subkutan
TPO	: Tiroid peroksidaz
T <sub>3</sub>	: Triiyodo tironin
T <sub>4</sub>	: Tetraiyodo tironin
Tg	: Tiroglobulin
TSH	: Tiroid stimulan hormon
TPA	: Tetra dekanoyil forbol asetat
TS Ab	: Tiroid stimulan antikor
TAH	: Tiroidde adenomatöz hiperplazi

## İÇİNDEKİLER

	SAYFA NO
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 TİROİD PEROKSİDAZİN GÖREVİ	3
2.2 SAFLAŞTIRILMASI VE ÖZELLİKLERİ	6
2.3 YAPISI VE MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ	7
2.4 İYODİNASYON MEKANİZMASI	9
2.5 SERBEST RADİKAL MEKANİZMASI	10
2.6 İYODİNASYON VASITASI OLARAK I <sup>+</sup>	11
2.7 İYODİNASYON VASITASI OLARAK HİPOİYODİT	11
2.8 TİROİDDE H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ÜRETİMİ	13
2.9 TİROİDDE İYODİNASYONUN YERİ	15
2.10 İYODİNASYON DEFEKTLERİ	18
2.11 İYODOTİRONİN OLUŞUM MEKANİZMASI	20
2.12 KUPLİNG REAKSİYONUNDA TPO'NUN KATALİTİK ROLÜ	20
2.13 TİROİD PEROKSİDAZİN SPESİFİSİTESİ	23
2.14 KUPLİNG REAKSİYONUNUN MEKANİZMASI	24
A İNTRAMOLEKÜLER KUPLİNG	24
B İNTERMOLEKÜLER KUPLİNG	25
2.15 KUPLİNG DEFEKTLERİ	26
2.16 İYOT YETERSİZLİĞİNİN ETKİLERİ	27
2.17 İYOT FAZLALIĞININ ETKİLERİ	30
A AKUT İYOT FAZLALIĞI	30

3.	MATERYAL VE METOT	38
3.1	KULLANILAN ALETLER	38
3.2	KİMYASAL MADDELER	38
3.3	KİMYASAL ÇÖZELTİLER	39
3.4	DOKU ÖRNEKLERİNİN TOPLANMASI VE HAZIRLANMASI	39
A	DOKU HOMOJENİZASYONU	40
B	DOKU FRAKSİYONLANMASI	40
3.5	TİROİD PEROKSİDAZ AKTİVİTESİ TAYİNİ	41
3.6	PROTEİN TAYİNİ	41
3.7	KULLANILAN İSTATİSTİKSEL BAĞINTILAR	42
3.8	OLGULAR	43
4.	BULGULAR VE TABLOLAR	43
5.	TARTIŞMA	50
6.	ÖZET	57
7.	SUMMARY	59
8.	KAYNAKLAR	61
9.	ÖZGEÇMİŞ	82

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Geçen son 5 yıl tiroid peroksidazın (TPO) ın yapısı ve işleyişi hakkında büyük gelişmelere tanık olmuştur. Enzimin moleküler klonlanması ile otoimmün tiroid hastalıklarında major mikrozomal antijen olduğu ortaya koyulmuştur. Gelecek yıllarda ise TPO'ın genomik regülasyon mekanizması üzerindeki çalışmalarla hücre farklılaşmasını sağlayan faktörlerin izolasyonu ile tiroid peroksidaz konusuna ilginin artacağı beklenmektedir. Otoimmün tiroid hastalıklarının etiyolojisindeki rolünün açıklanması da ümit edilmektedir. Rekombinant DNA tekniği kullanılarak büyük miktarda TPO sentezlenmesi ve X ışını kristallografisi ile enzimin aktif bölgesinde yapılacak çalışmaların TPO ile ilgili sorulara açıklık getirmesi beklenmektedir.

Tiroid peroksidaz ( EC1.11.1.7 ) tiroid hücresi subselüler organel membranlarında, perinükleer bölgede, endoplazmik retikulumda, golgi cisimciğinde ve apikal hücre etrafında yer alan veziküllerde lokalize olmuştur. Glikozillenmiş hemoprotein olan enzim membrandan tripsin etkisi ile çözülebilir.

TPO iyodotirozinlerin ve tiroid hormonlarının yapımında iyodinasyon ve kupling reaksiyonlarını katalizleyerek çok önemli rol oynar. Çeşitli patolojik şartlarda TPO aktivitesi değişmektedir. Hormon sentezinin yetersiz olduğu benign tiroid hastalıklarının, TPO aktivitesinin düşüklüğüne bağlı olmadığı görülmüştür. Antitiroid ilaçlarla tedavi edilen hipertiroidili hastalarda TPO aktivitesi normallere göre çok

yüksektir.

Literatürde diferansiye tiroid kanserlerinde uygulanan metod farklılıklarına göre heterojen neticeler elde edilmişse de büyük çoğunluk normal dokulara göre TPO aktivitesinin düştüğünü hatta tesbit edilebilir aktivite görülmediğini ifade etmektedir. Benign patolojik şartlarda sadece kanserli dokularda TPO aktivitesi düşük bulunmuştur.

Hormon düzeylerinin normal olduğu şartlardan olayları patolojiye yani hormon sentezinin arttığı hipertiroidi durumuna veya maligniteye çeviren etken sentezin önemli faktörlerinden biri olan TPO olabilir mi ?

Bu çalışmadaki amacımız değişik patolojik durumlarda TPO'ın nasıl davrandığını tesbit etmek, hormon sentezindeki yerini, aktivitenin ne zaman hangi şartlarda, nasıl değiştiğini araştırmak, hormon sentez mekanizmasını tekrar gözden geçirmek ve yukardaki soruya cevap aramaktır.

Bu amaçla uzun süreli PTU tedavisi ile hormon sentezi normal düzeylerde tutulan ötiroid durumdaki hipertiroidili bir grup hastanın ve diferansiye tiroid karsinomlu hastaların tiroid dokusu TPO aktiviteleri Guaiacol metodu ile tayin edilerek tiroid peroksidazın hormon sentezindeki yeri incelendi.

## 2. GENEL BİLGİLER

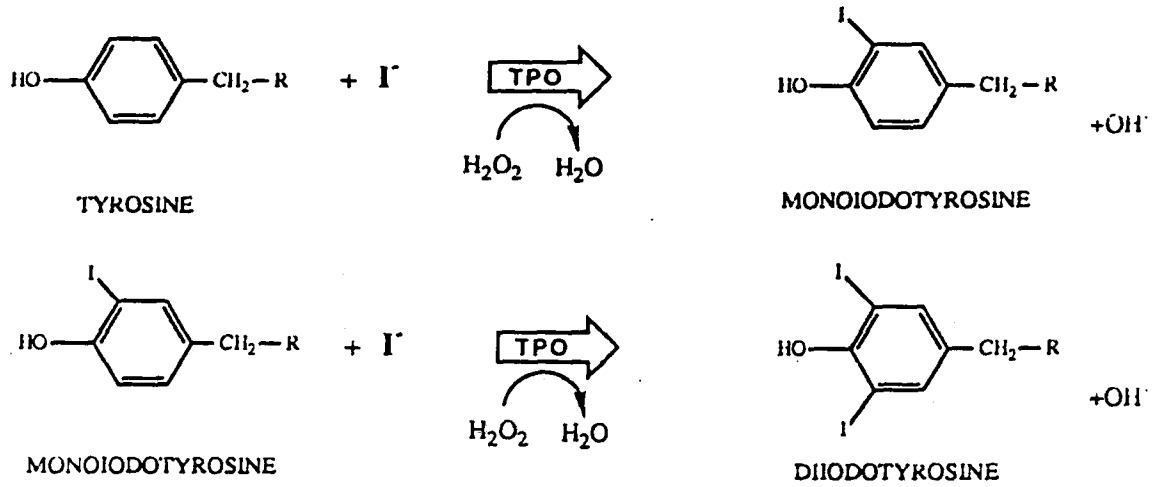
### 2.1 TPO'IN GÖREVI

TPO'ın tiroid glandında önemli görevi vardır. Enzim, hormon sentezinde iki önemli reaksiyonu katalizler (şekil 1). Öncelikle proteine bağlı mono ve diiyodotirozinleri oluşturmak üzere tiroglobülindeki (Tg) tirozinlerin iyodinasyonunu katalizler. Her bir Tg molekülü 40-45 tirozin bağlamıştır ve 75 mol iyodür bu tirozinleri iyodimize eder (116,63). TPO'ın diğer görevi kupling reaksiyonunu katalizlemektir. Burada Tg'deki tirozinler fenoksieter oluşumu ile birleşerek tiroid hormonlarını oluşturur. Hormonojenik tirozinler Tg molekülünün amino ve karboksi terminal bölgesindeki, yapısı iyi bilinen polipeptid zincirlerinde oluşur (96,65).

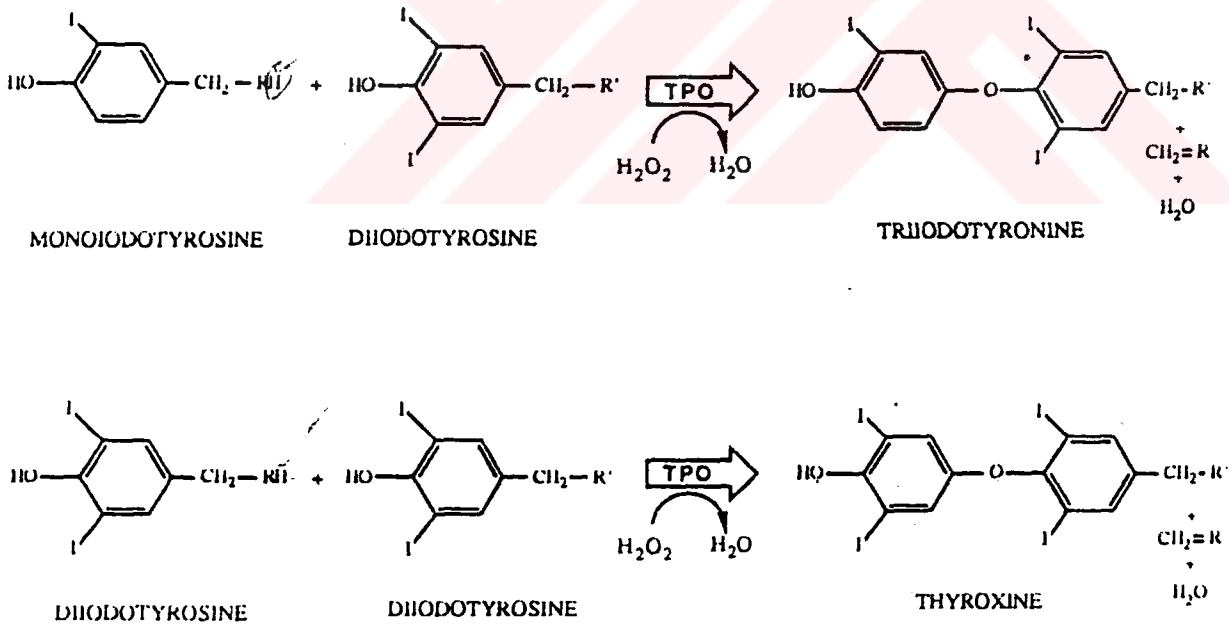
Şekil 2'de tiroid hormonlarının oluşumu görülmektedir. İyodür tiroid hücrelerine aktif transport ile taşınır, folliküler lümeni pasif difüzyon ile geçer. Muhtemelen  $O_2$ 'den üretilen  $H_2O_2$  lümene membrana bağlı elektron transfer sistemi ile taşınır. Folliküler lümende yüksek konsantrasyonda Tg bulunur. İntrinsik membran proteini olarak apikal membran mikrovililerinde yer alan TPO folliküler lümene salınır. Burada tiroid hormonlarını oluşturmak üzere iyodinasyon ve kupling reaksiyonlarını katalizler. TSH stimülasyonu ile folliküler lümendeki iyodlanmış Tg endositotik veziküllerle birleşir. Bu veziküllere fagozom da denir. Veziküller sitoplazmik lizozomlarla fagolizozomları



### IODINATION REACTION

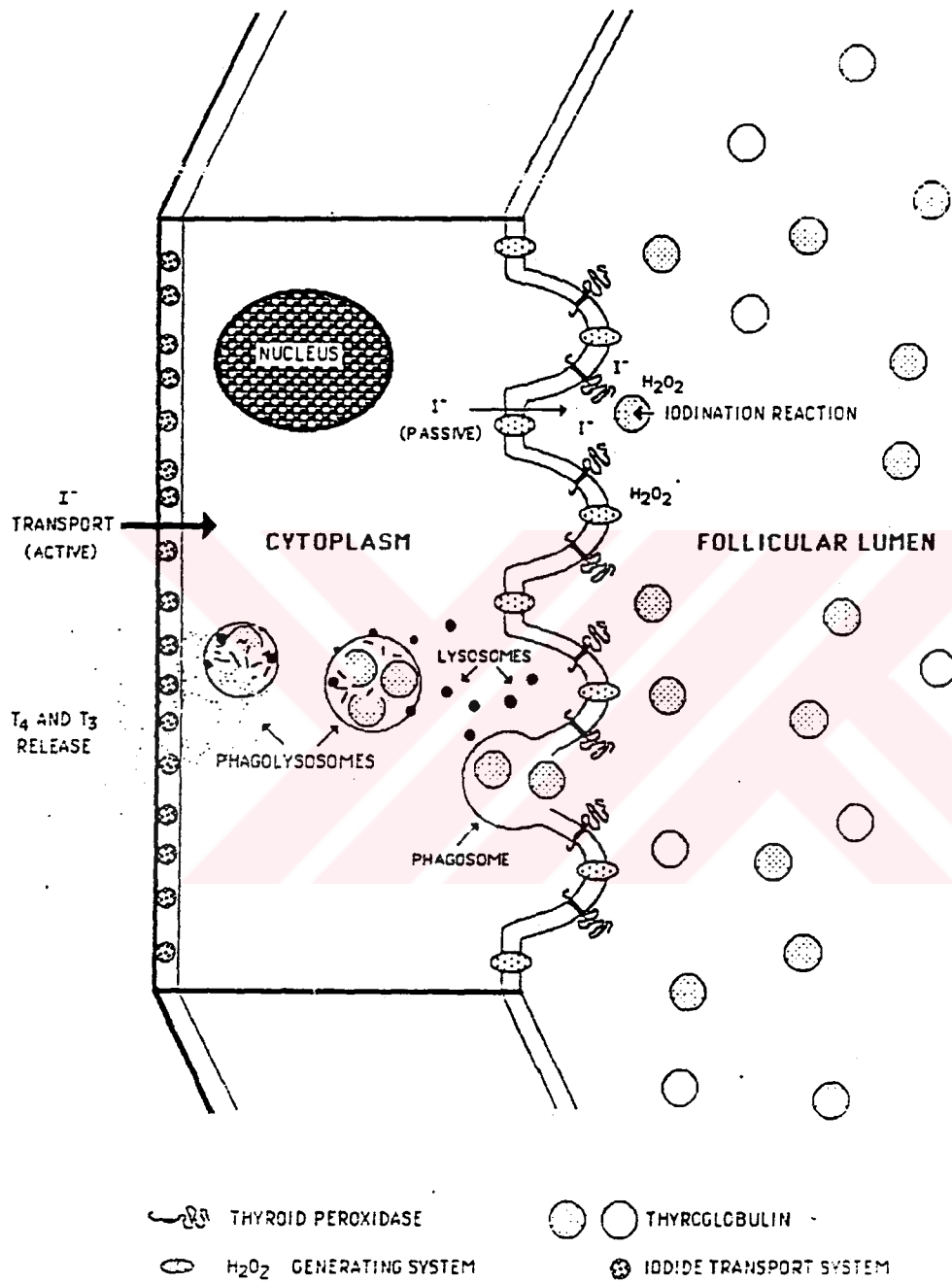


### COUPLING REACTION



Şekil 1 . Tiroid peroksidazın katalizlediği iyodinasyon ve kupling reaksiyonları(57).

$R$  -CH<sub>2</sub>-CH(NH<sub>2</sub>)COOH Tg'e bağlı peptid omurgası



Şekil 2 . Tiroid hormonlarının sentezi (57).

oluşturmak üzere birleşir. Fagolizozomlar bazolateral tiroid membrana doğru hareket ederler. Bu sırada Tg'ler proteolize uğrar T<sub>3</sub>,T<sub>4</sub> açığa çıkar. Serbest tiroid hormonları kapillerlere difüzyon etmek üzere ekstraselüler sıvıya salınır.

## 2.2 SAFLAŞTIRILMASI VE ÖZELLİKLERİ

TPO tiroid membran fraksiyonlarından tripsin ve deterjan muamelesi ile çıkartılabilir(4,42,110,111).Triptik fragmentte çözünebilen bu ürün yüksek katalitik aktiviteye sahiptir(126) Son zamanlarda deterjanda çözünebilen tabii TPO monoklonal antikor destekli afinite kromatografisi ile hazırlanmıştır (18,77). Tabii TPO immünolojik çalışmalar için kullanılır ve tripsin ile çözünürleştirilmiş preperatlara göre daha düşük katalitik aktivite gösterir (86).

Katalitik ve immünolojik aktivitenin her ikisini de gösteren rekombinant insan TPO'ı eldesi birkaç araştırmacı grup tarafından rapor edilmiştir(40,48). Her ne kadar bu yolla küçük miktarlarda aktif TPO hazırlanmışsa da bu teknik büyük miktarların hazırlanabilmesini mümkün kılacak potansiyele sahiptir.

Tripsin - deoksikolatta çözünürleştirilmiş domuz TPO'nun özellikleri şöyledir:

- Molekül ağırlığı 900.000
- A<sub>410</sub> / A<sub>280</sub> = 0.54
- Karbohidrat içeriği % 10
- izoelektrik pH = 5.75

- Km (I ), guatr Tg iyodinasyonu 0.1 mol/L
- Turnover sayısı, guatr Tg iyodinasyonu  $1.8 \cdot 10^4$  / dk
- Turnover sayısı, guaiacol'un oksidasyonu  $7.1 \cdot 10^4$  / dk

### 2.3 YAPISI VE MOLEKÜLER BİYOLOJİSİ

insan(48,54,58) domuz (59) ve sıçan (25) TPO amino asid dizisi cDNA kloning deneyleri ile açıklanmıştır.Dizi Şekil 3' de görülmektedir.Özellikle molekülün ilk üçte ikisinde yüksek homojenite gözlenmektedir.Potansiyel glikozilasyon bölgeleri görülmektedir.N-bağlı oligosakkaritlerin yeri ve özellikleri sadece domuz TPO için çalışılmıştır.Domuz TPO 'u %10 karbohidrat içerir. 4 veya 5 glikozilasyon bölgesi gerçekte glikozillenmiştir.(Asn kalıntıları 129,277,307 ve 342), oligosakkarit üniteleri yüksek-mannos tipindedir.

Şekil 4'te tabii domuz TPO'nun apikal membranda yönelmesi görülmektedir. Bu modelde Tg'nin iyodinasyonu apikal membranın luminal bölgesinde oluşmaktadır(28). IgG kaplı kolloidal altın partikülleri kullanılarak yapılan immünohistokimyasal çalışmalar bu orientasyonu desteklemektedir (82). Daha ileri çalışmalar yakın tarihlerde Foti ve ark. tarafından yapılmıştır(34). Şekil 4'te N-bağlı oligosakkaritlerin yerleşimi ve tripsinde çözünür enzimdeki kopma noktaları görülmektedir. Heme bağlanma bölgeleri disülfid ilmiğinde , 561 kalıntısının amino terminal ucunda yer almıştır(110). Kimura ve Ikeda- Saito ise hem demirine bağlı proksimal histidin 407 kalıntısında olduğunu ileri

```

MUM NDAALAVLVTLVACAEATFFPTSRKELLMGRFEEESRVSFVLESSEKLVSTANTATNOR 60
PIG NDAARAVLPTLVACAGAFFASTIARNDLGGDTLASGVACLVEASRLVDEATHNTHUR 60
RAT NDKICANAVKLVNCGTASTLPLFLRSDILOGKTYMSHVIVSVETSQLLVONAVNTHR 60

MUM NLRKRGVLSGADQLSFSKLFPEFTSGVIAAAEIMETSIDAMKRVNLTQSSQHTDALS 120
PIG NLRKRGVLSFSKLLSFKLPEFTSRTASAAEIMETAAGVEVGRVURRUCDGLPTDVL 120
RAT NLRKRGVLSFAGLLSFKLPEFTSGAISAAMIMETSIVKGRKESGFS-TDALSADIL- 120

MUM EDLISIAHNSGCLPYNLFPKPNWGLANKYRPI:TCACNNDPDPFGASNTALARKVFPV 180
PIG EDLISIAHNSGCLPYNLFPKPNWGLANKYRPI:TCACNNDPDPFGASNTALARKVFPV 180
RAT ---ATIANLSGCLPYNLFPKPNWGLANKYRPI:TCACNNDPDPFGASNTALARKVFPV 174

MUM YEDGFSOPRGNPFLYNGDFLPVREVTQVIVSNEAVTDDRYSDLLHANGQYIDHD 240
PIG YEDGVTPEPGRNPHFLYNGDFLPVREVTQVIVSNEAVTDDRYSDLLHANGQYIDHD 240
RAT YEDGFSOPRGNPFLYNGDFLPVREVTQVIVSNEAVTDDRYSDLLHANGQYIDHD 234

MUM IALTPGSTSKAAFGGSDGCHTCEGNQPCFF:QLPSEARPAAGTACLFYRSSAAGTGD 300
PIG IALTPGSTSKAAFGAGGDCGLTCEGNPCFF:QLPSEARPAAGTACLFYRSSAAGTGD 300
RAT IALTPGSTSKAAFGGSDGCHTCEGNQPCFF:QLPSEARPAAGTACLFYRSSAAGTGD 292

MUM QGALFQNLSSAMPKQCHNGLTSFLDASTVYGSPPALERQLRNMISAEGLLRVNHRLDAG 360
PIG QGALFQNLSSAMPKQCHNGLTSFLDASTVYGSPPADERQLRNMISAEGLLRVNHRLDAG 360
RAT QGALFQNLSSAMPKQCHNGLTSFLDASTVYGSPPAVERQLRNMISAEGLLRVNHRLDAG 352

MUM RAYLFPVPRAPAACAPEPGNPCEGPPCFLAGDGRASEVPLTALHTLWREHNRLLAAA 420
PIG RAYLFPVPRAPAACAPEPGTAARA-PCFLAGDGRASEVPLTALHTLWREHNRLLAAA 415
RAT RAYLFPAS-----AACAPEPGAPHNRPCFLAGDGRASEVPLAAVHTLWREHNRLLATA 408

MUM LKALNAHMSADAVYQEARUVGALHQITLTPYIPRILGPEAFQYVQYEGYDSTANFT 480
PIG LKALNAHMSADTVYQEARUVGALHQITLTPYVPRILGAEAFQYVQYEGYDPAVDPT 479
RAT LKALNAHMSANTAYQEARUVGALHQITLTPYIPRILGPEAFQYVQYEGYDSTANFT 468

VSNVSTAAFPQGHATVHPLVRLDASTGCEHPLDGLRQAFSPHTLALGGDPLTR 540
VSNVSTAAFPQGHATVHPLVRLDASTGCEHPLDGLRQAFSPHTLALGGDPLTR 538
VSNVSTAAFPQGHATVHPLVRLDASTGCEHPLDGLRQAFSPHTLALGGDPLTR 528

GLLARPARKLVYDQDPNEELTERLFLVNSSTGLAS:NLKRGKRGVLPYNEWRPFCGL 600
GLLARPARKLVYDQDPNEELTERLFLVNSSTGLAS:NLKRGKRGVLPYNEWRPFCGL 590
GLLARPARKLVYDQDPNEELTERLFLVNSSTGLAS:NLKRGKRGVLPYNEWRPFCGL 580

PRLTAPALSTASIASVADKELDLYKHPNDVWGLGAEVLPFRATCF:FLACIKG 640
PRLTAPALSTASIASVADKELDLYKHPNDVWGLGAEVLPFRATCF:FLACIKG 638
PRLTAPALSTASIASVADKELDLYKHPNDVWGLGAEVLPFRATCF:FLACIKG 648

HVALRQDQNTWENSHVTTBAQRALEKHSLSRVICNTGLTRVVDAPFVQKPFDFES 720
HVALRQDQNTWENSHVTTBAQRALEKHSLSRVICNTGLTRVVDAPFVQKPFDFES 718
HVALRQDQNTWENSHVTTBAQRALEKHSLSRVICNTGLTRVVDAPFVQKPFDFES 708

CDS:TCQNLAVRETYFDQKCFPESVQKDFVCEESGRVVLVTSRANGVLOGRQL 780
CAS:TCQNLAVRETYFDQKCFPESVQKDFVCEESGRVVLVTSRANGVLOGRQL 778
CEE:TPSHDLALVRETYFDQKCFPESVQKDFVCEESGRVVLVTSRANGVLOGRQL 768

TCTQNGWSPFPVCKDVEACALTFPCHSSAACKNTKGFQVCTDPVNLGEDEKTCID 828
TCTQNGWSPFPVCKDVEACALTFPCHSSAACKNTKGFQVCTDPVNLGEDEKTCID 840
TCTQNGWSPFPVCKDVEACALTFPCHSSAACKNTKGFQVCTDPVNLGEDEKTCID 838
TCTQNGWSPFPVCKDVEACALTFPCHSSAACKNTKGFQVCTDPVNLGEDEKTCID 828

SGRLPRAVWISLSLAALLIGGAGLSTVICRMTGKSTLP:ISETGG--GTFELR--- 895
AGRLPRAVWISLSLAALLIGGAGLSTVICRMTGKSTLP:ISETGG--GTFELR--- 898
SGRLPRAVWISLSLAALLIGGAGLSTVICRMTGKSTLP:ISETGG--GTFELR--- 881

CGKHQAVGTSPPRAAAQDSQESAGHGRDTHRLRAL 933
CGNRDVGAAAPALEVQDLSG---GSR-GLCE 926
FRKHQESQ:SPQKAVYQAEQDFAYGSRVLLCE 914

```

Şekil 3 . İnsan, domuz ve sıçan tiroid peroksidaz amino asid dizisi (119).

Şekil 4 . Domuz tiroid peroksidazın apikal membranda orientasyonu, N-bağlı oligosakkaritlerin yerleşimi ve kopma noktalarını gösteren basit model (119).

sürmüştür

(47).

Kimura ve ark. iki tip insan TPO cDNA'sı bulmuşlardır (49). En uzun cDNA 933 amino asitten oluşmuş insan TPO-1 olarak tanımlanmıştır (şekil 3). Kısa cDNA 57 aminoasitten oluşmuştur ve TPO -2 olarak bilinir. Son zamanlarda Elisei ve arkadaşları TPO-2'nin normal tiroid dokusunda bulunduğunu ileri sürmüşlerdir (29). Libert ve ark TPO ve myeloperoksidaz arasındaki oluşum benzerliklerini incelediler (53). TPO'nun ilk 735 aa'nin esas yapısının insan myeloperoksidazla %42 oranında homolog olduğunu gösterdiler. TPO'nun C-terminal uzantısının 197 aa kalıntısı bulundurduğunu ileri sürdüler. Bu uzantı 848-871 aa arasında membran bağlanma bölgesi içerir ve kısa bölgeler EGF-LDL reseptör ailesi ve C<sub>46</sub> - B<sub>2</sub>-glikoprotein ile homoloji gösterir. Ayrıca 510'dan 567'e kadar olan sıralanışta TPO, mitokondrial genomda şifrelenmiş polipeptid olan sitokrom C oksidaz ile belirgin homologdur. Bu gözlemlere dayanarak Libert ve ark. TPO'nun mozaik proteinin yeni bir çeşidinin örneği olabileceğini ileri sürdüler (53).

## 2.4 İYODİNASYON MEKANİZMASI

Yüksek oranda saflaştırılmış TPO iyodinasyon ve kupling reaksiyonlarını katalizler, bu nedenle bu iki aktivitenin de aynı enzim tarafından düzenlendiği düşünülebilir. Laktoperoksidaz (LPO) da her iki reaksiyonun katalizörüdür (109). TPO ve LPO Fe<sup>3+</sup> şeklinde hem demiri bulundurur. Tabii bunun dışında iki oksidasyon seviyesi daha vardır.

Fakat tam olarak tanımlanamamıştır. TPO'nun Enzim 1'i FeIV-porfirin  $\pi$  katyon radikali ( $R \pi^- -Fe IV-O.$ ) olarak gösterilmiştir. Bunun bir elektron indirgenmiş şekli Enzim 2' dir. Doğal durum bir üstündeki oksidasyon seviyesindedir. R-Fe IV-O. olarak belirtilir.

## 2.5 SERBEST RADİKAL MEKANİZMASI

Bu mekanizma önceleri Yip ve Hadley (125) tarafından ileri sürülmüş sonraları Nunez tarafından ayrıntılı olarak incelenmiştir(85,92). Nunez TPO'nun okside formu üzerinde (Enzim 1)  $I^-$  'ü diğeri tirozini (veya tirozil) tercih eden iki substrat bölgesi olduğunu söylemiştir. Her iki substrat serbest radikaller vererek bir monoelektron oksidasyona uğrar. Bunlar üçlü komplekste hala enzime bağlı iken radikal birleşmeye uğrar ve ürün (MIT) enzimden ayrılır. Aynı zamanda MIT enzime bağlıyken kendi kendine monoelektron oksidasyona uğrayabilir ve böylece oluşan MIT radikali  $I^-$  ile reaksiyona girerek DIT'i oluşturabilir. Yüksek  $I^-$  konsantrasyonlarında  $I^-$  TPO üzerindeki ikinci alan için tirozin ile yarışır ve birleşerek  $I_2$  formunu oluşturan iki  $I^-$  radikalini meydana getirir.

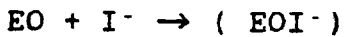
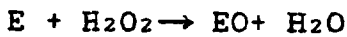
Peroksidaz katalizli reaksiyonların sıklıkla bir serbest radikal mekanizması üzerinden olduğu söylenebilir. Peroksit katalizli iyodür oksidasyonun iki elektronlu reaksiyon olduğuna, Pommierin söylediği gibi radikal reaksiyonu olmadığına dair bilgiler mevcuttur (124).

## 2.6 İYODİNASYON VASITASI OLARAK I<sup>•</sup>

I<sup>-</sup> 2 e<sup>-</sup> vererek iodyum (I<sup>•</sup>) iyonunu oluşturur. İlk kez Morris ve Hager (66), Maloof ve Soodak (62) tarafından TPO-I<sup>•</sup>'ın tiourasil ve tioure gibi ilaçların antitiroid etkilerini açıklamak için iyodinasyon şekli olduğunu ileri sürmüşlerdir. Yakın tarihlerde de Ohtaki ve ark.ı I<sup>•</sup>'nın hem TPO hemde LPO katalizli iyodinasyonda vasıta olduğunu ifade eden görüşün kinetik kanıtını ortaya koymuşlardır. Çalışmalarında iyot ile TPO'nun Enzim I'i arasındaki reaksiyonun iki elektron transferi gerektirdiği ve bu iyodinasyon reaksiyonunda TPO- I<sup>•</sup>'nın aracı olacağı sonucuna varmışlardır. Ayrıca tirozinin TPO-katalizli oksidasyonunun 2 e<sup>-</sup> oksidasyonu gerektirdiğini ifade etmişlerdir (88). Bu görüşler Nunez ve Pommier tarafından ileri sürülen serbest radikal mekanizmasına uymamaktadır.

## 2.7 İYODİNASYON VASITASI OLARAK HİPOİYODİT

Taurog ve ark.(61) TPO ve LPO'nun düşük I<sup>-</sup> konsantrasyonlarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 'i katalitik olarak parçaladığını görmüşlerdir. Bu gözlem H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile reaksiyona girip O<sub>2</sub> veren hipoiyodit aracısının varlığını göstermektedir. Şu reaksiyonlar ileri sürülmüştür.





TPO'nun Enzim 1 şekli ve LPO (EO olarak ifade edilir)  $H_2O_2$ 'den türemiş oksijen atomu ihtiva ederler. İlk defa Marison ve Schonbaum (67) enzime bağlı hipoyodoz asidin (HIO) peroksidaz katalizli iyodinasyonlarda aracı olduğunu düşünmüşlerdir. Hipoyodoz asidin varlığı Dunford ve Ralston (26) tarafından da gösterilmiştir. Peroksidaz katalizli halojenizasyon mekanizması üzerinde en kapsamlı çalışmalar klorperoksidazla Libby ve ark.1 tarafından yapılmıştır. Bu çalışma klorinasyon ve brominasyon içeriyordu (52). Enzim hipoholite kompleksi içeren halojen alıcı substrat ile klorperoksidazın reaksiyonu için bir şema ileri sürmüşlerdir.

Hipoyoditteki iyodun oksidasyon durumu  $I^+$  ile aynıdır.  $I^-$ 'nin hipoyodite oksidasyonu  $2e^-$  değişimi ile olur. Bu yüzden hipoyodit veya hipoyodoz asit araçlarının olabirirliği yukarda bahsedilen Ohtaki ve ark.nın gözlemleri ile tutarsız değildir. Fakat Nunez ve Pommier'in ileri sürdüğü serbest radikal mekanizması ile uyumlu değildir.

Peroksidaz katalizli iyodinasyonla çalışmış birçok araştırmacı iyodinasyonun enzim üzerinde olduğuna inanmaktadır. Bu alıcı (tirozin veya tirozil kalıntısı) için enzim üzerinde özel bir yerin olduğunu ima etmektedir. Enzime bağlı aracı için destekleyici bilgi rapor edilirken kanıt kesin değildir(24). Taurog'da çalışmalarında (61) iyot ihtiva eden reaksiyonlarda (tiyoürilen ilaçların oksidasyonu,  $H_2O_2$ 'nin katalitik indirgenmesi, iyodürün oksidasyonu) ve iyodinasyonlarda enzimin aracı olarak serbest hipoyodoz asid ( HIO ) ürettiğini görmüştür (61).

## 2.8 TİROİDDE H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ÜRETİMİ

Safılaştırılmış TPO içeren invitro model sistemlerin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e mutlaka ihtiyaçları vardır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> olmadan TPO hiçbir aktivite gösteremez. Bu yüzden tiroid hormonu sentezinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin çok önemli rol oynadığı muhtemeldir ve hız kısıtlayıcı basamak da olabilir.

Safılaştırılmış TPO ile yapılan çalışmalarda H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> genellikle glukoz - glukoz oksidaz sistemi ile oluşturulmaktadır. Glukoz oksidaz indirgenmiş formu O<sub>2</sub> ile direk reaksiyona girerek H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşturan bir flavoenzimdir. Glukoz oksidaz bir memeli enzimi değildir. Araştırıcılar tiroidde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynağı olarak otookside olabilir başka bir flavooksidaz araştırmaktadır. Tiramini substrat olarak kullanan bir monoamin oksidaz teklif edilmiştir (32) fakat bu ihtimal henüz ispatlanmamıştır (89).

Tiroidde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimini en iyi açıklayan teori indirgenmiş piridin nükleotidlerin flavoprotein sitokrom redüktaz ile iftleştiğini ifade eder. Bu tiroid preperasyonlarındaki iyodinasyonun NADPH ve flavinnkleotid eklenmesi ile stimüle olması gözlemine dayanır (21,103). Flavo protein enzim NADPH - sitokrom C redüktaz tiroidde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> retimi için metabolik yolun bir parçası olarak ileri sürülmüştür (69,105). Çünkü bu enzimin O<sub>2</sub> ile direk olarak etkileşmediği düşünülmektedir ve bazı diğer otookside olan elementler redüktaz ile O<sub>2</sub> arasına girmelidir. Vit. K<sub>3</sub>'n

tiroidde böyle bir rol oynayabileceği düşünülmüştür (105). Vit K<sub>3</sub> ve diğer naftokinonların varlığında O<sub>2</sub> ile NADPH'ın oksidasyonunu katalize eden H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşturan flavo protein sıçan karaciğer mikrozomlarından saflaştırılmıştır (83). NADPH - sitokrom C redüktaz tiroid iyodinasyon reaksiyonlarında gereklidir. Yamamoto ve DeGroot (122) tiroid mikrozomal preperasyonlarındaki iyodinasyonun karaciğer NADPH -sitokrom C redüktaza karşı üretilen antikor tarafından kısmen inhibe edildiği gözlemiştir. Antikor NADPH ile stimüle edilen iyodinasyonu önemli ölçüde inhibe etmiştir fakat NADH bağımlı iyodinasyon üzerine etkisi olmamıştır. Oktaki ve ark.1 domuz tiroid mikrozomal preperasyonlarında yaptıkları çalışmalarda sadece NADH ilave edildiğinde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumunu görmüşlerdir.

Sitokrom b<sub>5</sub> vasıtası ile NADH 'tan O<sub>2</sub>'ye olan oksidatif yol: NADH → flavoprotein → sitokrom b<sub>5</sub> → O<sub>2</sub> şeklinde gösterilmiştir. Böyle bir şemada muhtemelen sitokrom b<sub>5</sub> oksijeni H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> olacak şekilde indirger. Süper oksit anyonunun oluşumuna dair hiçbir delil görülmemiştir. İndirgenmiş oksijenin % 40'1 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e çevrilmiştir. Oktaki ve ark.ları çalışmasında (87) NADPH'ın domuz mikrozomlarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimini stimüle ettiğini ve bunun NADH tarafından üretilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e eklendiğini gözlemişlerdir. Bu araştırmada aynı elektron alıcısı sitokrom b<sub>5</sub> ile reaksiyona giren iki farklı flavoprotein redüktaza ihtiyaç olduğu görülmüştür.

Bjorkman ve ark.(8) çalışmalarında H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin tiroid folliküler hücrelerinin apikal hücre yüzeyi üzerinde

indirgenmiş piridin nükleotidlerinin oksidasyonunu içeren bir metabolik yolla olduğunu söylemişlerdir.  $H_2O_2$  salınımı ionofor A23187  $Ca^{2+}$  ihtiva eden ortama eklendiğinde yaklaşık on kat artmıştır. TSH akut fakat daha zayıf bir stimülasyona sebep olmuştur, fakat dibütiril cAMP'nin etkisi olmamıştır. Bu yüzden TSH'nın  $H_2O_2$  oluşumu üzerindeki stimülasyonu adenil siklazdan daha çok  $Ca^{2+}$ 'ya bağlanmıştır. Apikal membranda  $H_2O_2$  üretiminde NAD(P)H gerektiği görülmektedir. İyodinasyonun stimülasyonu  $H_2O_2$  üretim hızı ve eksositoz hızının artışı ile ilgilidir.  $H_2O$  üretimi  $Ca^{2+}$  bağımlıdır ve eksositoz cAMP ile düzenlenir. TSH düşük konsantrasyonlarda sadece eksositozu, yüksek konsantrasyonlarda ise her iki prosesi de stimüle eder. Sığır tiroidinde TSH fosfatidilinozitol metabolizmasını değiştirerek sitozolik serbest kalsiyumu arttırır, protein kinaz -C'nin aktivasyonunu sağlar (55). Bu proses TSH'ya bağımlı  $H_2O_2$  üretiminin artışını gerektirir.

## 2.9 TİROİDDE İYODİNASYONUN YERİ

Işık(68) veya elektron mikroskobu (28) ile elde edilen otoradyografik bulgular tiroglobülünün iyodinasyonunun apikal membrana çok yakın olan hücre kolloid ara yüzünde olduğunu göstermektedir.  $I_{131}$  veya  $I_{125}$ 'in injeksiyonundan sonra çok kısa aralıklarla (40sn veya daha az) radyoaktivite kolloidin periferinde, folliküler hücrelerin apikal yüzünde lokalize olmaktadır. 10 mCi  $I_{125}$ 'in i.v. injeksiyonundan sonra 40 sn

içinde fikse edilen sıçan tiroid dokusunda Ekholm ve Wollman (28) elektron mikroskopik otoradyografların gümüş taneciklerinin folliküler lümen üzerinde biriktiklerini görmüşlerdir ( genellikle apikal membrana yakın tanecik zinciri şeklinde ). Hücre içi organellerle birleşmiş hiçbir gümüş tanecik görülmemiştir. Buradan tiroglobülin iyodinasyonunun muhtemelen follikül hücrelerinin apikal yüzeyine yakın follikül lümeni içinde olduğu sonucuna varılmıştır. Apikal membranın bu bölgesindeki iyodinasyonlar, tiroid peroksidazın membrandaki histokimyasal lokalizasyonuna uymaktadır. Aynı zamanda apikal membran fragmanlarının peroksidaz bağımlı iyodinasyon aktivitesi zenginliği ile de uyumludur(7). İyodinasyonun hücre- kolloid yüzeyi arasında kısıtlanmasının sebebi tiroid içinde Tg olmayan hücre içi proteinlerinin istenmeyen iyodinasyonunu en aza indirmek mekanizmasıdır.

Otoradyografi yalnız işaretli iyodür ile olan iyodinasyonun yerini belirler. Kısa dönemli deneylerde bu yalnızca henüz hücre içine transporta olan iyodüre uygulanabilir. Eğer bazı araştırmacıların söylediği gibi tiroide transporta olan iyod ile hızlı dengede olmayan ikinci bir havuz varsa ikinci havuz iyodürü radyoaktif iyodürün injeksiyonundan sonra erken sürede işaretlemiyebilir. İkinci havuz iyodürünü içeren iyodinasyon bu yüzden otoradyografi ile kolayca belirlenemiyebilir. Otoradyografik sonuçlar iyodinasyonun hücre içi yerlerine ait kanıtlar sağlasa bile bu ihtimali tamamiyle dışlamamaktadır. Yeni çalışmalar iki

havuz hipotezine karşı çıkmaktadır. Tice ve Wollman (114) Tg iyodinasyonunda 4 ayrı bileşiğin (TPO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, iyodür ve Tg) çok yakın ilişki içinde olduğunu söylemişlerdir. Apikal membran da bu iş için en uygun yerdir.

Tiroid follikülü içindeki TPO'nun histokimyasal lokalizasyonu da iyodinasyon yeri hakkında bilgi vermektedir. Çeşitli araştırma grupları histokimyasal metodlarla TPO'yu boyayarak göstermişlerdir. Pürtüklü endoplazmik retikulum, nükleer zarf, golgi aygıtı, lateral ve apikal veziküller ve apikal hücre yüzeyi gibi çeşitli yerlerdeki boyanma materyalleri varlığı mikrovilli ile apikal membranın Tg'nin iyodinasyon yeri olduğu görüşünü desteklemektedir. Diğer yerlerdeki çok yayılmış lokalizasyonun apikal hücre yüzeyindeki etki yerine transport için pürtüklü endoplazmik retikuluma üretilen protein için olması beklenebilir. Fakat bazı yerlerde kalan boyalı materyalin tiroid peroksidazdan başka hemoproteinleri göstermiş olması da mümkündür. Bugün birçok kanıtlar iyodinasyonun invivo olarak hücre-lümen ara yüzünde olduğunu göstermektedir.

## 2.10 İYODİNASYON DEFEKTLERİ

Tiroidde defektif iyodinasyona bağlanabilen birçok konjenital guatrlı hipotirodili hasta tanımlanmıştır. Defekt pozitif kovma testi ile karakterizedir ( perklorat veya tiyosiyanat verilmesi ile aniden kovulan  $I^{131}$  veya  $I^{125}$  oranını ölçen diagnostik test). Niepomniszcze ve ark (22,80) göre en az 3 tane iyodinasyon defekti alt grupları vardır.

- 1- Tam veya tama yakın  $I^{131}$  kovması ile guatrlı kretenizm
- 2- guatrlı pendred sendromu, sağırılık, mutizm, kısmi  $I^{131}$  kovulması
- 3- Guatr, pozitif perklorat kovması, ötiroidizm, normal işitme kombinasyonu

Tiroid peroksidazın yokluğu ile guatrlı kretenizm ilişkisi bu enzimin fizyolojik rolüne destek verir. Pendred sendromunda defekt bilinmemektedir. Genelde bu hastalar ötiroiddirler ve bugüne kadar tiroid peroksidaz seviyesi normal olan iki vaka tanımlanmıştır. Buyüzden peroksidaz eksikliğinde başka mekanizmalar bu sendromdan sorumlu olabilir.  $H_2O_2$  oluşumunda bir defekt söz konusu olabilir. Pendred sendromunda defektif bir tiroid peroksidaz da tanımlanmıştır (80,81) apoenzimin protein yapısında genetik değişikliklerin oluştuğunu bunun da hem prostetik grubuna bağlanması engellediğini ileri sürmüşlerdir. Fakat bu hastalar ötiroid olduğu için invivo olarak bazı apoenzimlerin normal olmayan prostetik gruba bağlandığını , bunun ötiroidiyi sağlamakta yeterli olduğunu

varsaymışlardır.

Pommier ve ark (93) yukarıdaki kategorilerin hiçbirine uymayan bir iyodinasyon defekti tanımlamışlardır. Bu hastadan alınan çözünür tiroid peroksidazın aktivitesini domuz peroksidazı aktivitesi ile karşılaştırmışlar ve hastanın peroksidazının iyodinasyonu katalizlemede domuzunkinden daha az aktif olduğunu görmüşlerdir. Fakat  $T_4$  formasyonunu yürütmede 3-6 kez daha etkilidir. Kuplingi yürütmedeki azalmış aktivitenin enzimin bazı yapısal modifikasyonlarının sonucu olduğunu varsaymışlardır.

Medeiros-Neto ve ark (64) tarafından incelenen bir aile yukarıdaki grupların hiçbirine tam olarak uymamaktaydı. Anne ve babalar birinci dereceden kuzendiler, 13 çocuktan 5'i guatrlı ve konjenital hipotiroidililiydiler. Biri hariç hepsinde perklorat kovma testi pozitif idi. Üçünden tiroid dokusu alınmış, peroksidaz birinde normal, diğer ikisinde hafifçe yükselmiş bulundu. Tiroglobülinleri normaldi. Bu ailede tiroid  $H_2O_2$  oluşumundaki bir defekt veya sitokimyasal bir defekte bağlı olduğu kanısına varıldı. Niepomniszcze ve ark'nın ileri sürdüğü gibi (79) normal iyodinasyon ve kupling için gereken bileşikler ( peroksidaz,  $Tg, H_2O_2, I^-$  ) arasındaki ilişki bu defektler nedeni ile bozulabilir. Kanıt muhtemelen resesif geni içeren genetik defekti önermektedir.



## 2.11 İYODOTİRONİN OLUŞUM MEKANİZMASI

Diiyodotirozinin (DİT) T<sub>4</sub>'ün biyolojik prekürsörü olduğu fikri ilk kez 1927'de Harington ve Barger (39) tarafından öne sürülmüştür. T<sub>4</sub> oluşturmak için 2 DİT molekülünün kuplingi için mekanizma ilk olarak 1942 yılında Johnson ve Tewkesbury tarafından ileri sürülmüş (46) daha sonra Harington (38) tarafından geliştirilmiştir. Çalışmalar peptid bağlı DİT'in T<sub>4</sub>'ün prekürsörü olabileceğini ve 2 DİT molekülünün kuplinginin tiroglobülinin içinde olduğunu göstermiştir. Bu şimdi "intramoleküler kupling" olarak tanımlanmaktadır. T<sub>4</sub> oluşumunun *invivo* olarak intramoleküler veya intermoleküler kuplingi içerdiği kesin olarak bilinmemektedir. Son yıllardaki çalışmalar intramoleküler modeli öne sürmektedir (85).

## 2.12 KUPLİNG REAKSİYONUNDA TPO'IN KATALİTİK ROLÜ

T<sub>4</sub>'ün nonenzimatik olarak tiroglobülinin ve diğer proteinlerin iyodinasyonu ile oluştuğu bilinmektedir (51). Bu da TPO'nun kupling reaksiyonunda direk katalitik rol oynadığı veya kupling reaksiyonu için yalnız DİT prekürsörlerini sağlamakta hizmet ettiği sonucunu çıkarmaktadır.

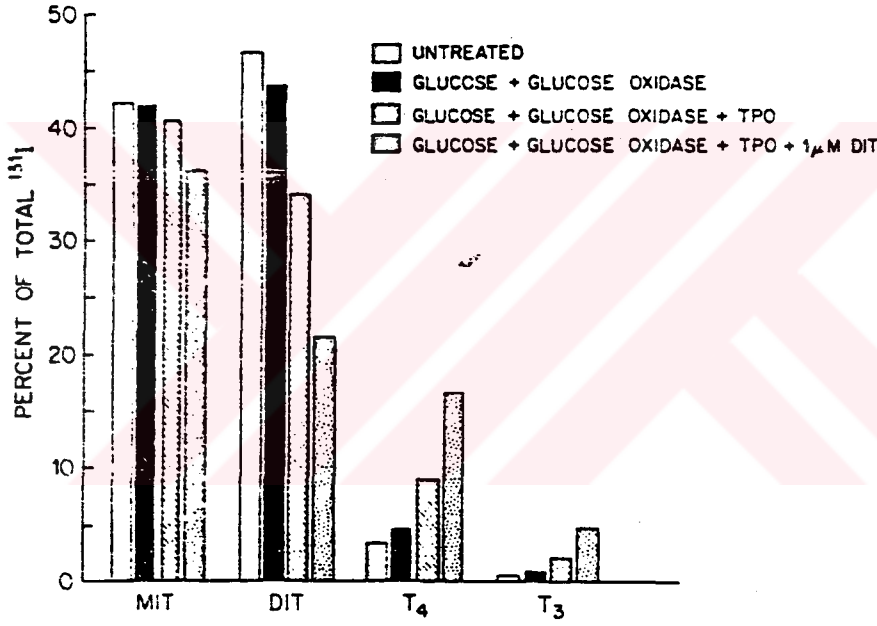
Kupling reaksiyonunda TPO'nun katalitik rolü Taurog'ın laboratuvarında (51) yapılan 2 çeşit deneyle kanıtlanmıştır. Kimyasal ve enzimatik iyodinasyonların karşılaştırıldığı bir seri de her iki işlemle iyodine edilmiş tiroglobülinde MIT ve

DiT oluşumunun mukayese edilebilir olduğunu, fakat enzimatik elde edilen T<sub>4</sub>'ün kimyasal olana göre daha etkili olduğunu görmüştür. TPO'nun kupling reaksiyonunda katalitik rol aldığı hakkında daha iyi kanıt işaretlenmiş tiroglobülinin kuplinginin izlenmesi ile ortaya koyulmuştur. Böyle bir deneyin neticeleri şekil 5'te görülmektedir. İşaretli tiroglobülin TPO ve glukoz-glukoz oksidaz ile inkübe edildiğinde işaretli T<sub>3</sub> ve T<sub>4</sub> miktarı artmaktadır. Bu artış tiroglobülinin iyodinasyon seviyesindeki değişikliğe mal edilemez. Çünkü iyodinasyon sistemine karşıt olarak kupling sistemi eklenmiş I<sup>-</sup> içermez. Daha da fazla olarak işaretli T<sub>4</sub> ve T<sub>3</sub>'teki artış işaretli DiT'te buna uyan bir düşüş ile beraber olmuştur. Bu sonuçlar tiroid peroksidazın kupling reaksiyonunu kendiliğinden katalizlediğini ve yalnızca T<sub>4</sub> ve T<sub>3</sub>'ün prekürsörlerinin oluşumunu katalizlemek için hizmet etmediği hakkında inandırıcı kanıtlar sağlamıştır.

Şekil 5'te serbest DiT'in (1 µM) kupling sisteminde T<sub>4</sub> ve T<sub>3</sub>'ün her ikisinin de stimülasyonunda çok etkili olduğu söylenebilir. C<sup>14</sup>-DiT ile yapılan deneylerde eklenen serbest DiT'in kendi kendine iyodotirozinlere değişmediğini göstermiştir. Bu yüzden bunun etki şekli tiroglobülin polipeptidindeki daha önce oluşmuş iyodotirozil kalıntılarını içeren intramoleküler kuplingin stimülasyonu ile olmalıdır. Bu etkinin mekanizması hala araştırılmaktadır.

Nunez ve ark'ı (23) DiT'in kupling üzerindeki stimülasyon etkisinin DiT'in TPO üzerindeki regülatör

etkisini içerebileceğini önermişlerdir. Taurog bu görüşe uymayan gözlemler yayınlamıştır. Daha yakın bir zamanda Nunez ve ark'ı (107) serbest DiT'in kuplingin stimülatörü olarak davrandığı zaman okside olduğunu ve okside formun elektron transferini peptid bağlı DiT'den TPO'daki heme transferini kolaylaştırdığını rapor etmişlerdir.



Şekil 5. Tiroid peroksidazın kupling reaksiyonuna etkisi (119).

### 2.13 TİROİD PEROKSİDAZIN SPESİFİSİTESİ

Laktoperoksidaz iyodinasyon için etkili bir katalizördür. Taurog'un çalışmalarında (109) TPO ve LPO'nun protein iyodinasyonu katalizleyebilme ve T<sub>4</sub> oluşturabilme yetenekleri karşılaştırılmış, TPO'nun iyodinasyon ve kuplingi katalizleme yeteneğinde belirli bir spesifisiteye sahip olmadığı (fizyolojik sınırlardaki iyodür konsantrasyonunda Tg'nin iyodinasyonunun katalizlenmesinde TPO'nun LPO'ya göre çok daha az oranda üstün olmasına rağmen) sonucuna varılmıştır. Fakat saflaştırılmış TPO ile elde edilen sonuçların invivo olarak önemli olan faktörleri yansıtmadığı hatırlanmalıdır. Invivo fonksiyon için TPO'nun LPO'ya göre avantajları olabilir.

Deme ve ark (24) da TPO ve LPO'ı karşılaştırmışlar ve pH = 7.4'te her ikisinin de T<sub>4</sub> ve T<sub>3</sub> oluşturmada aynı oranda etkili olduğunu görmüşlerdir. Fakat pH = 6.6'ya düşürüldüğünde TPO'nun LPO'ya göre daha etkili olduğunu bulmuşlar, iyodinasyona giren tiroglobülünün tirozin kalıntılarının seçiminde TPO'nun önemli rol oynadığı, iyodinasyondan sonra birleşerek T<sub>4</sub> ve T<sub>3</sub> oluşturabildikleri sonucuna varmışlardır.

## 2.14 KUPLİNG REAKSİYONUNUN MEKANİZMASI

### A. INTRAMOLEKÜLER KUPLİNG

TPO katalizli iyodinasyon ile elde edilmiş hipotetik bir kupling şeması şekil 1'de gösterilmiştir. Kupling reaksiyonu serbest DiT'in serbest T<sub>4</sub>'e dönüşümü olarak görülmektedir.

Fakat bugün iyodinasyon ve kuplingin Tg molekülü içinde olduğu kesindir. Mekanizmada 2 temel fikir bulunmaktadır.

1- Serbest DiT radikalleri TPO etkisi ile protein matriksi içinde olmaktadır.

2- İki DiT radikali protein matriksinde kinol eter ara maddesi oluşturmak üzere birleşirler. Kinol eterin T<sub>4</sub>'ü

oluşturmak için bölünmesi teorik olarak dehidroalanin veya serin kalıntısının oluşumu ile olabilir. Olay peptid bağı kırılmadan oluşur. Yakın zamanlarda Gavaret ve ark (38) dehidroalanin kalıntılarının hormon kalıntıları ile molar oranları 1 olacak şekilde Tg içinde oluştuğunu göstermişlerdir. Bu da hidroalaninin kupling reaksiyonu sırasında dışarı çıkarılan alanin yan zincirinin son ürünü olduğunu gösterir. Yine aynı araştırmacılar kupling için gösterilen radikal mekanizmaya alternatif ileri sürmüşlerdir. Fikir hidroksialanin kalıntılarının , hormon kalıntılarına ekivalan miktarda tiroglobülinin enzimatik veya nonenzimatik iyodinasyonu ile oluşması gözlemine dayanmaktadır. Yük transfer kompleksinin iki kupling partneri arasında

oluşabileceğini ileri sürmüşlerdir. " Zwitterion- biradical rezonans hibrit " olarak tarif edilen kompleks kinol-eter ara ürününün prekürsörü olabilir.

#### B. İNTERMÖLÖKÜLER KUPLİNG

invivo olarak T<sub>4</sub> oluşumu için ileri sürülen diğer bir mekanizma DIT'in pirüvik asit analogu 3,5 -diiodo, 4 hidroksi fenil pirüvik asid ( DIHPPA) ile tiroglobülindeki DIT kalıntıları arasındaki intermoleküler kuplingi içerir. Uygun oksidasyon şartlarında bu reaksiyon kolaylıkla olur. Radyoiodo verildikten sonra sıçan tiroidinde küçük miktarda DIHPPA belirlenmiştir. Blasi ve ark (10) tirozin transaminaz ile katalizlenmiş reaksiyonda DIHPPA'nın serbest DIT'den oluştuğunu ileri sürmüşlerdir. Tiroidde ( ve diğer dokularda) yer alan bir tautomeraz daha sonra DIHPPA'yı enol formuna dönüştürmektedir. Enol formu daha sonra H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve TPO ile hidroperokside okside olduğu Cahnmann ve ark tarafından gösterilmiştir (84). Hidroperoksid DIT'le hemen kupling yapan aktif formu oluşturur. Böylece Blasi ve ark' (10) nın intermoleküler şemasında TPO anahtar rol oynamaktadır.

## 2.15 KUPLİNG DEFEKTLERİ

Tanımlanmış ailevi guatr tipleri arasından biri kupling defekti olarak tanımlanmıştır. Bu durumda inaktif veya olmayan spesifik bir enzim varlığı olmalıdır. Fakat Stanbury (104) kupling defektinin spesifik veya tek bir defekt olmadığını ve bir enzim eksikliğini ima etmesi gerektirmediğini söylemiştir.

Inoue ve Taurog (44) büyük iyod eksikliğinde sıçanlarda kupling defekti tanımlamışlardır. DIT'in T<sub>4</sub>'e moleküler oranını kupling etkinliğinin ölçüsü olarak sunmuşlardır. Bu oran büyük iyod eksikliğinde azalmıştır. Nisbeten düşük iyod alımı ile yeniden düzelir. Şiddetli iyod eksikliğinde kupling etkinliğindeki azalmayı tiroglobülinin çok düşük derecedeki iyodinasyonuna bağlamışlardır. Az oranda iyodlanmış tiroglobülin her protein molekülü başına birkaç iyodotirozin molekülü ihtiva etmez. Fakat DIT olarak gösterilen oran önemli ölçüde düşer. Çünkü DIT T<sub>4</sub>'ün prekürsörüdür, bunun T<sub>4</sub> kupling reaksiyonu ihtimalini düşürmesi beklenir.

Ermans ve ark (31) nontoksik guatrlı hastalarda benzer bulgular rapor etmiştir. Nontoksik guatrlı hastaların tiroglobülinlerinin iyodinasyon seviyeleri ortalamalarının yalnızca %0.06'sı olduğunu görmüşlerdir. Normallerde ise %0.23 olarak bulunmuştur. Tiroglobülinin iyodinasyon seviyesi %0.1'in altına düştüğünde T<sub>4</sub>'te önemli düşüşler görülmüştür. Bu hastalarda iyodinasyon seviyelerinin düşüş nedenleri bilinmemektedir. Ermans Tg'nin düşmüş iyodinasyon

seviyesinde T<sub>4</sub> oluşumunun ikincil olduğu kanaatine varmıştır.

Azalan kupling etkinliği ile sonuçlandığı bilinen diğer durum hipofizektomidir. Rosenberg ve Cavalieri (101) hipofizektomize sıçanlardan alınan Tg'nin normallere göre 0.01 N NH<sub>4</sub>OH içindeki disosiyasyona daha hassas olduğunu görmüştür. Bunun TSH yokluğunda sentezlenen Tg'nin düşük derecede iyodinasyonundan olduğunu ileri sürmüşler, hipofizektomize sıçanlarda düşük kupling etkinliğini proteinin düşük derecedeki iyodinasyonuna bağlamışlardır.

Riesco ve ark (98) Tg sentezi defektli bir hasta tanımlamışlardır. Hastaya I<sup>125</sup> verildikten 48 saat sonra tiroid normal MIT/DIT oranı göstermiş, fakat iyodotirozinler için çok düşük değerler görülmüştür. Bu hastada kupling defektinin Tg dışı proteinlerin iyodinasyonunu gösterdiğini ileri sürmüşlerdir.

## 2.16 İYOD YETERSİZLİĞİNİN ETKİLERİ

Sıçanlarda yetersiz iyotlu(Remington diyeti) beslenmenin etkileri :

- 1- Tiroid iyodunun azalması
- 2- Tiroidin büyümesi
- 3- Serum T<sub>4</sub>'de düşme
- 4- Serum TSH'sında artma
- 5- Tg'nin iyodinasyon derecesinde azalma
- 6- Tiroid MIT/DIT oranında artma
- 7- Tiroid T<sub>3</sub> /T<sub>4</sub>'ünde artma



Şiddetli iyod eksikliğinde azalabilmesine rağmen serum T<sub>3</sub>'ü T<sub>4</sub>'den çok daha az etkilenir.

Şiddetli ve orta dereceli yetersiz iyodlu diyetlerin her ikisi de tiroidin büyümesine, tiroide iyod konsantrasyonunun düşmesine, MIT/DIT oranının artmasına, T<sub>4</sub> /T<sub>3</sub> 'te artmaya ve serum T<sub>4</sub>'de düşmeye neden olmuştur.

Fakat şiddetli iyod yetersizliği olan diyetlerdeki etkiler bütün parametrelerde çok daha fazladır. Tiroide I<sup>131</sup> - T<sub>4</sub> yüzdesi şiddetli ve orta derecede iyod yetersizliklerinde karşıt etkilere sahiptir. Şiddetli iyod yetersizliğinde önemli düşme yapar, orta derecede iyod yetersizliğinde ise az bir yükselme sağlar.

Şiddetli iyod eksikliği olan sıçanlarda T<sub>4</sub> belirlenemeyecek seviyelere düşer fakat orta derecede yetersizliklerde normalin yarısı kadardır. Diğer taraftan T<sub>3</sub> iyod yetersizliği görülen grupta normal kalmıştır. Bazı deneylerde ise (90,91) serum T<sub>3</sub> seviyesinin düştüğü görülmüştür. Taurog'un yaptığı sıçan çalışmalarında (98) vücut büyümesini sağlayan katkıların özellikle az olduğu bir diyet iyod yetersizliğinin ani bulgularına neden olmaz. Yalnızca uzun süreli beslenmeden sonra(3 ay) bu diyetteki sıçanlar şiddetli iyod eksikliği bulguları gösterir. İyodu eksik remington diyetine cevapta rol oynadığı görülen diğer bir faktör sıçanın "nesli" dir. Bazı nesiller çabuk cevap verirken diğerleri yavaş cevap verir. Bu çalışmalar insanların iyod yetersizliğine değişik cevaplarını anlamada önemlidir. Endemik guatr alanlarında insanların iyod yetersizliğine verdikleri değişik cevaplarda

herediter ve beslenme faktörlerinin olduğu söylenebilir.

Şiddetli iyod yetersizliğindeki sıçanların majör adaptasyonu T<sub>4</sub>'den T<sub>3</sub> oluşumuna kaymadır. Normal iyodla beslenen sıçanlarda sirkülasyondaki T<sub>3</sub>'ün çoğu periferde T<sub>4</sub>'ün T<sub>3</sub> 'e dönüşmesi ile oluşur. Bunun yanında şiddetli iyod yetersizliğinde periferdeki T<sub>3</sub>'ün çoğu periferde T<sub>4</sub>'ün T<sub>3</sub>'e dönüşmesi ile oluşur. Bunun yanında şiddetli iyod yetersizliğinde periferdeki T<sub>3</sub>'ün çoğu direkt tiroidden oluştuğu görülmektedir. Şiddetli iyod eksikliğindeki sıçanların ötiroid olması şaşırtıcıdır. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada şiddetli iyod eksikliğinde sıçanın tiroid durumu istirahat metabolik hızı ve karaciğer mitokondrial gliserofosfat dehidrogenaz ölçümü yapılarak tayin edilmiştir. Tiroid fonksiyonlarının bu iki indeksi sıçanlarda önemli ölçüde azalmıştır. (54 günlük iyod eksikliğinde) hipotiroid durum serum T<sub>3</sub>'ünde önemli bir düşüş ile birlikte. Bu yüzden muhtemelen kompanse edici mekanizmalar (artmış TSH stimülasyonu ve tiroidden öncelikle T<sub>3</sub> salınımı ) sıçanlarda uzamış, şiddetli iyod eksikliği durumlarında serum T<sub>3</sub>'nün düşmesini engellemede etkisiz kalmaktadır. Santisteban ve ark (102) dolaşımdaki T<sub>3</sub> seviyesinin normal olduğu zamanlarda bile eğer T<sub>4</sub> seviyesi çok düşükse doku hipotiroidisinin görülebileceğini rapor etmişlerdir. Gözlemleri T<sub>3</sub>'ün nükleer reseptör yerindeki T<sub>3</sub>'ün etkisinde T<sub>4</sub>-T<sub>3</sub> dönüşümünün önemini göstermektedir.

## 2.17 İYOT FAZLALIĞININ ETKİLERİ

### A - AKUT İYODÜR FAZLALIĞI

Sıçanlara az miktardan orta miktara doğru iyod verilmesi tiroid tarafından birlikte verilmiş  $I^{131}$  tutulumunu etkilemez. Fakat iyodür arttıkça organik bağlanmanın inhibisyonu artar. Artan inorganik iyod dozuna karşılık organik iyod oluşumunun azalmasına Wolff-Chaikoff etkisi denir(120) . Bu etki Nagataki ve Ingbar tarafından detaylı olarak incelenmiştir (74). Bu araştırmacılar akut olarak injekte edilen ve artan dozlarda iyodüre iyodotirozin ve iyodotironin sentezinin bifazik cevabını ilk olarak göstermişlerdir. Bulgular küçük ve orta derecede iyodür artışlarının tiroid hormonu oluşumunun artışı ile sonuçlandığını göstermiştir. Yalnız kritik bir dozun üzerinde hormon oluşumunun akut inhibisyonu gözlenir. Raben (95) Wolff-Chaikoff etkisinin kritik bir seviyedeki iyodürün dolaşımdan ziyade tiroidde oluşmasına bağlı olduğunu göstermiştir.

Akut yüksek dozda iyodür ile inhibisyonun yalnızca geçici bir

fenomen olduğu daha önceden farkedilmiştir. Çünkü yüksek dozda kronik olarak iyodüre maruz bırakılmış sıçanlarda miksödem gelişmez. Yüksek dozda iyodür sağlanmasına rağmen tiroid inhibisyonundan yaklaşık 48 saat sonra kurtulur. Bu Braverman ve Ingbar (12) tarafından gösterilmiştir. (iyodür transport sisteminin adaptasyonu ile ilgilidir ve hücre içi iyodür konsantrasyonu azalması ile sonlanır. Eğer iyodür nedenli miksödemde olduğu gibi hücre içi iyodürü düzenleyen mekanizma bozulursa bunun sonucu hücre içi iyodürün sürekli yüksek seviyede olması TPO katalizli iyodinasyonun inhibisyonu ile hormon sentezinin sürekli depresyonuna sebep olması beklenir.

iyodinasyonu fazla iyodür ile akut olarak inhibe eden mekanizma çeşitli araştırmacılar tarafından çalışılmıştır (92,106,122) Taurog tiroglobülin veya sığır albuminin (BSA) iyodinasyonunun fazla iyodür ile inhibe olduğunu gözlemiştir. Fazla iyodürün TPO katalizli iyodinasyon üzerindeki inhibitör etkisini Pommier ve arkadaşları da çalışmıştır(92).

Yamamoto ve DeGroot (123) tiroid partikülleri ( yüksek derecede saflaştırılmış TPO'ın yerine TPO kaynağı olarak ) içeren inkübasyon sisteminde fazla iyodürün iyodinasyon üzerindeki inhibitör etkisini gösterememişlerdir. TPO'ın daha fazla saflaştığı zaman fazla iyoda sensitivite kazandığını önermişler ve Wolff-Chaikoff etkisinin bazı prosesler üzerinde fazla iyodun inhibitör etkisi içermesinin daha muhtemel olduğu sonucuna varmışlardır.

## B - KRONİK İYOD FAZLALIĞI

Orta ve yüksek dozlarda iyodür insanlara verildiğinde organizmada adaptasyon olur. Ingbar'ın da söylediği gibi (43) bu adaptasyon tam değildir ve tutulan ,organifiye olan iyod miktarı normalden fazladır. Fakat T<sub>4</sub> 'ün sekresyon hızı arttırılamaz. İnsan ve hayvanların her ikisinde de kronik iyodür veriliminde tiroidden iyodun nonkalorijenik formunun salınımında artma olduğu gösterilmiştir. Bu, iyodür kaçağı olarak tanımlanır. Bezden kaybedilen iyodun büyük kısmının iyodür olduğuna inanılır. Normal kişilerde iyodür kaçaklarının değeri iyodür alımı ile bağlantılı olarak değişir (123). Nagataki (72) fazla iyod alan hayvanlarda iyodotirozinlerin deiyodinasyonu ile oluşan iyodürün, kandan beze geçen iyodürden daha az etkinlikte organifiye olduğunu göstermişlerdir. Bu T<sub>4</sub> sekresyonunun bezin fazla iyod almasına rağmen artmadığını açıklayabilir. Fakat bu açıklama içten oluşan ve transporte edilen iyodür arasında kompartımanlaşmayı varsayar. Bu da tartışmalıdır

## 2.18 TIROID PEROKSİDAZIN REGÜLASYONU

Tiroid glandında iodinasyon hızı TSH tarafından regüle edilir(75,2). Nagataki ve ark.TSH'nın TPO üzerine akut etkisinin olmadığını gösterdiler(73). Bu durumda TSH'nın iyod organifikasyonu üzerine etkisi TPO'dan bağımsızdır. Ahn ve Rosenberg domuz tiroidindeki çalışmasında artmış  $H_2O_2$  üretiminin TSH tarafından stimüle edildiğini görmüştür(2). Bjorkman ve Ekholm'un yaptığı yaptığı ultrastruktürel çalışmalarda peroksit üretimine TSH'nın etkisini göstermiştir. Bu çalışmalar kalsiyum ionofor A23187'in peroksit üretimini arttırdığını göstermiş, TSH'nın bu sisteme etkisinde  $Ca^{2+}$ 'nin ikinci haberci olarak rol alabileceğini söylemiştir. Lippes ve Spaulding (55)  $Ca^{2+}$  ile aynı etkiyi gösteren tetradekanoyil forbol asetatın (TPA)  $H_2O_2$  aktivitesini stimüle ettiğini göstermiştir. TSH'nın iyodürün organifikasyonu üzerindeki etkisi TPO miktarının veya aktivitesinin artışından ziyade proteinkinaz aracılı  $H_2O_2$  artışı üzerinden olmaktadır.

Kronik uygulamalarda TPO'nun izahında TSH'ya muhakkak ihtiyaç vardır. Nagatakinin sıçanlarda yaptığı çalışmasında (73) TSH,PTU (TSH' yı arttırır) ve  $T_3$  kronik uygulandığında, TPO aktivitesinin TSH tarafından kronik olarak regüle edilir. Tice (113) ve Ealey (27)'in yaptığı ultrastruktürel çalışmalarda bu bulguları desteklemektedir. Nagasaka ve Hidaka (70) TSH' nın TPO üzerine kronik etkisini göstermek amacı ile TSH verilmiş hipofizektomize edilmiş sıçanlar

kullanmış ve etkinin yeni protein protein sentezine bağlı olduğunu görmüştür. Magnusson ve Kapaport(60) domuz hücre kültüründe aynı çalışmayı yapmıştır. TSH yokluğunda bu hücrelerde TPO seviyesi ölçülemez düzeylere düşmüştür; TSH verildiğinde tekrar artmıştır. TSH'nin bu etkisi cAMP analogu veya adenil siklaz sistem aktivatörleri ile taklit edilebilir. Cooper (17) sıçan tiroid lobunda TSH kontrollü TPO sentezini incelemek amacı ile antiTPO antikori kullandı. Chazenbalk (13) köpek tiroid hücresinde TPOMRNA seviyelerinin kronik olarak TSH tarafından regüle edildiğini tesbit etmek için domuz TPO cDNA'sını kullanmıştır. Chiovata(14) 24-48 saat süreyle hormon varlığında ve yokluğunda TPO'yu izleyerek, TPO'nun regülasyonunda ikinci haberci olarak cAMP'nin kullanıldığını, TPA'ya duyarsız olduğunu (protein kinaz C nin aktivatörü) ve sikloheksimidin veya aktinomisin D ile inhibe edildiğini gördü. Collison (15) insan tiroid hücresi kültüründe TPOMRNA'nın TSH tarafından kontrol edildiğini gördü. Bu sistemdeki TPOMRNA forskoline (adenil siklaz sistemi aktivatörü) cevabı arttı fakat TPA'ya artmadı.

TPO'nun TSH ile kontrolünün transkriptional olarak regüle edildiği görülmektedir. Gerard(37) TSH'nin TPO gen transkripsiyonunun regülasyonunu gösteren bir tayin metodu ortaya koymuştur. TSH'nin etkisi forskolin tarafından taklit edilir. Bu da TPO geni transkripsiyonunun cAMP tarafından düzenlendiğini gösterir.

## 2.19 ANTİTİROİD İLAÇLARIN TİROİD PEROKSİDAZA ETKİSİ

MMI ve PTU hipertiroidinin tedavisinde kullanılır. Bu ilaçlar T<sub>4</sub> ve T<sub>3</sub>'ün sentezini düşürerek etkirler. Taurog (107) MMI ve PTU'nun saflaştırılmış TPO'nun katalizlediği oksidasyon için substratla yarışma içine girdiklerini söylemiştir. ilaçlar yüksek konsantrasyonlardaki iyodür tarafından okside edilir, iyodür seviyesi düştüğünde de daha etkili olurlar. İyot olmadığı zaman TPO irreversibl inaktif olur. Davidson(20) de bu görüşe katıldı ve invivo TPO iyodunun oksidasyonu için (TPO'nun irreversibl inaktivasyonundan ziyade) yarışmalı inhibe edildiğini gösterdi.

Engler (30), Ohtaki (87), Taurog(108) bu konudaki çalışmalarında; TPO'nun H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında fakat iyodür olmadığı zaman PTU ve MMI ile kovalent kompleks yaptığını gördüler. Bu kompleksin oluşumu TPO enzim 2' nin Soret spektrumu değişimi ile birliktedir. İyod varlığında spektral değişme görülmez ve her iki ilacın sülfür formu sulfat ve sülfite okside olmuştur. ilaçlar iyod varlığında kompetitif substrat inhibitörü olarak davranırlar. İyod yokluğunda enzimin enzimin okside olmuş formuna kovalent bağlanarak onun inaktivasyonuna sebep olurlar.



## 2.20 OTOİMMÜN TİROİD HASTALIKLARINDA TPO'NIN MİKROZOMAL ANTİJEN OLARAK ROLÜ

Roitt (100) Graves hastalığında ve Hashimoto's tiroiditte mikrozomal faktörlere karşı antikolar tarif etmiştir. Bu antikolarla Hashimoto's tiroiditi arasında yakın alaka görülmüştür ve bugün varlığı bu sendromun tanınmasında diagnostik test olarak kullanılmaktadır. Hashimoto's tiroidit tiroid glandının lenfositik infiltrasyonu ve doku harabiyeti ile karakterizedir. Sonuçta hipotiroidizm gelişir.

TPO'nın mikrozomal protein olduğu uzun zamandan beri biliniyordu. Fakat mikrozomal antijen olduğu yeni farkedilmiştir. 1985' te bir grup TPO'yu mikrozomal antijen olarak prezante etti. Banga (6) ve ark. SDS poli akrilamid jel elektroforezinde molekül ağırlığı 105 ten 110 kDa'a değişen bir protein bulmuşlardır. Yine aynı yıl içinde Portman ve ark (94) serumun immünopresipitat TPO'ya karşı yeteneği ile mikrozomal antikor titraji arasındaki yakın ilginin varlığını görmüştür.

1985'te Czarnocka (18) insan TPO'na karşı antikolar geliştirdi ve bunu yüksek saflıkta insan TPO'ı eldesinde kullandı. Bu enzimin mol ağırlığı 100 kDa'dı. Araştırmacı yüksek seviyede antimikrozomal antikolar içeren hasta serumunu saflaştırılmış TPO'ya bağladı ve monoklonal antikoların TPO'ya bağlanmasını inhibe etti. 1986'da Katoni

ve ark. elisa ve imminoblotting tekniği kullanarak yüksek oranda mikrozomal antikor titrağı bulunan serumun TPO'ya karşı da antikorlar içerdiğini ve TPO'nun major mikrozomal antijen olduğunu söyledi. Bazı gruplar rekombinant TPO kullanarak serumdaki TPO antikorları için bir tayin metodu geliştirmeye çalışmaktadır. Bu tayin otoimmün tiroid hastalıklarının etiyojisinde TPO'nun rolünü izah ederken yeni görüşler getirecektir.



### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1 Kullanılan Aletler

MSE Superspeed 75 Ultrasantrifüj

Schott pH metre CG 840

Shimadzu Libror AEU-210 hassas terazi

Shimadzu 1201 UV-Visible Spektrofotometre

Christ IKS Santrifuj

B.Braun Melsungen AG 5449 homojenizatör

#### 3.2 Kimyasal Maddeler

Sukroz	Merk
EDTA-Na	Merk
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Merk
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> - 2 H <sub>2</sub> O	Merk
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Merk
Guaiacol	Sigma
Na,K- Tartarat	Hopkin & Williams
Bakır sulfat	Merk
Sodyum Karbonat	Merk
Sodyum Wolfromat	Merk
Sodyum Molibdat	Merk
Lityum Sulfat	Merk
Brom	Merk
Bovin albümini	Merk
Sodyum Hidroksit	Merk

### 3.3 Kimyasal Çözeltiler

Doku homojenatı hazırlamak ve ultrasantrifüjde fraksiyonlara ayırmak için:

Sukroz çözeltisi: 0,25 M + 1mM EDTA

TPO tayini için:

Fosfat tampon: 0,2 M pH = 7,4

Hidrojen Peroksit 88 mM

Guaiacol 0,1 M

Protein Tayini için:

Bakır Sulfat çöz. % 0,1'lik

Stok Alkali Tartarat Çöz.: 0,1N NaOH içinde 20 gr. Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

( anhidrit ) + 0,5 gr. sodyum tartarat

Folin Ciocalteu Fenol Çözeltisi,

25 gr. Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>. 2 H<sub>2</sub>O + 25 gr Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>. 2 H<sub>2</sub>O karışımı 700 cc suda çözülür. 50 ml orto fosforik asit, 100 ml HCl ilavesi ile geri soğutucu altında en az 10 saat kaynatılır. Karışım 150 gr LiSO<sub>4</sub>, 50 ml su ve 2,3 damla brom ilavesi ile 15 dk daha kaynatılır. Soğuduktan sonra litreye tamamlanır.

Albumin standart %100 mg.

### 3.4 Doku örneklerinin toplanması ve hazırlanması

Bu çalışmada kullanılan tiroid dokuları Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Cerrahi Ana Bilim Dalı tarafından yapılan tiroidektomi ameliyatlarından sağlanmıştır. Doku ameliyatla çıkarıldıktan hemen sonra buzda soğutulmuş serum fizyolojik

içinde muhafaza edilerek laboratuvara getirildi. Literatürde dokunun - 15°C'de 6 ay, 105.000g sedimentinin de birkaç hafta aktivite kaybetmeden saklanabildiği bildirilmektedir(4).

Doku homojenatlarının hazırlanması, ultrasantrifüj ile 600 g ve 105.000g sedimentlerinin elde edilmesi, TPO tayini Nagataki ve arkadaşlarının uyguladığı ve Inoue ve Taurog'un da kullandığı metoda uygun olarak yapıldı(45,76).

Fragu(35) çalışmasında perinodüler doku ile normal doku TPO düzeylerinin aynı olduğunu görmüştür. Taze, normal tiroid dokusunun bulunmasındaki güçlükler göz önünde bulundurularak adenomatöz hiperplazili hastaların patolojik olarak normal kabul edilebilecek doku parçaları kontrol amacı ile kullanıldı.

#### A. Doku Homojenizasyonu:

Tiroid nekrotik ve bağ dokularından temizlendikten sonra cam homojenizatöre koyularak 0,8 ml 0,25 M.sukroz çözeltisi ile homojenize edildi. Homojenizatör buz dolu kap içinde tutularak ısınmalara bağlı enzim aktivitesi kaybı önlendi.

#### B. Doku fraksiyonlanması:

Doku homojenatı 6 ml. 0,25 M sukroz çözeltisi ile bir cam tüpe aktarıldı ve 600 g. de 10 dk.santrifüj edildi. Nukleer fraksiyon ayrıldı. Üst faz selüloz nitrat tüpe alınarak +4°C' de 105.000g de 30 dk. santrifüj edilerek mitokondrial-mikrozomal fraksiyon ayrıldı(105.000 g sediment). 105.000g sediment uygun protein konsantrasyonlarına fosfat tampon (ph=7.4) ile süspanse edildi. Literatürde 48.000 g de 30 dk.

santrifüjle elde edilen sedimentin total TPO aktivitesinin %95'ni ihtiva ettiği, geri kalan %5 aktivitenin ise 105.000 g de 1 saat santrifüj ile elde edilebileceği hakkında bilgi vardır(4). Doku homojenizasyonu için 0.15 M KCl (4,71), 0.05M Tris HCl tampon, 10 M KI (pH=7.4),(35) gibi çözeltilerin de kullanılabileceği bildirilmiştir.

### 3.5 TPO aktivitesi tayini :

Hosoya tarafından ortaya atılan, Nagataki ve ark.nın uyguladığı Guaiacol metodu uygulandı (76).

#### Guaiacol metodu:

Guaiacol reaksiyonu bütün protein konsantrasyonlarında lineer değildir. Bu nedenle 105.000 g sedimenti optik dansitesi ile zaman arasında çizilecek grafikte 1 dakikalık zaman aralığında grafik lineer olacak şekilde uygun protein konsantrasyonları temin edildi. Suspansiyon enzim tayininden önce 20 dk buzda bekletildi.

Suspansiyondan alınan 0,4 cc'lik kısım spektrofotometre küvetine koyuldu, 1 ml guaiacol, 1,6 ml fosfat tampon ilavesi ile karıştırılarak alette yerine yerleştirildi. 470 nm dalga boyunda alet sıfırlandı. Reaksiyon 10µl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilavesi ile başlatıldı. 30 sn zaman aralıkları ile OD ölçüldü. Guaiacol metodu ile TPO tayini 25 C'de yapıldı. 1 dk da 1.0 OD artışı 1 Guaiacol Ünitesi (GU) olarak tanımlandı.

### 3.6 Protein tayini:

Lowry metodu ile yapıldı(56).

Bakır sülfat çözeltisi tartarat çözeltisi ile 1/9 oranında karıştırıldı (günlük hazırlanır). 105.000 g sedimenti

süspansiyonundan alınan 0.1 cc'lık porsiyon hazırlanan çözeltinin 5cc'i ile 15 dk oda sıcaklığında inkübe edildi. Folin çözeltisi 1/2 oranında distile su ile seyreltilerek 0.5 cc ilave edildi. Aynı şekilde %100 mg'lık albumin standartı ve blank çalışıldı. 30 dk sonra 750 nm'de absorbanları ölçüldü.

### 3.7 Kullanılan istatistiksel bağıntılar

$$S = \frac{S_{DB}^2}{SD_K^2}$$

$$SD^2 = \frac{SD_1^2(n-1) + SD_2^2(n-1)}{n_1 + n_2 - 2}$$

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{SD^2 + SD^2}{n_1 + n_2}}}$$

$D_B$  : Büyük varyans

$D_K$  : Küçük varyans

$F_t$  : Sınır değeri

$F$  : Frekans

$SD^2$ : Ortak varyans

$X^1$  : Deney grubu ortalaması

- X<sub>2</sub> : Kontrol grubu ortalaması  
 n<sub>1</sub> : Deney grubu vaka sayısı  
 n<sub>2</sub> : Kontrol grubu vaka sayısı  
 SD<sub>1</sub>: Deney grubu varyansı  
 SD<sub>2</sub>: Kontrol grubu varyansı

### 3.8 Olgular

Bu çalışmadaki vakaları, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Cerrahi Ana Bilim Dalına tiroidektomi için başvurmuş 4'ü erkek 37'si kadın toplam 41 hasta teşkil etmiştir (tablo 1). Yaşları 19-68 arasında değişen hastaların ameliyat sonrasındaki patolojik raporları; 27'sinde adenomatöz hiperplazi, 7'sinde diferansiye karsinom (papiller ve folliküler Ca) 1'inde Hürthle hücreli karsinom, 6'sında ise hiperfonksiyon bulguları olarak belirlendi. Hipertiroidili hastalar PTU ile tedavi edilerek ameliyat öncesi ötiroid hale getirildiler. Diğer hastalar ise ötiroid durumdaydılar ve ön hazırlığa lüzum olmaksızın operasyona alındılar.

### 4.1 BULGULAR VE TABLOLAR

Doku homojenatında ve 600 g sedimentinde çok az miktarda TPO aktivitesi görülmüştür. 105.000g sedimenti (mitokondri+mikrozom) büyük oranda enzim içerdiğinden bu fraksiyonda çalışılarak adenomatöz hiperplazisi mevcut 27 hastanın perinodüler doku (normal) TPO aktivitesi  $15.46 \pm 6.33$  GU/100 mg protein/30sn olarak bulundu (tablo 2). Tiroid karsinomlu 8 hastanın TPO aktiviteleri  $5.71 \pm 3.23$  GU (tablo 3), hiperfonksiyon bulguları görülen hastaların ise  $45.73 \pm 8.86$  GU'dir (Tablo 4)



Kanserli grup normal gruba göre istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı düşük, ( $p < 0.001$ ) hiperfonksiyon bulguları olan grup ise ileri derecede anlamlı yüksek TPO aktivitesi göstermiştir ( $p < 0.001$ , şekil 6).

Guaiacol metodunda 15 sn zaman aralıkları ile OD değişimi izlenmiştir. Şekil 7, 8 ve 9'da 3 hastaya ait grafik incelendiğinde 1 dk içinde grafiğin lineer olduğu görülmektedir. Bu aralıkta yapılan hesaplamalar daha sağlıklı olacağı için bu bölgede çalışma tercih edilmiştir. Şekil 9 10,11'de aynı hastanın 0.302mg/0.1cc, 0.236mg/ 0.1 cc ve 0.144 mg/ 0.1 cc olacak şekilde çeşitli protein konsantrasyonlarında absorban değişimi izlenmiş ve TPO aktivitesi sırası ile 54.9 GU, 47.3 GU ve 47.9 GU olarak bulunmuştur. Buradan 0.15 - 0.25 mg / 0.1 cc protein konsantrasyonlarında çalışmaların uygun olacağı kanaatine varılmıştır. Aynı hastanın homojenatı 1 gün + 4 °C' de bekletildikten sonra 0.076 mg/ 0.1 cc protein konsantrasyonunda 40 GU'lik TPO aktivitesi göstermiştir. Düşük konsantrasyona ve zamana bağlı olarak enzim aktivitesinde kayıp olduğu görülmüştür ( Şekil 12).

Tablo 1. HASTALARIN CİNSİYET, YAŞ VE PATOLOJİK TANILARINA GÖRE DAĞILIMI

<u>VAKA NO</u>	<u>CİNSİYET</u>	<u>YAŞ</u>	<u>PATOLOJİK TANI</u>
1	K	39	TAH
2	K	55	TAH
3	K	40	TAH
4	K	40	Papiller Ca
5	E	62	TAH
6	K	25	Hiperfonk.bulg.
7	K	42	TAH
8	K	47	Hiperfonk.bulg
9	K	55	TAH
10	K	60	TAH
11	K	34	Papiller ca
12	K	23	Hiperfonk.bulg.
13	K	23	TAH
14	K	49	TAH
15	K	19	Hiperfonk.bulg.
16	K	37	TAH
17	K	22	TAH
18	E	50	TAH
19	K	43	TAH
20	K	26	Foliküler ca
21	K	65	Papiller ca
22	K	43	TAH
23	K	30	Papiller ca
24	K	36	Foliküler ca
25	E	47	TAH
26	K	41	TAH
27	K	52	Papiller ca
28	K	55	H.hücreli ade.
29	K	68	TAH
30	K	29	Hiperfonk.bulg.
31	K	34	TAH
32	K	38	TAH
33	K	47	TAH
34	E	64	TAH
35	K	31	TAH
36	K	55	TAH
37	K	26	TAH
38	K	47	TAH
39	K	36	TAH
40	K	40	Hiperfonk.bulg.
41	K	38	TAH

Tablo 2. NORMAL TİROİD DOKUSU TPO AKTİVİTELERİ

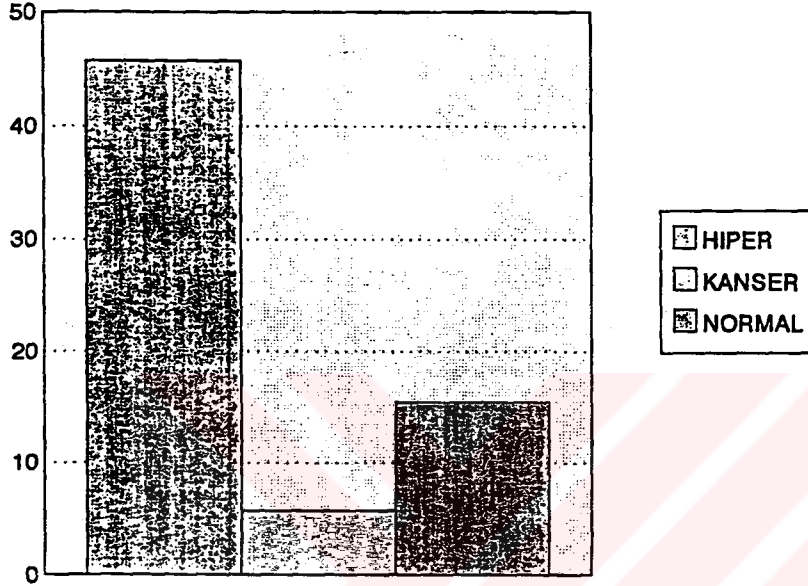
<u>VAKA NO</u>	<u>TPO AKTİVİTESİ</u>	<u>GU/100mg</u>	<u>PROTEİN</u>
1	22.1		
2	22.5		
3	23.8		
4	11.8		
5	8.3		
6	26.6		
7	10.7		
8	8.8		
9	10.9		
10	19.2		
11	12.7		
12	24.8		
13	6.5		
14	7.7		
15	11.0		
16	8.1		
17	14.2		
18	11.8		
19	15.6		
20	19.1		
21	20.3		
22	24.5		
23	9.8		
24	16.2		
25	16.2		
26	9.8		
27	24.5		

Tablo 3. TİROİD KARSİNOMLU HASTALARIN TPO AKTİVİTELERİ

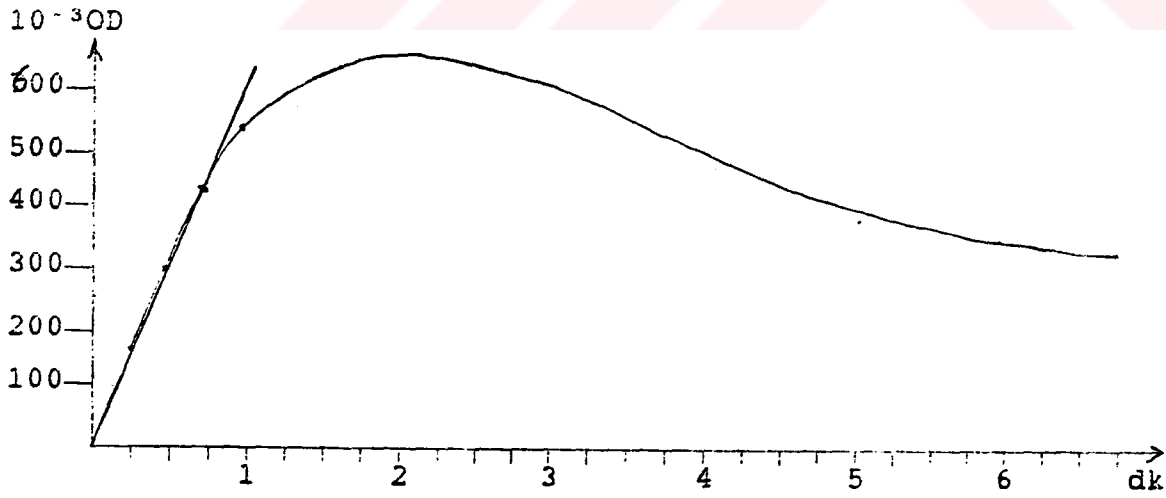
<u>VAKA NO</u>	<u>TPO AKTİVİTESİ</u>	<u>GU/100mg</u>	<u>PROTEİN</u>
1	7.4		
2	3.6		
3	12.5		
4	4.8		
5	6.5		
6	4.7		
7	4.8		
8	1.4		

Tablo 4. HİPERTİROİDİLİ HASTALARIN TPO AKTİVİTELERİ

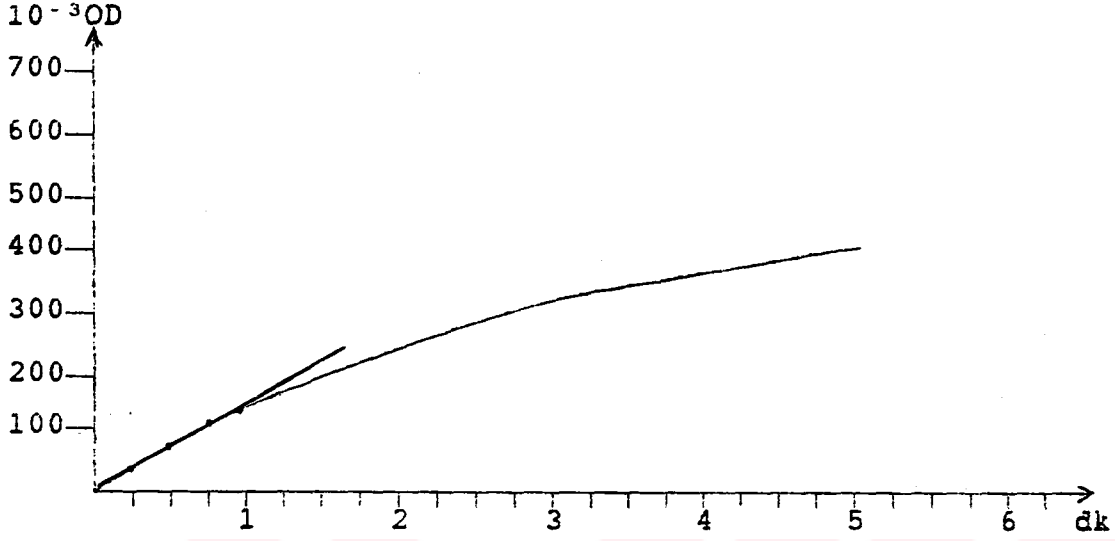
VAKA NO	TPO AKTİVİTESİ GU/100mg PROTEİN
1	36.7
2	50.4
3	45.8
4	59.9
5	45.3
6	36.3



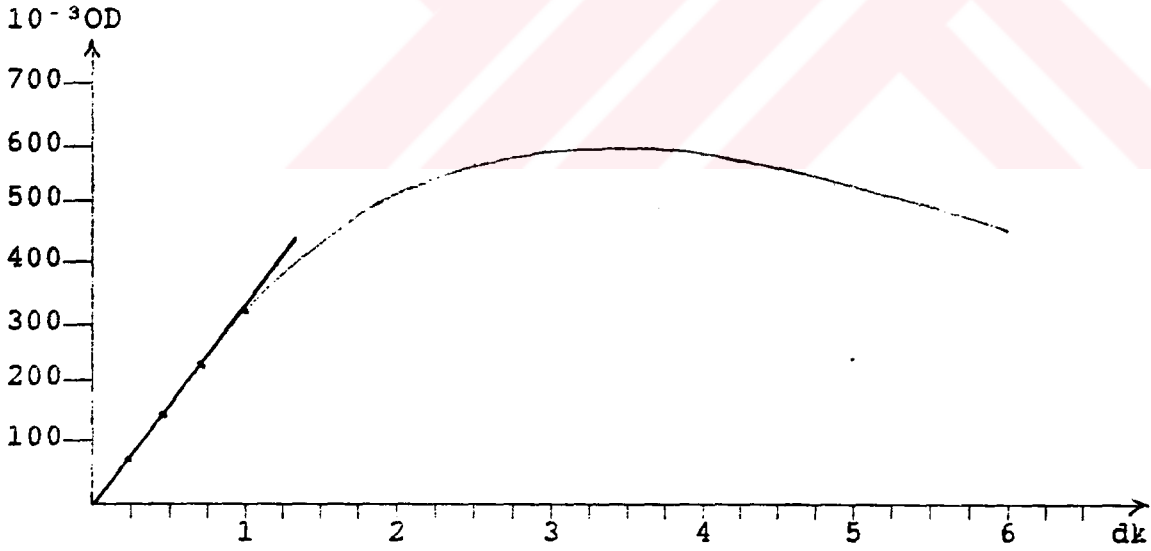
Şekil 6. Hipertiroidili ve kanserli hastaların TPO aktivitelerinin normallerle karşılaştırılması.



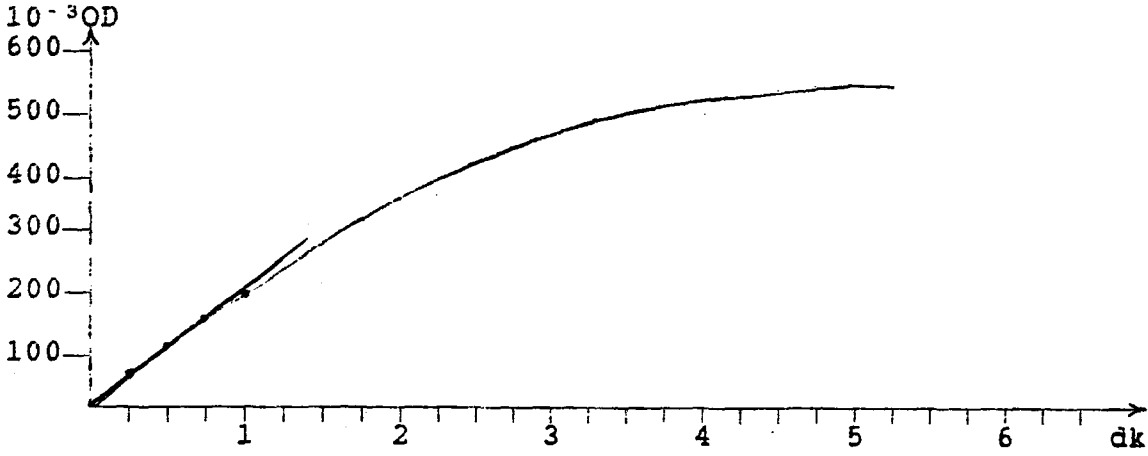
Şekil 7. Guaiacoli reaksiyonunda zamana bağlı OD değişimi



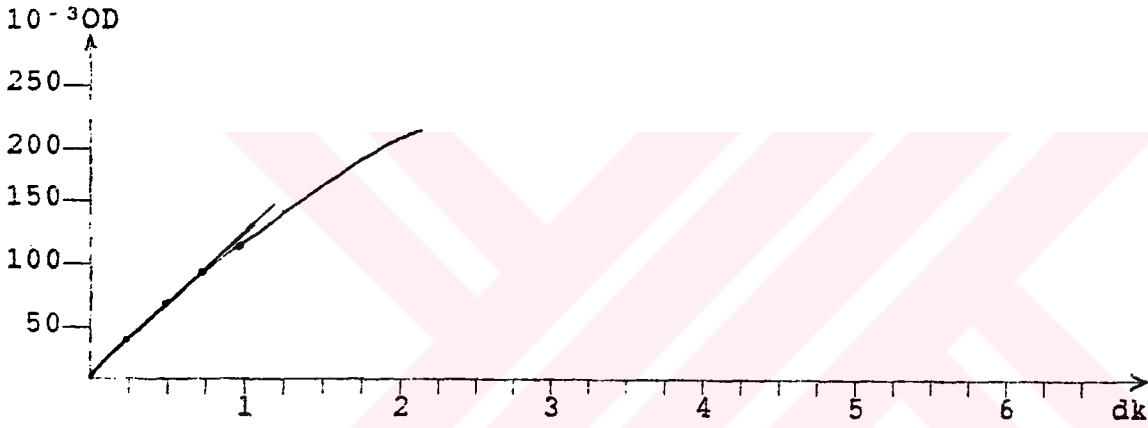
Şekil 8. Guaiacol reaksiyonunda zamana bağlı OD değişimi.



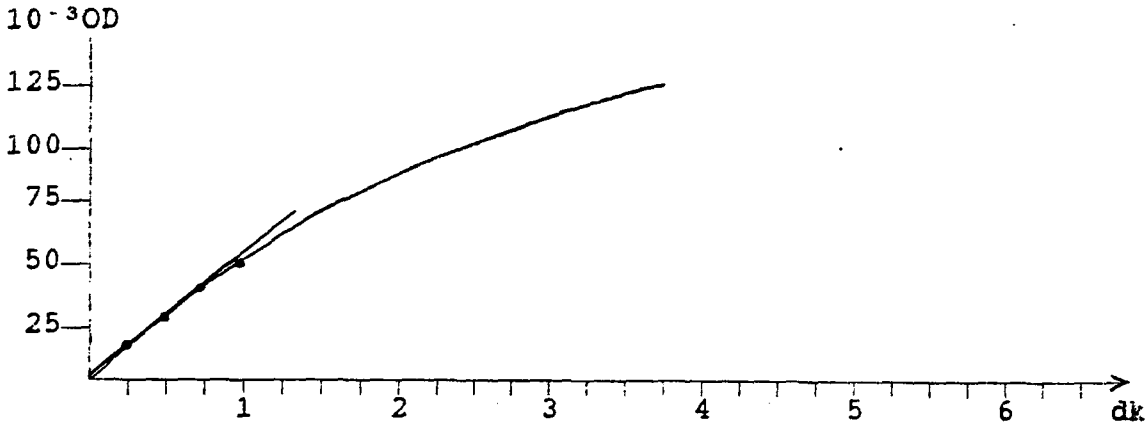
Şekil 9. Protein konsantrasyonu 0.3019mg/0.1cc olduğunda zamana bağlı optik dansite değişimi



Şekil 10. Protein konsantrasyonu 0.236 mg/0.1cc protein olduğunda zamana bağlı OD değişimi



Şekil 11. Protein konsantrasyonu 0.144mg/0.1cc olduğunda zaman bağlı OD değişimi



Şekil 12. Protein konsantrasyonu 0.076 mg/0.1cc olduğunda 1 gün sonra zaman bağlı optik dansite değişimi

## 5.TARTIŞMA

Bu çalışmada 28'i adenomatöz hiperplazili,8 i diferansiye tiroid kanserli (papiller+folliküler), 1 tanesi de hürthle hücreli, 6 hipertiroidili toplam 42 hastanın TPO aktiviteleri tayin edildi. Hipertiroidili vakalarda normallere oranla %291 artış, kanserli vakalarda ise %369 düşme görülmüştür.

Doku fraksiyonlanmasında TPO aktivitesi büyük oranda 105.000 g sedimentinde mikrozomal fraksiyonda yer almaktadır. Homojenatta ise ihmal edilebilir düzeyde aktivite mevcuttur. Bu, enzimin organel membranlarda lokalize olduğunu göstermektedir.

Fragu karbimazol ile tedavi edilmiş hipertiroidililerde TPO aktivitesinin %288 arttığını söylemiştir. Bulduğumuz %291 oranındaki aktivite artışı bu çalışmaya uyum göstermiştir. Valenta ve Nagasaka'nın çalışmaları da aynı paralelliktedir (117,118,71).

Fragu normal, tedavi edilmemiş ve 200mg/gün bir yıl süre ile PTU ve ameliyat öncesi 1 hafta KI almış, ötiroid haldeki hastaların tiroid dokularının mikroskopik yapılarını incelemiş (35) hipertiroidililerde endoplazmik retikulumun normallere göre çok geliştiğini görmüştür. Endoplazmik retikulum TPO'nın sentez yeridir (114). Tedavi görmemiş hastalarda TPO aktivitesinin artması olağan karşılanmalıdır. Bu durumda antitiroid ilaç alan hastalarda TPO'ı arttıran

etken nedir? Bu sorunun cevabı hastaların operasyon sırasında ötiroid olması, T<sub>4</sub> sentezinin engellenmesi şeklinde olmaktadır. Heimann'a göre tedavi görmüş veya görmemiş olsun tüm hipertiroidili hastaların ultrastrüktürel yapılarında endoplazmik retikulumlarında artma mevcuttur (41).

Nagataki (76) sıçanlara 1USP/2 gün TSH, 3mg sc/gün PTU ve 5ug sc/gün T<sub>3</sub>'ü 7 gün süre ile uygulamış, TPO aktivitesinin PTU ve TSH uygulaması ile arttığını, T<sub>3</sub>, PTU + T<sub>3</sub> ile düştüğünü görmüştür. Aynı doz uygulandıktan sonra sıçanlar sakrifiye edilerek yapılan çalışmada da akut uygulamalar TPO aktivitesini değiştirmemiştir.

TSH uygulaması ile doku I<sup>131</sup> uptake'i artmaktadır. Tiroidal organik iyod miktarı da peroksidaz aktivitesini değiştirmektedir.

Fragu'nun sitokimyasal çalışmalarında apikal hücre kenarlarında yer alan mikrovillilerin artmış olduğu tesbit edildi. Kuvvetli iyodinasyon kapasitesine sahip TPO burada lokalize olmaktadır. Bu çalışmada hipertiroidililer ötiroid durumdaydılar ve TSH'ları normaldi. Diğer gruba karbimazol yanında LT<sub>3</sub> uygulanarak TSH sekresyonu bloke edildiğinde TPO aktivitesi yüksekti.

invitro çalışmalar antitiroid ilaçların TPO üzerine inhibitör etkisi olduğu şeklinde bilgi veriyorsa da (106,5,107) sıçanlarda yapılan araştırmalar PTU uygulamasının peroksidaz aktivitesini arttırdığını göstermiştir (76,123). Bu durum hızlı plazma TSH artması ile korele edilmektedir.

Graves hastalığında plazmada görülen tiroid stimulan



antikorlar (TSAb) membrandaki TSH reseptörlerine karşı üretilirler, TSH gibi davranırlar. Stress travma, yaşlanma, infeksiyon bu antikorların oluşumunu arttırır (119).

TSH, TPO mRNA düzeylerini ayarlıyarak TPO biyoaktivitesi üzerinde etkilidir. cAMP ikinci habercidir ve Damante'ye göre transkripsiyonal olmayan bir mekanizma ile çalışır (19).

Nagasaka ve Hidaka (70) TSH verilmiş hipofizektomize sıçanlarda etkinin yeni protein sentezine bağlı olduğunu söylemiştir. Magnusson ve Rapaport ise düşük TPO seviyelerinin TSH verilmesi ile arttığını, TSH'nın bu etkisinin cAMP analogu veya adenil siklaz sistemi aktivatörleri ile taklit edildiğini görmüştür.

Bizim çalışmamızda T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, TSH düzeyleri kronik PTU uygulaması ile normal sınırlarda tutulan hastaların TPO aktivitesi değerleri normallerin çok üstündeydi. TPO'nun aktivitesi üzerinde TSH'nın önemli etkileri vardı. TSH düzeyleri de dokudaki iyod ile yakın ilişkilidir. Muhtemelen tıpkı Graves'te olduğu gibi stress, travma, infeksiyon, yaşlılık, ilaçlar, cAMP aktivatörleri gibi iç ve dış etkenler ile iyod ve TSH'nın işleyiş mekanizmaları bilinen yoldan saparken bundan TPO da etkilenmektedir.

Bizim hastalarımızda artmış TPO düzeyleri sentez mekanizmasının aşırı çalıştığını, TPO sentezinin birtakım uyarılardan etkilendiğini göstermektedir. Fakat hormon düzeylerinin normal olması TPO'nun hormon sentezinde kullanılmadığını göstermektedir. TSH normal düzeylerdeyken TPO sentezini arttıranın kendisi değil, onun etki

mekanizmasını taklit eden başka bir etken olduğunu düşündürmektedir. Aşırı peroksidaz sentezlendiğine göre PTU,TPO sentezi üzerinde bütünüyle inhibitör etki etmemekte, kontrollu inhibisyonla normal plazma hormon düzeylerini sağlanmaktadır. PTU ile tedavi edilmiş hastalarda dokuda guaiacol reaksiyonun gerçekleşmesi PTU'in TPO'u kısmen de reversible inhibe ettiğini düşündürmüştür.

Doku TPO aktivitesi tayini hipertiroidi tanısı için kullanışlı değildir. Fakat patolojik hiperaktivite bulgularını desteklemek amacı ile kullanılabilir. Araştırmaya açık henüz aydınlatılmamış bir konu olarak görünmektedir.

Tiroid kanserlerinin etiolojisinde şu etkenler sıralanabilir.

#### 1- iyot Yetersizliği

Endemik guatr bölgelerinde TSH tiroid dokusunun büyümesinde belirgin faktördür. Fizyolojik feed-back mekanizmasına göre iyod yetersizliği aşırı TSH sekresyonuna neden olur, uzun süreli yüksek kalan TSH tiroid nodülleri oluşturur, TSH'nın sürekli etkimesi de nodüllerin malin hale dönüşmesine imkan verir (97).

#### 2- iyonize ışınlar

#### 3- Virüsler, ışınlar

#### 4- Genetik faktörler

#### 5- immünolojik faktörler

Tiroid kanserlerinde membran ve hücre içindeki değişiklikler şöyle gösterilebilir.

		Adeno Ca	Medüller Ca
		-----	-----
	I uptake	↓	-
Membran	TSH reseptör	±	-
	TI-uptake	↑	+
	Tg sentezi	±	
	I organifikasyonu	↓	-
	Tiroid hormon sentezi	↓	-
Hücre	DNA sentezi	↑	+
	Anormal proteinler	↑	+
	Kalsitonin sentezi	-	+

Tiroid karsinomlarında iyot uptake'i ve iyod tutma kapasitesi azalmıştır (97). Abdel Razzak çalışmasında toksik nodülle birlikte tiroid karsinomunun yan yana bulunabildiğinde, iyod tutması azalmış kanserli dokunun çevre dokuya göre biraz daha artmış iyod tutulması gösterdiğini söylemiştir(1). Radyoiyodu tutma kabiliyeti hücrenin kolloid miktarı ile ilişkili görünmektedir(33,9). Kanserli tiroid dokusunda tutulan  $I^{131}$ 'ın yarı ömrü alışılmıştan kısadır(78). Bu durum organik bağlı olmayan iyodun atılması ile izah edilmektedir.

Tiroid hormon sentezi iyod tutması ile ilişkilidir, bu mekanizma da kanserlerde engellenmiştir. Fakat bazı vakalarda aşırı tiroid hormonu salgılandığı da görülmüştür. Defektli tiroglobülin sentezine bağlı olarak iyod metabolizmasındaki

değişikliklerle tiroid hücrelerinde malign değişmeler gelişmektedir (112).

Tg sentezi gen transkripsiyonunu gerektiren kompleks bir prosestir. Golgi aparatındaki şeker zincirleri, terminal sialik asid komponenti çok önemlidir. Manno fosfat Tg'nin lizozomlara bağlanmasını sağlar(16). Malign tiroid hücreleri bu komplike reaksiyonlarda geniş spektrum gösterir. Anormal iyodoproteinler sentezlenerek sirkülasyona verilir. Bazı lezyonlarda Tg sekresyonunu sialotransferaz kaybı inhibe eder(99). Karsinomlarda Tg'lerin iyod tutma ve hormon yapma kapasiteleri kaybolduğundan (11) tiroid hormonları sirkülasyonda olmasa bile iyodinize Tg'ler yükselmiştir. Ga<sup>67</sup>'nin malign tiroide bağlanması kapiller permeabilitenin arttığını, hızlı çoğalan dokuda protein metabolizmasının değiştiğini gösterir.

Bizim çalışmamızda kanserli hastaların hormon düzeyleri normal olduğu şartlarda TPO aktivitesi düşük bulunmuştur. iyodun alınımından hormon sentezlenip salınıncaya kadar çok karışık birçok basamaklar geçilmektedir. Muhtemelen enzim sentezinde bir aksama veya sentezlenen enzimin inaktivasyonuna bağlı olarak düşük veya çok zayıf aktivite tesbit edilmektedir. Benign patolojik şartlarda düşük aktivite sadece kanserli dokularda görüldüğünden bu bölge hariç diğer yerlerde hormon sentezi işlemi yürüyor görünmektedir. Bu yüzden plazma hormon düzeyleri normalken kanserli bölgede enzim aktivitesi düşük bulunmaktadır.

Doku TPO düzeyleri tayini patolojik bulguları

destekleyecek nitelikte kanser tanısı koymada kullanılabilir. İğne aspirasyon biyopsisi ile alınan materyalde dahakolay ve çabuk teşhis imkanı olduğundan doku TPO tayini hormon sentezi ara basamaklarının izlenmesi, mekanizmanın aydınlatılması açısından araştırmaya açık bir konu olarak değerlendirilebilir.



## ÖZET

TPO en büyük oranda tiroid dokusu mikrozomal fraksiyonda tesbit edilen glikozillenmiş, hemoprotein enzimdir. Tiroid hormonlarının sentezinde iyodinasyon ve kupling reaksiyonlarını katalizleyerek önemli rol oynar.

Bu çalışmada kronik PTU tedavisi görmüş 6 hipertiroidili hasta ile tiroid hormon düzeyleri normal sınırlarda tesbit edilmiş 7 diferansiye, 1 hurthle hücreli toplam 8 tiroid karsinomlu hastanın doku TPO aktiviteleri Guaiacol metodu ile tayin edildi. Adenomatöz hiperplazili vakaların patolojik olarak normal kabul edilen perinodüler dokuları kontrol amacı ile kullanıldı.

Hipertiroidili hastaların TPO aktiviteleri  $45.73 \pm 8.86$  GU/ 100 mg protein/ 30 sn karsinomlu hastaların  $5.71 \pm 3.28$  GU/ 100 mg protein/ 30 sn, normal değerler ise  $15.46 \pm 6.33$  GU/ 100 mg protein/ 30 sn olarak bulundu. TPO aktivitesinde hipertiroidili hastalarda %291 artış, kanserli hastalarda ise %369 düşüş görülmüştür. Her iki grup normallerle kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı farklılık göstermektedir.

Tiroid karsinomlarında bozulmuş protein sentezi, iyod alınımındaki defektler veya mevcut olabilecek inhibitörler gibi nedenlere bağlı olarak enzim inaktivasyonu görülmektedir. Bu durumda tiroid hormonlarının sentezinin aksaması beklenmelidir. Kanserli olmayan dokuda normal sentez devam ettiğinden plazma hormon düzeyleri normal seviyelerde

bulunmaktadır.

PTU tedavisi ile hormon üretimi normal seviyelerde tutulan hipertiroidi vakalarında TPO aktivitesi artmıştır. PTU varlığına rağmen TPO üretiminin artması ilacın enzim sentezi üzerinde etkili olmadığını, hastalığa bağlı olarak aşırı üretilen bir kısım TPO'nun hormon sentezinde kullanılmadan PTU baskısında tiroide reversible inhibisyonla tutulduğunu düşündürmektedir.

Hipertiroidi ve tiroid karsinom vakalarında doku peroksidaz aktiviteleri tayinlerinden, hastalığın tanısında kullanılan metodları desteklemek amacı ile yararlanılabilir. Fakat doku çalışmalarında karşılaşılabilecek güçlükler nedeniyle rutin uygulamalardan ziyade araştırmaya yönelik kullanım için yararlı olacağı düşünülmektedir.

**SUMMARY**

TPO is a glycosylated hemoprotein enzyme which is found with a relatively high quantity in the microsomal fraction of thyroid tissue. It plays an important role in thyroid hormone synthesis by catalyzing the iodination and coupling reactions.

In this study, the tissue TPO levels of 6 hyperthyroid patients with thyroid cancer, 7 differentiated, 1 Hurthle cell type with normal levels of thyroid hormone were determined by Guaiacol method. The perinodular tissues from the adenomatoid hyperplastic cases which had accepted as normal, were taken as a control group.

The mean TPO activities were  $45.73 \pm 8.66$  GU/100 mg protein/30 sc and  $5.71 \pm 3.28$  GU/100 mg protein/30 sc in hyperthyroidism and cancer patients whereas it was  $15.46 \pm 6.33$  GU/100mg protein/30 sc in normals. The TPO activities were 291% increased in hyperthyroid and 369% decreased in cancer patient. There existed a highly significant statistical difference between both groups and normals.

There are enzyme inactivation in thyroid cancer due to some reasons such as damaged protein synthesis is probable. The plasma hormone levels were normal in cancer free tissue where the normal synthesis continues.

In the hyperthyroid patients whose thyroid hormone



synthesis, besides increased TPO due to disease state is trapped inhibited in the thyroid under PTU suppression.

It is possible to get aid from determinations of tissue peroxidase levels to support the diagnostic methods in cases of hyperthyroidism and thyroid cancer. But due to difficulties that may be faced during the tissue studies this method can be preserved for research purposes rather than routine uses.

## 8. KAYNAKLAR

1. Abdel- Razzak M, Christie M: Thyroid carcinoma in an autonomously functioning nodule. J Nucl Med 20:1001, 1979

2. Ahn CS, Rosenberg IN: Iodine metabolism in thyroid slices: effects of TSH, dibutyryl cyclic 3',5' AMP, NaF and prostoglandin E<sub>1</sub>. Endocrinology 86:396, 1970

3. Ahn CS, Rosenberg IN: Oxidation of <sup>14</sup>C -formate in the thyroid slices: Effects of TSH, dibutyryl cyclic 3',5'-AMP (dbc AMP) and prostoglandin E<sub>1</sub> (PGE<sub>1</sub>), in Further Advances in Thyroid Research, Fellingner K, Hoffer R (eds), Verlag der Wiener Medizinischen Academie, Vienna, p 825, 1970

4. Alexander NB: Purification of bovine thyroid peroxidase. Endocrinology 100:1610, 1977

5. Alexander NM: Iodide peroxidase in rat thyroid and salivary glands and its inhibition by antithyroid compounds. J Biol Chem 234:1530, 1959

6. Banga JP, Pryce G, Hammond L, Roitt IM: Structural features of the autoantigens involved in thyroid autoimmune disease: the thyroid microsomal microvillar antigen. Mol Immunol 22:629, 1985

7. Benabdeljlil C, Michel-Bechet M, Lissitzky S :  
Isolation and iodinating ability of apical poles of sheep  
thyroid epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*  
27:74, 1967
8. Bjorkman V, Ekholm R, Deneff V-F : Cytochemical  
localization of hydrogen peroxide in isolated thyroid  
follicles. *J Ultrastructur Res* 74:105, 1981
9. Black BM, Woolner LB , Blackburn CM : The uptake of  
radioactive iodine by carcinoma of the thyroid gland : A  
study of 128 cases. *J Clin Endocrinol Metab* 13:1378, 1953
10. Blasi F, Fragomela F, Covelli I : Enzymic pathway for  
thyroxine synthesis through p-hydroxy-3,5-diiodophenyl  
pyruvic acid. *Endocrinology* 85:542, 1969
11. Botsch H, Schulz E, Lochner B : Serum thyreoglobulin  
bestimmung zur Verlaufkontrolle bei Schilddrüsencarcinom  
Patienten. *Dtsch Med Wschr* 104:1072, 1979
12. Braverman LE, Ingbar SH : Changes in thyroid function  
during adaptation to large doses of iodide. *J Clin Invest*  
42:1216, 1963
13. Chazenbalk G, Magnusson RP, Rapoport B : thyrotropin  
stimulation of cultured thyroid cells increases steady state

levels of the messenger ribonucleic acid for thyroid peroxidase. *Mol Endocrinol* 1:913,1987

14. Chiovato L, Vitti P, Lombardi A, Ceccarelli P, Cucchi P, Marcocci C, Carayon P, Pinchera A : Studies on the mechanism responsible for thyrotropin-induced expression of microsomal peroxidase antigen in FRTL-5 cells. *Endocrinology* 123:1140,1988

15. Collison KS, Banga JP, Barnet PS, Kung AWC, Mc Gregor AM : Activation of the thyroid peroxidase gene in human thyroid cells : effect of thyrotropin, forskolin and phorbol ester. *J Mol Endocrinol* 3:1,1989

16. Consiglio E, Kohn LD, Salvatore G, Slufrins S, Cavallo R, Formisano S : Mannose phosphate as a specific signal in the lysosomal biodegradation of thyroglobulin. In: Andreoli M, Monaco F, Robbins J (ed) *Advances in thyroid neoplasia* Field Educational Italia, Roma p 61,1981

17. Cooper DS, Maloof F, Ridway EC : Rat thyroid peroxidase (TPO) biosynthesis in vitro : studies using antiserum to porcine TPO. *Endocr Res* 13:15,1987

18. Czarnocka B, Ruf, Ferrand M, Carayon P, Lissitzky S : Purification of the human thyroid peroxidase and its identification as a microsomal antigen involved in autoimmune

thyroid disease. FEBS Lett 190:147,1985

19. Damante J, Chazenbalk G, Russo D : thyrotropin regulation of thyroid peroxidase messenger ribonucleic acid levels in cultured rat thyroid cells: evidence for the involvement of a nontranscriptional mechanism. Endocrinology 121:2889,1989

20. Davidson B, Soodak M, Neary JT, Strout HV, Kieffer JD, Mover H, Maloof F : The irreversible inactivation of thyroid peroxidase by methylmercaptoimidazole, thiouracil in vitro and its relationship to in vivo findings. Endocrinology 103:871,1978

21. DeGroot LJ, Davis AM : Studies on the biosynthesis of iodotyrosines. J Biol Chem 236:2009,1961

22. DeGroot LJ, Niepomnyszcz H : Biosynthesis of thyroid hormone: Basic and clinical aspects. Metabolism 26:665,1977

23. Deme D, Fimiani E, Pommier J, Nunez J : Free diiodotyrosine effects on protein iodination and thyroid hormone synthesis catalyzed by thyroid peroxidase. Eur J Biochem 51:329,1975

24. Deme D, Pommier j, Nunez j: Specificity of thyroid hormone synthesis: The role of thyroid peroxidase. Biochem

Biophys Acta 540:73,1978

25. Derwahl M, Seto P, Rapoport B: Complete nucleotide sequence of the cDNA for thyroid peroxidase in FRTL-5 rat thyroid cells. *Nucleic Acids Res* 17:8380,1989

26. Dunford HB, Ralston IM : On the mechanism of iodination of tyrosine. *Biochem Biophys Res Commun* 116:639,1983

27. Ealey PA, Henderson B, Loveridge N : Quantitative study of peroxidase activity in unfixed tissue sections of the guinea-pig thyroid gland. *Histochem J* 16:111,1984

28. Ekholm R, Wollman SH : site of iodination in the rat thyroid gland deduced from electron microscopic autoradiographs. *Endocrinology* 97:1432,1975

29. Elisei R, Swillens S, Vassart G, Ludgate M: Molecular characterization of thyroid peroxidase epitopes. In: Carayon P, Ruf J, eds. *Thyroperoxidase and thyroid autoimmunity*. Vol 207. London: Colloque INSERM, John Libbey Eurotext Ltd, p 203,1990

30. Engler H, Taurog A, Luthy C, Dorris ML: Reversible and irreversible inhibition of thyroid peroxidase-catalyzed iodination by thioureylene drugs. *Endocrinology* 112:86,1983

31. Ermans AM, Kinthaert J, Camus M: Defective intrathyroidal iodine metabolism in nontoxic goiter: Inadequate iodination of thyroglobulin. *Endocrinology* 28:1307,1968
32. Fischer AG, Schulz AR, Oliner L: The possible role of thyroid monoamine oxidase in iodothyronine synthesis. *Life Sci* 5:995,1966
33. Fitzgerald PS, Foote FW: The function of various types of thyroid carcinoma as revealed by the radioautographic demonstration of radioactive iodine ( $^{131}\text{I}$ ). *J Clin Endocrinol* 9:1143,1949
34. Foti D, Kaufman KD, Chazenbalk GD, Rapoport B: Generation of a biologically active, secreted form of human thyroid peroxidase by site-directed mutagenesis. *Md Endocrinology* 4:786,1990
35. Fragu P, Nataf B: Human Thyroid Peroxidase activity in benign and malign thyroid disorders. *J. Clin Endocrinol Metab* 45:1089,1977
36. Gavaret J-M, Chanmann HJ, Nunez J: The fate of the "lost side chain" during thyroid hormonogenesis. *J Biol Chem* 254: 11218,1975

37. Gerard CM, Lefort A, Libert F et al: Transcriptional regulation of the thyroperoxydase gene by thyrotropin and forskolin. Mol Cell Endocrinol 60:239,1988

38. Harington CR: Newer knowledge of the biochemistry of the thyroid gland. J Chem Soc (org) p 193, 1944

39. Harington CR, Barger G: Chemistry of thyroxine. III. Constitution and synthesis of thyroxine. Biochem J 21:169,1927

40. Hata J Yamashita S, Yagihashi S: Stable high level expression of human thyroid peroxidase in cultured Chinese hamster ovary cells. Biochem Biophys Res Commun 164:1268,1989

41. Heimann P:Ultrastructure of human thyroid.Acta Endocrinol (suppl) (Kbh) 53:42,1966

42. HosoyaT, Morrison MM: The isolation and purification of thyroid peroxidase. J Biol Chem 242:2828,1967

43. Ingbar SH: Autoregulation of the thyroid: Response to iodide excess and depletion. In second F. Raymond Keating Jr. Memorial Symposium,Rochester, MN, Mayo Clinic Proceedings,p 814 ,1972



44. Inoue K, Taurog A: Acute and chronic effects of iodide on thyroid radioiodine metabolism in iodine deficient rats. *Endocrinology* 83:279,1968
45. Inoue K, Taurog A: Digestion of  $^{131}\text{I}$ -labelled thyroid tissue with maximum recovery of  $^{131}\text{I}$ -iodothyronines. *Endocrinology* 81:319,1967
46. Johnson TB, Tewkesbury LB: The oxidation of 3,5-diodotyrosine to thyroxine. *Proc Natl Acad Sci USA* 28:73,1942
47. Kimura , Ikeda-Saito M: Human myeloperoxidase and thyroid peroxidase, two enzymes with separate and distinct physiological functions, are evolutionarily related members of the same gene family. *Proteins* 3:313,1988
48. Kimura S, Kotani T, Ohtaki S, Aoyama T: cDNA directed expression of human thyroid peroxidase. *FEBS Lett* 50:377,1989
49. Kimura S, Kotani T, Mc Bride OW et al: Human thyroid peroxidase: complete cDNA and protein sequence, chromosome mapping and identification of two alternately spliced mRNA's. *Proc Na Acad Sci USA* 84:5555,1987

50. Kotani T, Umeki K, Matsunaga S, Kato E, Ohtaki S:  
Defection of autoantibodies to thyroid peroxidase in  
autoimmune thyroid disease by micro-ELISA and immunoblotting.  
J Clin Endocrinol Metab 62:928,1986

51. Lamas L, Dorris ML, Taurog A: Evidence for a  
catalytic role for thyroid peroxidase in the conversion of  
iodotyrosine to thyroxine. Endocrinology 90:1417,1972

52. Libby Rd, Thomas Ja, Kaiser Lw, Hager Lp:  
Chloroperoxidase halogenation reactions: Chemical versus  
enzymic halogenating intermediates. J Biol Chem 257:5030.1992

53. Libert F, Ruel J, Ludgate M et al: Complete  
nucleotide sequence of the human thyroperoxidase- microsomal  
antigen cDNA. Nucleic Acids Res 15:6735,1987

54. Libert F, Ruel J, Ludgate M, et al: Thyroperoxidase:  
an auto-antigen with a mosaic structure made of nuclear and  
mitochondrial gene modules. EMBO J; 6:4193,1987

55. Lippes HA, Spaulding SW. Peroxide formation and  
glucose oxidation in calf thyroid slices: regulation by  
protein kinase-c and cytosolic free calcium. Endocrinology  
116:1306,1986

56. Lowry OH, Rosenberg NJ, Farr AL, Randa RJ :Protein measurement with the folin phenol reagent. L Biol Chem 193:265,1951

57. Magnusson RP: Thyroid peroxidase In : Everse J, Grisham MB (eds). Peroxidases in chemistry and biology. Vol I, Boca Raton, FL : CRC Pres p 199, 1990

58. Magnusson RP, Chazenbalk GD, Gestautas J, et al. Molecular cloning of the complementary deoxyribonucleic acid for human thyroid peroxidase. Mol Endocrinol 1:856,1987

59. Magnusson RP, Gestautas J, Taurog A, Rapoport B, Molecular cloning of the structural gene for porcine thyroid peroxidase. J Biol Chem 262:13885,1987

60. Magnusson RP, Rapoport B: Modulation of differentiated function in cultured thyroid cells: thyrotropin control of thyroid peroxidase activity. Endocrinology 116:1453,1985

61. Magnusson RP, Taurog A, Dorris ML: Mechanism of iodide-dependent catalytic activity of thyroid peroxidase and lactoperoxidase. J Biol Chem 259:197,1984

alterations in thyroid hormone synthesis induced by varying doses of iodide. *Endocrinology* 74:731,1964

75. Nagataki S, Shizume K, Okinaka S : Effect of thyrotropin on the metabolism of  $^{131}\text{I}$  in the thyroid gland. *Endocrinology* 69:199,1961

76. Nagataki S, Uchimura H, Masuyama Y, Nakao K : Thyrotropin and thyroidal peroxidase activity. *Endocrinology* 92:363,1973

77. Nakagawa H, Kotani T, Ohtaki S, Nakamura M, Yamazaki I : Purification of thyroid peroxidase by monoclonal antibody-assisted immunoaffinity chromatography. *Biochem Biophys Res Commun* 127:8,1985

78. Niepomniszcze H, Altschuler N, Korob MH, Degross OJ: Iodide peroxidase in human thyroid. *Acta Endocrinol(Kbh)* 62:193,1969

79. Niepomniszcze H, Castells S, DeGroot LJ : Peroxidase defect in congenital goiter with complete organification block. *J Clin Endocrinol Metab* 36:347,1973

80. Niepomniszcze H, DeGroot LJ, Hagen GA : Abnormal thyroid peroxidase causing iodide organification defect. *J Clin Endocrinol Metab* 34:607,1972

68. Nadler NJ, Lebland CP : The site and rate of the formation of thyroid hormone. Brookhaven Symp Biol 7:40,1955

69. Nagasaka A, De Groot LJ, Hatı R, Liu C : Studies on the biosynthesis of thyroid hormone: Reconstruction of a defined in vitro iodinating system. Endocrinology 88:486,1971

70. Nagasaka A, Hidaka H : Quantitative modulation of thyroid peroxidase by thyroid stimulating hormone. Biochem Biophys Res Commun 96:1143,1980

71. Nagasaka A, Hidaka H, Ishizuki Y : Studies on human iodide peroxidase : Its activity in various thyroid disorders. Clinica Chimica Acta 62:1,1975

72. Nagataki S : Effect of excess quantities of iodide. In Greep RO, Astwood EB (eds): Handbook of physiology , Vol III, Endocrinology 73:479,1963

73. Nagataki S, Hidemasa U, Rosenberg IN : Oxidation of  $^{14}\text{C}$ -formate in the thyroid slices: effects of TSH, dibutryl cyclic 3',5'-AMP (dbc AMP) and prostoglandin  $\text{I}_E$  ( $\text{PGI}_E$ ), in Further Advances in Thyroid Research, Fellingner K, Hafer R (eds), Verlag der Wiener Medizinischen Akademie, Vienna, p 825, 1970

74. Nagataki S, Ingbar SH : Relation between qualitative

assisted chromatography. *J Clin Endocrinol Metab* 63:570,1986

87. Ohtaki S, Nakagawa S, Kon K, Yamazaki I . The electron transport system and peroxidase in thyroid microcomes. In Robbins J, Braverman LE(eds): *Thyroid Research*, New York, American Elsevier, p 151, 1976

88. Ohtaki S, Nakagawa H, Nakamura M, Yamazaki I : Reactions of purified hog thyroid peroxidase with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, tyrosine and methylmercaptoimidazole (goitrogen) in comparison with bovine lactoperoxidase. *J Biol Chem* 257:761, 1982

89. Ohtaki S, Rosenberg IN : Some effects of monoamine oxidase inhibitors upon the thyroid. In Fellingner K, Hafer R (eds): *Further Advances in Thyroid Research*, Vienna, Verlag der Wiener Medizinischen Akademie, p 749, 1971

90. Okamura K, Taurog A, Krulich L : Elevation of serum 3,5,3'-triiodothyronine and thyroxine levels in rats fed Remington diets: opposing effect of nutritional deficiency and iodine deficiency. *Endocrinology* 108:1247,1981

91. Okamura K, Taurog A, Krulich L : Strain differences amongs rats in response to Remington iodine-deficient diets. *Endocrinology* 109:458,1981

92. Pommier J, Deme D, Nunez J: Effect of iodide concentration on thyroxine synthesis catalyzed by thyroid peroxidase. Eur J Biochem 37:406,1973
93. Pommier J, Tourniaire J, Deme D, et al:  
A defective thyroid peroxidase solubilized from a familial goiter with iodine organification defect. J Clin Endocrinol Metab 39:69,1974
94. Portman L, Hamada N, Heinrich G, De Groot LJ:  
Antithyroid passible identity with anti-microsomal antibody. J Clin Endocrinol Metab 61:1001,1985
95. Raben MS : The paradoxial effects of thiocyanate and thyrotropin on the organic binding of iodine by the thyroid in the presence of large amounts of iodide. Endocrinology 45:296,1949
96. Rawitch AB, Chernoff SB, Litwer MR, Rouse JB, Hamilton JW : Thyroglobulin structure function : The amino acid sequence surrounding thyroxine. J Biol Chem 258:2079, 1983
97. Riccabona G : Thyroid cancer. Its epidemiology, clinical features and treatment. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, London, Paris, Tokyo p 39, 1987
98. Riesco G, Bernal J, Sanchez- Franco F: Thyroglobulin

assisted chromatography. J Clin Endocrinol Metab 63:570,1986

87. Ohtaki S, Nakagawa S, Kon K, Yamazaki I . The electron transport system and peroxidase in thyroid microcomes. In Robbins J, Braverman LE(eds): Thyroid Research, New York, American Elsevier, p 151, 1976

88. Ohtaki S, Nakagawa H, Nakamura M, Yamazaki I : Reactions of purified hog thyroid peroxidase with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, tyrosine and methylmercaptoimidazole (goitrogen) in comparison with bovine lactoperoxidase. J Biol Chem 257:761, 1982

89. Ohtaki S, Rosenberg IN : Some effects of monoamine oxidase inhibitors upon the thyroid. In Fellingner K, Hafer R (eds): Further Advances in Thyroid Research, Vienna, Verlag der Wiener Medizinischen Akademie, p 749, 1971

90. Okamura K, Taurog A, Krulich L : Elevation of serum 3,5,3'-triiodothyronine and thyroxine levels in rats fed Remington diets: opposing effect of nutritional deficiency and iodine deficiency. Endocrinology 108:1247, 1981

91. Okamura K, Taurog A, Krulich L : Strain differences amongs rats in response to Remington iodine-deficient diets. Endocrinology 109:458, 1981



92. Pommier J, Deme D, Nunez J: Effect of iodide concentration on thyroxine synthesis catalyzed by thyroid peroxidase. Eur J Biochem 37:406,1973

93. Pommier J, Tourniaire J, Deme D, et al:  
A defective thyroid peroxidase solubilized from a familial goiter with iodine organification defect. J Clin Endocrinol Metab 39:69,1974

94. Portman L, Hamada N, Heinrich G, De Groot LJ:  
Antithyroid passible identity with anti-microsomal antibody. J Clin Endocrinol Metab 61:1001,1985

95. Raben MS : The paradoxial effects of thiocyanate and thyrotropin on the organic binding of iodine by the thyroid in the presence of large amounts of iodide. Endocrinology 45:296,1949

96. Rawitch AB, Chernoff SB, Litwer MR, Rouse JB, Hamilton JW : Thyroglobulin structure function : The amino acid sequence surrounding thyroxine. J Biol Chem 258:2079, 1983

97. Riccabona G : Thyroid cancer. Its epidemiology, clinical features and treatment. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, London, Paris, Tokyo p 39, 1987

98. Riesco G, Bernal J, Sanchez- Franco F: Thyroglobulin

defect in human congenital goiter. J Clin Endocrinol Metab  
38:33, 1974

99. Robbins J: Abnormal thyroglobulin in experimental  
rat thyroid tumor. In: Young S, Iman DR(ed) Thyroid  
neoplasia. Academic press, New York, p405 1968

100. Roitt I, Ling NR, Doniach D, Couchman KG : The  
cytoplasmic auto-antigen of the human thyroid. I.  
Immunological and biochemical considerations. Immunology  
7:375,1964

101. Rosenberg LL, Cavalieri RR: Studies of  
thyroglobulin of hypophysectomized rats. I. Sensitivity to  
the disaggregating influences of alkali and low ionic  
strength. Endocrinology 84:1322,1969

102. Santisteban P, Obregon MJ, Rodriguezpena A, Lamas  
L, Escobar Del Rey F, Morreale De Escobar G: A iodine  
deficient rats euthyroid? Endocrinology 110:1780,1982

103. Schussler Gc, Ingbar SH: The Role of intermediary  
carbohydrate metabolism in regulating organic iodinations in  
the thyroid gland. J Clin Invest 40:1394, 1961

104. Stanbury JB: Familial goiter. In stanbury JB,  
Wynngarden JB, Fredrickson DJ(eds): Metabolic Basis of

Inherited Disease, 3rd ed, New York, Mc Graw-Hill, p 223, 1972

105. Suzuki M: Pyridine nucleotide and iodination reaction in the thyroid. *Endocrinology* 3:81, 1966

106. Taurog A: Thyroid peroxidase and thyroxine biosynthesis. *Recent Prog Horm Res* 26:189, 1970

107. Taurog A: The mechanism of action of the thioureylene antithyroid drugs. *Endocrinology* 98:1031, 1976

108. Taurog A, Dorris ML, Guziec FS: Metabolism of  $^{35}\text{S}$ - and  $^{14}\text{C}$ -labelled 1-methyl-2-mercaptoimidazole invitro and invivo *Endocrinology* 124: 30, 1989

109. Taurog A, Dorris ML, Lamas L: Comparison of lactoperoxidase- and thyroid peroxidase -catalyzed iodination of coupling. *Endocrinology* 94:1286, 1974

110. Taurog A, Dorris ML, Yokoyama N, Slaughter C: Purification and characterization of a large tryptic fragment of human thyroid peroxidase with high catalytic activity. *Arch Biochem Biophys* 278:333, 1990

111. Taurog A, Lothrop ML, Estabrook RW. Improvement in the isolation procedure for thyroid peroxidase: nature of the heme prosthetic group. *Arch Biochem Biophys* 139:221, 1970

112. Thomas-Morvan C, Nataf B, Tubiana M: Thyroid proteins and hormone synthesis in human thyroid cancer. Acta Endocrinol (Kbh) 76:651,1974

113. Tice LW: Effects of hypophysectomy and TSH replacement on the ultrastructural localization of thyroperoxidase. Endocrinology 95:421,1974

114. Tice LW, Wollman SH: Ultrastructural localization of peroxidase on pseudopods and other structures of the typical thyroid epithelial cell. Endocrinology 94:1555,1974

115. Tice LW and Wollman SH: Ultrastructural localization of peroxidase activity on same membranes of the typical thyroid epithelial cells. Lab Invest 26:63, 1972

116. Turner SD, Chernoff SB, Taurog A and Rawitch AB: Differences in iodinated peptides and thyroid hormone formation after chemical and thyroid peroxidase-catalyzed iodination of human thyroglobulin. Arch Biochem Biophys, 222:245,1983

117. Valenta LJ: Thyroid peroxidase, thyroglobulin cAMP and DNA in human thyroid. J Clin Endocrinol Metab 43:466,1976

118. Valenta LJ, Valenta V, Wang CA, Vickery AL, Caulfield J, Maloof : Subcellular distribution of peroxidase activity in human thyroid tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 37: 560, 1973
119. Werner and Ingbar. *The thyroid. A Fundamental and Clinical Text.* Braverman L, Utiger R (ed) JB. Lippincott Company Philadelphia, New York, p 648, 1991
120. Wolff J, Chaikoff IL : Plasma inorganic iodide as a homeostatic regulator of thyroid function. *J Biol Chem* 174:555, 1948
121. Wartofsky L, Ingbar SH: Estimation of the rate of release of non-thyroxine iodine from the thyroid glands of normal subjects and patients with thyrotoxicosis. *J Clin Endocrinol Metab* 33:488, 197
122. Yamamoto K, DeGroot LJ : Function of peroxidase and NADPH cyt C reductase during the Wolff-Chaikoff effect. *Endocrinology* 93:822, 1973
123. Yamamoto K, DeGroot LJ : Peroxidase and NADPH-cytochrome C reductase activity during thyroid hyperplasia and involution. *Endocrinology* 95:1031, 1976
124. Yamazaki I : Peroxidase In : Hayaishi O (eds)

Molecular Mechanism of Oxygen Activation. New York Academic Press, p 538,1972

125. Yip CC, Hadley LD : Involvement of free radicals in the iodination of thyrosine and thyroglobulin by myeloperoxidase and a purified beef thyroid peroxidase. Arch Biochem Biophys 120:533,1967

126. Yokoyama N, Taurog A : Porcine thyroid peroxidase : relationship between the native enzyme and active, highly purified tryptic fragment. Mol Endocrinol 2:838,1988

**ÖZGEÇMİŞ**

1954 yılında Karamürsel'de doğdum. İlkokulu Biga'da, Ortaokulu Gölcük'te ,Liseyi ise İstanbul'da okudum. 1976 yılında İstanbul Üniversitesi Kimya Fakültesinden Kimya Yüksek Mühendisi olarak mezun oldum.Squibb ilaç Fabrikası'nda ve Vakıf Gureba Hastanesi'ndeki görevlerimden sonra 1985 yılında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biokimya Anabilim dalı'nda görev aldım. 1986 yılında uzmanlık eğitimine başlayarak 1990 yılında tamamladım. Aynı yıl İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Biokimya Doktora programına devam ettim. Halen aynı yerde uzman olarak görev yapmaktayım.