



# Hipotiroidi Tedavisine Deneysel Alternatif Yöntem: Tiroid Dokusunun Kapsüle Edilmesi

## Experimental Alternative Method for the Treatment of Hypothyroidism: Capsulation of the Thyroid Tissue

Emrah YÜCESAN<sup>1</sup>, Beyza GÖNCÜ<sup>2</sup>, Harun BAŞOĞLU<sup>3</sup>, Nur ÖZTEN KANDAŞ<sup>4</sup>, Ebru KANIMDAN<sup>5</sup>, Fahri AKBAŞ<sup>5</sup>, Yeliz Emine ERSOY<sup>6</sup>, Erhan AYŞAN<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

<sup>2</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi, İstanbul, Türkiye

<sup>3</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

<sup>4</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

<sup>5</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

<sup>6</sup>Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Yazışma Adresi  
Correspondence Address

**Emrah YÜCESAN**  
Bezmialem Vakıf Üniversitesi,  
Yaşam Bilimleri ve Biyoteknoloji  
Enstitüsü, İstanbul, Türkiye  
E-posta: eyucesan@bezmialem.edu.tr

Geliş tarihi \ Received : 19.03.2018  
Kabul tarihi \ Accepted : 02.05.2018  
Elektronik yayın tarihi : 04.10.2018  
Online published

Bu makaleye yapılacak atf:  
Cite this article as:  
Yücesan E, Göncü B, Başoğlu H,  
Özten Kandaş N, Kanımdan E, Akbaş  
F, Yeliz Ersoy E, Ayşan E. Hipotiroidi  
tedavisine deneysel alternatif yöntem:  
Tiroid dokusunun kapsüle edilmesi.  
Akd Tıp D 2019; 5(3):417-23.

Emrah YÜCESAN  
ORCID ID: 0000-0003-4512-8764  
Beyza GÖNCÜ  
ORCID ID: 0000-0001-6026-8218  
Harun BAŞOĞLU  
ORCID ID: 0000-0002-0853-028X  
Nur ÖZTEN KANDAŞ  
ORCID ID: 0000-0002-0441-8397  
Ebru KANIMDAN  
ORCID ID: 0000-0002-7123-4600  
Fahri AKBAŞ  
ORCID ID: 0000-0002-3837-250X  
Yeliz Emine ERSOY  
ORCID ID: 0000-0002-5028-6436  
Erhan AYŞAN  
ORCID ID: 0000-0002-9563-3761

DOI: 10.17954/amj.2018.1122

### ÖZ

**Amaç:** Hipotiroidi tüm yaş gruplarında görülebilen, bireylerin sağlıklarının genel olarak bozulmasına neden olan klinik bir tablodur. Tedavisi genellikle yaşam boyu ilaç kullanımını gerektirir. Bu tedaviye rağmen hormon yetmezliğine bağlı semptomlar görülmekte ve uzun dönem ilaç kullanımına bağlı yan etkiler ortaya çıkmaktadır. Hastalardaki yetersiz tiroid hormon miktarını optimum sınırlara çekmek ve hastaların yaşam kalitesini yükseltmek için tiroid dokusu transplantasyonu alternatif bir yöntem olarak önem taşımaktadır. Sunulan çalışmada, transplantasyonda immün reddetme etkilenmemek için hem doku kültürü hem de biyoyumlu polimerle kapsüle edilmiş tiroit dokusunun *in vitro* optimizasyonu amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Mekanik yollarla kültüre edilen tiroit dokusu 2 grupta takip edilmiştir; doku kültürü ve kapsülasyon kültürü. *In vitro* ortamda 60 gün boyunca takip edilen kapsüllerin morfolojileri ışık mikroskopu ile birlikte T3 ve T4 hormon değerleri ise biyokimyasal olarak değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** 3., 9., 12., 15., 30., 45., 60. günlerde toplanan medyum örneklerinden T3 ve T4 seviyeleri gözlemlendi. Kapsüle edilen dokularda, kapsüle edilmeyenlere ve negatif kontrol dokularına göre 15. gün itibarıyla T3 değerleri daha yüksek bulundu. Buna rağmen T4 seviyeleri 60 gün boyunca sabit kaldı.

**Sonuç:** Hipotiroidinin kalıcı tedavisi için kapsüle edilen tiroit dokularının *in vitro* ortamda verimliliği incelenmiştir. Öncül sonuçlarımız umut vaat etmesine rağmen bu optimizasyonun *in vivo* hayvan çalışmalarında da doğrulandıktan sonra insan çalışmalarına geçilmesi düşünülmelidir.

**Anahtar Sözcükler:** Hipotiroidi, Aljinat tabanlı kapsülasyon, Tiroid hiperplazi, Hürthle hücreli karsinom

### ABSTRACT

**Objective:** Hypothyroidism is a clinical condition that affects all age groups. Generally, lifelong medication is required for the treatment. Despite treatment, symptoms that are related to hormone insufficiency and side effects due to long-term medication can be seen. As an alternative approach, thyroid tissue transplantation may be useful, because of its potential to elevate the thyroid hormone levels and thus increase daily quality of life for the patients. Our aim in this study was to detect the *in vitro* optimal microencapsulation conditions for thyroid tissues with a biocompatible polymer to avoid immune rejection following transplantation.

**Material and Methods:** Thyroid tissues were isolated mechanically, and followed-up in two groups; tissue and capsulated tissue culture. *In-vitro* capsule formation and morphology were screened using brightfield microscopy and T3 and T4 levels were evaluated biochemically throughout 60 days.

**Results:** T3 and T4 levels were screened from collected medium samples at day 3., 9., 12., 15., 30., 45., 60.. In capsuled tissues T3 level was detected higher than the non-capsuled and negative control tissues from day 15. However, T4 level was stable for 60 days.

**Conclusion:** Efficacy of capsulated thyroid tissues for permanent treatment of hypothyroidism to avoid the immune system was evaluated *in vitro*. Preliminary results were promising but this optimization requires *in vivo* confirmation and future human studies should be considered.

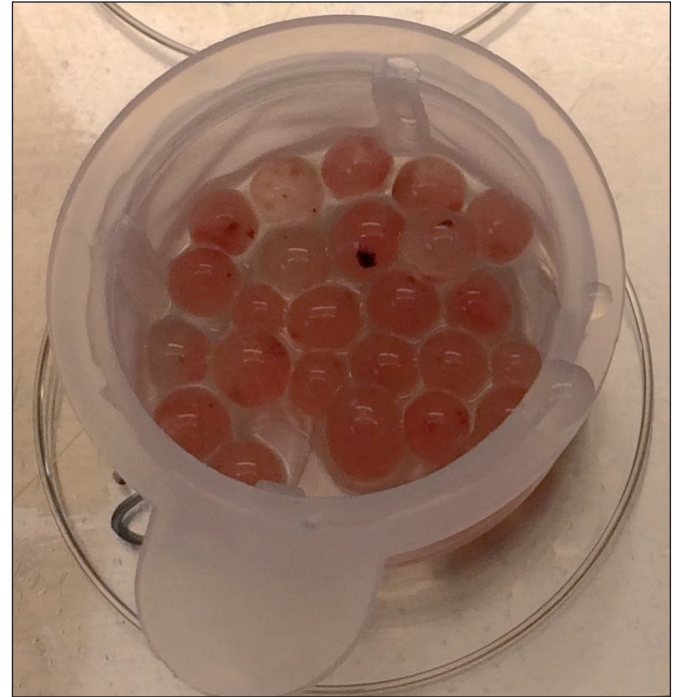
**Key Words:** Hypothyroidism, Alginate based capsulation, Thyroid hyperplasia, Hurthle cell carcinoma

## GİRİŞ

Tiroid hastalıkları tüm dünyada en yaygın görülen endokrin sistem hastalıklarıdır (1). Tiroid hormonları iskelet-kas sistemi (2), dolaşım sistemi (3), üreme sistemi (4), merkezi sinir sistemi (5) ve sindirim sistemi (6) başta olmak üzere diğer birçok sistemi doğrudan ya da dolaylı olarak etkileyerek tüm metabolizma üzerinde etki gösterirler. Bu nedenle tiroid hormonlarının kanda belirli seviyeler arasında kalması oldukça önemlidir. Tiroid hormon seviyesinin düşüklüğü ile karakterize olan hipotiroidi en sık görülen hormon yetmezliği tablolarından biridir (7, 8). Etiyopatogenezinde, iyot yetmezliği, bazı ilaçların kullanımı (tırozin kinaz inhibitörleri, rifampin, glukokortikoidler gibi), TSH-salınımını bozan hastalıklar, radyoterapi ve tiroit cerrahisi sonucunda tiroid bezinin çıkartılması gibi birçok etken rol almaktadır (9). Günümüzde hipotiroidi tedavisinde en sık kullanılan yöntem ilaç tedavisidir (10). Uygulanan tedavi görece düşük maliyetli ve kolay uygulanabilir olsa da neticesinde günlük üretilen ve tüm dokulara yetecek miktarda tiroksin (T4) eldesi mümkün olmamaktadır (11). Ayrıca ilaca bağlı birçok yan etki ortaya çıkabilmektedir (12). İlaç tedavisinin olası yan etkileriyle karşılaşmamak ve fizyolojik etkinliği normale en yakın hale getirmek için tiroid hücrelerinin transplantasyonu uygulanabilir, ancak bu durumda da immün red hem allo hem de ototransplantasyon durumlarında ciddi bir sorun olarak ortaya çıkmaktadır (13, 14). İmmün yanıtın kaçmanın yollarından birisi de, nakledilecek dokuların hücre haline getirilip sonrasında kapsüllerin içine yerleştirilmesidir. Bu sayede lenfosit, immünglobulin ve antikorlar gibi çeşitli immün sistem yapılarından sakınmak mümkün olmaktadır (15). Elde edilen kapsüller hücreyi sarıp immün sistem hücrelerinin içeriye girmesine engel olurlar ancak oksijen, elektrolitler, hormonlar vb. gibi hücrelerin sağ kalmasına yardımcı olan molekül ve bileşenlerin kapsüllerin içine girmesine izin verirler (16). Literatürde, kapsülasyon tekniği kullanılarak gerçekleştirilen çalışmaların biyoteknoloji ve tıpta birçok alanda olumlu sonuçları olduğu bilinmektedir (17). Bunlar arasında çeşitli hücre nakilleri örnek olarak; pankreas adacık hücreleri (18), Leydig hücreleri (19), hepatositler (20), paratiroid hücreleri (21) ve over hücreleri (22) verilebilir. Kapsülasyon işleminin tiroid hastalıklarının tedavisinde uygulanabilirliğinin deneysel modeli olan bu çalışmada *in vitro* ortamda tiroid dokusunun kapsüle edilebilme koşulları belirlenmiş ve işlevselliği 60 gün boyunca takip edilmiştir.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Önceden Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesi'ne uygun olarak Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı alınan çalışmamızda kullanılmak üzere, incelenen Hürthle hücreli karsinom dokusu ve tiroid hiperplazi dokusu için hastalardan bilgilendirilmiş gönüllü olur formu alındı ve sonrasında çalışmaya başlandı. Elde edilen hiperplazik dokular mekanik yöntemle parçalanarak ve sonrasında elde edilen dokuların tam yarısı kapsüller içine alınarak, uygun koşullar altında izleme tabii tutuldu. Kapsül içine alınan hiperplazik tiroid dokusu, kapsüllerin morfolojisi açısından (Şekil 1) ve ayrıca triiodotironin (T3), T4 miktarları ölçülerek takip edildi. Hiperplazik dokuların kalan yarısı ve Hürthle hücreli karsinom dokusu ise kapsüle edilmeyip sadece mekanik izolasyona tabi tutuldu. Hürthle hücreli karsinom dokusu çalışmada pozitif kontrol olarak değerlendirildi ve kapsüle edilmeyen hiperplazik dokularla birlikte T3 ve T4 değerleri açısından 60 gün süresince izlendi. Çalışmada negatif kontrol olarak hiçbir işlem uygulanmayan kültür medyumu değerlendirildi.



**Şekil 1:** Kapsüle edilmiş hiperplazik tiroit dokusu görünümü.

## Tiroid Dokularının Hazırlanması ve Kültüre Edilmesi

Yaklaşık 0,7-0,9 gram ağırlığındaki dokular sıvı azot ile dondurularak histopatolojik olarak tanıları doğrulanana kadar -80°C'de muhafaza edildi. Daha sonra dokular uygun materyallerin içinde sıvı azot yardımıyla mekanik olarak ezilip toz hale getirildi. Toz hale getirilen dokular McCoy's hücre kültür medyumumu (Thermo Fisher Scientific, MA, USA), %20 FBS (Thermo Fisher Scientific, MA, USA), %1 P/S (Pan-Biotech GmbH, Aidenbach, Germany) ve %1 NEAA (Pan-Biotech GmbH, Aidenbach, Germany) içeren 25cm<sup>2</sup>'lik flasklarda, dik konumda %5 CO<sub>2</sub> içeren ortamda kültüre edildi. Doku süspansiyonu 3., 9., 12., 15., 30., 45. ve 60. günlerde medyumları değiştirilerek takip edildi. Bu işlem hem hiperplazik dokular hem de Hürthle hücreli karsinom dokuları için ayrı ayrı gerçekleştirildi.

## Kapsülasyon Prosedürü

Kapsülasyon işlemi sadece hiperplazik tiroid dokusu için gerçekleştirildi. Yukarıda anlatıldığı şekliyle toz haline getirilen hiperplazi dokusunun yarısı, ilk olarak %2'lik ultrasaf aljinat (Pronova UP LVG; NovaMatrix, Oslo, Norway) kullanılarak süspanse edildi. Aljinat doku karışımı 26 gauge şırınga ile 300mOsm CaCl<sub>2</sub> içeren çözeltiye yaklaşık 20 cm yükseklikten yavaşça damlatıldı. Toplamda 50 adet kapsül oluşumu sağlandı. Bağlı olmayan kalsiyumun ortamdaki uzaklaştırılması için kapsüller izotonik tuz çözeltisi ile yıkandı. Elde edilen kapsüllerin çaplarının 3,5-4,0 mm olduğu belirlendi. Kapsüle edilen doku, %5 CO<sub>2</sub> içeren ortamda McCoy's hücre kültür medyumumu ile 6-kuyulu plakada kültüre edildi ve 3., 9., 12., 15., 30., 45. ve 60. günlerde medyumları değiştirilerek, 60 güne kadar takip edildi.

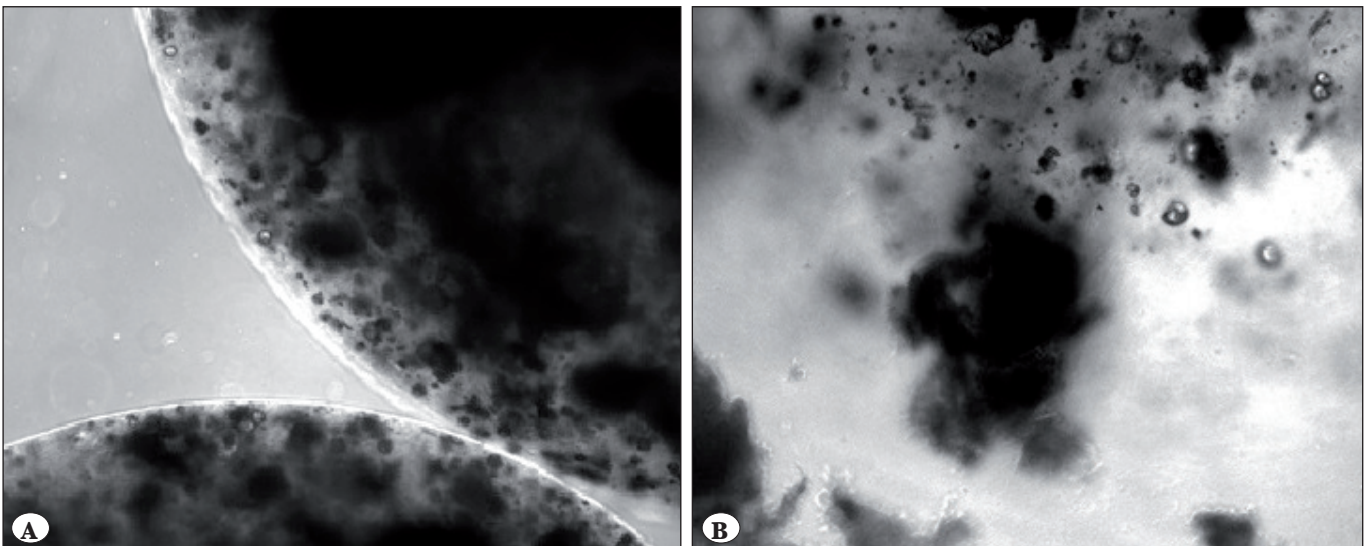
## Tiroid Hormon Değerleri Ölçümleri

3., 9., 12., 15., 30., 45. ve 60. günlerde medyum değiştirilerek kültüre edilen, tiroid dokularının üst fazdaki medyumları 60 güne kadar toplanarak -80°C'de saklandı. 60 günden sonra ise dokular rutin çözündürme protokolü uygulanarak gözlemlendi ve T3 ve T4 hormon değerleri ölçüldü.

## BULGULAR

Kültüre edilen dokular ve kapsüle edilen gruplar 60 güne kadar T3 ve T4 değerleri açısından takip edildi. Bu süre zarfında toplamda 50 adet kapsül ile başlayan çalışmanın 60. gün itibarıyla, kapsüllerin yaklaşık %50'sinin (n=26) bütüncül yapılarını koruduklarını gözlemlendi, kalan kapsüller ise parçalandı (n=24). Işık mikroskobu yardımıyla yapılan incelemelere göre kapsüllerin ilk olarak 15. günde parçalanmaya başladıkları gözlemlendi (Şekil 2A,B). Deney sonuna kadar 6 kuyulu plakalarda kültüre edilen, parçalanmış kapsüller ile parçalanmamış kapsüller ayrılmadan, olduğu gibi bırakılarak işleme devam edildi.

Deneyin üçüncü günü yapılan ilk ölçümlere göre T3 değerleri, kapsüle edilmiş hiperplazik tiroid dokusunda 14,84 pmol/L, kapsüle edilmeyen tiroid hiperplazi dokusunda 31,4 pmol/L olarak tespit edildi. Eş zamanlı olarak, yüksek T3 ve T4 salınımı gerçekleştireceğinden pozitif kontrol olarak değerlendirilen Hürthle hücreli karsinom doku örneklerinde T3 değeri 200,01 pmol/L olarak tespit edildi. Dokuların kültüre edildiği kültür medyumundaki T3 değeri ise 3,01 pmol/L olarak belirlendi. 12. gün gerçekleştirilen ölçüm sonuçlarına göre sadece pozitif kontrol dokusunun T3 düzeyinde belirgin bir artış gözlenirken (198 pmol/L), kapsüle edilen ve edilmeyen hiperplazik tiroid dokularının (sırasıyla 10,72 ve 10,45 pmol/L) hemen hemen aynı düzeyde seyrettiği ve kültür medyumuna göre (3,01



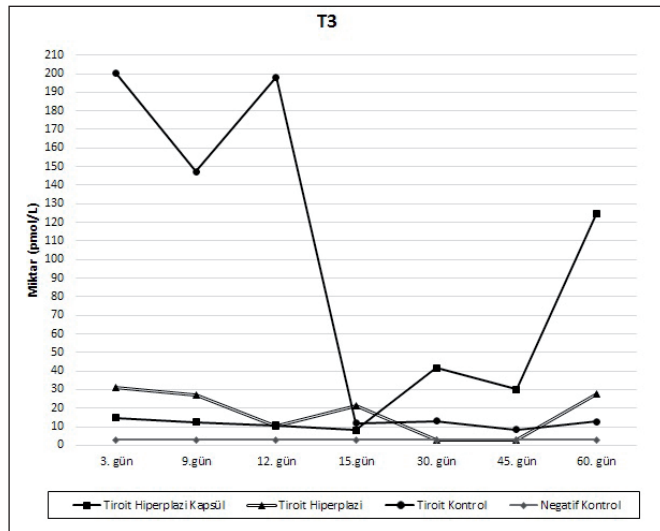
**Şekil 2:** Kültürün 15. gününde ışık mikroskobundaki hiperplazik tiroid dokusu kapsüllerinin; parçalanmış (A) ve morfolojik yapıları bozulmamış (B) görünüşleri.

pmol/L) diğer doku tiplerinin saldığı T3 miktarının yüksek olduğu belirlendi. Deneyin 15. gün sonuçlarında kapsüle edilen ve edilmeyen hiperplazik tiroid dokuları birbirine yakın çıkarken (sırasıyla 29,9 ve 21,5 pmol/L), pozitif kontrolde radikal bir düşüş meydana geldiği tespit edildi (11,95 pmol/L) ancak bu durum istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p=0.11$ ). Çalışmanın sonlandırıldığı 60. gün sonuçlarında, kapsüle edilen hiperplazik tiroid dokularının T3 salınımindaki artışın devam ettiği (124,65 pmol/L) gözlemlendi (Şekil 3).

T4 değerlerindeki değişimler incelendiğinde ilk 15 gün sonuçlarının T3 salınımı ile uyumlu olduğu belirlendi. T3'ten farklı olarak 15. günden, deneyin sonlandırıldığı 60. güne kadar kapsüle hiperplazik dokular, kapsüle olmayan hiperplazik dokular ve pozitif kontrol dokuları arasında istatistiksel olarak herhangi bir fark tespit edilemedi ( $p=0,07$ ) (Şekil 4).

## TARTIŞMA

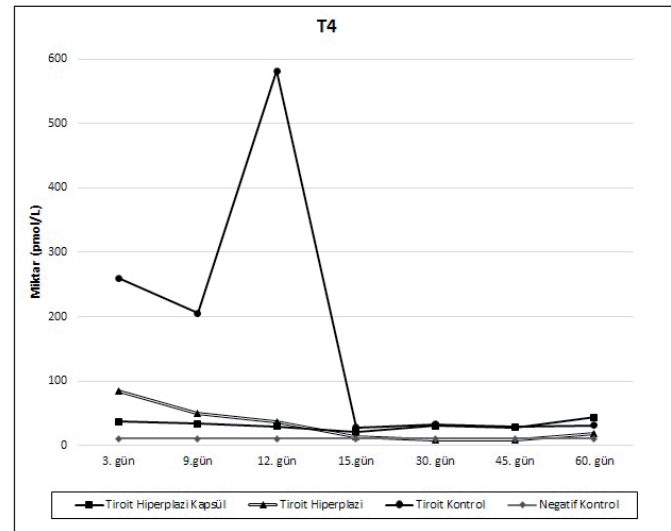
Tiroid bezinden salınan tiroit hormonlarının yetersizliğiyle karakterize bir klinik durum olan hipotiroidizm en sık görülen hormon yetmezliği tablolarından biridir (16). Hipotiroidizm; konjenital hipotiroidizm gibi çocukluk çağında ortaya çıkabildiği gibi (23), ilerleyen yaşlarda da tiroid cerrahisi sonucu tiroid bezlerinin çıkartılması, boyun bölgesine uygulanan radyoterapi neticesinde bezlerin haraplanması ve sonuç olarak hormon salınımindaki yetersizlikler gibi birçok farklı nedenle ortaya çıkabilir (16). İlave olarak, Hashimoto tiroiditi en sık görülen otoimmün hastalıktır ve hem çocuklarda hem de erişkinlerde hipotiroidizmin en sık nedenidir (24). Ayrıca yaşlı popülasyonda da ortaya çıkabilme özelliğiyle hipotiroidizm, tüm yaş gruplarını kapsayan ciddi bir halk sağlığı sorunudur (23).



**Şekil 3:** Tiroit hiperplazi kapsül, tiroit hiperplazi doku, tiroit kontrol doku (Hürthle hücreli karsinom dokusu) ve negatif kontrol ait T3 hormon salınım değerleri.

Hipotiroidizm tedavisinde çeşitli yaklaşımlar uygulanmaktadır. Bu yaklaşımlardan en sık uygulananı, özellikle levotiroksin'in (T4) kullanıldığı ilaç tedavisidir. Monoterapi uygulanan levotiroksin bir replasman seçeneği olarak kullanılmaktadır ancak tek başına uygulandığında etkinliğinin az olduğu (25), kombine tedavilerin de (T3 ve T4'ün farklı oranlarda ve birlikte kullanıldığı seçenekler) yetersiz kaldığı birçok çalışmada gösterilmiştir (11, 26, 27). Ayrıca ilaç kullanımı ömür boyu sürmekte ve ilaç kullanımına bağlı gelişen yan etkiler de bir diğer sorun olarak görülmektedir (28). Hipotiroidi tedavisi için uygulanması olası bir diğer seçenek ise kök hücre tedavisidir. 2003 yılında yayınlanan bir çalışmada, fare embriyonik kök hücreleri (EKH) kullanılarak tiroid-benzeri hücrelerin *in-vitro* ortamda elde edilebildiği gösterilmiştir (29). 2006 senesindeki bir diğer yayında ise yine fare EKH'leri kullanılarak tiroid foliküler hücrelerinin elde edildiği bildirilmiştir (30). 2012 senesinde ise yine fareden, doğrudan EKH kaynaklı tiroid hücreleri elde edilmiş ve deneysel olarak indüklenmiş hipotiroidisi olan farenin tedavisinde kullanılmış ve anlamlı derece hipotiroidiyi düzeltebilmiştir (31). Tüm bu EKH çalışmalarındaki başarılarla rağmen, kök hücrelerin olası onkojenik potansiyelinin bulunması, bu uygulamaları kısıtlamakta ve insan çalışmalarını zorlaştırmaktadır (32, 33).

Hipotiroidinin tedavisinde uygulanabilecek bir diğer yaklaşım ise tiroid allo ya da ksenotransplantasyondur. Tiroid dokularının üç boyutlu yapısal özelliğinin korunması ve bu sayede işlevselliğinin sağlanmasının izlendiği bir *in vitro* çalışmada (34) tiroid folikülogenezinin ve doku formasyonu oluşumunun sağlandığı bildirilmiştir. Bahsedilen çalışmada tiroid dokusunun işlevsel olabilmesi için mutlaka ekstrasellüler matriks içermesi ve hücrelerin uygun bir şekilde yan yana gelerek dizilmeleri ve polarize olma-



**Şekil 4:** Tiroit hiperplazi kapsül, tiroit hiperplazi doku, tiroit kontrol doku (Hürthle hücreli karsinom dokusu) ve negatif kontrol ait T4 hormon salınım değerleri.

ları (apikal-bazal ekseninde) gerektiği bildirilmiştir. Aksi takdirde tiroisitler, tiroid hormonlarının salınımını gerçekleştirememektedir (34). Bu da tiroid dokusunun hücresel düzeyde değil de doku formasyonu sağlandıktan sonra aktif olabileceğini göstermektedir.

Tiroid dokusunun transplantasyonu ile ilgili çalışmalar uzun yıllar öncesinden başlamış ve halen de devam etmektedir (35-37). Ancak doku transplantasyonundaki en büyük engel, bilindiği üzere alıcı ile verici arasındaki doku uyumsuzluğu sonucu, bazen dakikalar içinde bazen de aylar sonra görülen doku reddidir. Alıcının immün sistem elemanlarının saldırısından korumak için verici hücrelerinin bir kapsül ile kaplanması ve sonrasında transplantasyon işleminin gerçekleştirilmesi günümüzde etkin olarak uygulanan bir yöntemdir (38, 39). Kapsülasyon olarak adlandırılan yöntem birçok farklı disiplin tarafından kullanılmaktadır (40-42). Kapsülasyon kendi içinde doğal (aljinat tabanlı, jelatin tabanlı, selüloz tabanlı ve kitosan tabanlı) ve sentetik (Poli (L-laktikasit) (PLA)- poli (laktik-koglikolikolasit) (PLGA), Poli (vinilalkol) (PVA), Poli ( $\epsilon$ -kaprolakton) (PCL), Poli (metil metakrilat) (PMAA)) olarak iki farklı gruba ayrılır (43). Bunlardan özellikle aljinat tabanlı kapsülasyon tekniği insan çalışmalarında güvenli oluşu nedeniyle tercih edilmektedir (44, 45). Aljinat tabanlı kapsülasyon tekniği, Diabetes Mellitus başta olmak üzere farklı hastalıklarda (46, 47) eksik olan molekülün kapsüle edilerek insan vücuduna verilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Kapsülasyon prosedürünün farklı hastalıklarda ve farklı yöntemlerle uygulanmasıyla optimum verimliliğin elde edilmesine çalışılmaktadır. Örneğin, tüm kapsülasyon bileşenlerinden tek başına aljinat, ele alındığında bahsedilen durum net olarak görülmektedir. Aljinat tek başına uygulanabildiği gibi aljinat-polilizin-aljinat (APA) veya aljinat-poli-L-ornitin-aljinat formunun kullanıldığı çalışmalar da (16, 48) mevcuttur. Ayrıca aljinat yüzdesinin %1,5 veya %2 olmasına göre (49) ya da temas sonucunda kapsül oluşmasına neden olan  $\text{CaCl}_2$  ve/veya  $\text{BaCl}_2$  kullanımına göre de (50) kapsülasyon işlemi farklılık

gösterebilmektedir. Literatürde bildiğimiz kadarıyla, tiroid hücrelerinin kapsüle edildiği tek bir çalışma bulunmaktadır ve bahsedilen çalışmada tiroid dokusundan elde edilen tiroisitler kapsüle edilmiştir (16).

Sunulan çalışmada, tiroide özgü olan nedenlerle fonksiyonellik sağlanabilmesi için hücre şeklinde değil de doku formasyonunda kapsülasyonunun uygulanmasına karar verildi. 60 günlük takip sonuçlarının değerlendirilmesine göre aktif tiroid hormonu olarak da bilinen T3 değerinin kültür işleminin 45. gününde; kapsüle edilmeyen hiperplazik tiroid dokusu, ayrıca pozitif kontrol grubu olarak kullanılan Hürthle hücreli karsinom dokularının negatif kontrole göre anlamlı olarak arttığı ve 60. güne kadar bu artışın devam ettiği belirlendi. Bu bulgular T3 salınımının kapsülasyonun 60. gününde bile başarıyla gerçekleştiğini göstermesi açısından anlamlı olarak değerlendirildi. T4 dokusunda ise kapsüle edilen dokularla, edilmeyenler ve pozitif kontrol dokuları arasında bir fark görülmemesi, T3'deki paternin T4 için geçerli olmadığını gösterdi. Bilindiği üzere T4, salındıktan sonra perifer dokularda 5'deiyodinaz ile T3'e dönüştürülür. Çalışmamızda T4'de artış belirlenememesini, periferik dokuların ve 5'deiyodinaz enziminin eksikliğine bağlayabiliriz. T3 ise hormonun aktif formu olduğundan salınımına devam edebilmiştir.

## SONUÇ

60 günlük *in vitro* çalışmanın tüm verileri birlikte değerlendirildiğinde, çeşitli endojen ve eksojen sebeplerle meydana gelen hipotiroidinin düzeltilmesi, hastaların yaşam boyu ilaç kullanımından kaynaklanan yan etkilerden ve transplantasyon sonrası uygulanan immüsupresyon rejiminin olumsuz etkilerinden sakınabilmesi için, kapsüle edilmiş tiroid dokularının, doku formunda kullanılmaları güncel bir yaklaşım olarak değerlendirilmelidir. Gerçekleştirdiğimiz bu çalışmanın *in vivo* konfirmasyonu ilerleyen dönemde mutlaka yapılmalıdır. Bu sayede hipotiroidi tanılı hastalara kalıcı tedavi imkanının önü açılacaktır.

## KAYNAKLAR

1. Faggiano A, Del Prete M, Marciello F, Marotta V, Ramundo V, Colao A. Thyroid diseases in elderly. *Minerva Endocrinol* 2011;36(3):211-31.
2. Salvatore D, Simonides WS, Dentice M, Zavacki AM, Larsen PR. Thyroid hormones and skeletal muscle new insights and potential implications. *Nat Rev Endocrinol* 2014;10(4):206-14.
3. Vargas-Uricoechea H, Sierra-Torres CH. Thyroid hormones and the heart. *Horm Mol Biol Clin Investig* 2014;18(1):15-26.
4. Corona G, Wu FC, Forti G, Lee DM, O'Connor DB, O'Neill TW, et al. Thyroid hormones and male sexual function. *Int J Androl* 2012;35(5):668-79.
5. Di Liegro I. Thyroid hormones and the central nervous system of mammals (Review). *Mol Med Rep* 2008;1(3):279-95.

6. Daher R, Yazbeck T, Jaoude JB, Abboud B. Consequences of dysthyroidism on the digestive tract and viscera. *World J Gastroenterol* 2009;15(23):2834-8.
7. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, et al. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87(2):489-99.
8. Santini F, Marzullo P, Rotondi M, Ceccarini G, Pagano L, Ippolito S, et al. Mechanisms in endocrinology: The crosstalk between thyroid gland and adipose tissue: Signal integration in health and disease. *Eur J Endocrinol* 2014;171(4):R137-52.
9. Limonard EJ, Bisschop PH, Fliers E, Nieveen van Dijkum EJ. Thyroid function after subtotal thyroidectomy in patients with Graves' hyperthyroidism. *Scientific World Journal* 2012;2012:548796.
10. Escobar-Morreale HF, Botella-Carretero JI, Morreale de Escobar G. Treatment of hypothyroidism with levothyroxine or a combination of levothyroxine plus L-triiodothyronine. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2015;29(1):57-75.
11. Siegmund W, Spieker K, Weike AI, Giessmann T, Modess C, Dabers T, et al. Replacement therapy with levothyroxine plus triiodothyronine (bioavailable molar ratio 14 : 1) is not superior to thyroxine alone to improve well-being and cognitive performance in hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2004;60(6):750-7.
12. Clarke N, Kadi UM. Optimizing treatment of hypothyroidism. *Treat Endocrinol* 2004;3(4):217-21.
13. LaRosa DF, Rahman AH, Turka LA. The innate immune system in allograft rejection and tolerance. *J Immunol* 2007;178(12):7503-9.
14. Wang H, Yang YG. Innate cellular immunity and xenotransplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2012;17(2):162-7.
15. Fort A, Fort N, Ricordi C, Stabler CL. Biohybrid devices and encapsulation technologies for engineering a bioartificial pancreas. *Cell Transplant* 2008;17(9):997-1003.
16. Yang Y, Opara EC, Liu Y, Atala A, Zhao W. Microencapsulation of porcine thyroid cell organoids within a polymer microcapsule construct. *Exp Biol Med (Maywood)* 2017;242(3):286-96.
17. de Vos P, Bucko M, Gemeiner P, Navratil M, Svitel J, Faas M, et al. Multiscale requirements for bioencapsulation in medicine and biotechnology. *Biomaterials* 2009;30(13):2559-70.
18. Pareta R, McQuilling JP, Sittadjody S, Jenkins R, Bowden S, Orlando G, et al. Long-term function of islets encapsulated in a redesigned alginate microcapsule construct in omentum pouches of immune-competent diabetic rats. *Pancreas* 2014;43(4):605-13.
19. Machluf M, Orsola A, Boorjian S, Kershen R, Atala A. Microencapsulation of Leydig cells: A system for testosterone supplementation. *Endocrinology* 2003;144(11):4975-9.
20. Mei J, Sgroi A, Mai G, Baertschiger R, Gonelle-Gispert C, Serre-Beinier V, et al. Improved survival of fulminant liver failure by transplantation of microencapsulated cryopreserved porcine hepatocytes in mice. *Cell Transplant* 2009;18(1):101-10.
21. Moskalenko V, Ulrichs K, Kerscher A, Blind E, Otto C, Hamelmann W, et al. Preoperative evaluation of microencapsulated human parathyroid tissue aids selection of the optimal bioartificial graft for human parathyroid allotransplantation. *Transpl Int* 2007;20(8):688-96.
22. Sittadjody S, Saul JM, Joo S, Yoo JJ, Atala A, Opara EC. Engineered multilayer ovarian tissue that secretes sex steroids and peptide hormones in response to gonadotropins. *Biomaterials* 2013;34(10):2412-20.
23. Diaz A, Lipman Diaz EG. Hypothyroidism. *Pediatr Rev* 2014;35(8):336-47; quiz 48-9.
24. Laurberg P, Andersen S, Bulow Pedersen I, Carle A. Hypothyroidism in the elderly: Pathophysiology, diagnosis and treatment. *Drugs Aging* 2005;22(1):23-38.
25. Hennessey JV. The emergence of levothyroxine as a treatment for hypothyroidism. *Endocrine* 2017;55(1):6-18.
26. Grozinsky-Glasberg S, Fraser A, Nahshoni E, Weizman A, Leibovici L. Thyroxine-triiodothyronine combination therapy versus thyroxine monotherapy for clinical hypothyroidism: Meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(7):2592-9.
27. Ma C, Xie J, Huang X, Wang G, Wang Y, Wang X, et al. Thyroxine alone or thyroxine plus triiodothyronine replacement therapy for hypothyroidism. *Nucl Med Commun* 2009;30(8):586-93.
28. Ruggeri RM, Trimarchi F, Biondi B. Management of endocrine disease: l-Thyroxine replacement therapy in the frail elderly: A challenge in clinical practice. *Eur J Endocrinol* 2017;177(4):R199-R217.
29. Lin RY, Kubo A, Keller GM, Davies TF. Committing embryonic stem cells to differentiate into thyrocyte-like cells in vitro. *Endocrinology* 2003;144(6):2644-9.
30. Arufe MC, Lu M, Kubo A, Keller G, Davies TF, Lin RY. Directed differentiation of mouse embryonic stem cells into thyroid follicular cells. *Endocrinology* 2006;147(6):3007-15.

31. Antonica F, Kasprzyk DF, Opitz R, Iacovino M, Liao XH, Dumitrescu AM, et al. Generation of functional thyroid from embryonic stem cells. *Nature* 2012;491(7422):66-71.
32. Chambers I, Smith A. Self-renewal of teratocarcinoma and embryonic stem cells. *Oncogene* 2004;23(43):7150-60.
33. Ghosh Z, Huang M, Hu S, Wilson KD, Dey D, Wu JC. Dissecting the oncogenic and tumorigenic potential of differentiated human induced pluripotent stem cells and human embryonic stem cells. *Cancer Res* 2011;71(14):5030-9.
34. Toda S, Koike N, Sugihara H. Thyrocyte integration, and thyroid folliculogenesis and tissue regeneration: Perspective for thyroid tissue engineering. *Pathol Int* 2001;51(6):403-17.
35. Okamoto T, Fujimoto Y, Obara T, Ito Y, Kodama T, Kusakabe K. Trial of thyroid autotransplantation in patients with Graves' disease whose remnant thyroid has unintentionally been made too small at subtotal thyroidectomy. *Endocrinol Jpn* 1990;37(1):95-101.
36. Shimizu K, Kumita S, Kitamura Y, Nagahama M, Kitagawa W, Akasu H, et al. Trial of autotransplantation of cryopreserved thyroid tissue for postoperative hypothyroidism in patients with Graves' disease. *J Am Coll Surg* 2002;194(1):14-22.
37. Roy PG, Saund MS, Thusoo TK, Roy D, Sankar R. Fate of human thyroid tissue autotransplants. *Surg Today* 2003;33(8):571-6.
38. Toledo PC, Rossi RL, Caviedes P. Microencapsulation of Parathyroid Cells for the Treatment of Hypoparathyroidism. *Methods Mol Biol* 2017;1479:357-63.
39. Long R, Liu Y, Wang S, Ye L, He P. Co-microencapsulation of BMSCs and mouse pancreatic  $\beta$  cells for improving the efficacy of type I diabetes therapy. *Int J Artif Organs* 2017;40(4):169-75.
40. Singh MN, Hemant KS, Ram M, Shivakumar HG. Microencapsulation: A promising technique for controlled drug delivery. *Res Pharm Sci* 2010;5(2):65-77.
41. Del Piano M, Carmagnola S, Ballare M, Sartori M, Orsello M, Balzarini M, et al. Is microencapsulation the future of probiotic preparations? The increased efficacy of gastro-protected probiotics. *Gut Microbes* 2011;2(2):120-3.
42. Nakai S, Nakai A, Michida T. Microencapsulation of ascorbic acid for cosmetic by utilizing self-assembly of phase separated polymer. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 2016;64(10):1514-8.
43. Lam PL, Gambari R. Advanced progress of microencapsulation technologies: In vivo and in vitro models for studying oral and transdermal drug deliveries. *J Control Release* 2014;178:25-45.
44. Paredes Juarez GA, Spasojevic M, Faas MM, de Vos P. Immunological and technical considerations in application of alginate-based microencapsulation systems. *Front Bioeng Biotechnol* 2014;2:26.
45. Lu B, Gao Q, Liu R, Ren M, Wu Y, Jiang Z, et al. Effect of a new drug releasing system on microencapsulated islet transplantation. *Int J Clin Exp Pathol* 2015;8(10):12390-9.
46. Calafiore R, Basta G, Montanucci P. Microencapsulation of islets for the treatment of type 1 diabetes mellitus (T1D). *Methods Mol Biol* 2017;1479:283-304.
47. Hwang SR, Seo DH, Byun Y, Park JW. Preparation and in vivo evaluation of an orally available enteric-microencapsulated parathyroid hormone (1-34)-deoxycholic acid nanocomplex. *Int J Nanomedicine* 2016;11:4231-46.
48. Lin L, Song Y, Song C, Xu P, Song C. Successful xenotransplantation of microencapsulated newborn pig parathyroid cells in the treatment of hypoparathyroidism in rats. *Chin Med J (Engl)* 2003;116(8):1161-5.
49. Lee CH, Wang YJ, Kuo SM, Chang SJ. Microencapsulation of parathyroid tissue with photosensitive poly(L-lysine) and short chain alginate-co-MPEG. *Artif Organs* 2004;28(6):537-42.
50. Hasse C, Zielke A, Klock G, Schlosser A, Zimmermann U, Rothmund M. Isotransplantation of microencapsulated parathyroid tissue in rats. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1997;105(1):53-6.