



T.C.
BEZMÎÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

Ötiroid ve Subklinik Hipotiroidili Hashimoto Hastalığında Oksidatif Stresin Değerlendirilmesi

**İÇ HASTALIKLARI
UZMANLIK TEZİ**

Dr. Satı Sena YILDIZ

TEZ DANIŞMANI

Yard. Doç. Dr. Mehmet Ali ÇIKRIKÇIOĞLU

**İSTANBUL
(2011)**

TEŞEKKÜR

Bezm-i Alem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları kliniğindeki uzmanlık eğitimim süresince, tecrübe ve deneyimlerinden çok sey kazandığım, başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Reha Erkoç olmak üzere diğer tüm hocalarıma,

Hastanemize ve eğitimimize sağladığı olanaklar nedeniyle rektörümüz Sayın Prof Dr. Adnan Yüksel ve başhekimimiz Sayın Doç Dr.Ahmet Danalıoğlu'na,

Uzmanlık eğitimim süresince sabrını ve bilgilerini esirgemeyen ve tez çalışmamda çok büyük emeği olan değerli hocam **Yrd. Doç. Dr. Mehmet Ali Çıkrıkçoğlu'na**,

Kardiyoloji rotasyonum sırasında bilgilerinden çok faydalandığım Kardiyoloji A.B.D.Başkanı ve Tıp Fakültesi Dekanımız Sayın Prof. Dr. Ömer Göktekin'e, çok değerli kardiyoloji uzmanlarına ve asistanlarına,

Uzmanlık eğitimine birlikte başladığımız, pek çok güzelliği ve sıkıntıyı beraber paylaştığımız sevgili arkadaşlarım Dr. Erdal Gündoğan, Dr. Şengül Aydın, Dr. Pınar Soysal ve bugüne dek beraber çalışma fırsatım olan tüm uzmanlarıma ve tüm asistan arkadaşlarıma,

Eğitimim boyunca destekleri ve sevgileriyle her zaman yanımda olduklarını hissettiğim anneme, babama, kayınvalidem, kayınpederim,sevgili Canan ablam ve canım kardeşlerime,

Hayatımızı beraber paylaştığımız andan itibaren gösterdiği sevgi, hoşgörü ve desteği anlatacak kelimeler bulamadığım sevgili eşim Hakan Yıldız'a,

Uzmanlık eğitimimin 3.yılında hayatıma giren, onu bensiz bıraktığım geceler için de affetmesini dilediğim, en değerli hazinem, canım biricik oğlum Ahmet Halit'e en yürekten duygularımla...

TEŞEKKÜR EDERİM

Dr. Satı Sena Yıldız

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
KISALTMALAR.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLolar DİZİNİ.....	VIII
ÖZET.....	1
SUMMARY.....	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Hashimoto Tiroiditi	5
2.1.1. Tanım ve Sınıflama	5
2.1.2. Prevelans.....	6
2.1.3. Histopatoloji	7
2.1.4. Patogenez.....	7
2.1.5. Klinik Tablo.....	8
2.1.6. Laboratuvar.....	10
2.1.7. Tedavi	11
2.2. Oksitadif Stres.....	13
2.3. Serbest Radikaller	15
2.3.1. Tanım.....	15
2.3.2. Serbest Radikaller Nasıl Olur.....	16
2.3.3. Reaktif oksijen türleri	18
2.3.3.1. Süperoksit Radikali	18

2.3.3.2. Hidrojen Peroksit.....	19
2.3.3.3. Hidroksil Radikali	19
2.3.3.4. Singlet Oksijen	21
2.3.4. Nitrik Oksit	21
2.3.5. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri.....	21
2.3.5.1. Membranların lipid peroksidasyonu.....	22
2.3.5.2. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu.....	24
2.3.5.3. DNA Lezyonları	24
2.3.5.4. Karbonhidratlara Etkileri.....	24
2.3.6. İnsan Vucudunda Serbest Radikallerinin Hedef Organları	25
2.4. Antioksidan Sistem	25
2.4.1. Antioksidan Sistemler.....	26
2.4.3.İntraselüler Antioksidan Komponentler	27
2.4.3.1.Süperoksit Dismutaz.....	27
2.4.3.2.Katalaz	27
2.4.3.3.Glutasyon Peroksidaz.....	27
2.4.3.4.Glutasyon Redüktaz	28
2.4.3.5.Redükte Glutasyon.....	28
2.4.4.Membran Antioksidanları.....	28
2.4.5.Ekstraselüler Antioksidanlar	29
2.5. Total Oksidatif Status	30
2.6. Total Antioksidan Seviye	31
2.7. Oksidatif Stres İndeksi.....	32
2.8. Tiroid Fonksiyonları ve Oksidatif Stres	32
2.9. Paraoksonaz/Arilesteraz	34
2.9.1. PON1 Enziminin Yapısı ve Aktivitesi.....	34
2.9.2. PON1 Enziminin Fonksiyonu.....	35
2.9.3. PON-1 Genlerinin Polimorfizmleri	36

2.10.Lipit Hidroperoksit.....	36
3. GEREÇ VE YÖNTEM	37
3.1. Hasta Seçimi Ve Değerlendirilmesi.....	37
3.2. Kan Örneklerinin Alınması	38
3.2.1. Tiroid hormonlarının ölçümü	38
3.2.2. Total Antioksidan Status	38
3.2.3. Total Oksidan Seviye.....	39
3.2.4. Oksidatif stres indeksi	39
3.2.5. Paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinin ölçümü	39
3.2.6. LOOHs ölçümü.....	40
3.2.7. PON1 fenotiplemesi	40
3.3. İstatistiksel İncelemeler.....	40
4. BULGULAR	41
4.1. Demografik Veriler.....	41
4.2. Ötiroid ve Subklinik Hashimoto lu Hastaların Birbirileri ile ve Kontrollerle Tiroid Hormonları,Biyokimya ve OS Parametreleri Açısından Karşılaştırılması..	42
4.2.1. Tiroid hormonları açısından grupların karşılaştırılması:	43
4.2.2. Biokimya ve rutin kan analizleri yönünden grupların karşılaştırılması:	44
4.2.3.Oksidatif stres parametreleri açısından grupların karşılaştırılması:	45
4.2.2.1. TOS Sonuçları	45
4.2.4.PON1 fenotipleme	48
5. TARTIŞMA	49
SONUÇ ve ÖNERİLER	56
KAYNAKLAR.....	57

KISALTMALAR

TSH	: Tiroid Uyarıcı Hormon
T3	: Triiyoditironin
T4	: L-Tiroksin
ST3	: Serbest T3
ST4	: Serbest T4
TPO	: Tiroid Peroksidaz
TG	: Tiroglobulin
Anti TPOAb	: Anti tiroid peroksidaz antikoru
Anti-TG	: Anti-Tiroglobulin
TSH-R Ab	: TSH Reseptör Antikoru
RAIU	: Radyoaktif Iyot Uptake
Anti TG Ab	: Anti tiroglobulin Antikoru
EH	: Ötiroid Hipotiroidi
SHH	: Subklinik Hipotiroidi
OS	: Oksidatif stres
TOS	: Total oksidan status
TAS	: Total antioksidan seviye
OSİ	: Oksidatif stres indeksi
PON 1	: Paraoksonaz-1
ARE	: Arilestereaz
O2⁻	: Superoksit Radikali
OH⁻	: Hidroksil Radikali
H2O2	: Hidrojen Peroksit
LOOH	: Lipid Hidroperoksit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RNS	: Reaktif Nitrojen Türevleri

H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
NO₂	: Azot Dioksit
SOD	: Süperoksit dismutaz
O₂	: Singlet Oksijen
NO₂	: Nitrojen Dioksit
N₂O₃	: Dinitrojen Trioksit
NO-	: Nitroksil İyonu
PUFA	: Poliansature Yag Asitleri
L	: Lipid Radikali
NO	: Nitrik Oksit
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Hidrojen Fosfat
Gpx	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	: Redükte Glutasyon
CAT	: Katalaz
GSSG	: Okside Glutasyon
GRH	: Glutasyon Redüktaz
GST	: Glutasyon S-Transferaz
MDA	: Malondialdehit
TBARS	: Tiyobarbitürik asit reaktif metabolitleri
Hb	: Hemoglobin
Hct	: Hematokrit
MPV	: Ortalama Platelet Volümü
DNA	: Deoksiribonükleik asit
SLE	: Sistemik Lupus Eritematozus
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
RA	: Romatoid Artrit
DM	: Diabetes Mellitus
VKİ	: Vücut Kitle İndeksi

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1: Hashimoto tiroiditi.....	7
Şekil 2: Oksidatif stres oluşumu	13
Şekil 3: Oksidatif stres	14
Şekil 4: İleri sürülen mekanizma ile sonuçlanan hipertiroidizmin neden olduğu miyopati.....	33
Şekil 5: Grupların ortalama TSH düzeylerinin grafiksel gösterimi	43
Şekil 6: Grupların ortalama TG düzeylerinin grafiksel gösterimi.....	44
Şekil 8: Grupların ortalama TAS düzeylerinin grafiksel gösterimi	46
Şekil 9: Grupların ortalama OSI düzeylerinin grafiksel gösterimi	46
Şekil 10: Grupların ortalama ARE aktivite düzeylerinin grafiksel gösterimi.....	47
Şekil 11: Grupların ortalama PON aktivite düzeylerinin grafiksel gösterimi.....	47

TABLolar DİZİNİ**Sayfa No**

Tablo 1: Hashimoto Tiroiditi'nin Sınıflandırılması.....	6
Tablo2: Hipotiroidinin Belirti ve Bulguları.....	9
Tablo 3: Tiroid otoantikörlerin prevalansı.....	10
Tablo 4: Radikal ve radikal olmayan reaktif oksijen türleri	13
Tablo 5: Oksidatif stres ile ilişkili bazı hastalıklar	15
Tablo 6: Reaktif Oksijen radikallerin kaynakları	16
Tablo 7: Oksijenin indirgenmesi	18
Tablo 8: Artmış reaktif oksijen türlerinin vücuttaki zararlı etkileri	22
Tablo 9: Membran antioksidanları ve etkileri	29
Tablo 10: Bazı ekstraselüler antioksidanlar.....	30
Tablo 11: Grupların demografik özellikleri.....	41
Tablo 12: Grupların seçilmiş rutin kan değerleri ve oksidatif stres parametreleri	42
Tablo 13: Grupların PON 1 fenotiplendirmesi	48

ÖZET

ÖTİROİD VE SUBKLİNİK HİPOTİROİDİLİ HASHİMOTO HASTALIĞINDA OKSİDATİF STRESİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Amaç: Ötiroid Hashimoto (EH) ve subklinik hipotiroid Hashimoto(SHH) hastalığında oksidatif stres hakkında yeterli bilgi yoktur. EH ve SHH hastalarında oksidatif stresi şimdiye kadar bu tür çalışmalarda kullanılmamış oksidatif stres testleri ile araştırdık. Ayrıca Hashimoto hastalığı ile PON1 fenotipi arasında ilişki olup olmadığını değerlendirdik.

Materyal ve Metot: 35 EH (34 kadın,1erkek), 33 SHH hastası (29 kadın,4 erkek) ve 38 kontrol (34 kadın,4 erkek) çalışmaya alındı. Kapsamlı biyokimya, rutin kan analizleri ve total antioksidan status (TAS), total oksidan status (TOS), oksidatif stres indeksi (OSİ), arilesteraz (ARE), paraoksonaz (PON) , lipid hidroperoksit (LOOHs) ölçümleri yapıldı. Ayrıca PON1 fenotiplemesi yapıldı.

Bulgular: TOS ve OSİ, EH ve SHH hastalarında kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksekti (TOS için $p=0.005$, $p=0.004$; OSİ için $p<0.001$, $p<0.001$). ARE, EH hastalarında anlamlılığa çok yakın olarak, SHH hastalarında anlamlı olarak kontrol grubundan yüksekti ($p=0.059$, $p=0.024$). PON, TAS ve LOOHs kontrol grubuna benzerdi. EH ve SHH hastaları tüm oksidatif stres parametreleri bakımından birbirine benzerdi. Ayrıca Hashimoto hastalarındaki PON1 fenotip dağılımını kontrol grubuna benzer bulduk ($p:0.303$).

Sonuç: Hashimoto hastalarında TOS, OSİ ve ARE kontrol grubuna göre artmış bulundu; TAS, Paraoksonaz, ve LOOHs kontrollere benzer bulundu. Hashimoto hastalarında artmış OSİ, artmış TOS'a bağlıdır. Çünkü TAS kontrollere benzer bulunmuştur. EH ve SHH hastalarında PON1 enziminin molekül konsantrasyonunu gösteren ARE aktivitesi artmış, fakat paraoksonaz aktivitesi, artmış TOS sebebiyle LOOHs'u azaltmaya çalışırken tüketildiği için kontrol grubuna benzer bulunmuştur. Sonuçta lipid peroksidasyonu kontrollere benzer düzeyde bulunmuştur. EH ve SHH hastalarında oksidatif stres ve biyokimya parametreleri birbirine benzerdir. Yaptığımız PON 1 fenotiplendirmesinde, Hashimoto hastalığına predispozisyon oluşturan PON1 fenotipi tesbit etmedik.

SUMMARY

EVALUATION OF OXIDATIVE STRESS IN PATIENTS WITH EUTHYROIDISM AND WITH SUBCLINICAL HYPOTHYROIDISM

Objective: There is not sufficient data about oxidative stress in euthyroid Hashimoto (EH) and subclinical hypothyroid Hashimoto (SHH) disease . We studied oxidative stress with more oxidative stress tests in EH and SHH patients and assessed whether there is an association between Hashimoto disease and PON1 phenotype.

Materials and Method: 35 EH and SHH patients and 38 control was included to the study. Comprehensive biochemistry, routine blood analysis, total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS), oxidative stress index (OSI), arilesterase (ARE) paraxonase (PON), lipid hidroperoxide (LOOHs) were measured, and PON1 phenotype was determinated.

Result: The levels of TOS and OSI increased significantly in patients with EH and SHH when compared with the control group (for TOS $p = 0.005$, $p = 0.004$; for OSI $p = <0.001$, $p = <0.001$, respectively). The level of ARE activity increased closely significant in patients with EH, and increase significantly in patients SSH patients when compared with the control group ($p = 0.059$, $p = 0.024$ respectively). The levels of PON, TAS, LOOHs are similar in the control group. Hashimoto's patients also have found that PON1 phenotype distribution similar to the control group ($p: 0,303$).

Conclusion: TOS, OSI and ARE were found to be increased in EH patients; however TAS, paraoxonase and LOOHs were similar to the control group. Increased OSI is related to increase in TOS in Hashimoto patients, because TAS was found to be similar to the controls. In EH and SHH patients, ARE activity, which is an indicator of molecular concentration of PON 1 enzyme, was found to be increased. On the other hand paraoxonase activity was similar to the control group, due to its consumption during the process of reducing the elevated LOOHs as a result of the increase in TOS. Consequently lipid peroxidation was found to be at a similar level with the controls. Oxidative stress parameters and biochemical values are similar in EH and SHH patients. In the PON1 phenotyping we performed, no PON1 phenotype creating predisposition to Hashimoto disease was detected.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hashimoto tiroiditi, iyodun yeterli olduğu bölgelerde primer hipotiroidizmin ve guatrın önde gelen sebeplerinden biridir (1). En sık görülen otoimmün hastalıklardandır. 30-50 yaş arasında ve kadınlarda erkeklere göre 15-20 kat daha sık görülür (2).Tiroid bezi bu hastalıkta lenfositler tarafından infiltre edilmekte ve kronik progressif tiroid dokusu hasarı oluşmaktadır (3). Hashimoto tiroiditli hastalar karşımıza tiroid fonksiyonları açısından ötiroid, subklinik hipotiroid yada aşikar hipotiroid durumda çıkabilirler.

Serbest radikaller insan vücudunda fizyolojik olarak çeşitli enzimatik ve nonenzimatik reaksiyonlarla üretilen reaktif bileşiklerdir. Vücutta pozitif (lökositlerin bakterileri öldürmesi gibi) veya negatif etkiler (lipid, protein ya da DNA oksidasyonu gibi) yapabilirler (4,5).Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içindedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasında neden olur. Bu durum Oksidatif Stres (OS) olarak adlandırılır (6). Sonuçta doku hasarına yol açarak bir çok hastalığın ortaya çıkışına neden olabilir. Oksidatif stres günümüzde yüzden fazla hastalığın gelişimiyle ilişkili bulunmuştur. Karsinogenesiz ,ateroskeleroz,degeneratif nörolojik hastalıklar, degeneratif eklem hastalıkları,kollagenozlar,otoimmün hastalıkların oksidatif stres ile ilişkisi gösterilmiştir (6).

Farklı oksidan moleküllerin ayrı ayrı ölçülmesi pratik olmadığı ve oksidanların etkileri additif olduğu için serumda total oksidatif statusu (TOS) ölçen yöntemler geliştirilmiştir(7).Ayrıca antioksidan moleküllerin de ayrı ayrı ölçülmesi pratik olmadığı ve antioksidanların etkileri additif olduğu için total antioksidan statusu (TAS) ölçen yöntemler de geliştirilmiştir (8).

Serum paraoksonaz (PON1), karaciğerde sentezlenen, HDL ile ilişkili, paraoksonaz (PON), arilesteraz (ARE),diazoksonaz aktiviteleri olan antioksidan bir enzimdir. PON1 enzimi organafosfatları, aromatik esterleri hidrolize eder ve ayrıca lipid peroksidasyon ürünlerinin birikmesini azaltır (9).PON1 aktivitesindeki değişiklikler enzimi kodlayan gen lokusundaki polimorfizimden kaynaklanır(10).PON1 geninde

192.kodondaki aminoasitlerin yer değiştirmesi 3 farklı fenotipin ortaya çıkmasını sağlar ;düşük aktiviteli QQ, orta aktiviteli QR ve yüksek aktiviteli RR (10,11).

Hücre membranındaki ve diğer organize sistemlerdeki doymamış fosfolipidler, glikolipidler ve kolesterol oksidan hasarın önde gelen hedefidir. Bu hedef hücrede sitopatolojik değişimlerde neden olan yıkıcı hasarın başlamasına neden olur. Lipit hidroksiperoksit (LOOHs), lipit peroksidasyonunun radikal olmayan güçlü bir bileşenidir. Bir kere oluşunca yıkıcı hasara neden olur, sitotoksik potansiyali güçlendirir ya da azaltır(12).

Serbest oksijen radikalleri proteinleri okside ederek modifiye olmuş proteinlerin ortaya çıkmasına sebep olur. Proteinler, oksidatif modifikasyon sonucu antijenik özellik kazanmakta ve buna karşı otoantikolar gelişebilmektedir. Oksidatif stresin SLE , RA, Skleroderma,Tip 1 DM, Behçet Hastalığı gibi otoimmün hastalıkların patogenezinde yer aldığı gösterilmiştir(13). Tiroid hipofonksiyonun oksidatif stres üzerinde etkili olduğu bilinmektedir(14). Tiroksin ise oksidatif stresi arttırdığı gibi antioksidanların sentezini ve degradasyonunu artırmaktadır (15,16).Şimdiye kadar aşikar hipotiroidili Hashimoto hastalarında ya levotiroksin replasman tedavisinden önce ve sonra oksidatif stres araştırılmış veya aşikar hipotiroidili Hashimoto hastaları levotiroksin replasman tedavisinde olan Hashimotolu hastalarla veya kontrollerle karşılaştırılmıştır (15,17,18,19,).

Replasman tedavisi almayan ve ötiroid durumda bulunan Hashimotolu hastalarda oksidatif stresi ile ilgili sadece bir çalışma vardır(18).Subklinik hipotiroidizmde oksidatif stresle ilgili üç çalışma mevcut olup bu çalışmalardaki hastaları sadece Hashimotolu kişiler oluşturmamaktadır (16,20,21). Ayrıca bu çalışmalarda az sayıda oksidatif stres parametresi bakıldığı gibi, bakılan oksidan ve antioksidanlar heterojendir.

Biz alışmamızda levotiroksin tedavisi almayan ve ötiroid durumda olan Hashimoto hastalarında oksidatif stresi şimdiye kadar bu tür çalışmalarda kullanılmamış oksidatif stres testleri ile araştırdık. Hashimoto hastaları ve kontrol grubunda kapsamlı biyokimya tetkikleri ve rutin kan analizlerini yaptık, serumda total oksidan status (TOS), total antioksidan status (TAS),arilesteraz (ARE), paraoksonaz (PON), lipit hidroksiperoksitleri (LOOHs) ölçtük. Bu hastalardaki oksidatif/antioksidatif balansı subklinik hipotiroidili Hashimoto hastaları ve kontrol grubuyla karşılaştırdık. Ayrıca bir ilk olarak PON1 fenotipi ile Hashimoto hastalığı arasında ilişkiyi araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hashimoto Tiroiditi

2.1.1. Tanım ve Sınıflama

Hashimoto tiroiditi (kronik otoimmün tiroidit, kronik lenfositik tiroidit) iyodun yeterli olduğu bölgelerde görülen hipotiroidinin dünyadaki en sık nedenidir. İnsidansı kadınlarda yılda 3.5:1000 olarak bildirilmiştir. Patofizyolojisi tiroid hücrelerinin apoptotik destrüksiyonu ve buna bağlı olarak hormon sentezinin bozulması ile karakterlidir. Folliküler destrüksiyon sonucu açığa çıkan tiroid peroksidaz (TPO) ve tiroglobülin (Tg) proteinlerine karşı gelişen otoantikorlar sitotoksiktir. Klinik ve biyokimyasal tablo, yavaş gelişen bir guatr ile birlikte başlangıçtaki ötiroidinin zaman içinde subklinik ve belirgin hipotiroidiye dönüşmesidir. Seyrek olarak hipertiroidi gelişebilir (22).

Hashimoto tiroiditi, 1912 yılında Hakuru Hashimoto tarafından “Struma Lymphamotosa” olarak adlandırıldı. Hashimoto'nun dört hastada tanımladığı; tiroid dokusunun plazma hücreleri ve lenfositlerce infiltrasyonu, lenfoid follikül formasyonu, parankimde fibrozis, atrofi ve diffuz guatr ile giden bu klinik durum Hashimoto Tiroiditi olarak adlandırılmaktadır(23). T hücre aracılı otoimmünite ile oluşan Hashimoto tiroiditinde, birçok genetik ve çevresel faktor etiyolojide önemli rol oynar.

Hashimoto tiroiditi klinik evresine göre dört gruba ayrılabilir (Tablo 1). Erken evrede hastaların çoğu ötiroiddir, guatr yok veya küçüktür. Hastalık ilerledikçe sert, diffüz, küçük veya orta büyüklükte bir guatrla beraber otoimmün tiroidit kliniği oluşmaya başlar. Büyük ve sert bir guatr ilerlemiş hastalığın bulgusudur. Sitotoksik otoimmün reaksiyonun belirgin olduğu atipik tiroiditle beraber hipotiroidi gelişir ve bu iki durumun birlikteliği Hashimoto tiroiditinin son evresini oluşturur (24).

Tablo 1: Hashimoto Tiroiditi'nin Sınıflandırılması

	Subklinik Otoimmün Tiroidit	Kronik Otoimmün Tiroidit	Klasik Hashimoto Tiroiditi	Atrofik Tiroidit
Evre	Erken	Hafif	İleri	Son
Anti-Tiroid Antikor	Pozitif	Pozitif	Pozitif	Pozitif
Guatr Tiroid Fonksiyonu	Yok veya küçük Yumuşak-Sert Ötiroid	Küçük-Orta Sert Ötiroid, Hipotiroid, Destruktif tirotoksikoz	Büyük Sert Ötiroid, Hipotiroid, Destruktif tirotoksikoz	Yok Hipotiroid

Dr. Davies ve Amino Otoimmün tiroiditleri 3'e ayırmışlardır (25):

Tip 1 Otoimmün tiroidit (Hashimoto hastalığı Tip 1)

1A Guatrlı

1B Guatrsız

Klinik: Normal TSH düzeyi vardır ve ötiroittir. Anti-TG ve anti TPO antikorları yüksektir.

Tip 2 Otoimmün tiroidit (Hashimoto hastalığı Tip 2)

2A Guatrlı (Klasik Hashimoto Hastalığı)

2B Guatrsız (Primer Miksödem, Atrofik Tiroidit)

Klinik: Devamlı hipotiroidizm vardır. Anti-TG ve anti-TPO antikorları yüksektir.

2C Geçici tiroidit aktivasyonu: Geçici destrüktif tirotoksikoz atağı ile başlar (Tiroid hormonları yüksek). Sonra geçici hipotiroidizm olur. Antikorlar yüksektir.

Tip 3 Otoimmün tiroidit (Graves hastalığı)

3A Hipertiroid Graves Hastalığı

3B Ötiroid Graves Hastalığı

3C Hipotiroid Graves Hastalığı

2.1.2. Prevelans

Hashimoto Hastalığı en sık görülen tiroidittir. Prevelansı %6-7 kadardır. Kadınlarda erkeklere göre 15-20 kat daha fazla görülür. Tüm yaşlarda ortaya çıkarsa da 30-50 yaş arasında sıktır.

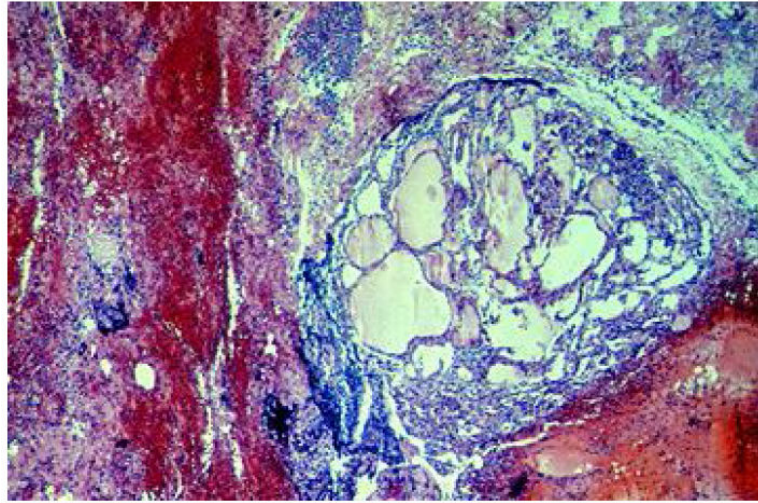
Hashimoto tiroiditinde kuvvetli bir genetik komponent vardır. Bazı popülasyonlarda (Japonlar) ve kromozomal bozukluğa sahip hastalarda (Turner, Down

ve Klinefelter sendromu) daha fazladır. Hashimoto hastasının 1.derece akrabasında Hashimoto Hastalığı görülme sıklığı %18-33 arasındadır. Yapılan bir çalışmada Hashimoto hastasının akrabalarında %56 oranında tiroid otoantikoru pozitif bulunmuştur (26,27).

2.1.3. Histopatoloji

Hashimoto tiroiditinde morfolojik olarak bez simetrik olarak genişlemiş, sert, lastik kıvamında ve belirgindir. Tiroid bezinde karakteristik olarak normal follikül yapısının yerini lenfoid germinal merkezler oluşturan bol bir lenfosit ve plazma hücre infiltrasyonunun aldığı görülür.

Hastalığın ciddi olduğu vakalarda muhtemelen TSH'nin indüklediği fibroblast reaksiyonu ve fibrozis görülebilir (23,28). Tiroid follikülerinin büyük kısmı dejenere olmuştur. Bazı follikül hücreleri genişleyerek eozinofilik karakter kazanmıştır. Buna Askenazi veya Hürtle hücreleri denilmektedir. Bu hücreler Hashimoto Tiroiditi için spesifiktir (Şekil 1). Geride kalan tiroid follikülleri tek tek veya küçük gruplar halinde yer alır (29).



Şekil 1: Hashimoto tiroiditi (X100 Hemotoksilen-Eozin)

2.1.4. Patogenez

Tiroid bezinde yaygın lenfositler infiltrasyonunun olduğu bir otoimmün tiroid hastalığıdır. Supresör T hücrelerindeki defekt sonucunda yardımcı T hücreleri, B lenfositleri uyarmakta ve hücrel immün cevap olarak tiroid mikrozomal ve

tiroglobulin antijenlerine karşı antikolar üretilmektedir(30). Otoimmün mekanizmanın çeşitliliği nedeni ile heterojen bir fenotipe sahiptir. Bunlar guatr ve hipotiroidinin birlikte olduğu Hashimoto tiroiditi veya guatrlı tiroidit, tiroid bezinde atrofi ve hipotiroidinin birlikte olduğu atrofik tiroidittir. Otoimmün sürecin tiroid fonksiyonunu kademeli olarak azaltmasından ötürü normal tiroid hormonu seviyesinin TSH'da bir miktar yükselme ile kompensatuvar olarak idame ettirildiği ve minör semptomların sadece bazı hastalarda görüldüğü dönem "subklinik hipotiroidi", TSH'nın 10 mU/L'nin üzerine çıkıp semptomların daha belirgin olduğu dönem ise "klinik hipotiroidi" olarak tanımlanır (31,32).

Bir otoimmün hastalığın en belirgin özelliği mevcut doku harabiyetinin organizmanın kendi dokularınca geliştirilmiş bir immünolojik reaksiyon sonucu ortaya çıkmış olmasıdır. Genel olarak, otoimmün hastalıklarda doku hasarı antikor aracılı ve hücre aracılı olmak üzere iki mekanizma ile meydana gelir. Antikor aracılı olanların bir kısmı ise doku harabiyetinden ziyade belirli organlardaki hücrelerin normal fizyolojik fonksiyonlara müdahalesi ile gelişir. Buna en çarpıcı örnek, reseptörlerine bağlanabilen antikoların hücreleri stimüle ya da inhibe edebilmesidir. Organ spesifik otoimmün hastalıklara örnek Hashimoto hastalığında antikoların TSH reseptörüne bağlanarak hormon sentezini bloke etmesidir (33). Hashimoto tiroiditinde programlı hücre ölümü yani apoptoz tiroisit destrüksiyonunda önemli rol oynar. Fas reseptörleri ile ligand (FAS1) arasındaki ilişki apoptozu sağlarken bu olay protoonkogen Bcl-2 ile inhibe edilir. Yapılan immün boyamalarda Fas ve Fas 1 ligandının arttığı, Bcl-2 proteinin azaldığı görülür(30).

2.1.5. Klinik Tablo

Hashimoto tiroiditinin bulgu ve semptomları genellikle belirsiz olup çoğu hasta hipotiroidi veya ötiroidik durumda başvurmaktadır. Hipotiroidinin belirti ve bulgularının tümü tiroid hormonunun yetersizliğine bağlıdır. Hipotiroidi, tiroid bezinin progresif ve geri dönüşümsüz hasarına bağlıdır. Ancak bezdeki atrofi TSH reseptörlerine bağlanarak onu bloke eden antikolarla bağlı ise bu antikoların zamanla kaybolması sonucunda hastalar kendiliğinden ötiroid hale gelirler.

Klinik tablo asemptomatik vakalardan miksödem komasına kadar giden geniş bir spektrumda bulunabilir. Hastalığın başlangıcı genellikle sessiz olup belirti ve bulgular hastalığın bulunduğu evreye göre değişiklik gösterir. Hastalar kliniğe guatr, hafif

hipotiroidi veya nadiren hipertiroidi bulgularıyla başvurabilirler. Hastaların çoğu asemptomatiktir. En sık karşılaşılan tablo asemptomatik guatrı olan orta yaşlı kadındır.

Sıklıkla 30-50 yaş arasında tanı konur. Hastaların yaklaşık %95' i kadındır. Çocuklarda nadir olmasına rağmen bu yaş grubunda görülen guatrın %40 veya fazlasını otoimmün tiroidit yapar (34,35).

Tiroid bezi diffüz olarak büyür, kıvamı sert ve yüzeyi irregülerdir. %13 olguda özellikle yaşlılarda yaygın fibrozis büyük ve sert bir guatra neden olur ve malign hastalık ile karıştırılabilir. Trakea, özefagus ve larengeal sinire bası nadirdir. Guatr asimetrik olabilir ve ötiroid bir hastada soliter veya multinodüler guatrla karıştırılabilir. Tiroid lojunda ağrı veya hassasiyet yoktur. Genellikle tiroid büyümesi sessiz olur ve genellikle asemptomatik olmakla birlikte semptomatik hastalarda boyunda bir huzursuzluk hissi olabilir. Hastaların %20' sinde letarji, yorgunluk, konstipasyon, kilo alımı, soğuğa tahammülsüzlük, kuru ve kaba bir deri, saç dökülmesi, hipermenore (menoraji), psikiyatrik bozukluklar gibi hipotiroidizmin klinik ve laboratuvar bulguları tespit edilebilir. %2-4 olgu hipertiroidizm ile kendini gösterir ve buna Hashitoksikozis adı verilir. Bunun nedeni hastalığın başlangıç döneminde tiroid dokusunun dekstrüksiyonuyla salınan tiroid hormonlarıdır. İlerleyen dönemlerde artan doku harabiyeti dolayısıyla ötiroid ve daha sonra hipotiroid safhaya giriş olabilir (36).

Tablo2:Hipotiroidinin Belirti ve Bulguları (görülmesıklığına)

BELİRTİLER	BULGULAR
Yorgunluk, halsizlik	Kuru-kaba cilt, periferik ekstremitelerde soğukluk
Ciltte kuruma	Yüz, el ve ayaklarda şişlik (miksödem)
Üşütme	Alopesi, kaşların 1/3 dış kısmında seyrelme
Saç dökülmesi	Bradikardi
Konsantrasyon güçlüğü ve hafızada yavaşlama	Periferik ödem (çukur bırakmayan)
Kabızlık	Refleks tendon gevşemesinde gecikme
Kilo alma, iştahsızlık	Karpal tünel sendromu
Cinsel isteksizlik	Seröz kavitelerde effüzyon (perikard, plevra, orta kulak gibi)
Dispne	
Seste kabalaşma	
Menoraji (müteakiben oligomeore veya amenore)	
Paresteziler, kramp girmesi	
İşitmede azalma (iletim tipi)	

Hashimoto hastalığının birlikte görüldüğü diğer otoimmün hastalıklar; Sjögren sendromu, progresif sistemik skleroz, pernisiyöz anemi, romatoid artrit, myastenia gravis, vitiligo, çölyak hastalığı, lupus eritematozis, otoimmün hepatit, renal tubulerasidoz, tip 1 DM, hipoparatiroidizm, Addison hastalığı, primer biliyer siroz ve alopesia areata dır ((37).

2.1.6. Laboratuvar

Hashimoto tiroiditi düşünülen bir hastada ilk yapılması gereken laboratuvar tetkikleri, tiroid fonksiyon testleri ve tiroid oto antikorlarıdır. Hashimoto tiroiditli hastaların %50-75' i tanı anında ötiroiddir. %25-50'sinde subklinik hipotiroidizm, %5 civarında da aşikar hipotiroidizm görülebilir. Çok az sayıda hastada da hipertiroidizm saptanabilir. Başlangıç dönemlerinde serum T3 ve T4 değerleri normal saptanırken TSH baskılanmış olabilir. Bunun nedeni dekstrüsiyona uğrayan tiroid dokusundan kan dolaşımına geçen tiroid hormonlarıdır. Bu dönemde Radyoaktif iyot uptake (RAIU) artmıştır. Hastalık ilerledikçe azalan hormon yapımını kompanze etmek için TSH yükselir. RAIU ve serum T4 düşer. Normal serum T3 ve T4 düzeyi ile birlikte TSH'nın artmış olmasına subklinik hipotiroidizm denir. Bunu izleyen dönemlerde serum T3 ve T4 düşük, TSH' ın yüksek olduğu aşikar hipotiroidi görülebilir (37).

Tiroid otoantikorlar Hashimoto tiroiditli hastalarda Anti-TPO antikor %80-99 oranında, anti-TG antikor ise %35-60 oranında pozitif bulunmuştur. Anti-TG pozitif hastaların hemen tümünde anti-TPO pozitif, buna karşın anti-TPO pozitif olguların ancak %65' inde anti-TG pozitif bulunmuştur (38). Antimikrozomal antikorlar da organa özgü olup komplemanı fikse ederler. Yüksek titrede elde edilen değerler otoimmün tiroid hastalıkları için oldukça spesifiktir. Tiroid otoantikorları normal popülasyonda ve diğer tiroid hastalıklarında da pozitif saptanabilmektedir (Tablo 3) 39

Tablo 3: Tiroid otoantikorların prevalansı

	TSH-R antikor	Anti-TG antikor	Anti-TPO antikor
Genel popülasyon	0	5-20	8-27
Graves hastalığı	80-95	50-70	50-80
Hashimoto tiroidit	10-20	80-90	90-100
Hasta yakınları	0	40-50	40-50
Tip I DM	0	40	40
Gebeler	0	14	14

Anti-tiroid peroksidaz (anti-TPO) antikoru, direk sitotoksik etkisiyle tiroid hücre lizisi yapabilir. Ayrıca tiroid peroksidaz enziminin aktivitesini inhibe ederek etkisini gösterir (40). Yüksek titrede pozitiflik saptanan hastalarda hipotiroidizm insidansının daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalar vardır (2). Ayrıca antikor düzeyleri hastalık boyunca dalgalanma göstermekle beraber daima yüksek kalır, ancak bezin tamamen atrofiye uğraması ile birlikte titrasyonları keskin bir düşüş gösterir.

Ağır hipotiroidilerde laboratuarda TSH hemen daima >100 mU/L, FT4 ve FT3 ise en düşük düzeydedir. Anti-TPO ve anti-TG gibi tiroid otoantikor titreleri genelde çok yüksektir.

Serum total kolesterol ve LDL kolesterol çok yüksek, HDL kolesterol düşüktür. Trigliserid hafifçe yükselmiş olabilir. Karaciğer enzimleri genelde ılımlı derecede yükselmiştir. İndirek bilirubinde hafif bir artma olabilir. Anemi bazen görülebilir.

2.1.7. Tedavi

Hashimoto tiroiditi'nin tedavisi hastanın klinik ve laboratuvar bulgularına göre değişir. Ötiroid ve küçük olan guatrların tedavisiz olarak izlenmesi önerilmektedir. Büyük guatrlı ötiroid hastalarda TSH baskılama dozunda tiroid hormon replasman tedavisi uygulanabilmektedir. Tiroksin tedavisiyle guatrın küçüldüğünü hatta bazı hastalarda ortadan kaybolduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (41,42). Ötiroid Hashimoto tiroiditli hastalara profilaktik amaçla verilen L-tiroksin tedavisinin otoimmün tiroiditin selüler (B lenfosit) ve serolojik (Anti-TPO) göstergelerinde azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle hastalığın ilerlemesini kontrol etmek amacıyla L-tiroksin tedavisi uygulanabilir. Ötiroid Hashimoto tiroiditli hastalarda yapılan başka bir çalışmada tiroksin tedavisinin tiroid volümü üzerine etkisi gösterilememiştir (43).

Hipotiroid olgularda L-tiroksin tedavisi gereklidir. Subklinik hipotiroidizimli (Serum T3 ve T4 normal, TSH 5-10 mU/L arasında) hastalarda tedavi verilip verilmemesi konusunda tartışmalar bulunmaktadır(26). Subklinik hipotiroidinin aterosklerotik gelişimle ilgili olumsuzlukları, depresyonu artırıcı etkisi sebebiyle tedavi verilmesi tarafında olanlar ağırlıktadır. Subklinik hipotiroidisi olan hastalarda, 45 yaşın üzerinde erkek hastada, özellikle hipotiroidizme ait semptomları, hiperlipidemisive yüksek titrede antikorları varsa ve kalp hastalığı yoksa tiroid hormon

replasmanı önerilmektedir (2). Ancak subklinik hipotiroidi de L-tiroksin tedavisi ile ilgili 2005 Amerikan konsensusu kararları 5.1-10 mU/L arasındaki TSH düzeyleri gösteren olgularda kullanılmasının gerekli olmadığı şeklindedir. Ventriküler aritmiler, atrium fibrilasyonu gibi kardiyolojik nedenler varsa kullanılması sakıncalıdır (44).

Aşık hipotiroidizmi (TSH düzeyi >10 mIU/ml) olan hastalara L-tiroksin başlanması kaçınılmazdır. Altta yatan otoimmün bozukluğun tedavisi henüz mümkün olmamakla beraber tedavideki amaç ötiroidiyi sağlamaktır. L-tiroksin dozu serum TSH düzeyini normalin alt sınırına yani 0.3-1.0 IU/L getirecek şekilde ayarlanmalıdır.

Erişkinlerde ortalama L-tiroksin replasman dozu 150-200 μ /gün olup tedaviye başlandıktan sonra genellikle ömür boyu devam edilmelidir. Aşık hipotiroidizmde %24' e varan oranlarda düzelme bildirilmesi nedeniyle tedavinin devamı açısından belli aralıklarla TSH'nın yükselip yükselmediği kontrol edilebilir (45).

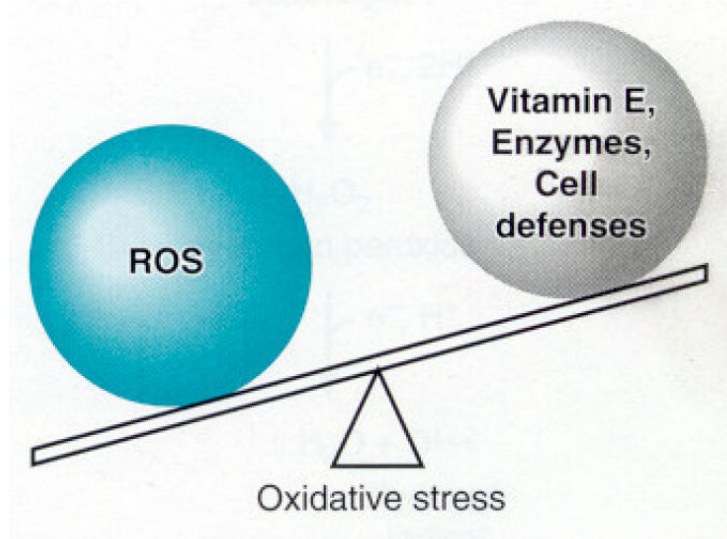
Hashimoto tiroiditinin erken dönemlerinde görülebilen geçici bir hipertiroidi beta blokörler ile kolaylıkla kontrol altına alınabilir. Belirgin Graves hastalığı tablosu gösteren hastalar ise antitiroid ilaçlarla tedavi edilmelidir. Sık tekrarlayan tirotoksikoz atakları oluyorsa radyoaktif iyot tedavisi veya cerrahi uygulanabilir.

Otoimmün tiroiditlerde günlük 200 mg selenyum verilmesinin anti-TPO düzeylerini azalttığı saptanmıştır. L-tiroksin replasman tedavisinde olan Hashimoto tiroiditli 36 olguda tedavi öncesi anti-TPO düzeyi 904 ± 205 IU/ml iken 3 aylık selenyum tedavisiyle 575 ± 146 IU/ml düzeyine düşmüştür. TSH, sT3 ve sT4 düzeylerinde ise herhangi bir değişiklik olmamıştır. L- tiroksin tedavisine selenyum eklenmesiyle antikor düzeylerinde görülen azalmanın mekanizması bilinmemektedir. Selenyumun antiinflamatuvar etkisi olduğu gibi, antioksidan özelliğe sahip glutatyon peroksidaz ve tiyoredoksin redüktaz enzimlerinin yapısında da bulunur (46).

Cerrahi tedavi sadece önemli bası semptomları mevcudiyetinde veya operasyona neden olabilecek düzeyde multinodüler guatrı veya kanser yönünden kuvvetli şüphe varsa düşünülebilir.

2.2. Oksitadif Stres

Vücuttaki fizyolojik aktivitenin doğal ürünü olan serbest radikalleri, organizma doğuştan kazandığı çok hassas bir donanımla oksidan-antioksidan denge olarak tanımlanabilecek bir çizgide tutmaya çalışır. Bu dengenin bozulması oksidatif strese yol açar (47).



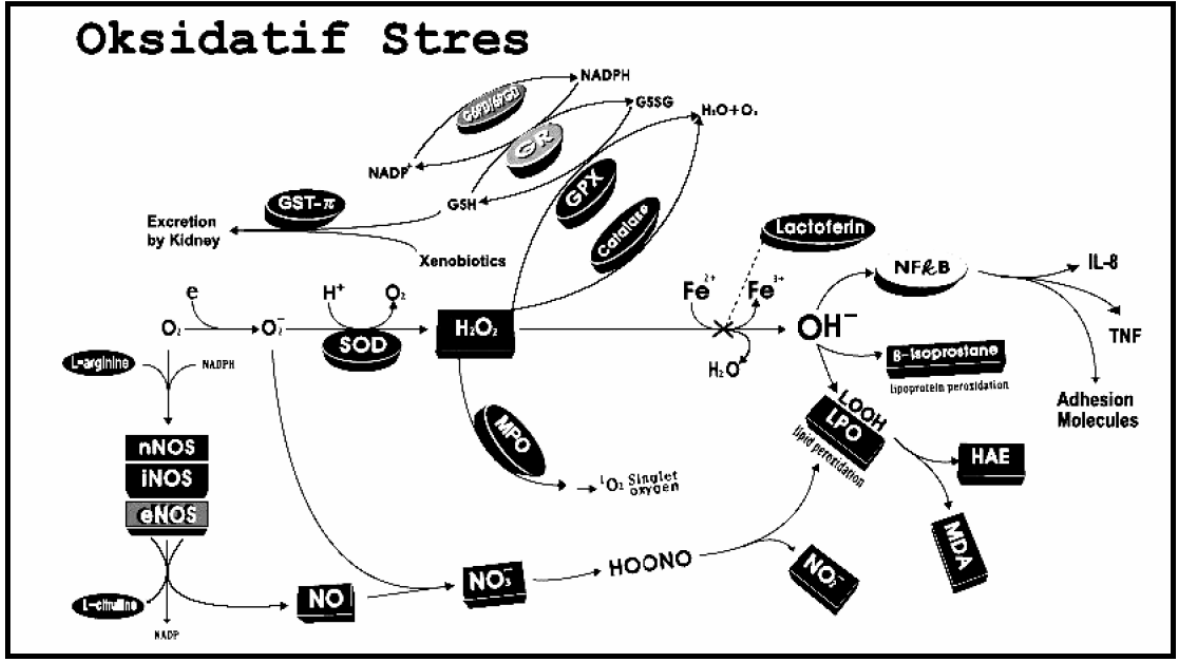
Şekil 2: Oksidatif stres oluşumu (48)

Reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif nitrojen türleri (RNS) ve sülfür merkezli radikaller oksidan sınıfına girer. Ancak tüm reaktif türleri radikal değildirler. Radikal olan ve olmayan reaktif türleri Tablo 4 özetlenmiştir (49,50)

Tablo 4: Radikal ve radikal olmayan reaktif oksijen türleri (51)

Reaktif Türleri	
Radikal	Non-Radikal
Hidroksil ($\cdot\text{OH}$)	Peroksinitrit (ONOO^-)
Alkoksil ($\text{L(R)}\text{O}^\cdot$)	Hipoklorit ($\cdot\text{OCl}$)
Hidroperoksil (HOO^\cdot)	Hidroperoksit ($\text{L(R)}\text{OOH}$)
Peroksil ($\text{L(R)}\text{OO}^\cdot$)	Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)
Nitrik oksit (NO^\cdot)	Hidrojen peroksit (H_2O_2)
Süperoksit (O_2^\cdot)	Ozon (O_3)

Oksidatif stres sadece oksijen radikallerinin üretimindeki artışla oluşmaz. Vücutta oksijen radikallerinin sentezinde artış olmasa dahi indüksiyonlar sonucu artan NO sentezi tek başına oksidatif strese neden olabilir. Nitrik oksit (NO) kaynaklı reaktif türler de oksijen radikalleri gibi lipid peroksidasyonunu başlatabilir. DNA'da zincir kırılmaları ve baz modifikasyonlarına neden olabileceği gibi metal iyonlarının oksidasyonunu değiştirebilir, proteinleri oksitleyebilir ve antioksidan tüketimine sebep olabilirler (52,53).



Şekil 3:Oksidatif stres (7)

Antioksidan ise; okside olabilen substrata göre ortamda daha az derişimde bulunan ve bu substratın oksidasyonunu belirgin şekilde geciktiren veya engelleyen madde olarak tanımlanabilir. Bu tanıma göre antioksidanların fizyolojik rolü, serbest radikalleri içeren kimyasal tepkimelerin sonucunda hücresel bileşenlere gelebilecek zararı önlemektir. (54)

Aerobik metabolizmada denge, serbest radikal oluşumu ve bunların benzer hızla antioksidan sistemler tarafından uzaklaştırılmasıyla karakterizedir. Geri dönüşümsüz oksidatif hasarın birikimi ile önce hücre daha sonra doku ve organ sistemlerinde yapısal ve işlevsel bozukluklar ortaya çıkabilir. Oksidatif stres ile ilişkili hastalıkların bazıları Tablo 5'de belirtilmiştir (55).

Tablo 5: Oksidatif stres ile ilişkili bazı hastalıklar (55)

• Astım
• Ateroskleroz
• Serebral vasküler hastalıklar
• Kronik obstruktif pulmoner hastalık
• Konjestif kalp yetmezliği
• Diabet
• Hipertansiyon
• Grip
• Miyokard enfaktüs
• Pnömoni
• Hepatit
• Kanser
• İnflamasyon hastalıklar

2.3. Serbest Radikaller

2.3.1. Tanım

Serbest radikaller dış orbitallerinde tek sayıda ortaklanmamış elektron taşıyan, elektrik yüklü veya yüksüz olabilen atom veya moleküllerdir. Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında oluştuğu gibi, çeşitli dış etkenlerin etkisi ile de oluşmaktadır. Çok kısa yaşam süreli, ancak yapılarındaki dengesizlik nedeni ile çok aktif yapılı olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedir (56).

Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini ortaya koymadan etkisizleştirilmesini sağlayan güçlü savunma sistemi bulunmaktadır. Serbest radikal oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir.

Serbest radikaller başlıca oksijenden türemektedir. Fakat organizmada oksijen türevi serbest radikaller dışında karbon ve kükürt merkezli radikaller de oluşmaktadır (57,58).

Oksijen canlıların yaşamlarını sürdürmeleri için mutlak gerekli bir elementtir. Hücre içinde çeşitli reaksiyonlardan geçerek su haline dönüşmektedir. Bu sırada hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlamaktadır. Fakat bu süreçte oksijenin %1-3'u tam olarak suya dönüşmez, süperoksit anyonu ve hidroksil radikali oluşur (59).

2.3.2. Serbest Radikaller Nasıl Olusur

Biyolojik sistemlerde meydana gelen serbest radikallerin en önemlisi oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri, normal hücre metabolizmasında oksijen içeren birçok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilmektedir (60,61). Bu işlemde oksijen, elektron transport zincirinde direkt basamaklar halinde suya indirgenmektedir. İndirgenme sonucunda her bir basamakta serbest oksijen radikalleri açığa çıkmaktadır.

Kontrollü enflamatuvar reaksiyonun bir parçası olan fagositler tarafından oluşturulabilmekte, iyonize radyasyon, ultraviyole ışığı, sigara dumanı, hiperoksi, fazla egzersiz ve iskemi nedeniyle de serbest radikaller meydana gelebilmektedir (60,62,63).

Serbest radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşmaktadır (64).

1. Kovalent bağlı radikal olmayan bir molekülün bağlarının koparılması sonucu iki ayrı radikal oluşumu ile.
2. Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün bölünmesi ile.
3. Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile.

Serbest radikaller erken yaşlanma, kanser, otoimmün hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok hastalığın etyopatogenezinde suçlanmaktadır (65,66).

Reaktif oksijen radikallerinin kaynakları tablo 6'da sunulmuştur.

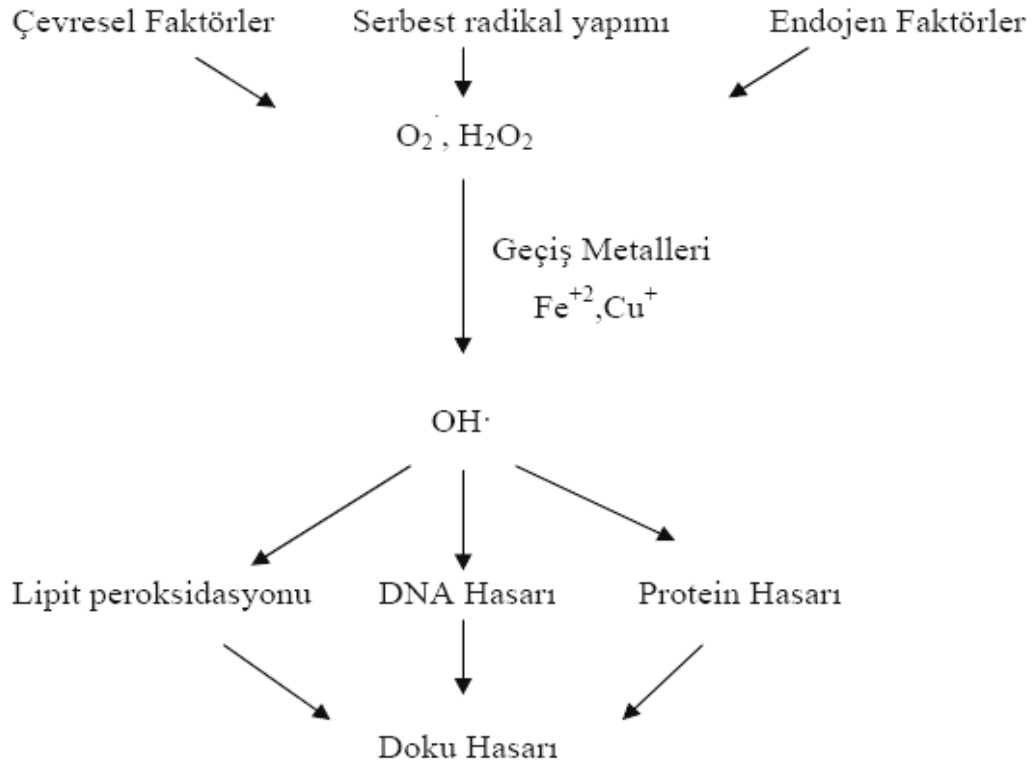
Tablo 6: Reaktif Oksijen radikallerin kaynakları (67)

Endojen Kaynaklar

1. Otooksidasyon: Aerobik metabolizmadan kaynaklanırlar, süperoksid oluşur.
 2. Enzimatik oksidasyon: Birçok enzim sisteminin ürünü olarak oluşabilirler.
 3. Subsellüler organeller: Mitokondri, peroksizom ve çekirdek gibi organeller oksijen oluşturabilirler. Mitokondri hücrelerdeki esas indirgenmiş oksijen kaynağıdır.
 4. Respiratuvar patlama: Fagositik hücrelerin, fagositoz esnasında fazla miktarda oksijen tüketmesidir.
 5. İskemi reperfüzyon hasarı.
 6. Geçiş elementlerin iyonları: Bakır ve demir, serbest radikal hasarının oluşumunda ve lipid peroksidasyonunu kolaylaştırmada rol oynar.
-

Ekzojen Kaynaklar

1. İlaçlar: Bleomisin, antrasiklinler, metotreksat, nitrofurantoin, penisilamin, sulfasalazin
2. Radyasyon: Elektromanyetik veya partikuler radyasyon, kendi enerjilerini su gibi hücrel komponentlere transfer ederek radikal oluştururlar.
3. Sigara: Aldehitler, epoksitler, peroksitler gibi gaz yapısında çok sayıda oksidan madde içerir.
4. Gazlar: Ozon güçlü bir oksidan maddedir. İnvitro lipid peroksidasyonuna yol açar.
5. İnorganik partiküller: Asbest, slika gibi tozların inhalasyonu serbest radikal oluşumuna yol açabilir.



Şekil 4: Vücuttaki önemli serbest radikaller ve serbest radikal hasarı sonuçları

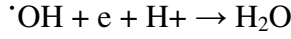
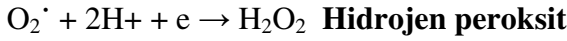
Serbest radikallerin aerobik hücrelerde en önemli tepkimeleri moleküler oksijen ve onun reaktif türleri (süperoksit anyonu ve hidroksil radikali), peroksitler ve geçiş metallerinin olduğu tepkimelerdir.

2.3.3. Reaktif oksijen türleri (ROS)

Normal şartlarda oksijen kararlı, kokusuz, tatsız, renksiz, sudaki çözünürlüğü sınırlı bir gazdır. İnsan hayatı için hem gerekli hem de toksik olan bir moleküldür. Oksijenin iki eşleşmemiş elektronlarının ayrı orbitallerde aynı yönde dönmesi sonucu oksijen bir radikaldir.(68)

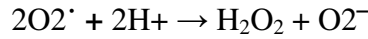
Moleküler oksijen elektron transferiyle suya kadar indirgenir. Bu yol 4 elektron gerektirir ve bu yolda reaktif ara moleküller oluşur ki bunlar süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksi radikalleridir. Bunlar önemli oksidatif stres ajanları olup reaktif oksijen türleri (ROS) olarak adlandırılır (Tablo 7) (68,69).

Tablo 7: Oksijenin indirgenmesi



2.3.3.1. Süperoksit Radikali (O_2^\cdot)

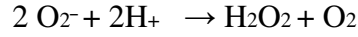
Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile kararsız bir yapı olan O_2^\cdot radikali oluşur.



H_2O_2 kaynağı olup canlılarda oluştuğu ilk gösterilen serbest radikal türevidir. Hücre dışı ortamda endotel hücreler, lenfositler, trombositler, fibroblastlar ve diğer hücreler tarafından normal hücrel reaksiyonlar sonrası ortaya çıkan zayıf bir oksidan olan O_2^\cdot 'nin kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açması mümkün görülmemektedir (70). Ancak süperoksit radikalleri oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkileri ile oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir. Aktive edilen fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilerek, fagozom içine ve buldukları ortama verilebilir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatabilmektedir (60,61,65,71).

2.3.3.2. Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Oksijenin dismutasyonu ya da oksijenin doğrudan indirgenmesiyle oluşur.



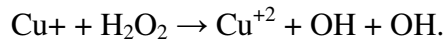
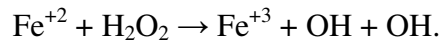
Yağda çözülebilir, böylece membranlardan kolaylıkla geçebilir. En güçlü yükseltgeyicilerdendir. Su ortamında birçok inorganik iyonu yükseltgeyebilir ya da indirgeyebilir (72). Yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden dolayı radikal özelliği taşımaz, reaktif bir tür değildir. Fakat geçiş metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin ana kaynağı olması nedeniyle önem taşımaktadır (64).

2.3.3.3. Hidroksil Radikali (OH⁻)

Hidroksil radikali (OH⁻), biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikaldir. Dokular radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından absorblanır ve radyasyon oksijen-hidrojen arasında kovalent bağa neden olur. Sonuçta şekilde görüldüğü gibi iki radikal meydana gelir. Bu radikallerden biri hidrojen (H.) ve diğeri ise hidroksil radikali (OH⁻)



Hidrojen peroksitin (H₂O₂) Fe⁺² veya Cu⁺² ile reaksiyona girmesiyle de OH. oluşmaktadır. H₂O₂ toksisitesinin büyük çoğunluğunun temelinde OH. Olduğu düşünülmektedir. Bu reaksiyon ilk defa 1894 yılında Fenton tarafından gözlenmiş ve günümüzde de Fenton reaksiyonu olarak bilinmektedir.

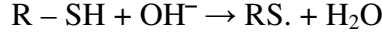


OH⁻. radikalleri başta lipid, protein ve nükleik asitler (DNA ve RNA) olmak üzere hemen hemen bütün hücresel moleküllerle reaksiyona girebilmektedirler.

OH⁻ DNA da bulunan deoksiriboz molekülüne etki ederek çeşitli ürünler oluşturduğu ve bu oluşan ürünlerin bazılarının mutajenik oldukları görülmüştür. Yine OH. aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiklerinden DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna neden olurlar. Orneğin: Timine katılarak timin-radikalini oluşturur ve bu radikal oksijenle reaksiyona girerek son derece reaktif olan timin peroksil-radikaline dönüşmektedir. Bu gibi bir dizi reaksiyona katılabilen OH DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik

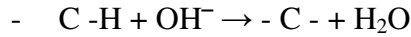
kırılmalarına neden olurlar. Hasar çok kapsamlı olursa hücrel koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir (73,74).

DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşmenin yanısıra tiol grubu içeren biyolojik moleküllerden H atomu da koparabilmektedir.

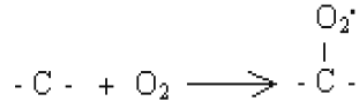


Sonuçta oluşan sülfür radikalleri ilginç kimyasal özelliklere sahiptir. Sülfür radikalleri, O₂ ile kombine olabilir ve oksisülfür radikallerini oluşturur. RSO₂ ve RSO. gibi bunların bir çoğu da biyolojik moleküllerde hasara neden olurlar.

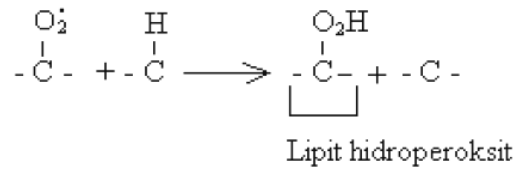
OH⁻'ın sebep olduğu en iyi karakterize edilmiş olan biyolojik hasar lipid peroksidasyon olayıdır. OH⁻ membran fosfolipitlerinin doymamış yağ asit yan zincirlerine hücum eder. Bu olay özellikle araşidonik asit gibi doymamış yağ asit yan zincirlerindeki -C atomunun birinden H atomunun çıkartılması ve su oluşumu şeklinde gerçekleşir.



Bu reaksiyon sonunda membranda - C - radikali kalır. Bu - C - radikali oksijen ile kombine olarak peroksil radikalini oluşturur.



Peroksil radikaller reaktiftir ve yakınındaki doymamış yağ asitlerinin yan zincirlerine saldırır;



Böylece OH⁻ radikalleri, yüzlerce yağ asitlerinin yan zincirlerini lipit hidroperoksitlere dönüştürür. Membranda lipit hidroperoksitlerinin birikimi membran fonksiyonunu bozar. Peroksil radikaller ve sitotoksik aldehitler, membran proteinlerinde

ciddi bir hasara neden olurlar ve membrana bağılı bazı enzimleri ve reseptörleri inaktive ederler (75,76).

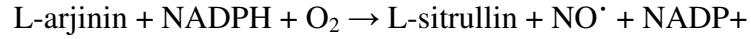
2.3.3.4. Singlet Oksijen (1O_2)

Oksijenin uyarılmış sekline 'singlet oksijen' denir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türüdür. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (61). Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu bileşiklerin başında bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol, NADPH, triptofan, metionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelmektedir.

Bilirubin, karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilmektedir (60,61,77,78).

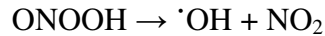
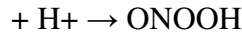
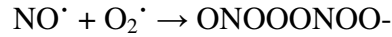
2.3.4. Nitrik Oksit (NO^{\cdot})

NO^{\cdot} enzimatik olarak nitrik oksit sentaz enzimi tarafından L-arjinin'den sentezlenir.



NO^{\cdot} eşleşmemiş elektron bulundurmasına rağmen birçok biyomolekül ile kolayca tepkimeye giremez, öte yandan peroksil, alkil gibi diğer serbest radikallerle kolayca tepkimeye girerek daha az reaktif moleküller oluşturur(69)

Yüksek miktarlarda O_2^{\cdot} yapımı NO^{\cdot} ile paraleldir ve birbirlerini etkileyerek $^{\cdot}OH$ ve $^{\cdot}NO_2$ oluşumuna neden olurlar. Tepkime sırasında ise peroksinitrit ($ONOO^-$) ve peroksinitröz asit ($ONOOH$) ara ürünleri oluşur (69)



2.3.5. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumu enflamasyon, radyasyona maruz kalma ve yaşlanma gibi durumlarda artar. Normalden yüksek parsiyel oksijen basıncı (PO_2) ve ozon, azot dioksit gibi kimyasal maddeler ya da bazı ilaçların etkisiyle de artar.

Yüksek konsantrasyonlardaki ROS'nin proteinler, lipitler ve nükleik asitler gibi hücre yapıları üzerine zararlı etkileri olabilir (79,80).

Tablo 8: Artmış reaktif oksijen türlerinin vücuttaki zararlı etkileri (79,80)

-
1. Hücre organelleri ve membranında bulunan lipid ve proteinlerin yapısını bozmak
 2. Hücre içi yararlı enzimleri etkisizleştirmek
 3. DNA'yı tahrip etmek
 4. Mitokondride aerobik solunumu bozmak
 5. Elastaz, proteaz, fosfolipaz, lipoksigenaz, siklooksigenaz, ksantinoksidaz, indolamin dioksigenaz, triptofan dioksigenaz ve galaktoz oksidaz gibi litik enzimleri aktive etmek
 6. Hücrenin potasyum kaybını arttırmak
 7. Trombosit agregasyonunu arttırmak
 8. Dokularda makrofajların toplanmasını kolaylaştırmak
 9. Hücre dışındaki kollagen doku komponentlerini, savunma enzimlerini ve transmitterleri yıkmak
-

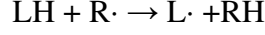
2.3.5.1. Membranların lipid peroksidasyonu

Serbest radikallerin biyolojik dokulardaki doymamış yağ asitlerine etkileri lipit peroksidasyonu olarak bilinir. Biyolojik zarların yapısı lipit ve proteinden oluşmaktadır, lipit peroksidasyonu lipitlere olduğu kadar zar proteinlerine de zarar verir (81).

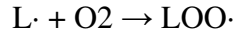
Lipit peroksidasyonu, çoklu doymamış yağ asitlerinin(PUFA) reaktif oksijen türleri tarafından peroksitler, alkoller, malondialdehit, etan ve pentan gibi ürünlere yıkılma tepkimelerine denilmektedir. Yağ asitlerinin peroksidasyonu sonrasında açığa çıkan ürünler zar geçirgenliğini ve akışkanlığını ciddi şekilde etkileyip hücre ve organel içeriklerinin ayrılmasına neden olan kopma ve kırılmalara yol açar. Lipit peroksidasyonu ile meydana gelen zar hasarı geri dönüşümsüzdür (82,83)

Zincir reaksiyonu şeklinde olan lipit peroksidasyonu, organizmada oluşan radikal etkisiyle çoklu doymamış yağ asitleri üzerindeki metilen grubundan bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bu reaksiyon başlangıç reaksiyonu olarak isimlendirilir.

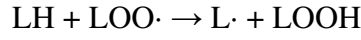
Hidrojen atomu uzaklaşması ile karbon atomu üzerinde eşleşmemiş elektron kalır ve bunun sonucu yağ asidi zinciri bir lipit radikali (**L·**) niteliği kazanır.



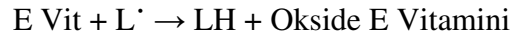
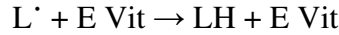
Oluşan lipit radikalının molekül içi çift bağlarının pozisyonunun değişmesiyle konjuge dienler oluşur. Bir alkenin iki çift bağı arasında bir tane tekli bağ varsa bu yapı konjuge dien olarak isimlendirilir. Bu şekilde moleküler düzenleme sağlanmış olur. Lipit radikalının moleküler oksijen ile etkileşmesi sonucu lipit peroksil radikali(**LOO·**) oluşur.



Peroksil radikali diğer komşu yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşmasına neden olurken kendisi de açığa çıkan hidrojen atomunu alarak lipit hidroperoksitlerine (**LOOH**) dönüşür. Böylece peroksidasyon başladıktan sonra kendi kendine yayılabilmekte ve çok sayıda yağ asidi zinciri lipit hidroperoksitlerine dönüşebilmektedir. Bu tepkime ilerleme reaksiyonu olarak isimlendirilir (82,83,84,85).



Oldukça kararlı olan lipit hidroperoksitleri lipit peroksidasyonunun ilk ürünüdür. Lipit peroksidasyonunun sürekli olarak devam ettiği durumlarda E vitamini gibi zincirleme tepkimeyi sonlandırıcı bir antioksidan lipit peroksidasyonu sonlanabilir (86).



Geçiş metalleri varlığında lipit hidroperoksitleri bu metallerin redoks döngüsüyle birlikte lipit peroksidasyonunu başlatabilecek radikallerin oluşumuna neden olabilirler.

Lipitlerden araşidonik asit metabolizması sonucu serbest radikal üretimine “enzimatik lipit peroksidasyonu”, diğer radikallerin sebep olduğu lipit peroksidasyonuna ise “non-enzimatik lipit peroksidasyonu” denir (61).

Lipit peroksidasyonunun son bileşeni olan malondialdehit (MDA) peroksidasyona uğramış çoklu doymamış yağ asitlerinin bölünmesiyle oluşan üç karbonlu bir dialdehidtir ve oksidatif durumun göstergesi olarak yaygın kullanılır. Bu dialdehid biyolojik ortamda makromoleküllerin NH₂ ve/veya SH gruplarına bağlı veya serbest

olarak bulunur. Oluşan MDA; deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi zar özelliklerinin değişmesine yol açar (82,87)

2.3.5.2. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu

Serbest radikallerin proteinlere etkisi, proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Proteinler serbest radikal etkisine karşı çoklu doymamış yağ asitlerinden daha az hassastır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi aminoasitlere sahip olan proteinler serbest radikallerden daha kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur. Serbest radikallerin etkisine bağlı proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarında oluşan değişiklikler bu proteinlerin fonksiyonlarını etkilerler. Proteinin temel yapısındaki değişiklikler, antijenitesinde değişmeye ve proteolize karşı hassasiyete yol açabilir. Serbest radikaller, membran proteinleri reaksiyona girerek enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler (88,89).

2.3.5.3. DNA Lezyonları

Serbest oksijen radikalleri DNA'nın ana yapı taşı olan pürin ve pirimidin bazlarına etki ederek DNA'ya zarar vermektedirler. Hidroksil radikali, hücre membranını kolayca geçebileceğinden dolayı her türlü DNA bileşeni ile tepkimeye girebilir; pürinler, pirimidinler ve deoksiriboz omurgasına zarar verebilir. Farklı memeli hücrelerinde ve bakterilerde oksidatif stres sonucu gelişen DNA hasarının mutajenik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Diğer bir hasar mekanizması ise bozulmuş DNA replikasyonuna bağlı azalmış hücre proliferasyonu ve bozulmuş protein sentezidir (61,90,91).

2.3.5.4. Karbonhidratlara Etkileri

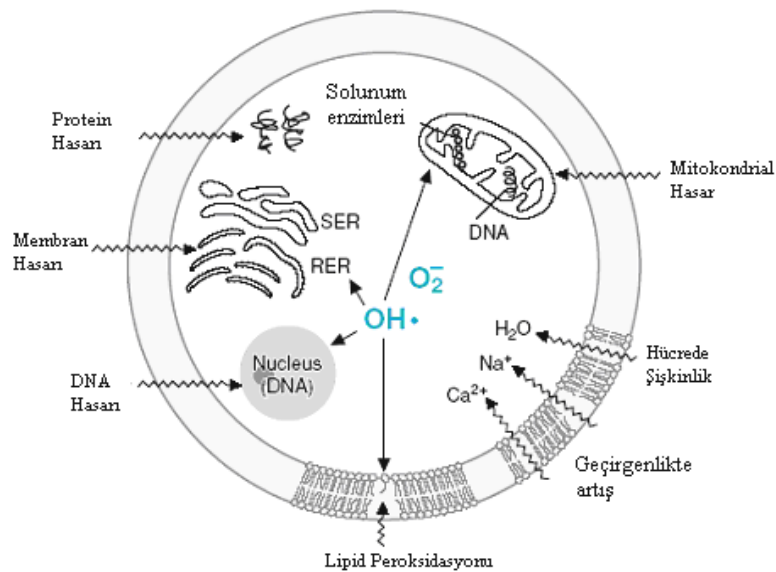
Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. İnflamatuar eklem hastalıklarında sinovial sıvıya geçen lökositlerden ekstraselluler sıvıya salınan H_2O_2 ve O_2^- buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronik asidi parçalamaktadır. Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunmasının oksidatif hasar yoluyla katarakt oluşumuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir (15,47).

2.3.6. İnsan Vücutunda Serbest Radikallerinin Hedef Organları

Yüzden fazla hastalık, serbest oksijen radikalleri ile ilişkilendirilmektedir. Serbest radikaller, sinir sisteminde intraventriküler hemoraji, periventriküler lökomalazi ve travmatik beyin hasarı ve beyin tümörleri etyopatogenezinde rol oynamaktadır. Gözlerde ise katarakt, retinopati, maküler dejenerasyon oluşumuna neden olabilmektedir. Akciğer ve solunum sisteminde astım, amfizem, respiratuar distress sendromu, kronik obstruktif akciğer hastalığına; böbreklerde ise glomerulonefrit ve renal yetmezlik sırasında doku hasarına neden olmaktadır. Gastrointestinal sistemde nekrotizan enterokolit ve crohn hastalığı patogenezinde rol oynamakta; ayrıca hemoglobin ve immun sistem defektleri oluşturmaktadırlar. Serbest oksijen radikalleri ayrıca, erken yaşlanma, kanser, otoimmün hastalıklar ve enflamatuar hastalıkların etyopatogenezinde de suçlanmaktadır (61,66,93-95).

2.4. Antioksidan Sistem

Organizma içindeki radikaller, geri dönüşümsüz hücre hasarına yol açan birçok tepkimeye neden olurlar (Şekil5). Süperoksit ve hidroksil radikalleri hücresel, mitokondrial, nükleer ve endoplazmik zarlarda lipit peroksidasyonunu başlatırlar. Geçirgenlikteki artış mitokondrial hasara neden olan Ca^{2+} 'un hücreye akın etmesine neden olur (50).



Şekil 5: Radikallerin yol açtığı hücre hasarı.

Hücre ve organ sistemlerini reaktif oksijen türlerine karşı koruyabilmek için organizma karmaşık bir sistem geliştirmiştir. Bu sistem endojen ve eksojen orjinli, etkileşimli ve birlikte çalışan çeşitli bileşenler içerir (96). Hücre ve dokular, radikal ürünlerini ve reaksiyonlarını inhibe eden bir sisteme sahiptir. Radikallerle oldukça ivedi reaksiyonlara girerek otooksidasyon/ peroksidasyonun ilerlemesini önleyen maddeler **antioksidan** olarak tanımlanır (97). Bir şekilde oluşturulan herhangi bir ilk radikal ürünün reaktif karakterine bağlı olarak biyomoleküller ve hücresel yapılara saldırmasının önlenmesi antioksidan savunma sisteminin işidir (98).

2.4.1. Antioksidan Sistemler

Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlar da, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit, α tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir .

Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antienflamatuar ilaçlar ve demir selatörleri sayılabilir (61,99).

2.4.2. Antioksidan etki tipleri

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler

1. Toplayıcı etki (Scavenging etki): Serbest oksijen radikallerini tutma ya da çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki” denilmektedir. Bilirubin, antioksidan enzimler, trakeobronşial mukus ve küçük antioksidan moleküller bu tip bir etki göstermektedirler (61,100,101)

2. Bastırıcı etki (Quencher etki): Serbest oksijen radikalleriyle etkilesip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ya da inaktif biçime dönüştüren etki “bastırıcı etki” olarak adlandırılmaktadır. Vitaminler, bu tarz bir etkiye sahiptirler (61,102)

3. Zincir kırıcı (Chain-breaking etki): Serbest oksijen radikallerine bağlanarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye “zincir kırıcı etki” denir. Bilirubin, hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler (61,103)

4. Onarıcı etki (Repair etki): Onarıcı etki üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Oksidatif hasar görmüş DNA molekülü tamir eden enzimler bu gruba örnek olarak verilebilir (61,104).

Antioksidan savunma; intraselüler, membransal ve ekstraselüler olarak sınıflanır.

2.4.3.İntraselüler Antioksidan Komponentler

Reaktif oksijen metabolitleri, SOD (Süperoksit dismutaz), GSH-Px (Glutasyon peroksidaz), Katalaz (CAT) ve sitokrom oksidaz gibi enzimatik ve GSH (Redükte glutasyon) gibi non enzimatik sellüler antioksidanlarca indirgenir.

2.4.3.1.Süperoksit Dismutaz (SOD)

Antioksidan savunmanın ilk basamağın O_2^- 'in, H_2O_2 'e dismutasyonunu katalizleyen SOD enzimini oluşturur (101). Bu reaksiyon "oksidatif strese karşı ilk savunma" olarak da adlandırılmaktadır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartımanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, müsküler distrofi, respiratuar distress sendromu, böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları, ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir. Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır (61,105)

2.4.3.2.Katalaz (CAT)

Yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Etkisini H_2O_2 gibi küçük moleküllere karşı gösterir. Büyük molekülü lipid hidroperoksitlerine ise etki etmez (101). Hidrojen peroksidi su ve oksijene ayırır. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranda yüksek miktarda bulunmaktadır. Katalaz hücreyi kendi respiratuar patlamasına karşı koruyucu olarak hizmet etmektedir (99,105)

2.4.3.3.Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda çalışmaktadır. Glutasyon peroksidaz fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx, solunum patlaması sırasında

serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GPx oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (83).

H₂O₂ 'nin yüksek konsantrasyonunda CAT, düşük konsantrasyonunda ise GSH-Px etkin rol oynar (61).

2.4.3.4. Glutasyon Redüktaz (GRH)

Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipid peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutasyon, okside glutatona dönüşmektedir. Oksidasyona uğramış bu yapıyı tekrar kullanmak için redükte glutatona dönüştüren enzim glutasyon redüktazdır (61).

2.4.3.5. Redükte Glutasyon (GSH)

Vücutta enzimatik olmayan en önemli antioksidandır. Proteinlerdeki redükte halde tutarak bu grupları oksidasyona karşı muhafaza eder. Böylece, proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna engel olur. GSH hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşmesini önler. Eritrosit zarını hidrojen peroksitten (H₂O₂)'den, lökositleri fagositozda kullanılan oksidan maddelerden ve lens proteinlerini oksidatif hasarlardan korur (41).

2.4.4. Membran Antioksidanları

Membranların hidrofobik lipid yüzünde intraselüler ortamdan farklı olarak lipidlerde çözünen ve hücre sel enzimlerle yok edilemeyen radikaller üretilir. Başta α -tokoferol (Vit E) olmak üzere, β -karoten, ubiquinal bileşikleri ve koenzim Q temel membran antioksidanlarıdır. Düşük dansiteli lipoproteinlerde mikro düzeylerde bulunan ve onların otooksidasyonunu önleyen Ubiquinol'ün kaliteli bir antioksidan olduğu gösterilmiştir.

β -karoten oldukça aktif bir radikal toplayıcıdır ve aktivitesi ortam oksijen konsantrasyonuna bağlıdır. α -tokoferol membranlar dışındaki ortamlarda oldukça zayıf bir antioksidan iken, membran lipid tabakaları arasında oldukça etkilidir (106). Bilinen membran antioksidanları ve özellikleri Tablo 9 da verilmiştir.

Tablo 9: Membran antioksidanları ve etkileri

ANTIOKSİDAN	ETKİLERİ
Vitamin E	Membran lipidlerinde çözünerek peroksidasyon zincirini kırar.
Koenzim Q	Mitokondriyal enerji metabolizmasında bir antioksidan olarak rol alır.
β -karoten	Radikal türleri toplar, ayrıca singlet oksijen oluşumunu inhibe eder.

2.4.5. Ekstraselüler Antioksidanlar

Vücut sıvıları ve organik ürünler antioksidan enzimlerin hiçbirini içermez. Bu nedenle glikozillenmiş serum proteinleri olarak tanımlanan SOD ve Gpx'in ekstraselüler ortam ve organik metaryallerde antioksidan olarak bir önemi yoktur (107). Transferrin, laktoferrin, haptoglobulinler, albumin, seruloplazmin, bilirubin, ürik asit gibi proteinler ve glukoz temel ekstraselüler antioksidanlardır (108).

Hücreler arası ortamda üretilen serbest radikal metabolitlerinin, demir ve bakır gibi katalizör metal iyonları ile karşılaşmalarının engellenmesi, ekstraselüler antioksidan savunmanın temel yoludur. Örneğin, demir taşıyıcı protein transferrin bire üç demir bağlayarak plazma serbest demir konsantasyonunu düşürür. Böylelikle bağlı demir ve bakır iyonları serbest radikal reaksiyonlarını katalizleyemez ve tepkime sayısı azaltılmış olur (109). Laktoferrin, hemoglobin, miyoglobin, hemopeksin ve albümin hemen hemen aynı işlevselliktedir. Laktoferrinin nötrofillerde radikal oluşumunu önleyen bir ajan olduğu gösterilmiştir (83).

Seruloplazmin bakırı bağlarken, glukoz, ürat ve bilirubin ortamdaki radikalleri temizleme uğraşındadır (98).

Tablo 10'de bazı ekstraselüler antioksidanlar verilmiştir.

Tablo 10: Bazı ekstraselüler antioksidanlar

Antioksidan	Etkileri
Askorbik asit	Hidroksil radikal giderici ve tokoferolü indirgeyici antioksidan vitamin
Transferin	Serbest demir iyonlarını bağlayarak fenton reaksiyonunu inhibe eder.
Laktoferrin	Düşük PH'lı ortamlarda demir iyonlarını bağlar.
Haptoglobilinler	Hemoglobin bağlayarak 'hem"ın salınmasını önler.
Hemopeksin	Ortamdaki serbest hem proteinlerini bağlayarak oksidasyonu inhibe eder.
Albümin	HOCL radikalini toplar, hem protinini ve bakır iyonlarını bağlar.
Serüloplazmin	Süperoksit radikalini nötralize eder, bakır iyonlarını bağlar.
Bilirübin	Önemli bir peroksil radikali toplayıcısıdır.
Mukus	Hidroksil radikali toplayıcı olarak işle yapar.
Ürik asit	Genelde metal bağlayıcı olarak çalışırken değişik radikalleride toplar.
Glukoz	Hidroksil radikali giderici antioksidan moleküldür.

2.5.Total Oksidatif Status (TOS)

Oksidatif stres; reaktif oksijen ürünlerinin, antioksidan enzim ve maddeleri aşması durumudur. Oksidatif stresin toplam değeri; total oksidatif stres veya total oksidan status (TOS) olarak ifade edilir. Bu fenomen, aşırı reaktif oksijen türlerinin üretimi veya antioksidan tampon mekanizmasının eksikliği sonucu oluşur. Reaktif oksijen ürünleri toksiktir ve hücrenin protein, lipit ve DNA'sına zarar verir. Damar endoteli de bu durumdan kısmen etkilenmektedir.

2.6.Total Antioksidan Seviye (TAS)

Normal fizyolojik kosullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan defans sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde kan çok önemlidir. Çünkü kan antioksidanların vücudun tüm bölümlerine taşınmasını ve dağıtımını gerçekleştirmektedir (110).

Total antioksidan seviyeye en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin, ik asit, E vitamini, C vitamini gibi proteinler yanında, serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır (111,112).

Albümin, ürik asit, askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan seviyenin %85'inden fazlasını oluşturmaktadır. Bunun nedeni, kanda bilirubin, glutatyon, flavinoidler, alfa tokoferol ve beta karoten gibi antioksidan sistemin komponentlerine nazaran albümin, ürik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasıdır. Yenidoğanlarda ise bu sistemin en önemli bileşenlerini bilirubin ve ürik asit oluşturmaktadır. Bağ kıran antioksidanlar (bilirubin, sülfhidril grupları, C vitamini, E vitamini) özellikle yenidoğanlarda total antioksidan sisteme önemli katkıda bulunmaktadır (110,111,113).

Antioksidan savunma sistemleri, özgül etkiler dışında bir ortak etkiler ve ilişkiler ağı oluşturur (114). Örneğin; vitamin C ve glutatyon, vitamin E'nin rejenerasyonunu sağlayarak; Ürik asit, vitamin C'nin otooksidasyonunu engelleyerek sinerjistik etki gösterirler. Böylece antioksidan durumu göstermede tek tek antioksidan ölçümü yanında, değişik antioksidanları ortak etkilerinin ölçümüne yani 'total antioksidan seviye' nin bilinmesine ihtiyaç doğar. Sonuçta plazmanın total antioksidan kapasitesinin her antioksidanın tek başına etkilerine ek olarak değişik antioksidanlar arasındaki ilişkilere bağlı olduğu söylenebilir (114).

Hasta yenidoğanlarda, plazma antioksidan kapasitesi hastalıktan veya tedavi yöntemlerinden etkilenebilmektedir. Örneğin hemoliz ile plazma bilirubin düzeyinin yükselmesi veya fototerapi ile azalması, anüri ile ürik asit seviyesinin artması ve

diüretiklerle düşmesi gibi nedenlerle antioksidan kapasitede değisiklikler oluşabilmektedir (113).

Beslenme şekli de antioksidan kapasiteyi etkileyebilmektedir. Örneğin anne sütü ile beslenen bebeklerde, antioksidan birer madde olan bilirubin ve karotenoidler, formüle mama ile beslenen bebeklerden daha yüksek olarak saptanmaktadır (113,115).Bilirubin, fizyolojik sarılıкта plazmada önemli bir antioksidan role sahiptir. Sarılıklı yenidoğanlarda plazma total antioksidan kapasitenin, esas olarak bilirubinle ilişkili olduğu bildirilmektedir. Bilirubinin değişik fizyolojik ve patolojik durumlarda yükselmesinin organizmayı koruyucu bir reaksiyon olduğu öne sürülmektedir (112,113).

2.7.Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Total reaktif oksijen ürünlerinin, total antioksidanlara bölünmesiyle elde edilen oransal bir indekstir. OSİ'nin yüksek olması oksidatif stresin arttığını gösterir (116,117).

$$\text{Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)} = \frac{\text{Total Oksidatif Stres (TOS)}}{\text{Total Antioksidan Status (TAS)}}$$

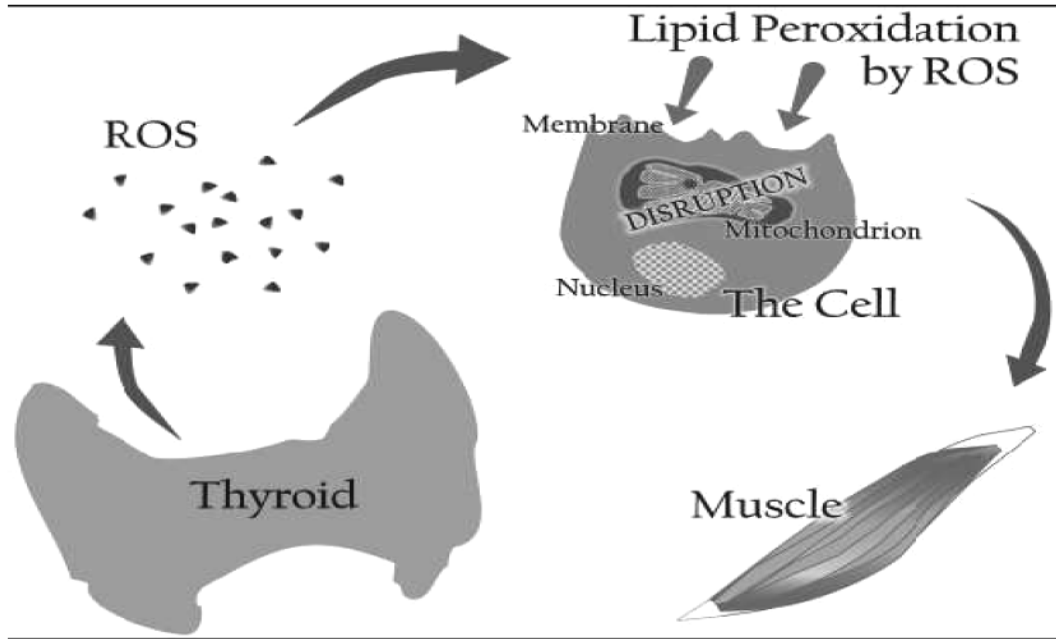
2.8. Tiroid Fonksiyonları ve Oksidatif Stres

Tiroid hormonları bir çok memeli türünde dokulardaki bazal metabolik oranı ve enerji metabolizmasını hızlandırmaktadır (118). Tiroid hormonları enerji metabolizması üzerindeki bu etkisini oksijen tüketimini, oksidatif fosforilasyonu içeren bazı mitokondriyal solunum zinciri komponentlerinin aktivite ve sayısında bir çok değişiklik yaparak, mitokondriyal solunumu arttırarak göstermektedir (118). Tiroid hormonu ile indüklenen hipermetabolik durumun sebep olduğu hızlanmış mitokondriyal elektron transportu ubikinon bölgesinde süperoksit oluşumunda artış ile sonuçlanır. Oluşan süperoksit radikalleri lipid peroksidasyonunun serbest radikal sürecini hızla başlatan hidroksil radikallerini de içeren birçok reaktif türlerinin oluşumuna öncülük eder (118). ROS'un dolaylı olarak lipid peroksidasyonundaki santral rolü, miyopati ve kardiyomiyopati gibi doku hasarlarına neden olmuştur. İleri sürülen hipotetik

mekanizma ile sonuçlanan hipertiroidizmin neden olduğu miyopati Şekil 2.4.1’de gösterilmiştir.

Moleküllerin oksidatif hasarı sonucunda ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri, nörodejeneratif bozukluklar, diabetes mellitus, kalp damar hastalıkları ve farklı kanser tiplerini içeren bir çok hastalığın patogenezinde rol oynamaktadır. Oksijenin reaktif yapısı ve ara ürünlerinin bazı tiroid hastalıkları gibi endokrin bezlerin otoimmün hastalıklarına katıldığı düşünülmektedir. Bunlar içerisinde en sık görüleni tiroid stimüle edici antikorlarla tiroid uyarıcı hormon reseptörlerinin sürekli stimülasyonu sonucu, aşırı tiroid hormonu sentezi ile karakterize Graves hastalığıdır. Bu hastalığın patogenezinde oksidatif stresin rol oynadığı düşünülmektedir (119). Bazı araştırmacılar da endemik kretinizim bölgelerinde eritrositlerde Gpx aktivitelerinin azaldığını bulmuşlar ve serbest radikallerin endemik kretinizim gelişiminde de rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir (120). Yapılan araştırmalar artan tiroid hormon düzeylerinin normale dönmesi ile lipid peroksidasyon düzeylerinin azalma gösterdiğini ve antioksidan vitaminlerin bu etkiyi hızlandırdığını göstermiştir (121).

Tiroid hormonlarının, metabolik yollardaki etkileri iyi bilinmektedir, ancak bu güne kadar yapılan çalışmalarda tiroid hormon eksikliğinin veya fazlalığının lipid peroksidasyonu ve antioksidan sistem üzerine etkileri net olarak ortaya çıkarılamamıştır.



Şekil 4: İleri sürülen mekanizma ile sonuçlanan hipertiroidizmin neden olduğu miyopati.

2.9.Paraoksonaz/Arilesteraz (PON1)

Paraoksonaz-1 (PON1), 354 aminoasitli glikoprotein yapısında ve üç aktiviteli bir enzimdir. Bunlar paraoksonaz, arilesteraz ve diazoksonazdır (122). İnsan serum PON1 enzimi HDL ile ilişkili, antioksidan fonksiyona sahip olduğu kabul edilen bir enzimdir. Deneysel çalışmalarda PON1 enziminin HDL-kolesterol'un apo-A1 ve apo-J (Clustrein) proteinleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (123,124). PON1'i kodlayan gen, 7. kromozomun q 21-22 bölgesine yerleşmiştir. Paraoksonaz gen ailesinin PON1, PON2 ve PON3 olmak üzere üç üyesi vardır. PON2 ve PON3 105. pozisyonda lizin rezidüsü bulunmadığından paraoksonu hidroliz edemez ve plazmada bulunmazlar .

Paraoksonaz ve arilesteraz her ne kadar iki ayrı enzim olarak algılanırsa da, yapılan çalışmalar ve araştırmalar göstermiştir ki insan serumunda tek gen ürünü olan paraoksonaz enzimi hem arilesteraz, hem de paraoksonaz aktivitesine sahiptir (125). PON1'den bahsederken aslında PON1'in paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesinden bahsedeceğiz.

PON1'de 2 aminoasit polimorfizmi vardır. PON1 promotor bölgesinde bu polimorfizmlerden başka bilinen beş tane daha polimorfizm bulunur. Popülasyonlardaki polimorfik dağılım bireyler arasında farklılığa neden olur. Polimorfizm arilesteraz aktivitesini etkilemez, arilesteraz aktivitesi PON1 aktivitesindeki değişikliklerden bağımsız, esas olarak protein konsantrasyonunun göstergesi olarak kabul edilebilir. Yani PON1 aktivite polimorfizmi göstermeyen arilesteraz aktivitesine de sahiptir (126).

PON1 enzim aktivitesinin miyokard enfarktüsü, ailesel hiperkolesterolemi, diyabet ve kronik renal bozukluklarda azaldığı pek çok çalışma ile gösterilmiştir (123,127,128).

2.9.1. PON1 Enziminin Yapısı ve Aktivitesi

İnsan serum PON1 enzimi; karaciğerde sentezlenen, arildialkilfosfataz olarak da adlandırılan, kalsiyum (Ca) bağımlı ve 43-45 kDa molekül ağırlıklı bir ester hidrolazdır. Ca,enzimin hem aktivitesi hem de stabilitesi için gerekmektedir ve katalitik mekanizmada da rol oynamaktadır. Aktif bölgeden dietil-fosfatın uzaklaştırılması bu bölgenin uygun konformasyonel yapı kazanmasını sağlar (85). PON1'in yapısında bulunan N-terminal hidrofobik sinyal peptidi, HDL ile etkileşim için gerekmektedir.

PON1 enzimi N-terminal hidrofobik sinyal peptidi aracılığı ile fosfolipitlere ve lipoproteinlere bağlanır (130,131).

PON1 enzimi, karaciğer, böbrek, ince bağırsak başta olmak üzere birçok dokuda ve serumda bulunur. Yenidoğanlarda ve prematüre bebeklerde PON1 aktivitesinin yetişkindeki aktivitenin yaklaşık yarısı kadar olduğu bildirilmiş ve doğumdan yaklaşık bir yıl sonra erişkindeki düzeyine ulaştığı kaydedilmiştir (130). Serum PON1 aktivitesi, beslenme, akut faz proteinleri, gebelik, hormonlar, sigara kullanımı, simvastatin tedavisi ve apo A1 metabolizmasını etkileyen durumlardan etkilenmektedir (128). Ayrıca yapılan bir başka çalışmada ise, yaş ile PON1 enzim aktivitesi arasındaki ilişki incelenmiş ve PON1 enzim aktivitesinin yaşın artışıyla ilişkili olarak azaldığına dikkat çekilmiştir (132). PON1 enzim aktivitesi, genellikle paraoksonun substrat olarak kullanıldığı yöntemler ile ölçülür. Enzimin aktivitesi genetik ve çevresel faktörlerden etkilenmektedir (128,133).

2.9.2. PON1 Enziminin Fonksiyonu

Serum PON1 enzimi, paraoksondaki organofosfat ester bağının hidrolizinden sorumlu olan esterazdır (90). HDL, LDL'yi oksidasyondan koruyabilme yeteneğine sahiptir. Çeşitli mekanizmalar bu koruyucu rolün açıklanmasında önem kazanmaktadır. HDL ile ilişkili enzimlerin (PON1, Trombosit Aktive Edici Faktor Asetil Hidrolaz) oksidatif modifikasyonlara karşı lipoproteinleri koruduğuna inanılmaktadır (135). HDL kolesterol yapısında bulunan PON1 enzimi, minimal modifiye LDL'deki aktif lipidleri yıkar ve böylece arter duvarında yer alan hücrelerde enflamatuvar cevap oluşumuna karşı koruyucu etki gösterebilir (136). PON1, okside LDL'deki kolesteril linoleat hidroperoksitleri ve spesifik okside fosfolipidleri hidroliz eder. Oksidatif stres altında sadece lipoproteinler değil hücrenin yapısındaki lipidler de lipit peroksidasyonuna uğramaktadır. PON1 lipit peroksitlerinin aterosjenik etkilerini nötralize eder, hücre membranlarını koruyucu etki gösterir (127). En belirgin etkisini, ileri düzeyde değişikliğe uğramış LDL-K'deki kolesteril linoleat hidroperoksitleri hidroliz ederek gösterir. Ateroskleroz gelişiminde, oksidatif stres altında oluşan hidrojen peroksiti %25 oranında hidroliz eder. Bu özellik PON1'in peroksidaz aktivitesine sahip olduğunu göstermektedir (137). Bazı çalışmalarda LDL oksidasyonu esnasında PON1'in inaktive olduğuna ilişkin görüşler desteklenmiştir (135,137).PON1, HDL'yi oksidasyondan koruyarak HDL kolesterol'un ters kolesterol taşıma fonksiyonunun devamını sağlar. Bu

durum makrofajlarda kolesterol birikimini engelleyerek köpük hücre oluşumunu ve ateroskleroz gelişimi yavaşlatmaktadır (134,138)

2.9.3. PON-1 Genlerinin Polimorfizmleri

Epidemiyolojik ve moleküler çalışmalar, PON-1 geninde 55. ve 192. pozisyonlarda olmak üzere iki genetik polimorfizm olduğunu göstermiştir. Elli beşinci pozisyondaki polimorfizm, lösin yerine metionin geçmesi ile oluşmaktadır (PON-1-L55M) ve aktivitede önemli bir değişikliğe sebep olmamaktadır. Daha çok çalışılmış olan PON-1-Q192R polimorfizmde, 192. pozisyonda arjinin bulunan homozigot bireylerin (R genotipi) serumunda paraoksonu hidroliz eden aktivite yüksek, glutamin bulunan homozigot bireylerde (Q genotipi) aktivite daha düşük, heterozigot bireylerde ise orta düzeyde aktivite görülmüştür. Buna karşılık, bazı çalışmalarda PON-1'in Q alloenzimini içeren HDL'nin LDL'yi bakırla indüklenen oksidasyona karşı korumada daha etkili olduğu, bunun da nedeninin Q alloenziminin lipid peroksidleri metabolize etme aktivitesinin yüksekliği olduğu ileri sürülmüştür (139,140).

2.10. Lipit Hidroperoksit (LOOH)

Oksidatif stres ve serbest radikaller özellikle lipitlerde hasara neden olur. Yağ asitlerinin oksidasyonu reaktif bir radikal tarafından yağ asitlerinin metilen gruplarından bir hidrojen atomunun koparılması ile başlar. Karbon merkezli radikal oluşması ve daha sonra moleküler oksijenin bağlanması ile lipit hidroperoksidleri meydana gelir. Lipit hidroperoksidleri, lipit peroksidasyonunun erken aşamasını oluşturur. Lipit hidroperoksidlerinin yıkımı ile ise biyoaktif aldehitler oluşur. Bunlardan başlıcaları malondialdehit (MDA) ve hidroksialkenaller (örn. 4-OH-nonenal)'dir. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilir, ya da diffüze olarak diğer hücrelerde hasar yaratırlar. Aerobik bir ortamda gerek metabolizma reaksiyonları sırasında, gerekse dış etkenlere bağlı olarak meydana gelen oksijen kaynaklı radikaller, lipoproteinlerde ve hücre zarında bulunan lipitlerde (çoklu doymamış yağ asitleri, PUFA) oksidasyona neden olur. Lipit hidroperoksidleri ile nihai yıkım ürünü olan düşük molekül ağırlıklı MDA lipit peroksidasyonunun indeksi olarak kabul edilir. MDA'nın aldehit gruplarıyla ilgili tiyobarbitürik asit arasındaki reaksiyon sonucu oluşan renkli ürün 545 nm'de absorbans verir. Lipit hidroperoksidleri asidik ortamda Fe^{++} iyonunu, Fe^{+++} iyonuna oksitler. Fe^{+++} iyonunun *xyleneol orange* ile reaksiyona girerek oluşturduğu renk de 560 nm dalga boyunda okunur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Hasta Seçimi Ve Değerlendirilmesi

Çalışmayı 80 Hashimotolu hastadan 68 'i (35 ötiroid,33 subklinik Hashimoto) tamamlayabildiği için,38 kontrol ile birlikte 106 kişi üzerinde gerçekleştirildi.

Kişilere Hashimoto hastalığı tanısı, büyümüş tiroid bezinin tesbiti yanı sıra, yüksek anti TPO Ab ve/veya anti Tg Ab ve yüksek rezolüsyonlu ultrasonografide tiroidin tipik hipoekojenitesinin varlığıyla kondu. Hashimoto hastaları iki gruba ayrıldı. Birinci grup, ötiroid grup olup, hiç T4 replasman tedavisi almamış TSH,FT4,FT3 ü normal sınırlarda olan hastalardı. İkinci grup yine hiç T4 replasman tedavisi almamış, FT4, FT3 ü normal TSH'sı yüksek olan fakat 10'nu geçmeyen subklinik hipotiroidili hastalardı. Kontrol grubu sağlıklı olan ya da sadece demir eksikliği veya hafif demir eksikliği anemisi dışında patolojisi bulunmayan yaş,cinsiyet,vücut kitle indeksleri (VKi) uygun kişilerden seçildi.

Demir eksikliği varlığı için transferin saturasyon oranı %15'in altında olması ve / veya ferritinin 15ng/mL'in altında olması kriter olarak alındı. Demir eksikliği anemisi tanısını koymak için demir eksikliğinin varlığının yanında Hb nin 12g/dLnin altında olması gerekiyordu. Demir eksikliği tanısı vitamin B12,folik asid eksikliği anemisi, Beta talessemia minor, MDS, kronik hastalık anemisi gibi hastalıkları ekarte ederek kesinleştirildi.

Çalışma için Vakıf Gureba Eğitim ve Araştırma Hastanesinin yerel etik kurulundan izin alındı. Tüm hastalara ve kontrol grubuna çalışma hakkında ayrıntılı bilgi verildi ve yazılı aydınlatılmış onam formu alındı.

Çalışmaya katılan tüm kişilerde ayrıntılı anamnez alındı, ilaç kullanımı sorgulandı ve fizik muayene yapıldı. Rutin biyokimyasal tahlillerin yanında, tokluk kan şekeri, tam kan sayımı, ESR, sCRP, ferritin, ürik asid,lipid parametreleri, vitamin B12 , folat, anti-HCV, HBsAg, Anti-HIV 1-2 bakıldı.

3.1.1.Hasta Dışlama Kriterleri

Oksidatif stres parametrelerini etkileyecek ilaç (statin, fenofibrat,antioksidan vitamin,oral kontraseptif) kullanan, demir eksikliği, vitamin B12, folat eksikliği dışındaki anemisi olan, gastrektomi yapılmış olan,sıkı vejeteryan diyet yapan, sürekli gastrik yakınması olan, melena ve hematüri şikayeti olan,gaitada gizli kan testi pozitifliği olan, hamile emziren, menorajisi olan bayanlar,kronik renal hastalığı olan,DM,iskemik kalp hastalığı olan ,kalp krizi geçiren,alkol bağımlılığı olan,kanser,ciddi hiperlipidemi, kronik hepatit,karaciğer sirozu,KOAH,bronşial astım,kollejen doku hastalığı olan,sistemik enfeksiyon ve devam eden transaminaz yüksekliği olan, ciddi antioksidan özelliği olan hipertansiyon ilaçları (karvedilol,nebivolol,zofenopril,kaptopril) kullanan hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Kontrollü hipertansiyonu olan ve sigara içenler çalışmaya dahil edildi

3.2.Kan Örneklerinin Alınması

Tüm kanlar bir gece açlık sonrası sabah alındı ve -70°C de TAS, TOS, PON ,ARE stim-PON1, LOOHs,çalışılana kadar bekletildi.

3.2.1. Tiroid hormonlarının ölçümü

Tiroid hormonları ve TSH düzeyleri İmmulite 2000 (Roche) cihazı ile kemilüminens yöntemiyle ölçüldü. İmmulite 2000 de 3.jenerasyon TSH ,FT3 ,FT4 kimyasal kitleri kullanıldı.

3.2.2. Total Antioksidan Status (TAS)

Özcan Erel tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metottur(8). Fe^{2+} -o-dianisidine kompleksi hidrojen peroksid ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgen düşük pH'da renksiz odianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon 444 nm dalga boyunda "end point" ölçüm yapılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (8) (mmol Troloks Eqv./L).

Ölçüm kalibrasyonu: Renk oluşumun baskılanması TAS ölçüm yöntemi için standart olarak sıkça kullanılan Troloks (E vitamin analogu) ile ayarlandı.

3.2.3. Total Oksidan Seviye (TOS)

Özcan Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir (7). Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyon oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin siddeti ana dalga boyu 560, ikinci dalga boyu 800 nm olan bikoromatik ölçüm kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçüldü (7).

Metod H₂O₂ kalibre edildi ve sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv./L}$ olarak verildi.

3.2.4. Oksidatif stres indeksi (OSİ)

Oksidatif Stres İndeksi (OSİ): Total Oksidan Status (TOS)'un Total Antioksidan Seviye (TAS)'ye bölünmesi ile hesaplandı (7,8). Oksidatif stresin derecesini gösterir.

OSİ (arbitrary ünite): $\text{TOS}(\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv./L}) / \text{TAS}(\text{mmol Troloks Eqv./L})$.

3.2.5. Paraoksonaz ve arilesteraz aktivitelerinin ölçümü

Paraoksonaz aktivitesi ölçümleri tuzla uyarılmış aktivite için NaCl mevcudiyetinde ve bazal aktivite için NaCl yokluğunda spektrofotometrik olarak yapıldı. Paraoksonaz'ın enzimatik hidrolizi sonucu oluşan p-nitrofenol'ü 37C'de ve 412 nm deki oluşumu ölçülerek, paraoksonaz aktiviteleri incelenmiştir. P-nitrofenol meydana geliş miktarı $18290 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ve Ph 8,5 da molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak hesaplandı. Paraoksonaz aktivitesi için 1 ünite = 1 mikromol p-nitrofenol/ml serum/dk olarak tanımlandı (10). **Birim: U/L**

Arilesteraz aktivitesinin ölçümünde substrat olarak fenil asetat kullanıldı. Enzimatik aktivite $1310 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ de fenol üretiminin molar absorpsiyon katsayısı kullanılarak hesaplandı. Arilesteraz aktivitesinin bir ünitesi yukarıda sözü geçen koşullar altında dakikada 1 ünite = 1 mikromol fenol/ml serum/dk olarak tanımlandı (141).

Birim: U/L

3.2.6. LOOHs ölçümü

Bu method yine TOS ölçümüne benzer bir yöntemle ile asidik ortamda lipid hidroperoksitlerin ferröz iyonla dönüştürülmesi ve ferrik iyonların “xylenol orange” ile 560 nm de renk oluşturması esasına dayanır. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv./L}$ olarak verildi.

3.2.7. PON1 fenotiplenmesi

Bu metoda göre paraoksonaz aktivitesi 1M(Molarite) NaCl ile stimüle edildiğinde artarken, arilestereaz aktivitesinde ise düşme olduğu tespit edilmiştir.Bu analizde trimodal dağılım izlenir.Geniş-düşük aktivite piki ‘düşük aktiviteli homozigotları (QQ)’,orta –yüksek aktivite piki ‘ heterozigotları (QR) ‘, Küçük-yüksek aktivite piki ise ‘yüksek aktiviteli homozigotları (RR)’ temsil eder.

3.3. İstatistiksel İncelemeler

İstatiksel analizler için SPSS 11. 5 versiyonu kullanıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uyup uymadıkları ‘One sample colmogorov simirnov test’ ile araştırıldı. Normal dağılım sürekli değişkenler ortalama ve standart sapma olarak verildi , bağımsız gruptaki oranlar Chi- Square testi ile karşılaştırıldı. “One way anova”, “Tukeys post hoc test” kullanıldı .

Çift yönlü p değerinin <0.05 den küçük olması anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Veriler

Çalışmaya 35 ötiroid Hashimoto (EH) (34 kadın, bir erkek), 33 subklinik hipotiroidili Hashimoto (SHH) (29 kadın , dört erkek) ve 38 kontrol (34 kadın dört erkek) toplam 106 kişi dahil edildi. EH hasta grubunda yaş ortalaması $41,2 \pm 12,9$, SHH hasta grubunda yaş ortalaması $40,6 \pm 12,1$ ve kontrol grubunda yaş ortalaması $39,3 \pm 9,2$ idi. Vücut kitle indeksleri (VKİ) ise EH, SHH ve kontrol grubunda sırasıyla $25,7 \pm 6,1$, $40,6 \pm 12,1$ ve $39,3 \pm 5,1$ olarak hesaplandı. EH da 6, SHH da 7 ve kontrol grubunda 5 kişi sigara kullanmaktaydı

Ötiroid Hashimoto (EH) ve Subklinik hipotiroid Hashimoto (SHH) hasta grupları ile kontrol grubu yaş, cinsiyet, VKİ, sigara içen kişi sayısı, hipertansiyonu olan kişi sayısı, demir eksikliği ve demir eksikliği anemisi bulunan kişi sayısı bakımından benzerdi (Tablo 11) .

Tablo 11:Grupların demografik özellikleri

Parametreler	Grup1 EH		Grup 2 SHH		Kontrol		P
	mean	±sd	mean	±sd	Mean	±sd	
Kadın/Erkek (n)	34/1 (35)		29/4 (33)		34/4 (38)		0.334
Demir eksikliği olanlar, (n)	10		13		12		0.620
Demir eksikliği anemisi olanlar, (n)	4		5		10		0.224
Sigara içenler, (n)	6		7		5		0.666
Hipertansiyonu olanlar (n)	5		3		2		0.484
VKİ	25,7	6.1	28.1	5.5	27.2	5.1	0,225
Yaş ,yıl	41.02	12.9	40.60	12.1	39.34	9.2	0,805

4.2. Ötiroid ve Subklinik Hashimotolu Hastaların Birbirileri ile ve Kontrollerle Tiroid Hormonları, Biyokimya ve OS Parametreleri Açısından Karşılaştırılması (Tablo 12)

Tablo 12: Grupların seçilmiş rutin kan değerleri ve oksidatif stres parametreleri

Parametreler	Normal Aralık	Grup 1 EH		Grup 2 SHH		Kontrol		P degeri			
		mean	±sd	mean	±sd	mean	±sd	Grup1-Grup2-Kontrl	Grup1-Grup2	Grup1-Kontrl	Grup2-Kontrl
TSH,(µIU/mL)	0.27-4.2	2.63	1,02	6.38	2.11	1.65	0.87	<0.001	<0.001	0.01	<0.001
FT3, (pg/mL)	2.0-4.4	3,00	0,28	2,87	0,37	2,89	0,26	0,137	-	-	-
FT4, (ng/dL)	0.93-1.7	1,24	0,12	1,09	0,15	1,13	0,10	<0.001	<0.001	0.002	0.362
Hb, (g/dL)	12.7-18.1	12.9	1.2	12.9	1.4	12.8	1.25	0.729	-	-	-
Htc, (%)	37.7-53.7	38.6	3	38.4	3.7	38.3	3.4	0.757	-	-	-
Plt, (K/uL)	142-424	283,3	66,3	293,6	91,2	275,1	65,3	0,582			
MPV,(fL)	0.00-99.9	8,62	1,26	8,47	1,22	8,02	0,95	0,072			
Ferritin,(ng/mL)	13-150	40,7	38,4	40,5	39,5	34,4	24,3	0,690	-	-	-
Transferin sat. oranı (%)	20-35	24	11,8	27,7	17,8	22,02	9,8	0,211	-	-	-
Vitamin B12, (pg/mL)	191-663	347	218,8	370,2	221,3	312,1	96,8	0,417	-	-	-
Folat, (ng/mL)	4.8-37.3	9,8	2,9	9,1	2,5	9	2,2	0,336	-	-	-
ESR, (mm/h)	5-15	14,9	10,1	18,8	13,6	14,6	12,1	0,273	-	-	-
sCRP,(mg/dL)	0-0.8	0,71	1,6	0,45	0,44	0,30	0,29	0,209	-	-	-
T.kolesterol, (mg/dL)	<200	189,7	36,1	203,1	45,5	191,8	37,7	0,330	-	-	-
HDL kol,(mg/dL)	>65	61,5	12,4	56,8	11,8	58,7	14,1	0,326	-	-	-
LDL kol,(mg/dL)	60-150	110,9	31,4	121,7	36,5	114,4	32	0,397	-	-	-
Trigliserid, (mg/dL)	<200	86,9	31,8	124,8	91,8	92,8	41,7	0.022	0,028	0,907	0,068
Ürik asit,(mg/dL)	2.4-5.7	3,6	0,61	4,07	0,99	4,07	1,35	0,105	-	-	-
TAS(mmolTrolox Eq/L)		1,01	0,26	1,04	0,33	1,09	0,28	0,510	-	-	-
TOS(µmol H2O2 eq/L)	Ud	4,29	1,41	4,33	1,50	3,23	1,29	0.001	0,990	0,005	0,004
OSİ (AU)	Ud	0,431	0,124	0,431	0,128	0,307	0,136	<0.001	0,999	<0.001	<0.001
ARE (U/L)	Ud	355,6	108,5	367,9	159,4	284,9	119,1	0.017	0,920	0,059	0,024
PON (U/L)	Ud	117,3	68,2	126,3	89,1	139,2	76,7	0,487	-	-	-
LOOHs (µmol H2O2 eq/L)	Ud	1,423	0,766	1,360	0,595	1,495	0,773	0,734	-	-	-

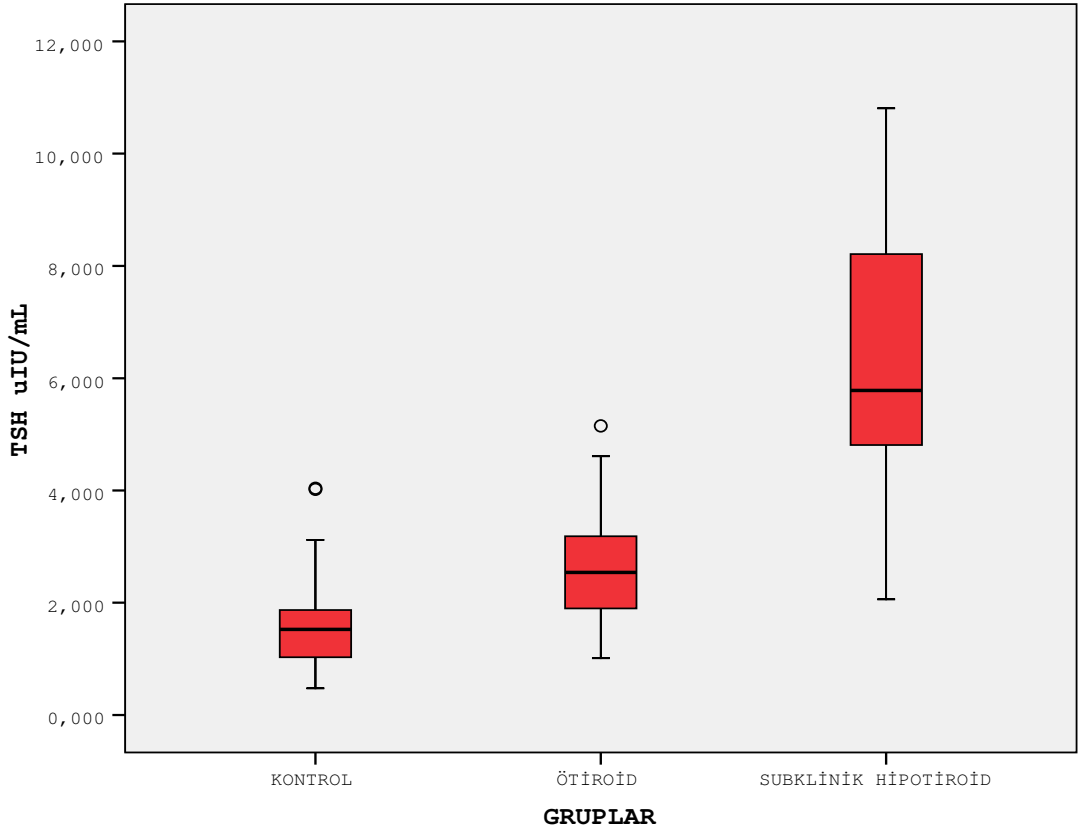
Bu tablonun istatistikleri “One-way anova testi” ve “Tukeys post-hoc testi” ile yapılmıştır

4.2.1. Tiroid hormonları açısından grupların karşılaştırılması:

Gruplar serum TSH değeri açısından birbirinden farklıydı (Tablo 13). Ötiroid Hashimoto (EH) hastalardaki ortalama serum TSH değeri normal sınırlar içinde olmakla birlikte kontrol grubundan anlamlı olarak yüksekti ($p:0.01$). Subklinik hipotiroidili Hashimoto (SHH) hastalarındaki ortalama TSH değeri normal aralığın üzerinde ve EH lu hastalardan ve kontrol grubundan anlamlı olarak yüksekti .

($p<0.001$) Şekil 5 Tablo:12

Serum FT3 düzeyi üç grupta birbirine benzerdi. SHH lu hastalarla kontrol grubu serum FT4 düzeyi açısından birbirine benzer olup, EH lu hastalarda serum FT4 değeri SHH'li hastalardan ve kontrollerden anlamlı olarak yüksektir. Tablo 12

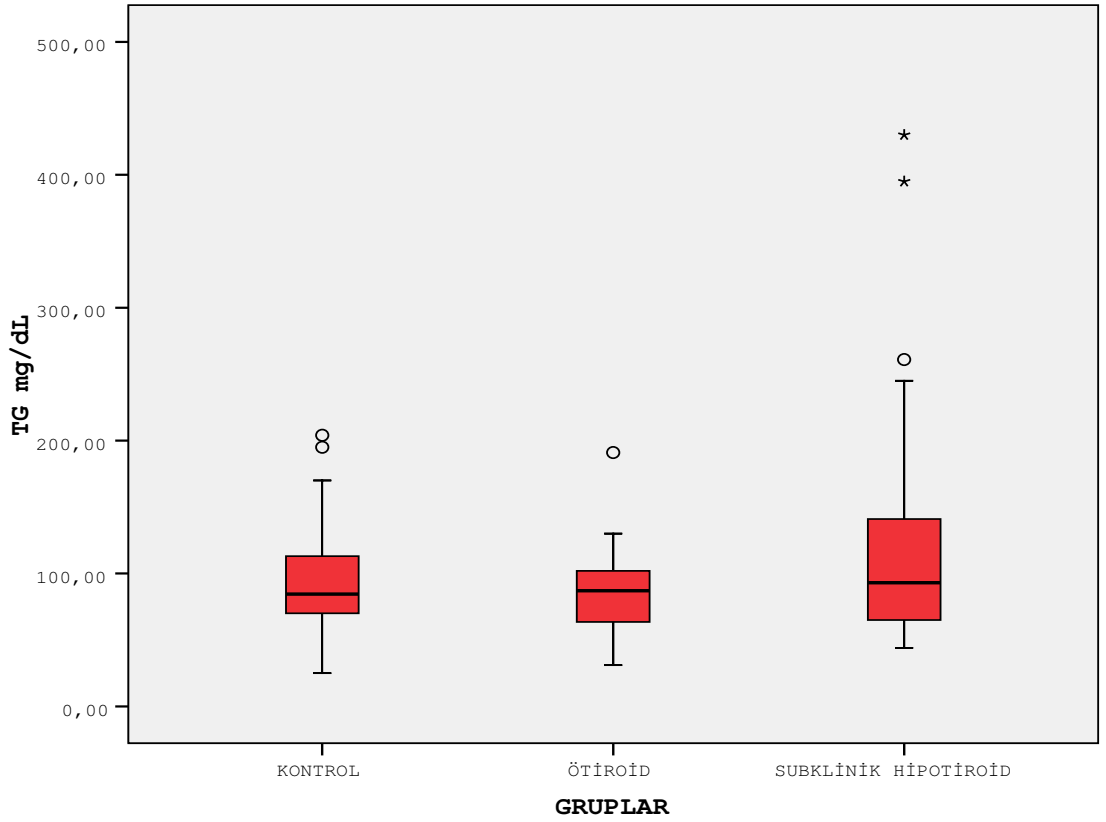


Şekil 5: Grupların ortalama TSH düzeylerinin grafiksel gösterimi

4.2.2. Biokimya ve rutin kan analizleri yönünden grupların karşılaştırılması:

Hb, Htc, platelet, MPV, ESR, sCRP, Ferritin, folik asid, Vitamin B12, Total kolesterol, HDL, LDL, ürik asid değerleri açısından gruplar benzerdi. (Tablo 12)

Serum trigliserid düzeyi SHH grubunda EH grubundan anlamlı olarak (p:0.028) kontrol grubundan ise anlamlılığa yakın olarak yüksekti (p:0.068). Kontrol grubu ile EH grubu ortalama serum trigliserid değerleri açısından birbirine benzerdi (p:0.907) (Şekil:6)



Şekil 6: Grupların ortalama TG düzeylerinin grafiksel gösterimi

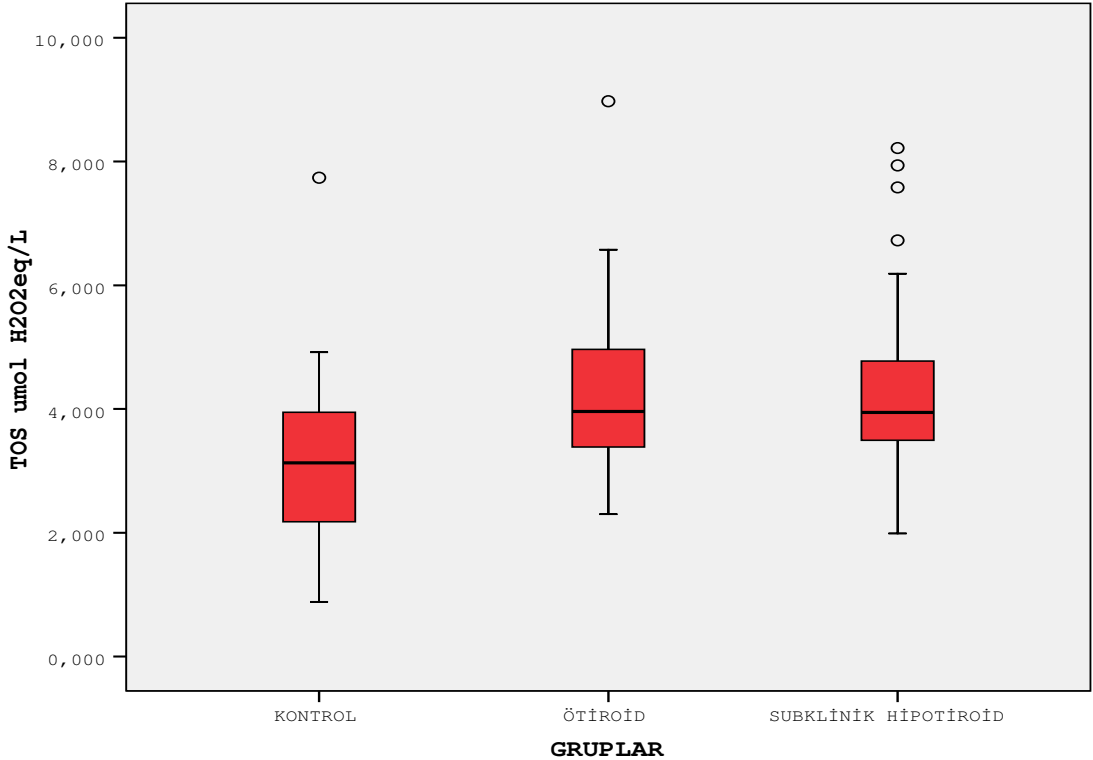
4.2.3.Oksidatif stres parametreleri açısından grupların karşılaştırılması:

Serum TAS ,PON ve LOOHs değerleri açısından 3 grup birbirine benzerdi. Serum ARE değeri açısından EH grubu ve SHH grubu benzerdi. EH grubunda ARE değeri kontrol grubundan anlamlılığa çok yakın olarak yüksekti. SHH grubunda ARE düzeyi kontrol grubundan anlamlı olarak yüksekti.

EH ve SHH gruplarının serum TOS ve OSİ değeri kontrol gurubundan anlamlı olarak yüksekti, fakat kendi aralarında TOS ve OSI açısından birbirine benzerdi.

4.2.2.1. TOS Sonuçları

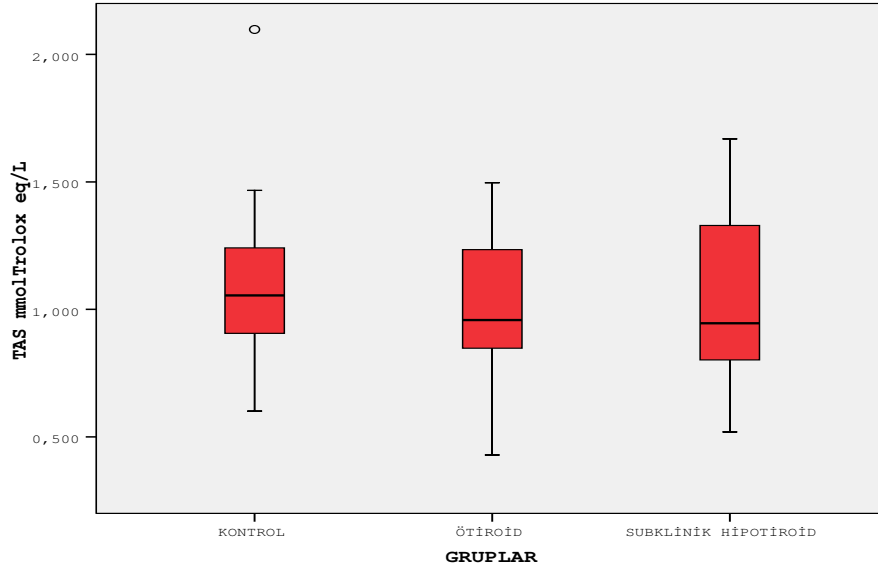
EH ve SHH gruplarının serum TOS değerleri, kontrol grubundan anlamlı olarak yüksekti ($p<0.001$).Fakat kendi aralarında EH'Lİ ve SHH'li hastalar TOS açısından birbirine benzerdi ($p:0.990$) (Şekil:7, Tablo 12)



Şekil 7:Grupların ortalama TOS düzeylerinin grafiksel gösterimi

4.2.3.2.TAS Sonuçları

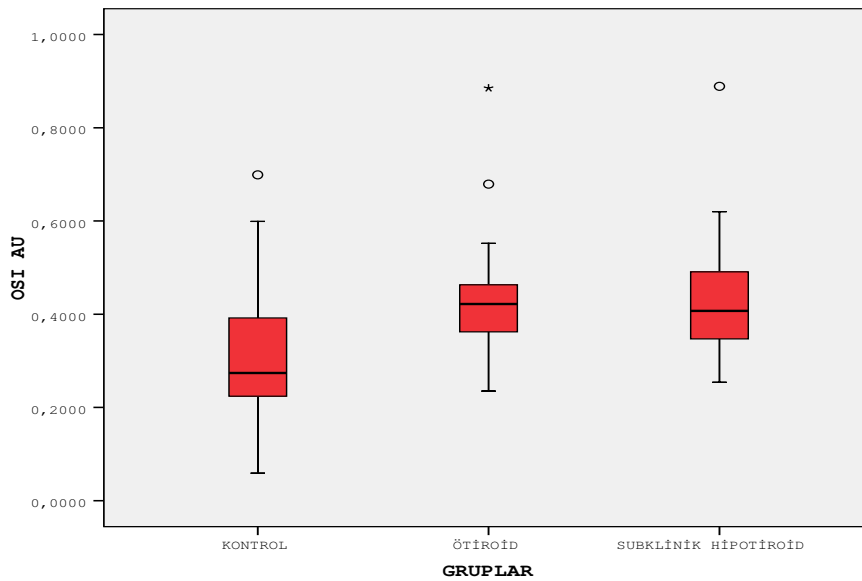
Gruplar arasında TAS düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu. (sırasıyla 1.01 ± 0.26 , 1.04 ± 0.33 , 1.09 ± 0.28) $p:0.510$ (Şekil:8 Tablo 12).



Şekil 7:Grupların ortalama TAS düzeylerinin grafiksel gösterimi

4.2.3.3.OSİ Sonuçları

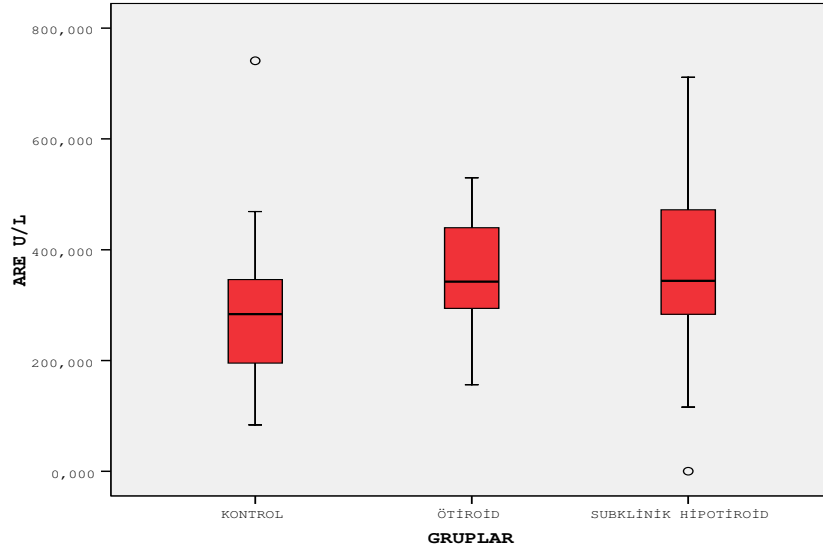
EH ve SHH gruplarının serum OSİ değeri kontrol gurubundan anlamlı olarak yüksekti ($p<0.001$). Fakat kendi aralarında OSI açısından birbirine benzerdi $p:(0.999)$. (Şekil:9 Tablo.12)



Şekil 8:Grupların ortalama OSI düzeylerinin grafiksel gösterimi

4.2.4. Arilesteraz aktivitesi

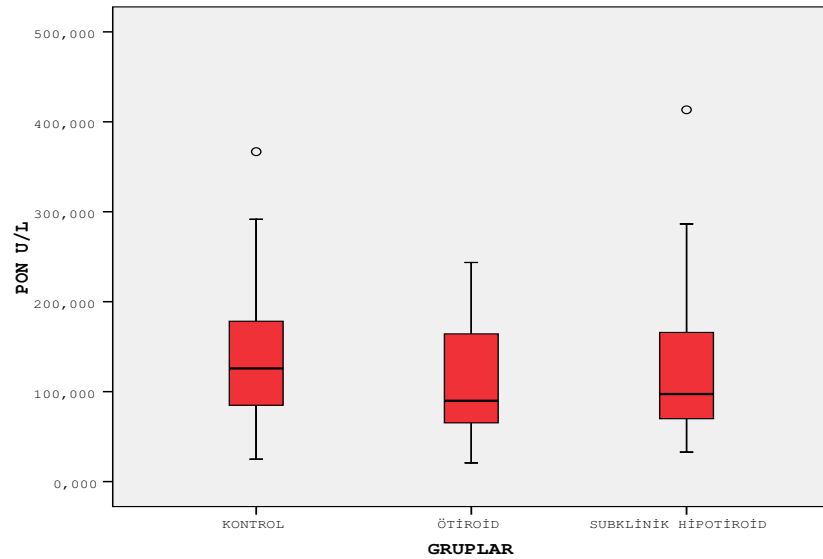
Serum ARE değeri açısından EH grubu ve SHH grubu benzerdi (p:0.920). EH grubunda ARE değeri kontrol grubundan anlamlılığa yakın olarak yüksekti (p:0.059). SHH gurubunda ARE aktivite düzeyi kontrol grubundan anlamlı olarak yüksekti (p:0.024). (Şekil 10 Tablo 12).



Şekil 9: Grupların ortalama ARE aktivite düzeylerinin grafiksel gösterimi

4.2.3.5. Paraoksonaz aktivitesi

Gruplar arasında serum PON aktivite düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p:0.487) Şekil:12



Şekil 10: Grupların ortalama PON aktivite düzeylerinin grafiksel gösterimi

4.2.4.PON1 fenotipleme

Tablo 13: Grupların PON 1 fenotiplendirmesi

Kişilerin PON1 fenotiplendirmeleri	Sayı	QQ	QR	RR	P
Grup 1,2 Hashimoto hastaları, n	68	25 (%36,8)	31 (%45,6)	12 (%17,6)	0.303
Kontrol, n	37	10 (%27)	22 (%55,5)	5 (%13,5)	
Ortalama normal değer	100	48%	42%	11%	

Bu tablonun istatistikleri ki-kare testi ile yapılmıştır

Tablo 13’de görüldüğü gibi RR fenotipi en yüksek aktiviteye sahip olmasına rağmen genel popülasyonda en az bulunan gruptur.

Hashimoto hastaları PON1 fenotipi dağılımı bakımından kontrol grubuna benzerdi, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (p:0.303).

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda ötiroid Hashimoto (EH) ve subklinik hipotiroidili Hashimoto (SHH) hastalığında oksidatif stres parametlerinin nasıl değiştiğini ve Hashimoto hastalığı ile PON1 fenotipi arasında ilişki olup olmadığını araştırdık.

Hashimoto hastalığı tiroid otoantijenlerine yönelik otoimmün yanıt sonucu oluşan endokrin sistemin sık görülen hastalığıdır. Hashimoto tiroiditindeki otoimmün olay tiroid stimülasyonundan çok tiroid dekstrüksiyonu şeklinde seyrederek. Hashimoto tiroiditinde immün regülasyonundaki bozulma tiroid glandındaki immün hücrelerin etkilenmesi ile sonuçlanır. Lenfositler, tiroid antijenlerine karşı sensitize olur ve oluşan antikorlar TG ve TPO gibi tiroid antijenleri ile etkileşirler. Lenfosit infiltrasyonu ve normal tiroid doku mimarisinde genel bir dekstrüksiyon oluşur (142).

Serbest radikal üretimi antioksidan savunma sistemini aştığı zaman hücrelerde oksidatif stres meydana gelir ve sonuçta oksidatif hasar gen ekspresyonunda, protein yapı ve fonksiyonunda, lipid ve membran bütünlüğünde değişikliğe neden olur. Oksidatif stresin de bir çok hastalığın gelişiminde önemli rol oynadığı ve birçok hastalık grubunda hücre hasarı ve hücre ölümüne katkıda bulunduğu kabul edilmektedir(55).

Farklı oksidan moleküllerin (H_2O_2 , LOOHs, SOD gibi) ayrı ayrı ölçülmesi pratik olmadığı ve oksidanların etkileri additif olduğu için serumda total oksidatif statusu (TOS) ölçen yöntemler geliştirilmiştir (7). Antioksidanlar birbirleri ile sürekli etkileşim ve yapılanma içerisinde olduklarından ve farklı antioksidanlar oksidatif durum üzerine additif etki gösterdiklerinden, her antioksidanın tek başına ölçülmesi antioksidan defans sistemini tam anlamıyla yansıtmayabilir. Dolayısıyla yüksek riskli gruplarda eş zamanlı tüm antioksidan panelin çalışılması gerekebilir ancak pratikte eş zamanlı tüm antioksidanların kullanımı zor, zaman alıcı ve pahalıdır. Bu anlamda total antioksidan seviyenin (TAS) ölçümü antioksidan durumun saptanmasında önemli bir ölçüm metodudur (8). Oksidatif stres indeksi (OSİ), total oksidanların total antioksidanlara bölünmesi sonucu elde edilen bir parametredir. OSİ, oksidanların artması veya antioksidanların azalması sonucunda artarak kompanze edilemeyen serbest radikallerin artışının, lipitlerde peroksidasyon, proteinlerde oksidasyon reaksiyonlarının ve DNA

hasarlarının oluşabileceğini gösteren bir belirteçtir. Oksidatif stresi kompanze edebilecek düzeyde antioksidanların bulunması oksidan ve antioksidanların normal düzeylerde olduğunu göstermektedir. Budurumda oksidatif stres indeksi düşük olacağı için oksidatif stresin neden olduğu lipid peroksidasyonları, protein oksidasyonu ve DNA hasarları beklenmemektedir.

Çalışmamızda Hashimoto hastaları oksidatif stres parametleri bakımından kontrol grubuyla karşılaştırıldığında; EH ve SHH'li hastalarda TOS, OSİ ve ARE kontrol grubundan yüksek bulundu. TAS, PON, LOOHs kontrol grubuna benzerdi. Hashimoto tiroiditli hastalarda oksidatif stresin artışı oksidanların artışına bağlıdır. Çünkü çalışmamızda antioksidanlar kontrollerle benzer bulundu. ARE, EH'li hastalarda anlamlılığa çok yakın ($p=0.059$), SHH'li hastalarda anlamlı ($p:0.024$) olarak yüksekti. Antioksidan PON1 enziminin molekül konsantrasyonunu gösteren ARE komponentinin yüksek bulunup, paraoksonaz aktivitesinin kontrollere benzer bulunması, PON1 üretiminin stimüle olduğunu fakat paraoksonazın tüketildiğini göstermektedir(137).EH ve SHH'li hastalarda TOS benzer şekilde artmış fakat istatistiksel olarak anlamlı olmasa da SHH'de biraz daha fazla TOS artışı gözlenmiştir ($p:0.004$).Belki de bu TOS artış eğilimi PON1'in daha fazla stimüle olmasına yol açmış olabilir. Paraoksonaz artmış oksidatif strese karşı LOOHs oluşumunu engelleyen bir enzimdir. Bu sebeple Hashimoto tiroiditli hastalarda paraoksonaz, LOOHs üretimini engellerken tüketilmiş olmalı ki bu hastalarda LOOHs ve paraoksonaz kontrollere benzer bulunmuş olmalıdır.

Levotiroksin tedavisi almayan ve ötiroid durumda olan Hashimoto hastalarında oksidatif stresin bizden önce araştırıldığı tek çalışmada Jerenova ve arkadaşı, lipid peroksidasyon markeri malondialdehid (MDA), hücre içi enzimatik antioksidan madde olan süperoksit dismutazı (SOD) kontrol grubu ile benzer bulmuş, ve yine hücre içi enzimatik antioksidan olan glutatyon peroksidazı (GPX) ve katalazı (CAT) kontrol grubundan düşük bulmuşlardır. Sonuç olarakda Hashimoto hastalığının her döneminde hücre için antioksidan sistemin yetersiz olduğunu tesbit etmişlerdir (18).Fakat bu markerler bir hastalıkta oksidatif stres hakkında genel tabloyu göstermede yetersizdir. Biz ise serumda daha önce başka bir çalışmada bakılmamış olan nonenzimatik bir çok oksidanın additif etkisiyle oluşan TOS'u yüksek ve yine serumda nonenzimatik birçok antioksidanın additif etkisi ile ortaya çıkan TAS'ı, lipid peroksidasyon markeri LOOHs' u ve çok önemli bir antioksidan madde olan paraoksonaz'ı kontrollere benzer

bulduk. Aynı zamanda PON1 üretiminin stimüle olduğunu gösteren ARE aktivitesini de yüksek bulduk. Sonuçta Hashimoto hastalığında OSİ'nin arttığını tesbit ettik.

EH ve SHH hastalar, çalışmamızda kullandığımız tüm oksidatif stres parametreleri yönünden benzerdi. Subklinik hipotiroidinin (SHH) oksidatif stresi artırıp arttırmadığı tartışmalıdır. Bu konuda yayın az ve sonuçlar çelişkilidir. Değişik etiyojili subklinik hipotiroidili kişilerde oksidatif stresle ilgili üç yayın bulduk.

Bu çalışmaların birincisinde Torun ve arkadaşları SHH'de, serumda TAS'ı değişmemiş ve lipid peroksidasyon markeri olan MDA'yı artmış olarak bulmuşlardır. Aynı zamanda MDA düzeyindeki artışla, kolesterol ve trigliseritlerdeki artışın korrelasyon gösterdiğini tesbit etmişler. Sonuç olarak hipotiroidili hastalardaki oksidatif stresin artışı, bu hastalardaki yetersiz antioksidan savunmaya ve lipid metabolizmasındaki değişikliğe bağlamışlar (16). İkinci çalışmada ise Kepabçılar ve arkadaşları da ,SHH'de serumda başka bir lipid peroksidasyon markeri olan TBARS düzeylerini kontrollerle karşılaştırmışlar.TBARS düzeylerinde L- tiroksin tedavisi önce ve sonrasında değişme olmadığını tesbit etmişlerdir (21).Üçüncü çalışmada ise SHH'lu hastalarda ARE,NO ve TBARS kontrol grubuna benzer bulunmuştur (20). Buradan da görüldüğü gibi bir çalışmada lipid peroksidasyonu subklinik hipotiroidide artmış ama diğer iki çalışmada kontrol grubuna benzer bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da subklinik hipotiroidili hastalarda lipid peroksidasyon markeri LOOHs kontrollere benzer bulunmuştur. ARE bizim çalışmamızda kontrol grubundan yüksek bulunmuşken bizden başka ARE bakılan tek çalışmada ARE kontrollere benzer bulunmuştur (20).Sonuç olarak bizim çalışmamızdan önce EH hastalarında yapılan tek çalışmada ve SHH hastalarında yapılan üç çalışmada NO dışındaki oksidan ve ARE dışındaki antioksidanlar araştırılmamış ve oksidatif stresin arttığını gösterebilecek tek parametre olarak lipid peroksidasyon markeri bakılmıştır.

Bizim çalışmamızda ötiroid Hashimotolu hastaların subklinik hipotiroidi evresine geçmiş Hashimotolu hastalarla oksidatif stres açısından benzer olduğu ortaya konmuştur. Ama çalışmamızda subklinik hipotiroidili hastalar uniform olarak sadece Hashimotolu hastalardan oluşmakta ve hastaların ortalama TSH değerleri 10 U/L'nun altındadır. Diğer üç çalışmada da hastaların ortalama TSH düzeyi 10 u/L'nun üzerindedir ve hasta grubunda Hashimoto hastalığından başka etiyojili hastalar da vardır (tiroidektomi, idiopatik hipotiroidi gibi).

Çalışmamızda serum trigliserid (TG) düzeyi SHH'li hastalarımızda EH'li hastalardan anlamlı olarak, kontrol grubundan anlamlılığa yakın olarak yüksekti. Bu aşikar hipotiroidide ve subklinik hipotiroidi de lipidlerin yükselmesi ile ilgili olabilir. Zaten Torun ve arkadaşları yaptığı çalışmada TG düzeylerinin hipotiroidinin bütün evrelerinde arttığını göstermişlerdir (16). Son zamanlarda da yapılan bir çalışmada da serum TG düzeyinin SHH'li hastalarda, EH'li hastalara göre anlamlı olarak arttığını belirtmişlerdir(143). Bunun dışında tüm biyokimya ve hemogram parametreleri açısından kontrol grubu ile EH ve SHH'li Hashimotolu hastalar birbirine benzerdi.

Hashimoto hastalarında artmış TOS ve OSİ hastalığın gelişiminden önce bu hastalarda mevcut olabilir. Ya da tiroiddeki inflamasyon buna sebep olmuş olabilir. Hangisinin önce olduğunu kesin olarak söylemek zordur. Çalışmamızda Hashimoto hastalarında sCRP, ESR, ferritin, lökosit sayısının kontrollere benzer bulunması bu hastalarda artmış oksidatif stresin inflamasyona bağlı değil, primer olabileceğini lehine yorumlanabilir.

Duthoit ve arkadaşlarının iki çalışması konumuzla yakından alakalı olduğu için aşağıda verilmiştir(144,145):

'Tiroglobulin (Tg) tiroid hormonları T3 ve T4 ün prekürsörü olan 660kDa'luk bir glikoproteindir. Tiroid hormonlarının üretimi için iyoda ihtiyaç vardır, iyot tiroid hücreleri tarafından tutulur ve bu hücrelerin apikal kısmına iletilir, burada spesifik membran enzimi olan, tiroid peroksidaz (TPO) tarafından iyodinasyon ve eşleşme (coupling) işlemleri gerçekleşir. Tiroid bezinde iyodinasyonla ve tiroglobulinin içindeki spesifik tirozin rezidülerinin intramoleküler eşleşmesiyle T3 ve T4 hormonları oluşur. Bu olay, hormon sentezinde oksidatif reaksiyon sırasında oluşan ,elektronların alıcı olarak görev yapan H₂O₂ üretimi ile sınırlandırılır. H₂O₂ flavoprotein Ca-bağımlı NADPH oksidaz olarak bilinir, tiroid hücrelerinin apikal membranında da işlev görür. H₂O₂ ,TSH uyarısıyla büyük miktarlarda üretilir. Ve hücrelerin lipid ,protein, ve DNAsına oksidatif hasar vererek toksik etki gösterebilir. Ağır hücre hasarını önlemek için tiroid hücreleri SOD, CAT, GPx, GRH gibi enzimatik antioksidanlar, vitamin C ve E, karotenoid, GSH,ürük asid gibi nonenzimatik antioksidan sistemler kullanır.H₂O₂ dozuna bağlı olarak, hücreler nekroz yada apoptozisle ölürler.

In vitro tiroid hormon sentezi sırasında H₂O₂ stresi, tiroglobulini (Tg) C-terminal peptidleri şeklinde parçalara ayırdığını daha önceki çalışmada gösterilmiştir.(143). Bu

peptidlerin, Tg'nin immünodominant bölgesini taşıdıkları bulunmuştur ve bu bölge, otoimmün tiroid hastalığı olan kişilerden alınan Tg oto-antikoru tarafından tanınmaktadır. Tg fragmentasyonunun Tg otoimmün yanıtında yer alan, erken dönemli önemli bir başlatıcı olay olduğu hipotezini ve oksidatif hasarların sonuçlarını test etmek için, H₂O₂ stresinin insan tiroid hücreleri üzerindeki etkisini incelendi. Hücrelerin Tg sentezi ve iyot organifikasyonu yapabilmelerinin sağlandığı kültür koşullarında, bolus şeklinde eklenen ve giderek arttırılan milimolar H₂O₂ dozlarının, kültür ortamında doza bağlı bir şekilde, yüzer hücrelerin ortaya çıkışını indüklediğini bulundu. Bu hücrelerin nekrotik bir prosesin sonucunda oluştuğu açıklandı ve iyotlu Tg fragmanları taşıyorlardı. Bu fragmanların, daha önce pürifiye Tg'den in vitro ortamda elde edilenler ile benzer oldukları bulundu. Her iki durumda da, Tg peptidleri, Tg'nin immünodominant bölgesine karşı yönlendirilmiş, iyi bilinen bir monoklonal antikor tarafından tanınmıştı. En küçük immünoreaktif Tg peptidinin moleküler kütlesi 40 kDa'du ve insan tirositlerine bütün haldeki Tg'den daha kolay ve etkin bir şekilde girmektedir. Bu veriler, lokal olarak yüksek H₂O₂ dozlarına maruz kalan tirositlerin Tg fragmanlarını biriktirdiklerini ve daha sonra bir otoimmün yanıt sürecinde bu fragmanları çevredeki canlı tirositlere aktardıklarını düşündürmektedir.'

Bazı kişilerde genetik veya çevresel faktörlere bağlı primer olarak bulunan artmış oksidatif stres, tiroid glandında hormon sentezi sırasında oluşan H₂O₂'den kaynaklanan oksidatif stresi daha da arttırarak antioksidan defans sistemi tarafından sınırlandırılmasını yetersiz kılabilir. Çalışmamızda Hashimoto hastalarında bulduğumuz yüksek TOS ve OSI'den yola çıkarak, bilemediğimiz sebeplere bağlı olarak zaten TOS ve OSI'si yüksek olan kişilerde Hashimoto hastalığının daha sık olarak geliştiği ileri sürülebilir.

Duthoit ve arkadaşlarının çalışmasından ve bizim çalışmamızdan yola çıkarak iki öneride bulunabilir. Birincisi antioksidan tedavi Hashimoto hastalığının progresyonunu ya da ortaya çıkışını engellemek için kullanılabilir. Gerçekten de selenyum tedavisi Hashimoto hastalarında otoantikor titresini (TPO ve TG antikoru) düşürmektedir (146). Annesi veya kardeşi Hashimoto hastası olan kişilerde bu hastalığın ortaya çıkışı çok muhtemeldir. Bu kişiler profilaktik olarak antioksidan gıdalara yönlendirilebilirler. İkincisi ise levotiroksin tedavisi ile tiroid bezini istirahata alarak, tiroid hormon üretimini durdurup otoantikor gelişimini engellemektir. Bu önerimizi de destekleyen iki

çalışma vardır. Bu iki çalışmada levotiroksin tedavisi ile tiroid otoantikörleri titresinin düştüğü, tiroid bezinin küçüldüğü gösterilmiştir (147,148)

TSH'ı 10 u/L'nun altında olan Hashimotolularda tedavi verip vermemek tartışmalıdır. Bu grup hastalar, uykuya eğilim, kilo alımı, kabızlık, üşüme gibi semptom ve bulgulara sahip olabilir ve bu hastalar levotiroksin replasman tedavisi almalıdır. Ama asemptomatik olanların da ateroskleroz gelişimi riski ve henüz bilmediğimiz başka riskleri taşıdığına dair kaygılar vardır. Bu grup Hashimotolu hastalara tedavi verme konusunda görüş birliği yoktur.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre rutin biyokimya (trigliserid hariç) ve oksidatif stres parametreleri açısından EH grupla TSH'sı 10'nun altında olan SHH grup arasında bir fark yoktur. Çalışmamız bu açıdan konuya ışık tutabilir.

PON1 paraoksonaz, aril esteraz ve diazoksonaz olmak üzere üç enzim aktivitesine sahiptir. PON1 aktivitesi genetik olarak belirlendiği gibi diyet, yaşam stili ve çevresel faktörlerden de etkilenir. Aynı zamanda sigaranın da serum PON 1 aktivitesini azalttığı gösterilmiştir (128,133).

Ağaçhan ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada ise PON 1 192 RR allelinin oksidatif strese karşı koruyucu etkisi olduğunu söylemişlerdir (149).

Paraoksonaz/arilesteraz'ın poliformik dağılımı büyük değişkenlik göstermektedir. Karakaya ve arkadaşlarının çalışma sonuçları trimodal dağılımı Türk populasyonunda göstermişlerdir. Türklerde R allel sıklığı doğu populasyonlarından düşük, Avrupa ırkına yakın değerler göstermektedir. (150) Asya, Afrika ve Amerika populasyonlarında R allel sıklığı Q allelinden fazladır (151).

Düşük aktiviteli PON1 fenotipinin bazı hastalıkların gelişimine predispozisyon yarattığı bildirilmiştir(152). İsrailde tarımsal kesimde yaşayanlar düşük aktiviteli PON1 fenotipine sahip olanların (QQ fenotipi) orta ve yüksek aktiviteli PON1 (QR ve RR fenotipi) taşıyanlardan daha fazla Parkinson hastalığı geliştirdiği gösterilmiştir (153). Benzer olarak uzun ömürlü insanlarda RR fenotipinin anlamlı olarak daha sık bulunduğu gösterilmiştir (154). PON1 fenotipinin migrenle ilişkisi de gösterilmiştir (155).

Biz de Hashimoto hastalığında hangi PON1 fenotipinin daha sık görüldüğünü araştırdık fakat çalışmamızda Hashimoto hastalarındaki PON1 fenotip dağılımını kontrol grubuna benzer bulduk.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak çalışmamızda Hashimoto hastalığında TOS, OSİ ve ARE'yi artmış; TAS, Paraoksonaz, LOOHs'u kontrollere benzer bulduk. Hashimoto hastalarında artmış OSİ artmış TOS'a bağlıdır. Çünkü TAS kontrollere benzer bulunmuştur. EH ve SHH hastalarında PON1 enziminin molekül konsantrasyonunu gösteren ARE aktivitesi artmış, fakat paraoksonaz aktivitesi artmış TOS sebebiyle LOOHs'u azaltmaya çalışırken tüketildiği için kontrol grubuna benzer bulunmuştur. Sonuçta lipid peroksidasyon markeri LOOHs ve TAS'ı kontrollere benzer düzeyde bulunmuştur. EH ve SHH hastalarında oksidatif stres parametreleri birbirine benzerdir. Artmış TOS ve OSİ Hashimoto hastalığının ortaya çıkmasından sorumlu olabilir. Tiroid hormon sentezi sırasında fizyolojik olarak oksidatif bir ortam oluşmakta ve antioksidan defans sistemleri sayesinde vücuda zarar vermeyecek düzeyde tutulmaktadır. Tiroid hücre kültürü ile yapılan çalışmalarda tiroksin sentezi sırasında eğer ortam oksidanları artificial olarak arttırılırsa Hashimoto hastalığına benzer bir patoloji oluşturulabilmektedir. Bu invitro deneye dayanarak Hashimoto hastalarında bulduğumuz yüksek oksidatif stres indeksinin bu hastalığın gelişimine zemin hazırlamış olabileceği söyleyebiliriz. PON1 fenotipi bazı hastalıkların gelişimi ile alakalı bulunmuştur. Yaptığımız PON1 fenotiplendirmesinde, Hashimoto hastalığına predispozisyon oluşturan PON1 fenotipi tesbit etmedik.

Antioksidan maddelerin alımı Hashimoto hastalığının progresyonunu belki de ortaya çıkışını engelleyebilir. EH hastalarda ve TSH'ı 10 U/L'nun altında olan SHH hastalarda oksidatif stres parametreleri ve biyokimya parametreleri hemen hemen aynıdır. Semptomatik olmadığı sürece TSH'ı 10 U/L' nun altında olan SHH lu hastalar ile EH'li hastalar oksidatif stres açısından benzer olduğu için tiroid hormonu ile tedavi etmek zorunluluğu oksidatif balans açısından gerekli değildir.

KAYNAKLAR

1. Weetman AP, McGregor AM. Autoimmune thyroid disease: further developments in our understanding. *Endocr Rev* 1994; 15,p:788-830.
2. Dayan CM ve Daniels GH. Chronic autoimmune thyroiditis. *New England Journal of Medicine*, 1996; 335(2),p:99-107.
3. İlicin G, Unal S, Biberoglu K, Akalin S, Suleymanlar G, İç Hastalıkları cilt 2 2. Baskı Ankara: Gunes Kitapevi ISBN 975- 8531- 78- 6. S:2217- 2219.
4. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem* 2004; 37(2): 112– 9.
5. Finaud J, Lac G, Filaire E. Oxidative Stres: Relationship with Exercise and Training. *Sports Med* 2006; 36 (4): 327-358.
6. Mccord JM. Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *J Clin Biochem* 1993;26:351-357.
7. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem*. 2005 Dec;38(12):1103-11. Epub 2005 Oct 7.
8. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*. 2004 Apr;37(4):277-85
9. Erdem FH, Karatay S, Yildirim K, Kiziltunc A. Evaluation of serum paraoxonase and arylesterase activities in ankylosing spondylitis patients. *Clinics (Sao Paulo)*. 2010 Feb;65(2):175-9.
10. Eckerson HW, Wyte MC, La Du BN. The human serum paraoxonase/arylesterase polymorphism. *Am J Hum Genet* 1983;35:1126–38.
11. Eckerson HW, Romson J, Wyte C, La Du BN. The human serum paraoxonase polymorphism: identification of phenotypes by their response to salts. *Am J Hum Genet* 1983;35:214-27.
12. Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *J Lipid Res*. 1998 Aug;39(8):1529-42. Review.
13. Kurien BT, Hensley K, Bachmann M, Scofield RH. Oxidatively modified autoantigens in autoimmune diseases. *Free Radic Biol Med*. 2006 Aug 15;41(4):549-56. Epub 2006 May 23. Review

14. Sarandöl E, Taş S, Dirican M, Serdar Z. Oxidative stress and serum paraoxonase activity in experimental hypothyroidism: effect of vitamin E supplementation. *Cell Biochem Funct.* 2005 Jan-Feb;23(1):1-8
15. Erdamar H, Demirci H, Yaman H, Erbil MK, Yakar T, Sancak B, Elbeg S, Biberoğlu G, Yetkin I. The effect of hypothyroidism, hyperthyroidism, and their treatment on parameters of oxidative stress and antioxidant status. *Clin Chem Lab Med.* 2008;46(7):1004-10
16. Torun AN, Kulaksizoglu S, Kulaksizoglu M, Pamuk BO, Isbilen E, Tutuncu NB. Serum total antioxidant status and lipid peroxidation marker malondialdehyde levels in overt and subclinical hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009 Mar;70(3):469-74. Epub 2008 Aug 22.
17. Baskol G, Atmaca H, Tanriverdi F, Baskol M, Kocer D, Bayram F. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with hypothyroidism before and after treatment. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2007 Sep;115(8):522-6
18. Gerenova J, Gadjeva V. Oxidative stress and antioxidant enzyme activities in patients with Hashimoto's thyroiditis. *Comp Clin Pathol.* 2007 May 16:259-264
19. Lassoued S, Mseddi M, Mnif F, Abid M, Guermazi F, Masmoudi H, El Feki A, Attia H. A Comparative Study of the Oxidative Profile in Graves' Disease, Hashimoto's Thyroiditis, and Papillary Thyroid Cancer. *Biol Trace Elem Res.* 2010 Dec;138(1-3):107-15. Epub 2010 Mar 5.
20. Coria MJ, Pastrán AI, Gimenez MS. (subclinical hypothyroidism) Serum oxidative stress parameters of women with hypothyroidism. *Acta Biomed.* 2009 Aug;80(2):135-9.
21. Kebapçılar L, Akinci B, Bayraktar F, Comlekci A, Solak A, Demir T, Yener S, Küme T, Yeşil S. Plasmatic thiobarbituric acid-reactive substance levels in subclinical hypothyroidism. *Med Princ Pract.* 2007;16(6):432-6
22. Larsen PR, Davies TF. Hypothyroidism and thyroiditis. In: Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS (eds). *Williams Textbook of Endocrinology* (10th ed). Philadelphia: WB Saunders, 2002; p:432-449
23. Hashimoto, H. Zur Kenntniss der lymphomatösen Veränderung der Schilddrüse (struma lymphomatosa). *Arch Klin Chir.* 1912; 97, p:219-248.
24. Amino N, Tada H. Autoimmune Thyroid Disease /Thyroiditis In *Endocrinology De Groot LJ* WB Saunders Co 1995; p:726-741
25. Davies TF, Amino N. A new classification for human autoimmune thyroid disease. *Thyroid* 1993; 3, p:331-333
26. Chiovata L, Martino E. 2001. Thyroiditis. Aldo Pinchera. *Endocrinology and Metabolism* S:189
27. Barbesino G. et al. 2000. The genetics of Hashimoto disease. *Endocrinol and Metab. Clinic of North America.* 29(2):s:357

28. Heufelder, AE, Hay, ID. Evidence for autoimmune mechanisms in the evolution of invasive fibrous thyroiditis (Riedel's struma). *Clin Investig* 1994; 72,p:788.
29. Larsen PR, Davies TF, Hay ID. Williams Textbook of Endocrinology, 9th Edition The thyroid gland, Hashimoto's Disease s 477-478
30. Koloğlu endokrinoloji temel ve klinik II. Baskı 2005 Prof. Dr. Gürbüz Erdoğan editörlüğünde Prof.Dr.Nilgün Başkal sayfa:271
31. Col, N.F., Surks, M.I., Daniels, G.H. Subclinical thyroid disease: clinical applications. *JAMA*, 2004. 291:239-243.
32. Ladenson, P.W., Singer, P.A., Ain, K.B., Bagchi, N., Biqos, S.T., Levy, E.G., Smith, S.A., Daniels, G.H., Cohen, H.D. American Thyroid Association guidelines for detection of thyroid dysfunction. *Arch Intern Med*, 2000. 160:1573-1575
33. Chiovato, L., Vitti, P., Santini, F., Lopez, G., Mammoli, C., Bassi, P., Giusti, L., Pinchera, A. Incidence of autoantibodies blocking thyrotropin effect in vitro in patients with euthyroid or hypothyroid autoimmune thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab*, 1990. 71:40-45.
34. Singer PA. Thyroiditis. In: Manual of Endocrinology and Metabolism. Edited by Lavin N. 2nd Edition. A little Brown Co, Boston, 1994; p:357-366
35. Özata M. Hashimoto Tiroiditi. Klinik Endokrinoloji. Kabalak T. Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, p:59-76
36. Singer PA. Thyroiditis Acute, Subacute and Chronic. *Med Clin North Am* 1991; 75,p:61-77
37. Larsen PR, Davies TF. The thyroid gland. Williams Textbook of Endocrinology 10th edition, WB Saunder's Company, 2003; p:436
38. Saravan P.et al. 2001. Thyroid autoantibodies. *Endocrinol and Metab. Clinic of North America*. 30(2),p:315
39. Larsen PR, Davies TF. Tests for thyroid Autoantibodies. Williams Textbook of Endocrinology 10th edition, WB Saunder's Company, 2003; p:361-362
40. Rodien P, Madec AM, Rajas JR, Bornet H, Carayon P ve Orgiazzi J. Antibodydependent cell-mediated cytotoxicity in autoimmune thyroid disease: Relationship to anti-tiroidperoksidase antibodies. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*;1996;81(7)
41. Hegedüs L, Hansen JM, Rasmussen UF, Hansen BM and Madsen MH. Influence of thyroxine treatment on thyroid size and anti-thyroid peroxidase antibodies in Hashimoto's thyroiditis. *Clinical Endocrinology*, 1991; 35,p:235-238
42. Diacinti D, Salabe GB, Olivieri A, D'Erasmus E, Tomei E, Lotz-Salabe H, Demartinis C. Efficacy of L-thyroxine (L-T4) therapy on the volume of the thyroid gland and nodules in patients with euthyroid nodular goiter *Minerva Med* 1992; 83,p:745-751

43. Padberg S, Heler K, Usadel KH, Schumm-Draeger PM. One year prophylactic treatment of euthyroid Hashimoto's thyroiditis patients with levothyroxine: Is there a benefit? *Thyroid* 2001; 11,p:249-255
44. Kabalak T. *Tiroid El Kitabı. Güven Kitabevi İzmir* 2009 p:387-388
45. Takasu, N. Komiya, I., Asawa, T., Nagasawa, Y., Yamada, T. Tests for recovery from hypothyroidism during thyroxine therapy in Hashimoto's thyroiditis. *Lancet*, 1990; 336,p:1084-1086.
46. Roland gartner, Barbara C.H. Gasner, Johannes W. Dietrich, Bjarne Krebs, and Matthias W. A. Angstwurm. Selenium Supplementation in Patients with Autoimmune Thyroiditis Decreases Thyroid Peroxidase antibodies concentrations *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002; 87(4),p:1687-1691
47. Dündar Y, Aslan R. Oksidan-Antioksidan Denge ve Korunmasında Vitaminlerin Rolü, *Hayvancılık Araştırma Dergisi*. 1999; 9(1-2): 32-39
48. De Wolf LD., Van Zutphen LFM., Beynen AC. The possible role of copper in development of oxidative stress and associated disease. Chapter 3. Department of laboratory animal science and nutrition, faculty of veterinary medicine, Utrecht University, Utrecht, The Netherlands. s. 31-46, 2002
49. Abuja P.M, Albertini R. Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta*, 2001; 306:1-17
50. Word RJ, Peters TJ. Free radicals. Kaplan LA, Pesce AJ editors. *Clinical chemistry*. 3th Ed. Mosby Year Book, Inc. 1996; 765-777.
51. Yeum K-J, Russell M.R, Krinsky I.N, Adlani G. Biomarkers of antioxidant capacity in hydrophilic and lipophilic compartments of human plasma. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 2004;430: 97-103.
52. Kılınç A, Kılınç K. *Nitrik Oksit Biyolojik Fonksiyonları ve Toksik Etkileri*. Palme Yayıncılık, 1. Baskı, Ankara, s. 1-68, 2003
53. www.woongbee.com
54. Young I.S, Woodside J.V. Antioxidants in health and disease, *J Clin Pathol*, 2001; 54:176-186
55. Clarkson P.M, Thompson H.S. Antioxidants: What role do they play in physical activity and health. *Am J Clin Nutr*, 2000;72:637-46
56. Kehrer JP, Smith CV. Free radicals in biology: Sources Reactivities and Roles in the Etiology of Human Diseases. *Natural Antioxidants in Human and Disease*, 1994:25-62
57. Halliwell B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. *Free radicals Res*, 1996; 25: 57-74.

58. Southorn PA. Free radicals in medicine. Chemical nature and biological reactions. Mayo Clin. Proc, 1998; 63: 381-9.
59. Nakazawa H. Pathological aspects of active oxygen/free radicals. Japan J. Physiol, 1996; 46: 15-32.
60. Kılınç, K. and A. Kılınç, Oksijen toksisitesinin aracı molekül•leri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp dergisi, 2002; 33(2): 110-8.
61. Dore, S., M. Takahashi, C.D. Ferris, et al. Bilirubin, formed by activation of heme oxygenase-2, protects neurons against oxidative stress injury. Proc Natl Acad Sci USA, 1999; 96(5): 2445-50.
62. Kremer, T. and M.R. et al. Protection of pulmonary epithelial cells from oxidative stress by hMYH adenine glycosylase. Respiratory Research, 2004; 5: 16.
63. Cheeseman KH, Slater TF: An introduction to free radical biochemistry. Br. Med. Bull, 1993; 49: 479-480.
64. Minnet C. Çocukluk çağında B12 vitamin eksikliğinin oksidan antioksidan sistem ve DNA hasarı ile ilişkisi. Uzmanlık tezi, 2006.
65. Cirak B, Dnci S, Palaoglu S et al. Lipid peroxidation in cerebral tumors. Clinica Chimica Acta, 2003; 327: 103-7.
66. Uysal M: Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada peroksidan-antioksidan dengeyi etkileyen kosullar. Klinik gelisim, 1998; 11: 336-41.
67. Fridovich I. Oxidative Stres. Encyclopedia of Life Sciences. Nature Publishing Group, 2001.
68. Nordberg J, Arner ESJ. Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. Free Radical Biology and Medicine, 2001; 31(11): 1287-1317
69. Çavdar C, Sifil A, Şamsarı T, Reaktif oksijen partiküleri ve antioksidan savunma. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon dergisi, 1997; 3: 92-5.
70. Yamamoto Y. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. Journal of Dermatological Science, 200; 27: 1-4.
71. Genestra M. Oxyl radicals, redox-sensitive signalling cascades and antioxidants. Cell Signal, 2007; 19: 1807-19.
72. Brent JA, Rumack HH. Role of radicals in toxic hepatic injury. J. Free Radical Chemistry. J. Clinical Toxicology. 1993; 49: 481-493
73. Dizdaroğlu M. Chemical determination of free radical-induced damage to DNA. J Free Radical Biology & Medicine. 1993; 61: 225-242
74. Wetberg AB, Weitzman SA, Clarck EP. Effects on antioxidants induce: sister chromatid Exchange formation. J. Clin. Invest. 1985; 75: 35-37

75. Slater TF. Free radical mechanism in tissue injury. *J. Biochem.* 1984; 222:1-15
76. Asad, S.F. S. Singh, A. Ahmad, et al. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study, *Chem Biol Interact*, 2001; 137: 59-74.
77. Hegyi, T., E. Goldie, and M. Hiatt. The protective role of bilirubin in oxygen-radical diseases of the preterm infant. *J. Perinatol*, 1994; 14: 296-300.
78. Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*, 2006; 160: 1-40.
79. Valenzuela A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assessment of tissue oxidative stress. *Life Sci*, 1991; 48: 301-9.
80. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free radicals in biology and medicine*. 2th Ed. Oxford: Clarendon Pres, 1989.125
81. Kurutaş Belge E, İnanç Güler F, Kılınç M. Serbest Radikaller. *Arşiv*, 2004; 13:120-13
82. Gutteridge J M C. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chemistry* 1995;41:1819-1828
83. Özkan A, Fıskın K. Serbest Oksijen Radikalleri, Karsinogenez ve Antioksidant Enzimler. *Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi*. 2004; 14:52-60
84. Sodergen E. *Lipid Peroxidation İn vivo Evolution and Application of Methods for Measurements*, Sweeden, Tryck&Medier, 2000.
85. Thomas MJ. The role of free radicals and antioxidants: how do we know that they are working?. *Critical Reviews in Food Sci. Nutrition*, 2000;32:21-39.
86. Akkuş İ. Serbest Oksijen Radikalleri ve Fizyopatolojik Etkileri. *Mimoza Basım Yayın ve Dağıtım*, Konya:1995;1-15
87. Cighetti G, Duca L, Bortone L, Sala S, Nava I, Fiorelli G, Cappellini M.D. Oxidative Status and Malondialdehyde in β -thalassaemia Patients. *European Journal of Clinical Investigation*. 2002; 32:55-601
88. Kılınç K. Kanserde oksijen radikalleri ve s•eroksit dismutaz. *Biyokimya Dergisi* 1986; 11: 59-76.
89. Repine JE, Bast A. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997; 156: 341-57.
90. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine*, 3rd ed. Oxford, UK: Oxford University Press, 1999.
91. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J*, 1987; 1: 441-5.

92. Bowry VW, Mohr D, Cleary J et al. Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in obiquinol-10-free human low density lipoprotein. *J Biol Chem*, 1995; 270: 5663-96.
93. Yesilkaya, A., R. Altinayak, and D.K. Korgun, The antioxidant effect of free bilirubin oncumene-hydroperoxide treated human leukocytes. *Gen Pharmacol*, 2000; 35: 17-20.
94. Crissinger, K., Understanding necrotizing enterocolitis-promising directions *Pathophysiology*, 1999;5:4,247-56.
95. Huertas, J. and N.P.e. al. Lipid peroxidation and antioxidants in erythrocyte membranes of full term and preterm newborns. *Biofactors*, 1998; 8: 133-7.
96. Percival M. Antioxidants. *Clinical Nutrition Insights*. 1998; 98(10): 1-4.
97. Weiseger R.A. (1986) Oxygen Radicals and ischemic tissue injury. *Gastroenterology* 90, 494-496.
98. Byung P.Y. (1994) Celluler Defences Agains Damage From ReactiveSpecies. *Physiological Review* 74, 139-172.
99. Scandalios JG: The rise of ROS. *Trends in Biochemical Sciences*, 2002; 27(9): 483-486.
100. Minetti M, Mallozzi C, Di Stasi AM, Pietraforte D.: Bilirubin is an effective antioxidant of peroxyntirite-mediated protein oxidation in human blood plasma. *Arch Biochem Biophys*, 1998; 352(2):165-74.
101. Otani K, Shimizu S, Chijiwa K et al. Increased Urinary Excretion of Bilirubin Oxidative Metabolites in Septic Patients: A New Marker for Oxidative Stress in Vivo1. *Journal of Surgical Research*, 2001; 96(1): 44-49.
102. Hegyi T, Goldie E, Hiatt M. The protective role of bilirubin in oxygen-radical diseases of the preterm infant. *J Perinatol*, 1994; 14: 296-300.
103. Stocker R: Antioxidant activities of bile pigments. *Antioxid Redox Signal*, 2004;6(5):841-9.
104. Gopinathan V, Miller NJ, Milner AD et al. Bilirubin and ascorbate antioxidant activity in neonatal plasma. *FEBS Lett*. 1994; 349:197-200.
105. Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends Biochem Sci*. 2000; 25(10):502-8.
106. Stadtman E.R. (1993) Oxidation Of Free Aminoacids and Aminoacids Residues In Protein By Radiolysis and Metal Catalyzed Reactions. *Annu Rev Biochem* 62, 797-821.
107. Halliwell B., Murcia M.A., Chirico S., Aruoma O.I. (1995) Free Radicals and Antioxidants in Food and In Vivo: What They Do And How They Work. *Critical Rew. Food. Sci. And Nutrit* 35, 7-20.

108. Maddipati K.R., Marnet L.J. (1987) Characterization Of The Major Hydroperoxide Reducing Activity Of Human Plasma: Purification And Properties Of A Selenium-Dependent Glutathione Peroxidase. *J. Bol.Chem* 262, 17393-403.
109. Gutteridge J.M.C., Peterson S.K., Segal A.W., Halliwell B. (1981) Inhibition Of Lipid Peroxidation By The Iron Binding Protein Lactoferrin. *Biochem J* 199, 259-61.
110. Qanungo, S., A. Sen, and M. Mukherjea, Antioxidant status and lipid peroxidation in human fetoplacental unit. *Clin Chim Acta*, 1999; 285: 1-12.
111. Stocker, R., Y. Yamamoto, A.F. McDonagh, et al. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science*, 1987; 235: 1043-6.
112. Kiely, M., P.A. Morrissey, P.F. Cogan, et al. Low molecular weight plasma antioxidants and lipid peroxidation in maternal and cord blood. *Eur J Clin Nutr*, 1999; 53: 861-4.
113. Korkmaz, A., M. Yurdak?, and Y.e. al, hiperbilirubinemili yenidoğan bebeklerde serum bilirubin ve ürik asit düzeyleri arasındaki denge. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*: 2001; 44: 338-41
114. Polidori MC, Stahl W, Eichler O, et al. Profiles of antioxidants in human plasma. *Free Radic Biol Med*, 2001; 30(5): 456-62.
115. Sommerburg, O., K. Meissner, M. Nülle, et al. Carotenoid supply in breast-fed and formula-fed neonates. *Eur J Pediatr*, 2000; 159: 86-90.
116. Harma M, Erel O. Oxidative stress in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*; 2005; 192(2): 656-713.
117. Harma M, Erel O. Measurement of the total antioxidant response in preeclampsia with a novel automated method. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2005; 118: 47-51.
118. Venditti P., Balestrieri M., Di Meo S., De Leo T. (1997) Effect of thyroid state on lipid peroxidation, antioxidant defences and susceptibility to oxidative stress in rat tissue. *J Endocrinol* 155, 151-157.
119. Komosinska-Vassev K., Olczyk K., Kucharz E.J., et al. (2000) Free radical activity and antioxidant defence mechanisms in patients with hyperthyroidism due to Graves disease during therapy. *Clin Chemi Acta* 300, 107-117.
120. Suguwara M., Kita T., Lee E.D., et al. (1988) Deficiency of superoxide dismutase in endemic goiter tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 67, 1156-1161.
121. Konukoğlu D. (2000) Hiper ve hipotiroidizmde oksidatif stres. *Endokrinolojide yönelişler* 9, 156-159.
122. Canales A, Sanchez-Muniz FJ. Paraoxanase, something more than an enzyme? *Med Clin (Barc)*, 2003; 121: 537-48.

123. Heijmans BT, Westendorp RGJ, Lagaay AM, et al. Common paraoxonase gene variants, mortality risk and fatal cardiovascular events in elderly subjects. *Atherosclerosis*, 2000; 149: 91-7.
124. Kelso GJ, Stuart WD, Richter RJ, et al. Apolipoprotein J is associated with paraoxonase in human plasma. *Biochemistry*, 1994; 33: 832-9.
125. Aslan M, Kosecik M, Horoz M, et al. Assessment of paraoxonase and arylesterase activities in patients with iron deficiency anemia. *J.atherosclerosis*, 2007; 191(2): 397-402
126. Gözcü F, Gisu F; The standardization of paraoxonase and arylesterase Activity 7 8Measurements; *Turkish Journal Biochemistry*, 2003; 28(2): 45-9.
127. Aviram M, Hardak E, Vaya J, et al. Human serum paraoxonases (PON1) Q and R selectively decrease lipid peroxides in human coronary and carotid atherosclerotic lesions. *Circulation*, 2000; 101: 2510-7.
128. Biasioli S, Schiavon R, Petrosino L, et al. A. Paraoxonase activity and paraoxonase 1 gene polymorphism in patients with uremia. *ASAIO J*, 2003; 49: 295-9.
129. Lee J, Prohaska JR, Thiele DJ. Essential role for mammalian copper transporter Ctr 1 in copper homeostasis and embryonic development. *Proc Natl Acad Sci*, 2001; 98: 6842-7.
130. Sorenson RC, Bisgaier CL, Aviram M, et al. Human serum paraoxonase/arylesterase retained hydrophobic N-terminal leader sequence associates with HDLs by binding phospholipids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999; 19: 2214-8.
131. Sönmez H. Lipid metabolizmasının ana hatları, primer ve sekonder hiperlipidemiler. *Türkiye Klinikleri*, 2000; 13: 1-8.
132. Seres I, Paragh G, Deschene E, et al. Study of factors influencing the decreased HDL associated PON1 activity with aging. *Exp Gerontol*, 2004; 39: 59-66.
133. James RW, Garin MCB, Calabresi L, et al. Modulated serum activities and concentrations of paraoxonase in high density lipoprotein deficiency states. *Atherosclerosis*, 1998; 139: 77-82.
134. Aviram M, Rosenblat M, Bisgaier CL. Paraoxonase inhibits high density lipoprotein oxidation and preserves its functions: a possible peroxidative role for paraoxonase. *J Clin Invest*, 1998; 101: 1581-90.
135. Rye KA, Clay MA, Barter PJ. Remodelling of high density lipoproteins by plasma factors. *Atherosclerosis*, 1999; 145: 227-38.
136. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem*, 1997; 272: 63-6.

137. Aviram M, Rosenblat M, Scott B, et al. Human serum paraoxonase (PON1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Rad Biol Med*, 1999; 26: 892-904.
138. Mackness MI, Arrol S, Abbott C, et al. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis*, 1993; 104: 129-35.
139. Aviram M, Billecke S 1998 Paraoxonase Active Site Required for Protection Against LDL Oxidation Invo That Required for Its Arylesterase/paraoxonase Activities. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 18:1617-1624
140. Sanghera DK, Saha N, Aston CE, Kamboh MI 1997 Genetic polymor paraoxonase and risk of coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:1067-73
141. Haagen L, Brock A. A new automated method for phenotyping arylesterase (E.C.3.1.1.2.) based upon inhibition of enzymatic hydrolysis of 4-nitrophenyl acetate by phenyl acetate. *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 1992; 30: 391-5.
142. Erbaş T, Dağdelen S. Hashimoto Tiroiditi. *T Klin J Endocrin* 2004;2:45-48
143. Lai Y, Wang J, Jiang F, Wang B, Chen Y, Li M, The relationship between serum thyrotropin and components of metabolic syndrome, *Endocr J*. 2011 Jan 30;58(1):23-30. Epub 2010 N.
144. Duthoit C, Estienne V, Delom F, Durand-Gorde JM, Mallet B, Carayon P, Ruf J. Production of immunoreactive thyroglobulin C-terminal fragments during thyroid hormone synthesis. *Endocrinology*. 2000 Jul;141(7):2518-25.
145. Duthoit C, Estienne V, Giraud A, Durand-Gorde JM, Rasmussen AK, Feldt-Rasmussen U, Carayon P, Ruf J. Hydrogen peroxide-induced production of a 40 kDa immunoreactive thyroglobulin fragment in human thyroid cells: the onset of thyroid autoimmunity? *Biochem J*. 2001 Dec 15;360(Pt 3):557-62
146. Mazokopakis EE, Chatzipavlidou V. Hashimoto's thyroiditis and the role of selenium. Current concepts. *Hell J Nucl Med*. 2007 Jan-Apr;10(1):6-8. Review.
147. Padberg S, Heller K, Usadel KH, Schumm-Draeger PM. One-year prophylactic treatment of euthyroid Hashimoto's thyroiditis patients with levothyroxine: is there a benefit? *Thyroid*. 2001 Mar;11(3):249-55.
148. Romaldini JH, Biancalana MM, Figueiredo DI, Farah CS, Mathias PC. Effect of L-thyroxine administration on antithyroid antibody levels, lipid profile, and thyroid volume in patients with Hashimoto's thyroiditis. *Thyroid*. 1996 Jun;6(3):183-8.
149. Agashan B, Yilmaz H, Karaali Z, Işbir T. Paraoxonase 55 and 192 polymorphism ad its relationship to serum paraoxonase activity and serum lipids in Turkish patients with noninsulin dependent diabetes mellitus. *Cell Biochem Funct*. 2004;22:163-168.
150. Arnhold J. Properties, functions, and secretion of human myeloperoxidase. *Biochemistry*. 2004;69(1):4-9.

151. Catono HC, Cueva JL, Cardenas AM, Izaguirre V, Zavaleta AI, Carranza E and et all. Distribution of paraoxonase-1 gene polimorphisms and enzyme activity in a Peruvian population. *Environ Mol Mutagen.* 2006;47:699-706.
152. Mohamed RH, Mohamed RH, Karam RA, Abd El-Aziz TA. The relationship between paraoxonase1-192 polymorphism and activity with coronary artery disease. *Clin Biochem.* 2010 Apr;43(6):553-8. Epub 2009 Dec 21.
153. Benmoyal-Segal L, Vander T, Shifman S, Bryk B, Ebstein RP, Marcus EL, Stessman J, Darvasi A, Herishanu Y, Friedman A, Soreq H. Acetylcholinesterase/paraoxonase interactions increase the risk of insecticide-induced Parkinson's disease. *FASEB J.* 2005 Mar;19(3):452-4. Epub 2005 Jan 3.
154. Rea IM, McKeown PP, McMaster D, Young IS, Patterson C, Savage MJ, Belton C, Marchegiani F, Olivieri F, Bonafe M, Franceschi C. Paraoxonase polymorphisms PON1 192 and 55 and longevity in Italian centenarians and Irish nonagenarians. A pooled analysis. *Exp Gerontol.* 2004 Apr;39(4):629-35.
155. García-Martín E, Martínez C, Serrador M, Alonso-Navarro H, Navacerrada F, Agúndez JA, Jiménez-Jiménez FJ. Paraoxonase 1 (PON1) polymorphisms and risk for migraine. *J Neurol.* 2010 Apr 21.