

**DENEYSEL OLARAK HİPERTİROİDİZM OLUŞTURULAN RATLARDA KAFEİK
ASİT FENETİL ESTER'İN PLAZMA HOMOSİSTEİN, ASİMETRİK DİMETİL
ARJİNİN, NİTRİK OKSİT VE LİPİD PROFİLİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Arş. Grv. Funda KARABAĞ

VETERİNER BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nâlan BAYŞU SÖZBİLİR

Tez No: 2010-006

2010 Afyonkarahisar

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DENEYSEL OLARAK HİPERTİROİDİZM
OLUŞTURULAN RATLARDA KAFEİK ASİT
FENETİL ESTER'İN PLAZMA HOMOSİSTEİN,
ASİMETRİK DİMETİL ARJİNİN, NİTRİK
OKSİT VE LİPİD PROFİLİ ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ARŞ.GRV. Funda KARABAĞ

VETERİNER FAKÜLTESİ

BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN

PROF. DR. Nalân BAYŞU SÖZBİLİR

Bu tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Komisyonu Tarafından -90. VF. 22 proje numarası ile
desteklenmiştir

Tez No: 2010-006

2010 AFYONKARAHİSAR

II

ÖNSÖZ

Doktora eğitimim süresince bizlere bilgi ve deneyimlerini aktaran, davranışları ile hem mesleki hem de insani yönden örnek olan değerli hocamız Prof. Dr. Nalân BAYŞU SÖZBİLİR Hanımefendiye,

Tanımış olmaktan çok büyük mutluluk duyduğum, engin bilgi ve deneyimlerini bizlerle paylaşan sayın Prof. Dr. Nihat BAYŞU'ya ve Prof. Dr. Yılmaz DÜNDAR'a,

Eğitimime katkılarından dolayı Prof. Dr. Recep ASLAN, Prof. Dr. Abdullah ERYAVUZ ve Doç. Dr. Gülcan AVCI hocalarıma, Tez çalışmama önemli katkıları olan Dr. İsmail KÜÇÜKKURT, Dr. Fatih FİDAN ve Yrd. Doç. Dr. Sinan İNCE'ye

Ve bugünlere gelmemde her türlü fedakârlığı gösteren annem Elif KARABAĞ ve babam Abdullah KARABAĞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

III

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL VE ONAY	I
ÖNSÖZ	II
İÇİNDEKİLER	III
SİMGELER VE KISALTMALAR	IV
ŞEKİLLER	V
TABLolar	VI
GRAFİKLER	VII
1.GİRİŞ	1
1.1. Tiroid Bezi	4
1.2. Tiroid Hormonu Yapımı ve Salınımı	5
1.3. Tiroid Hormonlarının Vücutta Taşınmaları	8
1.4. Tiroid Hormonlarının Etkileri	8
1.4.1. Tiroid Hormonlarının Karbonhidrat Metabolizmasına Etkileri	10
1.4.2. Tiroid Hormonlarının Lipid Metabolizmasına Etkileri	10
1.4.3. Tiroid Hormonlarının Protein Metabolizması Üzerine Etkileri	11
1.5. Tiroid Hormon Hastalıkları	12

1.5.1. Hipotiroidizm	12
1.5.2. Hipertiroidizm	12
1.5.3. Guatr	13
1.6. Endotel	13
1.7. Endotel Hücresinin Fonksiyonları	14
1.8. Endotel Disfonksiyon	15
1.9. Tiroid Hormonları ve Endotel	16
1.10. Nitrik Oksit	16
1.11. Nitrik Oksit Sentaz	18
1.11.1. Nitrik Oksit Sentaz'ın Yapısı	18
1.11.2. Nitrik Oksit Sentaz'ın izoformları	20
1.11.3. Nitrik Oksitin Sentezi	20
1.12. Asimetrik Dimetil Arjinin	23
1.13. Asimetrik Dimetil Arjinin Metabolizması	24
1.14. Homosistein ve Metabolizması	26
1.15. Total Homosistein Düzeyini Etkileyen Faktörler	28
1.16. Kafeik Asit Fenetil Ester	30
1.17. Kafeik Asit Fenetil Esteril Yapısı ve Kimyasal Özellikleri	30
1.18. Kafeik Asit Fenetil Ester'in Fonksiyonel Özellikleri	31

2. MATERYAL VE METOD	33
2.1. Analizlerde Kullanılan Cihaz ve Malzemeler	33
2.2. Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeleler	34
2.3. Deney Hayvanları	34
2.4. Deney Gruplarının ve Hipertiroidizmin Oluşturulması	36
2.4.1. Deneysel Hipertiroidizmin Oluşturulması	36
2.4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	37
2.5. Kan Örneklerinin Alınması	38
2.6. Nitrit ve Nitrat Düzeyleri Ölçümü	38
2.7. Asimetrik Dimetil Arjinin Düzeyi Ölçümü	40
2.8. Homosistein Düzeyi Ölçümü	42
2.9. fT4 Düzeylerinin Belirlenmesi	44
2.10. fT3 Düzeyinin Ölçümü	45
2.11. Plazma Kolesterol Düzeyi Ölçümü	47
2.12. Plazma Trigliseric Düzeyi Ölçümü	48
2.13. HDL Kolesterol Düzeyi Ölçümü	49
2.14. LDL Kolesterol Düzeyi Ölçümü	50
3. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	51
4. BULGULAR	52
4.1. Deney Gruplarının Haftalık Canlı Ağırlık Ölçümleri	53
4.2. Plazma fT4 Sonuçları	56

4.3. Plazma fT3 Sonuçları	57
4.4. Plazma Homosistein Sonuçları	58
4.5. Plazma ADMA Sonuçları	59
4.6. Plazma NO Sonuçları	60
4.7. Plazma Total Kolesterol Sonuçları	61
4.8. Plazma HDL Kolesterol Sonuçları	62
4.9. Plazma LDL Kolesterol Sonuçları	63
4.10. Plazma Triglisericid Sonuçları	64
5. TARTIŞMA	65
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	72
ÖZET	74
SUMMARY	77
KAYNAKLAR	80
ÖZGEÇMİŞ	98

IV

SİMGELER ve KISALTMALAR

DIT	Diiyodotirozin
MIT	Monoiyodotirozin
T3	Triiyodotironin
T4	Tiroksin
TBGs	Tiroksin bağlayıcı globulin
TBPA	Tiroksin bağlayıcı prealbumin
RNA	Ribonükleik asit
ATP	Adenozin trifosfat
TSH	Tiroid stimüle edici hormon
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
HDL	Yüksek Dansiteli Lipoprotein
LDL	Düşük Dansiteli lipoprotein
NO	Nitrik oksit
EDRF	Endotel kaynaklı gevşetici faktör
sGC	Solübl guanilat siklaz
cGMP	Siklik guanozin monofosfat
NOS	Nitrik oksit sentaz
FMN	Flavin mononükleotid
FAD	Flavin adenin dinükleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

CaM	Kalmodulin
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
iNOS	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
ADMA	Asimetrik dimetilarjinin
SDMA	Simetrik dimetilarjinin
PRMT-1	Protein arjinin metiltransferaz tip 1
L-NMMA	Nmonometil L-Arjinin
PRMT-2	Protein arginin metiltransferaz tip 2
DDAH	Dimetilarjinin dimetilaminohidrolaz
SAM	S-adenozil metiyonin
SAH	S-adenozil homosisteine
CBS	Sistatyonin β sentetaz
BHMT	Betain homosistein metil transferaz
BH4	Tetrahidrobiopterinin
MTHFR	Metilentetrahidrofolat redüktaz
MS	Metiyonin sentetaz
Hcy	Homosistein
CAPE	Kafeik asit fenetil esterin
NF-kB	Nüklear Faktör Kappa-B
FMN	Flavin mononükleotid
FAD	Flavin adenin dinükleotid

ŞEKİLLER

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1. Tiroid Bezi	4
Şekil 1.2.1. Tiroid Hormonları	5
Şekil 1.2.2. Tiroid Hormonlarının Yapım ve Salınımı	7
Şekil 1.8. Endotel Disfonksiyonu	15
Şekil 1.10. Nitrik Oksit Fonksiyonları	18
Şekil 1.11.1 . Nitrik Oksit Sentaz'ın Dimer Yapısının ve Kofaktörleri ve Şematik Gösterimi	19
Şekil 1.11.3.1. L-arjinin Kimyasal Yapısı	21
Şekil 1.11.3.2. Nitrik Oksit Oluşumunda Kimyasal Reaksiyon	22
Şekil 1.11.3.3 Damar Duvarında NO Oluşumu ve Etki Mekanizması	23
Şekil 1.12. ADMA' nın Moleküler Yapısı	24
Şekil 1.13.1. ADMA Metabolizması	25
Şekil 1.13.2. ADMA' nın Biyokimyasal Yolları	25
Şekil 1.14. Homosistein Metabolizması	27
Şekil 1.17. Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)'in Kimyasal Yapısı	31
Şekil 2.4.2. Tiroksin Etkisi ile Bazal Metabolizmadaki Değişim	36

VI

TABLÖLAR

	<u>Sayfa</u>
Tablo 2.3. Standart Rat Yemi	35
Tablo 4.1. Grupların Canlı Ağırlık Ölçümleri	53
Tablo 4. Ölçülen Parametrelere Ait Bulgular	55

VII

GRAFİKLER

Grafik 3.1. Grupların Canlı Ağırlık Ölçümleri	54
Grafik 4.2. Gruplardaki Plazma ft4 Düzeyleri	56
Grafik 4.3. Gruplardaki Plazma ft3 Düzeyleri	57
Grafik 4.4. Gruplardaki Plazma Homosistein Düzeyleri	58
Grafik 4.5. Gruplardaki Plazma ADMA Düzeyleri	59
Grafik 4.6. Gruplardaki Plazma NO Düzeyleri	60
Grafik 4.7. Gruplardaki Plazma Total Kolesterol Düzeyleri	61
Grafik 4.8. Gruplardaki Plazma HDL Kolesterol Düzeyleri	62
Grafik 4.9. Gruplardaki Plazma LDL Kolesterol Düzeyleri	63
Grafik 4.10. Gruplardaki Plazma Trigliserid Düzeyleri	64

1. GİRİŞ

Tiroid hormonlarının özellikle kalp ve vasküler sistem üzerinde bir çok etkisi gösterilmiştir (Fazio et al., 2004). Tiroid hastalığı olan kişilerde, sıklıkla kardiovasküler hemodinamizimdeki değişimleri destekleyen klinik bulgular görülmüştür (Morkin et al., 2001).

Hipertiroidizmde görülen kardiak debi artışının, kan basıncının yükselmesi ve periferik vasküler rezistanstaki azalma ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Fazio et al., 2004). Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda, farklı tiroid hastalıkları esnasında vasküler yanıtındaki değişimler gösterilmiştir (Klein ve et al., 2001; Capo and Sillau, 1983).

Günümüzde nitrik oksit (NO), vasküler endotelden sürekli olarak salıverildiği ve böylece vasküler tonusun regülasyonunda önemli rolü olduğu kabul edilmektedir (Atalık ve ark.,1997).

NO, kardiovasküler sistemin düzenleyici mekanizmalarının geniş bir kısmı ile ilişkilidir. Vazodilatasyonu uyarmasının yanında trombositlerin agregasyon ve adezyonunu inhibe eder. Bununla beraber monosit ve lökositlerin endotele adezyonunu ve düz kas hücre proliferasyonunu inhibe eder. Ayrıca NO, süperoksit radikalinin vasküler üretimini azaltarak LDL oksidasyonunun bir inhibitörü gibi davranır (Erdem ve ark., 2009).

Nitrik oksit sentezinin inhibisyonundan ise endojen nitrik oksit sentaz (NOS) inhibitörü olarak bilinen asimetrik dimetil arjinin (ADMA) sorumludur. ADMA Y-taşıyıcı protein adı verilen katyonik aminoasit taşıyıcıları aracılığıyla endotelial hücrelerin içine girerler. Metilarjininler birbirleriyle ve arjinin aminoasidi ile hücre içine giriş için yarışır. Yüksek konsantrasyondaki ADMA, NOS inhibisyonu yanı

sıra L- Arjininin hücre içine transportunu engelleyerek de NO sentezini azaltır (Erdem ve ark., 2009).

Güçlü vazodilatör etkisi olan NO; platelet agregasyonu, lökosit migrasyonu, hücrel adezyon ve vasküler düz kas proliferasyonunu inhibe eder (Jiang et al., 2004; Sela 2005). Bu nedenle, ortamda NO azaldığında, endotel homeostaz vazokonstriksiyon lehine bozulur ve endotelial disfonksiyon başlar (Endemann et al., 2004). ADMA yüksekliği ve endotel fonksiyon bozukluğu ile seyreden çeşitli klinik durumlar; konjestif kalp yetmezliği, diyabet, bozulmuş insulin rezistansı, hipertansiyon, hiperhomosisteinemi, son dönem böbrek yetmezliği olup bu hastalıklarda akut vasküler olaylar sonucu ölüm sık görülür (Ogawa et al., 1979). Nitrik oksit eksikliği kardiyovasküler hastalıkların başlıca nedeni olmasına karşın, araştırmacılar öncelikli olarak ADMA seviyesine yönelmişlerdir (Erdem ve ark., 2009). Artmış ADMA seviyeleri hemen hemen tüm geleneksel kardiyovasküler risk faktörleri ile birliktelik göstermektedir.

Homosistein; metiyonin metabolizması esnasında oluşan, yapısında sülfür bulunduran bir aminoasittir (Ueland et al., 1993). Yüksek homosistein konsantrasyonları birçok mekanizma yoluyla, altta yatan sebepten bağımsız olarak vasküler yapıya ve fonksiyonuna zarar vermektedir. Bu mekanizmalardan bazıları; endotelial disfonksiyonu, trombosit aktivasyonu ve trombüs formasyonu oluşumu, sitotoksik reaktif oksijen radikalleri oluşumu, lipid peroksidasyonu, LDL kolesterolün oksidasyonu ve vasküler düz kas proliferasyonudur (Eikelboom et al., 1999).

Kafeik asit fenetil ester (CAPE) yapıcı flavonoidlere benzeyen, bal arılarının bitki özlerinden topladığı propolisin aktif bir bileşenidir (Mirzoena et al., 1996). Propolis, bal arıları tarafından kovanda üretilen doğal bir üründür. Çeşitli bitkilerin yaprak, gövde ve tomurcuklarından işçi arılar tarafından toplanıp kovanda biriktirilen propolis keskin ve güzel kokulu, suda erimeyen, acımsı tatta balmumu ve bitki öz suyundan oluşan bir maddedir (Hepşen ve ark., 1996). Yapılan araştırmalarda araştırmacılar, CAPE'nin immünomodülatör (Dimov et al., 1992), antioksidan (Pascual et al., 1994; Krol et al., 1990), antimutajenik (Edenharder et al., 1993),

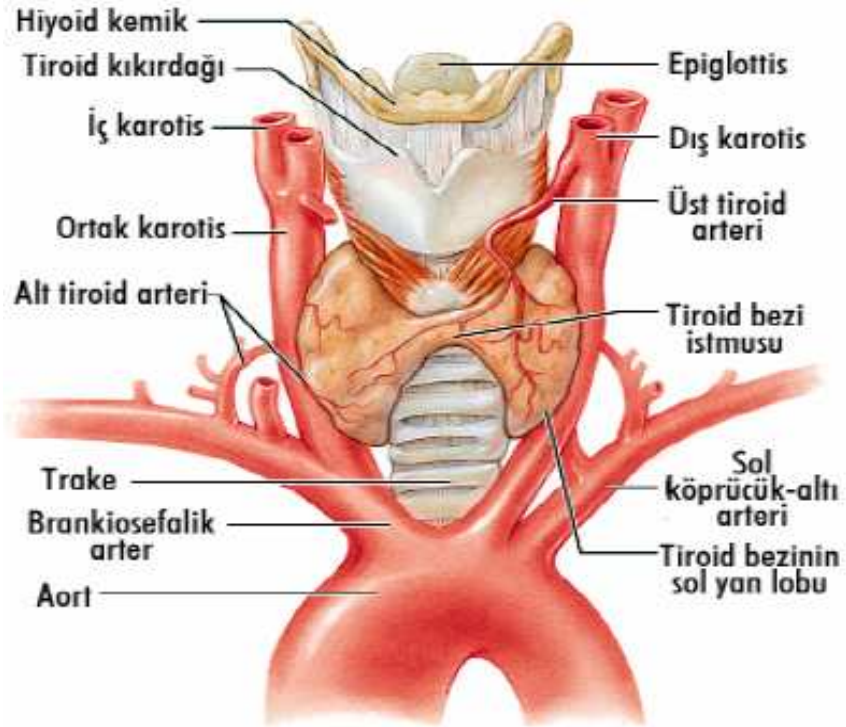
antiinflamatuvar ve antimikrobiyal (Dobrowolski et al., 1991) etkisi olduğunu göstermişlerdir.

Bu tez çalışması ile deneysel olarak hipertiroidizm oluşturulan ratlarda, plazma NO, ADMA, homosistein seviyelerine ve lipid profiline bakarak hipertiroidizmin oluşturabileceği endotel hasarını belirlemek, hem de CAPE'nin bu olası hasar üzerine ve tiroid hormonlarına etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Hedeflenen, hipertiroidizmin sebep olduğu patolojik duruma karşı CAPE'nin koruyucu etkisinin olup olmadığının belirlenmesidir. Bu tez çalışmasıyla CAPE'nin hipertiroidizm ve oluşturduğu komplikasyonlara karşı kullanımının uygunluğu değerlendirilecektir.

Sonuç olarak bu tez çalışması ile hipertiroidizmin endotel hasarına ve bununla birlikte uzun dönemde endotel disfonksiyon sonucu oluşabilecek birçok komplikasyona neden olabileceğini aynı zamanda CAPE'nin vasküler ve tiroid hastalıkları üzerindeki antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri ile hipertiroidizmin oluşturduğu komplikasyonların baskılanmasına destek olabileceği düşünülmektedir.

1.1. Tiroid Bezi

Tiroid bezi Şekil 1.1. de gösterildiği gibi boynun ön tarafında tiroid yuvası denilen yerde, trekeanın ön ve yan duvarına gevşek bağ dokusu aracılığı ile oldukça sıkı bir şekilde bağlı, ağırlığı 20-25 g kadar olan bir iç salgı bezidir. Mikroskopik olarak incelendiğinde, santral lümeninde iyodine tiroglobulin agregatı içeren (kolloid) sferik foliküllerden oluştuğu görülür (Gardner et al., 2007). Foliküllerin çeperi tek sıralı epitel hücreleri ile çevrilmiştir. Bez istirahat halinde iken folikülü çevreleyen epitel hücreleri yassı ve folikül boşluğu geniştir. Bez aktif iken foliküller küçülür ve epitel hücreleri kübik bir biçim alırlar (Noyan, 2000).

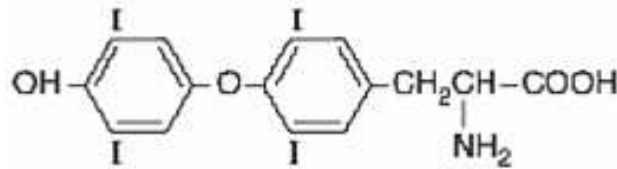


Şekil 1.1. Tiroid Bezi (Noyan., 2000).

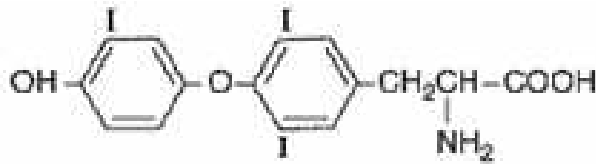
Tiroid bezi kan damarlarınca çok zengindir. Birim zaman içinde ve bir gram doku ağırlığı için bezden akan kan miktarı, vücuttaki diğer bütün dokulardan fazladır (4-6 ml/g/dakika). Tiroid bezi dokuların normal fonksiyonu için gerekli olan metabolizma hızını ayarlar. Vücut doku hücrelerinin oksijen kullanımını artırır, karbonhidrat ve lipid metabolizmasının ayarlanmasına yardım eder (Noyan, 2000).

TiroidHormonuYapımı ve Salınımı

Tiroid hormonları iyodinize tirozinlerdir. Başlıca tiroid hormonları triiyodotironin (T3) ve tiroksin (T4)'dir. Tiroid hormonlarının kimyasal yapısı Şekil 1.2.1. de gösterilmiştir. Tiroksin 4, triiyodotironin 3 iyot taşıyan aminoasitlerdir. İyot tiroid hormonlarının anahtar yapısal komponentidir. İyodid (indirgenmiş formda, I^-) veya iyodad olarak su ve besinlerle alınır. Organik ve element halindeki iyot, sindirim ve emilim esnasında iyodide (I^-) indirgenir ve plazmada bu şekilde bulunur (Noyan, 2000).



T4



T3

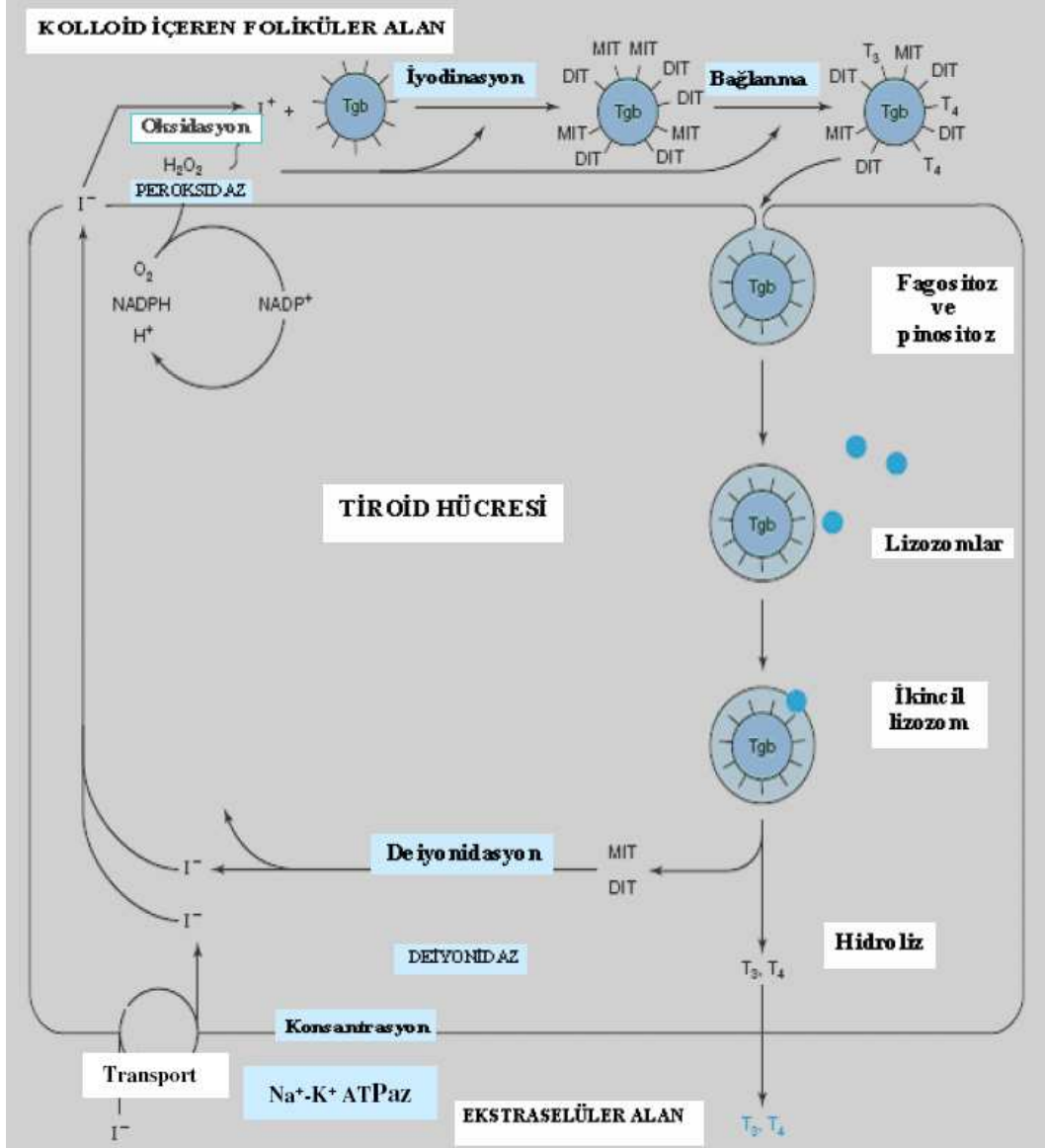
Şekil 1.2.1. Tiroid Hormonları (T4 ve T3) (Murray et al., 2003).

Tiroid bezi hücreleri, iyodidi aktif transport yoluyla dolaşımdan hücre içine alırlar. Tiroid stimüle edici hormon (TSH) iyodid aktif transportunu hızlandırır. Bez içinde, plazma ya da serumda bulunandan çok daha fazla iyodid bulunur. Hücreye giren iyodid, tiroid peroksidaz ile iyot ($2I^- \rightarrow I_2 + 2e^-$) haline dönüştürülür. İyot, tiroglobüline bağlı tirozin moleküllerine bağlanır. Bu şekilde monoiyodotirozin (MIT) ve diiyodotirozin (DIT) meydana gelir (Şekil 1.2.2). Aktif tiroid hormonları bu iyotlu tirozinlerin bir araya gelmesi ile oluşur. İki molekül diiyodotirozinin oksidatif olarak birleşmesi ile tetraiyodotironin (T4-tiroksin), bir diiyodotirozin ile bir monoiyodotirozinden de triiyodotironin (T3) sentezlenir (Noyan, 2000).

Tiroid bezi üzerindeki etkilerinde iyot ve flor arasında kompetitif bir antogonizma vardır. Maraşlı (1991) yaptığı bir çalışmada, yurdumuzda özellikle Doğu Anadolu Bölgesindeki toprak ve sulara yüksek oranda flor bulunmasına bağlı olarak bölge insan ve hayvanlarında sık görülen kronik florozis vakalarında, iyottan daha aktif bir halojen olan florun fazla alımına bağlı olarak, florun tiroid bezinde iyot gibi birikip T3 ve T4 sentezini önleyerek hipotiroidizme sebep olduğu ve endemik guatrın görüldüğünü gözlemlemiştir.

Tiroid hücrelerinin folikül içine salgıladığı proteolitik ve peptidaz enzimleri tiroglobülinden T3 ve T4 hormonlarını ayırarak serbestleştirirler. T3 ve T4 sistemik dolaşıma geçer. Kana geçen bu hormonlardan çoğu (%90) T4, az bir kısmı (%10) T3 tür. Fakat gerek tiroid bezinde gerekse diğer doku hücrelerinde T4'den bir iyot enzimatik bir reaksiyonla ayrılarak T3 meydana getirilir (Bayşu Sözbilir, 2008).

Tiroid hormonları karaciğerde sülfatlar ve glukuronidlerle birleştirilirler ve safra içinde barsaklara verilirler. Bir kısmı barsaklardan emilerek kana geçirilir, bir kısmı da dışkı ile vücudu terk eder. Bu hormonların başka bir yıkılma yolu da deaminasyon ve dekarboksilasyon ile olur. Bileşiklerdeki iyot ise deiyodinazlar tarafından çeşitli organlarda özellikle karaciğer ve böbrekte uzaklaştırılırlar. Hormonların yıkılmasından sonra serbest hale geçen iyot, yeniden hormonların sentezinde kullanılır (Bayşu Sözbilir, 2008).



Şekil 1.2.2. Tiroid Hormonlarının Yapım ve Salınımı (Murray et al.,2003).

Tiroid hormonunun çoğunu alan dokular karaciğer, böbrek ve kaslardır. Beyin, dalak ve gonadlar çok az tiroid hormonu alırlar. Tiroid hormonlarının periferik dokulara nasıl girdiği kesinlik kazanmamakla birlikte pasif difüzyon ile gerçekleştiği tahmin edilmektedir. Yine olasılıkla, periferik dokularda hücre yüzeyinde tiroid hormonuna spesifik reseptörler olduğu düşünülmektedir. Hücre içinde tiroid hormonları ya

sitoplazmada serbest halde kalırlar ya da düşük afiniteli sitozolik reseptörler ya da yüksek afiniteli nükleer mitokondriyal reseptörlere bağlanırlar (Francis, 1991).

1.3. Tiroid Hormonlarının Vücutta Taşınmaları

Dolaşımdaki tiroid hormonları plazma proteinine bağlı olarak taşınırlar. Tiroksinin %0.04'ü, T3'ün %0,4'ü bağlanmadan veya serbest olarak taşınır. Üç major tiroid hormon transport proteini mevcuttur: tiroksin bağlayıcı globulin (TBGs), transtiretin ya da diğer söylenişle tiroksin bağlayıcı prealbumin (TBPA) ve albümin. Tiroksin moleküllerinin yaklaşık %75'i, T3 moleküllerinin yaklaşık %70'i TBGs ye bağlı olarak dolaşıma girerler. T3 veya T4'ün kalanının çoğu tiroid-bağlayıcı prealbumine (TBPA) ya da albümine bağlı olarak taşınır (Francis, 1991).

1.4. Tiroid Hormonlarının Etkileri

Tiroid hormonlarının en önemli etkileri, bütün dokularda bazal metabolizma hızını, ısı üretimini ve oksijen tüketimini artırmasıdır. Bu hormonların, hücrelerin oksijen kullanımını artırmasına **kalorijenik** etki denir (Yılmaz, 1999).

Tiroid hormonları etkilerini iki genel mekanizma ile gösterirler;

(a) T3'ün nükleer reseptörlerle etkileşimi aracılığıyla oluşan genomik etkiler, gen aktivitesinin düzenlenmesi (nükleustaki reseptörlerin doğal ligandının T3 olduğu ve T4'ün onun prekürsörü olarak görev yaptığı bilinmektedir),

(b) T3 ve T4'ün bazı enzimler (kalsiyum ATP'az, adenilat siklaz, monomerik pirüvat kinaz gibi), glukoz taşıyıcıları ve mitokondrial proteinler ile etkileşimleri aracılığıyla oluşan nongenomik etkiler (Gardner et al., 2007).

Nükleus içine giren tiroid hormonu tarafından bu reseptörlerin aktivasyonu, bazı genlerin transkripsiyonunu hızlandırarak özel mRNA'lar aracılığı ile yapısal ve fonksiyonel bazı hücre proteinlerinin sentezini artırır. Nükleer reseptörler histon özellik göstermeyen asidik proteinlerdir (Latham et al., 1976). T3'ün hücre düzeyindeki etkisi reseptörle birleşmesi ile başlar. Hormon-reseptör birleşmesi, hormon tarafından sentezi başlatılacak proteine ait mRNA dizisinin meydana gelmesini hızla arttırmaktadır. Bu olay nükleer reseptörlerin transkripsiyonu hızlandırdığını gösterir. T3 ile nükleer reseptör kompleksinin transkripsiyon yönünden aktif kromatin ile ilişki kurduğu tahmin edilmektedir (Jump et al., 1980).

Tiroid hormonu reseptörlerinin ikinci yerleşme yeri mitokondrilerin iç membranıdır. Buradaki reseptörler lipoprotein yapısındadır. Bu hormonlar, bazı hücre türlerinde, mitokondrilerin oksidatif metabolizmasını, oksijen tüketimini ve dolayısıyla oksidatif fosforilasyon olayını (ATP oluşumunu) artırırlar. Hücrede oksidasyonun artmasında, mitokondrilerin sayısının artması ve her bir mitokondri içindeki oksidasyon yapan birimlerin sayısının artması rol oynar. Tiroid hormonları bazı organlarda (beyin, testis ve dalak gibi) oksidasyon ve oksijen tüketimini arttırmazlar (Jolly et al., 1984).

Hücre membranında Na^+ ve K^+ döngüsünden sorumlu bir aktif transport mekanizmasının esasını oluşturan $Na^+ K^+-ATP$ 'az'ın, tiroid hormonları tarafından indüklenerek, etkinliği artırılır ve hücrenin ATP kullanımı artar. T3 etkisinin meydana gelmesinde bazı hormonlar ve faktörler işe karışmaktadır. Kanda tiroid hormonu belli bir düzeyi aşınca TSH salınması inhibe edilir. Bu inhibisyon, kanda hormon miktarının ayarlanmasında negatif-feedback mekanizması ile olmaktadır. Tiroid hormonu bu etkisini, diğer etkileri gibi, adenohipofizde TSH salgılayan hücrelerin nükleer reseptörleri ile etkileşerek yapmaktadır. Adenohipofizin TSH sentezleyen hücrelerinin nükleer reseptörleri T3 tarafından işgal edilince TSH salınması durur. Kanda tiroid hormonu düzeyi düşünce, nükleer reseptörlerin T3 ile işgal edilemeyen miktarı artar ve TSH salınması, dolayısıyla T4 salınması artar. T4 diğer doku hücrelerinde olduğu gibi, TSH salgılayan hücrelerde de deiyodinyasyon

yoluyla T3'e dönüştürülmektedir. T3'ün TSH salgılayan hücrelerin nükleer reseptörleri ile birleşmeleri, negatif-feedback yoluyla, TSH salınımını inhibe eder (Silva et al., 1997).

1.4.1. Tiroid Hormonlarının Karbonhidrat Metabolizmasına Etkileri

Tiroid hormonları karbonhidrat metabolizmasının hemen hemen bütün evrelerini etkiler. Dokular tarafından glukoz kullanımını artırır. Karaciğer, iskelet kası ve kalp kasında glikojenolizi artırır ve kan glukoz düzeyini yükseltir. Bu yükseliş başlangıçta glukozüriye bile neden olabilir. Ancak sonradan katabolizmanın ve adrenalın salınmasının artması nedeniyle, karaciğer glikojeni tükenir ve kan glukoz düzeyi düşer. Tiroid hormonlarının karbonhidrat metabolizması üzerinde doza bağımlı ters bir etkisi mevcuttur. Örneğin, sıçanlarda küçük dozda ve insülin varlığında glikojen sentezini artırırken, yüksek dozda tiroid hormonu karaciğer glikojeninin glukozu parçalanmasını hızlandırır (Noyan, 2000).

Tiroid hormonları glukozun intestinal absorpsiyon hızını, yağ dokusu ve kaslar tarafından alım hızını artırır. İnsülinin yıkımı üzerinde de etkilidirler ve yüksek dozda, insülin yıkımını artırır. Tiroid hormon preparatları, diyabetiklerde insülin gereksimini artırır. Hipotiroidizm halinde insülin yıkımı azalır. Hipertiroidli hastalarda insüline duyarlılık genellikle azalır, hipotiroidizmde ise duyarlılık artar (Duckworth, 1988).

1.4.2. Tiroid Hormonlarının Lipid Metabolizmasına Etkileri

Tiroid hormonları en çok lipid metabolizması üzerine etkili olmaktadır. Adipoz dokuda lipidlerin yıkımını artırarak lipidlerin ayrılmasına ve lipid depolarının

azalmasına neden olur. Bunun sonucu olarak da plazmada lipidlerin ayrışmasına ve lipid depolarının azalmasına neden olur. Böylece plazmada serbest yağ asitleri düzeyi yükselerek vücudun ihtiyacı olan enerji gereksiniminin büyük bir bölümü sağlanabilmiş olur. Tiroid hormonları lipid oluşumunu ve de yıkımını sağlayarak vücuda ısı sağlamaktadır. Bu etkisine **terminojenik** etki denir (Yılmaz, 1999).

Tiroid hormonu fazlalığında lipid depoları azalır ve kanda lipid düzeyi düşer. Adenilat siklaz-cAMP mekanizmasını uyararak ve dokuları diğer lipolitik maddelere karşı (katekolaminler, büyüme hormonu, glukagon gibi) duyarlı hale getirerek yağ dokuda lipolizi arttırır. Lipoliz sonucu meydana gelen ve kanda derişimi artan serbest yağ asitlerinin okside olmalarını hızlandırır. Tiroid hormonu, kolesterolün dışkı ile atılmasını ve safra asitlerine dönüşmesini artırarak plazma kolesterol derişimini düşürür (Silva et al., 1997). Ayrıca hücrelerin apoprotein reseptörlerinin yapımını artırarak, kolesterol taşıyan LDL'nin hücrelere girişini ve yıkımını da hızlandırır (Comporti, 1985).

1.4.3. Tiroid Hormonlarının Protein Metabolizması Üzerine Etkileri

Tiroid hormonları protein sentezini ve özgül enzimlerin sentezini artırır; bunlar da diğer metabolik olayları hızlandırır (Noyan,2000). Tiroid hormonlarının protein metabolizmasına etkisi, hormon verilen hayvanın ya da bireyin metabolik durumuna ve hormon dozuna göre değişir. mRNA, tRNA ve rRNA sentezini artırarak, azot dengesi üzerinde pozitif etki gösterir. Bu etki ile büyüme hormonu uyarılarak sentezi arttırılır (Janoff et al., 1982).

1.5. Tiroid Hormon Hastalıkları

1.5.1. Hipotiroidizm (Hipotireoz)

Tiroid bezinin gerekli olduğu kadar hormon üretememesi durumuna "hipotiroidizm" denir. Bu hastalarda kilo alımı, uyku eğilimi, egzersiz kapasitesinde azalma ve soğuğa karşı intolerans görülür. Daha ağır hastalarda kabızlık, seste kalınlaşma, saç dökülmesi, tırnaklarda kırılma, kolesterol seviyelerinde artış, miksödem, kretinizm ciltte kuruluk ve guatr görülür. Hipotiroid hayvanlarda da bazal metabolizma ve hepatik oksijen tüketimi azalmıştır (Liverini et al., 1992). Hipotiroidizm nedenleri arasında en sık görüleni iyot eksikliğidir (Schmid et al., 2006).

1.5.2. Hipertiroidizm (Hipertireoz)

Hipertiroidizm, tiroid bezinden aşırı tiroid hormonu salgılanmasıyla oluşmaktadır ve büyüme hormonu salınımının değişmesiyle ilişkilidir. Toksik diffüz guatr (Graves hastalığı), toksik nodüler guatr, toksik multinodüler guatr, TSH salgılayan hipofiz adenomu hipertiroidizme yol açan nedenlerdir (Zimmerman et al., 2004). Bu hastalarda tiroid bezinde büyüme, tiroid bezinin fazla çalışmasına bağlı nabız artışı, terleme, sinirlilik, titreme gibi bulguların dışında; gözlerde dışarı doğru çıkma (eksoftalmus) ve bacaklarda ödem bununla birlikte kilo kaybı, kolesterol seviyelerinde azalma hipertiroidizimli hastalarda görülmektedir (EL Fassi et al., 2006).

1.5.3. Guatr

Tiroid bezinin yangılı ve kötü huylu olmamak şartıyla herhangi bir şekilde büyümesine guatr denir. Endemik guatr ise, epidemiyolojik açıdan, tiroid hiperplazisinin belli bir coğrafi bölgede yoğunlaşmasıdır (tiroid bezi 300-500 g'a kadar ulaşabilir) (Gürleyik ve ark., 2003). Ülkemizde özellikle iyot yetersizliğinden ileri gelen, endemik guatrın en çok görüldüğü bölgelerin; Bolu-Kastamonu civarı, Isparta- Burdur civarı ve Doğu Karadeniz bölgesi olduğu belirtilmiştir (Bayşu Sözbilir, 2008). Diğer tip guatrlar hem hipotiroidizm de hem de hipertroidizmde görülür. Nedenleri iki şekilde olabilir. Bunlar intirinsik faktörler (iç faktörler) ve ekstirinsik faktörler (dış faktörler) olarak ayrılabilir. İntirinsik faktörler genellikle hormon biyosentezine bağlı genetik bozukluklardır. Ekstirinsik faktörler ise yeteri kadar iyot alınmaması, besinlerle antitiroid maddeler alınması veya antitiroid etkili ilaç alınmasıdır (Bayşu Sözbilir, 2008).

1.6. Endotel

Normal endotel bütün damar düz kaslarında bulunan, damar duvarını kaplayan ince bir squamoz epitel tabakasıdır. Vazodilatatör ve vasokonstriktör substratların yapımında etkili olarak, vasküler homeostazın sağlanmasında temel rol oynayan en küçük endokrin organdır (Vane et al., 1990). Son yapılan çalışmalarda başta ateroskleroz olmak üzere birçok hastalıkta endotelin rolü ortaya çıktıkça “endotel ateroskleroza karşı birinci derecede (en önemli) savunma sistemidir” denmektedir. Normal endotel kan akımına karşı hem trombozistans bir yüzey görevi görürken hem de kan ve damar duvarı arasında makromoleküler bir bariyer vazifesi yapar (Vane et al., 1990).

Endotel hücreleri morfolojik yapıları ve stratejianatomik pozisyonları dolayısı ile vasküler düz kas hücreleri ile kan dolaşımının komponentleri arasında (platelet,

monosit, enzimler, hormonlar v.d) selektif “permeable” bir bariyer oluşturur (Loscalzo,1995; Luscher, 1995). Bu görevi yanında endotel hücrelerinin damar tonusunun düzenlemesi, koagülasyon, hücre büyümesi ve ölümü, lökosit migrasyonu gibi çeşitli olaylarda rol oynar (Dzau et al., 2001).

1.7. Endotel Hücresinin Fonksiyonları

Endotel hücresinin başlıca fonksiyonları şu şekilde özetlenebilir;

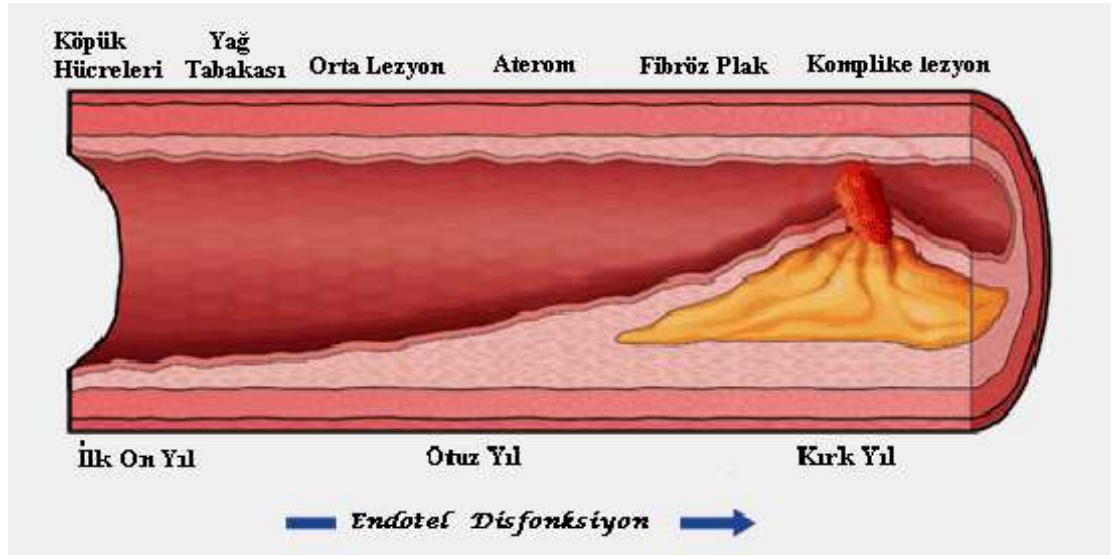
1. Dolaşım ve damar duvarı arasında selektif geçirgen bir bariyer oluştururlar.
2. Dolaşımda nontrombojenik bir yüzey vazifesi görürler.
3. Çeşitli vazoaaktif maddeler yaparlar.
4. Damar düz kas hücresi proliferasyon ve migrasyonunu düzenlerler.
5. Koagülasyon ve fibrinolitik olaylarda modülatör rol oynar.
6. İnflamatuar ve immünolojik olaylarda rol oynar.
7. Metabolik aktivitesi vardır (lipid oksidasyonundaki rolü) (Torun ve ark., 2004).

Endotelin birçok hastalıktaki önemi 1980’de Furchgott ve Zawadzki’nin (1980), endotel kaynaklı bir vazodilatör faktör olduğunu keşfetmesiyle anlaşıldı. “Endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) ” ismindeki bu faktörün daha sonraları nitrik oksit (NO) olduğu gösterildi (Furchgott et al.,1998).

Normalde vasküler tonusun sağlanması için belli bir seviyede gevşetici ve kontrakte edici faktörler endotelden devamlı olarak salgılanır. Bunun yanında endotelial hücreler; nörotransmitterler, hormonlar, stres gibi nörolojik stimuluslarla aktive edilerek daha fazla salgı yapması sağlanır (Torun ve ark., 2004).

1.8. Endotel Disfonksiyon

Endotel kan basıncı, pıhtılaşma ve inflamatuvar olaylarda rol alan ve homeostazi sağlayan aktif bir yapıdır. Endotel fonksiyonunu gösteren en önemli madde iki atom moleküllü NO dir. Endotelyal disfonksiyon, vazodilatatör maddelerin biyoyararlanımındaki azalma ile karakterize olup; en belirgin olanı NO' in azalmasıdır (Lerman et al., 1992). Bu dengesizlik, endotel disfonksiyonunun karakteristiği olan endotel bağımlı vazodilatasyonda azalmaya neden olur. NO, diğer maddelerle beraber, damar tonusu, inflamasyon, koagulasyon ve oksidasyonda rol alır. Eğer bunlar uygun şekilde düzenlenmezse, Şekil 1.8. de görüldüğü gibi damar yapısında bozulmaya, subklinik ateroskleroz ve sonuçta kardiyovasküler hastalığa yol açarlar.



Şekil 1.8. Endotel Disfonksiyon (Michael et al., 2003).

1.9. Tiroid Hormonları ve Endotel

İnsan ve hayvanlarda tiroid hastalıkları kardiyak ve renal fonksiyonda önemli değişimlere eşlik eden yaygın endokrin hastalıklardır (Larsen et al., 1998). Bugün endotelyumun yapısal ve işlevsel bozukluklarının koroner damar hastalıklarını da kapsamak üzere birçok vasküler hastalığın patogeneğinde önemli roller oynadığına inanılmaktadır (Bayındır, 1996).

Tiroid hormonları kardiovasküler sistem üzerinde direk veya indirek birçok etkiye sahiptir (Polikar et al., 1993; Klein et al., 2001). Vasküler endotelyumu hedef alan tiroid hormonu damar stresinin sebep olduğu süreç ile kan basıncını yükseltebilir (Davies,1995; Resnick et al., 1995).

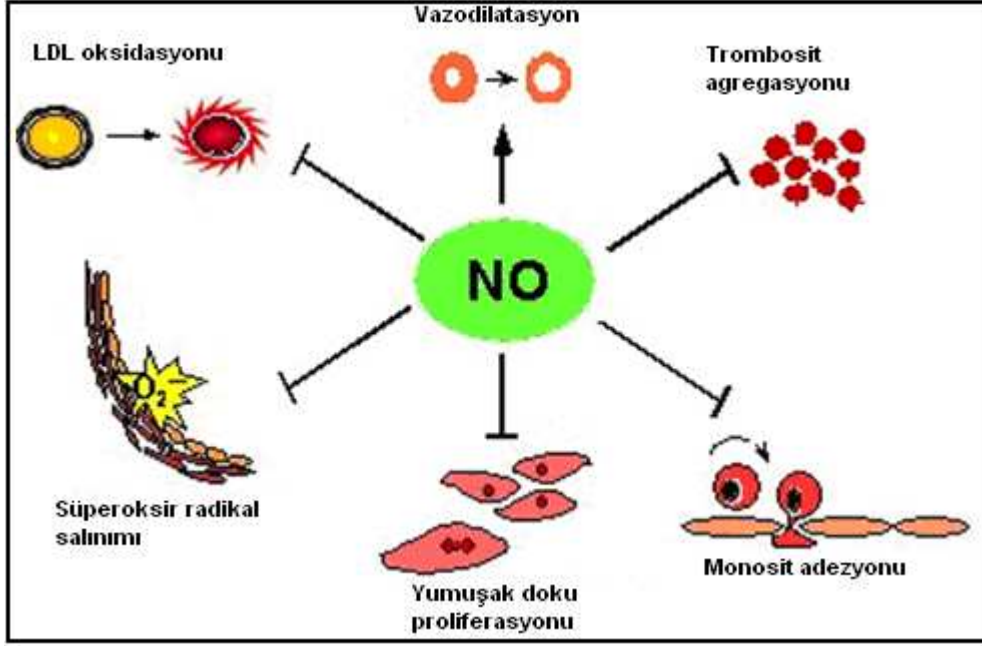
1.10. Nitrik oksit

NO canlılardaki rolü ile ilgili ilk bulgular 1980 yılında Furchgott ve Zawadzki tarafından ortaya konulmuştur. Noradrenalin ile prekontrakte edilmiş tavşan aortasında asetilkolin ile gözlenen gevşeme yanıtlarının endotel tabakasının tahrip edilmesi ile ortadan kalktığı gözlenmiş ve söz konusu etkiye aracılık eden moleküle endotel bağımlı gevşetici faktör (EDRF) adı verilmiştir (Furchgott, 1998).

EDRF'nin keşfinden önce, NO adlı basit bileşiğin solübl guanilat siklaz (sGC) enzimini aktive etmek suretiyle siklik guanozin monofosfat (cGMP) düzeylerini arttırdığı bilinmektedir (Arnold et al., 1977).

Bu bilgiler ışığı altında Endotel hücre kültürü ve izole ven ve arterlerde yapılan çalışmalar ile EDRF'nin NO olduğu ortaya konmuştur (Palmer, 1987; Arriero et al., 1977). NO, molekül ağırlığı 30 kDa olan yağda çözünürlüğü yüksek ve biyolojik membranlardan kolaylıkla geçebilen gaz yapısında bir moleküldür. Bununla birlikte serbest oksijen radikali

olan NO oldukça reaktiftir ve hemoglobin ile hızla etkileşiminden dolayı in vivo olarak oldukça kısa yarılanma ömrüne (1-5 s) sahiptir. NO, kanda hemoglobinin Hem grubu ile etkileşerek hızlı bir şekilde nitrit ve nitrate metabolize olur. Nitrat, NO'nun kandaki stabil biyoreaksiyon ürünüdür. Hemoglobin içermeyen doku kültüründe esas stabil ürün nitrittir. NO ayrıca, hem ve demir içeren diğer moleküller ile (örneğin DNA) ve proteinlerin tiyol (-SH) grupları ile de reaksiyona girer. Bu değişiklik organizmada kritik rol oynayan enzim ve iyon kanallarının fonksiyonlarını etkiler (Moncada et al. 1992). NO'nun ilk olarak endotelde varlığının gösterilmesinin ardından, vücutta pek çok hücre tarafından sentezlenip salıverildiği ortaya konmuştur. Bu yaygın dağılımı nedeniyle NO'nun vasküler düz kas tonusunu düzenleyici (Abu-Soud et al., 1993), trombosit kümelenmesini (agregasyon) (Busse et al., 1987) ve lökositlerin damar dışına çıkmasını (adhezyon) (Kubes et al., 1991) engelleyici, parakrin ve otokrin yollarla ile yeniden yapılanmayı (remodelling) (Rudic et al., 1998), ayrıca endotel hücre apoptozisini (kontrollü hücre ölümü) (Sarih et al., 1993), yeni damar oluşmasını (angiogenezi) (Pipili-Synetos et al., 1993), hücre büyümesi ve hücrelerin inflamasyon bölgesine göç etmesini (migrasyon) (Zhu et al., 2004) ve hücre geçirgenliğini (Oliver et al., 1992) regüle edici etkileri bulunmaktadır. Nitrik oksit bu etkileri Şekil 1.10. da özetlenmiştir. NO, ayrıca sinir sisteminde nörotransmitter fonksiyonu görmekte (Gally et al., 1990), immün sistemin bir parçası olarak da yüksek konsantrasyonlarında sitotoksik etkisiyle organizmayı korumaktadır (Moncada et al., 1991).



Şekil 1.10. Nitrik Oksitin Fonksiyonları (Böger et al., 2003).

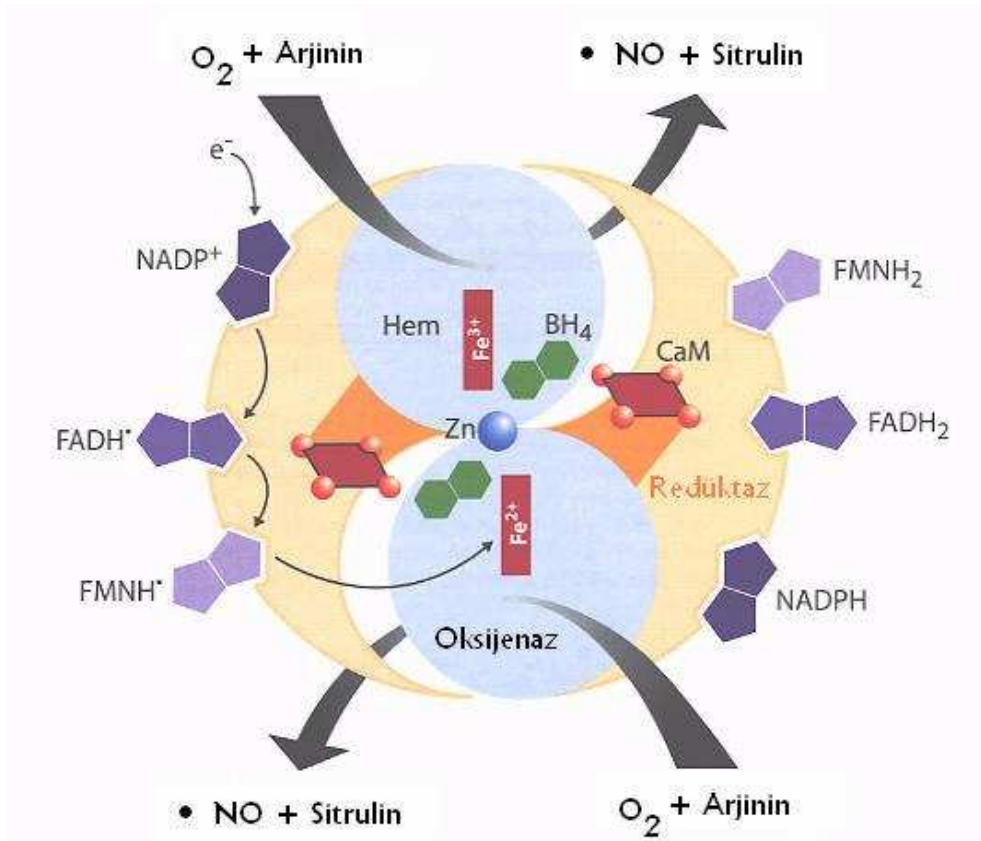
1.11. Nitrik Oksit Sentaz

1.11.1. Nitrik Oksit Sentaz'ın Yapısı

Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi Şekil 1.11.1. de görüldüğü gibi 2 adet globüler protein modülünden oluşur (N-terminal oksijenaz ve redüktaz). Bu 2 segment esnek protein yapı ile birbirine bağlanmıştır. Oksijenaz bölgesi (aminoasid 1-491) Hem, L-Arjinin ve tetrahidrobiopterinin (BH₄) redüktaz bölgesi (aminoasid 492-1205) ise flavin mononükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD), nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) ve kalmodulin (CaM) için gerekli bağlanma yerlerini taşır (Griffith et al., 1995).

NO üretimi esnasında NADPH'nin dehidrojenizasyonu ile elde edilen elektronlar redüktaz bölgesindeki flavinlere (FAD ve FMN) geçerler, oradan da esnek protein

yapıdaki oksijenaz bölgesindeki hem kısmına transfer olurlar. Bu sayede hem'in demiri O_2 'ye bağlanarak L-arjinin'den NO sentezini katalizler (Griffith et al., 1995). Bu elektron transferi endotelial nitrik oksit sentaz'ın (eNOS) temel allosterik aktivatörü olan kalmodulinin esnek protein parçasındaki spesifik bağlanma bölgesine kalsiyum aracılığı ile bağlanması ile aktive edilir (Presta et al., 1997). Hem grubu NOS enziminin dimerizasyonu ve NO üretimi için esansiyeldir. BH_4 enzim dimerizasyonu ve elektron transferi için gerekli olup NOS enziminin katalitik aktivitesi için majör önem taşıyan kofaktördür (Stuehr et al., 1997).



Şekil 1.11.1. Nitrik Oksit Sentaz'ın Dimer Yapısının ve Kofaktörlerinin Şematik Gösterimi (Griffith et al., 1995).

1.11.2. Nitrik Oksit Sentaz'ın İzofomları

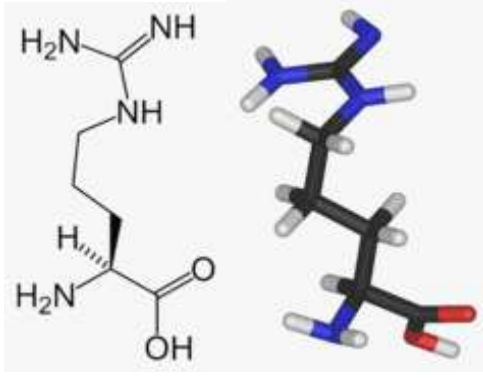
Nitrik oksit sentazın üç farklı izoenzimi bulunmaktadır:

- a) Nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS): İlk olarak sinir dokusunda bulunmuştur. Yapısal olarak tanımlanabilmiştir ve kalsiyuma bağımlıdır.
- b) Endotelial nitrik oksit sentaz (eNOS): İlk olarak vasküler endotel hücrelerinde tanımlanmıştır, yapısal olarak kalsiyuma bağımlıdır.
- c) İndüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS): İlk olarak endotoksinler ve sitotoksinler aracılığıyla karaciğer hücreleri ve makrofajlarda uyarılan bir enzim olarak tanımlanmıştır. Bu izoform fizyolojik şartlarda kalsiyuma bağımlı değildir. Nedeni ise kalmoduline çok sıkı bağlanmış olmasıdır (Nathan, 1992).

Son zamanlarda her üç izoenzimin değişik hücrelerde bulunabildiği ve uyarılabildiği gösterilmiştir. Örneğin; eNOS endotel hücreleri, nöronlar, barsak interstisyel hücrelerinde bulunabilir. eNOS ve nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) aktivasyonu Ca^{+2} / kalmodulin bağımlıdır, indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) aktivasyonu ise transkripsiyonel indüksiyon yolu ile etkilidir (Nathan, 1992).

1.11.3. Nitrik Oksitin Sentezi

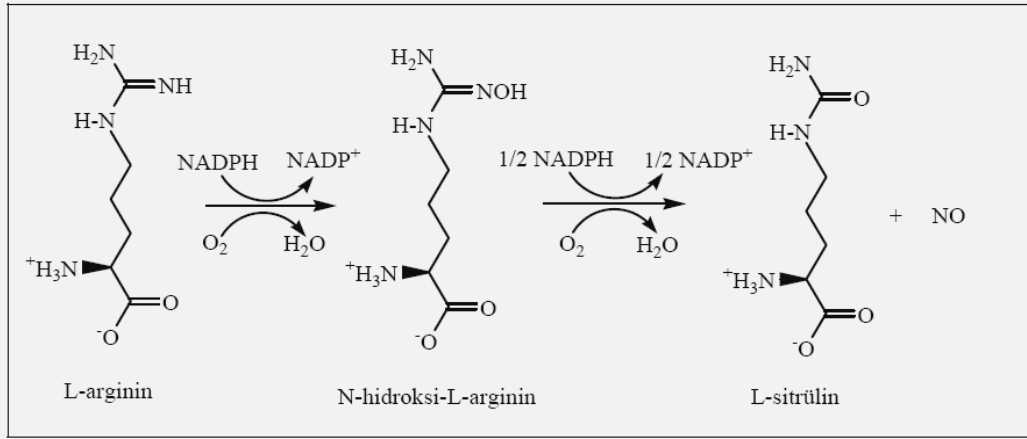
NO, organizmada Şekil 1.11.13.2. de gösterildiği gibi nitrik oksit sentaz enziminin katalizlediği bir reaksiyonla yarı esansiyel aminoasit olan Şekil 1.11.13.1. de kimyasal yapısı gösterilen L-arjinin'in L-sitrülin'e dönüşümü sırasında açığa çıkmaktadır (Moncada et al., 1992).



Şekil 1.11.3.1. L-Arjinin Kimyasal Yapısı (Ogawa et al., 1987).

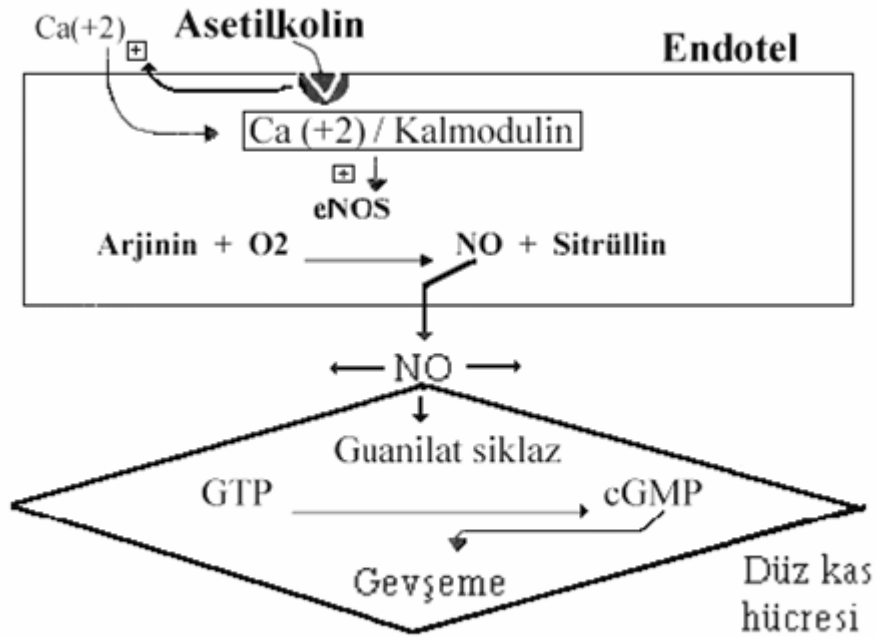
NO sentezi damarlarda başlıca "shear stres ile" tetiklenir. Bu fenomen, kalbin her sistolde kanı damarlara göndermesi sonucu damar endoteli yüzeyinde oluşturduğu mekanik etki, "damar çeperine sürtünme stresi" olarak ifade edilebilir. Shear stres endotel hücrelerinin hayatta kalmasını, kemokinez, gen ekspresyonu ve hücre iskeletinin yeniden yapılanmasını regüle eder. Endotel hücreleri bu mekanik etki ile şekil değişikliğine zorlanırken hücre iskeleti aracılığı ile hücre içine sinyaller gönderir. Bunun sonucunda, Protein kinaz B aktive edilerek eNOS'u fosforile eder ve aktivasyonunu sağlar. Damar endotelinden NO üretimine neden olan en önemli fizyolojik stimulus bu fenomendir (Davies, 2002). Tüm bu hücrel cevaplılıkların mekanotransdüksiyona sekonder olarak gelişmesi, endotel hücrelerin fiziksel uyarıları hücreler arası sinyalizasyon olaylarına çevirme yeteneği olduğunu göstermektedir (Davies, 2002). Bazal NO aktivitesinin türe ve incelenen damar yatağına göre farklılık gösterdiği ve venlerde arterlere oranla daha düşük olduğu bildirilmektedir (Collins et al., 1986). NO nitrejik nöronlarda, epitel hücrelerde ve çizgili kaslarda kalsiyuma bağımlı bir şekilde nNOS aracılığı ile üretilip salıverilir. NO ayrıca immunolojik sataşma sonucu kalsiyumdan bağımsız olarak immün sistem hücreleri tarafından da üretilir ve bu hücrelerin selektif olmayan sitotoksik etkilerine aracılık eder (Fleming et al., 1997).

NOS enziminin ürünü her zaman NO değildir. Temel substrat olan L-arginin ve kofaktör olan BH4 düzeylerinin herhangi birinin yetersiz olması, eNOS'un ürününün NO yerine, süperoksit radikalleri yönünde olmasına sebep olmaktadır. Bu olay "eNOS uncoupling" (eNOS kenetsizlenmesi) olarak adlandırılır (Katusic et al., 2001).



Şekil 1.11.3.2. Nitrik Oksit Oluşumunda Kimyasal Reaksiyon (Burgner et al., 1999).

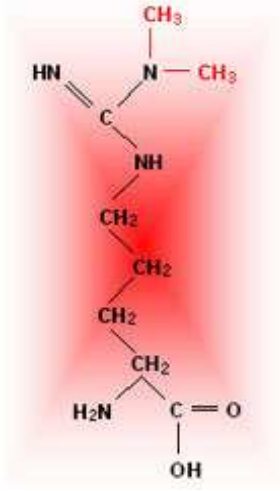
Damar endotelinden salınan NO'in etkisi, damar kas hücrelerinde guanilat siklazın aktivasyonu ile başlar, hücre içi cGMP konsantrasyonunun artışı ve düz kasların gevşemesi ile sonlanır (Şekil 1.11.3.3.) (Lowenstein et al., 1994). Yapılan inhibisyon denemelerinde endotel kaynaklı nitrik oksit, NOS'in inhibe edilmesi ile vazokonstriksiyon ve sonuçta hipertansiyon oluşmaktadır (Calver et al., 1992).



Şekil 1.11.3.3 Damar Duvarında NO Oluşumu ve Etki Mekanizması (Moncada et al., 1991).

1.12. Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA)

Asimetrik dimetilarjinin (ADMA) Şekil 1.12. de gösterildiği gibi, asimetrik metillenen proteinin ürünüdür. Enzimle proteinlerdeki argininlerin metillenmesi suretiyle oluşurlar. Kan ve idrarda bulunan bir endojen moleküldür (Moncada et al., 1989). ADMA, L-arjinin aminoasidi ile yapıca homoloji gösterir ve NOS kompetatif inhibitörü ve protein turnover ürünüdür (Yılmaz ve ark., 2008). ADMA, endotelial hücreleri tarafından sentezlenir ve metabolize edilir. ADMA' nın izomeri olan simetrik dimetilarjinin (SDMA) ise NO üretiminde etkisizdir (Fliser et al., 2003).



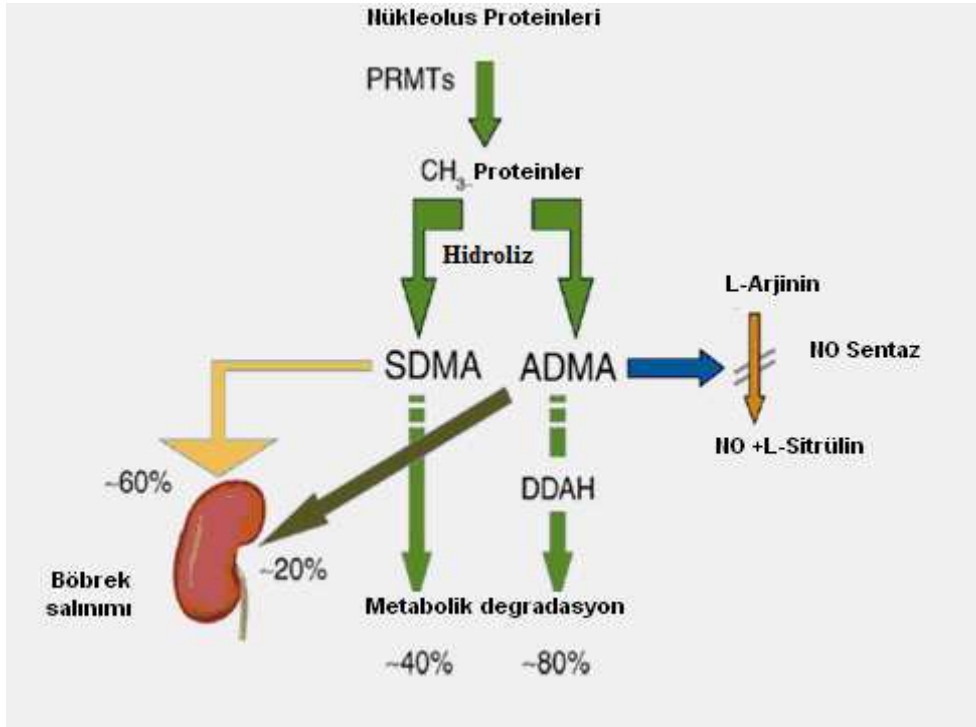
Şekil 1.12. ADMA' nın Moleküler Yapısı (Pettersson et al., 1998).

1.13. Asimetrik Dimetil Arjinin Metabolizması

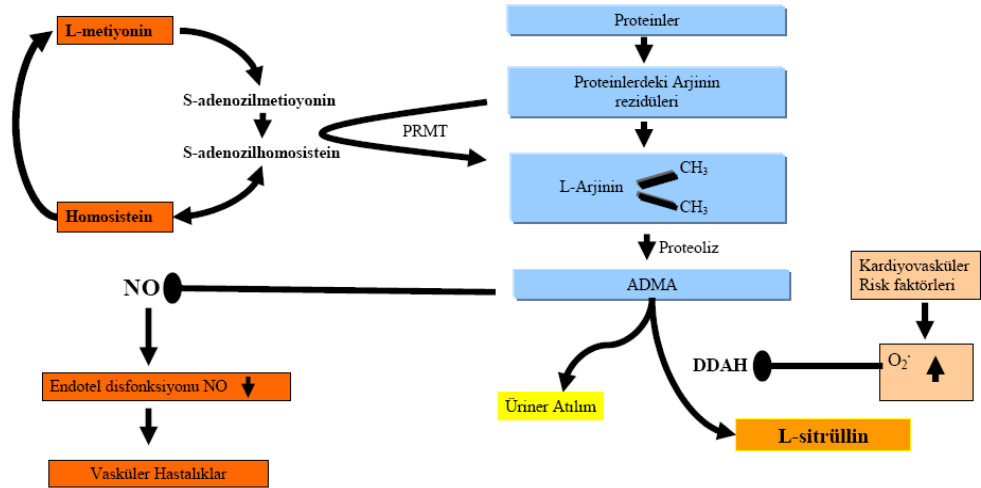
Protein arjinin metiltransferaz tip 1 (PRMAT-1) etkisiyle günde 300 μmol ADMA üretimi olmaktadır. 250 $\mu\text{mol/gün}$ Dimetil Arjinin Dimetil Amino Hidrolaz (DDAH) ile karaciğerden metabolize olur. Geri kalan miktar böbreklerden atılır. Çeşitli hücre tiplerinde ADMA, N-monometil L-Arjinindir (L-NMMA) ve Simetrik Dimetil Arjinin (SDMA) üretimi gerçekleşmektedir. Bu dimetilarjininler, iki farklı enzimle proteinlerdeki argininlerin metillenmesi suretiyle oluşurlar. ADMA, protein arginin metiltransferaz tip 1 (PRMT-1) etkisiyle oluşur. SDMA, protein arginin metiltransferaz tip 2 (PRMT-2) etkisiyle oluşur (Böger, 2003; Böger et al., 2003).

ADMA düzeyindeki artışın, endotel disfonksiyonunun derecesi ile korelasyon gösterdiği bildirilmiştir ve ADMA' nın endotel disfonksiyonunun yeni bir belirteci olabileceği ileri sürülmektedir (Faraci et al., 1995). ADMA Şekil 1.13.1 de gösterildiği gibi çoğunlukla endotel hücrelerde ve böbrekte bulunan DDAH enzimi tarafından L-sitrüline ve dimetilamine metabolize olur (Goonasekera et al., 1997).

ADMA düzeyinin artmasının önemli bir nedeni DDAH fonksiyon yetersizliğidir (Granger et al., 1996; Grisham et al., 1996).



Şekil 1.13.1. ADMA Metabolizması (Li et al., 2000).



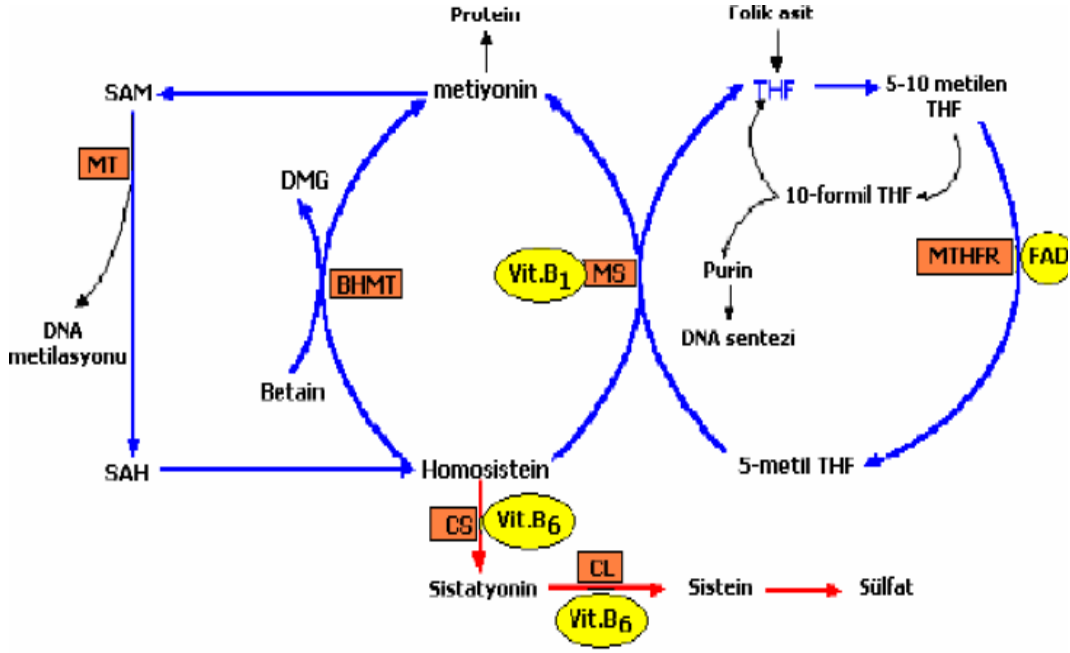
Şekil 1.13.2. ADMA' nın Biyokimyasal Yolları (Valkonen et al., 2004).

ADMA'nın yükseldiği durumlar;

1. Kardiyovasküler sistem hastalıkları (esansiyel hipertansiyon, hiperkolesterolemi, hiperhomosisteinemi, akut koroner olaylar, konjestif kalp yetmezliği)
2. Diabetes mellitus
3. Multiple organ yetmezlikleri
4. Hipertiroidizm
5. Kronik böbrek yetmezliği
6. İnsülin rezistansı ve metabolik sendrom
7. Düşük serum folik asit ve yüksek serum homosistein
8. 75-100 yaş arasında akut koroner olayların olduğu yaşlı bireyler
9. Preeklampsi
10. Erektile disfonksiyon (Buğdaycı ve ark., 2005).

1.14. Homosistein ve Metabolizması

Metiyonin metabolizması sırasında oluşan ve sülfür içeren bir aminoasit olan homosistein, tiol bileşiklerinin metabolik yollarında merkezi görev üstlenmiştir (Dikmen ve ark., 2004; Rozen et al., 1998). Metiyonin esansiyel bir aminoasit olup, ya diyetle alınır, ya endojen proteinlerin bozulması sonucu ya da homosisteinin remetilasyonu ile oluşur. Metiyonin yeni sentezlenen proteinlerin yapısına katıldığı gibi ATP yardımı ile enzimatik olarak bir sülfonium bileşiği olan S-adenozil metiyonin (SAM)'e de dönüşebilir (Engbersen et al., 1995; Perna et al., 1999). SAM'ın metil grubu DNA metiltransferaz aracılığıyla kopararak, S-adenozil homosisteine (SAH) dönüşür. Bunun adenzil kısmının hidrolitik olarak parçalanmasıyla da homosistein oluşur (Perna et al., 1999; Telefoncu, 1998). Vücuttaki homosistein transsülfürasyon veya yeniden metilasyon (remetilasyon) yollarından birini kullanarak metabolize olur (Şekil 1.14) (Fattal-Valevski et al., 1999; Cumming et al., 1999; Markus et al., 1997).



Şekil 1.14. Homosistein Metabolizması

Homosisteinin transsülfürasyon ve remetilasyon metabolize yolları. (MTHFR: Metilentetrahidrofolat redüktaz, MS: Metiyonin sentetaz, CBS: Sistatyonin β sentetaz, CL:Sistatyonin γ liyaz, BHMT: Betain homosistein metil transferaz, MT: Metil transferaz, SAM: S-adenozil metiyonin, SAH: S-adenozil homosistein, THF: Tetrahidrofolat, DMG: Dimetilglisin) (Fattal-Valevski et al., 1999).

Transsülfürasyon yolunda; vitamin B6 bağımlı bir enzim olan sistatyonin β sentetaz (CBS) enzimi görev yapar. Homosistein CBS katalizörlüğünde sistatyonine, o da sisteine hidrolize olur. Bu sistein de daha sonra sülfata hidrolize olarak idrarla atılır (Engbersen et al., 1995; Fattal-Valevski et al; 1999; Sucu ve ark., 2001).

Remetilasyon yolunda; homosisteinden, metiyoninin yeniden sentezi (remetilasyon) iki farklı yolla gerçekleşir. Kısa yolda; betain homosistein metil transferaz (BHMT) enzimi, bir metil vericisi olan betainin metil grubunu, homosisteine aktararak metiyonin oluştururken kendisi dimetilglisine dönüşür. Uzun yolda ise 5-metiltetrahidrofolat, bir metil grubu vericisidir. 5-10 metilentetrahidrofolat,

metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) enzimi aracılığıyla 5-metiltetrahidrofolata dönüşür. 5 metiltetrahidrofolatın bir metil grubu, kobalamin (vitamin B12) bağımlı enzim olan metiyonin sentetaz (MS) aracılığı ile homosisteine aktarılarak metiyonin oluşturulurken diğer taraftan da tetrahidrofolat meydana gelir. Bu tetrahidrofolat tekrar 5-10 metilentetrahidrofolata dönüşür (Nelen et al., 1998; Schwartz et al., 1997).

Plazmada, total homosisteinin %70'i proteinlere bağlanarak, %25'i disülfid bağı ile birbirlerine bağlanarak (disülfid homosistein) ve %5'i de homosistein tiolaktan halinde bulunur (Sucu ve ark., 2001).

İnsan plazmasında, homosistein birkaç formda bulunur. Yaklaşık %70-80'i temel olarak albumine olmak üzere proteinlere disülfid bağları ile bağlıdır (Temel ve ark., 2002). Geri kalan homosistein oksidlenerek dimerler (homosistin) veya sisteinle birleşerek mikst disülfidler oluşturur (Refsum et al., 1998; Jacobsen et al., 1998).

Homosistein kanda %3'ü serbest, %75'i albümine bağlı, %22'si ise disülfid formundadır. "Total homosistein" plazma ve serumdaki tüm homosistein formlarını belirtmek için kullanılan bir kavramdır (Temel ve ark., 2002).

1.15. Total Homosistein Düzeyini Etkileyen Faktörler

Genel olarak yükselmiş plazma total homosistein konsantrasyonunun en sık edinsel sebepleri folat, B vitaminlerinin tam veya relatif eksikliği ve böbrek yetmezliğidir (Andersson et al., 1992). Yüksek total homosistein düzeylerine neden olan diğer klinik durumlar; malignansiler (meme ve over karsinomları) ve psöriazis (kronik bir deri hastalığı)' dir.

Hipotiroidi ve birçok farmakolojik ajan da yükselmiş total homosistein konsantrasyonundan sorumlu olabilir. Genetik bozukluklara bağlı olarak görülen eksiklikler genel popülasyonda veya vasküler hastalıklı kişilerde görülen yüksek

seviyelerin muhtemelen sadece bir kısmının sebebi olarak düşünülmektedir. Homosisteinüriye en sık sebep olan genetik durum, yüksek total homosistein (tHcy) seviyeleri ve prematüre kardiyovasküler hastalıklarla karakterize sistasyon β sentetaz eksikliğidir. Artmış tHcy'nin diğer genetik sebepleri; metionin sentetaz ve metilentetrahidrofolat reduktazın (MTHFR) yokluğu ve bozukluğudur (Todesco et al., 1999). Bu tablo popülasyonunun %15'inde görülen MTHFR'nin oldukça termobil değişken bir formunu da içerir. Bu değişken form özellikle düşük folat seviyelerinin varlığında hiperhomosisteinemiye neden olmaktadır (Bronstrup et al., 1998).

Hiperhomosisteinemi nedenleri şu şekilde özetlenebilir; (Kocabalkan ve ark., 2000).

a) Kalıtsal Nedenler

1. Transsülfürasyon bozuklukları
sistasyon β - sentetaz eksikliği
2. Remetilasyon bozuklukları
Vitamin B12 transport eksikliği
Vitamin B12 koenzim sentez bozukluğu
Metiyonin sentetaz bozukluğu
5,10 MTHF eksikliği veya bozukluğu

b) Kazanılmış Nedenler

1. Vitamin eksiklikleri (vitamin B12 vitamin B6)
2. Renal yetmezlik
3. Hipotiroidi
4. Akut lenfoblastik lösemi
5. İlaçlar
*Metotreksat (dihidrofolat reduktaz inhibitörü)
*Fenitoin veya karbamezepin (Folat antagonisti)
*Nitrik oksit (metionin sentaz inaktivatörü)
*Metilksantin (Vitamin B6 inhibitörü)
*Nikotinik asit

Hiperhomosisteinemiye bağlı damar hasarının mekanizmaları tümü ile aydınlatılamamıştır. Hali hazırdaki çalışmaların ana odağı; vasküler hasarın başladığı

yerler olan endotel, daha az oranda ise platelet ve pıhtılaşma faktörleri ile ilişkilidir, in vitro çalışmalarda, homosisteinin normalden yüksek seviyelerinin doğrudan endotel sitotoksitesine neden olduğu gösterilmiştir (Aronow et al., 1997). Homosisteinin oksidasyonu hidrojen peroksit oluşumuna yol açarak endotel hücre hasarında rol oynayabilir. Son zamanlarda, insanlarda yapılan klinik bir çalışmada, homosisteinin nitrik oksidin inhibisyonu ile ilişkili olarak endotel bağımlı "flow-mediated" dilatasyona sebep olduğu gösterilmiştir (Kocabalkan ve ark., 2000).

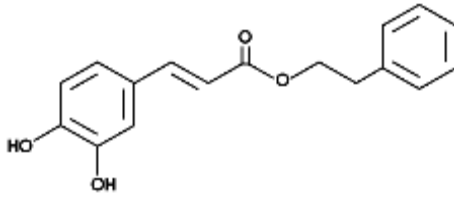
1.16. Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)

Sud'ina ve ark. (1993) ile Orsolice ve ark. (2005) yaptıkları çalışmalarda, bal arılarının ürettiği propolisin aktif bir komponenti olan kafeik asit fenetil esterinin (CAPE) antioksidan, antiinflamatuar, antiviral, immünomodülatör ve nöroprotektif olduğunu göstermişlerdir. Arı kovanlarının çatlak ve hasarlanmış yerlerinin tamirinde, dış ortamdan izole edilmesinde, giriş deliklerinin daraltılmasında, kovanın içine giren zararlı maddeler, mikroorganizmalar ve böceklerin muflanarak etkisiz duruma getirilmesi işlemlerinde "*propolis*" kullanılmaktadır (Orsolice et al., 2005). Propoliste yaklaşık 100 çeşitten fazla bileşen bulunmuştur. Propolis, arıların bitkilerden topladığı maddelere göre değişmektedir. Flavonoidler, kafeik asit ve esterleri propoliste en fazla bulunan ve propolisin biyolojik olarak aktif bileşenleridir (Russo et al., 2002; Castaldo et al., 2002; Havsteen, 2002).

1.17. Kafeik Asit Fenetil Ester'in Yapısı ve Kimyasal Özellikleri

Yapıca flavonoidlere benzeyen CAPE'nin Şekil 1.17' de gösterildiği gibi iki halkasal yapısı vardır (Fesen et al., 1994). Halkalardan bir tanesinde molekülün hemen hemen bütün kimyasal özelliklerini gösteren ve fonksiyonel olan iki "-OH" grubu vardır.

Hidroksil grupları, aktif bir şekilde elektron alıp vererek oksitleyici ve redükleyici özellik gösterirler. Çok uzun aromatik ve alifatik yapıda karbon grupları taşıdığı için aynı zamanda lipofilik özelliktedir (Russo et al., 2002). Böylece molekülün kolayca hücre membran yapılarından geçmesi ve etki edeceği bölgeye ulaşması kolaylaşır. Hücre kültürü ve deney hayvanı araştırmalarında CAPE her türlü yoldan rahatlıkla verilebilmekte ve ilgili vücut bölgesine ulaşımı kolay olmaktadır (Da Cunha et al., 2004).



Şekil 1.17. Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE)'in Kimyasal Yapısı (Philippe et al., 2007)

1.18. Kafeik Asit Fenetil Ester'in Fonksiyonel Özellikleri

CAPE, arıların bitkilerden topladığı maddeler içinde bulunan keskin ve güzel kokulu propolis maddesinin aktif bileşenlerinden biridir. Eskiden propolis ampirik olarak antiinflamatuvar, immünomodülatör, antioksidan, antimikrobik gibi birçok sebeple tedavi amaçlı kullanılmış, iyileştirici etkisinin olduğu gösterilmiştir (Russo et al., 2002; Castaldo et al., 2002; Fesen et al., 1994).

CAPE'nin mikromolar konsantrasyonlarının 5-lipooksijenaz enzimini inhibe ettiği ayrıca insan nötrofillerinde ve ksantin oksidaz sisteminde reaktif oksijen üretimini tam olarak bloke ederek antioksidan etki oluşturduğu gösterilmiştir (Sud'ina et al.,

1993). Sentetik bir madde olan CAPE ile ilgili çok çeşitli in vitro ve in vivo çalışmalar bulunmaktadır. Totan ve ark. (2001), CAPE'nin düşük glutatyon (GSH) düzeyiyle ilişkili olan korneal neovaskülarizasyonda ve lens epitel hücrelerinin transformasyonunun baskılanması gibi koruyucu bir etki sergilediğini rapor etmişlerdir. CAPE'nin, insan koroner arter endotel hücrelerinde NF-kB üzerine etki ederek, ox-LDL aracılı degradasyonunu inhibe ettiğini ve iskemiye bağlı hasarı önlediği düşünülmektedir (Li D, et al., 2000; Özyurt ve ark., 2001). Mahmoud ve ark. (2000), kemoterapide, CAPE'nin intestinal karsinogenezi baskıladığını, Lee ve ark. (2000), CAPE türevli bileşiklerin oral kansere karşı potansiyel ajanlar olduklarını göstermişlerdir. İlhan ve ark. (2004), pentilentetrazolün neden olduğu nöbete bağlı santral sinir sistemindeki hasara karşı CAPE'nin nöroprotektif ve antioksidan etkisini göstermişlerdir.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Analizlerde Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

Çalışmamızda Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında bulunan ve aşağıda özellikleri verilen cihazlar/ laboratuvar malzemelerinden yararlanılmıştır.

- Advia 1200 (Simens Chemistry system) biyokimya otoanalizörü,
- Moduler E170 (Roche) hormon otoanalizörü,
- HPLC (Agilent 1100 series) cihazı,
- Elisa Okuyucu (Trinity Biotech),
- Vorteks (Nüve. NM 110),
- Hassas terazi (Precisa. 205 ASC. 0,0001 g'a duyarlı),
- Otomatik pipet,
- Pipet ucu,
- Mikro santrifüj (Hettich rentrifugen mikro 200),
Buzdolabı
1,0 ml'lik enjektör
- Soğutmalı santrifuj (Nüve. NF 1000 R.),
- EDTA'lı tüp
- Cerrahi eldiven
- Ependorf tüpü

2.2. Analizlerde Kullanılan Kimyasal Maddeler

L-Tiroksin (Sigma lot: 0001439478),

Kafeik asit (Sigma 089K1114),

- Nitrit-Nitrat analiz ELISA kiti (Cayman Kat. No: 780001),
- ADMA analiz ELISA kiti (Immun Diagnostik REF K3001),
- HPLC kolonu ve reaktifleri (Chrome systems Kat No: 45.000),
- Kolesterol (Siemens dimension clinical chemistry system Kat No: DF 27),
- Trigliseritt (Siemens dimension clinical chemistry system Kat No: DF69A) ,
- HDL kolesterol kiti (Siemens dimension clinical chemistry system Kat No: DF 36) ,
- FT3 kiti (Elecsys Roche Kat No: 11731386),
- FT4 kiti (Elecsys Roche Kat No: 11731297).

2.3. Deney Hayvanları

Araştırma Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya AD. araştırma laboratuvarları ile Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinde, Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kurulunun 70-09- referans numaralı onayı doğrultusunda gerçekleştirildi

Araştırmada deneysel amaçlı 2-3 aylık, 250-300 g ağırlığında, sağlıklı 50 adet “*Wistar-albino*” erkek rat kullanıldı. Araştırmadan 10 gün önce gözlem altına alınan deneklerin deney ortamına adaptasyonu sağlanmıştır. Denekler 12 saat karanlık, 12 saat aydınlıkta kalacak şekilde ve her bir kafeste 5 rat olmak üzere ayrılmışlardır. Çalışma süresince tüm denekler eşit çevresel koşullar altında tutulmuştur ve deneklere çalışma süresince standart rat yemi ve su *ad libitum* olarak verilmiş, yemleme gün içinde saat 09.00 ile 19.00 da olmak üzere iki kez yapılmıştır. Aşağıdaki Tablo 2.3 de araştırmada kullanılan standart rat yeminin bileşimi ve katkı maddeleri görülmektedir (Bil-Yem 2006).Deney sonlandırılmadan önce, bir grup ratın tiroid hormon ölçümleri yapılmış ve hipertiroidizm kesinleştikten sonra çalışma sonlandırılmıştır.

Tablo 2.3. Standart Rat Yemi İçeriği (Bil- Yem, 2006)

Analiz sonuçları			
Kuru Madde	(En az)	%	88
Ham Protein	(En az)	%	23
Ham Selüloz	(En çok)	%	7
Ham Kül	(En çok)	%	8
HCl' de Çözülmüş Kül	(En çok)	%	2
NaCl	(En çok)	%	1
Metabolik Enerji	(En az) (kcal/kg)	%	2600
Makro Elementler			
Kalsiyum	(En az-En çok)	%	1,0-2,5
Fosfor	(En az)	%	0,9
Sodyum	(En az-En çok)	%	0,5-1
Mikro Elementler			
Mangan	(En az mg/kg)	%	10
Çinko	(En az mg/kg)	%	4
Amino Asitler			
Lysine	(En az)	%	1,0
Methionin	(En az)	%	0,3
Sistin	(En az)	%	0,1
Vitaminler			
Vitamin A	(En az IU/kg)		400
Vitamin D ₃	(En az IU/kg)		300
Vitamin B ₂	(En az mg/kg)		5
Vitamin B ₁₂	(En az mg/kg)		20
Vitamin E	(En az IU/kg)		30
Vitamin K ₃	(En az IU/kg)		1

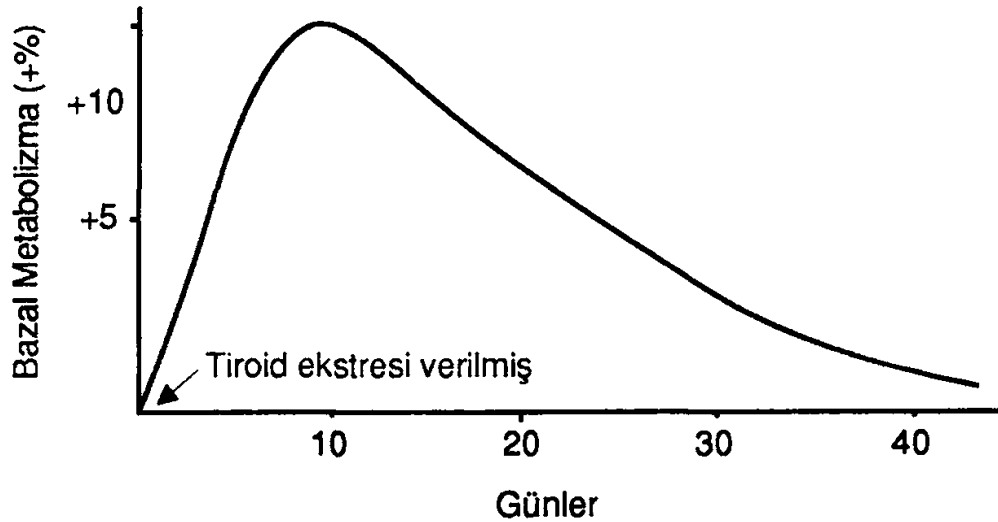
2.4. Deneysel Gruplarının ve Hipertiroidizmin Oluşturulması

2.4.1. Deneysel Hipertiroidizmin Oluşturulması

Çalışmamızda deneysel hipertiroidizm oluşturulmasında Ahmed ve ark. (2006) çalışmalarında kullandıkları gibi L-tiroksin (L-T4) kullanılmıştır.

Deneysel hipertiroidizm oluşturulacak ratlara 4 hafta boyunca günde, 0,5 ml serum fizyolojik içinde (%0.9 NaCl izotonik) 0,3 mg/kg L-tiroksin intraperitoneal olarak verilmiştir.

Hipertiroidizm oluşturmak için triiyodotironin (T3) verilen çalışmalar mevcut olsa da (Öner J. ve ark.,2002) , T3'ün proteinlere daha zayıf bağlanması nedeniyle T4'e göre etkisi çok daha hızlı fakat çok daha kısa süreli olmaktadır. T4'ün yarılanma ömrü 6-8 gün, T3 'ün ise 8-12 saattir. Şekil 2.4.1. de görüldüğü gibi insana bir miktar tiroksin verildikten sonra bu hormonun sebep olacağı bazal metabolizma birkaç hafta takip edilecek olursa tiroksinin etkisinin geç başladığı ancak 1 hafta 10 gün sonra maksimum seviyeye ulaştığı ve birkaç hafta sonrada yavaş yavaş silindiği görülür (Keleş İ.,1990).



Şekil 2.4.1. Tiroksin Etkisi İle Bazal Metabolizmadaki Değişim (Bilge M.,1975).

Tiroid hormonlarının etkileri bu hormonların hücre içine girmesi ile başlar ve tiroid hormonlarının ancak serbest fraksiyonları hücre içine girebilir (Keleş İ., 1990). Dolayısıyla tiroid hormonu ölçümünde serbest T4 (fT4) ve serbest T3 (fT3) ölçümü çok daha güvenilirdir. Bu nedenle yapılan çalışmada, deneysel hipertrioidizm oluştuğunu anlamak için serbest T4 ve serbest T3 ölçümleri yapılması tercih edilmiştir.

2.4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deneyde hayvanlar 5 gruba ayrılmıştır (Ahmet et al., 2006).

Grup 1: Kontrol Grubu (n=10) ; 4 hafta boyunca hiçbir enjeksiyon yapılmayan hayvan grubu.

Grup 2: Placebo Grubu (n=10); 4 hafta boyunca günde, sadece intraperitoneal olarak 0,5 ml serum fizyolojik (%0.9 NaCl izotonik) verilen hayvan grubu.

Grup 3: Hipertiroid Grubu (HT) (n=10); 4 hafta boyunca günde, 0,5 ml serum fizyolojik içinde 0,3 mg/kg L-tiroksin intraperitoneal olarak verilerek deneysel hipertiroidizm oluşturulan hayvan grubu.

Grup 4: Kafeik Asit Grubu (CAPE) (n=10); 4 hafta boyunca günde, 0,5 ml serum fizyolojik içinde 10 µg/kg kafeik asit intraperitoneal olarak verilen hayvan grubu.

Grup 5: Kafeik asit ve L-tiroksin Grubu (CAPE+HT) (n=10); 4 hafta boyunca günde, 0,5 ml serum fizyolojik içinde 0,3 mg/kg L-tiroksin ve 10 µg/kg kafeik asit intraperitoneal olarak verilen hayvan grubu.

Çalışma sürecinde hayvanların deney başlangıcındaki canlı ağırlıkları ve haftalık canlı ağırlıkları ölçülerek kaydedilmiştir.

2.5. Kan Örneklerinin Alınması

4 haftalık deneysel periyot sonunda, bir gece öncesinden yem verilmeyen hayvanlar 10 mg/kg ksilazin ve 50 mg/kg ketamin HCl enjeksiyonu ile anestezi altına alınmış, daha sonra tekniğine uygun olarak göğüs kafesleri açılmıştır. Çalışır durumda iken kalpten 10 ml'lik enjektörlerle heparinli tüplere ortalama 6-9 ml kan alındıktan hemen sonra kan örneklerinin 3000 rpm'de 10 dk. santrifüj edilerek plazması ayrılmıştır. Elde edilen plazma örnekleri analizler için 1.5 ml'lik ependorf tüplerine alınarak -20 C⁰' de (Quesadaet al., 2002) muhafaza edilmiştir. Ölçümler kan alınmasından sonraki 1 hafta içinde tamamlanmıştır.

2.6. Nitrik Oksit Düzeyi Ölçümü

Nitrik oksit düzeyleri Cayman marka ELISA ticari kit kullanılarak ölçüldü (Katalog No: 780001).

Tekniğin prensibi antijenle antikor arasındaki reaksiyona dayanır. İşaretli antijenle işaretli antijen antikorla reaksiyona girmek için yarışır. İşaretsiz antijen tayin etmek istediğimiz maddedir. İşaretli antijenin hazırlanmasında enzim kullanılır. Bu nedenle bu metoda **enzim immünoassay** adı verilmiştir. Alkalen fosfataz ve Horseradish peroksidaz en çok kullanılan enzimlerdir. Reaksiyon tamamlanmasından sonra seperasyon (ayırma) işlemi yapılır ve ortama substrat ilave edilerek enzim aktivitesi ölçülür. Enzim aktivitesi ile tayin edilmek istenen madde arasındaki ilişkiden analit konsantrasyonu tayin edilir (Mehmetoğlu İ., 2004).

Reaktiflerin Hazırlanması

- 1) Assay Buffer: 100 ml distile suda çözümlenerek hazırlandı.
- 2) Nitrat Redüktaz: 1,2 ml assay buffer ile sulandırıldı. Kullanım esnasında buzda tutuldu.
- 3) Enzim Kofaktörleri: 1,2 ml assay buffer ile sulandırıldı. Kullanım esnasında buzda tutuldu.
- 4) Nitrat Standart: 1ml assay buffer ile sulandırıldı.
- 5) Nitrit Standart: 1ml assay buffer ile sulandırıldı.
- 6) Griess Reaktifleri R1, R2: Bu reaktifler kullanıma hazır durumdaydı, sulandırılmadı.

Standartların Hazırlanması

0,9 ml. Assay buffer üzerine 0,1 ml. nitrat standart eklenip vortekslendi. Böylece 200 μ M stok standart hazırlanmış oldu. Stok standart solüsyondan sırasıyla 5 μ M, 10 μ M, 15 μ M, 20 μ M, 25 μ M, 30 μ M ve 35 μ M olmak üzere standartlar hazırlandı.

Deneyin Yapılışı

- 1) Kör kuyucuklarına 200 μ l assay buffer pipetlendi. Başka herhangi bir şey ilave edilmedi.
- 2) 80 μ l numune ilgili kuyucuklara pipetlendi.
- 3) Kör kuyucuğu hariç bütün kuyucuklara 10 μ l enzim kofaktörleri ilave edildi.
- 4) Kör kuyucuğu hariç bütün kuyucuklara 10 μ l nitrat redüktaz ilave edildi.

- 5) Plate kapatılarak 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi.
- 6) İnkübasyondan sonra 50 µl Griess reagent R1 kör kuyucuğu hariç bütün kuyucuklara ilave edildi.
- 7) Bekletilmeden 50 µl Griess reagent R2 kör kuyucuğu hariç bütün kuyucuklara ilave edildi.
- 8) 10 dakika süreyle renk değişimi beklendikten sonra 490 nm de okutuldu.

2.7. Asimetrik Dimetil Arjinin Düzeyi Ölçümü

ADMA düzeyleri Immun Diagnostik marka (K3001) ELISA (mause/rat) ticari kit kullanılarak kolorimetrik metodla ölçüldü.

Reaktiflerin Hazırlanması

- 1) Dimethylsulfoxid (DMSO) oda sıcaklığında çözdürüldü
- 2) Derivatization reagent 3 ml DMSO da çözdürüldü.
- 3) Wash buffer 1:10 dilüe edildi.
- 4) ADMA antibody (AB) 5,6 ml Wash buffer ile dilüe edildi.
- 5) POD antibody (2.AB) 110 µl POD antibody üzerine 22 ml Conjugate stabilizing buffer (2.ABDIL) eklenerek dilüe edildi.
- 6) Dilution buffer for cupling (CODIL) kullanıma hazırды.
- 7) Reaction buffer (DERBUF) kullanıma hazırды.
- 8) Substrat (TMB) kullanıma hazırды.
- 9) Stop solüsyonu kullanıma hazırды.

Numune Hazırlığı

1. Filtreli santrifüj tüplerine 100 µl Numune ve 200 µl reaction buffer eklendi
2. 30 dakika 14.000 g'de santrifüj edildi.
3. Farklı ependorf tüpleri kullanılarak elde edilen filtrattan 200 µl alınarak üzerine 200 µl.reaction buffer eklendi.
4. Elde edilen karışımdan 200 µl kullanıldı.
5. Ependorf tüplerine, sırasıyla hazır halde bulunan 0 µmol/L, 0,1 µmol/L, 0,25 µmol/L, 0,5 µmol/L, 1,0 µmol/L, 2 µmol/L standartlardan ve numuneden 200 µl pipetlendi.
6. Standart ve numunelerin pipetlendiği tüplere 50 µl Derivatization reagent pipetlendi.
7. Karanlıkta 45 dakika shakerda inkübasyona bırakıldı.
8. İnkübasyondan sonra tüplere 250 µl Dilution buffer for cupling eklendi ve 45 dakika karanlıkta şeykırda inkübasyona bırakıldı.

Deneyin Yapılışı

- 1) İlk olarak ELISA plağı dilüe edilen wash bufferla 5 kez yıkandı.
- 2) Daha sonra inkübasyon bitiminde elde edilen numune ve standartlardan sırasıyla 100 µl kuyucuklara pipetlendi.
- 3) Üzerine 100 µl dilüe edilmiş ADMA antibody'den eklendi.
- 4) Bu işlemlerden sonra 2-8 C⁰'de, 15-20 saat inkübasyona bırakıldı.
- 5) İnkübasyondan sonra plak 5 kez wash bufferla yıkandı.
- 6) 200 µl dilüe edilmiş POD antibody eklendi.
- 7) 1 saat karanlıkta şeykırda inkübasyona bırakıldı.
- 8) İnkübasyondan sonra plak 5 kez wash bufferla yıkandı.
- 9) Üzerine 200 µl substrat eklendi ve 6-10 dakika karanlıkta inkübasyona bırakıldı.

- 10) İnkübasyon sonunda 100 µl stop solüsyonu eklenerek oluşan reaksiyona son verildi.
- 11) 450 nm' de okutuldu.
- 12) Elde edilen sonuçların konsantrasyonları 2 ile çarpılarak verildi.

2.8. Homosistein Düzeyi Ölçümü

Plazma homosistein ölçümü HPLC (Agilent 1100 series) cihazında yapıldı.

Bu yöntem ile total homosistein düzeyi ölçümü, değişik homosistein formlarındaki disülfid bağlarının sodyum borohidrid ile indirgenmesi, monobrombiman ile ayrıştırılması ve ayrılan homosisteinin HPLC cihazında floreskopik okuma ile ölçülmesi prensibine dayanmaktadır (Aksoy N. et al., 2006).

Kullanılan Reaktifler

- 1) Reduction reaktif,
- 2) Plazma kalibrasyon standartları,
- 3) Plazma kontrolleri,
- 4) Precipitation reaktif,
- 5) Derivatisation reaktif I,
- 6) Derivatisation reaktif II,
- 7) HPLC kolonu.
- 8) İnternal standart reaktifi

Reaktiflerin Hazırlanması

- 1) Tüm reaktifler kullanımdan önce oda sıcaklığına getirilmiştir,
- 2) Derivasation mixin hazırlanması; dervation reaktif I iyofilizedir. Bunun üzerine dervation reaktif II den 2 ml eklendi. 10 dakika sonra kullanıma hazır haldeydi,
- 3) Plazma kalibrasyon standartları; 1 ml distile suda çözdürülerek hazırlandı,
- 4) Plazma kontrolleri; 2 ml distile suda çözdürülerek hazırlandı.
- 5) Hazırlanan reaktifler ışıktan korunarak saklandı.

Numunelerin Hazırlanması

- 1) Kitin içinden çıkan kahverengi ependorf tüpleri kullanıldı,
- 2) Tüplere sırasıyla 100 µl kalibrasyon standartı, kontroller ve plazma eklendi,
- 3) Üzerine 25 µl internal standart ve 25 µl internal standart eklendi ve vortekste karıştırıldı,
- 4) Karışım 5 dakika oda ısısında inkübasyona bırakıldı,
- 5) İnkübasyondan sonra 100 µl precipitation reaktifi eklendi 30 saniye vorteksle karıştırıldı,
- 6) Karışım 10 dakika 9000 g'de santrifüj edildi,
- 7) Elde edilen süpernatant kullanıldı.

Deneyin Yapılışı

- 1) HPLC tüplerine elde edilen süpernatantlardan 50 µl pipetlendi,
- 2) Üzerine 100 µl derivasation mix eklendi,

- 3) 10 dakika 50-55 C⁰'de inkübe edildi,
- 4) İnkübasyondan sonra aniden soğutuldu,
- 5) HPLC cihazında enjeksiyona hazır hale getirildi,
- 6) Cihazda floresans dedektörle ölçüm yapıldı.

2.9. fT4 Düzeyi Ölçümü

Plazma fT4 düzeyleri Roch marka Moduler E170 otoanalizörü kullanılarak elektrokemilüminesans prensibine göre ölçülmüştür.

Kemilüminesans, özgül antijen-antikor bağlanmasının gösterilmesinde, bazı maddelerin kimyasal tepkimeden sağlanan enerji ile uyarılması sonucu, luminesans özelliği göstermesinden yararlanılan immünokimyasal ölçüm tekniğidir. Elektrokemilüminesans tekniğinde luminesans özelliği için gerekli enerji elektrot tepkimesinden sağlanmaktadır. Ruthenium gibi elektrokemilüminesant işaret kullanılır. Elektrod yüzeyinde meydana gelen redoks tepkimesi ışımayı sağlar, Ab kaplı manyetik partiküller Ag ile reaksiyona sokulur. Ruthenium(II) tris (bipyridyl)[Ru(bpy)₃⁺²] ile işaretli Ab ilave edilir (sandwich yöntemi). Daha sonra bu yapıya streptavidin kaplı mikropartiküller bağlanır. Oluşan bu partiküller elektrodla temas ettirilir. Partiküle bağlı Ru(bpy)₃⁺² elektrot yüzeyinde bulunan Tripropilamin(TPA) ile elektrokemilüminesans tepkimeye girer ve Ru(bpy)₃⁺³ yükseltgenir. Ru(bpy)₃⁺³ temel haline dönerken ışıma meydana gelir.

Kullanılan Reaktifler

- 1) M reaktifi ; Streptavidin kaplı mikropartiküller içerir,
- 2) R1 reaktifi; 18 ml anti T4-Ab-Ru(bpy), rutenyum kompleksi ile işaretli 50 ng/MI poliklonal anti-T4-antikoru (koyun) ve 100 mmol/L fosfat tamponu içerir,
- 3) R2 reaktifi; 2,5 ng/mL biyotinli T4 ve 100 mmol/L fosfat tamponu içerir.

Deneyin Yapılışı

- 1) 15 µl numune ve rutenyum kompleksi ile işaretlenmiş T4'e spesifik antikor inkübe edilir,
- 2) Biyotinli T4 ve streptavidin kaplı mikropartiküller eklendikten sonra, işaretlenmiş antikorun hala boş olan bağlanma yerleri, antikor haptan kompleksinin oluşması ile doldurulur. Bütün kompleks biyotin ve streptavidinin etkileşimi aracılığıyla katı faza bağlanmış hale gelir,
- 3) Reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrodun yüzeyinde manyetik olarak tutuldukları ölçüm hücresi içine aspre edilir, daha sonra bağlanmamış maddeler procell ile uzaklaştırılır.
- 4) Elektrod üzerine voltaj uygulanması kemilüminesans emisyonuna neden olup, bu bir foton sayıcı (photomultipliler) ile ölçülür.

2.10. fT3 Düzeyi Ölçümü

Plazma fT3 düzeyleri Roch marka Moduler E170 otoanalizörü kullanılarak kemilüminesans prensibine göre ölçülmüştür.

Kullanılan Reaktifler

- 1) M reaktifi; 12 ml. streptavidin kaplı mikro partiküller içerir,
- 2) R1 reaktifi; 18 ml rutenyum kompleksi ile işaretlenmiş monoklonal anti T3 antikor (koyun) ve 100 mmol/L fosfat tamponu içerir,
- 3) R2 reaktifi; 18 ml biyotinli T3 ve 100 mmol/L fosfat tamponu içerir.

Deneyin Yapılışı

- 1) 15 µl numune ve rutenyum kompleksi ile işaretlenmiş T3'e spesifik antikor inkübe edilir,
- 2) Biyotinli T3 ve streptavidin kaplı mikropartiküller eklendikten sonra, işaretlenmiş antikorun hala boş olan bağlanma yerleri, antikor haptent kompleksinin oluşması ile doldurulur. Bütün kompleks biyotin ve streptavidinin etkileşimi aracılığıyla katı faza bağlanmış hale gelir,
- 3) Reaksiyon karışımı, mikropartiküllerin elektrodun yüzeyinde manyetik olarak tutuldukları ölçüm hücresi içine aspre edilir, daha sonra bağlanmamış maddeler procell ile uzaklaştırılır,
- 4) Elektrod üzerine voltaj uygulanması kemilüminesans emisyonuna neden olup, bu bir foton sayıcı (photomultipliler) ile ölçülür.

2.11. Plazma Kolesterol Düzeyi Ölçümü

Plazma total kolesterol ölçümü, Siemens dimension clinical chemistry system kitleri kullanılarak, Advia 1200 (Siemens Chemistry system) biyokimya otoanalizöründe çalışıldı.

Fotometrik veya **kolorimetrik teknik** madde renginin yoğunluğunun ölçülmesiyle madde miktarının veya konsantrasyonunun bulunmasıdır. Çözelti içindeki madde miktarını, çözülden geçen veya çözeltinin tuttuğu ışık miktarından faydalanarak ölçülmesi işlemine dayanan bir yöntemdir. Analiz edilen örnek üzerine ışık demetinin bir kısmını filtre kullanarak gönderen veya ayıran aletlere **fotometre** veya **kolorimetre** adı verilirken bu seçiciliği prizmalar veya yarıklar kullanarak yapan aletlere de **spektrofotometre** adı verilmektedir.

Kullanılan Reaktifler

Çalışma kitinin içeriği aşağıdaki gibidir;

Kolesterol esteraz (CE),

Kolesterol oksidaz (CO),

Horseradish peroksidaz (HPO),

Aminoantipiridin (AAP),

Tampon,

Kolat,

Dietilanilin (DEA),

Sümfaktan.

Deneyin Yapılışı

Kolesterol esteraz kolesterol esterlerinin hidrolizini katalize ederek serbest kolesterol oluşturur; oluşan serbest kolesteroler daha önceki serbest kolesterol ile birlikte, kolesterol oksidazın katalize ettiği bir reaksiyon içinde oksitlenerek kolest-4-ene-3-one ve hidrojen peroksit oluşturur. Horseradish peroksidaz beraberinde, bu şekilde oluşan hidrojen peroksit, 540 nm'de emen bir kromofor oluşturmak üzere N,N dietilalanin-HCl/4 aminoantipiridini (DEA-HCl/AAP) oksitlemek için kullanılır. Oksitlenen DEA-HCl/AAP'nin neden olduğu emilim toplam kolesterol konsantrasyonuyla doğru orantılıdır ve polikromatik (452, 540, 700 nm) son nokta tekniği kullanılarak okutulur.

2.12. Plazma Trigliserid Düzeyi Ölçümü

Plazma trigliserid ölçümü, Siemens dimension clinical chemistry system kitleri kullanılarak, Advia 1200 (Siemens Chemistry system) biyokimya otoanalizöründe çalışıldı.

Kullanılan Reaktifler

Çalışma kitinin içeriği aşağıdaki gibidir;

Lipoprotein lipaz

ATP

Gliserol kinaz

Gliserol 3 fosfat oksidaz

4 aminoantipiridin

4 klorofenol

Peroksidaz

Mg

Buffer

Deneyin Yapılışı

Plazma lipoprotein lipaz ile inkübe edilir ve trigliserid gliserol ve yağ asitlerine dönüşür. ATP ile gliserol fosforillenerek gliserol kinaz enzimi ile gliserol 3 fosfata dönüşür. Gliserol 3 fosfat gliserol 3 fosfat oksidaz enzimi ile dihidroksiaseton fosfat ve hidrojen peroksida dönüşür. Peroksidazın katalizlediği reaksiyonda hidrojen peroksit ve aminoantipiridin ve klorofenolden kuinoneimin adında bir bileşik oluşur. Bu bileşiğin verdiği absorbas gliserol konsantrasyonu ile doğru orantılıdır ve 510, 700 nm’de bikromatik teknik ile ölçülür.

2.13. HDL Kolesterol Düzeyi Ölçümü

Plazma HDL kolesterol ölçümü, Siemens dimension clinical chemistry system kitleri kullanılarak, Advia 1200 (Siemens Chemistry system) biyokimya otoanalizöründe çalışıldı.

Kullanılan Reaktifler

Çalışma kitinin içeriği aşağıdaki gibidir;

MESS buffer

Kolesterol oksidaz

Kolesterol esteraz

Peroksidaz

N,N-bis(4 Sülfobütil) m-toluidin disodyum

DSBmT

4-aminoantipiridin

Deterjan

Askorbik asit oksidaz

NaOH

Deneyin Yapılışı

HDL kolesterol ölçümü kolesterol oksidaz ile HDL siz esterleşmemiş kolesterolün çöktürülmesi esasına dayanır. Çöktürülen HDL kolesterol esteraz ile 4- konestenon ve hidrojen peroksida dönüşür. Oluşan ürünler peroksidazla reaksiyona girerek oluşan renk ölçülür.

2.14. LDL Kolesterol Düzeyi Ölçümü

LDL kolesterol düzeyleri Freidewald's formülü'ne göre hesaplanarak tayin edildi. Bu formül aşağıdaki gibidir.

LDL kolesterol= Total kolesterol- (Trigliserid/5 + HDL kolesterol

2. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

İstatistiksel analiz SPSS (Statistical Package for the Social Sciences ver. 13.0, SPSS Inc, Chicago Illinois, USA) programı kullanılarak yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verildi. Grup içi ve gruplar arası karşılaştırmada ANOVA ve Duncan testi kullanıldı. $P < 0,001$ anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Dört hafta süren deneysel çalışma sonunda ilk olarak bir grup deney hayvanının kanı alınarak tiroid hormon düzeyleri ölçülmüştür. Ratların hipertiroidi olduklarından emin olunduktan sonra, diğer deney hayvanlarından kan örnekleri alınmıştır. Ratlardan elde edilen plazma örneklerinden plazma fT4, fT3, homosistein, ADMA, NO, total kolesterol, HDL kolesterol, trigliserid ölçümleri yapıldı. LDL kolesterol Freidewald's formülüne göre hesaplandı. Ratların deney sürecinde ölçülen haftalık canlı ağırlık değişimlerinin istatistiksel sonuçları Tablo 4.1 de ve Grafik 4.1 de gösterilmiştir.

Gruplar kendi aralarında ve aynı zamanda kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Tablo 4 de fT4, fT3, homosistein, ADMA, NO, total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid düzeyleri anlamlılık $p<0,001$ olarak verilmiştir.

4.1. Deney Gruplarının Haftalık Canlı Ağırlık Ölçümleri

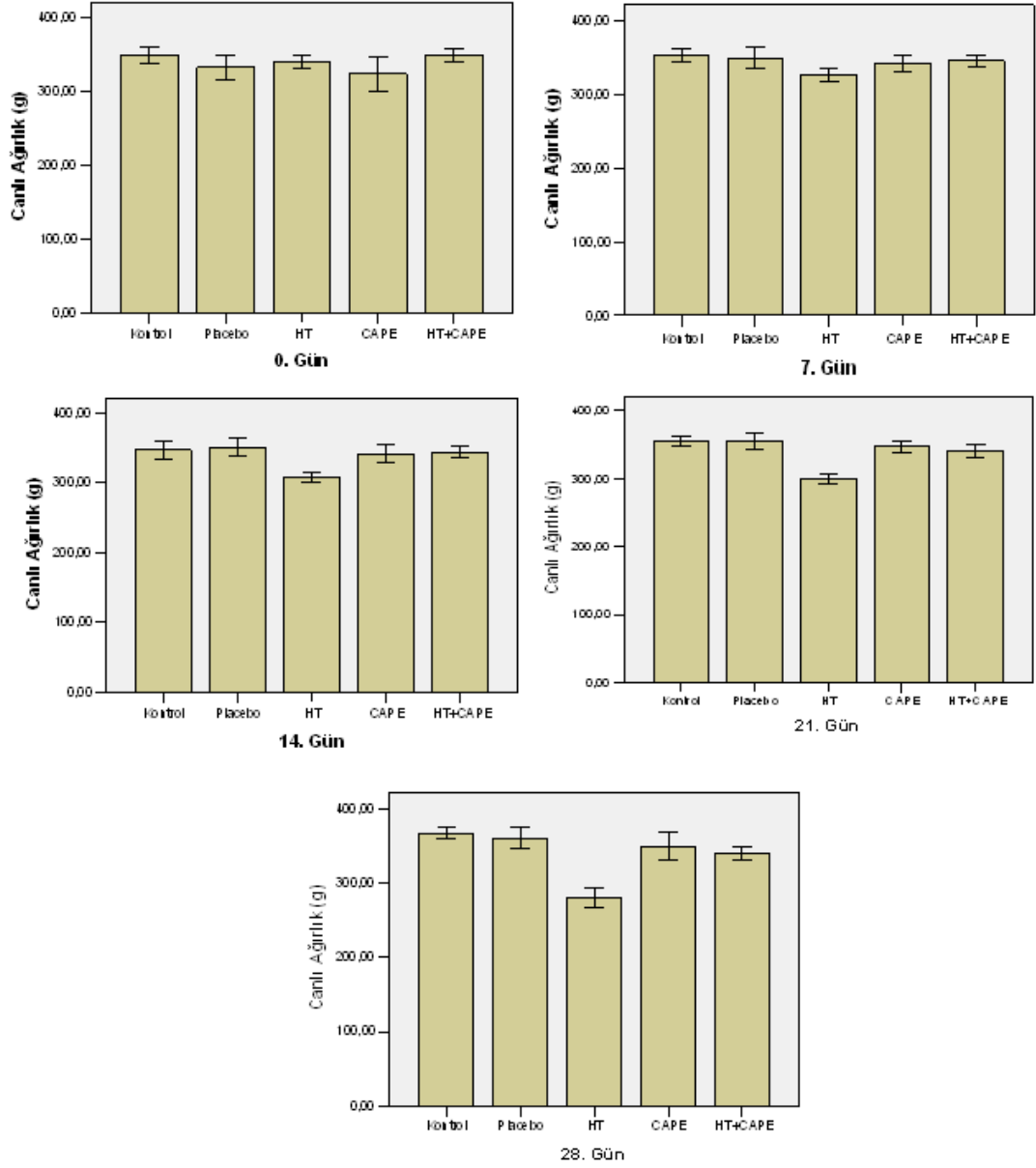
Çalışmamızda haftalık canlı ağırlık ölçümü yapılan ratlardan hipertiroidizm oluşturulan grubun (HT) canlı ağırlıkları Tablo 4.1 ve Grafik 4.1 de görüldüğü gibi kontrol, placebo, CAPE ve CAPE +HT grubuna göre anlamlı olarak düşük ($p<0,001$) bulunmuştur. CAPE+HT grubunda canlı ağırlık değişiminde ise ilk hafta ve 2. hafta kontrol placebo ve CAPE grubuna göre anlamlı bir fark görülmezken 3. ve 4. haftalarda ise kontrol ve placebo grubundan anlamlı olarak düşük ($p<0,001$) bulunmuş, CAPE verilen grupla aralarında istatistiksel bir fark görülmemiştir. Bununla birlikte HT grubundan ise anlamlı olarak yüksek olduğu ($p<0,001$) bulunmuştur.

Tablo 4.1. Grupların Canlı Ağırlık Ölçümleri

Gün	Kontrol	Placebo	HT	CAPE	CAPE+HT	p
0	349,20±4,74 ^a	333,90±7,38 ^{a,b}	340,90±4,29 ^{a,b}	324±10,19 ^c	350±3,76 ^a	0,000
7	353,00±4,25 ^a	349±6,24 ^a	326,50±4,18 ^c	341,50±4,60 ^a	345,50±3,36 ^a	0,000
14	346,80±6,00± ^a	350,40±5,75 ^a	307,10±2,94 ^c	341,30±5,63 ^a	343,30±3,64 ^a	0,000
21	355,2±3,53 ^a	355,60±5,31 ^a	300±3,49 ^c	347,70±3,78 ^{a,b}	340,90±3,90 ^b	0,000
28	367,50±3,14 ^a	360,90±6,25 ^{a,b}	279,80±5,93 ^d	349,80±8,40 ^{b,c}	341,20±3,88 ^c	0,000

a,b,c: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir.

($P<0,001$), HT: Hipertiroidizm Grubu, CAPE: Kafeik asit Grubu, CAPE+HT: Kafeik asit ve Hipertiroidizm Grubu.



Grafik 4.1. Gruplardaki Canlı Ağırlık Ölçümleri

HT: Hipertiroidizm Grubu, CAPE: Kafeik Asit Grubu, CAPE+HT: Kafeik asit ve Hipertiroidizm Grubu.

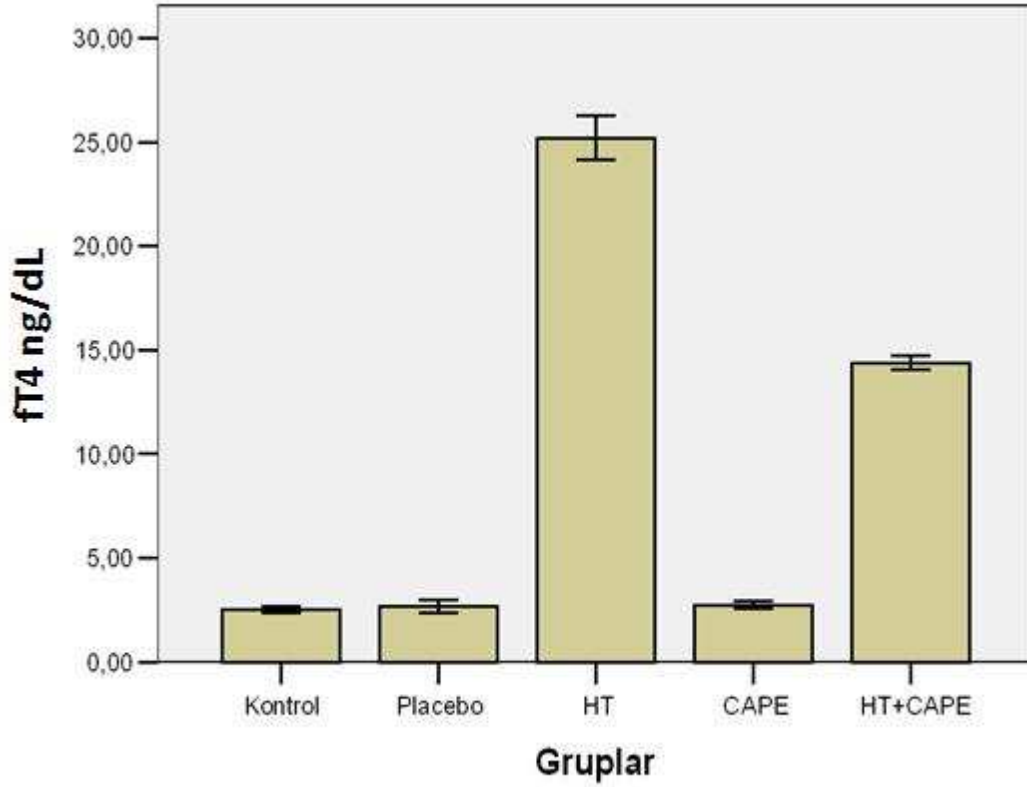
	Kontrol	Placebo	HT	CAPE	CAPE+HT	P
fT4 (ng/dL)	2,49±0,07 ^c	2,68±0,13 ^c	25,20±0,46 ^a	2,73±0,08 ^c	14,39±0,14 ^b	0,000
fT3 (pg/ml)	2,33±0,09 ^c	2,55±0,13 ^c	11,63±0,35 ^a	2,40±0,10 ^c	5,35±0,07 ^b	0,000
Homosistein (µmol/l)	26,94±1,28 ^a	26,98±1,08 ^a	13,56±1,30 ^b	29,86±1,41 ^a	27,75±1,51 ^a	0,000
ADMA (µmol/l)	0,44±0,01 ^c	0,44±0,02 ^c	0,74±0,03 ^a	0,46±0,01 ^c	0,54±0,02 ^b	0,000
NO (µM)	9,91±0,90 ^{a,b}	10,96±1,02 ^a	5,86±0,14 ^c	9,59±0,72 ^{a,b}	8,37±0,44 ^b	0,000
T.Kolesterol (mg/dl)	57,40±1,76 ^a	57,70±2,29 ^a	26,40±1,57 ^c	58,30±2,42 ^a	47,40±1,18 ^b	0,000
HDL (mg/dl)	20,16±0,66 ^a	19,64±0,61 ^a	14,25±0,43 ^b	19,82±0,59 ^a	14,03±0,47 ^b	0,000
LDL (mg/dl)	19,70±1,82 ^a	20,69±1,62 ^a	3,65±0,72 ^c	21,39±1,74 ^a	15,74±1,20 ^b	0,000
TG (mg/dl)	89,70±2,40 ^a	80,70±2,47 ^a	58,50±2,47 ^b	87,50±3,36 ^a	85,40±4,34 ^a	0,000

Tablo 4. Ölçülen Parametrelere Ait Bulgular

(P<0,001), HT: Hipertiroidizm Grubu, CAPE: Kafeik Asit Grubu, CAPE+HT: Kafeik asit ve Hipertiroidizm Grubu *a,b,c*: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir.

4.2. Plazma fT4 Sonuçları

Çalışmamızda hipertiroid (HT) grubu deneklerin plazma fT4 değerleri, Tablo 4 de ve Grafik 4.2 de görüldüğü gibi kontrol, placebo, CAPE, CAPE+HT gruplarına göre anlamlı olarak yüksek ($p<0,001$) olduğu ayrıca CAPE+HT grubun plazma fT4 değerlerinin de kontrol, placebo ve CAPE grubuna göre anlamlı olarak yüksek ($p<0,001$) hipertiroidli gruptan ise anlamlı olarak düşük ($p<0,001$) olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol, placebo ve CAPE grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmadı.

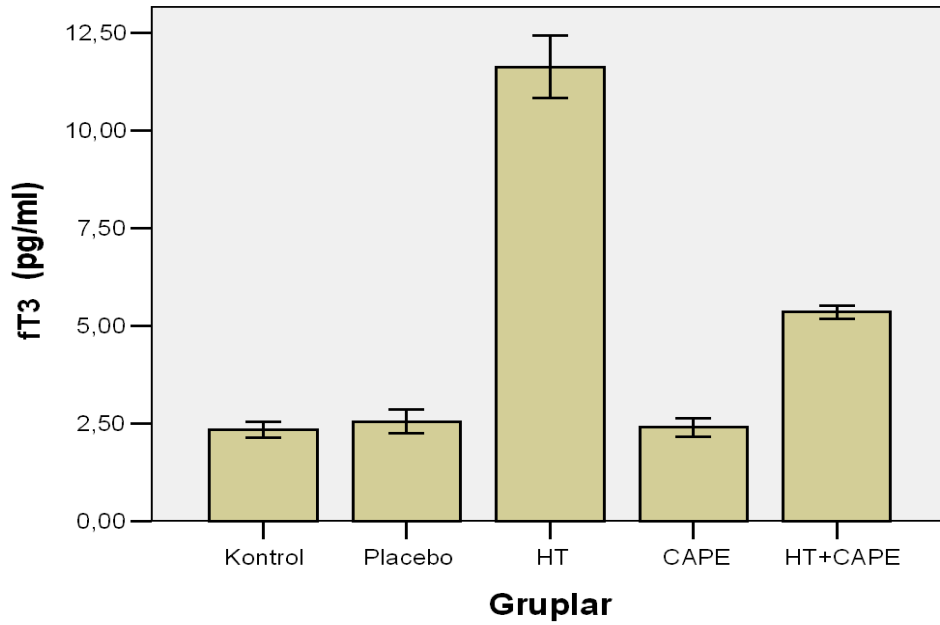


Grafik 4.2. Gruplardaki Plazma fT4 Değerleri

HT: Hipertiroidizm Grubu, CAPE: Kafeik asit grubu, CAPE+HT: Kafeik asit ve hipertiroidizm grubu.

4.3. Plazma fT3 Sonuçları

Çalışmamızda hipertiroid (HT) grubu deneklerin plazma fT3 değerleri, Tablo 4 de ve Grafik 4.3 de görüldüğü gibi kontrol, placebo, CAPE, CAPE+HT gruplarına göre anlamlı olarak yüksek ($p<0,001$) olduğu ayrıca CAPE+HT grubun plazma fT3 değerlerinin de kontrol, placebo ve CAPE grubuna göre anlamlı olarak yüksek ($p<0,001$) hipertiroidli gruptan ise anlamlı olarak düşük ($p<0,001$) olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol, placebo ve CAPE grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmadı.

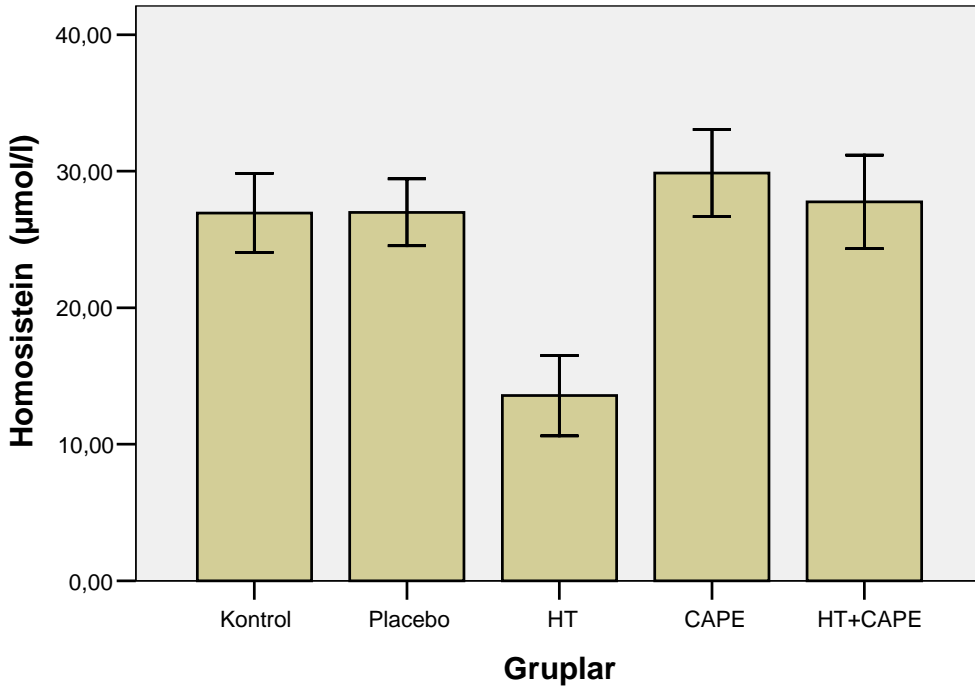


Grafik 4.3. Gruplardaki Plazma fT3 Değerleri

HT: Hipertiroidizm Grubu, CAPE: Kafeik Asit Grubu, CAPE+HT: Kafeik asit ve Hipertiroidizm Grubu.

4.4. Plazma Homosistein Sonuçları

Çalışmamızda hipertiroid (HT) grubu deneklerin plazma homosistein değerleri, Tablo 4 de ve Grafik 4.4 de görüldüğü gibi kontrol, placebo, CAPE, CAPE+HT gruplarına göre anlamlı olarak düşük ($p<0,001$) olduğu CAPE+HT grubunun ise HT grubuna göre anlamlı olarak yüksek ($p<0,001$) olduğu bulunmuştur. Kontrol, placebo CAPE ve CAPE+HT grupları arasında istatistiksel bir fark görülmedi.

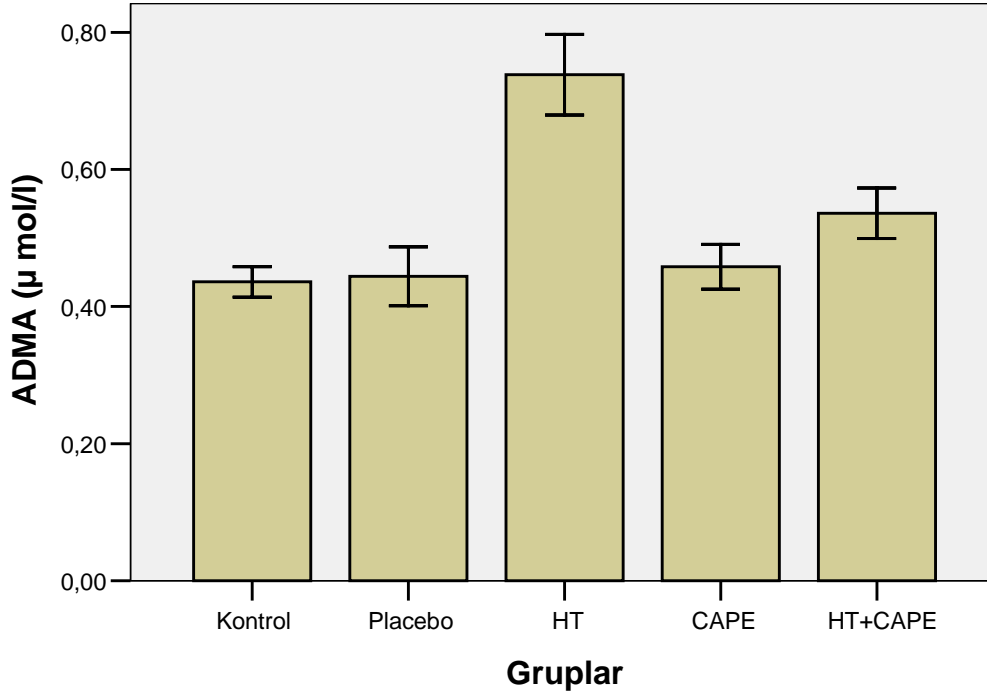


Grafik 4.4. Gruplardaki Plazma Homosistein Değerleri

HT: Hipertiroidizm Grubu, CAPE: Kafeik Asit Grubu, CAPE+HT: Kafeik Asit ve Hipertiroidizm Grubu.

4.5. Plazma ADMA Sonuçları

Çalışmamızda hipertiroid (HT) grubu deneklerin plazma ADMA değerleri, Tablo 4 de ve Grafik 4.5 de görüldüğü gibi kontrol, placebo, CAPE, CAPE+HT gruplarına göre anlamlı olarak yüksek olduğu ayrıca CAPE+HT grubun plazma ADMA değerlerinin de kontrol, placebo ve CAPE grubuna göre anlamlı olarak yüksek ($p<0,001$) hipertiroidli gruptan ise anlamlı olarak düşük ($p<0,001$) olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol, placebo ve CAPE grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır.

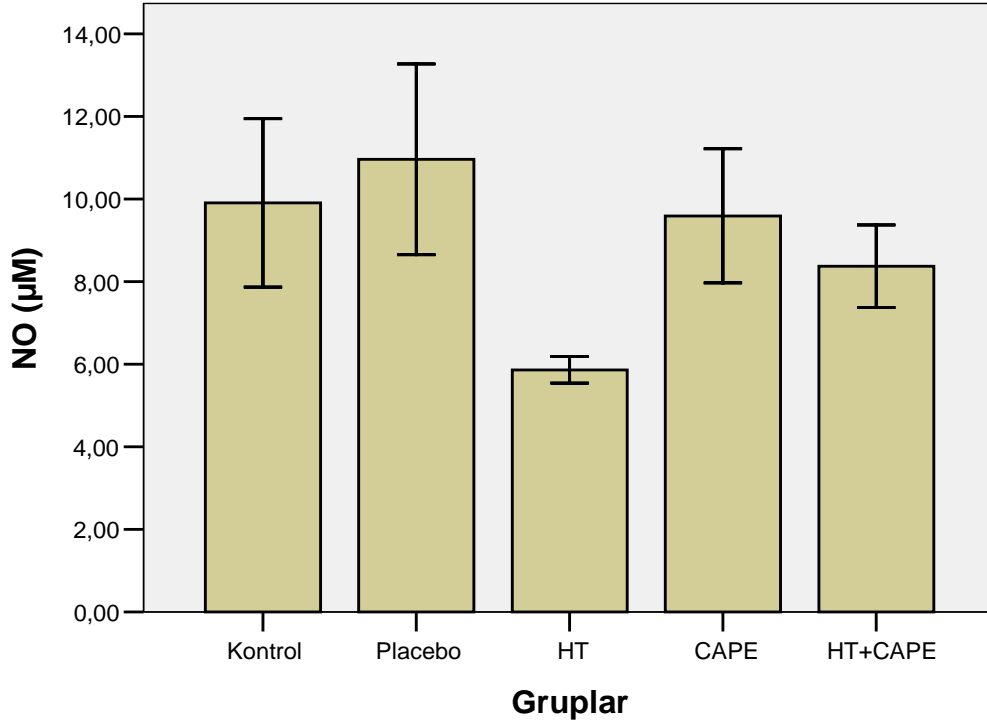


Grafik 4.5. Gruplardaki Plazma ADMA Değerleri

HT: Hipertiroidizm Grubu, CAPE: Kafeik Asit Grubu, CAPE+HT: Kafeik asit ve Hipertiroidizm Grubu.

4.6. Plazma NO Sonuçları

Çalışmamızda hipertiroid (HT) grubu deneklerin plazma NO değerleri, Tablo 4 de ve Grafik 4.6 de görüldüğü gibi kontrol, placebo, CAPE, CAPE+HT gruplarına göre anlamlı olarak düşük ($p<0,001$) olduğu gözlemlenmiştir. CAPE+HT grubunun NO düzeyleri ile kontrol ve CAPE grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmadı.

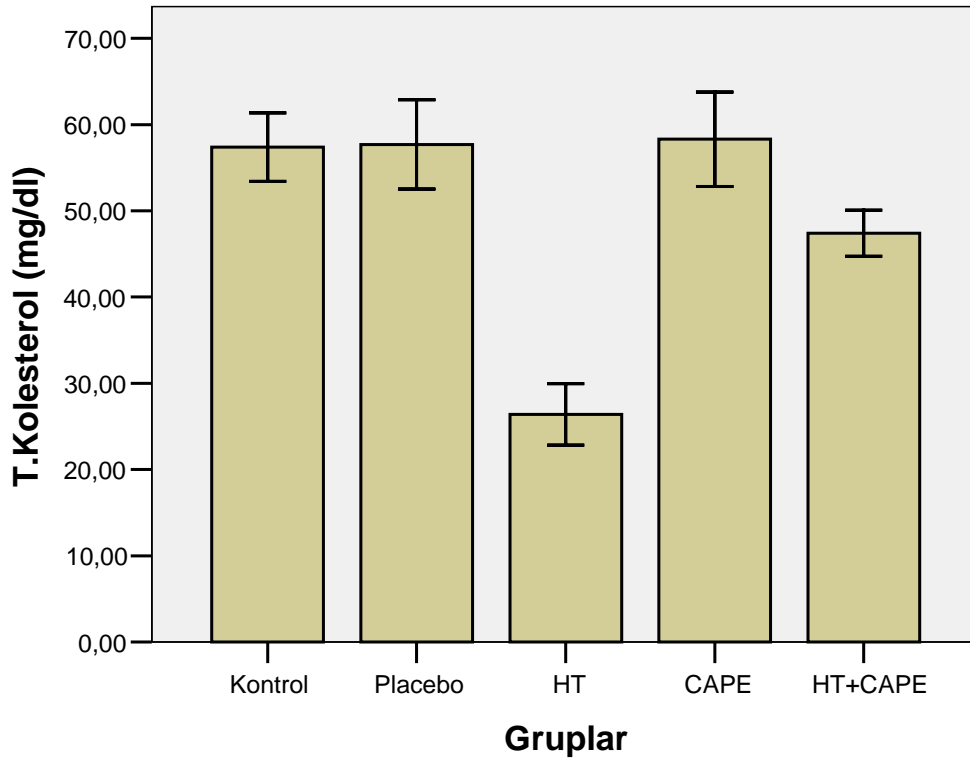


Grafik 4.6. Gruplardaki Plazma NO Değerleri

HT: Hipertiroidizm Grubu, CAPE: Kafeik Asit Grubu, CAPE+HT: Kafeik asit ve Hipertiroidizm Grubu.

4.7. Plazma Total Kolesterol Sonuçları

Çalışmamızda hipertiroid (HT) grubu deneklerin plazma total kolesterol değerleri, Tablo 4 de ve Grafik 4.7 de görüldüğü gibi kontrol, placebo, CAPE gruplarına göre anlamlı olarak düşük olduğu aynı zamanda, CAPE+HT grubunun plazma total kolesterol sonuçları ise kontrol, placebo ve CAPE grubundan anlamlı olarak düşük ($p<0,001$) olmakla birlikte, HT grubuna göre anlamlı olarak yüksek ($p<0,001$) bulunmuştur. Kontrol, placebo ve CAPE grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır.

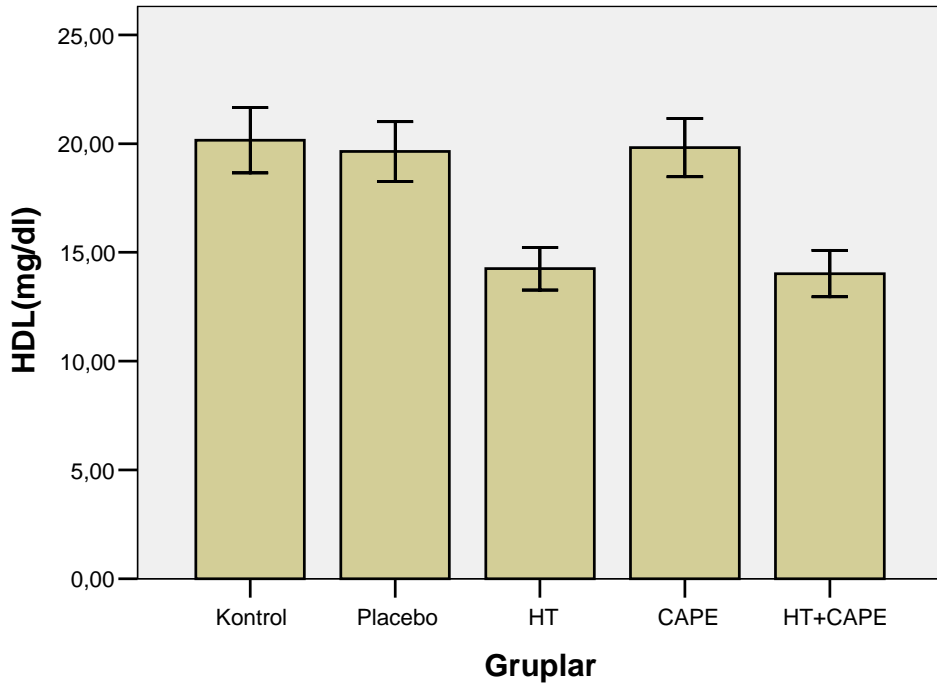


Grafik 4.7. Gruplardaki Plazma Total Kolesterol Değerleri

HT: Hipertiroidizm Grubu, CAPE: Kafeik Asit Grubu, CAPE+HT: Kafeik asit ve Hipertiroidizm Grubu.

4.8. Plazma HDL Kolesterol Sonuçları

Çalışmamızda hipertiroid (HT) grubu ve CAPE+HT grubu deneklerin plazma HDL kolesterol değerleri, Tablo 4 de ve Grafik 4.8 de görüldüğü gibi kontrol, placebo, CAPE gruplarına göre anlamlı olarak düşük olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol, placebo ve CAPE grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır.

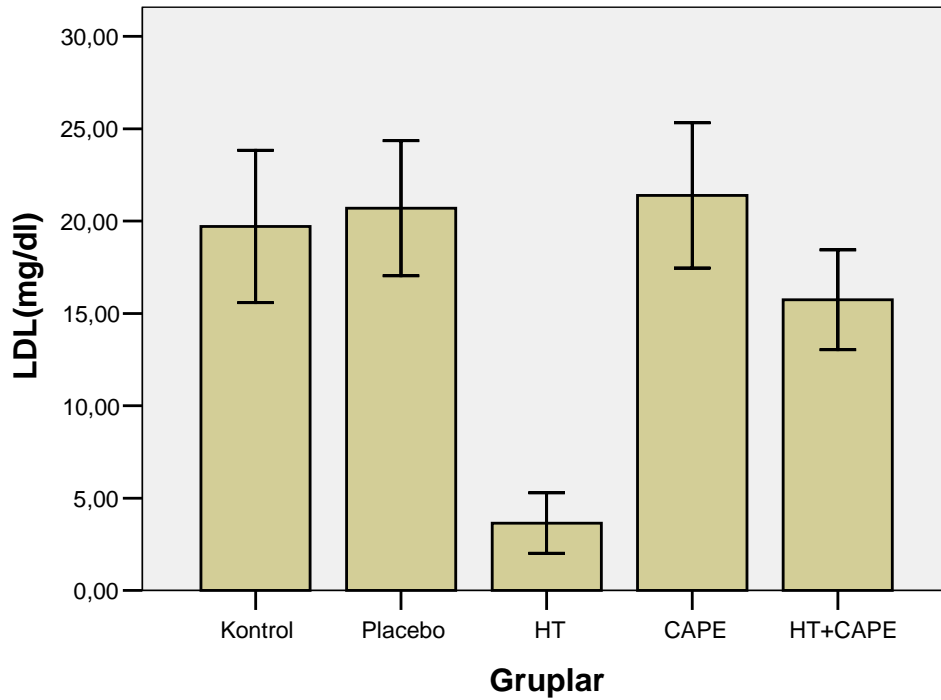


Grafik 4.8. Gruplardaki Plazma HDL Kolesterol Değerleri

HT: Hipertiroidizm Grubu, CAPE: Kafeik Asit Grubu, CAPE+HT: Kafeik Asit ve Hipertiroidizm Grubu.

4.9. Plazma LDL Kolesterol Sonuçları

Çalışmamızda hipertiroid (HT) grubu deneklerin plazma LDL kolesterol değerleri, Tablo 4 de ve Grafik 4.9 de görüldüğü gibi kontrol, placebo, CAPE ve CAPE+HT gruplarına göre anlamlı olarak düşük ($p<0,001$) ayrıca CAPE+HT grubunun plazma LDL kolesterol düzeyleri HT grubundan anlamlı olarak yüksek ($p<0,001$), kontrol, placebo ve CAPE gruplarından anlamlı olarak düşük ($p<0,001$) olduğu gözlemlenmiştir. Kontrol, placebo ve CAPE grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır.

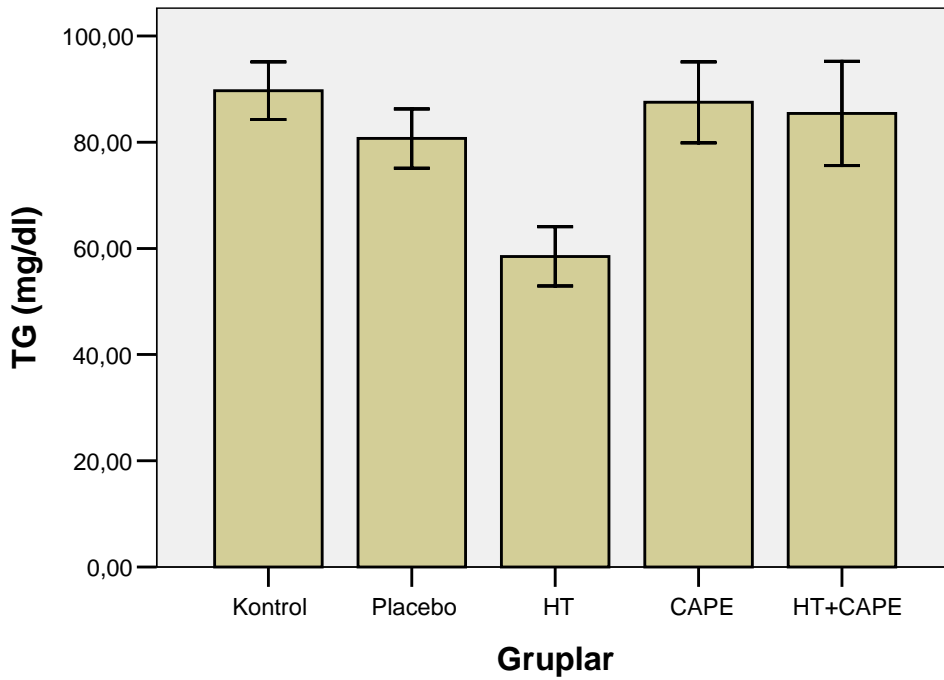


Grafik 4.9. Gruplardaki Plazma LDL Kolesterol Değerleri

HT: Hipertiroidizm Grubu, CAPE: Kafeik Asit Grubu, CAPE+HT: Kafeik asit ve Hipertiroidizm Grubu.

4.10. Plazma Trigliserid Sonuçları

Çalışmamızda hipertiroid (HT) grubu deneklerin plazma trigliserid değerleri, Tablo 4 de ve Grafik 4.10 de görüldüğü gibi kontrol, placebo, CAPE ve CAPE+HT gruplarına göre anlamlı olarak düşük olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol, placebo, CAPE ve CAPE+HT grupları arasında istatistiksel bir fark bulunmamıştır.



Grafik 4.10. Gruplardaki Plazma TG Sonuçları

HT: Hipertiroidizm Grubu, CAPE: Kafeik Asit Grubu, CAPE+HT: Kafeik asit ve Hipertiroidizm Grubu.

5. TARTIŞMA

Bu çalışma, ratlarda hipertiroidizm oluşturarak hem tiroid hormonlarının, homosistein, ADMA, NO ve lipid düzeyleri üzerindeki etkilerini incelemek, hem de antiinflamatuvar, immünomodülatör, antioksidan, antimikrobik etkileri olan ve birçok sebeple tedavi amaçlı kullanılarak, iyileştirici etkisinin olduğu gösterilmiş olan propolisin (Borelli et al., 2002) etken maddesi CAPE'nin bu parametreler üzerindeki olası olumlu etkilerinin araştırılması amacıyla yapılmıştır. Çalışmada kontrol grubundan ayrı olarak, i.p. enjeksiyonun hayvanlarda yarattığı stres durumunun deneysel çalışma modellerine bir etkisinin olup olmadığını belirlemek için bir de placebo grubu kullanıldı, fakat elde edilen sonuçlara göre kontrol grubu ve placebo grup arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi.

Dört haftalık çalışma sonunda ratların haftalık canlı ağırlık değişimleri incelendi, plazma fT3, fT4, homosistein, ADMA, NO ve lipid düzeyleri ölçüldü.

Çalışma sürecinde haftalık olarak takip edilen ratların canlı ağırlık ölçümlerinde, hipertiroidizm oluşturulan ratların canlı ağırlıklarının çalışma sonuna kadar her hafta, kontrol, placebo, CAPE ve CAPE+HT gruplarına göre istatistiksel olarak düştüğü ($p<0,001$) gözlemlendi. Hipertiroidizmli ratların canlı ağırlıklarındaki bu düşüşün nedeni, tiroid hormonlarının birçok memeli türünde dokulardaki bazal metabolik oranı ve enerji metabolizmasını hızlandırmasıdır (Venditti et al., 1997; Goswami et al., 2003). Tiroid hormonları enerji metabolizması üzerindeki bu etkisini oksijen tüketimini, oksidatif fosforilasyonu içeren bazı mitokondriyal fonksiyonları ve bazı mitokondriyal solunum zinciri komponentlerinin aktivite ve sayısında birçok değişiklik yaparak, mitokondriyal solunumu arttırarak göstermektedir (Venditti et al., 1997; Das et al., 2001). Çalışmamızda da hipertiroidizm oluşturduğumuz ratlarda gözlemlediğimiz, tiroid hormonu artışı ile bazal metabolizmanın hızlanması, bunu

takiben gerçekleşen karbonhidrat ve yağ depolarının yıkımındaki artış nedeniyle meydana gelen bir canlı ağırlık kaybıdır. Bununla birlikte CAPE+HT grubunun canlı ağırlık değişimleri ise hipertiroidizm grubuna göre istatistiksel olarak yüksek ($p<0,001$) bulunmuştu. Bu sonuç bize kafeik asitin tiroid hormonlarının canlı ağırlıkta sebep olduğu düşüşü azaltabileceğini göstermektedir. Ayrıca CAPE+HT'li ratların fT3, fT4 seviyelerinin, hipertiroidizmlı ratların fT4, fT3 seviyelerine göre istatistiksel olarak düştüğü ($p<0,001$) görülmüştür bu da kafeik asitin tiroid hormonlarının yüksek miktarını düşürücü etkilerini destekler nitelikte bir bulgudur. Ahmed M. ve arkadaşları (2006), hipertiroidizm oluşturdukları ratlarda CAPE'nin tiroid hormonları ve oksidatif stres üzerine olan etkisini araştırmışlar ve CAPE'nin hem tiroid hormonlarını düşürdüğünü hem de oluşan oksidatif strese karşı koruyucu bir rol oynadığını bulmuşlardır. Bu sonuç bizim bulgularımızla uyumludur.

CAPE üzerinde yapılan çalışmalarda, CAPE'nin antioksidan, antiinflamatuvar, reperfüzyon hasarı önleyici, antiproliferatif, immunostimülatör, antibakteriyel, antiviral, antikanser, antiaterosklerotik ve nöroprotektif özellikleri olduğu gösterilmiştir ve CAPE'nin bu özelliklerini antioksidan, enzim inhibitörü veya spesifik reseptörlere bağlanarak gösterdiği bildirilmiştir (Parlakpınar ve ark., 2005). Ahmed M. ve arkadaşları (2006), tiroid hormon seviyelerinde meydana gelen CAPE indüklü düşüşün mekanizmasını, CAPE'nin antioksidan özelliği sayesinde deiodinasyon sistemindeki artışı indükleyebileceği görüşünü dile getirmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada ratların plazma homosistein düzeyleri ölçülmüş, hipertiroidizmlı ratların plazma homosistein düzeyleri diğer gruplara göre istatistiksel olarak düşük ($p<0,001$) bulunmuş, kontrol placebo, CAPE ve CAPE+HT grupları arasında istatistiksel bir fark görülmemiştir.

Demirbaş ve ark. (2004) hipertiroidli hastalarda yaptıkları bir çalışmada plazma homosistein düzeylerindeki istatistiksel azalmanın nedeni olarak kreatinin klirensindeki artışı göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda, hipertiroidizm oluşturulmuş ratların plazma homosistein düzeylerindeki düşüşün nedeni, tiroid hormonlarının, metabolik hızı ve dolayısı ile glomerul filtrasyon hızını artırmasına, böylece homosistein eliminasyonunu hızlandırmasına bağlı olabilir. Tiroid hastalıklarında, plazma homosistein düzeylerinin araştırılmasına yönelik son zamanlarda birçok

çalışma yapılmaktadır. Nedrebo ve ark. (1998) hipo ve hipertiroidizmli insanların, plazma homosistein düzeylerinin değişmediğini savunurken, Demirbaş ve ark. (2004), ise hipo ve hipertiroidizmli insanlarda yaptıkları çalışmada, hipotiroidide plazma homosistein düzeylerinin arttığını, hipertiroidde ise azaldığını belirtmişlerdir.

Bulgularımızda CAPE+HT grubunun plazma homosistein seviyeleri, hipertiroidizm grubuna göre istatistiksel olarak yüksek ($p<0,001$) saptandı. Fakat CAPE ve CAPE+HT grubun arasında homosistein seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Bu sonuca göre hipertiroidizmde CAPE verilışı homosistein düzeylerini kontrol grubu ile aynı seviyelere getirmiş, fakat CAPE'nin tek başına verilışı ise homosistein konsantrasyonlarında kontrol grubuna göre istatistiksel bir yükselişe sebep olmamıştır. Bu bulgulara göre CAPE+HT grubunda kafeik asitin homosistein seviyelerini arttırıcı etkisinin nedeninin, tiroid hormonu artışı üzerindeki baskılayıcı etkisi ile gerçekleştiğini düşünmekteyiz.

Yaptığımız çalışmada, grupların ADMA ve NO seviyelerinde de istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler bulunmuştur. Hipertiroidizm oluşturulan ratların plazma NO seviyelerini kontrol, placebo, CAPE ve CAPE+HT gruplarına göre istatistiksel olarak düşük ($p<0,001$), ADMA seviyelerinin ise istatistiksel olarak yüksek ($p<0,001$) saptandı. Hermenegildo ve arkadaşları (2002), hipertiroidizmli kişilerde plazma NO ve ADMA düzeylerini incelemişler ve hipertiroidizmli kişilerde plazma NO seviyelerini kontrol grubuna göre istatistiksel olarak düşük, plazma ADMA seviyelerini ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulmuşlardır. Bu sonuçlar bizim çalışmamızın sonuçları ile uyumludur.

ADMA seviyelerindeki bu yükselişe ise hipertiroidizm neden olmuş olabilir. ADMA, intrasellüler bir enzim olan dimetil arjinin dimetil aminohidrolaz (DDAH) yoluyla metabolize olmaktadır (Ogawa et al., 1989). Hipertiroidizmin lipid peroksidasyonunu arttırması ve serbest oksijen radikalleri üretimini arttırması yoluyla DDAH aktivitesini azaltabileceği düşünülebilir (Videla et al., 1988). Aynı zamanda, ADMA'nın oluşumu esnasında proteinlerin metillenmesini sağlayan ve spesifik bir

enzim olan protein arjinin N-metiltransferaz I (PRMT1)'in tiroid hormonları tarafından aktivitesinin up-regüle edildiği belirtilmiştir (Amur ve ark., 1984). ADMA seviyelerinin artışının hipertiroidizm ile ilişkisini bu mekanizma açıklayabilir.

Vasküler endotelde gerçekleşen bu reaksiyonda ADMA, NOS aktivitesini inhibe ederek L-Argininin hücre içine alınımını engeller. Güçlü vazodilatatör etkisi olan NO platelet agregasyonu, lökosit migrasyonu, hücrel adezyon ve vasküler düz kas proliferasyonunu inhibe eder (Jiang et al., 2005; Sela, 2005). NO'nun fonksiyonu; vasküler homeostazın sağlanmasıdır. Ortamda NO azaldığında, endotel homeostaz vazokonstriksiyon lehine bozulur ve endotelyal disfonksiyon başlar (Endemann et al., 2004). Bulgularımız bize, hipertiroidizmin sebep olabileceği ADMA artışı ile birlikte NO sentezinin inhibe olmasını, bu mekanizma ile gerçekleştiğini düşündüğümüz NO seviyelerindeki azalmanın oluşturabileceği bir endotel hasarı başlangıcını düşündürmektedir. Hayvan modelleri ve tiroid hastalığı olan kişilerde yapılan daha önceki çalışmalar, vasküler endotelyumun tiroid hormonlarının spesifik hedefi olduğunu göstermiştir (Ho et al., 2007).

Bununla birlikte hipertiroidizmin NO konsantrasyonları üzerine olan etkilerini araştıran farklı çalışmalar da mevcuttur. Yalçın ve arkadaşları (2004), hipertiroidizimli kişilerde nitrik oksit, oksidan ve antioksidan düzeylerini araştırmışlar ve nitrik oksit seviyelerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlar ve buldukları bu sonucu hipertiroidizmin indüklediği serbest radikal oluşumunun, oksidatif stres yaratıcı etkisinin NO artışı tarafından kompanse edildiği şeklinde açıklamışlardır. Bu sonuç NO' in aynı zamanda bir antioksidan gibi davranabilme özelliğini düşündürmüştür (Çekmen ve ark., 2001). Bununla birlikte, nitrik oksitin süperoksit ile birleşip toksik bir oksijen metaboliti olan peroksinitrit oluşturarak doku hasarına yol açtığını gösterilmiştir (Özer ve ark., 2005). Bütün bu sonuçlar NO'in hala tam olarak açıklanamamış, hem biyoyararları olan hem de zararlı etkileri olan bir bileşik olduğunu düşündürmektedir.

Arıkan ve arkadaşları da (2007), hipertiroidizm ve hipotiroidizimli hastaların ADMA, NO konsantrasyonlarını, sağlıklı kontrollerle karşılaştırmışlar ve hipertiroidizimli hastaların ADMA konsantrasyonlarını sağlıklı kontrollere ve hipotiroidizimli kişilere göre istatistiksel olarak yüksek, NO konsantrasyonlarını ise istatistiksel olarak

düşük bulmuşlardır. Bu çalışmanın bulguları da bizim çalışmamızı destekler niteliktedir.

Bununla birlikte, kemirgen ve insan plazmasında yapılan araştırmalarda, ADMA konsantrasyonlarının artışı ile reaktif oksijen ürünlerinin artışı ilişkilendirilmiştir. Reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) üretimindeki artış ile meydana gelen vasküler dokudaki oksidatif stresin ADMA konsantrasyonlarında artışa sebep olabileceği üzerinde araştırmalar yapılmıştır (Sydow et al., a, 2003; Boger et al., 2000). Oksidatif stresin ADMA'yı metabolize eden DDAH enzimin aktivitesini azalttığına dair gittikçe artan kanıtlar mevcuttur (Leiper et al., 2002). Bu nedenle yükselen ADMA konsantrasyonlarının bir oksidatif stres markırı olduğu düşünülür. Yüksek ADMA konsantrasyonlarının sebep olduğu, eNOS 'ın ürünün NO yerine, süperoksit radikalleri yönünde sonuçlanması, ADMA'nın oksidatif strese katkıda bulunabileceğini desteklemiştir (Sydow et al., b, 2003).

Bizde bu bilgiler ışığında, hipertiroidizimli ratlarda yüksek ADMA konsantrasyonlarının, hipertiroidizm nedeniyle oluşan oksidatif strese bağlı olabileceğini ve hipertiroidizmin oluşturabileceği vasküler oksidatif stresin endotel hasarına sebep olabileceğini düşünmekteyiz.

Yapılan çalışmanın asıl amacı CAPE'nin hipertiroidizm durumunda bu parametreler üzerine olan etkisidir. CAPE+HT'li ratların plazma NO düzeyi, hipertiroidizimli ratların plazma NO seviyelerine göre istatistiksel olarak artmış ($p<0,001$), plazma ADMA seviyeleri istatistiksel olarak düşmüştür ($p<0,001$).

Bu sonuçlara göre hipertiroidizmin sebep olduğunu düşündüğümüz, yüksek ADMA ve düşük NO seviyelerinin göstergesi olan endotel hasarına karşı CAPE koruyucu bir etki göstermiştir. CAPE bu etkisini direk tiroid hormon seviyeleri üzerinden gerçekleştirdiği inancındayız. Hipertiroidizmin oluşturmuş olabileceği vasküler dokudaki oksidatif strese karşı, CAPE tiroid hormon seviyelerini düşürerek koruyucu bir etki göstermiş olabilir. Bu olumlu etkininde ADMA konsantrasyonlarını düşürüp, NO konsantrasyonlarını yükseltmesi ile kendini gösterdiğini düşünmekteyiz.

Yapılan çalışmalarla antioksidanların ADMA konsantrasyonlarını düşürebildikleri deneysel verilerle desteklenmiştir (Jiang et al., 2002). CAPE'de antioksidan özelliği ile direk ADMA konsantrasyonlarını düşürücü bir etki göstermiş olabilir. Düşen ADMA konsantrasyonlarını takiben NO seviyeleride buna bağlı olarak artmış olabilir.

CAPE'nin tüm hücre tiplerinde bulunan bir transkripsiyon faktörü olan NFkB'nin (nükleer faktör kappa B) inhibitörü olduğu bilinmektedir, fakat bu etkisini nasıl yaptığı açıklanamamıştır (Havsteen, 2002; Lin et al., 2004). Rat ve farelerde yapılan çalışmalarda, arterial hasar sonrası damar duvarında NFkB' nin aktive olduğunu ispatlayan raporlar mevcuttur (Cercek et al., 1997; Landry et al., 1997). Bu bilgiler ışığında, CAPE'nin NFkB'yi inhibe ederek olası endotel hasarına karşı koruyucu bir etkisi olduğu düşünülebilir.

Tiroid hormon bozukluklarının lipoprotein metabolizması üzerine etkili olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmada, hipertiroidizmlı ratların total kolesterol, HDL kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid seviyeleri diğer gruplardan istatistiksel olarak düşük ($p<0,001$) bulundu. Aynı zamanda CAPE+HT grubunun total kolesterol ve LDL kolesterol düzeylerinin hipertiroidizmlı gruba göre istatistiksel olarak arttığı ($p<0,001$) saptandı. Fakat HDL kolesterol seviyelerinde istatistiksel bir fark görülmedi.

Lipid metabolizması üzerine tiroid hormonlarının etkisi, hormona duyarlı lipaz aktivitesini uyararak yağ dokusundan serbest yağ asitlerinin açığa çıkışını artırma şeklindedir. Bu hormonlar yağ asitlerinin oksidasyonunu hızlandırmakta ve serum trigliserid düzeyini azaltmaktadır. Bu durumu kolesterolün barsaklardan emiliminin azalmasıyla, safra asitlerinin üretimini artırması, bu sebeple LDL dönüşümü etkilenecek, serum kolesterol düzeyinin azalmasının sağlanması şeklinde yorumlanabilir (Guyton et al., 1996).

Staels ve ark. (1990), L-tiroksin uygulanarak hipertiroid oluşturulan modellerde, plazma HDL kolesterol seviyesinde azalma gözlendiğini, bunun da plazma hepatik trigliserid lipaz seviyesindeki artıştan kaynaklandığını açıklamışlardır. Yaptığımız çalışmada CAPE+HT grubunun total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid

seviyeleri hipertiroidizmli gruba göre istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur ($p<0,001$). Sadece CAPE verilen grupta ise bu parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Bu sonuç bize CAPE'nin tek başına lipid seviyelerini yükseltici bir etkisi olmadığını düşündürmektedir.

CAPE+HT grubunda, CAPE'nin total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid seviyelerini arttırması, tiroid hormon seviyelerinin artışı baskılaması dolayısıyla tiroid hormonlarının etkisi ile oluşan lipid seviyelerindeki bu düşüşü engellemesi olarak düşünülebilir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

İnsan ve hayvanlarda tiroid hastalıklarının kardiyovasküler fonksiyonda önemli değişimlere eşlik eden yaygın bir endokrin hastalık olduğu bilinmektedir. Yapılan birçok çalışmada da endotel hücrelerinin tiroid hormonlarının bir hedefi olduğu vurgulanmıştır. Bu tez çalışmasında, hipertiroidizm oluşturduğumuz ratlarda endotel hasarı belirteçlerinden NO, ADMA, homosistein seviyeleri ile bunlarla birlikte lipid profili düzeylerini aynı zamanda kafeik asitin bu parametreler üzerindeki etkisi araştırıldı.

Sonuçlarımız, hipertiroidizmin ADMA seviyelerini yükseltip, NO, homosistein ve lipid düzeylerini düşürdüğünü göstermiştir. Çalışmamızdaki en önemli bulgu CAPE'nin hipertiroidizm oluşturulan ratlarda, endotel hasarı göstergesi olan ve vasküler homeostazdan sorumlu NO seviyelerini arttırması, ADMA seviyelerini ise düşürmesi olmuştur. Ayrıca CAPE'nin hipertiroidizm nedeniyle düşmüş homosistein, total kolesterol, LDL kolesterol ve trigliserid seviyelerini ise arttırdığı gözlenmiştir.

Sonuç olarak CAPE tek başına verildiğinde, kontrol ve placebo gruplarına göre, fT3, fT4, ADMA, NO, homosistein ve lipid seviyeleri üzerinde bir etkisi gözlenmemiştir. Fakat hipertiroidizimli grupta yükselmiş olan fT3, fT4, ADMA seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşürmüştür. CAPE'nin, NOS inhibitörü olan ADMA'nın seviyesini düşürmesi ve buna bağlı olarak NO düzeyini arttırması ile endotel hasarına dolayısıyla bunu takiben oluşabilecek kardiyovasküler hastalık riskini azaltması açısından olumlu bir göstergedir. Aynı zamanda CAPE'nin hipertiroidizm oluşturulan grupta yükselen tiroid hormon seviyelerini düşürmesi olumlu bir etkidir.

Bununla birlikte CAPE, hipertiroidizm oluşturulan grupta düşmüş olan homosistein, total kolesterol, LDL kolesterol, trigliserid seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırmış, HDL kolesterol seviyelerini ise etkilememiştir.

Yüksek plazma homosistein seviyeleri kardiyovasküler hastalıklar için bağımsız bir risk faktörüdür. Çalışmamızda tiroid hormonlarının homosistein konsantrasyonlarını düşürdüğü saptandı. Bu nedenle hiperhomosisteinemi durumunda tiroid hormonu kullanılmasının uygun olabileceğini düşünmekteyiz. CAPE'nin hipertrioidizm grubunda homosistein seviyelerini yükseltmesi nedeniyle, bu maddenin hiperhomosisteinemi durumunda alınmasının uygun olmadığını düşünmekteyiz.

CAPE, tiroid hormonları etkisiyle düşmüş olan total kolesterol, LDL ve trigliserid seviyelerini istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttırmıştır. Özellikle artan LDL seviyeleri ateroskleroz için bir risk faktörüdür. Bu nedenle CAPE'nin LDL seviyelerini yükseltmesi istenilen bir sonuç değildir.

Bu bilgiler ışığında, CAPE'nin hipertiroidizimli hastalarda plazma fT3, fT4, ADMA düzeylerini düşürmesi yönünden tedavi amaçlı kullanılmasının uygun olabileceği ancak plazma total kolesterol LDL kolesterol ve TG seviyelerini yükselttiği göz önüne alınarak kullanımının daha uygun olabileceği görüşündeyiz.

Sonuç olarak bu tez çalışması ile hipertiroidizmin endotel hasarına ve bununla birlikte uzun dönemde endotel disfonksiyon sonucu oluşabilecek birçok komplikasyona neden olabileceğini aynı zamanda CAPE'nin vasküler ve tiroid hastalıkları üzerindeki antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri ile hipertiroidizmin oluşturduğu komplikasyonların baskılanmasına destek olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada ortaya çıkan endotel hasarı üzerinden birçok zarara yol açan hipertiroidizm durumunun ADMA ve NO konsantrasyonları üzerine etkisinin mekanizmasının, bununla birlikte CAPE'nin tiroid hormon artışı üzerine olan negatif etki mekanizmasının açıklanabilmesi için daha fazla çalışmanın gerekli olduğu düşüncesindeyiz. Aynı zamanda CAPE'nin vasküler ve tiroid hastalıkları üzerindeki yararlı farmakolojik etki mekanizmasının yapılacak başka çalışmalar ile daha fazla aydınlatılması gerektiği inancındayız

ÖZET

Tiroid hastalıkları, insanlar ve hayvanlarda sık görülen ve hemodinamik, renal ve kardiyak fonksiyonlarda önemli değişikliklerin eşlik ettiği endokrin bozukluklardır. İnsanlar ve hayvanlarda hipertiroidi durumlarında, sistemik arteriyel kan basıncının düzenlenmesinde bozukluklar görülür. Tiroid hastalıkları endotel hasarına neden olabilir, ancak tiroid hastalıklarındaki endotel hasarının altında yatan mekanizma halen açık değildir.

Nitrik oksit (NO), nitrik oksit sentaz (NOS) olarak bilinen enzim ailesi aracılığıyla L- arjininin L- sitriline dönüşümü ile üretilir. NO'nun vasküler tonusu düzenleyici önemli bir faktör olduğu bilinmektedir. Asimetrik dimetil arginin (ADMA) nitrik oksit sentaz'ın endojen inhibitörüdür. Lokal NO sentezini engelleyerek vazospazma ve endotel disfonksiyonuna neden olmakta ve koroner arter hastalığı gelişimi için risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Hipertiroidizm, artmış ADMA seviyeleri ve azalmış NO seviyeleri ile ilişkilidir. Homosistein, sülfür içeren esansiyel bir aminoasit olan metionin metabolizmasının ara ürünüdür. Artmış plazma total homosistein konsantrasyonları vasküler hastalıklar için risk faktörüdür.

Propolis kovanlarda bal arıları tarafından üretilen doğal bir üründür. Propolisin esas bileşenleri aynı zamanda biyolojik aktivitesinden de sorumlu olan kafeik asit esterleridir ve bu bileşiğin bir çok yararlı etkileri belirlenmiştir.

Bu çalışma deneysel olarak hipertiroidizm oluşturulan ratlarda tiroid hormonlarının neden olabileceği endotel hasarı üzerine kafeik asit fenetil esterinin (CAPE) koruyucu etkisinin araştırılması için tasarlanmıştır. Çalışmada 50 wistar (250-300g) albino erkek rat kullanıldı. Deney hayvanları kontrol, placebo, hipertiroid (HT), CAPE ve "CAPE+HT" olarak 5 gruba bölündü. Kontrol grubuna 4 hafta boyunca bir uygulama yapılmadı. Placebo grubundaki hayvanlara 4 hafta boyunca 0,5 ml serum fizyolojik uygulandı. Deneysel hipertiroidizm (HT) grubundaki hayvanlara 4 hafta boyunca 0,5 ml serum fizyolojik içinde 0,3 mg/kg L-tiroksin intraperitoneal olarak uygulandı.

CAPE grubundaki hayvanlara, 4 hafta boyunca 0,5 ml serum fizyolojik içinde 10 µg/kg intraperitoneal olarak CAPE verildi.

“CAPE+HT” grubundaki hayvanlara 4 hafta boyunca 0,5 ml serum fizyolojik içinde 0,3 mg/kg L-tiroksin ve 10 µg/kg CAPE uygulandı. Plazma serbest T3 (fT3), serbest T4 (fT4), total kolesterol, HDL ve trigliserid (TG) konsantrasyonları otoanalizör ile ölçüldü. Plazma LDL seviyeleri Freidewald formülü ile hesaplandı. Plazma homosistein konsantrasyonları floresan dedektörlü HPLC ile ölçüldü. Plazma NO ve ADMA konsantrasyonları ticari ELISA kitleri kullanılarak belirlendi. İstatistik analiz Windows One-Way ANOVA testi kullanılarak SPSS13.0 programında yapıldı.

Hipertiroidizmlı ratlarda plazma fT3, fT4 konsantrasyonları kontrol, placebo, CAPE ve “CAPE+HT” gruplarına göre anlamlı olarak yüksekti ($p<0,001$). Tiroksin ile CAPE'nin birlikte verilmesi yüksek plazma fT3, fT4 konsantrasyonlarını anlamlı olarak düşürmüştür. ($p<0,001$) Plazma homosistein konsantrasyonları, hipertiroidizm oluşturulan grupta kontrol, placebo, CAPE ve “CAPE+HT” gruplarına göre anlamlı olarak düşük ($p<0,001$) bulunmuştur. “CAPE+HT” grubunda ise homosistein seviyeleri hipertiroidizmlı gruba göre anlamlı olarak yüksek ($p<0,001$) saptandı.

Plazma ADMA konsantrasyonları hipertiroidizmlı grupta, diğer gruplara göre anlamlı olarak yüksek ($p<0,001$), “CAPE+HT” grubunun plazma ADMA konsantrasyonları kontrol, placebo ve CAPE grubuna göre anlamlı olarak yüksek ($p<0,001$), hipertiroidizmlı gruptan anlamlı olarak düşük ($p<0,001$) bulundu. Hipertiroidizmlı grubun plazma NO konsantrasyonları kontrol, placebo, CAPE ve “CAPE+HT” gruplarına göre anlamlı olarak düşük ($p<0,001$) bulunmuştur. “CAPE+HT” grubunda ise plazma NO konsantrasyonları anlamlı olarak yüksek ($p<0,001$) bulundu. Plazma total kolesterol, HDL, LDL ve trigliserid seviyeleri hipertiroidizmlı grupta diğer gruplara göre anlamlı olarak düşük ($p<0,001$) bulundu. “CAPE+HT” grubunda ise plazma total kolesterol, LDL ve trigliserid seviyeleri anlamlı olarak yükselmiştir ($p<0,001$).

Sonuç olarak; CAPE, hipertiroidizm oluşturulan ratlarda, plazma NO seviyelerini yukseltip, ADMA seviyelerini dufurerek endotel hasarına karşı koruyucu etki gdfsterebilir.

Anahtar kelimeler: Hipertiroidizm, rat, asimetrik dimetil arjinin, nitrik oksit, homosistein.

SUMMARY

Thyroid disorders are common endocrine disorders in humans and animals and are accompanied by important changes in haemodynamic, cardiac and renal function. Disturbances in the regulation of systemic arterial blood pressure are seen in hyperthyroid states in man and other animals. Hyperthyroidism manifests a hyperdynamic circulation with increased cardiac output, increased heart rate and decreased peripheral resistance. Thyroid diseases may lead to endothelial dysfunction; however, the mechanism underlying the endothelial dysfunction in thyroid disease is not clear yet.

Nitric oxide (NO) is produced through the transformation of L-arginine to L-citrulline by a family of enzymes known as NO synthases (NOS). It is well known that NO is an important factor regulating vascular tone. Asymmetric Dimethyl Arginine (ADMA) is an endogenous inhibitor of nitric oxide (NO) synthase and causes local vasospasm and endothelial dysfunction by inhibiting local NO production. Hyperthyroidism is related with increased ADMA levels and decreased NO levels.

Homocysteine is an intermediate compound of the metabolism of methionine, which is an essential sulphur-containing amino acid. Elevated plasma homocysteine concentrations are associated with increased risk of vascular diseases.

Propolis is one of the nature-based products, which is produced by honeybees in hives. The major compounds of propolis are caffeic acid esters which are also responsible for biologic activity of propolis and has been identified to show beneficial activities.

This study was designed in rats with experimentally induced hyperthyroidism to investigate the protective effects of caffeic acid phenylethyl ester (CAPE) on may be formed endothelial dysfunction that based on thyroid hormones.

We used fifty male Wistar albino (250-300 g) rats in this study. The experimental animals were divided into five groups as control, placebo, hyperthyroidism, CAPE

and “hyperthyroidism + CAPE”. Nothing was administered to the control group during four weeks. The animals in placebo group were administered intraperitoneally 0,5 ml sterile physiological saline during 4 weeks. The animals in hyperthyroidism group were administered intraperitoneally L-thyroxine 0,3 mg/kg in 0,5 ml. sterile physiological saline. The animals in CAPE group were administered intraperitoneally CAPE at a dose of 10 μ g/kg in 0,5 ml sterile physiological saline per day during 4 weeks. The animals in “hyperthyroidism + CAPE” group were administered 0,3 mg/kg L-thyroxine in 0,5 ml physiological saline and 10 mcg/kg CAPE. Plasma FT3, FT4, total cholesterol, HDL and Triglyceride levels were measured by autoanalyzer. Plasma LDL levels were calculated by the Freidewald equation. Plasma homocysteine levels were measured by HPLC. Plasma NO levels were measured by ELISA. statistically analysis was performed by SPSS 13.0 program, using one-way ANOVA test.

Plasma ft3, ft4 concentrations were significantly increased in rats with hyperthyroidism compared to controls, placebo, CAPE and “CAPE+HT” groups ($p < 0,001$). Co-administration of CAPE with L thyroxine significantly decreased ($p < 0,001$) the elevated ft3 and ft4 levels. Plasma homocysteine concentrations were significantly decreased in rats with hyperthyroidism compared to controls, placebo, CAPE and “CAPE+HT” groups ($p < 0,001$). Plasma homocystein levels obtained from “CAPE+hyperthyroidism” group were significantly ($p < 0,001$) higher compared to hyperthyroidism group.

Plasma ADMA concentrations obtained from hyperthyroidism group were significantly higher compared to other groups. Plasma ADMA concentrations obtained from “CAPE+hyperthyroidism” group were significantly higher compared to control, placebo and CAPE groups and significantly low compared to hyperthyroidism group. Plasma NO concentrations obtained from hyperthyroidism group were significantly low compared to control, placebo, CAPE and “CAPE+hyperthyroidism” groups. Plasma NO concentrations obtained from “CAPE+hyperthyroidism” group were significantly higher. Plasma total cholesterol, HDL, LDL and triglycerid levels obtained from hyperthyroidism group were

significantly lower than other groups. Plasma total cholesterol, HDL, LDL and triglycerid levels obtained from “CAPE+hyperthyroidism” group were significantly higher.

In conclusion; CAPE may show a protective effect on endothelial damage by increasing plasma NO levels and decreasing ADMA levels, in hyperthyroidism induced rats.

Key words: Hyperthyroidism, rat, asymmetric dimethyl arginine, nitric oxide, homocysteine.

KAYNAKLAR

- ABU-SOUD, HM., STUEHR, DJ. (1993). Nitric oxide synthases reveal a role for calmodulin in controlling electron transfer. *Proc Natl Acad Sci*, 90: (22); 10769-10772.
- AHMED, M., MOHAMMADİN, LAMİAA., HAMMAD, MOHAMED FATH- EL BAB., HALA, S. (2006). Attenuation of Oxidative Stress in Plasma and Tissues of Rats with Experimentally Induced Hyperthyroidism by Caffeic Acid Phenylethyl Ester. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* **100**; 84–90.
- AKSOY, N., GEYİKLİ, İ., SAYGILI, İ. (2006). Sağlıklı Kişilerde Plazma Homosistein Düzeyinin Belirleyicileri. *Türk Biyokimya Dergisi*, 31 (4) ; 175–181.
- AMUR. SG., SHANKER, G., PIERINGER, RA. (1984). Regulation of myelin basic protein (arginine) methyltransferase by thyroid hormone in myelinogenic cultures of cells dissociated from embryonic mouse brain. *J Neurochem*, **43**; 494–498.
- ANDERSSON, A., BRATTSTRÖM, L., ISRAELSSON, B. (1992). Plazma homocysteine before and after methionine loading with regard to age, gender and menopausal status. *Eur J Clin Invest*, **22**:79- 87.
- ARIKAN, E., KARADAĞ, CH., GULDİKEN, S. (2007), Asymmetric dimethylarginine levels in thyroid diseases. *J*, 30(3); 186-91.
- ARRIERO, MM., DE LA PINDA, JC., ESCRIBANO, M., CELDRAN, A., MUNOZ-ALAMEDA, L., GARCIA-CANETE, J., JIMENEZ, AM., CASADO, S., FARRE, J., LOPEZ-FARRE, A. (2002). Aspirin prevents Escherichia coli lipopolysaccharide- and Staphylococcus aureus-induced downregulation of endothelial nitric oxide synthase expression in guinea pig pericardial tissue. *Circ Res*, 90: (6); 719-727.

- ARONOW, WS., AHM, C. (1997). Association between plazma homocys-teme and extracranial carotid arterial in older persons. *Am J Cardiol* , **80**; 1216-18.
- ATALIK, E., DOĞAN, N. (1997). Nitrik Oksit ve Fizyolojik Etkileri. *Genel Tıp Dergisi*, **7(3)**; 1679.
- BAYINDIR, O. (1996). Nitric oksidin reaktivitesi, sentezi ve analiz metodları. EÜTF Yayınları. 83: 14-21.
- BAYŞU SÖZBİLİR, N., BAYŞU N. (2008) . Tiroid Hormonları, *Biyokimya*, 348-351. Güneş Kitapevi.
- BİLGE M. (1975). Hormonlar Bilimi. Çeltüt matbaacılık.
- Bil-Yem (2006). Standart Rat Yemi Prospektusu. Ankara.
- BOGER, R.H., ZOCCALI, C., (2003). A novel risk factor that explains excess cardiovascular event rate in the patient swith end stage renal disease. *Atherosc. Suppl.*, **4**; 23-28.
- BOGER, R.H., (2003). The emerging role of asymmetric dimethylarginine as novel cardiovascular risk factor. *Cardiovasc. Res.*, **34**; 14781-14787.
- BOGER, RH., SYDOW, K., BORLAK, J., THUM, T., LENZEN, H., SCHUBERT, B. (2000). LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ Res*, **87**: 99–105.
- BORELLI, F., MAFFIA, P., PINTO, L., IANARO, A., RUSSO, A., CAPASSO, F., IALENTI, A. (2002). Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia* **73**:53-63.

- BRONSTRUP, A., PIETRZIK, K. (1998). Low dose B vitamin intervention in elderly individuals: Extent of homocysteine plasma reduction and association with vitamin and genotype status for thermolabile methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR). *Neth J Med*, **2**; 19.
- BUĞDAYCI, G., SERİN, E. (2005). Asimetrik Dimetilarginin (ADMA). *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*. **2**; 36-41.
- BURGNER, D., ROCKETT, K., KWIATKOWSKI, D. (1999). Nitric Oxide and Infectious Diseases. *Arch Dis Child*, **81**; 185-188.
- BUSSE, R., LUCKHOFF, A., BASSENGE, E. (1987). Endothelium-derived relaxant factor inhibits platelet activation. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*. 336: (5); 566- 571.
- CALVER, A., COLLIER, J., MONCADA, S., VALLANCE, P. (1992). Effect of local intra-arterial NG monomethyl L-arginine in patients with hypertension: the nitric oxide dilator mechanism appears abnormal. *J Hypertens*, **10**;1025-31.
- CAPO, AL., SILLAU AH. (1983). The effect of hyperthyroidism on capillarity and oxidative capacity in rat soleus and gastrocnemius muscles. *J Physiol*, **342**; 1–14.
- CASTOLLE, S., CAPASSO, F. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* **73**; 1-6.
- CERCEK, B., YAMASHITA, M., DIMAYUGA, P., ZHU, J., FISHBEIN, M.C., KAUL, S., SHAH, P.K., NILSSON, J. & REGNSTROM, J. (1997). Nuclear factor-kB activity and arterial response to balloon injury. *Atherosclerosis*, **131**; 59 - 66.
- COLLINS, P., CHAPPELL, SP., GRIFFITH, TM., LEWIS, MJ., HENDERSON, AH. (1986). Differences in basal endothelium-derived relaxing factor activity in different artery types. *J Cardiovasc Pharmacol*, 8: (6); 1158-1162.

- COMPORTI, M. (1985). Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury. *Lab. Invest* **53**; 599-623.
- CUMMING, AM., OLUJOHUNGBE, A., KEENEY. (1999). The methylenetetrahydrofolate reductase gene C677T polymorphism in patients with homozygous sickle cell disease and stroke. *Br J Haematol*, **107**; 569-571.
- ÇEKMEN, MB., TURGUT, M., TÜRKÖZ, Y., AYGÜN, D., GÖZÜKARA, EM. (2001). Nitrik Oksit (NO) ve Nitrik Oksit Sentaz (NOS)'ın fizyolojik ve patofizyolojik özellikleri. *T Klin Pediatri*, **10**: 226-36.
- DA CUNHA, FM., DUMA, D., ASSREUY, J., BUZZI, FC., NIERO, R., CAMPOS, MM., CALIXTO, JB. (2004). Caffeic acid derivatives: in vitro and in vivo anti inflammatory properties. *FreeRadic Res*, **38(11)**; 1241-1253.
- DAS, K., CHAINY, GB. (2001). Modulation of rat liver mitochondrial antioxidant defence system by thyroid hormone. *Biochim Biophys Acta*, **1537**; 1-13.
- DAVIES, P.F. (1995). Flow-mediated endothelial mechanotransduction. *Physiological Reviews*, **75**; 519-560.
- DAVIES, PF. (2002). Multiple signaling pathways in flow-mediated endothelial mechanotransduction: PYK-ing the right location. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **22**: (11); 1755-1757.
- DEMİRBAŞ, B., ÖZKAYA, M., ÇAKAL, E., ve ark. (2004). Plasma homocysteine levels in hyperthyroid patients. *Endocr J*, **51**; 121-125.
- DİKMEN, M. (2004). Homosistein Metabolizması ve Hastalıklarla İlişkisi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, **24**; 645-652.

- DÌMOV, V., IVANOVSKA, N., BANKOVA, V., POPOV, S. (1992). Immunomodulatory action of propolis: IV. Prophylactic activity against gram-negative infections and adjuvant effect of the water-soluble derivate. *Vaccine*, **10**: 817-823.
- DOBROWOLSKI, JW., VOHORAQ, SB., SHARMA, K., SHAH, SA., NAGVÌ, SAH., DANDIYA, PC. (1991). Antibakterial, antifungal, antiamoebic, antiinflammatory, and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol* , **35**:77-82.
- DUCKWORTH, WC. (1988). Insülin Degradation: Mechanisms, Products and Significance. *Endocrine Reviews* **9**; 319-45.
- DZAU, VJ. (2001). Tissue Angiotensin and Pathobiology of Vascular Disease A Unifying Hypothesis. *Hypertension*, **37**; 1047-1052.
- EDENHARDER, R., VON PETERSDORFF, I., RAUSCHER, R. (1993). Antimutagenic effects of flavanoids, chalcones and structurally related compounds on the activity of 2-amino- 3 methylimidazol (4,5-f) quinoline (IQ) and other heterocyclic amine mutagens from cooked food. *Mutat Res*, **287**:261-74
- EÌKELBOOM, JW., LONN, L., GENEST, J JR., HANKEY, G., YUSUF, S. (1999). Homocysteine and Cardiovascular Disease: A Critical Review of The Epidemiologic Evidence. *Ann Intern Med*, **131**:363-75.
- EL FASSI, D., NIELSEN, CH., HASSELBALCH, HC., HEGADUS, L. (2006). The rationale for B lymphocyte depletion in Graves' disease. Monoclonal anti-CD20 antibody therapy as a novel treatment option. *European Journal of Endocrinology* **154**; 623– 632..
- ENDEMANN, DH., SCHIFFRIN, E. (2004). Endothelial Dysfunction. *J Am Soc. Nephrol*, **15**; 1983-92.

- ENGBERSEN, AMT., FRANKEN, DG., BOERS, GHJ. (1995). Methylenetetrahydrofolate reductase as a cause of mild hyperhomocysteinemia. *Am J Hum Genet*, **56**; 142-150.
- ERDEM, S., ÜNLÜ A. (2009). Asimetrik Dimetil Arjinin ve Klinik Önemi. *Selçuk Tıp Dergisi*, (2); 107-115.
- FARACI, F.M., BRIAN, J.E., HEISTAD, D.D. (1995). Response of cerebral blood vessels to an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase. *Am. J. Physiol.*, **269**; 1522–1527.
- FATTAL-VALEVSKI, A., BASSAN, H., KORMAN, SH. (1999). Methylenetetrahydrofolate reductase deficiency: Importance of early diagnosis. *J Child Neuro*, **15**;539-543.
- FAZIO, S., PALMIERI, A., LOMBARDI, G., BIONDI, B. (2004). Effects of Hormone on the Cardiovascular System. *The Endocrine Society*, 31-50.
- FESEN, MR., POMMIER, Y., LETEURTRE, E., HIROGUCHI, S., YUNG, J., KOHN, KW. (1994). Inhibition of HIV-1 integrase by flavones, caffeic acid phenethyl ester (CAPE) and related compounds. *Biochem Pharmacol* **48**; 595–608.
- FLEMING, I., BAUERSACHS, J., BUSSE, R. (1997). Calcium-dependent and calcium-independent activation of the endothelial NO synthase, *J Vasc Res*, **34**: (3); 165-174.
- FLISER, D., KIELSTEIN, J.T., HALLER, H., BOGER, S.M.B. (2003). Asymmetric dimethylarginine: A cardiovascular risk factor in renal disease?. *Kidney Inter.*, **63**: 84; 37-40.
- FRANCIS, G. (1991). *Basic and Clinical Endocrinology*. Third Edition.
- FURCHGOTT, RF. (1998). Endothelium-Derived Relaxing Factor: Discovery, Early Studies and Identification as Nitric Oxide. *Physiology or Medicine*, 159-169.

- FURCHGOTT, RF., ZAWADZKI, JV. (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 288; 273-276.
- GALLY, JA., MONTAGUE, PR., REEKE, GN., JR EDELMAN, GM. (1990). The NO hypothesis: possible effects of a short lived, rapidly diffusible signal in the development and function of the nervous system. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 87: (9); 3547- 3551.
- GARDNER, DG., SHOBACK D. (2007). *Greenspan 's Basic and Clinical Endocrinology*, (MC Graw-Hill, San Francisco).
- GOONASEKERA, G.C., REES, D.D., WOOLARD, P., FREUND, A., SHAH, V., DILLION, M.J. (1997). Nitric oxide synthase inhibitors and hypertension in children and adolescents. *J. Hypertens*, **15**; 901–909.
- GOSWAMI, K., NANDAKUMAR, DN., KONER, BC., BOBBY, Z., SEN, SK. (2003). Oxidative changes and desialylation of serum proteins in hyperthyroidism. *Clin Chim Acta*, **337**: 163-168.
- GRANGER, D.L., TAINTOR, R.R., BOOCKVAR, K.S., HIBBS, J.B., (1996). Measurement of nitrate and nitrite in biological samples using nitrate reductase and Griess reaction. *Methods Enzymol.*, **268**; 142–151.
- GRIFFITH, OW., STUEHR, DJ. (1995). Nitric oxide synthases: properties and catalytic mechanism. *Annu Rev Physiol*, **57**; 707-736.
- GRISHAM, M.B., JOHNSON, G.G., LANCASTER, J.R. (1996). Quantitation of nitric oxide, *Methods Enzymol*, **268**; 237–246.
- GUYTON, AC., HALL, JE. (1996). *Textbook of Medical Physiology*. 9.Edition(Çeviri).Çeviren: Çavuşoğlu H.Philadelphia.

- GÜRLEYİK E., PEHLİVAN M., ÖZAYDIN İ., GÖKPINAR İ., KIVRAK M. (2003). İyot Eksikliğine Bağlı Endemik Guatr Bölgesinde Ameliyat Edilen Nodüler Guatr Olgularında Düşük Tiroid Kanseri İnsidansı. *T Klin Cerrahi*, **8**:167-171.
- HAVSREN, BH. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Ther* **96**; 67-202.
- HEPŞEN F., TİLGEN F., ER H. (1996). Propolis: Tıbbi Özellikleri ve Oftalmolojik Kullanımı. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi* 3(4).
- HERMENGILDO, C., MEDINA, P., PEIRO, M., SEGERRA, G., VILA, J., ORTEGA J., LUCH, S. (2002). Plasma Concentration of Asymmetric Dimethylarginine, an Endogenous Inhibitor of Nitric Oxide Synthase, Is Elevated in Hyperthyroid Patients. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87(12); 5636–5640.
- HO, WJ., CHEN, ST., TSAY, PK., WANG, CL., HSU, TS., KUO, CT., CHEN, WJ. (2007). Enhancement of endothelium-dependent flow-mediated vasodilation in hyperthyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 67(4):505-11.
- İLHAN, I., IRAZ, M., GUREL, A., ARMUTÇU, F., AKYOL, O. (2004). Caffeic acid phenethyl ester exerts a neuroprotective effect on CNS against pentylenetetrazol-induced seizures in mice. *Neurochem Res*, **29**; 2287-2292.
- JACOBSEN, DW. (1998). Homocysteine and vitamins in cardiovascular disease. *Clin Chem*, **44**:1833-43.
- JANOFF, A., CALP, H. (1982). Proteases, antiproteases and oxidants: pathways of tissue injury during inflammation. *Monogr patholl* **23**; 62-82.
- JIANG, J., TANG, Y., LI, N., DENG, H., LI, Y. (2004). Effect of simvastatin on endothelium-dependent vasorelaxation and endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *Acta Pharmacol*, **25**; 893-901.

- JIANG, J., LI, YJ., DENG, H., LI, N. (2002). Probuocol preserves endothelial function by reduction of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor level. *Br J Pharmacol*, **135**:1175–82.
- JOLLY, SR., KANE, WJ., BAILIE, MB., ABRAMS, GD., LUCHESSI, BR. (1984). Canine myocardial reperfusion injury: its reduction by the combined administration of superoxide dismutase and catalase. *Cric Res* 54 (3); 277-85.
- JUMP, DB., OPPENHEIMER, JH. (1980). Thyroid hormon receptor-containing fragment released from chromatin by deoxyribonuclease I and micrococcal nuclease. *Science*, 209 (4458); 811- 13.
- KATUSIC, ZS. (2001). Vascular endothelial dysfunction: does tetrahydrobiopterin play a role?, *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 281: (3); 981-986.
- KELEŞ, İ. (1990). Diabetes Mellitusta tiroid hormonları düzeyi ve T4-T3 hormon dönüşümü. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi uzmanlık tezi.
- KLEIN, I., OJAMAA, K. (2001). Thyroid hormone and the cardiovascular system. *N Engl J Med*, **344**; 501–509.
- KOCABALKAN, F., BAYKAL, Y., BOZOĞLU, E. (2000). Yaşlılarda Kardiyovasküler Risk Faktörü Olarak Homosistein. *Turkish Journal of Geriatrics*, 3(2); 69-73.
- KROL, W., CZUBA, Z., SCHELLER, S., GABRYS, J., GRABIEC, S., SHANI, J. (1990). Anti-oxidant property of etanolic extract of propolis (EEP) evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidation of luminol. *Biochem Int*, **21**: 593-97.
- KUBES, P., SUZUKI, M., GRANGER, DN. (1991), Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 88: (11); 4651-4655.

- LANDRY, D.B., COUPER, L.L., BRYANT, S.R. & LINDNER, V. (1997). Activation of the NF- κ B and I κ B system in smooth muscle cells after rat arterial injury: induction of Vascular Cell Adhesion Molecule-1 and Monocyte Chemoattractant Protein-1. *Am. J. Pathol*, **151**; 1085 - 1095.
- LARSEN, PR., DAVIS, TF. (1998). The thyroid gland. *In Williams Textbook of Endocrinology*, 389–515.
- LATHAM, K.R., RING, J.C., BAXTER, J.D. (1976). Solubilized nuclear “receptors” for thyroid hormones. *J. Biol. Chem.* 251(**23**); 7388-97.
- LEE, YJ., LIAO, PH., CHEN, WK., YANG, CY. (2000). Preferential cytotoxicity of caffeic acid phenethyl ester analogues on oral cancer cells. *Cancer Lett*, **153**: 51-56.
- LEIPER, J., MURRAY-RUST, J., MCDONALD, N., VALLANCE, P. (2002). S-nitrosylation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates enzyme activity: further interactions between nitric oxide synthase and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Proc Natl Acad Sci USA*, **99**: 13527–32.
- LERMAN, A., BURNETT, JC. (1992). Intact and altered endothelium in regulation of vasomotion. *Circulation*. **86**; 12-19.
- LIN, MW., YANG, SR., HUANG, MH, WU, SN. (2004). Stimulatory Actions of Caffeic Acid Phenethyl Ester, a Known Inhibitor of NF-Kappa B Activation, on Ca²⁺-activated K⁺ Current in Pituitary GH3 Cells. *J Biol Chem*, **279**;26885-26892.
- LI, D., SALDEEN, T., ROMEO, F., MEHTA, JL. (2000). Oxidized LDL upregulates angiotensin II type 1 receptor expression in cultured human coronary artery endothelial cells: The potential role of transcription factor NF-kappaB. *Circulation*, **102**: 1970-1976.

- LI, H., FORSTERMANN, U. (2000). Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J Pathol*, 190: (3); 244-254.
- LIVERINI, G., LOSSA, S., BARLETTA, A. (1992). Relationship between resting metabolism and hepatic metabolism: effect of hypothyroidism and 24 hours fasting. *Horm Res* , 38: 154-9.
- LOWENSTEIN, CJ., DINERMAN, JL., SNYDER, SH. (1994). Nitric oxide: A physiologic Messenger. *Ann Intern Med*, 120; 227-37.
- LOSCALZO, J. (1995). Nitric oxide and vascular disease. *N Eng J Med*, 333; 251-253.
- LUSCHER, TF. (1995). Endothelial dysfunction in atherosclerosis. *J Myocard Ishcemia* , 1; 515-520.
- MAHMOUD, NN., CAROTHERS, AM., GRUNBERGER, D. (2000). Etal Plant phenolics decrease intestinal tumors in an animal model of familial adenomatous polyposis. *Carcinogenesis*, 21: 921-927.
- MARAŞLI N. (1991). Normal ve Florozis Belirtisi Gösteren Koyunlarda Serum Tiroksin ve Triiyodotrionin Düzeylerinin Araştırılması. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
- MARKUS, HS., NADIRA, A., SWAMINATHAN, R., SANKARALINGAM, A., MOLLY, J., POWELL, J. (1997). A common polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene, homocysteine, and ischemic cerebrovascular disease. *Stroke* , 28; 1739-1743.
- MEHMETOĞLU İ., ÇAĞLAYAN O., KOÇYİĞİT A. (2004). Klinik biyokimya laboratuvarı el kitabı. Yelken basım yayın, Konya.

- MICHAEL, E.W., NOYAN, G., KEANEY, J.F., JOSEPH, A.V. (2003). The clinical implications of endothelial dysfunction. *J. Am. Coll. Cardiol*, **42**; 1149-1160.
- MIRZOENA, OK., CALDER, PC. (1996). The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids* **55**; 441-449.
- MONCADA, S., PALMER, R.M.J., HIGGS, A. (1989). Biosynthesis of nitric oxide from L-arginine: A pathway for the regulation of cell function and communication. *Biochem. Pharmacol*, **38**; 1709-15.
- MONCADA, S., PALMER, R.M.J., HIGGS, A. (1991). Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharm. Rev*, **43**; 109-41.
- MONCADA, S. (1992). Nitric oxide gas: mediator, modulator, and pathophysiologic entity. *J Lab Clin Med*, 120: **(2)**; 187-191.
- MORKIN, I., OJAMAA, K. (2001). Thyroid hormone and the cardiovascular system. *N Engl J Med*, **344**; 501–509.
- MURRAY, RK., GRANNER, DK., MAYES, PA., RODWEL, VW. (2003). *Harper's Illustrated Biochemistry. Twenty-Sixth Edition*, **66**; 439-448.
- NATHAN, C. (1992). Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB J*, **6**; 3051-3064.
- NEDREBO, BG., ERICSSON, UB., NYGARD, O., et al. (1998). Plasma total homocysteine levels in hyperthyroid and hypothyroid patients. *Metabolism*, **47**; 89-93.
- NELEN, WLDM., BLOM, HJ., THOMAS, CMG., STEEGERS, EAP., BOERS, GHJ., ESKES, TKAB. (1998). Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism affects the change in homocysteine and folate concentrations resulting from low dose folic acid

supplementation in women with unexplained recurrent miscarriages. *Nutrition Org*, **128**; 1336.

NOYAN, A. (2000) . *Yasamda ve Hekimlikte Fizyoloji*. 12. Baskı, Ankara 1007-17.

OGAWA, T., KIMATO, M., SASAOKA, K. (1979). Occurrence of a new enzyme catalysing the direct conversion of NG, NG-dimethyl-L-arginine to L-citrulline in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **148**; 671-677.

OLIVER, JA. (1992). Endothelium-derived relaxing factor contributes to the regulation of endothelial permeability. *J Cell Physiol*, 151: **(3)**; 506-511.

ORSOLIC, N., TERZIC, S., MIHALJEVIC, Z., SVER, L., BASIC, I. (2005). Effects of Local Administration of Propolis and Its Polyphenolic Compounds on Tumor Formation and Growth. *Biol Pharm Bull* **28**; 1928-1933.

ÖNER, J., OZAN, E., KÜKNER, A., ÖNER, H. (2002). Hipertiroidili Ratların Böbrek Dokusu Üzerine Melatonin'in Etkisi. *T Klin Tıp Bilimleri*, 22:287-291

ÖZER, M., ÇİÇEK, E., GÖKALP, O., KOYU, A., PARLAKPINAR, H., ACET, A. (2005). Miyokardiyal iskemi reperfüzyon sonrası böbrek hasarında nitrik oksitin rolü ve caffeic acid phenethyl ester'in etkisi. *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg*, **12(4)**; 23-27

ÖZYURT, H., IRMAK, MK., AKYOL, O., SÖĞÜT, S. (2001). Caffeic acid phenethyl ester changes the indices of oxidative stress in serum of rats with renal ischemia-reperfusion injury. *Cell Biochem. Funct*, **19**: 259-263.

PALMER, RM., FERRIGE, AG., MONCADO, S. (1987). Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 327: **(6122)**; 524-526.

- PARLAKPINAR, H., TAŞDEMİR, S., POLAT, A., KARABULUT, A., VARDI, N., UÇAR, M., ACET, A. (2005). Protective role of caffeic acid phenethyl ester (cape) on gentamicin-induced acute renal toxicity in rats. *Toxicology*, **207(2)**; 169-177.
- PASCUAL, C., GONZALES, R., TORRICELLA, RG. (1994). Scavenging action of propolis extract against oxygen radicals. *J Ethnopharmacol*, **41**:9-13.
- PERNA, AF., CASTALDO, P., INGROSSO, D. (1999). Homocysteine, a new cardiovascular risk factor is also a powerful uremic toxin. *J Nephrol*, **12**:230-240.
- PETTERSONN, A., HEDNER, T., MILSOM, I., (1998). Increased circulating concentrations of asymmetric dimethylarginine (ADMA), an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis, in preeclampsia. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.*, **77**; 808-813.
- PHILIPPE, MA., RUDELLE, RG., RAMM, GA. (2007) Role of iron in hepatic fibrosis: One piece in the puzzle. *World J Gastroenterol*. **13**; 4746-4754.
- PIPILI-SYNETOS, E., SAKLOULA, E., MARAGOUDAKIS, ME. (1993). Nitric oxide is involved in the regulation of angiogenesis. *Br J Pharmacol*, 108: **(4)**; 855-857.
- POLIKER, R.,BURGER, AG., SCHERRER, U., NICOD, P. (1993). The thyroid and the heart, *Circulation* **87**; 1435–1441.
- PRESTA, A., LIU J, SESSA, WC, STUEHR, DJ. (1997). Substrate binding and calmodulin binding to endothelial nitric oxide synthase coregulate its enzymatic activity. *Nitric Oxide*, 1: **(1)**; 74-87.
- QUESADA, A., SAÍNZ, J., WANGENSTEEN, R., RODRÍGUEZ, I., VARGAS, F., OSUNA, A. (2002). Nitric oxide synthase activity in hyperthyroid and hypothyroid rats. *European Journal of Endocrinology*, 147; **(1)**, 117-122.
- REFSUM, H., UELAND, PM., NYGARD, O., VOLLSET, SE. (1998). Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* , **49**; 31-62.

- RESNICK, N., GIMBRONE, M.A. (1995). Hemodynamic forces are complex regulators of endothelial gene expression, *FASEB Journal*, **9**; 874–882.
- ROZEN, R. Methylenetetrahydrofolate reductase in vascular disease, neural tube defects and colon cancer. (1998). *Chapter 6, Europharma, SA*. (<http://www.boehringer-ingenelheim.es/workshop-methionina/anglesa/cap6.htm>).
- RUDIC, RD., SHESELY, EG., MAEDA, N., SMITHIES., O., SEGAL, SS., SESSA, WC. (1998). Direct evidence for the importance of endothelium-derived nitric oxide in vascular remodelling. *J Clin Invest*, 101: **(4)**; 731-736.
- RUSSO, A., LONGO, R., VANELLA, A. (2002). Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin. *Fitoterapia*, **73**; 21-29.
- SARIH, M., SOUVANNAVONG, V., ADAM, A. (1993). Nitric oxide synthase induces macrophage death by apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun*, 191: **(2)**; 503-508.
- SCHMID, C., ZWIMPFER, C., BRANDLE, M., KRAYENBUHL, PA., ZAPFH, J., WISELLI, P. (2006). Effect of thyroxine replacement on serum IGF-I, IGFBP-3 and the acid-labile subunit in patients with hypothyroidism and hypopituitarism. *Clinical Endocrinology* **65**; 706–711.
- SCHWARTZ, SM., SISCOVICK, DS., MALINOW, R., ROSELDAL, FR. (1997). Myocardial infarction in young women in relation to plasma total homocysteine, folate, and a common variant in the methylenetetrahydrofolate reductase gene. *Circulation*, **96**; 412-417.
- SELA, BA. (2005). ADMA (Asymmetric dimethylarginine) the inhibitor of nitric oxide (NO) Synthesis: a new marker for vascular pathology, *Harefuah*, **144**; 655-9.

- SILVA, JE., LARSEN, PR. (1997). Pituitary nuclear 3,5,3'-triiodothyronine and thyrotropin secretion: an explanation for the effect of thyroxine, *Science*, 198(**4317**); 617-20.
- SYDOW, K., SCHWEDHELM, E., ARAKAWA, N., BODE-BOGER, SM., HORNING, B., FROLICH, JC. a, (2003). ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocyst(e)inemia: effects of l-arginine and B vitamins. *Cardiovasc Res*; **57**: 244–52.
- SYDOW, K., MUNZEL, T. b, (2003). ADMA and oxidative stres. *Atherosclerosis Supplements*, 41–51.
- STAELS, B., TOL, AV., CHAN, L., WILL, H., VERHOEVEN, G., AUWERX, J. (1990). Alterations in thyroid status modulate apolipoprotein, hepatic triglyceride lipase and low density lipoprotein receptor in rats. *Endocrinol*, **127(3)**; 1144-1152.
- STUEHR, DJ. (1997). Structure-function aspects in the nitric oxide synthases. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*.. **37**; 339-359.
- SUCU, M., KARADERE, A., TOPRAK, N. (2001). Homosistein ve kardiyovasküler hastalıkları. *Türk Kardiyol Dern Arş* , **29**; 181-190.
- SUD'INA, GF., MIRZOEVA, OK., PUSHKAREVA, GA., KORSHUNOVA, GA, SUMBATYAN, NV., VARFOLOMEEV, SD. (1993). Caffeic acid phenethyl ester as a lipoxygenase inhibitor with antioxidant properties. *FEBS Lett*, **329**: 21-24.
- TELEFONCU, A. (1998). Tıp ve Fen Bilimleri için Biyokimya, 1. Baskı, İstanbul: *Aktaş Tıp Kitapları, Sermet Matbaası*, **1988**; 178-179.
- TEMEL, İ., ÖZEROL, E. (2002). Homosistein metabolizma bozuklukları ve vasküler hastalıklarla ilişkisi. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 9(**2**); 149-157.

- TODESCO, L., ANGST, C., LITYNSKI, P. (1992). MTHFR polymorphism, plasma homocysteine and age. *Eur J Clin Invest*, 29:(12); 1003-9.
- TORUN E., BAYRAM F. (2004). Endokrin Bir Organ Olarak Endotel ve Endotelinin Hipertansiyondaki Rolü. *Erciyes Tıp Dergisi (Erciyes Medical Journal)*, 26 (3) : 126-131.
- TOTAN, Y., AYDIN, E., ÇEKİÇ, O., DAĞLOĞLU, C.M., BORAZAN, M., DAĞLIOĞLU, K., GULTEK, A.(2001). Effect of caffeic acid phenethyl ester on corneal neovascularization in rats. *Curr. Eye Res*, 23: 291-297
- UELAND, PM., REFSUM, H., STABLER, SP . (1993). Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical application. *Clin Chem* , 39:1764-79.
- VALKONEN, VP, LAAKSONEN, R. (2004). Asymmetric dimethylarginine (ADMA) and acute vascular events. *Clin Chim Acta*, 348; 9-17.
- VANE, JR., ANGGARD, EE., BOTTING, RM. (1990). Regulator functions on the vascular endothelium, *N Eng J Med* 323; 27-36.
- VENDITTI, P., BALESTRIERI, M., DI MEO, S., DE LEO, T. (1997). Effect of thyroid state on lipid peroxidation, antioxidant defences and susceptibility to oxidative stress in rat tissues. *J Endocrinol*, 155: 151- 157.
- VÍDELA, LA., SIR, T., WOLFF, C. (1988). Increased lipid peroxidation in hyperthyroid patients: suppression by propylthiouracil treatment. *Free Radic Res Commun*, 5:1–10.
- YALÇIN, B., DUMAN, C., ÇEKMEN, M.B., ÇETİNARSLAN, B., CANTÜRK, Z, ERDOĞAN, S., ÖZDOĞAN, H.K., TENGİZ, İ., ERCAN E. (2004). Hipertiroidili Hastalarda, Propil Tiyourasil Tedavisinin Nitrik Oksit, Oksidan ve Antioksidanlar üzerine Etkileri. *Türk Klinik Biyokimya Derg*, 2(1); 1-7.

YILMAZ, B. (1999). Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi. A.Ü.Veteriner Fak. Fizyoloji Anabilim Dalı. 1. Basım, Ankara.

YILMAZ, M.I., SONMEZ, A., SAGLAM, M., QURESHI, A.R., CARREO, J.J., ÇAĞLAR, K., EYİLETEN, T., ÇAKIR, E., OGUZ, Y., VURAL, A., YENİCESU, M., LINDHOLM, B., STENVINKEL, P., AXELSSON, J. (2008). ADMA levels correlate with proteinuria, secondary amyloidosis, and endothelial dysfunction. *J. Am. Soc. Nephrol*, 19 (2); 388–95.

ZHU, L., SCHWEGLER-BERRY, D., CASTRANOVA, V., HE, P. (2004). Internalization of caveolin-1 scaffolding domain facilitated by Antennapedia homeodomain attenuates PAF-induced increase in microvessel permeability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 286: (1); 195-201.

ZIMMERMANN-BELSING., T, JUUL., A, HOLST., JJ, RASMUSSEN.(2004). UF. The insulin-like growth axis in patients with autoimmune thyrotoxicosis: Effect of antithyroid drug treatment. *A Growth Hormone-IGF Research* 14; 235–244.

ÖZGEÇMİŞ

1981 yılında Afyonkarahisar’da doğdu. İlk orta ve lise öğrenimini Afyonkarahisar’da tamamladıktan sonra, 1998 yılında başladığı AfyonKocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümün’den 2002 yılında mezun oldu. 2003 yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü’nün Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı’nda Yüksek Lisansa başladı. 2006 yılında mezun oldu ve aynı sene Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı’nda Araştırma Görevliliğine başladı. Halen bu görevini sürdürmektedir.

5)