

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

GEBELİK DÖNEMİNDE OLUŞTURULAN DENEYSEL HİPOTİROİDİNİN 10.,
15. GÜN VE YENİDOĞANDA FETAL BEYİN DOKUSUNDA GLİAL
FİBRİLLER ASİDİK PROTEİN (GFAP) VE S100B PROTEİN
EKSPRESYONUNA ETKİSİ

Dr. VEDAT GENÇER

TEZ YÖNETİCİSİ

Prof. Dr. EMİR DÖNDER

Bu çalışma FÜBAP (Proje no: 1232) tarafından desteklenmiştir

ELAZIĞ-2007

DEKANLIK ONAYI

.....

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

.....

İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden

Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

....._____

Danışman

Uzmanlık Jüri Üyeleri

....._____

....._____

....._____

....._____

....._____

EŐİM ve
ÇOCUKLARIMA

TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezimin oluŐmasında katkısı olan başta tez hocam Prof. Dr. Emir DÖNDER, Doç. Dr. Yusuf ÖZKAN, Prof. Dr. Gıyasettin BAYDAŐ, Yrd. Doç.Dr. Mehmet TUZCU ve Dr. Metin ÖZGEN'e çok teşekkür ederim.

Ayrıca uzmanlık eğitimi aldığım İç Hastalıkları Anabilim Dalında çalıŐan bütün değerli hocalarıma, asistan, hemŐire ve personel arkadaşlarıma da teşekkür ederim.

Ve hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen anne ve babama, eŐim Yasemin, kızım Muteber Reyyan ve oğlum Mustafa'ya sonsuz teŐekkürler.....

Dr. Vedat GENÇER

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iv
KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ	viii
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Genel Bilgiler	6
3.1.1. Tiroid Bezi: Embriyoloji, Anatomi ve Fonksiyonları	6
3.1.2. Hipotalamo-Hipofizer-Tiroid Aksı	8
3.1.3. Hipotiroidizm	9
3.1.3.1. Hipotiroidizmde Klinik	10
3.1.3.2. Hipotiroidizmde Laboratuvar	11
3.1.3.3. Hipotiroidizmin Klinik Ağırlığına Göre Sınıflandırılması	12
3.1.3.3.1. Subklinik (Kompanze) Hipotiroidizm	12
3.1.3.3.2. Orta Dereceli Hipotiroidizm	12
3.1.3.3.3. Belirgin Hipotiroidizm (Miksödem)	12
3.1.3.4. Hipotiroidizmde Metabolik Değişiklikler	13
3.1.3.4.1. Bazal Metabolizma Hızı	13
3.1.3.4.2. Karbonhidrat Metabolizması	13
3.1.3.4.3. Lipid Metabolizması	13
3.1.3.4.4. Protein Metabolizması	14
3.1.3.5. Hipotiroidinin Tedavisi	14
3.1.4. Gebelik ve Tiroid Hastalıkları.....	15
3.1.4.1. Gebelik ve Hipotiroidizm.....	16
3.1.5. Ratlarda Tiroid Bezinin Gelişimi	17
3.1.6. Tiroid Hormonu ve Merkezi Sinir Sistemi Gelişimi.....	17
3.1.6.1. İnsan ve Deneysel Hayvanlarında Tiroid Bezi ve Merkezi Sinir Sisteminin Gelişimi	17
3.1.6.2. Glial Fibriller Asidik Protein (GFAP)	21
3.1.6.3. Astrosit ve Tiroid Hormonunun Astrosit Olgunlaşması ve GFAP Üzerine Etkisi	22
3.1.6.4. S100B Protein	23
4. GEREÇ VE YÖNTEM	26
4.1. Deneysel Hayvanlar.....	26
4.2. Ratlarda Vajinal Smear Değerlendirilmesi	27
4.3. Deneysel Uygulamalar	28
4.3.1. Western Blot Yöntemiyle Nöronal ve Glial Markerlerin Analizi	29
4.3.1.a. Örneklerin Hazırlanması	29
4.3.1.b. Örneklerin SDS-PAGE ile Analizi.....	30
4.3.1.c. Örneklerin Western Blot Yöntemi ile Analizi.....	31
4.4. Tiroid Hormonlarının Ölçümü	33
4.5. İstatistiksel Metod	33
5. BULGULAR	34
6. TARTIŞMA	42
7. KAYNAKLAR	49
8. ÖZGEÇMİŞ	57

KISALTMALAR

TH	: Tiroid Hormonu
TFT	: Tiroid Fonksiyon Testleri
T3	: Triiyodotironin
sT3	: Serbest Triiyodotironin
TT3	: Total Triiyodotironin
T4	: Tiroksin
sT4	: Serbest Tiroksin
TT4	: Total Tiroksin
TSH	: Tiroid Stimulating Hormon (Tiroidi Uyarıcı Hormon)
TRH	:Tirotropin Releasing Hormon (Tirotropin Salıverici Hormon)
GFAP	: Gial Fibriller Asidik Protein
S100	: S100 protein
S100B	: S100B Proteini
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
KH	: Konjenital Hipotiroidi
TX	: Tiroidektomi
IQ	: Intelligence Quotient
LID	: Düşük Doz İyot İçeren Diyet
PTU	: Propylthiouracil
MMI	: Metimazol
BOS	: Beyin Omurilik sıvısı

ŞEKİLLER LİSTESİ**Sayfa no**

Şekil-1	Hipotalamo-hipofizer-tiroid aksı	9
Şekil-2	sT3 düzeyleri	35
Şekil-3	sT4 düzeyleri	36
Şekil-4	TT3 düzeyleri	36
Şekil-5	TT4 düzeyleri	37
Şekil-6.	A.GFAP moleküllerinin Western Blot yöntemi ile analizi	39
	B. Beyin dokusundaki dönemsel GFAP değerleri	39
Şekil-7	A. S100B moleküllerinin Western Blot yöntemi ile analizi	41
	B. Beyin dokusundaki dönemsel S100B değerleri	41

TABLolar LİSTESİ**Sayfa no**

Tablo-1	Hipotiroidi Nedenleri	10
Tablo-2	Deney hayvanlarına verilen yemin bileşkesi	27
Tablo-3	Fetüs ve yavru sayısı	34
Tablo-4	Çalışma gruplarının tiroid hormon düzeyleri	35
Tablo-5	Tüm grupların GFAP miktarlarının rölatif değerleri	38
Tablo-6	Hipotiroidik grubun GFAP değerlerinin kontrol değerlerine göre % oranları	38
Tablo-7	Hipotiroidik grubun GFAP değerlerinin kontrol değerlerine göre % olarak azalma oranları	38
Tablo-8	Tüm grupların S100B değerlerinin rölatif değerleri	40
Tablo-9	Hipotiroidik grubun S100B değerlerinin kontrol değerlerine göre % oranları	40
Tablo-10	Hipotiroidik grubun S100B değerlerinin kontrol değerlerine göre % olarak azalma oranları	40

1. ÖZET

Gebelik Döneminde Oluşturulan Deneysel Hipotiroidinin 10., 15. Gün ve Yenidoğandaki Fetal Beyin Dokusunda Glial Fibriller Asidik Protein (GFAP) ve S100B Protein Ekspresyonuna Etkisi

Tiroid Hormonları (TH) merkezi sinir sistemi (MSS) gelişiminde çok önemlidir. Beyin gelişiminin kritik dönemlerinde TH yokluğu glial hücrelerin ve nöronların olgunlaşmasında gecikmeye neden olmaktadır. Maternal hipotiroidizmde psikomotor gelişme geriliği olduğu, çocukların intelligence quotient (IQ)'lerinde belirgin bir gerilik olduğu bilinmektedir. TH'ler, hem nöronal hem de glial öncü hücrelerin yaşamaları, çoğalmaları ve farklılaşmalarının düzenlenmesinde önemli etkilere sahiptir. Yapılan araştırmalarda Glial Fibriller Asidik Protein (GFAP) ve S100B proteinin astrosit olgunlaşmasında önemli belirteçler olduğunu göstermiştir. Astrosit olgunlaşmasının eksikliğinde, GFAP ve S100B protein düzeylerinin azaldığı görülmüştür. Maternal hipotiroidizmin MSS gelişmesine etkisini araştıran çok sayıda çalışma mevcuttur. Ancak maternal hipotiroidizmin glial proteinler üzerine etkisini araştıran çalışmalar çok azdır. Gebelik sırasında maternal TH'lerin glial proteinler üzerine etkisi tam olarak bilinmemektedir. Çalışmamızda, maternal hipotiroidinin fetüs beyinde 10., 15. gün ve yenidoğan döneminde GFAP ve S100B protein ekspresyonu, dolayısıyla astrosit olgunlaşmasına yaptığı etkileri araştırmayı amaçladık.

Deneysel uygulama için; çalışmaya annesi deneysel olarak hipotiroidi (n:15) ve annesi normal olan kontrol (n:15) grubundan oluşturulmuş ratlar alındı. Her grup 10., 15. gestasyonel gün ve yenidoğan olmak üzere üç alt gruba ayrıldı. 10 ve 15 günlük fetüs beyinleri ile yenidoğan yavru beyinlerinde GFAP ve S100B proteinler Western Blot yöntemi ile çalışıldı. Çalışmamızda; kontrol gruplarına göre hipotiroidi grubunda,

fetüs ve yavru beyin dokusunda, GFAP ve S100B protein oluşumunu belirgin olarak azalmış bulduk.

Çalışmamızın sonuçları; maternal hipotiroidizmin, MSS'nin GFAP ve S100B proteinlerinin ekspresyonunu değiştirdiğini ortaya koymaktadır. Bu değişiklik astrosit olgunlaşmasındaki geriliğin bir nedeni olabilir. Annesi hipotiroidi olan yavru ratların fetüs beyin gelişim döneminde, kontrol grubuna göre, nöronal ve glial değişiklikler, astrosit olgunlaşmasında ciddi gerilik olduğu görülmektedir.

Anahtar kelimeler: Maternal hipotiroidizm, astrosit olgunlaşması, GFAP, S100B.

2. ABSTRACT

The Effect of Experimentally Induced Maternal Hypothyroidism on GFAP and S100B Protein Expression in Fetal Brain Tissue at 10, 15th Gestational Days and Newborn Period

Thyroid hormone is very important in central nervous system development. Thyroid hormone deficiency in critical periods of central nervous system causes glial cells and neurons maturation delays. It is well known that maternal hypothyroidism causes psychomotor and mental retardation in offsprings. Thyroid hormones have important functions in survival, division and differentiation of both neuronal and glial precursor cells. It was reported that S100B and Glial Fibrillar Acidic Protein (GFAP) were good markers showing astrocyte maturation. S100B and GFAP levels were found to be lower in astrocyte maturation defects. There are so many trials related to the effect of maternal hypothyroidism on central nervous system development, but there are few that related to the effect of maternal hypothyroidism on glial proteins. The effect of maternal thyroid hormones on glial proteins is not known during pregnancy. We aimed to evaluate the effect of maternal hypothyroidism on GFAP and S100B proteins expression by the way astrocyte maturation on fetal brain at 10, 15th days and newborn period.

Fifteen experimentally hypothyroid rats and 15 normal rats (control group) were included to experimental study. Both groups were divided into 3 subgroups as 10, 15th gestational days and newborn. S100B and GFAP levels were studied in brain of fetus at 10, 15 gestational days and newborns by Western Blot method. S100B protein and GFAP levels were found significantly lower in brain tissues of hypothyroid mother offsprings with respect to control group.

Our study showed that maternal hypothyroidism might cause changes in GFAP and S100B protein expression in central nervous system. These changes may have a role in astrocyte maturation retardation. It was observed that there are neuronal and glial changes and severe astrocyte maturation retardations in the fetal brain development of hypothyroid mother's offsprings.

Key words: Maternal hypothyroidism, astrocyte maturation, GFAP, S100B.

3. GİRİŞ

Tiroid hormonları (TH) merkezi sinir sistemi (MSS) gelişiminde çok önemli bir rol oynamaktadır (1-4). Şiddetli TH eksikliği insanlarda kretinizm denen mental retardasyon ve nörolojik gelişim geriliği ile seyreden ciddi bir hastalığa yol açmaktadır (5). TH yokluğu beyin gelişiminin kritik dönemlerinde glial hücrelerin ve nöronların olgunlaşmasında gecikmeye, dentritik çıkıntılarının anormal dağılımına, sinaptik dansitenin azalmasına, myelinizasyon defektine ve olfaktor, bulbus ve hipokampusda hücrelerin sayı olarak azalmasına neden olmaktadır (6). Hipotiroid beyinde serebellar granül hücrelerinin migrasyonunda gecikme, purkinje hücrelerinin lokalizasyonunda ve dallanmasında azalma ve serebral korteksin normal laminasyonunda değişiklikler meydana gelmektedir (2,7).

TH etkisini gen ekspresyonu yaparak gösterir. Etki ettiği reseptörler büyük bir gen ailesinin subgrubudur. Beyin genlerinin bir kısmının TH'leri ile düzenlendiği gösterilmiştir. Bunlar majör myelin proteinlerinin, sitoskeletal ve mitokondrial proteinlerin, nörotrofinlerin ve diğer reseptörlerin kodlanmasını içermektedir (3,8).

Glial Fibriller Asidik Protein (GFAP) olgun astrositlerin major intermediyer filaman proteinidir. Astrosit farklılaşmasındaki anahtar olaylardan biri GFAP ekspresyonunun başlamasıdır (9). Olgunlaşmamış astrositler başlangıçta vimentin salgılayan, olgun astrositler GFAP salgılayanlar (10). Bundan dolayı GFAP astrosit olgunlaşma belirteci olarak tanımlanır (11). Nöronal-glia etkileşimde GFAP'ın rol oynadığı bildirilmiştir (9). Böylece GFAP düzeyindeki değişiklikler nöron-nöron ve nöron-glia arasındaki bağlantıda bozulma ile sonuçlanabilir.

S100 proteinlerinin, hücre-hücre iletişimi, hücrenin yapısı ve büyümesi, kontraksiyon, enerji metabolizması ve intraselüler sinyal iletiminde rolleri olduğu bilinmektedir. Beyin gelişimi ve rejenerasyonunda da önemli bir role sahiptirler. Ayrıca, nöronal farklılaşma ve olgunlaşmada rol oynadığı da belirtilmiştir. S100B proteini,

nöronal çıkıntılarının büyümesini uyarır, gelişim süresince ve hasardan sonra nöronların hayatta kalmasını sağlar (12). S100B proteini hem gelişim hem de sinir rejenerasyonu boyunca nörotropik bir faktör olarak rol oynar (13). Ekstraselüler S100B öğrenme ve hafızanın modülasyonu ile da ilişkili olduğu görülmüştür (14).

Biz çalışmamızda gebelik döneminde oluşturulan hipotiroidinin astrositlerin olgunlaşması, GFAP ve S100B protein ekspresyonu üzerine etkilerini değerlendirmeyi amaçladık.

Ayrıca gebeliğinin başlangıcından doğuma kadar hipotiroidi oluşturulan ratların fetüs beyinlerinde hipotiroidinin GFAP ve S100B proteinlerinin oluşumuna 10., 15. gün ve yenidoğan dönemindeki etkilerini araştırmayı amaçladık.

3.1. Genel Bilgiler

3.1.1. Tiroid Bezi: Embriyoloji, Anatomi ve Fonksiyonları

Tiroid bezi, fertilizasyondan yaklaşık 24 gün sonra ilkel farinks tabanında, median bir endoderm kalınlaşmasından oluşmaya başlayan intrauterin hayatta ilk gelişen endokrin bezdir. Endoderm kalınlaşmasından kısa bir süre sonra küçük bir tiroid divertikülü oluşur. Başlangıçta tiroid divertikülünün içi boştur. Fakat kısa bir sürede gelişmekte olan 2. ve 3. trakea halkalarının önünde istmus ile birbirine bağlı sağ ve sol loblara ayrılmış, solid bir yapı halini alır. Embriyo ve dil büyürken tiroid bezi taslağı, gelişen larinks ve hyoid kıkırdaklarının ventralinden geçerek aşağıya iner. Gebeliğin 7. haftasında tiroid bezinin tam şeklini aldığı ve genellikle boyundaki erişkin konumuna ulaştığı tahmin edilmektedir. Gebeliğin 11. haftasında tiroid follikülleri görülmeye başlar ve bu dönemde iyot konsantrasyonu ve TH sentezi gösterilebilir. Fetüs serumunda tiroidi uyarıcı hormon (TSH), triiyodotironin (T3) ve tiroksin (T4) gebeliğin 12. haftasında tespit edilebilir (15-17).

Gebeliğin 12. haftasında fetüs serumunda TSH düzeyi 3-4 mU/L aralığındadır. 2. ve 3. trimesterde yavaş yavaş artarak doğumda 6-8 mU/L düzeyine ulaşır. Eğer anneye 2. veya 3. trimesterde Tirotropin Salıverici Hormon (TRH) verilecek olursa fetüs dolaşımında TSH düzeylerinin arttığı görülür (18). Bu durum gebeliğin 25. haftasında gösterilebilir. Bu da bize hipotalamo-hipofizer aksın gebeliğin 25. haftasından sonra çalışmaya başladığını gösterir.

En erken organoid yapılanma intrauterin yaşamın 9. haftasında başlar. Bu yapılanma folliküler taslak hücrelerinin oluşturduğu kordon ve kümeler şeklindedir. Daha sonra 10. haftada başlayan lümen oluşumu, follikül hücrelerinin ortasında küçük boşluklar şeklinde olur. Kolloidin follikül boşluğunda görülmesi ise gelişimin 12. haftasında meydana gelir. Tek sıralı olgun follikül hücreleri ile döşeli tiroglobulin içeren kolloidle dolu gelişmiş follikül yapılarından oluşan tiroid bezi morfolojisi gelişimin 14. haftasında meydana gelmiş olur. Erişkin dönemde normal bir tiroid glandını oluşturan folliküller yaklaşık 200 µm çapında olup, oval-yuvarlak şekillidir. Follikül tek sıralı epitel hücreleriyle döşelidir (18-19).

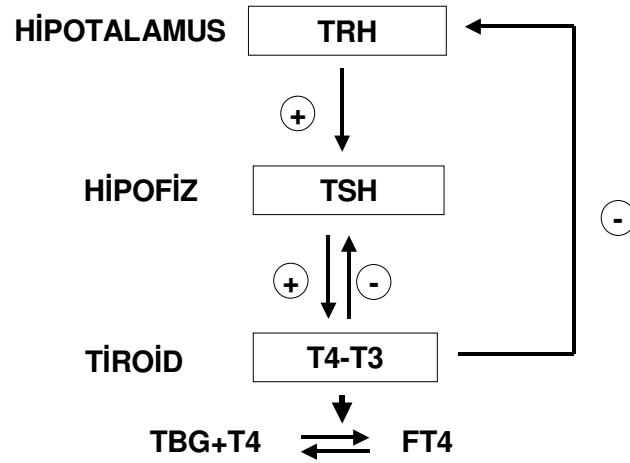
Tiroid bezi, boynun ön kısmında, at nalı şeklinde iki yan lobu ve bunları birleştiren bir istmusu bulunan bir endokrin bezdir. İstmus, krikoid kıkırdağının altında, tiroid kıkırdağı zirvesi ile jugulum ortasındadır. Larinks ve trakeanın kıkırdak dokularının ön ve yan kısımlarını örter, gevşek bir bağ dokusu ile bu yapılara bağlıdır. Normal bireylerde tiroidin ağırlığı yaş, diyetle alınan iyot miktarı ve vücut ağırlığı gibi faktörlere bağlı olmakla beraber, yaklaşık olarak 15-20 gramdır. Her bir lobun uzunluğu; 3.5-4.5 cm, genişliği; 1.5-2 cm ve derinliği; 1-1.5 cm'dir (19).

Tiroid bezinin başlıca fonksiyonu TH'lerin salgılanmasıdır. Tiroid bezinden salgılanan TH'lerin büyük bir kısmını T4 oluşturmakta olup, az miktarda T3 oluşur. Esas etkili olan hormon serbest triiyodotironin (sT3)'dir. T4'ün daha az aktif ve T3'ün

bir prekürsörü olduğu kabul edilmektedir. Plazmada T4 ve T3 genellikle bir proteine bağlı olarak taşınırlar. Bu proteinler tiroksin bağlayan globülin, tiroksin bağlayan prealbümin ve albumindir. TH'lerin % 70'ini tiroksin bağlayan globülin, % 10'unu tiroksin bağlayan prealbumin ve % 15'ini albumin taşır. TH'ler vücuttaki bir çok metabolik süreci etkilemektedirler. Normal büyüme ve gelişmenin devam etmesi, enerji ve ısı üretimi başta olmak üzere çok çeşitli homeostatik mekanizmaların düzenlenmesinde rol alır (19).

3.1.2. Hipotalamo-Hipofizer-Tiroid Aksı

Hayvan deneyleri ve insan çalışmalarında tiroid ile hipofiz ve hipotalamus arasında işlevsel olarak yakın bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur. Hipotalamustaki supraoptik ve supventriküler nükleusdaki nöronlarca sentez edilip salgılanan TRH ön hipofize etki ederek TSH sentez ve salınımını uyarmaktadır. TSH ise tiroid bezine etki ederek hücre büyümesi ve TH'lerin sentez ve salınımını uyarmaktadır. TH'ler ise hipofizden TSH salınımını ve hipotalamusdan TRH sentez ve salınımını engeller. TSH salınımını üzerine akut inhibitör etkisi olan hormon hipofiz içerisindeki sT3'tür. Bu sT3 hipofizde serbest tiroksin (sT4)'den dönüşüm yolu veya dolaşımdaki sT3'ün hipofize girmesi ile oluşmaktadır (20).



Şekil 1. Hipotalamo-hipofizer-tiroid aksı (20 no'lu kaynaktan uyarlanmıştır).

3.1.3. Hipotiroidizm

Tiroid bezinin yeterli plazma TH seviyesi meydana getirememesi haline hipotiroidizm denir. Teşhis genellikle serumda sT4 ve sT3'ün azalması, TSH'nin artması ve klinik bulgularla konur (21).

Hipotiroidizm, tiroid bezi, hipofiz ve hipotalamus gibi endokrin organların bozukluğundan ileri gelebileceği gibi TH'lere karşı periferik direnç gelişmesi ile de hipotiroidizm tablosu oluşabilir. En sık neden Hashimoto tiroiditi'dir. Antitiroid ilaçlar, tiroid cerrahisi sonrası ve radyoaktif ilaç kullanımı sonrası ile de hipotiroidizm gelişebilir (22). Hipotiroidi nedenleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Hipotiroidi Nedenleri (23)

1. Primer Hipotiroidi

1.a. Tiroid Dokusunun Yıkımı

Kronik otoimmün tiroidit

Radyasyon

Subtotal veya total tiroidektomi

Tiroidin infiltratif hastalıkları

1.b. Bozuk Tiroid Hormon Yapımı

Antitiroid etkili ilaçlar (lityum, iyot, iyot içeren ilaçlar ve radyokontrast maddeler)

2. Santral Hipotiroidi

Hipofiz hastalıkları

Hipotalamus hastalıkları

3. Geçici Hipotiroidi

Sessiz tiroidit

Subakut tiroidit

Ötiroid bireylerde hormon tedavisi kesildikten sonra

3.1.3.1. Hipotiroidizmde Klinik

Vücuttaki tüm dokular, az veya çok TH eksikliğinden etkilenirler. Kişiden kişiye fark olmakla birlikte genellikle hipotiroidizmin başlama yaşı ve hormon eksikliğinin yoğunluğu klinik tabloyu doğrudan etkileyen faktörlerdir. Hastalarda; yorgunluk, halsizlik, artralji, miyalji, kas krampları, soğuk intoleransı, konstipasyon, letarji, kuru deri, baş ağrısı, menoraji, ödem, horlama, kilo artışı, depresyon ve konsantrasyon kaybı başlıca şikayetleri oluşturur (24).

Hastaların fizik muayenesinde donuk bakış, saçlar ve tırnaklarda matlaşma, saçlarda dökülme, periorbital ödem, ciltte kalınlaşma, dilde büyüme, seste kabalaşma,

vücut ısısında azalma, mental durum değişiklikleri, derin tendon reflekslerinde azalma, hipotermi, serebellar ataksi, periferik nöropati, karpal tünel sendromu, depresyon ve psikozlar tespit edilebilir. Plevral, peritoneal ve perikardiyal effüzyonlar, bradikardi, nazal konjesyon ve gode bırakmayan ödem diğer fizik muayene bulgularıdır (25).

3.1.3.2. Hipotiroidizmde Laboratuvar

Vakaların % 55'inde serum kolesterol düzeyi artmıştır. Ayrıca karaciğer enzimleri ve kas enzimi kreatin kinaz değişik oranlarda yüksek bulunabilir. Anemi görülebilir. Anemi normokrom normositer, mikrositer veya makrositer olabilir. Hipotiroidili hastaların bir kısmında gastrik mukozaya karşı oluşmuş otoantikolar sonucunda pernisiyöz anemi gelişebilir. Prolaktin düzeylerinde yükselme ve hipoglisemi de hastaların bir kısmında görülebilir. Primer hipotiroidili bazı hastaların hipofiz boyutlarında artma olur ve sella grafisinde bu genişleme tespit edilebilir. Telegrafide kardiomegali, elektrokardiyografide (EKG) sinüs bradikardisi, QT mesafesinde uzama, QRS voltajında düşüklük ve nonspesifik ST değişiklikleri tespit edilebilir (21).

Hastaların bir kısmında gastrointestinal motilite azalmasından kaynaklanan paralitik ileus ve megakolon oluşabilir. Böbrekte bozulan serbest su atılımı nedeni ile uygunsuz ADH sendromu ve hiponatremi gelişebilir. İntertisyel alanda hidrofilik moleküller, hyaluronik asit ve diğer glikozaminoglikanlar birikir ve gode bırakmayan ödem oluşur. Hipotiroidizmdeki ödem venöz yetmezlikten daha çok artmış kapiller geçirgenliğe bağlıdır (24).

3.1.3.3. Hipotiroidizmin Klinik Ağırlığına Göre Sınıflandırılması

3.1.3.3.1. Subklinik (Kompanze) Hipotiroidizm

Bu hastalarda hemen hemen hiçbir bulgu mevcut değildir. Hastalık genellikle başka nedenlerle yapılan tetkikler sırasında TSH'nin yüksek çıkması, sT4 ve sT3'ün normal bulunması ile teşhis edilir. Hastalar genellikle asemptomatiktir veya minimal derecede şikâyetleri olmaktadır. Belki de minimal değişiklikleri ölçebilecek teknolojinin henüz olmaması organ disfonksiyonunu tespit etmemizi güçleştirmektedir (26–27).

3.1.3.3.2. Orta Dereceli Hipotiroidizm

Bu hastalar çoğunlukla enerjilerinin azaldığından, çok üşüdüklerinden, beden ve zihin fonksiyonlarının yavaşlamasından yakınır. Bazen hafif yüz ve bacak şişmeleri ve kilo alma da görülebilir. Bu hastalarda sT4 ise normal veya normalin biraz altında bulunur (28).

3.1.3.3.3 Belirgin Hipotiroidizm (Miksödem)

Hipotiroidizmin en ağır seyirli klinik görünümüdür. Ciltte mukopolisakkarid birikimi sonucu yüzde ve göz kapaklarında belirgin şişme, dilde şişme ve büyüme, ekstremitelerde basmakla iz bırakmayan ödem görülür. Bunlara ilave olarak kabızlık, durgunluk, uyuklama hali, soğuk havaya dirençsizlik, üşüme, ciltte ve saçlarda kuruma ve kalınlaşma, kilo alma, sesin kalınlaşması ve bradikardi gibi semptom ve bulgular gözlenir. İleri vakalarda perikard ve plevrada sıvı birikmesi, letarji ve miksödem koması görülebilir (21). Serumda sT3 ve sT4'ün düşük, TSH'nin yüksek olması ile teşhis konulur. Sistemik hastalıklarla birlikte olan hipotiroidide TSH sekresyonu azalabilir. Düşük sT3 ve sT4 düzeylerine rağmen düşük veya artmamış TSH santral hipotiroidi olduğunu gösterir (19).

3.1.3.4. Hipotiroidizmde Metabolik Değişiklikler

3.1.3.4.1. Bazal Metabolizma Hızı

Bazal metabolik hız % 40'tan fazla azalır. Soğuk intoleransı ve iştahın az olmasına karşın bir miktar kilo artışı görülür. Vücut yağ yüzdesi sağlıklı insanlara göre artmıştır. Bunların nedeni hipotiroidizmde O₂ tüketiminin ve ısı üretiminin azalmasıdır (21).

3.1.3.4.2. Karbonhidrat Metabolizması

Hipotiroidizmde, gastrointestinal kanaldan glukoz Emilimi yavaşlar. Yağ dokusundan gliserol salınımı azalır. Glikoneogenez için gerekli olan aminoasitler ve gliserol azalır. Oral glukoz tolerans eğrisi karakteristik olarak düz çizgi çizer (24). Hipotiroidizmde hipoglisemi görülebilmekle birlikte izole TH eksikliğinde hipoglisemi nadiren görülür. Böyle bir durumda öncelikli olarak hipopituitarizm düşünülmelidir. Tip 1 diyabetik hastalarda hipotiroidi gelişirse ekzojen insülin ihtiyacı azalır. Hipotiroidizmin tedaviyle düzelmeye aşamasında da insülin ihtiyacı artar (24).

3.1.3.4.3. Lipid Metabolizması

Hipotiroidizmde hem lipid sentezi hem de lipidlerin yıkımı azalır, fakat denge lipid sentezinde artma lehine gelişir. Yağ asidi biyosentezi baskılanmıştır. Trigliserid ve yağ asidi yıkımı da normalin altındadır. Değişik prekürsörlerden uzun zincirli yağ asitlerinin sentezi azalır. Gliserol üretim hızında ve palmitat oksidasyonunda azalma olur. Lipolitik ajanlara lipoliz cevabı ise azalmıştır (21).

Belirgin hipotiroidizmi olan hastaların çoğunda kolesterol düzeyi 250 mg/dl'nin üzerindedir. Kolesterol sentezi azalmıştır, fakat safraya kolesterol sekresyonunun azalması, kolesterol yıkımının yavaşlaması ve LDL kolesterolü taşıyan

apolipoproteinlerin miktarının artması gibi nedenlerle hiperkolesterolemi gelişir. Lipolitik aktivitedeki azalmadan dolayı sentezi normal olmasına rağmen plazma trigliserid seviyeleri de artar. Plazma serbest yağ asit konsantrasyonları normaldir veya hafifçe azalmıştır (29).

3.1.3.4.4. Protein Metabolizması

Hipotiroidizmde proteinlerin özellikle albuminin hem sentezi hem de yıkımı azalır, fakat yıkım sentezden daha fazla azaldığı için total albumin miktarı artar (24).

3.1.3.5. Hipotiroidinin Tedavisi

Hipotiroidi, hormon replasmanı yöntemi ile tedavi edilen ilk endokrin hastalıktır. Kalıcı hipotiroidizm sentetik veya doğal TH preparatları ile tedavi edilmektedir. Sentetik T4 (levotiroksin) biyolojik aktivitesinin kararlılığı, periferik dokularda T3'e çevrilebilmesi, uzun plazma yarı ömrü ve ucuzluğu nedeniyle ilk seçilen ilaçtır. Hipotiroidizm vakalarında ötiroidizmi sürdürmek için gerekli olan T4 dozu erişkinlerde yaklaşık günde 100-150 µg, çocuklarda 50-100 µg ve yenidoğanlarda ise 20-50 µg kadardır (24).

Klinik duruma göre TH replasman tedavisinin dozu değişir. Ancak koroner arter hastalığından şüphelenilen veya bilinen hastalarda replasmanın yavaş yapılması gerekir. Tedavi çok hızlı yapılırsa koroner iskemi, ciddi aritmi ve miyokard infarktüsü gibi riskler vardır (28).

T4 replasman tedavisi uygulanan hastalarda semptomatik iyileşme bulguları en az 2 haftalık bir tedaviden sonra ortaya çıkar. Bunun nedeni TH'nin reseptör aracılığı ile etkili olarak gen transkripsiyonunu düzenlemesidir (29).

Kalıcı hipotiroidizmi olan hastalarda ömür boyu tedavi uygulanır (24). T4 replasman tedavi dozunun tespit edilebilmesi için tedavi süresinin en az 4 haftayı geçmiş olması gerekmektedir. Bunun nedeni T4'ün yarı ömrünün 7 gün olmasıdır. Doz değiştirilirken T4 miktarı haftada 25 µg artırılmalıdır. Serum sT4 ve TSH tayinleri ile hastanın ötiroid duruma geldiği tespit edildikten sonra her 6 ayda bir defa sT4 ve TSH tayinleri yapılmalıdır (21).

T4'ün bilinen yan etkileri; kemik kaybının artması ve koroner arter hastalığının şiddetlenmesi şeklinde özetlenebilir (21).

Hipotiroidinin en ağır şekli olan miksödem komasında TH'ler yüksek dozda kullanılır. En iyi cevaplar 200-500 µg T4'ün damar yoluyla veya nazogastrik sondadan verilmesiyle elde edilir. Ayrıca miksödem komasındaki hastalara solunum desteği yapılmalı ve dikkatli bir şekilde intravenöz sıvı replasmanı uygulanmalıdır. Sürrenal yetmezliğine gidişi önlemek için 200-300 mg/gün hidrokortizon parenteral verilir. Ciddi boyutlarda anemisi olan hastalara kan transfüzyonu uygulanır. Hipoglisemi miksödemlilerde sık görülür ve gerekirse intravenöz glukoz da verilmelidir (22.)

3.1.4. Gebelik ve Tiroid Hastalıkları

Üreme çağındaki kadınlarda, tiroid bezi hastalıkları ile oldukça sık karşılaşmaktadır. Gebelik dönemindeki hormonal değişiklikler, tiroid fonksiyon testlerini etkileyebilmektedir. Ayrıca gebelik sırasında görülen hipermetabolik durum klinik olarak tiroid bezi hastalıklarını taklit edebilmektedir. Gebeliğin tiroid bezi hastalıklarının gidişini etkileyebileceği gibi tiroid hastalıklarının da gebeliğin seyrini, fetüsü ve yenidoğanı etkileyebileceği bilinmektedir (6,7,30). Gebelik sırasında dört önemli değişiklik ortaya çıkmaktadır. Bunlar; 1) Tiroid bağlayan globülin düzeyinin artması, 2) Human koriyonik gonadotropinin artması sonucu tiroid bezinin uyarılması,

3) Plasenta kökenli enzimlerle TH'lerin periferik metabolizmalarının değişmesi, 4) Böbrek klirensinin artması ve fetüsün kullanımı nedeni ile plazma iyot düzeyinin azalmasıdır (30).

Plasenta anneden fetüse TH'lerin geçişi için kısmi engel oluşturmaktadır. TSH plasentaya geçemezken, iyot serbestçe geçebilmektedir. TRH, antitiroid ilaçlar ve tiroid antikoları da plasentadan geçebilmektedir (19,30). Embriyo ile yapılan çalışmalarda (2,30) fetüste tiroid bezi hormon sentez ve salınımına başlamadan önce anneden fetüse yeterli miktarda T3 ve T4 geçtiği gösterilmiştir. Fetüsün tiroid bezinin işlev görmediği gebeliğin erken dönemlerinde, özellikle fetüsün MSS'nin gelişmesinde, annenin TH'leri çok önemli rol oynamaktadır (30).

3.1.4.1. Gebelik ve Hipotiroidizm

Hipotiroidili kadınlarda anovulasyon sık görülen klinik bir durumdur. Bu nedenle tedavi edilmemiş hipotiroidili kadınlarda gebeliğin az olduğu düşünülmektedir. Gebe kalan hipotiroidiklerde ise düşük riski çok yüksektir. Hem klinik hem de subklinik hipotiroidi üreme çağındaki kadınlarda % 0,3 ile % 2,9 oranında görülmektedir (31-34). Tedavi edilmemiş hipotiroidili vakalarda gebelik dönemlerinde çeşitli komplikasyonlar görülebilir. Bu komplikasyonlar; preeklampsi, erken plasenta ayrılması, düşük doğum ağırlığı, düşüklükler, ölü doğum, prenatal mortalite, konjenital malformasyonlar, gebeliğin indüklediği hipertiroidi, postpartum kanama ve fetal distres gibi ciddi problemlerdir (35-38). Bir çok çalışmada maternal hipotiroidinin ister subklinik ister klinik olsun çocuğun MSS gelişimini olumsuz olarak etkilediği gösterilmiştir (39-41).

3.1.5. Ratlarda Tiroid Bezinin Gelişimi

Rat gebeliği yaklaşık 21 gün sürmektedir. Fetal hayatın 9.5-10. gününde tiroid divertikülümü görülmektedir (42-44). Bundan yaklaşık 5-5.5 gün sonra yani fetal hayatın 15-15.5. gününde dolaşımında TSH düzeyi artmaktadır. Bu günlerde tiroide hormon sentezinin başladığı tespit edilebilmektedir (45).

3.1.6. Tiroid Hormonu ve Merkezi Sinir Sistemi Gelişimi

3.1.6.1. İnsan ve Deney Hayvanlarında Tiroid Bezi ve Merkezi Sinir Sisteminin Gelişimi

TH ile MSS ilişkisinin en iyi çalışıldığı ratlarla yapılan çalışmalardır. Günümüzde bu hayvan modellerinden geliştirilen kavramların pek çoğu insanlar için de uygulanabilir geçerliliği olduğu kabul edilmektedir. Bunun yanında ratların deneysel model olarak en önemli üstünlüğü zamanında doğan çocukların tersine rat yavrularının doğumda MSS'lerinin tiroid bezi gibi tam gelişmemiş ve kısmen immatür olmasıdır. İnsan ve ratlar arasında geçerli karşılaştırmalar yapabilmek için tiroid bezinin gelişimi ile tiroid fonksiyon gelişimi arasındaki farklılıkların dikkate alınması gereklidir. İnsanlarda 3. gebelik döneminin sonlarında gerçekleşen olaylar ratlarda doğum sonrası ilk 2-3 hafta içinde olmaktadır (46).

Tiroid gelişimi ile dolaşımdaki TH'ler bakımından insan ve ratlar arasındaki en önemli farklılık, ratlarda fetüs için TH sadece maternal TH'den sağlandığı dönemin ratlarda nispeten daha uzun olmasıdır (46). Ratlarda serebral nörogenezis ve migrasyonun TH'ye bağlı olan kısmın önemli bir bölümü maternal TH'nin etkisiyle gerçekleşmiş olmasıdır ki, ratlarda tiroid fonksiyonları sadece doğumdan 4 gün öncesinde başlar. Diğer taraftan, insanda birinci trimesterin sonunda nöronal farklılaşma ve sinaptogenezis gerçekleşir ve ratlarda çok daha geç olan miyelinogenezis de

doğumda iyice ilerlemiştir. İnsan fetüsü daha uzun bir süre kendi kaynağına dayanacağı için, konjenital hipotiroidizmin etkileri insan ve ratlar arasında farklı olarak ortaya çıkacağı açıktır (46). TH bağımlı MSS gelişiminin başlama zamanı tam olarak belirlenememekle beraber, nörogeneziste kritik bir süre vardır. Hipotiroidinin tedavisi bu süreden sonra beyin fonksiyonlarını normale döndürmesi beklenemez. Bu süre ratlarda gebeliğin 18-19. günlerindedir ancak 14-16. günlerinde de görülebilir (1,47,48). Konjenital hipotiroidili (KH) bebekte semptomlar geç ortaya çıktığı için teşhis de geç konmaktadır. KH bebeklerin ilk ayda % 10'una, ilk üç ayda % 35'ine, ilk bir yılda % 70'ine ve üç yaşından sonra % 100'üne teşhis konmaktadır (49,50). Teşhis ve tedavinin gecikmesi sonucu entellektüel kusurlar ağır olmaktadır. Bir metaanalizde 651 KH'li infantların ortalama IQ'larının 76 olduğu bulunmuştur (51). KH'li infantların doğumda ilk 3 ayda teşhis konanların % 78'inde, 3-6 ay arasında teşhis konanların % 19'unda IQ 85 ve üzeri, 7 aydan sonra teşhis konanlarda ise hepsinin IQ'su 85'in altında bulunmuştur (51,52).

KH doğumda TFT taraması yapılarak erken teşhis ve tedavi yapılabilen bir hastalıktır. İnsanlarda, konjenital hipotiroidili hastalarda yapılan çalışmalar hemen hemen bütün infantlarda doğum sonrası birkaç hafta içinde yeterli sürede ve dozda levotiroksin tedavisiyle normal veya normale yakın düzeyde entellektüel gelişim sağlanabileceğini göstermiştir (47,53-56). Çok sayıda belirtilen çalışmalar TH'nin, erken gebelik döneminde fetal tiroid bezi gelişimi başlamadan önce, MSS gelişiminde rol oynayabileceğini göstermektedir (57,58). Hem maternal hem de fetal tiroid fonksiyonları yetersiz olmasından dolayı endemik kretinizm, insan MSS'de TH ilişkili olayları değerlendirmek için önemli bir klinik model oluşturur. TH eksikliğine bağlı olarak görülen özel bir nörolojik sendrom olarak tanımlanmıştır. Bu sendromun esas özellikleri mental bozukluk, piramidal kanal bozukluğu, sağırılık-mutizm, spastik dipleji

veya quadripleji ile seyreden ekstrapiramidal disfonksiyon ile tipik yürüyüş bozukluğudur. Bu bulgular Helpem ve Boyages (59,60) tarafından yapılan çalışmalarda daha geniş olarak tanımlanmıştır. Piramidal disfonksiyonlar en sık olarak patellar reflekslerin artması şeklinde görülmektedir. Nörolojik endemik kretinizmin ekstrapiramidal bulguları arasında distonik postür, rijidite ve bazal gangliyon lezyonlarını andıran diğer bulgular vardır (39-41). Manyetik rezonans görüntüleme çalışmalarında Çin'de 3 endemik nörolojik kretinizimli hastada substansiya nigra ve korpus striatumda anormalliklerin gösterilmesi bu bulguları desteklemektedir (60). Klinik özellikler bu bozuklukların tipik serebral palsiler olduğunu göstermektedir. DeLong (5) bu sistemlerde hasarın başlangıcını gebeliğin 14. haftasına ait olduğunu ve üçüncü trimestere kadar kalıcı olduğunu belirtmiştir. Bu bulgularla Pharoah ve arkadaşlarının daha önceki bulguları arasında benzerlik vardır. Hamileliğin ikinci trimesterden önce iyotlanmış yağın verilmesiyle kretinizmin nörolojik bulgularının ortaya çıkışını önleyebildiğini göstermiştir (61).

İkinci trimesterde tiroid hormonu bağımlı olayların bozukluğu, serebrokortikal fonksiyon (gebeliğin 14-18. haftalarında gelişir) bozukluklarını, kohleada (gebeliğin 10-15. haftalarında gelişir) gözlenen anormallikleri ve bazal gangliyon (gebeliğin 12-18. haftalarında gelişir) bozukluklarını açıklayabilir (1,59). Maternal T4'ün kompanse edemediği konjenital hipotiroidili bebeklerde endemik kretinizm bulguları görülmemektedir. Bunlarda ekstrapiramidal veya piramidal hastalık görülmez ve görülse de çok daha az oranda ve çok daha hafif bir duyma bozukluğu şeklinde görülür (62-64). Bu da konjenital atiroidik hipotiroidizimli infant örneğinde olduğu gibi, endemik kretinizimli infantlarda ortaya çıkan nörolojik bozuklukların maternal T4 ile önlenemediğine kanıt oluşturur. Doğum sonrası tedaviye rağmen belirgin gelişme geriliği diğer maternal-fetal POU1F1 (eskiden Pit 1 olarak adlandırılan) yetersizliği (65)

ve TSH reseptör engelleyici antikorla oluşan kongenital hipotirodizm (66) gibi diğer maternal-fetal hipotirodizm modellerinde gösterilmiştir. Endemik kretinizmde gözlenen nörolojik bozukluklara benzer anormalliklerin diğer bozukluklarda da görülüp görülmediği ve ikinci trimesterden önce verilecek bir tedavinin kognitif bozuklukları normalleştirebileceği kesin olarak belli değildir.

İlk defa Man ve arkadaşları (67) fetal tiroid anomalisi ile seyretmeyen maternal hipotirodizm vakalarında bile çocuğun psikomotor gelişim bozukluklarına neden olduğunu belirtmişlerdir. Haddow ve arkadaşları (39) hamileliğin ilk trimesterde maternal hipotiroidi olan 7-9 yaş arası çocukların IQ'larında 4 puanlık bir düşüklük olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bulgularla benzer olarak, Pop ve arkadaşları (68) serbest T4 seviyeleri normalin % 10'u düzeylerinde düşük olan annelerin çocuklarında 10 aylıkken normal kişilere göre ölçülebilir psikomotor bozukluklar olduğunu belirtmişlerdir. Bu etki sadece gebeliğin 32. haftada gözlenmediği, 12. haftasında da gözlendiği için araştırmacılar fetüs tiroid fonksiyonunun henüz başlamadığı bu dönemde maternal TH'nin gebeliğin ilk trimesterinde en önemli hormon olduğu kanısına varmışlardır. Yukardaki iki çalışmanın aksine, Liu ve arkadaşları (69) ikinci trimesterde hipotiroidisi düzeltilmiş hipotiroidili annelerin çocuklarında herhangi bir IQ bozukluğu olmadığını belirtmişlerdir.

Sadece maternal hipotirodizmin zayıf etkisi ile iyot yetmezliğine bağlı maternal-fetal yetmezlik kombinasyonu sonucu meydana gelen hipotiroidi komplikasyonları arasında fark oldukça belirgindir. Böylece iyotun ikinci trimesterden önce verilmediği durumda meydana gelen etki erken dönemde zayıf bir etki oluştururken tiroid bağımlı beyin gelişiminin çoğunun gebeliğin sonraki dönemlerinde meydana geldiğine işaret etmektedir. Gebelik döneminde hipotiroidi insidansı iyot eksikliği olan popülasyonda iyot eksikliği olmayanlara göre yaklaşık 10 kat daha

fazladır. Bu da bazı otörlerin bütün gebelerde özellikle birinci trimesterden önce rutin tiroid taraması yapılmasını önermelerine dayanak oluşturmaktadır (70,71).

3.1.6.2. Glial Fibriller Asidik Protein (GFAP)

GFAP, 50 kDa ağırlığında intraselüler bir proteindir. Normal beyinde bulunan fibröz astrositlerin sitoplazmalarında bol miktarda bulunmaktadır. GFAP esas olarak astrositlerden eksprese edilen bir intermediyer filamandır. Bundan dolayı selektif bir marker olarak kullanılmaktadır. Ratlarda yapılan çalışmalarda astrositik intermediyer filamanların reaktif gliozisde çok önemli bir rol oynadıkları gösterilmiştir (72). Astrositler beyinde nöronların yaşamlarını sürdürmeleri ve fizyolojik olarak fonksiyon görmeleri için gerekli olan iyonik çevrenin düzenlenmesini sağlamaktadır. MSS'de hasar olduğu zaman glial hücreler hücrel cevabı başlatırlar. MSS glial hücrelerin reaksiyonu gliozis olarak verir. Dolayısıyla GFAP ekspresyonunda artış olur. Astrositler nöronal hasara cevap olarak ekspresyonunu artırırılar. GFAP, MSS'nin hasarı sonrası gelişecek olan morfojenizde önemli bir materyaldir. GFAP fetal dönemde son derece az miktarlarda iken, beynin gelişimiyle yoğunluğu artmaktadır (73). MSS'nin reaktif süreçlerinde de astrosit sitoplazmaları içinde artmış miktarlarda bulunduğu gösterilmiştir. Oligodendria ve ependim hücrelerinde de bulunur. Cerrahi patolojide kullanımı yararlı olduğu bilinmektedir. Ekstraaksiyel yerleşimli tümörlerin invazyonlarının tanımlanmasında da faydalıdır. Normal koroid pleksusta bulunmadığı halde koroid pleksus tümörlerinde GFAP salınımı bulunmuştur. GFAP'ın bir hücre içinde tespit edilmesi o hücrenin GFAP ürettiğini göstermez. Örneğin makrofajlar fagositoz sayesinde sitoplazmaları içinde GFAP içerebilirler. GFAP kullanımı ile neoplastik ve reaktif glia hücresi birbirinden ayrılamaz. Normalde beyaz cevherde bulunan GFAP+ fibröz astrositler, korteks yerleşimli olan aynı tipteki hücelere oranla

daha yoğun olarak bulunmaktadır. Bu nedenle beyaz cevherin reaktif süreçlerinin değerlendirilmesinde GFAP yarar sağlamaz. GFAP boyanma şiddeti ile astrositik tümör derecelendirmesi arasında ilişki bulunmamaktadır. Astrosit kökenli tümörlerde GFAP ile eş zamanlı olarak vimentin de salınabilir. GFAP'ın fazla ekspresyonu kronik reaktif gliozise neden olmaktadır. MSS hasarlarından sonra GFAP'ın yararlı ve nöroprotektif etkileri mevcut olup bunun yanı sıra reaktif gliozise yol açması nedeniyle MSS rejenerasyonunu engellediği düşünülmektedir (74). Beyin iskemisinin ciddi reaktif gliozisi tetiklediği bildirilmiştir (75). Alzheimer hastalığının da patofizyolojik özelliklerinden biri senil plaklar etrafında reaktif gliozis olmasıdır. Bu nedenle bazı nöropatolojik durumların GFAP regülasyonu, dolayısıyla da reaktif gliozisle ilişkili olduğu düşünülebilir.

3.1.6.3. Astrosit ve Tiroid Hormonunun Astrosit Olgunlaşması ve GFAP Üzerine Etkisi

Astrositler beyin haciminin yaklaşık % 20-50'sini oluşturur (76). Astrositlerin özelleşmiş formları; serebellar kortekste Bergamann hücresi, retinada Müler hücresi, nörohipofizde pitüsitler ve 3. ventrikülün duvarında tanisitlerdir (77). Astrosit, MSS'de çok önemli fonksiyonlara sahiptir. Bu hücreler hücre göçünü etkiler, matrix proteinlerinin, adhezyon moleküllerinin ve büyüme faktörünün önemli bir kaynağıdır. Nörotransmisyonunda önemli bir rol oynar; extraselüler ortamın iyonik kompozisyonunu düzenler, kan-beyin bariyerinin fonksiyonuna ve stabilitesine katkı sağlar. Sinir hücrelerine metabolik destek sağlar ve nörodejeneratif hastalıklar patofizyolojisinde de rolü vardır (78).

Beyin gelişimi süresince TH'nin etkisi, hücre kültüründe ve konjenital hipotiroidizm modellerinde oldukça yaygın bir şekilde araştırılmıştır (79). İnsanlarda, gebelik boyunca maternal hipotiroidizm ile çocuklarda kognitif ve motor fonksiyon

bozukluğu arasında bir ilişki vardır (39). TH'nin maternal eksikliği, nöronal anormallikler oluşmasına sebep olur; kretinizm olarak adlandırılan bu özel durumda, TH eksikliğinin derecesi ve süresine bağlı olarak birçok nörolojik kusur ve ileri derecede zeka geriliği oluşabilmektedir (1,2,80). Hipotiroidizmde beyin gelişimi boyunca nöronal ve glial hücrelerde eksik olgunlaşma, sinaptik yoğunluklarda azalma, myelin bozuklukları ve spesifik hücre miktarının sayısında değişikliklere neden olur (2,80).

TH astrosit olgunlaşmasına ve farklılaşmasında önemli bir role sahiptir. Bu etkileri; büyüme faktörü sentezi, sekresyonu ve hücre iskelet sistemi yapılanması üzerine olan etkileri ile yaptığı gösterilmiştir (81,82). T3 tedavisiyle astrositlerdeki bu etkiler doğrulanmıştır (83,84).

Erken hipotiroidizm serebellumun astroglial hücre sayısını etkiler. Son yıllarda yapılan birçok alışma TH'nin astroglial genlerin oluşumunu (6,85,86) ve radial glia olgunlaşmasını (87) etkilediğini göstermiştir. TH'lerin nöronal proliferasyon ve farklılaşmaya bazı etkileri primer olarak asrositler üzerinden gerçekleşmektedir. Astrosit kültürlerinde TH aktin polimerizasyonunu ve integrin-laminini etkilemektedir (88-90).

MSS'de olgunlaşmamış astrositler genellikle major intermediyer protein yani vimentin olarak ifade edilir. Astrositlerin olgunlaşması, vimentin ve GFAP ekspresyonu arasında bir geçiş olur. GFAP bir astrosit olgunlaşma belirleyicisi olarak tanınmaktadır (11). Astrositler olgunlařtıķa GFAP ekspresyonu artmaktadır.

3.1.6.4. S100B Protein

Kalsiyum bağlayıcı bir protein olan S100 proteini, 10-12 kDa'luk, düşük moleköl ağırlıklı asidik proteinler olarak tanımlanmıştır. S100A ve S100B diye bilinen

iki önemli bileşeni vardır. S100B MSS'de özellikle astrositler, ependim hücreleri ve oligodendrositler için özeldir. S100A ise iskelet kasları, myokard, böbrekler, akciğer, karaciğer ve pankreasta yaygın dağılım göstermektedir (12).

S100 proteinlerinin, hücre büyümesi, hücre-hücre iletişimi, hücre yapısı, enerji metabolizması, kontraksiyon ve intraselüler sinyal iletiminde rolleri vardır. Beyin gelişimi ve rejenerasyonunda önemli bir role sahiptirler. S100B, nöronal çıkıntılarının büyümesini uyarır, gelişim boyunca ve travmadan sonra nöronların hayatta kalmasını artırır (12). S100B hem gelişim hem de sinir rejenerasyonu boyunca nörotropik faktör olarak rol alır (13). Ekstraselüler S100B öğrenme ve hafızanın modülasyonu ile ilişkilidir (14).

S100B proteini; beynin toplam proteinlerinin yaklaşık % 0,2'sini oluşturmaktadır. Alzheimer hastalığı ve Down sendromu gibi hastalıklarla ilişkisi vardır (91). Beyin omurilik sıvısında (BOS) yüksek S100B protein konsantrasyonları nörodejeneratif bozukluklar, serebral travma, serebral maligniteler ve serebrovasküler bozukluklar gibi beyin hasarlarının oluştuğunu göstermektedir. Hayvan modellerinde travmatik veya fokal kanama gibi beyin hasarının ardından S100B'nin BOS'da hızlı bir şekilde arttığı gösterilmiştir (92). Hem inme hem de beyin hasarında BOS'da ve serumda miktarı artar. Bazı çalışmalarda klinik ve radyolojik bulgularla S100 düzeyleri arasında ilişki olduğu gösterilmiştir (93,94).

Yapılan çalışmalarda S100 proteininin birçok yeni formu gösterilmiştir. En son bulunanlar S100A14 ve S100Z'dir. S100 proteinleri kalsiyum bağımlı hücresel aktivitelere rol oynarlar. S100A2 ve S100A3 proteinleri gibi bazı S100 proteinlerin çinkoya olan affiniteleri kalsiyumdan daha fazladır. Tipik bir S100 proteini geni üç ekson'dan meydana gelir. S100 proteinlerinin genel olarak sinyal transdüksiyonu, hücre motilite düzenlemesini, hücre farklılaşması ve transkripsiyonu gibi birçok hücre

aktivitesinde rol alarak, kalsiyum bağımlı bir yolla hedef proteinlerinin aktivitesini ayarladıkları düşünülmektedir. S100B; beyin hasarında önce BOS'a, daha sonra ise kana kolayca geçmektedir. S100B seviyesinin BOS ve plazmada ölçümü serebral iskemisi olan hastaların tayini için iyi bir göstergedir. Ayrıca S100 proteininin, akut inflamatuvar lezyonlar, romatoid artrit, kanser, kardiyomyopati ve Alzheimer hastalığı gibi ciddi hastalıklarla yakın ilişkisi nedeniyle bu hastalıklarda yaşam süresini tahmin etmede marker olarak kullanılabilceği gösterilmiştir. Nörofibromlar ve Schwannoma S100 reaktivitelerinin güçlü olması nedeniyle önemlidirler. S100 proteinleri tüm melanosit lezyonlarının teşhisinde önemlidirler (91).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Deney Hayvanları

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan izin alınarak Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi ve Fizyoloji Anabilim Dalı ve Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Laboratuvarlarında yapıldı. Ratlar Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Çalışmada ağırlıkları 210-250 gram arasında olan, 120-150 günlük toplam 30 adet erişkin albino Wistar cinsi dişi rat kullanıldı. Deney hayvanları Elazığ Yem Fabrikasında özel olarak hazırlanan pelletler halindeki rat yemleriyle beslendi. Ratlara verilen yemin bileşiminde bulunan katkı maddeleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Ratların deneysel uygulama yapılacak safhaya kadar bakımlarına bu şekilde devam edildi.

Ratlar rastgele 6 gruba ayrıldı ve her grup beş ratdan oluşturuldu. Kontrol grubu ratlara herhangi bir ilaç ilavesi yapılmazken, ratlar gebe bırakıldı ve sadece normal olarak beslendi. Diğerleri gruplar halinde kafeslere konuldu. Ratlardan reproduktif siklus bozukluğunun olup olmadığının tespiti ve çiftleşme zamanının tayini için her gün aynı zaman diliminde vajinal smear yapıldı.

Tablo 2. Deneş hayvanlarına verilen yemin bileşkesi

Yem maddeleri	Yüzdesi (%)
Soya Küspesi	25
Mısır	21
Arpa	14
Buğday	10
Kepek	8
Balık Unu	8
E-Kemik unu	4
Melas	4
Tuz	4
*Vitamin Karması	1
**Mineral Karması	1

*Vitamin karması: Deneş hayvanlarına verilen yemlerin vitamin karmasında A, D3, E, K, B1, B2, B6, B12 vitaminleri ile nikotinamid, folik asit, D-biotin ve kolin klorit bulunmaktadır. **Mineral karması: Mangan, demir, çinko, bakır, iyot, kobalt, selenyum ve kalsiyumdan oluşmuştur.

4.2. Ratlarda Vajinal Smear Değerlendirilmesi

Smear için puara sabitlenmiş pipete 0,5 ml serum fizyolojik çekildi. Rata karnı üstte başı aşağı meyilli olacak şekilde pozisyon verilerek serum fizyolojik çekilmiş pipetin ucu vajinaya yerleştirilerek puar iki üç kez yavaşça sıkılarak vajinal sekresyon ve hücrelerin pipete alınması sağlandı. Pipetteki sıvıdan bir damla lam üzerine damlatılıp boyanmadan ışık mikroskopunda 10x ve 40x büyütmede incelendi. Mikroskopik incelemede ratların reproduktif sikluslarının hangi safhada oldukları tespit edildi. Diestrus (bazal ve parabazal hücreler), proestrus (çok sayıda intermedier, az sayıda parabazal ve süperfisial hücreler), estrus (karnifiye süperfisial hücre, keratinize hücre) safhaları her rat için ayrı ayrı kaydedildi. Üst üste iki kez normal reproduktif siklus özelliğı gösteren ratlar (ortalama 8-9 gün) üçüncü proestrus safhalarında erkek ratla aynı kafese konuldu. Günlük vajinal smear takibi devam edildi. Smear

incelemesinde spermatozoit görülen dişi ratlar döllenmiş kabul edilerek smear takibi sonlandırıldı (95).

Gebe kalan ratlar aşağıda gösterildiği şekilde gruplandırılarak çalışmaya başlandı.

4.3. Deneysel Uygulamalar

Deneysel çalışmalara başlamadan önce, çıkabilecek aksaklıkların asgariye indirilmesi amacıyla ön çalışma yapıldı. Deney hayvanlarının buldukları ortamın sıcaklığı 22-25 °C arasında sabit tutuldu ve hayvanlar 12 saat ışık altında ve 12 saat karanlıkta takip edildi.

Çalışma için hipotiroidi oluşturulacak ve kontrol grubu olarak 30 adet dişi rat seçildi. Anne adayları ratlar, 15 gün boyunca vajinal smear ile takip edildi. Ovulasyon zamanları belirlendi. Siklus bozukluğu göstermeyen ratların ovulasyon zamanları tespit edilerek çiftleştirildi. Vajinal smear'de sperm saptanan ratların gebe olacakları varsayılarak tedavileri başlandı.

Hipotiroidi oluşturmak için, annelerin gebeliğinin birinci gününden itibaren içme sularına 10 mg/kg/gün dozunda propylthiouracil (PTU; Sigma, P 3755) katıldı (96). Kontrol grubuna sadece rat yemi ve su verildi.

Gebeliğin birinci gününde ratlar iki gruba ayrıldı.

- 1- Kontrol grubu. Üç alt gruba ayrıldı:
 - a. Gebeliğin 10. gününde dekapite edilerek fetüsleri alınıp beyin dokuları ayrıldı ve derin dondurucuda saklandı.
 - b. Gebeliğin 15. gününde dekapite edilerek fetüsleri alınıp beyin dokuları ayrıldı ve derin dondurucuda saklandı.

c. Doğumdan hemen sonra ratlar dekapite edilerek beyin dokuları ayrıldı ve derin dondurucuda saklandı.

2- Hipotiroidi grubu: Hipotiroidi gebeliğinin ilk gününden itibaren içme sularına 10 mg/kg/gün dozunda PTU (Sigma, P 3755) katılarak oluşturuldu. Hipotiroidik gebe ratlar da 3 alt gruba ayrıldı:

a. Gebeliğin 10. gününde dekapite edilerek fetüslerin beyin dokuları alınıp derin dondurucuda saklandı.

b. Gebeliğin 15. gününde dekapite edilerek fetüslerin beyin dokuları alınıp derin dondurucuda saklandı.

c. Doğumdan hemen sonra anne ratlar dekapite edilerek beyin dokuları ayrıldı ve derin dondurucuda saklandı.

Her anne rat fetüslerinden 4 tanesi alınıp her grup için 20 tane beyin oluşturuldu. Beyin dokuları ikişer ikişer birleştirilip (n=10) homojenize edilerek çalışıldı. Ayrıca her anne ratın tiroid fonksiyon değerlerini ölçmek için serumları alındı ve derin dondurucuda saklandı.

4.3.1. Western Blot Yöntemiyle Nöronal ve Glial Markerlerin Analizi

4.3.1.a. Örneklerin Hazırlanması

Taze veya dondurulmuş dokular 1:10 (w/v) oranında homojenizasyon solüsyonunda [10mM Tris- HCl (pH=7.4), 0.1 mM NaCl, 0.1mM fenil metil sülfonil florid (PMSF), 5µM soybean (bir tripsin inhibitörü olarak)] cam bir homojenizatör (cam homogenizatör Potters, B. Braun) yardımıyla soğuk ortamda homojenize edildi. Homojenatlar soğutmalı santrifüjde +4 °C'de 60 dakika süreyle 60.000 x g'de santrifüj edildi. İlk süpernatantlar eppendorf tüplere alınarak SDS-PAGE ve Western blot analizleri için -70 °C'de saklandı. Pelletler eşit hacimde ilave edilen homojenizasyon

solüsyonunda [25 mM Tris-HCl (pH= 7.4), 0.1mM PMSF, % 2'lik TritonX –100 ve % 1'lik SDS] yeniden süspansiyon edildi. +4 °C'de 2 saat inkübasyona bırakıldı ve homojenatlar soğutmalı santrifüjde +4 °C'de 60 dakika süreyle 60.000 x g'de santrifüj edildi. Elde edilen 2. süpernatantlar eppendorf tüplere alınarak SDS-PAGE ve Western blot analizleri için –70 °C'de saklandı.

4.3.1.b. Örneklerin SDS-PAGE ile Analizi

Jel oluşturmak için uygun bir pozisyonda tutturulan iki cam arasına yerleştirilmek üzere 10 ml'lik separating jel (% 12) solüsyonu hazırlandı. Hazırlanan bu jel solüsyonu iyice karıştırıldı ve uygun bir otomatik pipet yardımıyla belirli kısımlardan sıkıştırılarak kaset haline getirilen iki cam levha arasına aktarıldı. İki cam levha arasına jel ilave edilirken üst kısımda tarak dişlerinin yüksekliği kadar (~1cm) bir boşluk bırakıldı. Hazırlanan kaset şeklindeki bu iki cam levha arasındaki jel yaklaşık olarak 30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek aralarındaki akrilamid monomerlerinin polimerleşmesi sağlandı. Daha sonra iki cam levhanın üst kısmına örnek sayısına uygun sayıda dişe sahip tarak yerleştirildi.

Tarak dişlerinin ara dolgu maddesi olarak ifade edilen stacking jel 10 ml kadar (% 4) hazırlandı. Hazırlanan bu jel solüsyonu iyice karıştırıldı ve uygun bir otomatik pipet yardımıyla, jel kasetine yerleştirilmiş olan tarak dişleri arasındaki boşluklar dolduruldu. Bu dolgu iki camın en üst seviyesine kadar tamamlandı. Stacking jel çok çabuk polimerize olduğundan işlemlerin kısa sürede yapılmasına dikkat edildi. 25-30 dakika oda sıcaklığında bekletilerek polimerleşme sağlandı. Tarak, polimerleşmesi tamamlanan jelden çıkarıldı. Bu işlem sırasında jel de meydana gelen ve örneklerin bırakılacağı yuvaların bozulmamasına dikkat edildi. Cam levhalardan oluşan kaset elektroforez tankına yerleştirildi. Protein çözücü solüsyonu; 0,125 M Tris (pH 6.8),

% 2'lik SDS, % 0.002 oranında bromofenol mavisi, % 20'lik gliserol, % 10'luk merkapt ethanol şeklinde hazırlandı. Yaklaşık olarak 150 µl olarak alınan her bir protein örneğine eşit oranda çözücü solüsyondan ilave edildi ve iyice karıştırıldı. Tarak dişinin genişliğine bağlı olarak, hazırladığımız karışımdan 10-20 µl kadar transfer edildi. Tank içerisine yeterli miktarda tank solüsyonu ilave edildi.

Güç kaynağından önce düşük bir voltajla (150 V) akım elektroforeze verildi. 5-10 dakika sonra voltaj değeri yükseltildi (180-200 V). Çıplak gözle izlenilebilen mavi boya bandı jelin alt kısmına gelince elektroforez cihazı kapatıldı.

Elektroforez işlemi tamamlandıktan sonra kaseti oluşturan iki cam birbirinden ayrılarak aradaki jel çıkarıldı. Protein bantlarının görünür hale gelebilmesi için bu jel % 1.25'lik Coomassie blue boya ortamına alındı. Burada oda sıcaklığında 2 saat bekletildi.

Boya solüsyonundan alınan jel boyayı giderici solüsyon (destain solüsyon) ortamına alındı. Arasına çalkalanarak protein bantlarının dışındaki boya maddesi uzaklaştırıldı. Boya giderici solüsyonda 5'er dakika bekletildi ve solüsyon döküldü. Jel tekrar boya giderici ortama alındı ve bu işlem 2-3 kez tekrarlandı. Böylece jel üzerinde bulunan protein bantlarının dışındaki boya giderilmiş oldu. Jel üzerinde görünür hale gelen protein bantlarının fotoğrafları bir kamera yardımıyla çekildi.

4.3.1.c. Örneklerin Western Blot Yöntemi ile Analizi

Jeldeki proteinlerin nitroselüloz membrana aktarımı (blotlama): SDS-PAGE tamamlandıktan sonra poliakrilamid jel blotlanmak üzere alındı. Nitroselüloz membrana transferin gerçekleştirilmesi için poliakrilamid jel ile nitroselüloz membran (Schleicher and Schuell, Inc., USA) yüzeyleri arasında boşluk kalmayacak biçimde karşı karşıya

getirildi ve bunlar filtre kağıtlarıyla sarılmış bir şekilde blotlama düzeneğine yerleştirilerek tampon solüsyonuyla doyuruldu. Soğutulmuş tampon solüsyonuyla doldurulmuş tanka yerleştirilen düzenek için 60 dakika boyunca 150 mA elektrik akımı uygulandı. Bu şekilde proteinlerin transferi sağlanmış oldu.

Spesifik olmayan reaksiyonları engellemek için nitroselüloz membranda protein bağlanmamış bölgelerin ilgisiz proteinlerle kaplanması (bloklama): Blotlama işlemi bittikten sonra petri kutularına alınan nitroselüloz membranlar tampon solüsyonla [NaH₂PO₄.2H₂O (0.025 M), Na₂HPO₄.12H₂O (0.075 M), NaCl (1.45 M)] çalkalayıcı üzerinde 3 kez 5 dakika olacak şekilde yıkandı. Spesifik olmayan bağlanmalar, 100 mM NaCl, 20 mM Na₂HPO₄, 20 mM NaH₂PO₄ (pH: 7.2) tamponunda % 1'lik taze sığır serum albumini ile 37 °C'de 90 dakikalık inkübasyonla bloklandı.

Özgül antikorlarla tepkime: Primer antikor olarak poliklonal rabbit anti-rat S100B ve poliklonal rabbit anti-rat GFAP antikorları kullanıldı. S100B ve GFAP primer antikorları % 0.05 oranında Tween-20 bulunan tamponda 1:2000 oranında hazırlanarak kullanıldı. Nitroselüloz membranlar S100B ve GFAP antikorları ile +4 °C'de gece boyunca inkübasyona bırakıldı. Daha sonraki safhada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solüsyonuyla yıkandı. Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra nitroselüloz membranlar % 0.05 oranında Tween-20 bulunan tamponda 1:1000 oranında hazırlanan, peroksidazla konjuge edilmiş goat-anti-rabbit immünoglobulinle 37 °C'de 90 dakika süreyle inkübasyona bırakıldı. Sonraki aşamada nitroselüloz membranlar 5 kez 5 dakika tampon solüsyonuyla yıkandı.

Bantların görüntülenmesi: Bantların görüntülenmesi için 1 M Tris (pH: 7.4) tamponunda % 0.03-0.05 oranında hazırlanmış diaminobenzidin (DAB) solüsyonu kullanıldı. DAB'la reaksiyon sonucu nitroselüloz membranlar üzerindeki bantlar kısa bir süre sonra görünür hale geldi. 5-10 dakikalık bir reaksiyon süresi sonunda DAB'la

renklendirilen bantlar net olarak görüldükten sonra nitroselüloz membranlar iyice yıkandı. Nitroselüloz membranlar iyice kurutulduktan sonra, bantların rölatif yoğunlukları analiz edilmek üzere alındı. Bantların rölatif yoğunlukları Lab. Works 4.0 (Ultra Violet Products Ltd. Combridy, CD4 1TG UK) software programı kullanılarak analiz edildi.

4.4. Tiroid Hormonlarının Ölçümü

Ependorf tüpleri içinde – 60 °C 'de bekletilen serumlar oda ısısında çözdürüldü. İmmulite 2000 marka ticari kitler kullanılarak immulite 2000 cihazında Chemilulense yöntemiyle her üç grubun tiroid fonksiyonlarını değerlendirmek için sT3, sT4, TT3 ve TT4 düzeyleri ölçüldü.

4.5. İstatistiksel Metod

Gruplar arasındaki farklılıklar Mann Whitney U testi ile analiz edildi. $P < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

Çalışmaya alınan kontrol ve hipotiroidi grubu ratlar 3 alt gruba ayrıldı. 10. ve 15. gün hipotiroidi ve kontrol gruplarında birer dişi ratda gebelik oluşmadı. Her bir grup için bir dişi rat daha seçildi ve bunlarda gebelik oluştu. Ratların gebelik dönemlerinde herhangi bir problem oluşmadı ve gebelikleri normal seyretti. Her ratdan 10. ve 15. gün için dört tane fetüs, yenidoğan grubu için dört tane yavru rat seçildi. Her grup için toplam 20 tane fetüs ve yavru ratda çalışma yapıldı (Tablo 3).

Tablo 3. Fetüs ve yavru sayısı

	Fetüs/ Yavru Sayısı
Kontrol 10. gün	20
Kontrol 15. gün	20
Kontrol Yenidoğan	20
Hipotiroidi 10. gün	20
Hipotiroidi 15. gün	20
Hipotiroidi Yenidoğan	20

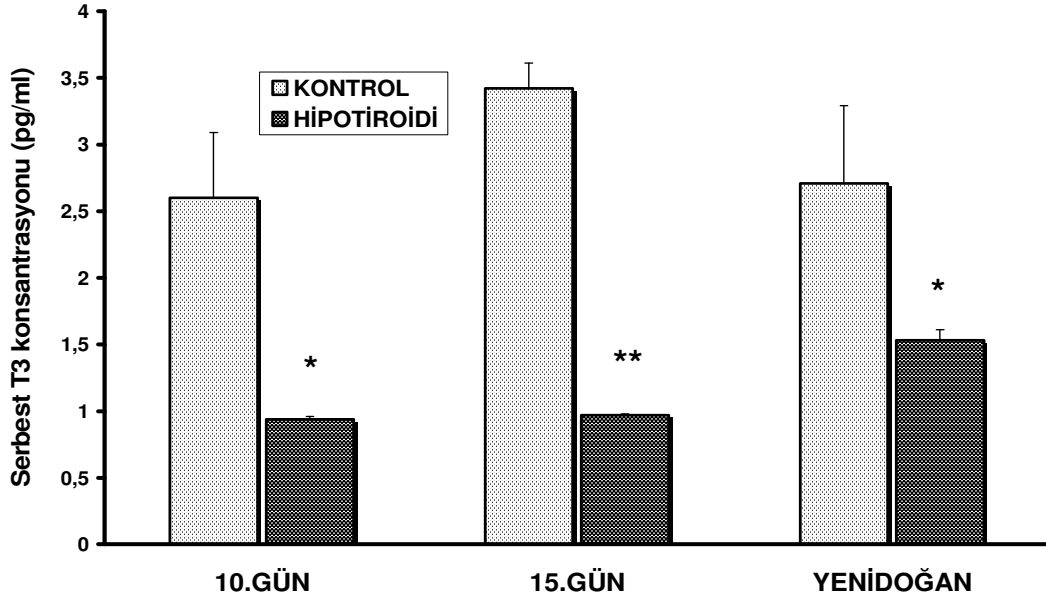
Hipotiroidi grubunun anne ratların tiroid fonksiyon testleri kontrol grubuna göre daha düşüktü ve istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 4, Şekil 2,3,4,5).

Tablo 4. Çalışma gruplarının tiroid hormon düzeyleri.

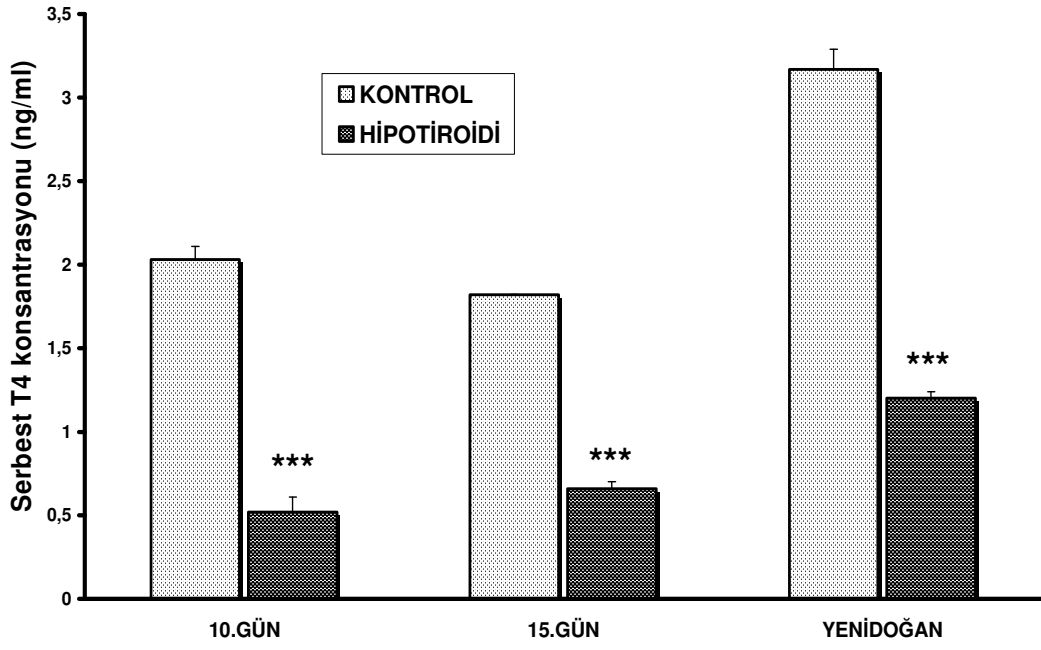
	sT3 (1,5-4,7 pg/ml)	sT4 (0,9-1,7 ng/ml)	TT3 (84-172 ng/dl)	TT4 (4,5-12,5 µg/dl)
Kontrol 10. Gün	2,6±0,49	2,03±0,08	107,33±0,88	3,34±0,07
Kontrol 15. Gün	3,42±0,19	1,82±0,003	79,4±0,85	3,03±0,02
Kontrol Yenidoğan	2,71±0,58	3,17±0,12	95,5±3,72	4,8±0,26
Hipotiroidi 10. Gün	0,94±0,02*	0,52±0,09***	52,93±5,74***	1,01±0,06***
Hipotiroidi 15. Gün	0,97±0,01**	0,66±0,04***	39,53±0,27***	0,95±0,03***
Hipotiroidi Yenidoğan	1,53±0,08*	1,2±0,04***	50,87±1,91***	1,6±0,13***

(* p<0.05, ** p<0,01, *** p<0,001 kontrol ile kıyaslandığında önemli. Mann Whitney

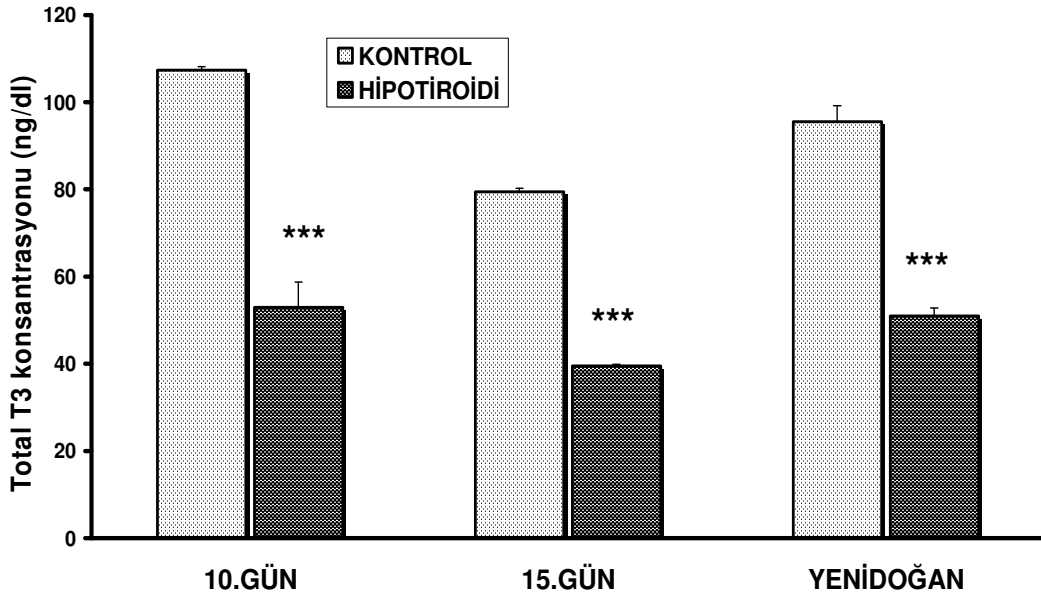
U Testi kullanıldı)



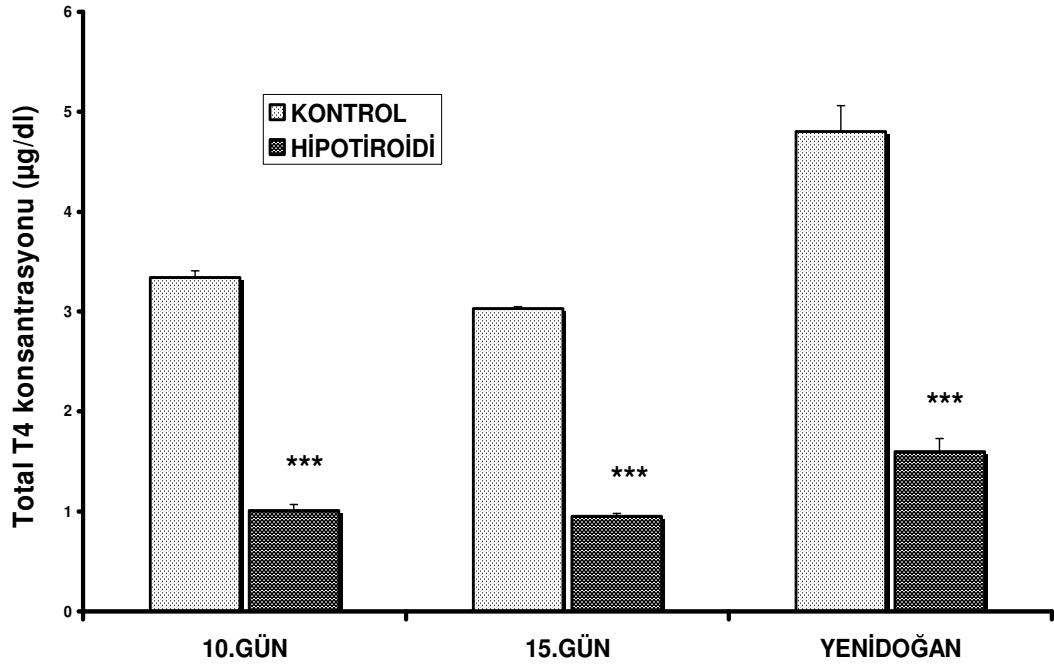
Şekil 2. sT3 düzeyleri (* p<0,05, ** p<0,01 kontrol ile kıyaslandığında önemli, Mann Whitney U Testi kullanıldı).



Şekil 3. sT4 düzeyleri (*** p<0,001, kontrol ile kıyaslandığında önemli, Mann Whitney U Testi kullanıldı).



Şekil 4. TT3 düzeyleri (*** p<0,001 kontrol ile kıyaslandığında önemli, Mann Whitney U Testi kullanıldı).



Şekil 5. TT4 düzeyleri (***) $p<0,001$ kontrol ile kıyaslandığında önemli, Mann Whitney U Testi kullanıldı).

Bizim çalışmamızda GFAP ekspresyonu 10., 15. gestasyonel gün ve yenidoğan arasında karşılaştırıldığında dönemler arasında fark bulunmuştur. Gebeliğin 10., 15. gün ve yenidoğan ratların beyinlerinde GFAP ekspresyonunun kontrol grubuna göre azaldığı gözlemlendi. Sonuçlar Tablo 5’de gösterilmiştir. Buna göre hipotiroidi grubunda kontrol grubuna göre 10. günde % 38, 15. günde % 42, yenidoğan döneminde % 78 oranında bir azalma bulduk (Tablo 6,7, Şekil 6.B). Bu durum hipotiroidinin fetüste beyin olgunlaşmasında gecikmeye neden olabileceğini göstermektedir. Ayrıca bu azalmanın 10. ve 15. günler arasında fazla bir farkın olmadığını ve yenidoğan döneminde daha fazla fark olmasının bu dönemde hipotiroidinin astrosit olgunlaşmasına etkisinin daha belirgin olduğunu ortaya çıkarmıştır (Tablo 5,6,7, Şekil 6.B).

Tablo 5. Tüm grupların GFAP miktarlarının rölatif değerleri

	10 .Gün	15. Gün	Yenidoğan
Kontrol	1,3 ±0,07	2,4 ± 0,18	3,2 ± 0,2
Hipotiroidi	0,8 ± 0,05	1,4 ± 0,1	0,7 ± 0,04

Tablo 6. Hipotiroidik grubun GFAP değerlerinin kontrol değerlerine göre

% oranları

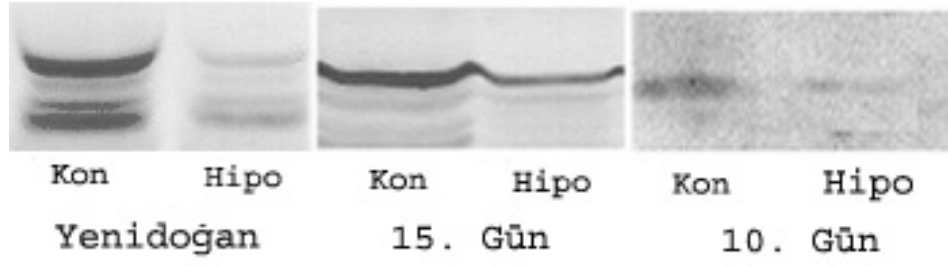
	Hipotiroidi / Kontrol×100
10. Gün	% 62
15. Gün	% 58
Yenidoğan	% 22

Tablo 7. Hipotiroidik grubun GFAP değerlerinin kontrol değerlerine göre

% olarak azalma oranları

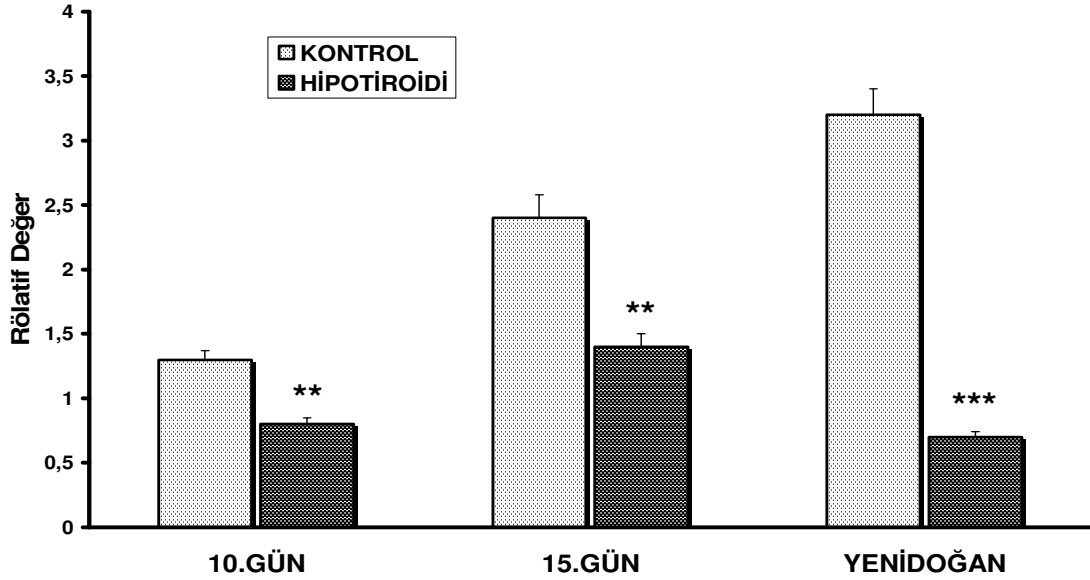
	Hipotiroidi / Kontrol×100
10. Gün	% 38
15. Gün	% 42
Yenidoğan	% 78

Fetüs ve yenidoğan beyninde GFAP, Western Blot yöntemiyle ölçüldü. Hipotiroidik gruplarda GFAP moleküllerinin kontrol grubundan daha az oranda olduğu ve gebelik süresiyle paralel olarak azalmanın daha da belirginleştiği tespit edildi (Şekil 6.A).



Şekil 6.A. GFAP moleküllerinin Western Blot yöntemi ile analizi

(Kon: Kontrol, Hipo: Hipotiroidi).



Şekil 6.B. Beyin dokusundaki dönemsel GFAP değerleri

(** $p < 0,01$ ve *** $p < 0,001$ kontrol ile kıyaslandığında önemli).

10 günlük fetüs beynindeki S100B protein ekspresyonu hem kontrol hem de hipotiroid grupta hiç görülmedi. S100B protein ekspresyonu 15. gestasyonel gün ve yenidoğan arasında karşılaştırıldığında dönemler arasında fark bulunmuştur. Hipotiroidi grubunda kontrol grubuna göre 15. günde % 29, yenidoğan döneminde % 36 oranında bir azalma bulduk (Tablo 8,9,10, Şekil 7.B). Bu durum hipotiroidizmin fetüste beyin olgunlaşmasında gecikmeye neden olabileceğini göstermektedir. GFAP'a benzer şekilde

bu proteinin azlığı astrosit ve dolayısıyla beyin olgunlaşmasının gecikmesine işaret edebilir.

Tablo 8. Tüm grupların S100B miktarlarının rölatif değerleri

	15. Gün	Yenidoğan
Kontrol	0,7 ± 0,04	1,4± 0,7
Hipotiroidi	0,5 ± 0,03	0,9 ± 0,5

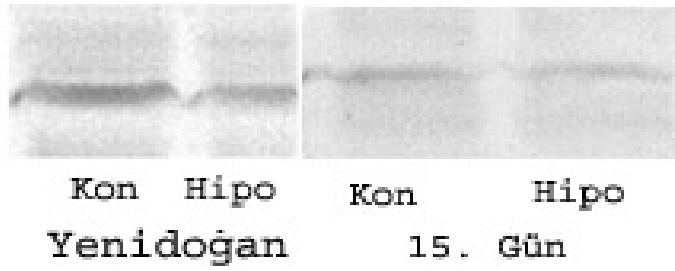
Tablo 9. Hipotiroidik grubun S100B değerlerinin kontrol değerlerine göre % oranları

	Hipotiroidi / Kontrol×100
15. Gün	% 71
Yenidoğan	% 64

Tablo 10. Hipotiroidik grubun S100B değerlerinin kontrol değerlerine göre % olarak azalma oranları

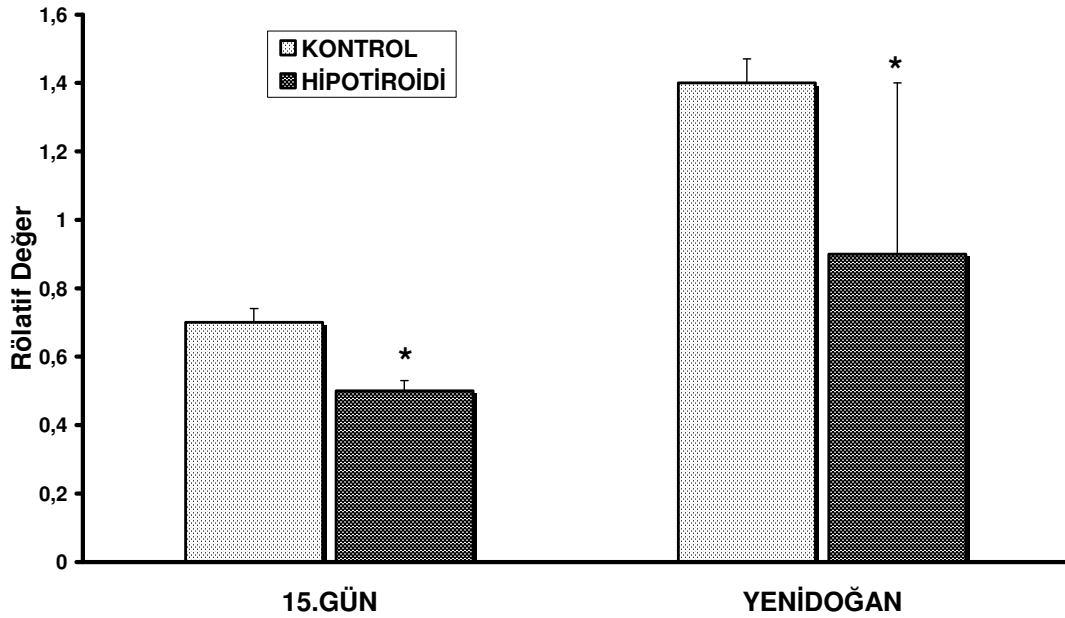
	Hipotiroidi/ Kontrol×100
15. Gün	% 29
Yenidoğan	% 36

Fetüs ve yenidoğan beyninde S100B molekülleri Western Blot yöntemiyle ölçüldü. Hipotiroidik gruplarda S100B moleküllerinin GFAP molekülleri gibi kontrol grubundan daha az oranda olduğu ve gebelik süresiyle paralel olarak azalmanın daha da belirginleştiği tespit edildi (Şekil 7.A).



Şekil 7.A. S100B moleküllerinin Western Blot yöntemi ile analizi

(Kon: Kontrol, Hipo: Hipotiroidi).



Şekil 7.B. Beyin dokusundaki dönemsel S100B değerleri (*p<0,05 kontrol ile kıyaslandığında önemli).

6. TARTIŞMA

Normal beyin gelişmesi için TH'nin önemi, birçok yayında açıkça belirtilmektedir (1-4). Hem insanlarda hem hayvanlarda MSS gelişiminin erken dönemlerinde TH'lerin eksikliği ciddi mental gerilik oluşturur. Fetal ve neonatal dönem boyunca TH eksikliği, nöronal olgunlaşma, nöronal çıkıntılarının gelişmesi, sinaps formasyonu, nöroglial hücre gelişmesi anormalliklerine neden olur ve sonrasında myelinizasyon bozulur. Konjenital hipotiroidizmin beyinle ilgili sonuçları kretinizm olarak tanımlanır. Kretinizm, ağır geri zekalılık, sağırılık-mutizm ve spastik dipleji olarak nitelendirilmektedir (1,97). Fetal hayatın erken dönemlerinde henüz TH sentezi başlamadığı için maternal TH fetal beyin gelişimini düzenler (98).

TH nöronal ve glial öncü hücrelerin, yaşamlarının idamesi, çoğalmaları ve farklılaşmalarının düzenlenmesinde önemli etkilere sahiptir (99). Hipotiroidi beyin gelişimi sürecinde nöronal ve glial hücrelerde eksik olgunlaşma, sinaps yoğunluğunda azalma, myelin defisitleri ve özelleşmiş hücre sayısında azalmaya sebep olur (2,80).

GFAP olgun astrositlerin en önemli intermediyer flaman proteinidir. İnsan fetal beyinde en erken 9. gebelik haftasında oluşur (100,101). Astrosit olgunlaşması sürecinde önemli noktalardan birisi de GFAP sentezinin başlamasıdır. Olgunlaşmamış astrositler vimentin salgılamak, olgunlaşmış astrositler GFAP salgılar. Bu yüzden GFAP astrosit olgunlaşma belirteci olarak kabul edilmektedir (11).

TH'lerin nöronal proliferasyon ve farklılaşmaya etkileri primer olarak astrositler üzerinden gerçekleşmektedir. Astrositlerin hücre göçü, matrix proteinleri, adhezyon molekülleri ve büyüme faktörleri üzerine olan etkileri, onların beyin gelişimi ve nöronal faaliyetlerin yerine getirilmesinde sahip olduğu önemli rolü açıklamaktadır (78). Büyüme faktörü sentez ve sekresyonuna etkisinin yanında hücre iskelet yapılıması üzerine olan etkisi aracılığıyla TH astrosit proliferasyonu, olgunlaşma ve farklılaşmasını düzenler (81,82).

Fetal hayatın ilk dönemlerindeki hipotiroidizm serebellar astroglial hücre sayısını etkiler. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, TH astroglial gen oluşumunu (6,85,86) ve radial glia olgunlaşmasını (87) etkilemektedir. Astrosit kültürlerinde TH aktin polimerizasyonu ve integrin-laminini etkilemektedir (88-90).

Sampson ve arkadaşları (99) maternal hipotiroidinin fetal beyin gelişimi üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Normal dişi ratlar ile parsiyel tiroidektomi yapılarak TH seviyesi % 25'e kadar azaltılan hipotiroidik dişi ratlar, erkek ratlar ile çiftleştirilmiştir. Gebeliğin 16., 19. ve 21. gününde fetüs beyinde GFAP düzeyine bakmışlardır. Her iki grupta da gebeliğin 16. gününde GFAP tespit edilemezken, 19. günde eşit düzeyde GFAP olduğunu tespit etmişlerdir. Maternal hipotiroidi oluşturulan gruptaki ratların gebeliğin 21. gününde GFAP seviyelerini normal gruptaki ratlara göre % 44 daha az olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca gebeliğin 19 ve 21. günleri arasında normal grupta GFAP seviyesinde 5 kat artış olurken maternal hipotiroidi oluşturulan grupta 3 kat artış olduğunu tespit etmişlerdir. Artış oranındaki bu düşüklüğü astrosit farklılaşmasının gecikmesi ve fetal TH sentezinin başlamadığı dönemde maternal TH eksikliği nedeniyle total beyin ağırlığındaki azalma ile açıklamışlardır (99).

Bizim çalışmamızın sonuçları, Sampson ve arkadaşlarının (99) yaptıkları çalışmanın sonuçlarına benzerdi. Gebeliğin 10., 15. ve yenidoğan günlerinde sırasıyla kontrole göre TH seviyesi yaklaşık olarak % 36, % 28 ve % 56'ya kadar düşürüldü. GFAP seviyesi bu dönemlerde hipotiroidi grubunda kontrol grubuna göre 10. günde % 38, 15. günde % 42, yenidoğan dönemde % 78 oranında azalma gözlemlendi. Görüldüğü üzere Sampson ve arkadaşları yaptıkları çalışmada 16. günde GFAP tespit edemezken biz 10. günde dahi fetüs beyinde GFAP tespit ettik. Bunda Sampson ve arkadaşlarının çiftleşme öncesi hipotiroidi oluşturması ve dolayısıyla hipotiroidik sürenin uzun olması ve TH'nin % 25'e kadar düşmüş olması etkili olabilir. Bizim çalışmamızda ise PTU

uygulaması hemen gebeliğin başlangıç döneminde verilmesiyle hipotiroidik sürenin kısa olması, dolayısıyla beynin daha kısa sürede hipotiroidik dönemde kalması etkili olmuş olabilir.

Martinez-Galan ve arkadaşları (87) ratlarda maternal hipotiroidizmin değişik modellerinde fetüs MSS gelişimini ve GFAP seviyelerini araştırmışlardır. Çalışmada düşük miktarda iyot içeren diyet (LID) ile beslenen ratlar üç gruba ayrılmıştır. Birinci grup (LID 1) yalnızca düşük dozda iyot içeren diyet ile beslenirken ikinci gruba (LID 2) düşük miktarda iyot içeren diyete troiddeki düşük miktardaki iyotun etkisini önlemek için içme sularına % 0.005'lik $KClO_4$ ilave edilmiştir. Üçüncü gruba (LID I) ise düşük miktarda iyot içeren diyet ile beraber KI verilmiştir. Metimazol (MMI) grubunda ise hipotiroidi sağlamak için metimazol kullanılmış, ayrıca kontrol grubu (C) da oluşturulmuştur. Gebeliğin 21. gününde histerektomi yapılarak TH seviyesine ve hipokampusta GFAP seviyelerine bakılmıştır. Hipotiroidinin sağlandığı LID 1, LID 2 ve MMI gruplarında GFAP seviyelerinin hipotiroidi oluşmayan kontrol ve LID 1 gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Bu azalmanın sebebi nöronal migrasyonun anormal zamanlama ve/veya anormal sonuçlanması olduğunu belirtmişlerdir ve iyot eksikliğine bağlı maternal hipotiroidinin de fetal hayatta MSS gelişimini olumsuz etkileyebileceğini görüşünü ortaya koymuşlardır.

Martinez-Galan ve arkadaşları (87) yaptıkları çalışmada yalnızca gebeliğin 21. gününde ve hipokampusta GFAP seviyelerine bakmışlardır. Bizim çalışmamıza benzer olarak 21. günde hipotiroidiye GFAP seviyesindeki azalma eşlik etmiştir. Astrosit olgunlaşması ve proliferasyonu fetal hayatın erken dönemlerinde başlar. Bizim çalışmamızda gebeliğin daha erken dönemlerinde (10. ve 15. gün) de hipotiroidiye GFAP düşüklüğünün eşlik ettiği gösterilmiştir. PTU ile oluşturulan hipotiroidi bu erken dönemlerden itibaren beyin gelişimini olumsuz etkileyerek GFAP ekspresyonunu

azaltır. Muhtemelen iyot eksikliği ve MMI ile oluşturulan maternal hipotiroidi de fetal hayatın erken dönemlerinde astrosit olgunlaşmasını ve proliferasyonunu bozmuştur. Ayrıca GFAP ekspresyonunu azaltmıştır.

Li ve arkadaşları (102) yaptıkları çalışmada doğum sonrası dönemde TH'lerin rat sinir sistemi gelişimine etkisini araştırmışlardır. Doğum sonrası dönemde de ratlarda astrosit olgunlaşması devam etmektedir. Birinci gruba (n=4) gebeliğin 16. gününden başlayarak doğum sonrası 21. güne kadar PTU vermişlerdir. Diğer gruba (n=6) yine gebeliğin 16. gününden itibaren doğuma kadar PTU verilmiş, doğum sonrasında ise bu gruptaki rat yavrularına ciltaltı T4 tedavisi başlanmış ve doğum sonrası 6.,10., 12., 15. ve 21. günlerde fetal beyinde GFAP düzeylerine bakmışlardır. T4 tedavisi almayan grupta serebellar GFAP düzeyleri doğum sonrası 6. ve 10. günler arasında azalma ve takiben 15. güne kadar artış tespit etmişlerdir. Diğer taraftan T4 tedavisi uygulanan grupta serebellumda GFAP normal ötiroid ratlara benzer şekilde ekspresyonu devam etmiş ve postnatal 6. ile 12. gün arasında % 357.5'lik artış, fakat daha sonra azalma tespit etmişlerdir. Aktif astrosit proliferasyon dönemi olan doğum sonrası 10. günde PTU uygulanan grupta T4 uygulanan gruba göre % 64 gibi önemli derecede azalma olduğunu göstermişlerdir.

Doğum sonrası astrosit proliferasyonu devam ettiği için 10. ve 15. günlerde GFAP seviyesi pik yapar. Daha sonra 21. güne kadar azalmaktadır (103,104). Li ve arkadaşları (102) yaptıkları çalışmada T4 tedavisi başlanan grupta ötiroidik ratlara benzer şekilde GFAP pikinin olduğu tespit etmişlerdir. Doğum sonrası PTU devam edilen grupta ise astrosit proliferasyonunun pik yaptığı günlerde GFAP seviyesinin önemli derecede az olduğunu izlemişler ve PTU'nun astrosit proliferasyonu ve olgunlaşmasını geciktirdiğini belirtmişlerdir. Li ve arkadaşları (102) yaptıkları bu çalışmada, GFAP seviyelerine bakıldığı günlerde ratlarda TH seviyesine bakılmamış

olup, hipotiroidi ile GFAP seviyeleri arasında nasıl bir ilişki olduğu konusunda bir yorum yapamamışlardır. Bizim çalışmamızda da Li ve arkadaşları yaptıkları çalışmaya benzer olarak PTU astrosit olgunlaşma belirteci olan GFAP üzerine olumsuz etkisi gözlenmiştir.

PTU'nun oluşturduğu maternal hipotiroidiye bağlı olarak fetal beyinde astrosit çoğalması, olgunlaşması ve farklılaşması bozulmaktadır. Maternal hipotiroidizmin MSS'inde oluşturduğu ağır klinik tablo astrositlerin MSS gelişimi sürecinde ve organizasyonunda sahip olduğu önemli rol ile açıklanabilir. Gerçektende yapılan bu çalışmada olgun astrositlerden eksprese edilen GFAP'ın miktarı PTU ile maternal hipotiroidi oluşturulan ratlarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede azdı.

Kalsiyum bağlayıcı bir protein olan S100 proteinlerinin moleküler seviyede çok çeşitli etkileri vardır. Bunlardan bazıları hücre büyümesi, hücre-hücre iletişimi, hücre yapısı, enerji metabolizması, kontraksiyon ve intraselüler sinyal iletimidir. Ayrıca beyin gelişimi ve rejenerasyonunda önemli görevleri vardır. S100B, nöronal çıkıntılarının büyümesini uyarır. Gelişim boyunca ve travmadan sonra nöronların hayatta kalmasını artırır (12). Nörotropik faktör olarak S100B, MSS gelişimi ve sinir rejenerasyonu sürecini etkiler (13). Öğrenme ve hafıza görevlerinin yerine getirilmesinde de rol alır (14).

Nörodejenerasyona neden olan pek çok hastalık BOS'taki S100 protein miktarının derecesiyle ilişkilendirilmiştir (91,92).

S100 proteinleri kalsiyum bağımlı hücresel aktivitelerde rol oynar. Sinyal transdüksiyonu, hücre motilite regülasyonu, hücre farklılaşması ve transkripsiyonu gibi birçok hücre aktivitesinde rol alarak, kalsiyum bağımlı bir yolla hedef proteinlerinin aktivitesini modüle ettikleri düşünülmektedir S100B; beyin hasarında önce BOS'a daha sonra kana kolayca geçmektedir (91).

Literatürde S100 proteinin maternal hipotiroidide fetal beyin gelişimindeki yerini araştıran bir çalışmaya rastlamadık. Rende ve arkadaşları (105) hipotiroidik yetişkin ratların beyinlerinde S100 proteinin seviyesini ve dağılımını araştırmışlardır. Hipotiroidik ratların çözünmüş beyinlerinde S100 protein yoğunluğunu kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu bulgular çalışmamıza ters sonuçlar bildiriyor gibi görünmektedir. Nörodejenerasyonun olduğu durumlarda S100 proteininin artmış olduğu zaten pek çok çalışmada gösterilmiştir (92,93). S100 proteini nörodejenerasyonda halihazırda olan hücrelerden BOS'a geçmektedir. Maternal hipotiroidi oluşturduğumuz bu modelde PTU verilen grupta S100 proteininin az olarak tespit edilmesi toplam hücre kitlesindeki azlığa ve bu hücrelerin olgunlaşma ve farklılaşmasındaki gecikme ile açıklanabilir. Astrosit olgunlaşma belirteci olan GFAP'ın önce tespit edilmesi bu düşüncüyü desteklemektedir.

Clos ve arkadaşları (106) TH durumunun rat serebellumunda astroglial hücrelerin gelişimi sürecinde S100 paternini araştırmışlardır. Ötiroidik grupta S100 paterninin astroglial hücre gelişimi ile uyumlu olduğunu gözlemişlerdir. TH eksikliği olan grupta astroglial gelişim sürecinde kontrol grubuna göre S100 protein konsantrasyonu ve miktarının azalmış olduğunu tespit etmişlerdir. Clos ve arkadaşları (106) yaptıkları bu çalışma ile bizim yaptığımız çalışmanın sonuçları benzerlik göstermektedir. Bizim çalışmamızda PTU verilerek maternal hipotiroidi oluşmasıyla fetal beyin astrosit çoğalması ve olgunlaşması bozulan grupta S100B protein ekspresyon miktarı kontrol grubuna göre daha az bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda maternal hipotiroidi oluşturulan ratların fetüs beyinlerinde S100B protein düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az tespit ettik. Fetal hayatın 10. gününde her iki grupta da S100B proteinin tespit edilmemesi sonrasında PTU verilerek astrosit çoğalması ve olgunlaşması bozulan grupta daha az

olarak tespit edilmeye devam edilmesi S100B proteininin özelleşmiş hücrelerden salındığını düşündürmektedir. Çünkü S100B proteinlerinin yukarıda da bahsedildiği üzere pek çok komplike fonksiyonlarda görev alması bu fonksiyonların hipotiroidizme bağlı olarak bozulduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak; PTU verilerek oluşturulan maternal hipotiroidi fetal beyin dokusunda GFAP ve S100B protein ekspresyonunu azaltmaktadır.

7. KAYNAKLAR

1. Porterfield S, Hendrich CE. The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development. Current perspectives. *Endocr Rev* 1993;14:94–106.
2. Dussault JH, Ruel J. Thyroid hormones and brain development. *Annu Rev Physiol* 1987;49:321–334.
3. Oppenheimer J, Schwartz H. Molecular basis of thyroid hormone-dependent brain development. *Endocr Rev* 1997;18:462–475.
4. Chan S, Kilby MD. Thyroid hormone and central nervous system development. *J Endocrinol* 2000;165:1-8.
5. DeLong G. The effect of iodine deficiency on neuromuscular development. *IDD Newsl* 1990;6:1–9.
6. Alvarez-Dolado M, Cuadrado A, Navarro-Yubero C, Sonderegger P, Furley AJ, Bernal J, Munoz A. Regulation of the L1 cell adhesion molecule by thyroid hormone in the developing. *Mol Cell Neurosci* 2000;16:499-514.
7. Legrand J. Effects of thyroid hormones on central nervous system. In *Neurobehavioural Teratology*. Yanai J (Editor). Elsevier, Amsterdam 1984:331–363.
8. Bernal J, Guadano A. Thyroid hormone and the development of the brain. *Curr Opin Endocrinol* 1998;5:296–302.
9. McCall MA, Gregg RG, Behringer RR, Brenner M, Delaney CL, Galbreath EJ, et al. Targeted deletion in astrocyte intermediate filament (*Gfap*) alters neuronal physiology. *Proc Natl Acad Sci* 1996;93:6361-6366.
10. Dahl D. The vimentin-GFA protein transition in rat neuroglia cytoskeleton occurs at the time of myelination. *J Neurosci Res* 1981;6:741-748.
11. Gomes FC, Paulin D, Moura Neto V. Glial fibrillary acidic protein (GFAP): modulation by growth factors and its implication in astrocyte differentiation. *Braz J Med Biol Res* 1999;32:619-631.
12. Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol* 2001;33:637–668.
13. Ahlemeyer B, Beier H, Semkova I, Schaper C, Krieglstein J. S100B protects cultured neurons against glutamate⁻ and stauporine-induced damage and is involved in the antiapoptotic action of the 5HT_{1A} –receptor agonist. *Brain Res* 2000;858:121-128.
14. Gromov LA, Syrovatskaya LP, Ovinova GV. Functional role of the neurospecific S100 protein in the processes of memory. *Neurosci Behav Physiol* 1992;22:25-29.
15. Costa A, Arisio R, Benedetto C, Bertino E, Fabris C, Giraudi G, et al. Thyroid hormones in tissues from human embryos and fetuses. *J Endocrinol Invest* 1991;14:559-568.

16. Thorpe-Beeston JG, Nicolaides KH, Felton CV, Butler J, McGregor AM. Maturation of the secretion of thyroid hormone and thyroid-stimulating hormone in the fetus. *N Eng J Med* 1991;324:532-536.
17. Thorpe-Beeston JG, Nicolaides KH, McGregor AM. Fetal thyroid function. *Thyroid* 1992;2:207-217.
18. Roti E, Gnudi A, Braverman LE. The placental transport, synthesis and metabolism of hormones and drugs which affect thyroid function. *Endocr Rev* 1983;4:131-149.
19. Erdoğan G. Koloğlu Endokrinoloji Temel ve Klinik. 2. baskı, Ankara, MN Medikal Nobel, 2005;155-284.
20. Scanlon MF. Thyrotropin-Releasing Hormone and Thyroid-Stimulating Hormone. DeGroot LJ, Jameson JL (editors). *Endocrinology*. 4. baskı. Philadelphia, W.B Saunders Company, 2001;1279-1286.
21. Ünal H. Hipotiroidizm. Ünal G (editör). *Tiroid Hastalıkları İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları İstanbul* 2000;207-220.
22. Alagül MF. Tiroid Hastalıkları. Sencer E (editör). *Endokrinoloji, metabolizma ve beslenme hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevi* 2001;93-157.
23. Ata ME. *Tiroid Hastalıkları ve Nöropsikiyatrik Açılımları. Melisa Matbaacılık İstanbul* 1999;31-223.
24. Güllü S. Hipotiroidizm. İliçin G, Biberoglu K, Süleymanlar G, Ünal S. *İç Hastalıkları. 2. Baskı Güneş Kitabevi Ankara* 2003; Cilt 2:2183-2192.
25. Utiger RD. The Thyroid; physiology, thyrotoxicosis, hypothyroidism, and the painful thyroid. Feling P, Baxter JD, Frohman LA, (editors). *Endocrinology and metabolism. Third edition* 1995;435-519.
26. Surks MI, Ocampo E. Subclinical thyroid disease. *Am J Med* 1996;100:217-223.
27. Woeber KA. Subclinical thyroid dysfunction. *Arch Intern Med* 1997;157:1065-1068.
28. Özata M. *Tiroid Hastalıkları Tanı ve Tedavi. GATA Basımevi* 2003;1-148.
29. Kabalak T, Yılmaz C, Tüzün M. *Endokrinoloji El Kitabı. 2. Baskı, İzmir. Meta Basım,* 2001;145-259.
30. Nuri Çakır. *Gebelik ve tiroid hastalıkları. Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism* 2003;7:53-57.
31. Fukushi M, Honma K, Fujita K. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N Engl J Med* 1999;341:2016.
32. Glinoeer D, de Nayer P, Bourdoux P, Lemone M, Robyn C, van Steiteghem A, et al. Regulation of maternal thyroid during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;71:276-287.

33. Klein RZ, Haddow JE, Faix JD, Brown RS, Hermos RJ, Pulkkinen A, Mitchell ML. Prevalence of thyroid deficiency in pregnant women. *Clin Endocrinol* 1991;35:41-46.
34. Utiger RD. Maternal hypothyroidism and fetal development. *N Engl J Med* 1999;341:601-602.
35. Montoro MN. Management of hypothyroidism during pregnancy. *Clin Obstet Gynecol* 1997;40:65-80.
36. Davis LE, Leveno KJ, Cunningham FG. Hypothyroidism complicating pregnancy. *Obstet Gynecol* 1988;72:108-112.
37. Smallridge RC, Ladenson PW. Hypothyroidism in pregnancy: consequences to neonatal health. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:2349-2353.
38. Wasserstrum N, Anania CA. Perinatal consequences of maternal hypothyroidism in early pregnancy and inadequate replacement. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1995;42:353-358.
39. Haddow JE, Palomaki GE, Allan WC, Williams JR, Knight GJ, Gagnon J et al. Maternal thyroid deficiency during pregnancy and subsequent neuropsychological development of the child. *N Engl J Med* 1999;341:549-555.
40. Klein RZ, Mitchell ML. Maternal hypothyroidism and child development. *Horm Res* 1999;52:55-59.
41. Pop VJ, Brouwers EP, Vader HL, Vulsma T, van Baar AL, de Vijlder JJ. Maternal hypothyroxinaemia during early pregnancy and subsequent child development: a 3 year follow-up study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003;59:282-288.
42. Lazzaro D, Price M, De Felice M, Di Lauro R. The transcription factor TTF-1 is expressed at the onset of thyroid and lung morphogenesis and in restricted regions of the foetal brain. *Development* 1991;113:1093-1104.
43. Plachov D, Chowdhury K, Walther C, Simon D, Guenet JL, Gruss P. Pax8, a murine paired box gene expressed in the developing excretory system and thyroid gland. *Development*. 1990;110:643-651.
44. Kimura S. Thyroid-specific enhancer-binding protein. Role in thyroid function and organogenesis. *Trends Endocrinol Metab* 1996;7:247-252.
45. Rodriguez M, Santisteban P, Acebron A, Hernandez LC, Del Valle M, Jolin T. Expression of thyroglobulin gene in maternal and fetal thyroid in rats. *Endocrinology* 1992;131:415-422.
46. Anderson GW, Schoonover CM, Jones SA. Control of thyroid hormone action in the developing rat brain. *Thyroid* 2003;13:1039-1056.
47. Hebert R, Langlois JM, Dussault JH. Permanent defects in rat peripheral auditory function following perinatal hypothyroidism: determination of a critical period. *Brain Res* 1985;355:161-170.

48. Lavado-Autric R, Auso E, Garcia-Velasco JV, Arufe Mdel C, Escobar del Rey F, Berbel P, Morreale de Escobar G. Early maternal hypothyroxinemia alters histogenesis and cerebral cortex cytoarchitecture of the progeny. *J Clin Invest* 2003;111:1073-1082.
49. Alm J, Hagenfeldt L, Larsson A, Lundberg K. Incidence of congenital hypothyroidism: retrospective study of neonatal laboratory screening versus clinical symptoms as indicators leading to diagnosis. *Br Med J* 1984;289:1171-1175.
50. Jacobsen BB, Brandt NJ. Congenital hypothyroidism in Denmark: incidence, types of thyroid disorders and age at onset of therapy in children: 1970-1975. *Arch Dis Child* 1981;56:134-136.
51. Klein R. History of congenital hypothyroidism. Burrow GN, Dussault JH (editors). In *Neonatal Thyroid Screening*. New York: Raven Press, 1980;51-59.
52. Klein RZ, Mitchell ML. Neonatal screening for hypothyroidism. In: Werner and Ingbar's *The Thyroid*, 7th ed. Philadelphia: Lipponcott-Raven 1996;984-988.
53. Delange F. Neonatal screening for congenital hypothyroidism: results and perspectives. *Horm Res* 1997;48:51-61.
54. Van Vliet G. Neonatal hypothyroidism: treatment and outcome. *Thyroid* 1999;9:79-84.
55. Bongers-Schokking JJ, Koot HM, Wiersma D, Verkerk PH, de Muinck Keizer-Schrama SM. Influence of timing and dose of thyroid hormone replacement on development in infants with congenital hypothyroidism. *J Pediatr* 2000;136:292-297.
56. Salerno M, Militerni R, Bravaccio C, Micillo M, Capalbo D, Di MS, Tenore A. Effect of different starting doses of levothyroxine on growth and intellectual outcome at four years of age in congenital hypothyroidism. *Thyroid* 2002;12:45-52.
57. Morreale de Escobar G, Obregon MJ, Escobar del Rey F. Clinical Perspective: Is neuropsychological development related to maternal hypothyroidism or to maternal hypothyroxinemia? *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3975-3987.
58. Calvo RM, Jauniaux E, Gulbis B, Asuncion M, Gervy C, Contempre B, Morreale de Escobar G. Fetal tissues are exposed to biologically relevant free thyroxine concentrations during early phases of development. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:1768-1777.
59. Halpern JP, Boyages SC, Maberly GF. The neurology of endemic cretinism. A study of two endemias. *Brain* 1991;114:825-841.
60. Boyages SC, Halpern JP: Endemic cretinism: toward a unifying hypothesis. *Thyroid* 1993;3:59-69.
61. Pharoah POD, Connolly KJ, Ekins RP, Harding AG. Maternal thyroid hormone levels in pregnancy and the subsequent cognitive and motor performance of the children. *Clin Endocrinol* 1984;21:265-270.

62. Glorieux J, Dussault J, Van Vliet G. Intellectual development at age 12 years of children with congenital hypothyroidism diagnosed by neonatal screening. *J Pediatr* 1992;121:581-584.
63. Rovet J, Walker W, Bliss B, Buchanan L, Ehrlich R. Long-term sequelae of hearing impairment in congenital hypothyroidism. *J Pediatr* 1996;128:776-783.
64. Bellman SC, Davies A, Fuggle PW, Grant DB, Smith I. Mild impairment of neurootological function in early treated congenital hypothyroidism. *Arch Dis Child* 1996;74:215-218.
65. De Zegher F, Pernasetti F, Vanhole C, Devlieger H, Van den Berghe G, Martial JA. The prenatal role of thyroid hormone evidenced by fetomaternal Pit-1 deficiency. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:3127-3130.
66. Matsuura N, Konishi J. Transient hypothyroidism in infants born to mothers with chronic thyroiditis--a nationwide study of twenty-three cases. The Transient Hypothyroidism Study Group. *Endocrinol Jpn* 1990;37:369-379.
67. Man EB, Brown JF, Serunian SA. Maternal hypothyroxinemia: psychoneurological deficits of progeny. *Ann Clin Lab Sci* 1991;21:227-239.
68. Pop VJ, Kuijpers JL, van Baar AL, Verkerk G, van Son MM, de Vijlder JJ, et al. Low maternal free thyroxine concentrations during early pregnancy are associated with impaired psychomotor development in infancy. *Clin Endocrinol* 1999;50:149-155.
69. Liu H, Momotani N, Noh JY, Ishikawa N, Takebe K, Ito K. Maternal hypothyroidism during early pregnancy and intellectual development of progeny. *Arch Intern Med* 1994;154:785-787.
70. Pop VJ, van Baar AL, Vulsma T. Should all pregnant women be screened for hypothyroidism? *Lancet* 1999;354:1224-1225.
71. Brown RS, LaFranchi SH. The American Thyroid Association Public Health Committee Statement. Haddow Study of Maternal Hypothyroidism during pregnancy and subsequent childhood neuropsychological development. *Thyroid* 1999;9:971.
72. Gomi H, Yokoyama T, Fujimoto K, Ikeda T, Katoh A, Itoh T, Itohara S. Mice devoid of the glial fibrillary acidic protein develop normally and are susceptible to scrapie prions. *Neuron* 1995;14:29-41.
73. Baydas G, Nedzvetskii VS, Tuzcu M, Yasar A, Kirichenko SV. Increase of glial fibrillary acidic protein and S100B in hippocampus and cortex of diabetic rats: effects of vitamin E. *Eur J Pharmacol* 2003;462:67-71.
74. Anderson MF, Blomstrand F, Blomstrand C, Eriksson PS, Nilsson M. Astrocytes and stroke: networking for survival? *Neurochem Res* 2003;28:293-305.
75. Olson EE, McKeon RJ. Characterization of cellular and neurological damage following unilateral hypoxia/ischemia. *J Neurol Sci* 2004;227:7-19.

76. Eng LF, Ghirnikar RS, Lee YL. Glial fibrillary acidic protein: GFAP-thirty-one years (1969–2000). *Neurochemical Research* 2000;25:1439–1451.
77. Garcia-Segura LM, Chowen JA, Naftolin F. Endocrine glia: roles of glial cells in the brain actions of steroid and thyroid hormones and in the regulation of hormone secretion. *Frontiers in Neuroendocrinology* 1996a;17:180–211.
78. Morte B, Manzano J, Scanlan TS, Vennström B, Bernal J. Aberrant Maturation of Astrocytes in Thyroid Hormone Receptor 1 Knockout Mice Reveals an Interplay between Thyroid Hormone Receptor Isoforms. *Endocrinology* 2004;145:3,1386-1391.
79. Bernal J, Nunez J. Thyroid hormones and brain development. *European Journal of Endocrinology* 1995;133:390–398.
80. Jones SA, Jolson DM, Cuta KK, Mariash CN, Anderson GW. Triiodothyronine is a survival factor for developing oligodendrocytes. *Mol Cell Endocrinol* 2003;199:49–60.
81. Gavaret JM, Toru-Delbauffe D, Baghdassarian-Chalaye D, Pomerance M, Pierre M. Thyroid hormone action–induction of morphological changes and protein secretion in astroglial cell cultures. *Developmental Brain Research* 1991;58:43–49.
82. Aizenman Y, de Vellis J. Synergistic action of thyroid hormone, insulin and hydrocortisone on astrocyte differentiation. *Brain Research* 1987;414:301–308.
83. Lima FR, Trentin AG, Rosenthal D, Chagas C, Neto MV. Thyroid hormone induces protein secretion and morphological changes in astroglial cells with an increase in expression of glial fibrillary acidic protein. *Journal of Endocrinology* 1997;154:167–175. [Abstract]
84. Trentin AG, Gomes FC, Lima FR, Neto MV. Thyroid hormone acting on astrocytes in culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology–Animal* 1998;34:280–282.
85. Alvarez-Dolado M, Gonzalez-Sancho JM, Bernal J, Muñoz A. Developmental expression of tenascin-C is altered by hypothyroidism in the rat brain. *Neuroscience* 1998;84:309–322.
86. Farwell AP, Dubord-Tomasetti SA. Thyroid hormone regulates the expression of laminin in the developing rat cerebellum. *Endocrinology* 1999;140:4221–4227. [Abstract]
87. Martinez-Galan JR, Pedraza P, Santacana M, Escobar del Rey F, Morreale de Escobar G, Ruiz-Marcos A. Early effects of iodine deficiency on radial glial cells of the hippocampus of the rat fetus. *Journal of Clinical Investigation* 1997;99:2701–2709.
88. Farwell AP, Lynch RM, Okuliez WC, Comi AM, Leonard JL. The actin cytoskeleton mediates the hormonally regulated translocation of type II iodothyronine 5'-deiodinase in astrocytes. *J Biol Chem* 1990;265:18546–18553. [Abstract]

89. Siegrist-Kaiser CA, Juge-Aubry C, Tranter MP, Ekenbarger DM, Leonard JL. Thyroxine-dependent modulation of actin polymerization in cultured astrocytes. A novel, extranuclear action of thyroid hormone. *J Biol Chem* 1990;265:5296–5302. [Abstract]
90. Farwell AP, Tranter MP, Leonard JL. Thyroxine-dependent regulation of integrin-laminin interactions in astrocytes. *Endocrinology* 1995;136:3909–3915. [Abstract]
91. Heinzmann WC, Fritz G, Schafer WB. S100 proteins: Structure, Functions and Pathology. *Frontiers in Bioscience* 2002;7:1356-1368.
92. Hardemark HG, Ericson N, Kotwica Z, Rundstrom, Mendel-Hartvig I, Olsson Y, et al. S100 protein and neuron-specific enolase in CSF after experimental traumatic or focal ischemic brain damage. *J Neurosurg* 1989;71:727-731.
93. Wiesmann M, Missler U, Hagenstrom H, Gottmann D. S-100 protein plasma levels after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir* 1997;139:1155–1160.
94. Woertgen C, Rothoerl RD, Holzschuh M, Metz C, Brawanski A. Comparison of serial S-100 and neuron-specific enolase serum measurements after severe head injury. *Acta Neurochir* 1997;139:1161-1164.
95. Linnemann D, Skarsfelt T. Regional changes in expression of NCAM, GFAP, and S100 in aging rat brain *Neurobiology of Aging* 1994;5:651-655.
96. Emerson CH. Thyroid disease during and after pregnancy. Braverman LE, Utiger R.D (editors). In *The Thyroid*. 7th edn Lippincott Raven, Philadelphia 1996;1021–1031.
97. Konig S, Neto MV. Thyroid hormone actions on neural cells. *Cellular and Molecular Neurobiology* 2002;22:517–544.
98. Evans IM, Pickard MR, Sinha AK, Leonard AJ, Sampson DC, Ekins RP. Influence of maternal hyperthyroidism in the rat on the expression of neuronal and astrocytic cytoskeletal proteins in fetal brain. *J Endocrinol* 2002;175:597-604.
99. Sampson D, Pickard MR, Sinha AK, Evans IM, Leonard AJ, Ekins RP. Maternal thyroid status regulates the expression of neuronal and astrocytic cytoskeletal proteins in the fetal brain. *J Endocrinol* 2000;167:439-445.
100. Voronina AS, Preobrazhensky AA. Developmental expression of glial fibrillary acidic protein gene in human embryos. *Neuroscience Letters* 1994;174:198–200.
101. Arnold SE, Trojanowski JQ. Human fetal hippocampal development. The neuronal cytoskeleton. *Journal of Comparative Neurology* 1996;367:293–307.
102. Li GH, Post J, Koibuchi N, Elizabeth M, Sulkowska S. Impact of thyroid hormone deficiency on the developing CNS: cerebellar glial and neuronal protein expression in rat neonates exposed to antithyroid drug propylthiouracil. *The Cerebellum* 2003;2:100-106.

103. Linneman D, Edvardsen K, Bock E. Developmental study of the cell adhesion molecule L1. *Dev Neurosci* 1988;10:34-42.
104. Rathjen FG, Schachner M. Immunocytochemical and biochemical characterization of a new neuronal cell surface component (L1 antigen) which is involved in cell adhesion. *EMBO* 1984;3:1-10.
105. Rende M, Zucco M, Cocchia D, Michetti F. S-100 protein in the brain of hypothyroid adult rats: an immunochemical and immunocytochemical study. *Brain Res* 1981;254:590-595. [Abstract]
106. Clos J, Legrand C, Legrand J, Ghandour MS, Labourdette G, Vincendon G, Gombos G. Effects of thyroid state and undernutrition on S100 protein and astroglia development in rat cerebellum. *Dev Neurosci* 1982;5:285-292. [Abstract]

8. ÖZGEÇMİŞ

1974 yılında Kayseri'nin Elmalı köyünde doğdum. İlkokulu Elmalı köyünde, ortaokul ve lise tahsilimi Kayseri'de tamamladıktan sonra, 1999 yılında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldum. Yozgat'ın Şefaatli ilçesi Sarıkent sağlık ocağında pratisyen hekim olarak görev yaptım. 2002 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda ihtisasa başladım ve halen bu göreve devam etmekteyim. Evli ve iki çocuk babasıyım. Yabancı dilim İngilizce'dir.