

Hipertiroidizmin Tavşanlarda Lipid Peroksidasyon, Glutatyon ve Lipid-Bağlı Sialik Asit Seviyeleri Üzerine Etkisi

Burhanettin BAYDAŞ¹ Ali ERTEKİN² Fatmagül YUR² Ferda BELGE¹
Fahri BAYIROĞLU¹

Özet

Bu çalışma, hipertiroidizmin lipid peroksidasyon, glutatyon (GSH) ve lipid-bağlı sialik asit (LSA) seviyeleri üzerine etkisini araştırmak amacıyla planlandı. Çalışmada 16 adet tavşan (*Lepus europous*) kullanıldı. Tavşanlar deney ve kontrol grubu olmak üzere ikiye ayrıldı. Hipertiroidizm, otuz gün süreyle 100 µg/kg dozunda tiroksin (i.p) uygulamasıyla oluşturuldu. Bu süre sonunda deney ve kontrol grubu tavşanlarda tiroid hormonları düzeylerine bakıldı. Deney grubunda tiroksin (TT4) ve triiodotironin (TT3) seviyeleri oldukça yüksek düzeyde bulundu (TT3 91.6±5.7-288.4±17 ng/dl, TT4 3.88±0.60-8.42±1.4 µg/dl). Lipid peroksidasyon ve GSH tayini için tüm kan, LSA ölçümü için serum kullanıldı. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, hipertiroidili grupta hem lipid peroksidasyon ve LSA (P<0.05) hem de GSH (P<0.001) miktarları istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Bu sonuçlar, hipertiroidizmin lipid peroksidasyon, LSA ve GSH konsantrasyonlarında artışa neden olabileceğini göstermektedir. Sonuç olarak, tiroid hormonu fazlalığında, oluşumu istenmeyen lipid peroksidasyonun da göz önünde tutulması gerekebileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Hipertiroidizm, Lipid peroksidasyon, GSH, LSA

Summary

The Effect of The Hyperthyroidism on The Levels of Lipid Peroxidation, Glutathione and Lipid-Bound Sialic Acid in The Rabbids

This study was planned to investigate the effect of hyperthyroidism on blood lipid peroxidation, glutathione (GSH) and lipid-bound sialic acid (LSA) levels. Sixteen rabbits (*Lepus europous*) was used in this study. Rabbits divided two groups as control and treatment. Hyperthyroidism was produced by administration of thyroxine 100 µg/kg body weight (i.p), for 30 consecutive days. Following treatment, thyroid hormone levels were measured in the treatment and control groups. In the treatment group, triiodothyronine (T3) and thyroxine (T4) levels were found to be increased significantly (T3 91.6±5.7-288.4±17 ng/dl, TT4 3.88±0.60-8.42±1.4 µg/dl). Lipid peroxidation and GSH levels were determined in whole blood, while LSA evaluating in serum. In the treatment group compaired to the control, lipid peroxidation, GSH and LSA levels were found to be elevated significantly (lipid peroxidation and LSA P<0.05, GSH P<0.001). These results suggest that hyperthyroidism may cause an increase in lipid peroxidation generation. For this reason it may be useful to consider the lipid peroxidation increase in the case of hyperthyroidism.

Key Words: Hyperthyroidism, Lipid Peroxidation, GSH, LSA.

Giriş

Hipertiroidizm, tiroid bezinin gereğinden fazla hormon sentezlemesi ve kana vermesi ile oluşan durumu belirtmek için kullanılan bir terim olarak karşımıza çıkmaktadır. Hipertiroidizm tablosunda protein ve lipidlerin katabolizması önemli derecede artmaktadır. Yine yüksek tiroid hormonu konsantrasyonlarının önemli derecede doku hasarına yol açtığı bildirilmektedir (1). Bununla birlikte, son yıllarda kandaki tiroid hormon fazlasının lipid peroksidasyonu artırdığı ileri sürülmektedir. Deneysel hipertiroidi oluşturulan ratlarda lipid peroksidasyonunun arttığı ve bu durumda oluşan reaktif oksijen türlerinin kalp kasında hasara neden olduğu bildirilmektedir (2). Hipertiroidi olgusunda lipid peroksidasyonunun (1) ve buna paralel olarak antioksidanların seviyesinde de artışın gözlendiği ileri sürülen bilgiler arasındadır (3).

Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan bir serbest radikal sonucu membran yapısında bulunan doymamış yağ asidi zincirinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucunda yağ asidi zinciri bir lipid radikali özelliği kazanır (4). Lipid peroksidasyonu malondialdehit (MDA) oluşumuna yol açmakta ve oluşan MDA lipid peroksidasyonu için bir gösterge olarak kabul edilmektedir (2).

Organizmada önemli bir antioksidan madde olan glutatyon seviyesinde hipertiroidi olgusuna bağlı olarak değişik görüşler ileri sürülmektedir. Hipertiroidiye bağlı olarak kan glutatyon seviyesinin önemli

¹ Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, VAN.

² Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, VAN.

derecede arttığı bildirilirken (3), kalp kasında önemli bir değişikliğin görülmediği (2) ve hatta karaciğer GSH seviyesinin önemli derecede azaldığı ileri sürülmektedir (3,5).

Sialik asitler, hemen tüm hayvanların hücrelerinin yüzeylerinde görülürler. Son yıllarda yapılan çalışmalarda sialik asitlerin hücre harabiyetiyle orantılı olarak artış gösterdikleri ileri sürülen görüşler arasında yer almaktadır (6,7).

Bu bağlamda amacımız, hipertiroidizmin, organizmada oluşumları istenmeyen lipid peroksidasyon ürünleri ve lipid peroksidasyona karşı oluşan antioksidan maddelerin seviyesini ve yine hücre harabiyetinin göstergesi olarak kabul edilen ve belkide lipid peroksidasyonla paralel olarak değişiklik gösterebileceğini düşündüğümüz lipid-bağlı sialik asit seviyelerini ne derecede etkilediğini incelemek olmuştur.

Materyal ve Metot

Bu çalışmada canlı ağırlık ortalamaları yaklaşık olarak 1400-1550 gr. arasında değişen, 4 aylık 16 adet yerli ırk tavşan kullanıldı. Tavşanların bulunduğu laboratuvar ortamının ısısı 25 ± 2 °C olarak ayarlandı. Tüm deney hayvanlarına su ve yem ad libitum olarak verildi. Hayvanların bulunduğu laboratuvar ortamı 12 saat ışık ve 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlandı. Hayvanlar, laboratuvar ortamına uyum sağlamaları için bir haftalık adaptasyon süresine tabi tutuldu.

Bu süre sonunda tavşanlar 8'i kontrol ve 8'i deney (tiroksin uygulanan grup) olmak üzere iki gruba ayrıldı. Kontrol grubuna otuz gün süreyle serum fizyolojik, deney grubuna yine aynı süre itibarıyla Tiroksin (Merck) 100µg/kg dozunda intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı (8). Bir aylık bir deneme süresinin sonunda tavşanlardan kan alındı (V. Cephana lateralis). MDA ve GSH tayini için EDTA'lı tüplere alınan kan zaman kaybedilmeden taze olarak çalışıldı. LSA ve tiroid hormonları için alınan kan bir saat oda ısısında bekletildikten sonra 3000 rpm/15 dk santrifüj edildi ve serum kısmı pipetlenerek analizler yapılncaya kadar -21°C 'de dipfirizde bekletildi. Serum LSA tayini Katapodis ve ark. (9) metoduna göre yapıldı. Serum triiyodotironin (T3) ve tiroksin (T4) miktarları için DPC-İMMULİTE kitleri temin edildi ve DPC-İMMULİTE System (Solid- Phase, Chemiluminescent Enzyme Immunoassay) ile hormon otoanalizörü (DPC-İMMULİTE Automated Analyzer) kullanılarak nonradyoaktif olarak ölçüldü (10).

Tüm kandaki glutatyon analizleri Beutler (11), MDA konsantrasyonu Thiobarbitürik asit reaktivitesi metodu (12) kullanılarak ölçüldü. Ölçümler Perkin-Elmer Lambda 1A spektrofotometresinde kolorimetrik olarak ölçüldü. MDA konsantrasyonu tayininde standart olarak 1,1,3,3 Tetraethoxypropane çözeltisi kullanıldı. İstatistiksel analizler, Minitab paket programında 't'testi ile yapıldı.

Bulgular

Membrandaki lipidlerin peroksidasyonu malondialdehit oluşumuna yol açmakta ve bu oluşum, membrandaki değişiklikleri içeren bir gösterge olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada deneysel hipertiroidinin MDA seviyesinde önemli derecede değişikliklere sebebiyet verdiği gözlemlendi. Kontrol grubu MDA değerlerinin ortalaması 2.082 ± 0.47 nmol/dl, hipertiroidili grubun ise 3.274 ± 0.27 nmol/dl olarak bulundu. İki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($P<0.05$). Lipid bağlı sialik asit seviyesi kontrol grubunda 21.570 ± 0.32 mg/dl olarak bulunurken, hipertiroidili tavşanlarda 27.53 ± 0.55 mg/dl bulundu. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu görüldü ($P<0.05$). Organizmada bir antioksidan madde olarak kabul edilen glutatyon seviyesinde kontrol grubuna oranla hipertiroidi oluşturulan grupta önemli derecede yükselme gözlemlendi. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu gözlemlendi ($P<0.001$).

Hipertiroidinin göstergesi olarak ölçülen T3 ve T4 seviyeleri arasında oldukça belirgin farklılık gözlemlendi. Kontrol ve deney grubu tavşanlara ait T3 değerleri sırasıyla $91.6 \pm 5.7 - 288.4\pm 17$ ng/dl, T4 değerleri $3.88\pm 0.60 - 8.42\pm 1.4$ µg/dl olarak bulundu.

Tablo1. Kontrol ve hipertiroidili tavşanlara ait istatistiki değerler (n=8)

Parametreler	Kontrol Grubu X±S	Hipertiroidili Grup X±S	
MDA (nmol/dl)	2.082±0.047	3.274±0.27	P<0.05
GSH (mg/dl)	45.97±0.48	81.75±2.7	P<0.001
LSA (mg/dl)	21.570±0.32	27.53±0.55	P<0.05

Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, hipertiroidizmin lipid peroksidasyonuna yol açtığını göstermektedir. Zira lipid peroksidasyonun göstergesi olarak kabul edilen MDA (13) ve bir antioksidan madde olan GSH (14) seviyelerinde önemli derecede artışlar gözlemlendi (P<0.05, P<0.001). Yine, son zamanlarda hücre harabiyetinin göstergesi olarak kabul edilen LSA (6,7) seviyesindeki artışın da hipertiroidizmin belli oranda bir hücre harabiyetine de yol açtığını göstermektedir.

Ademoğlu ve ark. (1), hipertiroidi tanısı konmuş bireylerde plazma MDA, Venditti ve ark. (2), on gün süreyle triiodotironin (T3) uyguladıkları ratların kalp kasında MDA, Morini ve ark. (3), hipertiroidi oluşturulmuş ratlarda lipid peroksidasyon seviyesinin önemli derecede yükseldiğini bildirmektedir. Hipertiroidizm olgusunda görülen bu artışın, mitokondrial solunumun tiroid hormonları tarafından uyarılmasının oksidatif doku hasarının oluşumuyla açıklanmaktadır. Çalışmamızda gerek doku hasarı göstergesi olarak kabul edilen LSA ve gerekse oksidatif doku hasarının sonucu oluşan MDA seviyesinin artışı ileri sürülen görüşleri desteklemektedir. Akkuş ve ark. (4), hipertiroidi tanısı konmuş bireylerde MDA miktarında önemli derecede bir değişikliğin görülmediğini bildirmektedir. Aynı araştırmacılar, hipertiroidizm vakasında metabolizmanın artışıyla birlikte MDA seviyesinde değişikliğin görülmeişi oluşan hipolipidemiye bağlamaktadır.

Hipertiroidizmin antioksidan sistem üzerine etkisi konusunda ise çeşitli görüşler mevcuttur. Morini ve ark. (3), hipertiroidi oluşturdukları ratlarda karaciğer GSH seviyesinin %35 oranında azaldığını, oysa plazma GSH seviyesinde ise kontrollere oranla 2.5 kat arttığını bildirmektedir. Kan GSH düzeyi ile ilgili olarak elde ettiğimiz bulgular, GSH'nın plazma seviyesi konusunda ileri sürülen görüş doğrultusundadır. Doku antioksidan sisteminde kan antioksidan sistemine oranla farklılığın görülmesi başka araştırmacılar tarafından da desteklenmektedir. Zira, Venditti ve ark. (2), hipertiroidili ratların kalp kasında antioksidan sistem seviyesinin kontrollere oranla önemli bir değişiklik arzemediğini ileri sürmektedir. Karaciğer dokusunda GSH düzeyindeki azalmanın, artan lipid peroksidasyona paralel olarak GSH oksidasyonunun artmasıyla, ancak çok daha önemli olan faktörün GSH'nın karaciğer dokusundan karaciğer sinüzoidlerine geçişinin artışıyla açıklanmaktadır. Bu mekanizma karaciğer GSH azalmasının yaklaşık olarak %90'ından sorumludur. Dolaşımdaki yüksek düzeyde tiroid hormonları bu geçişi düzenlemez, ancak GSH'nın sinüzoidlere geçişi önemli derecede artmaktadır. Çünkü, T3 uygulamasına paralel olarak organizmada artan tiroid hormon seviyesi karaciğer hücre membranlarının geçirgenliğinde önemli derecede değişikliğe neden olmaktadır (5). Bu değişiklik, karaciğer hücre membranlarından sinüzoidlere doğru GSH geçişinin artışı yönündedir.

Bu çalışmada elde ettiğimiz bulgulara bakıldığında LSA miktarında da önemli derecede bir artışın olduğu gözlenmektedir (P<0.05). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, sialik asitlerin hücre harabiyetiyle orantılı olarak relatif bir artışa maruz kaldıkları gösterilmiştir (15). Bunun, hücre membranı hasarına bağlı olarak hücre yüzeyinde bulunan glikoprotein ve glikolipidlerin kontrol dışı salınımlarından kaynaklanabileceği bildirilmektedir (6,7). Hipertiroidizmin doku hasarına neden olduğu görüşü kabul edilirse (1), dokudaki harabiyetin bir göstergesi olarak kabul edilen LSA (7) miktarındaki artışların bu görüşü desteklediği görülecektir.

Sonuç olarak, hipertiroidizm olgusunda MDA, LSA ve GSH düzeylerinde görülen artışlar dokuda oksidatif harabiyetin olabileceği ve bu durumda, hipertiroidizm olgusunun radikal bir tedavisi yapılmıyaya kadar antioksidan ajanlarla semptomatik tedaviyle desteklenmesi gerektiği görüşünün doğru olabileceği

kanısında yız. Ancak daha kesin sonuçlara varmak için bu konuda yeterli düzeyde çalışmanın yapılması gerektiği görüşündeyiz.

Kaynaklar

- 1-Ademoğlu, E., Yarman, S., Gökkuşu, C., Azizlerli, H.: Hipertiroidide Metimazol Tedavisinin Antioksidan Sisteme Etkisi. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Araştırma Derneđi 1: Ulusal Kongresi. Sayfa:138 (1997).
- 2-Venditti, P., Teodoro de Leo, Sergio di M.: Vitamin E Administration Attenuates the Tri-Iodothyronine-Induced Modification of Heart Electrical Activity in The Rat. J. Experimental Biol. 200:909-914 (1997).
- 3-Morini, P., Casalino, E., Sblano, C., Landriscina, C.: The Response of Rat Liver Lipid Peroxidation, Antioxidant Enzyme Activities and Glutathione Concentration of The Thyroid Hormone. Int. J. Biochem. 23:1025-1030 (1991).
- 4-Akkuş, İ., Çıkım, T., Keha, E.E., Çağlayan, O., Ay, M., Gürel, A.: Hipertiroidi Hastalarında Serum ve Eritrosit MDA Düzeyleri ile Bazı Antioksidanların Araştırılması. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar Araştırma Derneđi 1: Ulusal Kongresi. Sayfa:139 (1997).
- 5-Fernandez, V., Llesuy, S., Solari, L., Kipreos, K., Videla, L.A.: Chemiluminescent and Respiratory Responses Related to Thyroid Hormone-Induced Liver Oxidative Stress. Free Radical Res. Commun.5: 77-84. (1988).
- 6-Jeanloz, R.W. and Codington, J.F.: Biological Roles of Sialic Acid (Rosenberg A, and Schengrund CL, eds). PP.201-237 plenum press. New York (1976).
- 7-Kamerling, I.P., Makovitzky, J., Schaver, R., Vliegandert, J.F.G., Wember, M.: The Nature of Sialic Acids in Human Lymphocites. Biochem. Biophys. Acta. 714:351-354. (1982).
- 8-Adams, W.H., Daniel, G.B., Lependre, A.M. Investigation of The Effects of Hyperthyroidism on Renal Function in The Cat. Can. J. Vet. Res. 61: 53-56. (1997).
- 9-Katapodis, N., Hirshaut, Y., Geller, H.L., Stock, J.J.: Lipid-Associated Sialic Acid Test For The Dedection of Human Cancer. Cancer Res. 42: 5270-5275. (1982).
- 10-Babson A.L.: The IMMULITE Automated Immunoassay System. J. Clin. Immunoassay. 14, 83-88. (1991).
- 11-Beutler, E., Duran, O., Kelly, B.M.: Improved Method for The Determination of Blood Glutathione. J. Lab. Clin. Med. 61: 882-888. (1963).
- 12-Akkuş I: Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri, Mimoza yayınları, Konya, 1-60, (1995).
- 13-Chaurasia SS, Gupta P, Kar A, Maiti PK. Free Radical Mediated Membrane Perturbation and Inhibition of Type-I Iodothyronine 5'-Monodeiodinase Activity by Lead and Cadmium in Rat Liver Homogenate. Biochem. Mol. Biol. Int. 39: 765-770. (1996).
- 14-Özdem, S.S., Şadan, G.: Serbest Oksijen Radikallerinin Oluşumu ve Klinik Açından Önemi, Akd. Ü. Tıp Fak. Derg. 11(1): 63-71 (1994).
- 15-Sherblom, A.P., Dahlin, C.E.: Acetyl Neuraminic Acid and N-Glycocyneuraminic Acid in The D-Linced Oligosaccharides of A Tumor Cell Glycoproteins. J. Biol. Chemistry. 260:1484-1492. (1985).