ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OKSİDATİF DNA HASARI OLARAK İKİ FARKLI TİROİD HASTALIĞI TÜRÜ ARASINDAKİ POTANSİYEL FARKLILAŞMA DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

ALI AHMED ABDULRIDHA

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Ali Ahmed ABDULRIDHA tarafından hazırlanan **"Oksidatif DNA Hasarı Olarak İki Farklı Tiroid Hastalığı Türü Arasındaki Potansiyel Farklılaşma Düzeyinin Belirlenmesi"** adlı tez çalışması 29/06/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Mehmet SEZGİN

Eş Danışman : Dr. Hazar Shakir SALEH

Jüri Üyeleri :

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Mehmet SEZGİN
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Atilla ÇAKIR
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum **"Oksidatif DNA Hasarı Olarak İki Farklı Tiroid Hastalığı Türü Arasındaki Potansiyel Farklılaşma Düzeyinin Belirlenmesi"** konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (29/06/2022).

Ali Ahmed ABDULRIDHA

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

OKSİDATİF DNA HASARI OLARAK İKİ FARKLI TİROİD HASTALIĞI TÜRÜ ARASINDAKİ POTANSİYEL FARKLILAŞMA DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

Ali Ahmed ABDULRIDHA

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mehmet SEZGİN
Eş Danışman: Dr. Hazar Shakir SALEH

Bu çalışmanın amacı, tiroid kanserli yaşlı erişkinlerde DNA'daki oksidatif hasarın sıklığını, derecesini ve onarım kapasitesini belirlemektir. Çalışma; iki gruba ayrılan (200) Iraklı, kontrol grubunu yaşları 36 ile 50 arasında değişen 108 sağlıklı birey (62 erkek ve 46 kadın) ve hasta grubunu yaşları 38 ila 57 arasındaki 92 hastadan (44 erkek ve 48 kadın) oluşturmuştur. Örnekler, Dhi Qar, Diyabet ve Endokrinoloji Merkezinden Şubat 2020 ile Ocak 2021 tarihleri arasında alınmıştır. Sağlık durumuna göre oksidatif DNA hasarı olan deneklerinlerle ile ilgili olarak, sağlıklı yaşlıların gösterdiği %31 oranın aksine, Graves hastalığının %59'unun ve Diferansiye tiroid karsinomulu hastaların %53'ünün oksidatif DNA hasarı olan hücreler gösterdiği ve farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,01$). Öte yandan, komet testinde DNA hasarına bağlı migrasyon ortalama değerleri arteriyel Diferansiye tiroid karsinomlu yaşlı grupta sağlıklı gruba göre anlamlı olarak daha yüksek olmuştur (Diferansiye tiroid karsinomlu, 27,32 ± 8,00 vs. sağlıklı 24,30 ± 5,07, $p < 0,05$). Oksidatif DNA hasarı için bir risk faktörü olarak sağlık durumunun analizinde, Graves hastalığı, DNA hasarı (OR = 3,2, %95 CI 1,6 ila 6,7, $p < 0,05$) ve ayrıca Diferansiye tiroid karsinomlu (OR = 2,5, %95 GA 1,3 ila 4,9, $p < 0,05$) olmuştur. Bu çalışmada, Graves hastalığı ve Diferansiye tiroid karsinomlu olan yaşlı hastalarda oksidatif DNA hasarının sağlıklı insanlara göre arttığı, ayrıca hasta yaşının ilerlemesi ile birlikte hasar seviyelerinin de arttığı sonucuna varılmıştır.

2022, 67 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Tiroid bezi, Tirotropin salgılatıcı hormon, Diferansiye tiroid karsinomu, MDA testi, Graves hastalığı, TT3

ABSTRACT

Master of Science Thesis

DETERMINING THE LEVEL OF POTENTIAL DIFFERENCE BETWEEN TWO DIFFERENT TYPES OF THYROID DISEASE AS OXIDATIVE DNA DAMAGE

Ali Ahmed ABDULRIDHA

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Asst. Prof. Dr. Mehmet SEZGİN
Co-advisor: Dr. Hazar Shakir SALEH

The aim from thıs study to determine the frequency, degree and repair capacity of oxidative damage to DNA in older adults with thyroid cancer. The study included (200) Iraqi persons divided into two groups, the control group consist of 108 healthy persons (62 males and 46 females) with age of 36 to 50 years and the patient group consist of 92 patients (44 males and 48 females) with age 38 to 57 years, samples were obtained from Diabetes and Endocrinology Center in Dhi Qar during the duration of February 2020 to January 2021. Regarding subjects with oxidative DNA damage by health status, 59% of Graves' disease and 53% of patients with Differential thyroid carcinoma had cells with oxidative DNA damage, in contrast to 31% of healthy elderly subjectsö and the differences were found to be statistically significant ($p < 0.01$). On the other hand, mean migration values due to DNA damage in the comet test were significantly higher in the elderly group with arterial Differential thyroid carcinoma than in the healthy group (Differential thyroid carcinoma, 27.32 ± 8.00 vs. healthy 24.30 ± 5.07, $p < 0.05$). In the analysis of health status as a risk factor for oxidative DNA damage, Graves' disease, DNA damage (OR = 3.2, 95% CI 1.6 to 6.7, $p < 0.05$), as well as Differential thyroid carcinoma (OR = 2.5, The 95% CI was 1.3 to 4.9, $p < 0.05$). Concluded in this study, oxidative DNA damage was increased in elderly patients with Graves' disease and Differential thyroid carcinoma than in healthy people, also levels of damage rais with progressive patient's age.

2022, 67 pages

Keywords: Thyroid gland, Thyrotropin-releasing hormone, Differentiated thyroid carcinoma, MDA test, Graves' disease, TT3

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans sürecim ve ilgili araştırmam boyunca sürekli desteği, sabrı, motivasyonu ve engin bilgisi için Çankırı Karatekin Üniversitesi' nden danışmanım Doç.Dr. Mehmet SEZGİN'e teşekkür ederim. Ayrıca bu tez çalışmasının eş-danışmanı olan Dr. Shakkir SALEH HZAR'a, bu tez hakkındaki çok değerli yorumları ve desteği için teşekkür ederim. Son olarak, eğitim hayatım boyunca ve tezimin araştırma ve yazma sürecim boyunca bana sürekli destekleyen aileme ve eşime çok derin şükranlarımı ifade etmeliyim. Bu başarı onlar olmadan mümkün olmazdı, teşekkürler.

Ali Ahmed ABDULRIDHA

Çankırı, Haziran 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **viii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **ix**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR ÖZETİ **3**
2.1 Kanser **3**
2.2 Kanserin Sınıflandırması **3**
2.3 Kanserin Nedenleri **4**
2.4 Tiroid Bezi **5**
2.4.1 Tiroid hormonları **6**
2.4.2 Tiroid fonksiyonunun düzenlenmesi **7**
2.4.3 Tiroid uyarıcı hormon veya tirotropin (TSH) **8**
2.5 Tiroid Hormonlarının Fizyolojik Etkileri **8**
.25.1 Hipotiroidizm **9**
2.5.2 Oksidatif stres **11**
2.6 Tiroid Kanseri **12**
2.7 Otoimmün Hastalıklar **13**
2.8 Cinsiye ve Tiroid Kanseri **14**
2.9 Yenilikçi Tanılama Yöntemleri **15**
2.10 Oksidatif Stres **17**
2.11 Oksidatif Hasarın Biyolojik Belirteçleri **19**
2.11.1 DNA'ya oksidatif hasar **23**
2.11.2 8-oksoguanin lezyonu **24**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **25**

3.1 Graves Hastalığı Olan Hastalar **25**
3.2 Diferansiye Tiroid Karsinomu (DTC) Olan Hastalar **25**
3.3 Kontroll Grubu (Sağlıklı Grup) **26**
3.4 Yöntem **27**
3.4.1 DNA ekstraksiyonu **27**
3.4.2 Sitokrom p-45017a1, 17–β–hidroksisteroid dehidrojenaz 1, sitokrom p-450a1, sitokrom p-450a2, sitokrom p-450b1, comt ve sulfotransferaz1e1 genlerinin analizi **27**
3.4.3 Plazmanın elde edilmesi **28**
3.4.4 Hemolizatın elde edilmesi **28**
3.4.5 Katalaz (CAT) **28**
3.4.6 Süperoksit dismutaz (SOD) **28**
3.4.7 Nitrit / nitrat testi (NO_2) **29**
3.4.8 MDA testi **29**
3.4.9 Hormonal dozajlar **29**
3.4.10 Biyokimyasal dozajlar **31**
3.4.11 Hematolojik profil **31**
3.5 Operasyonelleştirme **31**
3.5.1 Alkalin tek hücre elektroforezi veya comet testi **32**
3.5.2 8-OHdG ELISA **34**
3.6 İstatistiksel Analiz **36**
4. BULGULAR **37**
4.1 DTC için Sonuçlar **37**
4.2 GD için Sonuçlar **37**
4.3 Tüm Genler için Sonuçlar **38**
4.4 Aşağıdaki Genlerin Real-Time PCR Analizinden Sonra Amplikonların Agaroz Jel Görüntüsü **43**
5. TARTIŞMA VE SONUÇ **45**
KAYNAKLAR **58**
EKLER **65**
ÖZGEÇMİŞ **67**

SİMGELER DİZİNİ

-	Negatif
%	Yüzde
<	Küçük
>	Büyük
°C	Santigrat derece
B	Beta
Fe^{2+}	Demir
H+	Hidrojen iyonları
H_2O	Su
IU	İnternasyonel ünite
Mg	Miligram
µL	Mikrolitre
NaCl	Sodyum klorür
Nm	Nanometre
NO_2	Nitrik oksit
O_2	Oksijen

KISALTMALAR DİZİNİ

ALP	Alkalin fosfataz
ALT	Alanin transaminaz
AST	Aspartat aminotransferaz
BER	Baz eksizyon onarımı
BMI	Vücut kitle indeksi
CD	Ayrım kümesi
CDT	Diferansiye tiroid kanseri
DG	Graves hastalığına
DIT	Diiyodotirozin
DNA	Deoksiriboz nükleik asit
EO	Oksidatif stress
ER	Reaktif türler
FADH	Flavin adenin dinükleotidi
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
INCA	Ulusal Kanser Enstitüsü
IU	Uluslararası birlik
KAH	Koroner arter hastalıklarının
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
LIG3	Ligaz3
LPO	Lipoperoksidasyon
LT4	Levotiroksin sodyumun
MIT	Monoiyodotirozin
mRNA	Taşıyıcı ribonükleik asit
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotidi
NS	Anlamlı olmayan
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
SSB	Zincir kopması
T3	Triiodotironin
T4	Tiroksin
TH	Hashimoto tiroiditinde
TSH	Tiroid uyarıcı hormon
UST	Tiroid ultrasonu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Tiroid ve paratiroid bezleri (Knight *et al.* 2021).....5
Şekil 2.2 Tiroid bezinin mikroskobik görünümü (Al-Musawi *et al.* 2021).....6
Şekil 2.3 Tiroid hormonlarının biyokimyasal yapısı (Mittal *et al.* 2010).....7
Şekil 2.4 Reaktif oksijen türleri 12
Şekil 2.5 Kararlı bir molekül ile kararsız bir molekülün (serbest radikal) karşılaştırılması.....17
Şekil 2.6 Reaktif türlerin üretimi ve antioksidan savunma şeması 18
Şekil 3.1 8-OHdG ELISA Kiti.....35
Şekil 3.2 İdrar örnekleri 36
Şekil 4.1 Gruplara göre DNA hasarı olan hücreleri olan deneklerin yüzdesi.....42
Şekil 4.2 Gruplara göre idrar 8-OHdG atılımının konsantrasyonu.....42
Şekil 4.3 RT-PCR ürünlerinin %2.5 agaroz jel elektroforezi. Şerit 1 ve 14: En alttaki 20 bp PCR moleküler boyut işaretçisi. Şerit 2 ila 4: CYP A1 gen amplifikasyon ürünleri, Şerit 5 - 7: CYP 17 A1 gen amplifikasyon ürünleri. Şerit 8-10: CYP 17B1 gen amplifikasyon ürünleri. Şerit 11-13: CYP 17A2 gen amplifikasyon ürünleri 44
Şekil 4.4 (a) 17 □-HSD-1; (b) sülfotransferaz 1 E1 geni (SULT1E1) (c) Katekol-O-Metiltransferaz (COMT).....44

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Değişkenlerin operasyonel leştirilmesi 32
Çizelge 4.1 Cinsiyet, etnik köken ve tütün alışkanlığı gibi özellikler için vaka ve kontrol arasındaki ilişki. 37
Çizelge 4.2 Hormon replasman kullanımı, menopoz ve kontraseptif kullanımı ile ilgili hasta ve kontrollerin özellikleri 37
Çizelge 4.3 Sigara içen ve içmeyen, hormon replasmanı kullanan veya kullanmayan hasta ve kontroller; doğum kontrol hapı kullanıp kullanmadıkları veya menopoza girip girmedikleri 38
Çizelge 4.4 Lojistik regresyon analizi sonucu 38
Çizelge 4.5 Mann-Whitney istatistik testinin sonucu 39
Çizelge 4.6 Adım adım istatistiksel testinin sonucu 39
Çizelge 4.7 Laboratuvar bulguları 40
Çizelge 4.8 Gruplara göre DNA hasarının sıklığı 41
Çizelge 4.9 Gruplara göre DNA hasarına bağlı migrayon 41
Çizelge 4.10 Gruplara göre idrar 8-OHdG atılımı 42

1. GİRİŞ

Kanser multifaktöriyel bir hastalık olup dünya çapında başlıca ölüm nedenlerinden biridir. Tüm dünyada 2008 yılında, toplam ölümlerin %13'ünü oluşturan 7,6 milyon ölüm kanser kaynaklıdır. Hayatta kalma oranı histolojik tipe ve bulunduğu yere göre değişmektedir; ancak tiroid bezi, uygun enerji seviyelerini ve aktif yaşamı sürdürmek için gerekli hormonları üretme yeteneğinden dolayı insan vücudu için önemlidir (Nagai and Kim 2017). Kanser, karsinojenezi koordine eden genetik ve çevresel faktörlerin karmaşık etkileşimi ile örneklenen biyolojik bir hastalık olmakla beraber dünya nüfusunu etkileyen en ciddi hastalıklardan biridir (Brennan *et al.* 2009). Kanser, normal hücresel fonksiyonlarda bozulmalar ile karakterize bir hastalık olup bir hücrenin genetik materyalini etkileyen mutajenik olayların, hücrenin en temel süreçlerini yöneten yolların deregülasyonuna neden olduğu bilinmektedir. Spesifik olarak kanserli durumların başlangıcı, çoklu genetik mutasyonların birikmesinden kaynaklanmakta olup hücre büyümesini, apoptozu ve DNA onarımını kontrol eden sinyal yollarının kuralsızlaştırılmasına yol açar ki, bu yollar; hücresel kontrollerin etkilerini ortadan kaldırmak için dönüştürüldüğünde kanser hücreleri, normal kısıtlamaların yokluğunda çoğalabilir ve büyüyebilir (Kreeger and Lauffenburger 2010). Normal hücrelerin kanserli hücrelere dönüştüğü kesin ve iyi tanımlanmış yöntemleri vardır. Yüzyılın ikinci yarısındaki onkolojik araştırmalar, neredeyse tüm kanserli hücrelerin, anahtar yolların değiştirilmesinden kaynaklanan nispeten az sayıda kazanılmış moleküler, biyokimyasal ve hücresel özellikler gösterdiğini ortaya koymuştur (Kreeger ve Lauffenburger 2010).

Tiroid bezi, uygun enerji seviyelerini ve aktif yaşamı sürdürülmesi için gerekli hormonları üretme kabiliyeti nedeniyle insan vücudu için önemlidir. Bu tür moleküllerin pleiotropik etkilerisöz konusu olup her bir vücut fonksiyonunu düzenleyen 100'den fazla proteinin beyin gelişimi, somatik büyüme, kemik olgunlaşması ve mRNA sentezinin başlangıcında kritik bir rol oynarlar. Tiroid hastalıkları yüksek bir prevalansa sahip olmakla beraber hormonal üretimin fazlalığından veya eksikliğinden veya bezin yaygın veya nodüler büyümesinden kaynaklanan anatomik değişikliklerden dolayı hormonal

işlev bozukluğu ile kendini göstermektedir. Birkaç çeşit tiroid hastalığı söz konusu olmakla beraber (Stathatos and Daniels 2012).

Dünya çapında milyonlarca insan tiroid bezinin işleyişinde bir bozukluktan muzdarip olmakla beraber patolojik semptomları arasında yorgunluk, halsizlik ve saç dökülmesi yer aldığı için esas olarak vücutta hissederler (Al Shahrani *et al.* 2015). Tiroid bezi salgıladığı uygun oranda hormonla, kalbin ritmini gerçekleştirmekle beraber bağırsakları, vücuttaki iç sıcaklığı, kandaki şeker seviyelerini ve yağların yanı sıra traksiyon salgısı yoluyla vücudun metabolizmasını yani dinlenme sırasındaki enerji ihtiyacımızı düzenler (Stathatos and Daniels 2012).

Bu yüksek lisans tezinde hedeflenen; Tiroid kanserli yaşlı erişkinlerde, nodüler ve otoimmün hastalıklarda DNA'daki oksidatif hasarının sıklığını,derecesini ve onarım kapasitesini belirlemektir. Bunun için, Sağlıklı ve tiroid kanserli erişkinlerde komet testi tekniğini kullanarak DNA hasarı belirlenecektir.belirteç olarak da 8-OHdG atılımını kullanarak DNA onarımının derecesini değerlendirilecektir. Bu tezde nodüler ve otoimmün hastalıklar ele alınacaktır

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Kanser

Kanser, somatik hücrelerdeki genetik veya epigenetik değişikliklerden kaynaklanan ve vücudun diğer bölgelerine yayılabilen anormal hücre büyümesine sahip genetik bir hastalıktır. 2018 yılında dünya genelinde 9,5 milyonu erkeklerde, 8,5 milyonu kadınlarda olmak üzere 18 milyon kanser vakası ve aynı yıl içinde 9,6 ölüm kayıtlara geçmiştir. Dünyada en yaygın kanser türleri prostat, meme, akciğer mide, kolorektal kanser, melanom dışı cilt maligniteleri olmakla beraber insanları etkileyen 100 kanser türü vardır. Kanserin olumsuz etkisi her geçen gün önemli ölçüde artmaktadır (Saini *et al.* 2020). Tüm kanser türlerinin %22si tütün mamulleri kullanımından, %15'inden HIV, hepatit b, Epstein-Barretc gibi bazı enfeksiyonlardan, %10'undan ise kötü beslenme, obezite, aşırı alkol tüketimi, iyonlaştırıcı radyasyona maruz kalma vb. nedenlerden kaynaklanmaktadır. Bu tez çalışmamızda kansere neden olan çeşitli faktörlere, kanser türlerine, kanserin nasıl başladığına veya kanser belirtileri, tanı testleri, kanser tedavileri ve kanser tedavilerine ilişkin sorunlara ışık tutmaya çalışılacaktır. Günümüzde kanser tedavilerin daha daha başarılı olması için hassas tıp üzerine birçok araştırma yapılmaktadır. Yaygın tedaviler; hastanın kemoterapisi, radyasyon tedavisi, immünoterapi, cerrahi ve hormon tedavisi ve bu tedavilerin kombinasyonlarıdır. Bunun yanısıra, kök hücre nakli de kanser için en iyi tedavidir, ancak hastayı kan kaybından kurtarmak ve hastanın sağlıklı olmasına yardımcı olmak için yaygın tedavilerden sonra verilir (Saini *et al.* 2020).

2.2 Kanserin Sınıflandırması

Kanser, tümör hücrelerinin benzediği hücre tipine göre sınıflandırılmakta olup tümörün kaynağı olduğu varsayılmakla beraber şunları içermektedir: *Karsinom:* epitelyal hücrelerden türetilen kanserler, bu grup en yaygın kanser türü olup meme, prostat, akciğer, pankreas ve kolondakilerin neredeyse tamamını içermektedir, *Sarkom:* her biri kemik iliği dışındaki mezenkimal hücrelerden kaynaklanan hücrelerde gelişen bağ dokusundan (yani kemik, kıkırdak, yağ, sinir) kaynaklanan kanser türleridir, *Lenfoma ve lösemi:* bu iki sınıf, kemik iliğini terk eden ve sırasıyla lenf düğümlerinde ve kanda

olgunlaşma eğiliminde olan hematopoietik (kan oluşturan) hücrelerden kaynaklanır, *Germ hücreli tümör:* çoğu zaman testis veya yumurtalıkta ortaya çıkan pluripotent hücrelerden türetilen kanser türleridir (sırasıyla seminom ve disgerminoma), *Blastoma:* olgunlaşmamış "prekürsör" hücrelerden veya embriyonik dokudan türetilen kanser türleridir (Varricchio 2004).

2.3 Kanserin Nedenleri

Ölümlerin %22'sinin tütün tüketimi, %10'u kötü beslenme, obezite, fiziksel aktivite eksikliği, aşırı alkol tüketimi veya iyonlaştırıcı radyasyona, çevresel kirleticilere ve enfeksiyona karşı maruz kalma gibi belirli sebepler olmak üzere vücudun farklı bölgelerinde kansere sebebiyet verebilecek birçok neden vardır **(**Blackadar 2016). Dünya üzerindeki kanserin yaklaşık %15'i hepatit b, hepatit c, insan papilloma virüsü enfeksiyonu, helicobacter pylori ve immün yetmezlik virüsü (HIV), Epstein - Barr virüsü gibi bazı enfeksiyonlardan kaynaklanmaktadır. Bu faktörler, genlerin değişmesinden kısmen de olsa sorumludur. Bir hastanın ebeveynlerinden kalıtsal genetik kusurlar da kanserin %5 ila 10'undan sorumludur (Hanahan and Weinberg, 2000).

Kanser, genetik faktörler ile harici olarak tükettiğimiz 3 kategori ajan arasındaki etkileşimden kaynaklanır**:** (Saini *et al.* 2020).

i. Fiziksel Kanserojenler: Radon, güneş ışığından gelen ultraviyole ışınları, uranyum, alfa, gama, beta ve X-ışını yayan kaynaklardan gelen radyasyon gibi iyonlaştırıcı radyasyon.

ii. Kimyasal Kanserojenler: N-nitrozaminler gibi bileşikler, asbest, kadmiyum, benzen, vinil klorür, nikel ve benzidin ve sigara içimi veya tütün tüketiminde bilinen yaklaşık 60 güçlü kansere neden olan toksin veya kimyasal, bir içme suyu kirleticisi (arsenik), bir gıda kirleticisi (aflatoksin) içermektedir.

iii. Biyolojik Kanserojenler: Belirli bakteri, virüs veya parazitlerden kaynaklanan enfeksiyonlar ve insan papilloma virüsü (HPV), EBV veya Epstein-Barr virüsü, hepatit B ve C gibi Patojenler, Kaposi sarkomla ilişkili herpes virüsü (KSHV), Markel hücreli polioma virüsü, Schistosoma spp. ve Helicobacter pylori olmakla beraber yaşlanma da

kanserin nedenleri arasındadır. Yaş, önemli ölçüde artan kanser insidansıdır (Saini *et al.* 2020).

2.4 Tiroid Bezi

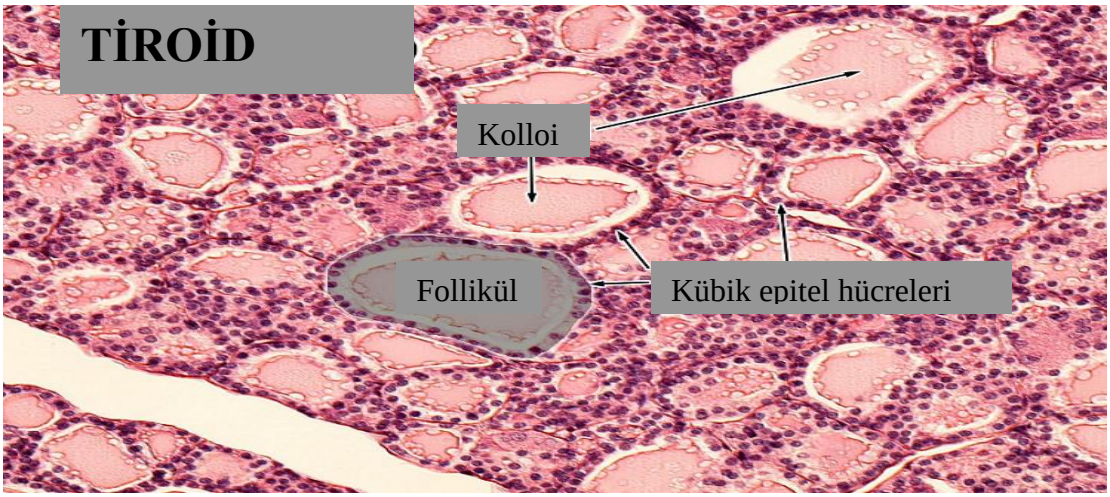
İnsanlarda, tiroid bezi, bağ dokusu tarafından trakeanın her iki tarafında hapsolmuş iki lobdan oluşmaktadır. İki lob, krikoid kıkırdağın hemen altında bulunan bir tiroid dokusu veya isthmus şeridi ile birleştirilir. Yetişkinlerde genellikle 15 ila 20 gram ağırlığındaki en büyük endokrin bezlerinden biridir (AL-Ramahi 2011) (Şekil 2.1). Tiroidin her bir lobu, arteriyel kan beslemesini sırasıyla dış karotid arter ve subklavyen arterden çıkan üst ve alt tiroid arterleri yoluyla alır. Kan, dış juguler ve brakiyosefalik damarlara akan bir dizi tiroid damarını takiben tiroid loblarını terk eder. Bu dolaşım, tiroid bezine zengin bir kan akışı sağlayarak, böbreklerin kendisinden gram başına daha fazla kan akışı yoğunluğuna sahip olmasını sağlar (Allawi 2013).



Şekil 2.1 Tiroid ve paratiroid bezleri (Knight *et al.* 2021)

Tiroid bezi adrenerjik innervasyonunu servikal ganglionlardan ve kolinerjik innervasyonunu vagus sinirlerinden alır. Bu innervasyon vazomotor fonksiyonu düzenler, tiroid bezine TSH, iyodür ve metabolik substratların tedarikini arttırır. Adrenerjik sistem,

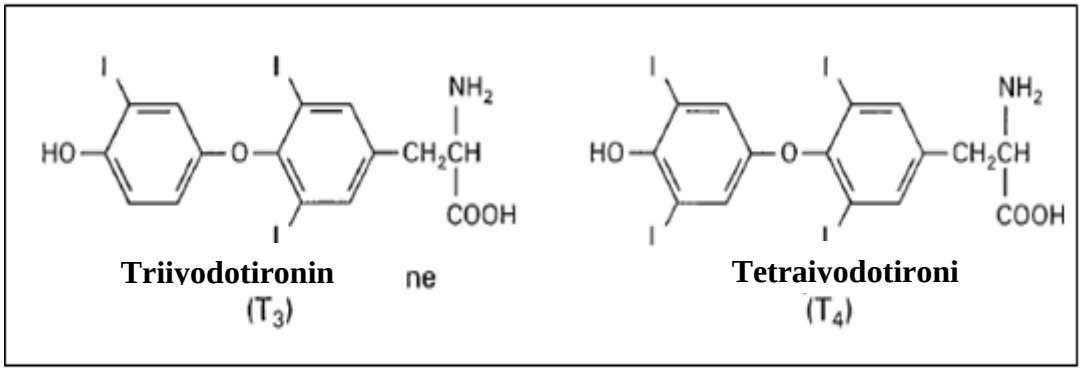
hücreler üzerindeki doğrudan etkiler yoluyla tiroid fonksiyonunu da etkileyebilir (Chatterjee and Walker 2017). Histolojik olarak bez; kolloid adı verilen salgı maddesiyle dolu ve materyallerini foliküllere salgılayan küboidal epitel hücreleri ile kaplı çok sayıda küresel folikülden oluşmaktadır (Şekil 2.2). Kolloidin ana bileşeni, molekül ağırlığı 660 kD olan ve molekülünde tiroid hormonları içeren bir glikoprotein olan tiroglobulindir (Al-Musawi *et al.* 2021). Bu sebepten dolayı tiroid folikülleri, tiroid hormonlarının (HT) sentezinden, depolanmasından ve salınmasından sorumlu olan bezin fonksiyonel birimini temsil etmektedir (Fleck and Nielsen 2004).



Şekil 2.2 Tiroid bezinin mikroskobik görünümü (Al-Musawi *et al.* 2021)

2.4.1 Tiroid hormonları

Tiroid folikülü iki hormon üretir ve salgılar: tiroksin (T4) ve triiyodotironin (T3). Moleküler yapıları Şekil 2.3'te gösterilmiştir (Mittal *et al.* 2010). Tiroksin ve triiyodotironin, amino asit tirozinin iyotlu türevleridir. İki iyotlu tirozin molekülünün fenil halkalarının eter bağı ile bağlanmasıyla oluşurlar. Ortaya çıkan yapıya iyodotironin denir (Ghadhban 2018).



Şekil 2.3 Tiroid hormonlarının biyokimyasal yapısı (Mittal *et al.* 2010)

İlgili mekanizma, aşağıda açıklanan beş ana adımdan oluşmaktadır:

1. İyodürün aktif taşınması (I-) (Najm *et al.* 2009).
2. İyodür oksidasyonu ve tiroglobulinin tirozil tortuların iyodinasyonu (Fleck and Nielsen 2004).
3. İyodotirosil artıklarının tiroglobuline bağlanması (Al-Heety 2020).
4. Tiroglobulin proteolizi ve tiroid hormonlarının salgılanması (Hamid and Hadi 2018).
5. Deiyodinasyon süreci (Selman *et al.* 2020).

2.4.2 Tiroid fonksiyonunun düzenlenmesi

Tiroid bezinin işlevi 4 mekanizma tarafından kontrol edilir: (Allawi 2013).

1- Klasik hipotalamik-hipofiz-tiroid ekseni

1. T3 ve T4'ün etkilerini değiştiren hipofiz ve periferik deiyodinazlar
2. Tiroid bezinin kendisi tarafından hormonal sentezin kendi kendini düzenlemesi
3. TSH reseptör otoantikorları tarafından tiroid fonksiyonunun uyarılması veya inhibisyonu.

2.4.3 Tiroid uyarıcı hormon veya tirotropin (TSH)

TSH, adenohipofizde üretilir, kimyasal olarak yaklaşık 28 kD moleküler ağırlığa sahip bir glikoproteindir (Shnawa and Al-Majmaie 2021). Bu hormon tiroid bezi tarafından

tiroksin ve triiyodotironin salgılanmasını arttırır. Tiroid bezi üzerindeki spesifik etkileri aşağıdaki gibidir: (Shnawa and Al-Majmaie 2021).

1. Foliküllerde zaten depolanmış olan tiroglobulinin artan proteolizi, bunun sonucunda kanda tiroid hormonlarının salınımı ve foliküler maddenin kendisinde bir azalma.
2. Glandüler hücrelerde "iyodür sekestrasyonunu" artıran, bazen hücre içi ve hücre dışı iyodür konsantrasyonu arasındaki ilişkiyi normalin 8 katına kadar artıran iyodür pompasının aktivitesinde artış.
3. Tiroid hormonları oluşturmak için artan iyot tirozin.
4. Tiroid hücrelerinin artan boyutu ve salgılama aktivitesi.
5. Küboid hücrelerin kolumnar hücrelere dönüşmesi ve foliküllerde tiroid epitelinin belirgin katlanması ile birlikte tiroid hücrelerinin sayısında artış.

Kısacası, TSH, tiroid bezi hücreleri tarafından bilinen tüm salgı aktivitelerini arttırır ve uyarıcı etkisine siklik adenozin monofosfat (cAMP) aracılık eder. Aktivasyondaki ilk olay, TSH'nin tiroid hücre zarının bazal yüzeyindeki spesifik TSH reseptörlerine bağlanmasından oluşur. Bu bağ, hücre içinde cAMP oluşumunu artıran zardaki adenilil siklazı aktive eder. Son olarak, cAMP, hücre boyunca çoklu fosforilasyonlara neden olan protein kinazı aktive etmek için ikinci bir haberci görevi görür. Sonuç, tiroid hormonlarının salgılanmasında ani bir artışın yanı sıra glandüler dokunun kendisinin uzun süreli büyümesini içermektedir (Hamid and Hadi 2018).

2.5 Tiroid Hormonlarının Fizyolojik Etkileri

Tiroid hormonları farklılaşma, büyüme ve metabolizmada önemli roller oynar. Ek olarak, oksijen tüketimi ve metabolik hız üzerinde temel etkileri olan, hemen hemen tüm dokuların normal çalışması için gereklidir.

2.5.1 Hipotiroidizm

Hipotiroidizm, metabolik süreçlerin azalmasıyla sonuçlanan tiroid hormonlarının eksikliğinden kaynaklanan klinik bir sendromla karakterizedir (Selman *et al.* 2020). Klinik hipotiroidizm, yüksek TSH düzeylerinin varlığı ve tiroid hormonları T3 ve T4'ün azalmış konsantrasyonları ile tanımlanır (Jwaid *et al.* 2018).

Hipotiroidizm, tiroid hormonlarının (T3 ve T4) üretiminin olmaması, tiroid uyarıcı hormon (TSH) düzeylerinin yükselmesi veya anne tarafından yayılması kaynaklı tiroid bezinin neden olduğu patolojik bir durumdurHipotiroidizmi olan kişilerde yorgunluk ve sürekli yorgunluk, kaslarda ve eklemlerde ağrı, kol ve bacak kaslarında zayıflık, eldeki veya ayak topuğundaki karpal tünelde yaralanma ve plantar ayak iltihaplanması, enerji eksikliği hissinin yanı sıra hayal kırıklığı, depresyon veya umutsuzluk söz konusu olduğu için ruh hali değişimlerine ve günlük enerjide sürekli değişikliklere yol açar ve gösterirler (Stathatos and Daniels 2012).

Hipertiroidizm ve tirotoksikoz terimleri sıklıkla birbirinin yerine kullanılsa da kavramsal olarak farklılık vardır. İlk terim, tiroid bezi tarafından abartılı bir HT üretimi olduğunda kullanılır ve klinik veya subklinik hipertiroidizm olarak sınıflandırılabilir, ikinci terim ise hiperfonksiyon, tiroidit veya TSH'nin azalması veya baskılanması ile birlikte fizyolojik bir dozda levotiroksin sodyumun (LT4) yutulması gibi çeşitli nedenlerle hedef dokularda aşırı HT maruziyeti olduğunda ortaya çıkar ve ayrıca klinik veya subklinik olarak sınıflandırılabilir (Nagai and Kim 2017).

Subklinik hipertiroidizm, normal aralıkta HT seviyeleri ile TSH'nin azalması veya baskılanması anlamına gelmekle beraber klinik veya açık hipertiroidizm, TSH'nin baskılanması veya azalması, ancak HT düzeylerinin yüksek olması olarak tanımlanır. Amerika Birleşik Devletleri'nde hipertiroidi vakalarının prevalansı %1.2 olup subklinik formda %0.7 ve klinik formda %0.5 ve Avrupa'da klinik formda %0.8'dir. Subklinik hipertiroidi prevalansı etnik köken, yaş, cinsiyet ve diyetteki iyot içeriğine göre değişebilmektedir, 2016 yılında yapılan bir çalışmada Graves hastalığına (DG) bağlı subklinik tirotoksikozun (TSC) doğal seyri, hastaların yaklaşık üçte birinin açık

hipertiroidizme evrildiğini, üçte birinin normalize tiroid fonksiyonuna dönüştüğünü ve %30'dan azının TSC'de kaldığını göstermiştir (Al-Msari *et al.* 2014). Kalp, HT'nin en büyük hedeflerinden biri olmakla beraber, aşırı olarak, sol ventrikül hipertrofisi, taşikardi, atriyal fibrilasyon, artmış kardiyak kontraktilite, azalmış periferik vasküler direnç, artmış ejeksiyon fraksiyonu ve azalmış egzersiz toleransı görünümünde hareket ederler. Klinik hipertiroidizm tedavi edilmezse, kemik erimesini uyararak kemik metabolizması açısından da komplikasyonları beraberinde getirebilir (Mittal *et al.* 2010).

Klinik ve subklinik hipertiroidizmin en yaygın nedeni, TSH anti-reseptör otoantikorunun (TRAb) üretiminin tiroid TSH reseptörünü uyararak ve HT üretimini arttırdığı otoimmün bir patoloji olan DG'dir. İnsidansı 100 bin kişide 20 ila 50 vaka düzeyindedir. Bu otoimmün hastalık, yaygın guatr, oftalmopati (periorbital dokuların immün yanıtı ile sitokin üretimi nedeniyle) ve nadiren dermopatiye neden olabilir. Oftalmopati insidansı her 100 bin kadında 16, her 100 bin erkekte 3'tür. Tiroid hiperfonksiyonunun diğer daha az yaygın nedenleri arasında Plummer Hastalığı veya Toksik Uninodüler Guatr ve Toksik Multinodüler Guatr (BMNT) (yaşlılarda daha sık görülür) vardır (Kareem *et al.* 2021).

TSC'nin en yaygın etiyolojisi, örneğin Hashimoto tiroiditinde (TH), iyi huylu veya kötü huylu tiroid hastalıklarının tedavisi için kısmi veya toplam tiroidektomiden sonra ve DG için radyoiyodin sonrası hipotiroidizm gibi çeşitli nedenlere bağlı olarak hipotiroidizmin tedavisinde LT4'ün değiştirilmesiyle yönlendirilir. Farklılaşmış tiroid kanseri (CDT) tedavisi gören bazı hastalarda aşırı LT4 replasmanı nedeniyle TSC endikedir .Bu durumda TSH'nin baskılanması, nüks ve ölüm oranında bir azalma ve hastalığın ilerleme riskinin daha düşük olmasını sağlamaktadır (Al-Kazazz and AL-Bahadlii 2013).

Hipotiroidizm Semptomları

Hastalığın erken evrelerinde, miyalji, artralji, kramplar, kuru cilt, baş ağrıları ve menoraji gibi semptomlar spesifik olmayabilir. Kırılgan tırnaklar, daha ince saçlar, solgunluk ve karpal tünel semptomları da ortaya çıkabilir. Glikozaminoglikanların birikmesi, refleks gevşeme fazını ve makroglosia görünümünü geciktirecektir. Hipotiroidizm daha belirgin hale geldiğinde periferik ödem, kabızlık, nefes darlığı ve kilo alımı belirginleşebilir.

Diğer belirtiler arasında perikardiyal ödem, asit, işitme bozukluğu, diyastolik DTC bulunur. Dislipidemi tanımlanmıştır ve hızlanmış ateroskleroza katkıda bulunabilir. Tipik olarak, yüksek LDL seviyeleri ve düşük HDL1 seviyeleri bildirilmiştir (AL-Ramahi 2011, Selman *et al.* 2020).

Etiyolojisi

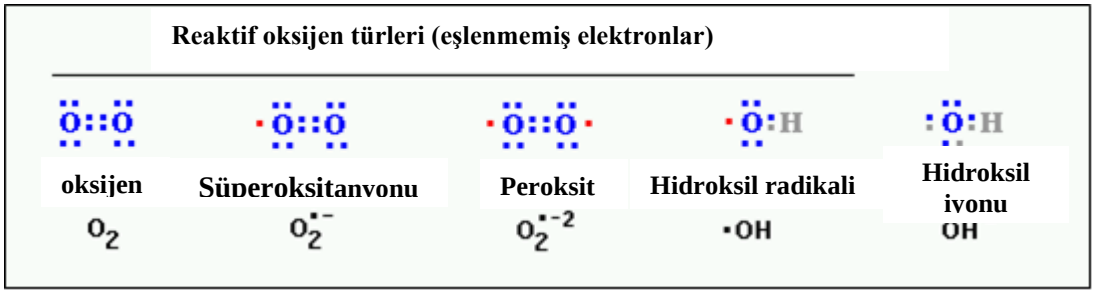
Hipotiroidizm birincil (tiroid yetmezliği); ikincil (TSH eksikliği), üçüncül (HRT eksikliği) olarak sınıflandırılmakla beraber HT'nin etkisine karşı periferik direnç ile karakterize edilir (Muss *et al.* 2018, Selman *et al.* 2020). Hashimoto tiroiditi, hipotiroidizmin başlıca nedenini temsil eden tiroid bezinin otoimmün bir hastalığıdır (Al-Heety 2020). Otoimmün hastalıklar, yetişkinlerin %3'ünü ve menopozdaki kadınlarda daha yüksek bir oranı (%10) oluşturan vakaların %50'sinden fazlasından sorumludur (Hasan *et al.* 2012). Lenfoid foliküllerin oluşumu ve tiroid epitel hücrelerinde belirgin değişiklikler ile birlikte çok sayıda lenfosit varlığı ile karakterizedir (van Eijl *et al.* 2012). Hipotiroidizmin ikincil ve üçüncül formları daha az sıklıkta görülür. Hipotiroidizm, hipotalamik-hipofiz ekseninin hasarı veya hastalığına bağlı olarak trofik stimülasyonun kaybından kaynaklanabilir (Ghadhban 2018). Hücrelerin hormona yanıt verememesi, hormonal direnç olarak bilinmekle beraber endokrin bozuklukların yaygın bir nedenidir. Direnç, hormon reseptörlerinin azalması veya kaybından, reseptördeki veya bir sinyal molekülündeki anormalliklerden kaynaklanabilir (Drake *et al.* 2019).

2.5.2 Oksidatif stres

Hipotiroidizmde oksidatif stresin varlığı tartışmalıdır (Selman *et al.* 2020). Bununla birlikte, çalışmalar, hipotiroidili hastalarda serbest radikal üretiminin, akış sitometrisi analizlerinin gösterdiği gibi normal bireylerle karşılaştırıldığında orantılı olarak düşük olmadığını, zira endokrin disfonksiyonun kardiyovasküler hastalığın başlıca nedeni olan hiperlipidemi ve artan ROS üretimi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Altieri *et al.* 2008). Fizyolojik koşullar altında serbest radikallerin oluşumu ile antioksidan savunma sistemleri arasında bir denge vardır. Oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin değişmesi, genellikle oksidanların aşırı üretimi ile karakterize edilen oksidatif stres

durumunu oluşturur (Altieri *et al.* 2008). Oksidatif stres moleküler ve doku hasarına neden olur ve çok sayıda patoloji ile ilişkilidir. Elektronların moleküler oksijenden suya dört değerlikli indirgenmesi, elektron taşıma zincirinin sonunda meydana gelen başlıca reaksiyonlardan biri olup canlı organizmalar için gerekli kabul edilir. Bununla birlikte, mitokondri tarafından tüketilen toplam oksijenin %1 ila %2'si tam olarak azalmamakla beraber reaktif oksijen türlerini (ERO'lar) ve diğer reaktifleri oluşturur (Nsaif *et al.* 2018, Allawi 2013).

Reaktif Oksijen Türlerilar, süperoksit anyonu (O_2 •), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali (• OH) gibi kimyasal türleri içermektedir (Şekil 2.4). Bu türler, biyomembranların çoklu doymamış yağ asitleri (bir peroksidatif reaksiyonlar zincirini teşvik ederek) dahil olmak üzere çok sayıda biyomolekül ile proteinler ve enzimler (fonksiyonel özelliklere zarar verir) ve nükleik asitler (bazlarda kırılmalar ve değişiklikler meydana getiren) ile reaksiyona girebilir (Fleck and Nielsen 2004, Machado-Silva *et al.* 2015). Azot ayrıca reaktif türlerin oluşumuna da katılmakla beraber en zararlı olanları nitrik oksit (ON •) ve peroksinitrittir (ONOO-). Nitrik oksit, tek bir eşleşmemiş elektron içeren, süperoksit de dahil olmak üzere az sayıda molekülle hızla reaksiyona girerek, esas olarak proteinlerden ve DNA'dan oksitleyici peroksinitrit oluşturan bir serbest radikaldir.



Şekil 2.4 Reaktif oksijen türleri

2.6 Tiroid Kanseri

Tiroid kanseri (CDT) en yaygın endokrin neoplazisidir ve 2014 yılında 48.020 yeni vakanın teşhis edildiği ABD'de 1.740 ölümden sorumlu kabul edilmiştir. CDT insidansı, son otuz yılda iki katından fazla artışla dünya çapında artmaya devam etmektedir.

CDT'ler foliküler hücrelerden elde edilir ve iki gruba ayrılır: Tüm tiroid kanser türlerinin yaklaşık %80'ini oluşturan Papiller Karsinomlar ve yaklaşık %13'ünü temsil eden Foliküler Karsinomlar. Farklılaşmamış veya Anaplastikler tiroid karsinomlarının %2'sinden azını oluştururken, kalsitonin üreten parafoliküler hücrelerden kaynaklanan medüller karsinomlar bu tümörlerin %3'ünden daha azından sorumludur (Pereira *et al.* 2020).

Ulusal Kanser Enstitüsü'ne (INCA) göre, CDT kadınlarda en sık görülen baş ve boyun kanseridir ve erkeklere göre kadınlarda üç kat daha sıktır. 2009 yılında kadınlarda kaydedilen tüm neoplazmaların %12,9'undan ve erkeklerde görülen neoplazmaların %3,2'sinden tiroid kanserinin sorumlu olduğu tahmin edilmektedir (Morris *et al.* 2016).

2.7 Otoimmün Hastalıklar

Otoimmün tiroid hastalıkları (DAIT), iki aşırı ucun öne çıktığı geniş bir klinik ve laboratuvar belirtileri spektrumu ile temsil edilir. Bir yandan tiroid bezini uyaran antikorların aşırı üretimi Graves hastalığının (DG) gelişmesine yol açmakla beraber, öte yandan, tiroid bezini yok eden antikorların üretimi, kronik lenfositik tiroidit veya Hashimoto tiroiditi (HT) olarak bilinen lenfositik infiltrasyon özellikleriyle ilerleyici yıkımına yol açar (Aldabagh *et al.* 2018). Tiroid, genel popülasyonun %2 ila %5'ini, özellikle yetişkin ve yaşlı kadınları etkileyen otoimmün hastalıklara karşı oldukça savunmasızdır. Kadınlarda prevalans, her erkek için 5 ila10 vakaya ulaşmaktadır. Otoimmünite gelişiminde çevresel faktörlerin rolü geniş çapta çalışılmıştır. Elde edilen kanıtlar, otoimmünitenin patogenezinde fiziksel ve psikolojik strese ek olarak enfeksiyonlar, sigara, ultraviyole ışınlarına maruz kalma, beslenme, ksenobiyotikler gibi çeşitli faktörleri göstermektedir (Muss *et al.* 2018).

Graves hastalığı (GD)

Graves hastalığı'nın 20 ila 50 yaş arasındaki hipertiroidizmin en sık nedeni olduğu bilinmektedir. Kadınlarda yıllık insidans her 100,000 kadın için 15 ila 200 arasında

değişmektedir (Al-Bustany 2011). Erkeklerde görülen oranlar kadınlarda yaklaşık onda biri kadar olup iyot fazlalığı olan bölgelerde de sık görülen bir hastalıktır. Son yıllarda, bu insidans nüfusun %5'ine ulaşmıştır ve prevalans her bir erkeğe karşılık dokuz kadındır (Ali *et al.* 2020). GD'de otoimmünite hastalığın merkez olarak kabul edilir. Bununla birlikte, T hücreleri, doğal otoimmünitenin sağlığın korunmasına katkıda bulunduğunu göstererek hasarlı dokulara yardımcı olabilir (Al-Bustany 2011). Bağışıklık sistemi, çoklu sinyallerin dokularla etkileşimi yoluyla kendi eylemlerine karar verir. Dokunun kendisinin, kendi kendini onarması için gerekli olan iltihaplanma türünü tetikleyen sinyaller sağlaması olasıdır (Ali *et al.* 2020, Al-Heety 2020). GD, genetik, çevresel ve endojen faktörler arasındaki karmaşık bir etkileşimden kaynaklanır (Al-Heety 2020). Tiroid otoimmünitesini başlatmak için böyle bir kombinasyon gereklidir. GD'nin gelişimi için, genetik faktörler baskın olup yaklaşık %80 katkıda bulunduğu tahmin edilirken, sadece %20'si çevresel faktörlerdir. Son yıllarda, GD'nin genetik geçmişine dayanan mükemmel incelemeler yayınlanmıştır (AL-Ramahi 2011, Al-Heety 2020).

2.8 Cinsiyet ve Tiroid Kanseri

Tiroid kanseri insidansındaki cinsiyet farkı tutarlı bir şekilde rapor edilmiştir. Aslında, kadınlar, özellikle 45 yaşın üzerindekiler, bu kanser türünün görülme oranındaki artışın çoğundan sorumlu olmuştur. Kadınlarda tiroid kanseri insidansının erkeklere göre yüksek olması, kadın cinsiyet hormonlarının etiyolojik rolü olduğunu düşündürmektedir. Bu tür insidans, diğer histolojik tiplere kıyasla papiller karsinomlar için de daha büyük bir oranda bulunur. Cinsiyetin DTC insidansı üzerindeki etkisi, farklı yaş gruplarında farklılık göstermekle beraber 9 yaşın altındaki çocuklarda hemen hemen eşit değerlerden her yetişkin erkek için yaklaşık 3 ila 5 kadın oranına yükselir (Selman *et al.* 2020). Ayrıca menopoz sonrası dönemde cinsiyetler arasında görülme sıklığında daha küçük bir fark vardır.

Tiroid nodülünün ortaya çıkmasının olası nedenlerinden birisi de steroidlere bağlıdır. Östrojen hormonu, büyüme faktörlerine bağlı sinyal yollarını etkileyerek hücre büyümesine müdahale edebildiği için, karsinomun korunmasıyla da ilişkilendirilebilir. Ayrıca neoplastik tiroid dokularında sağlıklı dokulara göre yüksek miktarlarda östrojen

varlığı kanıtlanmıştır (Selman *et al.* 2020, Ali *et al.* 2020). Çalışmalar ayrıca tiroid bezinin hacminin ergenlik, hamilelik sırasında arttığını ve adet döngüsü sırasında değiştiğini ve in vitro, tiroid tümör hücrelerinin papiller karsinomun proliferasyonunu uyaran östrojen ve estradiol reseptörlerini eksprese ettiğini göstermektedir. Daha yakın zamanlarda (Selman *et al.* 2020), foliküler hücre büyümesinin ve foliküler veya anaplastik neoplazmların indüklenmesinin teşvik edilmesinin, ERalpha ve ERbeta östrojen reseptörlerinin hücre altı yerleşimi ile ilgili olduğu gösterilmiştir (Hamid and Hadi 2018). GD için yapılan çalışmalar östrojenin bağışıklık sisteminin bir modülatörü olarak hareket ettiğini, sitokinlerin ekspresyonunu, B hücresi lenfopoezisini ve antijenlerin sunumunu düzenlediğini göstermektedir. Yapılan diğer çalışmalar (Al-Bustany 2011, Hamid and Hadi 2018), kadınlarda daha az testosteron ve daha fazla östrojen olduğu için GD prevalansının bağışıklık reaktivitesini arttırdığından daha yüksek olduğunu göstermektedir. Bu hormon, çeşitli etkilerle otoimmün hastalıkların patogenezinde rol oynar. Örneğin östrojen, model 29 farelerde sistemik lupus eritematozus'u kötüleştirse de, ancak artrit, ensefalomiyelit ve Sjögren sendromu gibi hastalıklar üzerinde koruyucu bir etkiye sahiptir (Abd Oun *et al.* 2013).

2.9 Yenilikçi Tanılama Yöntemleri

Ekipmanın sürekli iyileştirilmesi tiroid hacminin doğru belirlenmesi, daha önce ışınlanmış hastalarda gizli lezyonların erken tespiti, bez özelliklerinin doğrulanması (fokal, multifokal veya yaygın hastalık), nodül (solid, kistik, kalsifiye), nodül konturu, tiroid bezinin boyutunun gelişiminin izlenmesi tedavi altındaki nodül, palpe edilmesi zor nodüllerde CAAF kılavuzu, lenf nodlarının ve tiroidektomi sonrası tiroid yatağının gözlemlenmesi ve ektopik tiroid dokusunun değerlendirilmesi gibi konularda giderek daha spesifik bilgiler sağlacaktır (Morris *et al.* 2016, Shnawa and Al-Majmaie 2021).

Nodüllerin ayırıcı tanısında diğer görüntüleme teknikleri (bilgisayarlı tomografi, nükleer manyetik rezonans, talyum – 201 veya galyum – 67 ile sintigrafi ve termografi) test edilmekte olup şimdiye kadar hiçbiri rutin olarak kullanılmamıştır. Ana semptomdaki, yani nodülün varlığındaki benzerliğe rağmen, farklı tiroid kanseri türlerinin klinik tabloları arasında bazı farklılıklar vardır. Papiller karsinom, çocuklar da dahil olmak

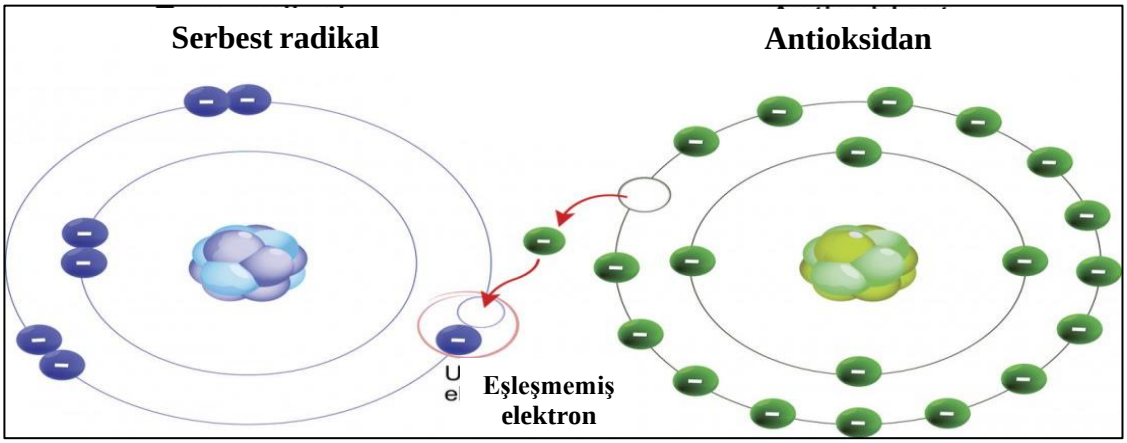
üzere daha genç bireyleri etkilemekte ve incelenen farklı serilerde tüm tiroid karsinomlarının yaklaşık %40 ila 70'ine karşılık gelmektedir (Abd Oun *et al.* 2013). Büyümesi yavaş olup düşük derecede maligniteye sahiptir, bu nedenle ortaya çıkması için uzun süreler gereklidir. Genel olarak prognoz iyidir ve hastaların en az %80'i tanıdan yaklaşık 10 yıl sonra halen hayattadır. Literatürdeki geniş seriler, papiller karsinomun genç erişkinlerde esasen iyi huylu bir süreç olduğunu ve nadiren 40 yaşın altındaki hastaların ölümüne yol açtığını göstermektedir. Yayılması, başlangıçtaki noktadan tiroidin diğer bölümlerine ve perikapsüler ve servikal lenf düğümlerine doğru gelişen intra-glandüler lenfatikler yoluyla gerçekleşir; bu şekilde multisentrik tiroid lezyonları sıktır ve başvuru anında hastaların %25'inde servikal metastaz, %20'sinde tiroid dışı invazyon ve %5'inde özellikle akciğere uzak metastaz vardır. İlginç bir şekilde, tamamen açıklığa kavuşturulamayan nedenlerden dolayı, servikal lenf düğümlerinde metastaz varlığı, gençlerde daha kötü bir prognozla ilişkili değildir. Pulmoner metastazlar, milier dağılıma sahip veya sayısal görüntüler şeklinde olabilir. Papiller lezyonlar yaygın olarak, aynı metastazlarda meydana gelen foliküler patern alanlarıyla karışık papiller patern alanları sunar. Hemen hemen tüm papiller kanserler radyoaktif iyotu yakalar ve sıklıkla tiroid hormonları üretir ve bu durum da hastanın hipertiroidi geliştirmesine neden olur. Foliküler karsinom, papiller karsinomdan daha ileri yaş grubunda ortaya çıkar ve en yüksek insidansı yaşamın 5. dekatında olmakla birlikte kadınlarda da 3 kat daha sık görülür. Tüm tiroid karsinomlarının yaklaşık %20 ila %40'ına tekabül eder. Papiller gibi, foliküler karsinom da tiroidde tek bir nodül varlığı ile teşhis edilir. Ancak diğer zamanlarda, uzun süreli bir guatr veya uzak metastazda yeni bir büyüme olarak ortaya çıkar. Vakaların yaklaşık %15 ila %20'sinde tanı, akciğer ve kemiklerde patolojik kırıklar veya çoklu nodüller gibi uzak metastaz öyküsü ile konur. Ayrıca papiller kanserden farklı olarak foliküler nadiren servikal metastaz göstermektedir.

2.10 Oksidatif Stres

1894 yılında Fenton, +2 değerli demirin (Fe^{2+}) tartarik asidi hidrojen peroksit (H_2O_2) ile katalize ettiğini bulduğunda çok önemli bir kimyasal reaksiyon keşfetmiş olup Fenton Reaksiyonu olarak tanınmıştır (Hristozov *et al.* 2001). 1900 yılında bir Kimya Profesörü olan Moses Gomberg, trifenilmetil adlı organik molekülü keşfettiğinde serbest radikaller

(RL) hakkında ilk kaydı tutmuştur. 1927'de Binger soğukkanlı hayvanlarla bir deney yapmış olup oksijeni (O_2) toksik mekanizmalarla ilişkilendirebilmiştir. 1931 ve 1932'de Haber, Willstatter ve Haber-Weiss ile birlikte, H_2O_2'yi suya (H_2O) dönüştüren bir zincirdeki reaksiyon yoluyla hidroksil radikallerini (OH • -), H_2O_2 ve süperoksit anyonunu (O_2-) kullanan yeni bir reaksiyon modeli ile tanındı. Bu son reaksiyon Haber-Weiss reaksiyonu olarak bilinmekte olup aerobik organizmalarda çoğu reaktif oksijen türünün (ERO) üretiminde bir kilometre taşıdır (Najm *et al.* 2009).

1985 yılında araştırmacı Sies, oksidatif stres (EO) terimini oksitleyici ve prooksitleyici maddelerin dengesi arasındaki dengesizlik olarak tanımladı. EO'nun güncellenmiş tanımı, oksidasyon ve redüksiyonun (redoks) sinyalizasyonunda ve kontrolünde bir yırtılmaya ve moleküler hasara neden olan oksidanlar lehine oksitleyici ve antioksidan maddeler arasındaki dengesizliği ifade etmektedir (Nsaif *et al.* 2018). Serbest radikaller, son yörünge veya atomik katmanda eşleşmemiş bir veya daha fazla elektrona sahip olan ve onları kararsız hale getiren ve kararlılığı yeniden kazanma girişiminde diğer herhangi bir molekülle reaksiyona girebilen moleküllerdir. Normalde fizyolojik metabolik ürünler olarak üretilmekle beraber (Şekil 2.5), ancak karbonhidratlara, lipid membranlarına ve proteinlere zarar verebilirler (Nsaif *et al.* 2018).



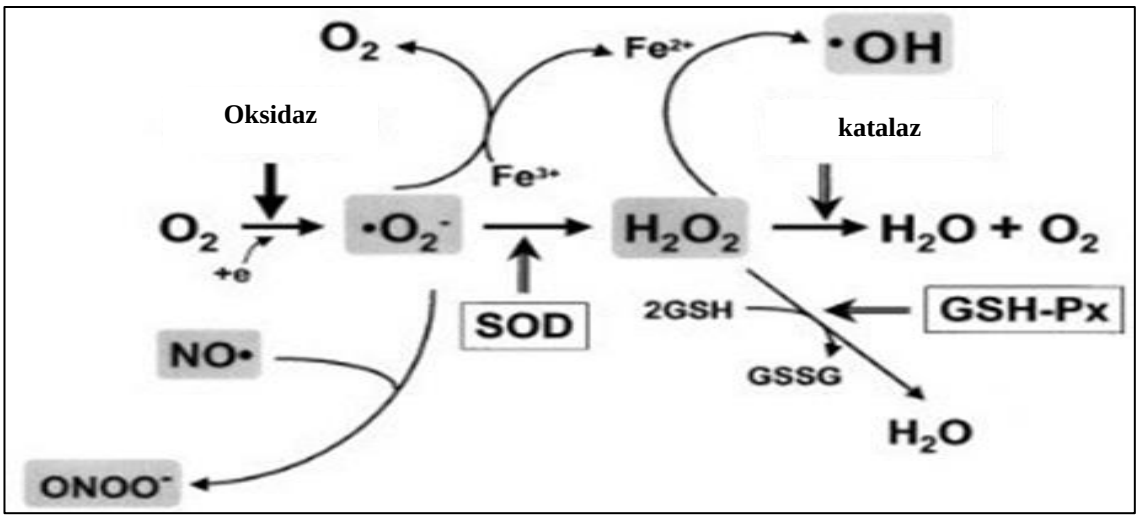
Şekil 2.5 Kararlı bir molekül ile kararsız bir molekülün (serbest radikal) karşılaştırılması

Solda, kararlı bir molekülün (mavi renkte) basitleştirilmiş bir şeması görülmektedir. Bir elektron kaybettikten sonra, molekül bir serbest radikal (turuncu renkte) haline ve oldukça

reaktif ve kararsız hale gelir. RL teorisi, hücresel solunum ne kadar yüksek olursa, üretim hızının o kadar yüksek, yaşlanmanın artmasına ve yaşam beklentisinin azalmasına neden olduğunu belirtmektedir (Najm *et al.* 2009). Bu RL'nin oluşumu büyük ölçüde mitokondride bulunan hücresel solunum zincirinden gelir ve bu nedenle oksidatif hasara özellikle duyarlıdır (Reehan 2018).

Diğer bir serbest oksijen radikali kaynağı, H_2O_2 üreten serbest yağ asitlerinin, süperoksit anyon (O_2^-) üreten sitokrom P450'nin mikrozomal enzimlerinin ve mikroorganizmalara saldırdığında aynı zamanda O_2^-, H_2O_2, nitrik oksit (NO_2) ve hipoklorit üreten fagositik hücrelerin oksidasyonundan gelir (Nsaif *et al.* 2018).

Oksıjen'den, bağa katılan her atomun birliği oluşturan çiftin bir elektronunu koruyarak radikal hale geldiği bir moleküldeki kimyasal bir bağın kopması olan homolitik kopmaya uğrayan H_2O_2 oluşumu meydana gelir ve OH^- radikali olur. Bu en önemli ROS'tur çünkü oldukça reaktiftir, daha az kararlıdır ve stabilite elde etmek için etrafındaki herhangi bir moleküle hemen reaksiyona girer (Şekil 2.6) (Al-Askeri *et al.* 2016).



Şekil 2.6 Reaktif türlerin üretimi ve antioksidan savunma şeması

Gri renkte, en önemli ERO'lardan bazılarında Oksidazlar, O_2'yi O_2'ye dönüştürür ve bu da SOD tarafından H_2O_2'ye dismutasyona uğrar. H_2O_2, Fe^{2+} ile reaksiyona girdikten sonra CAT veya GPx tarafından H_2O'ya veya OH'ye dönüştürülür. O_2- NO ile hızla reaksiyona

girerek $ONOO^-$ oluşturur. (Antioksidanlar: süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), indirgenmiş glutatyon (GSH), glutatyon redüktaz (GR). Reaktif türler: süperoksit anyon radikali (O_2-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (-OH), nitrik oksit (NO_2), peroksinitrit (ONOO-)).

2.11 Oksidatif Hasarın Biyolojik Belirteçleri

Serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri bir kez üretildiğinde, hücre içinde yayılma ve çeşitli hücresel bileşenlere saldırma yeteneğine sahiptirler. Reaktif oksijen türlerinin öne çıkan hedefleri lipidler, proteinler ve DNA'dır (Nsaif *et al.* 2018).

Protein hasarı

Serbest radikaller'nin proteinler üzerindeki etkisi doymamış bağlarda, aromatik halkalarda ve tiyol gruplarında (^-SH) meydana gelir (Ameen *et al.* 2019), çünkü amino asitler yapılarını ve işlevlerini değiştirerek parçalanırlar. Tirozin, fenilalanin, triptofan, metionin, histidin amino asitleri içinde çapraz bağ oluşturarak karbonil grubunun oluşumu, N-terminal gruplarının oluşması veya konformasyonel değişiklikler nedeniyle proteolitik enzimlere duyarlı hale gelebilirler. Diğer bir oksidasyon mekanizması, prolin, arginin ve lisin gibi bazı amino asit kalıntılarını karbonil gruplarına dönüştürebilen metal katalizli oksidasyon sistemidir; Bu durum, genellikle geri dönüşü olmayan ve protein denatürasyonuna yol açan oksidatif hasarın bir göstergesi olarak kullanılır (Ahmed 2017).

DNA hasarı

Deoksiribonükleik asit (DNA), insanların ve diğer organizmaların kalıtsal maddesi olup, sırayla üç karakteristik bileşenden oluşan nükleotitlerden oluşur: (1) azotlu bir baz (2) bir pentoz ve (3) bir fosfat. Fosfat grubu içermeyen moleküle nükleosit denir. Azot bazları, iki ana bileşik olan pirimidin ve pürinden türetilir. DNA iki ana pürin bazı, adenin ve guanin ve iki pirimidin bazı, sitozin ve timin ve son olarak bir pentoz içerir; 2'- deoksi-D-riboz. Üç bileşen, kovalent olmayan bağlarla bir çift sarmal oluşturur. Oksijen serbest

radikalleri tarafından nükleik asitler üzerinde gözlenen etkilere, azotlu bazların hidroksilasyonu, DNA zincirinin bölünmesi ve çapraz bağlanma neden olur. Bu durum, oksijen serbest radikallerinin oluşumunun kanserojenez ve yaşlanma ile ilişkisini açıklayan çoğaltma ve transkripsiyonda değişikliğe neden olur (Razaq 2018).

Hem çevresel faktörlere hem de metabolik faaliyetlere maruz kalan DNA, onarılmadığı takdirde mutasyonlara ve muhtemelen hastalığa yol açabilecek hasar görebilir. Bu zararlar aşağıdaki gibidir:

1. Endojen hasar: RL'nin neden olduğu (reaktif oksijen türleri)
2. Eksojen hasar: iyonlaştırıcı radyasyon (X-ışınları, gama ışınları vb.)
3. UV radyasyonu (UV-C. UV-B)
4. Ortamdaki kimyasal maddeler (hidrokarbonlar)
5. Doğal maddeler (gıdaya bulaşan mantarlar tarafından üretilen aflotoksinler).

Serbest radikaller 'lerin her gün hücre başına yaklaşık 10,000 baz modifikasyonundan sorumlu olduğu tahmin edilmekte olup kusurlu protein sentezine, bazların oksidatif modifikasyonlarına, delesyonlara, fragmantasyonlara, kromozomal yeniden düzenlemeye ve genleri aktive eden sitozinin demetilasyonuna yol açacak somatik mutasyonlar üretebilir. mtDNA'nın oksidatif hasar için nDNA 39-40'tan daha büyük bir hedef olduğuna dikkat edilmelidir; Bunun nedeni, mtDNA'nın elektronların taşınması sırasında üretilen ROS'a yakın olmasıdır. DNA'yı saldırılardan veya etkisiz onarımdan korumak için histon proteinlerinin olmaması nedeniyle, üst düzeylerde bir hasar birikimi meydana gelir (Ahmed 2017).

Bir deoksiriboz RL tarafından saldırıya uğradığında, şeker arasındaki bağların kopmasına neden olarak oksitlenir, karbon 4 ve 5 saldırıya açık yerlerdir ve uygun enzimler vasıtasıyla tek zincirdeki bir sonraki nükleotidin fosfat grubu onarılır; çok sayıda tek zincir kırılması, kalıcı hasara veya mutajeneze yol açan çift zincir kopmalarının oluşmasına yol açar (Ghadhban 2018). O_2'nin aracılık ettiği DNA'ya oksidatif hasarın

yaygın olduğu görülmüştür. Guanin türevleri, nükleik asit bileşenleri arasında oksidasyona en duyarlı olanlardır, ancak bunların doğası halen bilinmemektedir. Etkileri genetik bilgi, DNA replikasyonu ve oksidasyon ürünlerinin onarımı üzerindedir. Mutasyonlar, duplikasyon sırasında hasarlı DNA zinciri kopyalandığında meydana gelir; mtDNA'da çevresel mutajenlere maruz kalma, polimeraz hataları, onarım sırasındaki başarısızlık ve bozunma mekanizmalarındaki kusurlardan sonra ortaya çıktığı ileri sürülmektedir. Ana RL, O'dur, mitokondriyal matriste bulunduğunda süperoksit dismutaz yardımıyla kendiliğinden veya enzimatik olarak H_2O_2'ye dönüştürülür. Membranın geçirgenliği nedeniyle H_2O_2'nin kolay difüzyonunu sağlar ve hidroksil radikalinin üretildiği, mtDNA'ya zarar verdiği ve 8-hidroksiguanozin (8-OHdG) ve 8-hidroksiguanin (8-OHG) gibi eklentilerle sonuçlandığı Fenton reaksiyonu meydana gelir.

Bu iki biyobelirteç yüksek özgüllük gösterir, ancak en sık kullanılanı 8-OHdG olup, guanin C-8'in oksidasyonu, G → T transvers gen mutasyonuna bağlı hasara neden olur; Bu biyobelirteç, diğerleri arasında lenfositler, tükürük, idrar ve plazmada ölçülebilir. Bunlar, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), kütle spektrometrisine bağlı gaz kromatografisi (GC-MS) ve kütle spektrofotometrisine bağlı sıvı kromatografisi ile ölçülebilir. Sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi (LC-MS), elektrokimyasal algılamalı HPLC (HPLC-ECD), Enzim Bağlantılı İmmüno Sorbent Testi (ELISA) kullanan antikorlar ve alkali tek hücreli elektroforez (komet testi) kullanılabilir (Ameen *et al.* 2019, Ahmed 2017). 8-OHdG tüm vücudu değerlendirmek için biyolojik bir belirteç olarak uygun olmasına rağmen, idrarda metabolik hız (oksijen tüketimi) tarafından modifiye edilmiş değerler verebilmesi ve oksidasyonun bir ürünü olmasının yanı sıra sınırlamaları da vardır ve aynı zamanda eksizyon onarımıdır (Nsaif *et al.* 2018).

Daha önce de belirtildiği gibi, DNA hasarının farklı nedenleri vardır, ancak bu hasar başlıca üç şekilde ortaya çıkabilir: tek zincir kopması (SSB), çift zincir kopması (SSB) ve çoklu yaralanmalar. Lipidler ve proteinlerin aksine, DNA değiştirilemez, bu nedenle onarılması gerekir, bu sağlanamazsa hücre apoptoz ile ölür; bu onarım, hasarın doğru şekilde onarılması için çoğalmanın durdurulduğu hücre bölünmesinde düzenlenir. Bu onarım mekanizmaları, ökaryotik hücrelerde daha fazla proteinin yer aldığı bilinmesine rağmen, en iyi *Escherichia coli'de* (*E. coli*) çalışılmıştır (Razaq 2018).

DNA Hasarı ve Onarımı

Deoksiribo nükleik asit (DNA), doğal seleksiyonla evrim sürecinde meydana gelen hücresel fonksiyonları kodlayan genetik bilgiyi depolamakla görevli moleküldür. Bu genetik varlık, bir hücrenin üremesi ve hayatta kalması için gerekli tüm talimatları içerir. Ancak DNA, genetik kodun bütünlüğüne müdahale eden güçlerle sürekli bir mücadele içindedir. Genetik bilgideki değişiklikler istenmeyen bir durum olsa da, diğer yandan evrimsel açıdan önemli değişiklikler üreten ve bireylerde daha fazla genomik değişkenlik oluşturan mekanizmalar oluştururlar (Fleck and Nielsen 2004).

Deoksiribo nükleik asit (DNA)'ya verilen hasar, çok sayıda kimyasal, fiziksel ve biyolojik ajan tarafından indüklenir ve bunlara DNA molekülünün doğal kimyasal kararsızlığı eklenirse, hücre, bilginin doğruluğunu korumak için büyük zorluklarla karşı karşıya kalır. Örneğin, kimyasal ajanlar tarafından DNA hasarının indüklenmesinin rastgele olmadığı, ajanların spesifik bir nükleotit veya spesifik bir baz dizisi ile çevrili bir nükleotit için belirgin bir tercih gösterdiği bilinmektedir.

Fotoreaktivasyon mekanizması, fotoliazlar (pterin veya deazoflavin ve FADH) olarak adlandırılan iki enzim tarafından gerçekleştirilir. Bu enzimler kromoforlardır; yani ışıktan enerjiyi (300 ile 500 mm arası dalga boyları arasında) yakalayabilir ve uyarılmış elektronlarının enerjisini timidin dimerine aktarabilirler, bu sonuç da DNA'daki bu değişikliğin parçalanmasına ve onarılmasına neden olur. İki enzimin birlikte çalışması gerekir, çünkü birkaç deneyde tek bir enzimin bu tür bir onarımı gerçekleştiremeyeceği bulunmuştur (Chatterjee and Walker 2017).

2.11.1 DNA'da oksidatif hasar

Reaktif oksijen türleri'un DNA ile etkileşimi, oksitlenmiş bazlar, abazik bölgeler, karbon iskeletinde hasar, tek veya çift zincir kopmaları (Çift Zincirli Kırılmalardan DSB'ler) ve çapraz bağlar DNA-proteinleri gibi çok çeşitli hasarlar üretebilir. Bazların modifikasyonu göz önüne alındığında, oksidasyon, DNA'ya verilen hasarın başlıca nedenini temsil eder

ve memeli hücresi başına günde 10,000 oksitlenmiş baz oluşumu tahmin edilir. Memeli genomundaki DNA bazlarında 100'den fazla farklı tipte oksitlenmiş modifikasyon bulunmuştur, ancak guaninin (G) düşük redoks potansiyeli bu bazı oksidasyona karşı özellikle savunmasız hale getirmektedir. Oksidatif stres koşulları altında, 2,6-diamino-4-hidroksi-5-formamidopirimidin tipi lezyonlar (faPy-G) de yüksek oluşum oranlarına ulaşabilir. Diğer çok yaygın oksidatif lezyonlar şunlardır: 7,8-dihidro-8-oksoadenin (8-oksoA); urasil glikol; timin glikol; 5-hidroksisitozin (5-hidroksi-C); 5-hidroksiurasil (5-hidroksi-U); etenoadenin (eten-A) ve 4,6-diamino-5-formamidopirimidin (faPy-A). Bu DNA lezyonları, hücre ölümüne veya onkogeneze yol açan genomik kararsızlığa neden olabilecek replikasyon çatalında nokta mutasyonlarına ve hatta duraklamalara neden olabilir (Chakarov *et al.* 2014).

2.11.2 8-oksoguanin lezyonu

Guanin'nin oksidasyonunun başlıca ürünü 7,8-dihidro-8-oksoguanindir (veya sadece 8-oksoguanin, 8-oksoG). Bu oksitlenmiş baz, karbonda 8 (C8) pozisyonunda bir okso grubunun ve 7 (N7) pozisyonunda nitrojende bir hidrojen atomunun katılmasından kaynaklanır. Guaninin düşük redoks potansiyeli, bu lezyonu en çok karşılaşılan ve belki de aynı nedenle en çok çalışılan oksidatif DNA lezyonları yapar (Van Loon *et al.* 2010). Normal şartlar altında bir insan hücresinde günde yaklaşık 10^3 7,8-dihidro-8-oksoguanin (8-oxoG) lezyonunun oluştuğu ve bu sayının kanserli doku hücrelerinde günde 10^5 lezyona ulaşabileceği tahmin edilmektedir. Bu faktörler, oksidatif stres hasarının derecesini belirtmek için bir hücre biyobelirteç olarak sıklıkla kullanılan modifiye edilmiş 8-oxoG bazına katkıda bulunmuştur.

Senkonformasyondaki 8-oksoguanin, işlevsel olarak bir timini taklit edebildiği ve dolayısıyla hatalı bir şekilde bir adenin ile eşleşebildiği için özellikle mutajeniktir (Cherian *et al.* 2003). Replikasyon sırasında 8-oxoG (syn): A (anti) çiftinin oluşumunun, DNA şablonunda 8-oxoG (anti): C (anti) çiftinin oluşumundan daha az bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir. Bu yapısal özellikler, bu lezyonun replikatif DNA polimerazlardan geçişine izin verir ve 8-oxoG'nin önüne bir sitozin yerine bir adenin eklenmesiyle daha büyük bir hata eğilimine yol açar. Bu lezyon DNA'dan doğru şekilde çıkarılmadığında,

transvers G: C'den T'ye: A mutasyonları meydana gelebilir. Ayrıca DNA'da çok sayıda 8-oxoG lezyonu oluştuğunda ve birbirlerine çok yakın olduklarında hücrenin onarım kapasitesi yeterli olmayabilir. Bu, tam olarak tamir edilemeyen ara ürünlerin oluşumuna ve ardından DSB'lerin oluşumuna neden olduğu için hücre için öldürücü olabilir (Cherian *et al.* 2003).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Araştırma Şubat 2020 Ocak 2021 tarihleri arasında Irak, Dhi Qar Üniversitesi Eğitim Araştırma Hastanesinde yürütülmüştür. Bu araştırmada, Diferansiye tiroid karsinomu (DTC) veya Graves hastalığı (GD) olan birçok hastanın ve kontrol grubunun hem demografik kökenleri hem de yaşam tarzı özellikleri incelenmiştir. Hem hastalar hem de kontrol gruplarındaki tüm katılımcılar, araştırmanın amacı ve gönüllü olarak katılmaları hakkında tam olarak bilgilendirilmiştir. Bu vaka kontrol çalışması, Irak Dhi Qar Şehri, Diyabet ve Endokrinoloji Merkezi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

3.1 Graves Hastalığı Olan Hastalar

Klinik veriler, kayıtlı hastalar, tanı tarihi, cinsiyet, etnik köken, ameliyat öncesi klinik veriler (ameliyat geçiren bir hasta olduğunda), çevresel etkenlere maruz kalma, diyet, tütün kullanımı, ilaç ve uyuşturucu kullanımı, yapılan testler ve menarş, menopoz, kontraseptif kullanımı, gebelik numarası, doğum numarası ve hormonal repozisyon değil spontan düşük sayısı gibi östrojenik ile bağlantılı testler ve vücut kitle indeksi (VKİ)'ni içeren ve McMillan vd. (2006) tarafından önerilen bir anket aracılığıyla elde edilmiştir. GD'li hastaların sahip oldukları tanı kriterlerini; baskılanmış TSH ile tirotoksisitenin klinik ve laboratuvar kanıtı, yüksek FT4 ve T3 değerleri, TSH reseptörüne (TRAb) karşı iki antikorun pozitifliğidir. Hastalar dikkatle muayene edilmiş olup metimazol veya propiltiourasil gibi antitiroid ilaçlarla tedavi edilmiştir.

3.2 Diferansiye Tiroid Karsinomu (DTC) Olan Hastalar

Diferansiye tiroid karsinomu teşhisi konan tüm hastalar, Tiroid Tümörleri (Singer *et al.* 1996), teşhis tarihi, cinsiyet, etnik köken, ameliyat öncesi klinik veriler, çevresel ajanlara maruz kalma, diyet, sigara, ilaç ve ilaç kullanımı, yapılan muayeneler, cerrahi ve anatomopatolojik muayeneye ilişkin veriler (tümör ölçümü, histolojik tip, farklılaşma derecesi ve metastatik lenf nodlarının varlığı), menarş dönemi, menopoz dönemi, kontraseptif kullanımı gibi östrojen ile ilgili bilgiler ve ne kadar süreyle, gebelik sayısı,

doğum sayısı ve spontan düşük sayısı, ayrıca kullanım veya hormonal yeniden konumlandırma ile ilgili implante edilmiş bir ayaktan olmayan protokol modelini izleyecektir. İki hastada kazara veya tıbbi olarak iyonize radyasyona maruz kalma veya önceki tiroid hastalığı öyküsü ve başka malignite öyküsü söz konusu olmuştur. Diğer eşlik eden tıbbi durumların teşhisi de dahil olmak üzere verilenlerin tümü iki hasta tarafından doğrulanmıştır. Çalışılan popülasyon, ortalama yaşı 38 ile 57 yıl olan 48 kadın ve 44 erkek olmak üzere 92 vakadan oluşmuştur. Papiliferöz karsinom teşhisi konan 52 hasta ve foliküler karsinomlu 40 hasta, tümü doğrulanmış bir patolojik sonuç için seçilmiştir. Tütün kullanımı ile ilgili olarak, içilen sigara sayısı ve sigara kullanım süresi ile ilgili veriler düşük kabul edildiğinden, istatistiksel amaçlı olarak sadece sigara içmeyenler ve sigara içenler olarak gruplandırılmıştır.

Hastalar için hariç tutma kriterleri, iyonlaştırıcı radyasyona veya önceki tiroid hastalığına kazara veya tıbbi maruz kalma öyküsü olan ve diğer malignite öyküsü olanlardır. Diğer eşlik eden tıbbi durumların teşhisi de dahil olmak üzere verilenlerin tümü iki hasta tarafından doğrulamıştır.

3.3 Kontrol Grubu (Sağlıklı Grup)

Kontrol grubu için yaş ortalaması 36 ile 50 olan Dhi Qar vilayetinden 46 kadın ve 62 erkek olmak üzere 108 Iraklı birey seçilmiştir. Tüm periferik kan örnekleri UNICAMP Hemocenter'dan toplanmıştır.

Hariç tutma kriterleri: Daha önce tiroid hastalığı öyküsü, radyasyona maruz kalma veya diğer malignite öncülleri olan kişiler hariç tutulmuştur. Kontrol grubundaki tüm bireyler tam bir fizik muayeneye tabi tutulup meslek, tütün kullanımı, yasadışı uyuşturucu ve tıbbi ilaç kullanımı, sağlık durumları ve önceki tıbbi durumlar hakkında bilgiler, östrojen menarş, menopoz, kontraseptif kullanımı, gebelik sayısı, doğum sayısı ve spontan düşük sayısı, hormon replasmanı kullanıp kullanmadığı ile ilgili bilgileri içeren bir anketi cevaplamıştır.

3.4 Yöntem

3.4.1 DNA ekstraksiyonu

DNA, baz veya yöntem olarak fenol-kloroform kullanılarak (Kizys *et al.* 2012) uyarlanmıştır. Protokol aracılığıyla tüm periferik kan örneklerinden ekstrakte edilmiş olup, UV-Vis spektrofotometre ekipmanı modeli E-120 marka Elico Made (Hindistan) ile ölçülmüş ve –20°C'de bir dondurucuda tutulmuştur.

3.4.2 Sitokrom p-45017a1, 17–β–hidroksisteroid dehidrojenaz 1, sitokrom p-450a1, sitokrom p-450a2, sitokrom p-450b1, comt ve sulfotransferaz1e1 genlerinin analizi

İki polimorfizmin varlığını doğrulamak için TaqMan® SNP Genotipleme (7500 Real Time PCR Systems) kullanılmıştır. Böyle bir teknik, çift fitik DNA'nın termal stabilitesine dayanmaktadır. Son derece katı koşullar altında, bu kararlılık, mükemmel ve kusurlu prob çiftlerini veya DNA'yı ayırt etmek için yeterlidir. Hibridizasyon, yalnızca prob ve DNA arasında mükemmel bir eşleşme meydana gelmektedir. Her alel için spesifik problar oluşturulabilir veya TaqMan® SNP Genotiplemesinin (Applied Biosystems, CA) genotiplemesi için test, hibridizasyon ve DNA-polimerazın 5 'eksonükleaz aktivitesinin bir kombinasyonu floresan saptamayla birleşerek (Rapley and Theophilus 2002) oluşturur. TaqMan® SNP Genotyping tarafından elde edilen problar ve foram primerleri olarak, Abaixo, Applied Biosystems Company tarafından belirlenen ve kullanılan iki numaralı testi listeler. 5 µl'lik bir solüsyonda kullanılan hacim, 20 ng numune DNA'sı, 2.5 µL Taqman Universal PCR Master Mix (nihai konsantrasyon 1X), 20x e 0.125 µl'lik bir konsantrasyon için 0.25 µL test (prob ve primerler) 40x'lik bir konsantrasyon (son 1x'lik konsantrasyon) ve 2.25 µL milli-q su içermektedir. Tüm reaksiyonlarda bir negatif ve bir pozitif kontrol kullanılmıştır. PCR'de aşağıdaki foram döngüleri kullanılmıştır: ilk denatürasyon fazı 95 °C'de 10 dakika, ardından 50 döngü 92 °C'de 15 saniye, 60 °C'de 90 saniyedir. Analiz için kullanılan yazılım, "Sıra Tespiti Yazılımı", sürüm 1,3 (Applied Biosystems, CA) olmuştur.

3.4.3 Plazmanın elde edilmesi

Plazmanın elde edilmesi için heparinde toplanan kan 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiş ve plazma ayrılarak -20 °C'de buzdolabında dokuz aya kadar saklanmıştır.

3.4.4 Hemolizatın elde edilmesi

Eritrosit hemolizatı elde etmek için, EDTA'da toplanan tam kandan plazma, trombositler ve lökosit tabakası çıkarılmış ve heparin, 15 dakika boyunca dakikada 3,500 devirde (rpm) santrifüjden ve ardışık olarak sodyum klorür (NaCl) ile %0,9 yıkamadan sonra distile su (1:1) ilavesiyle eritrosit lizizi ile yıkanmıştır.

3.4.5 Katalaz (CAT)

Eritrositlerdeki CAT aktivitesi, 240 nm'de ultraviyole spektrofotometrik yöntemle hemolizatta belirlenmiştir. Bu aktivite, hidrojen peroksitin ($H_2O_2 \rightarrow H_2O + O_2$) bozunmasının izlenmesine dayanmaktadır. Katalaz aktivitesi atv/dk olarak ifade edilmiştir.

3.4.6 Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD analizi, RANSOD SD 125 kitinin (Randox Labs, Crumlin, UK) tavsiyelerine göre yapılmıştır. Bu yöntem, enzimin eritrositlerdeki aktivitesinin analizine izin vermektedir (Michalski *et al.* 2016). SOD'un rolü, oksidatif süreçlerde üretilen O_2-'nin H_2O_2 ve O2'ye dismutasyonunu hızlandırmaktır. SOD aktivitesi, bu reaksiyonun 505 nm'de inhibisyon derecesi ile ölçülmüştür. Örnekler, %30 ila % 60 arasında bir inhibisyon derecesine sahip olduklarında ve önceki seyreltme numunenin özelliklerine göre 1: 600 - 1: 850'de değişiklik gösterdiklerinde kullanılmış ve SOD sonucu U/mL olarak ifade edilmiştir.

3.4.7 Nitrit/nitrat testi (NO_2)

Nitrit ölçümü, nitrit/nitrat konsantrasyonunun ölçülmesiyle dolaylı olarak yapılmakla beraber bir numunede (idrar, plazma, doku homojenatı) nitritin varlığının diazotizasyon reaksiyonu ile ortaya çıkarılmasına dayanan (Ward *et al.* 2010) yöntemiyle belirlenmiştir. 540 nm'lik bir absorbans piki ile pembe renkli bir kromofor oluşturur. Tüm numuneler, ortalama kullanılarak iki kopya halinde yapılmış ve NO_2 sonuçları mg/L olarak ifade edilmiştir.

3.4.8 MDA testi

Biyolojik numunelerde malonaldehitin (MDA) belirlenmesi için en çok kullanılan yöntem, onun tiyobarbitürik aside (TBARS) reaktif maddelerle reaksiyonuna dayanmaktadır (Petrulea *et al.* 2009).

Bu reaksiyonda, iki TBARS molekülü, 532 ila 535 nm arasında bir asit çözeltisinde maksimum absorbansa sahip pembemsi bir kromofor oluşturmak için bir MDA molekülü ile stokiyometrik olarak reaksiyona girmektedir. Bu kromoforun 535 nm dalga boyunda, pH 1,0'da sönme katsayısı 1,53x10-5 M'dir. İnkübasyon periyodundan sonra süpernatant atılmış ve hücreler 1 ml Triton X-100 ile parçalanmıştır. Ardından, 250 µL plazma cam tüplere ilave edilmiş ve 1 saat 37 °C'de bir su banyosunda inkübe edilmiştir. Ardından proteinleri çökeltmek için 400 µL %35 perklorik asit ilave edilmiş ve karışım 1400 g'de 10 dakika santrifüjlenmiştir.Üst kısımdaki 600 µL süpernatan, 200 µL %1,2 sodyum tiyobarbitürat çözeltisine ilave edilmiş,karışım bir su banyosuna yerleştirilerek 30 dakika boyunca 95 °C'de ısıtılmıştır. Soğutulduktan sonra, 560 nm'de bir mikroplaka okuyucuda absorbans ölçülmüş,sonuçlar µM olarak ifade edilmiştir.

3.4.9 Hormonal dozajlar

Tiroid durumunu kontrol etmek için, kemilüminesans yöntemi kullanılarak her defasında serum TT3, FT4 ve TSH ölçülmüştür.

Serbest T4 (FT4)

Serbest T4 ölçümü, rekabetçi bir bağışıklık tahlili olan ve doğrudan kemilüminesan teknolojisini kullanan ADVIA Centaur®, ABD tahlili kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Hasta numunesinde bulunan FT4, sınırlı miktarda biyotin etiketli tavşan poliklonal anti-T4 antikoru için Reagent Lite'taki akridinyum ester etiketli T4 ile rekabet eder. Biotin etiketli anti-T4, katı fazdaki paramanyetik parçacıklarla kovalent olarak ilişkili olan avidine bağlanır. Çalışmada 0,61 - 1,48 ng/dL arasındaki değerler FT4 testi için normal kabul edilmiştir. Toplam T3 (TT3) TT3 testi, ADVIA Centaur®, ABD kullanılarak doğrudan kemilüminesans yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Hasta numunesinin T3'ünün, katı fazdaki paramanyetik partiküllere kovalent olarak bağlı olan benzer T3 ile, hafif reaktifte akridinyum esteri ile etiketlenmiş sınırlı miktarda anti-T3 sıçan monoklonal antikoru ile rekabet ettiği rekabetçi bir immünolojik testtir. Hastanın numunesinde bulunan T3 miktarı ile sistem tarafından algılanan bağıl ışık birimlerinin (RLU'lar) miktarı arasında ters bir ilişki vardır. TT3 testi için yaş gruplarına göre 20-50 yaş arası 0,70 - 2,04 ng/mL ve 50 - 90 yaş arası 0,40 - 1,81 ng/mL değerler normal kabul edilmiştir.

Toplam T3 (TT3)

Toplam T3 testi, ADVIA Centaur®, ABD kullanılarak doğrudan kemilüminesans yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Hasta numunesinin T3'ünün, katı fazdaki paramanyetik partiküllere kovalent olarak bağlı olan benzer T3 ile, Reaktif Lite içinde bir akridinyum esteri ile etiketlenmiş sınırlı miktarda anti-T3 sıçan monoklonal antikoru ile rekabet ettiği rekabetçi bir immünolojik testtir. Hastanın numunesinde bulunan T3 miktarı ile sistem tarafından algılanan bağıl ışık birimlerinin (RLU'lar) sayısı arasında ters bir ilişki vardır. TT3 testi için yaş gruplarına göre 20 ile 50 yaş arası 0.70 - 2.04 ng/mL ve 50 ile 90 yaş arası 0.40 - 1.81 ng/mL değerler normal kabul edilmiştir.

Tiostimüle edici hormon (TSH)

Tiostimüle edici hormon, sabit miktarlarda iki antikor kullanan iki lokasyonda gerçekleştirilen sandviç tipi bir immünolojik test olan ADVIA Centaur XP, ABD testi kullanılarak doğrudan kemilüminesans yöntemi kullanılarak ölçülmüştür. Reagent Lite'taki ilk antikor, akridinyum ester ile etiketlenmiş bir monoklonal fare anti-TSH antikorudur. Katı fazdaki ikinci antikor ise paramanyetik partiküllere kovalent olarak bağlı bir koyun poliklonal anti-TSH antikorudur. Hasta numunesinde bulunan TSH miktarı ile sistem tarafından tespit edilen RLU miktarı arasında doğrudan bir ilişki olduğu için dozaj hesaplanmış ve 0,34 - 5,60 µUI/mL arasındaki değerler TSH testi için normal kabul edilmiştir.

Biyokimyasal dozajlar

Hastaların biyokimyasal profilini kontrol etmek için Mindray BS-120 cihazında (Shenzhen, Çin) enzimatik kolorimetri ile her seferinde glukoz (heksokinaz), CT ve TGL ölçülmüştür. HDL'nin belirlenmesi, üst fazda dozlanan LDL ve VLDL'nin çökelme reaksiyonuna dayanır. Çalışmada;LDL değeri Friedwald reaksiyonu ile hesaplanmıştır: LDL = CT - HDL - (TGL/5). VLDL değeri trigliseritlerden hesaplanmıştır: VLDL = TGL/5; TGL 400 mg/dL'den büyükse bu hesaplamanın yapılamayacağı anlamına gelmektedir.

3.5 Operasyonelleştirme

Bu çalışmada kullanılan değişkenlerin operasyonelleştirilmesi Çizelge 3.1’de listelenmiştir.

Çizelge 3.1 Değişkenlerin operasyonelleştirilmesi

Değişkenler	TANIM	ÖLÇÜM DÜZEYİ	KATEGORİ
DNA hasarı	DNA zincirinde kırılmaya, bazların modifikasyonuna, DNA-DNA çapraz bağlarına ve DNA-protein çapraz bağlarına neden olan kimyasal maddeler ve fiziksel etkenlerin neden olduğu yaralanmalar.	Sürekli nicel/Nitel nominal	Mikron cinsinden ortalama göç (µm). ; Hasar yok: <40% göç Hasar ≥%40 göç ile.
8-OHdG	DNA nükleositlerinin oksidasyonu ile üretilen oksidatif stres belirteci	Sürekli nicel	[nM] cinsinden salgılanan miktar.
Tıbbi teşhis	Hastanın sunduğu semptomlara, tıbbi geçmişine ve tamamlayıcı testlere dayanarak bir hastalığı tanımlamayı amaçlayan tıp bölümü.	Nitel nominal	Sağlıklı hastalar/GD hastaları/DTC hastaları

Önceden bilgilendirilmiş onam ve 12 saatlik aralıkla, hematik biyometri, kan kimyası ve DNA hasarı için örnekler alınmıştır.

3.5.1 Alkalin tek hücre elektroforezi veya komet testi

Tek DNA iplikçik kopmalarını tespit ederek, bir popülasyonun her hücresinde genom hasarının bağımsız olarak ölçülmesini sağlayan bir tekniktir. Slaytlar, 120 µl normal agaroz jelin (% 0.75'i Ca^{2+} ve Mg^{2+} içermeyen pbs'de çözünmüş) yerleştirildiği buzlu slaytlar üzerinde hazırlanmış ve katılaşana kadar bekletilmiştir. Daha sonra her bir kan örneğinin 10 µl'si 75 µL düşük erime noktalı agaroz ile karıştırılmıştır (% 0.5'i Ca^{2+} ve Mg^{2+} içermeyen pbs'de çözülmüştür). ve önceki agaroz jel ile hazırlanan slaytlara yüklenmiştir. Karışım katılaştıktan sonra, 75 µL düşük erime noktalı agarozdan başka bir tabaka jel daha ilave edilmiştir. Son olarak lameller taze soğuk lizis çözeltisine daldırılmış (taze çözeltiye% 1 sodyum lauril sarkosianat, 2.5M NaCl, 100mM Na2 EDTA, 10mM Tris-HCl pH 10,% 1 triton X-100 ve% 10 DMSO ilave edilerek hazırlanmıştır) ve en az bir saat boyunca 4 ° Cde bekletilmiştir.

Daha sonra pH 13'e ayarlanmış buffer içeren (1mM Na2 EDTA, 300mM NaOH) jeller elektroforeze yerleştirilmiş DNA yüklendikten sonra 20 dakika dinlendirilmiş ve 25 volt 300 mA'de 20 dakika yürütülmüştür. Güç kaynağı kapatıldıktan sonra, slaytlar

elektroforezden dikkatlice çıkarılmış ve 5 dakika boyunca nötralizasyon tamponu (0.4 M Tris-HCl, pH 7.5) ile üç kez yıkanmıştır.. Fazla tamponun bufferı boşaltılarak 5 dakika boyunca saf metanol içine yerleştirilmiş ve kurutulmuştur. Üzerine 50µl 1x etidyum bromür (1mL 10x "stok" [1mg / 10mL] 9mL H2O ile) ile işaretlenmiştir.

Jeller Nikon Optiphoto-2 mikroskopta (Nikon, Japan) w 515-560 nm filtrede 40X ile incelenmiştir.Sonuçta çekirdek çapı ve uzunluğu ölçülmüştür. Pozitif kontrol, 30 dakika boyunca 200 µM hidrojen peroksit (H_2O_2) içeren 1 mL Hanks çözeltisine (Ca^{2+}, Mg^{2+} içermeyen) yerleştirilen ve soğutulmuş 200 µL tam kan kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tedavi süresinin sonunda süpernatan çıkarılmış ve testi gerçekleştirmek için hücre sayımı yapılmıştır.

Tek DNA zincir kırılmalarını tespit ederek, bir popülasyonun her hücresinde genomdaki hasarın bağımsız olarak ölçülmesini sağlayan bir tekniktir. Lamlar, 120 µL normal agaroz tabakasının (% 0.75 Ca^{2+} ve Mg^{2+} içermeyen PBS içinde çözünmüş) yerleştirildiği buzlulamlar üzerinde hazırlanıp, katılaşana kadar bırakılmıştır. Daha sonra her kan örneğinin 10 µL'si, 75 µL düşük erime noktası agaroz (% 0.5 Ca^{2+} ve Mg^{2+} içermeyen PBS içerisinde çözünmüş) ile karıştırılmış ve önceki katmanla hazırlanan lamlara yerleştirilmiştir. Karışım katılaştıktan sonra ve 75 µL düşük erime noktası olan agaroz başka bir tabakası ilave edilmiştir. Son olarak, lameller taze bir soğuk lizis çözeltisine daldırılmış (% 1 sodyum lauril sarkosinat, ve 2.5m NaCl, 100mm Na2 EDTA, 10mm Tris-HCl, pH 10,% 1 Triton X-100 ve% 10 DMSO, hazırlanan taze çözeltiye ilave edildi) ve en az bir saat 4 °C'de bırakılmıştır.

Daha sonra lameller üzerini tamamen kaplayan bir pH 13 tamponu (1mm Na2 EDTA, 300mm NaOH) içeren bir elektroforez odasına yerleştirilmiştir. Sonrasında güç kaynağı, 20 dakika boyunca elektroforez yapmak için 25 volt ve 300 miliamper olarak ayarlanmıştır (önceki adımların ışıktan korunacağını belirtmek önemlidir). Güç kaynağı kapatıldıktan sonra, lamlar elektroforez odasından dikkatle çıkarılmış ve üç kez nötralizasyon tamponu (0.4 M Tris-HCL, pH 7.5) ile 5 dakika yıkanmıştır. Fazla tampon lamlardan temizlenmiş ve mutlak metanol içinde 5 dakika tutulmuş, kuru havada havaya uçmasına izin verilmiş ve daha sonra floresan mikroskobu altında gözlem için 50µL 1x

etidyum bromür (1mL 10x "stok" [1mg / 10mL] 9mL H2O ile boyanmış vebir lamel ile dikkatlice kapatılmıştır.

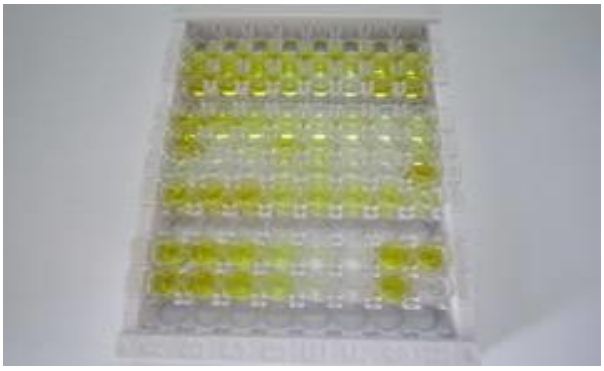
Lamlar, 40X büyütme kullanılarak 515-560 nm uyarma filtresine sahip bir Nikon Optiphoto-2 mikroskobu (Nikon, Japonya) altında gözlemlendi. Son olarak, dereceli ve kalibre edilmiş bir mercekle, çekirdeğin çapı ve 100 hücreli komet uyandırma uzunluğu ölçülmüştür. Pozitif kontrol, 30 dakika boyunca 200 uM hidrojen peroksit (H_2O_2) içeren 1 mL Hanks çözeltisine (Ca^{2+}, Mg^{2+} içermeyen) yerleştirilen 200 uL tam kan kullanılarak gerçekleştirildi. Pozitif kontrol, 200 µM hidrojen peroksit (H_2O_2) içeren 1 mL Hanks çözeltisine (Ca^{2+}, Mg^{2+} içermeyen) yerleştirilmiş 200 µL tam kan kullanılarak 30 dakika süreyle soğuk suya batırılarak gerçekleştirilmiştir. Tedavi süresinin sonunda, süpernatan çıkarılmış ve testi gerçekleştirmek için hücre düğmesi kullanılmıştır. Göç, kometin uzunluğu ile çekirdeğin çapı arasındaki fark olarak hesaplanmıştır.

3.5.2 8-OHdG ELISA

Reaktiflerin hazırlanması

PBS + %0,1 Tween 20 Yıkama Solüsyonu (PBST): Şerit kuyucuklarını yıkamak için bir yıkama şişesinde 1X PBS ve %0,1 Tween 20 içeren 500 mL PBST hazırlanmıştır.

Standart 8-OHdG: Kit, 20 µM konsantrasyonda 20 µL standart 8-OHdG içermektedir. Kapağı açmadan önce standart şişe santrifüjlenir. Parçalara bölünür ve tekrar dondurma/çözülme döngüsünden kaçınılır. Kullanımdan hemen önce Test ile standardın seri dilüsyonları yapılır. Her seyreltmenin hacmi 150 µL veya daha fazla olmalıdır. Önerilen son konsantrasyonlar 200 nM, 100 nM, 50 nM, 25 nM, 12,5 nM, 6,25 nM ve 3,13 nM'dir. Standart eğri, üç kopya halinde gerçekleştirilecek her 8-OHdG seyreltmesinden 25 uL/kuyucuk gerektirmektedir. Seyreltilmiş 8-OHdG standardı hemen kullanılmalı ve geri kalanı atılmalıdır.



Şekil 3.1 8-OHdG ELISA Kiti

Anti-8-OHdG Monoklonal Antikor: Kullanmadan hemen önce, anti-8-OHdG monoklonal antikoru Assay Diluent ile 250 kez seyreltilir. Test için toplam 25 µL/kuyucuk seyreltilmiş anti-8-OHdG monoklonal antikor gereklidir. 96 kuyucuk için 12 µL anti-8-OHdG monoklonal antikoru 3 mL numune seyreltici içinde seyreltilir ve çok kanallı bir pipetle 25 µL/kuyu eklenmiştir (Şekil 3.1).

Keçi Anti-Fare-IgG-HRP Konjugatı: Kullanmadan hemen önce keçi anti-fare IgG-HRP'yi Assay Diluent (Cat # 4380-096-02) ile 1/500 kez seyreltilmiştir. Test için toplam 50 µL/kuyucuk seyreltilmiş keçi anti-fare IgG-HRP konjugatı gereklidir. 96 kuyucuk için 12 µL keçi anti-fare-HRP konjugatı 6 mL örnek seyreltici içinde seyreltilir ve çok kanallı bir pipet ile 50 µL/kuyucuk eklenir. TACS-Sapphire: Kullanmadan önce TACS Sapphire™'i oda sıcaklığına kadar önceden ısıtılır. TACS-safir, yaban turpu peroksidaz (HRP) varlığında maviye dönen kolorimetrik bir substrattır. Eşit hacimde 0,2 M HCl veya %5 fosforik asit ilavesi, 450 nm'de okunabilen sarı bir renk oluşturmak için reaksiyonu durdurur. Kuyucuk başına toplam 50µL gereklidir. 96 kuyucuk için 6 mL substrat çok kanallı bir pipetle dağıtılır.

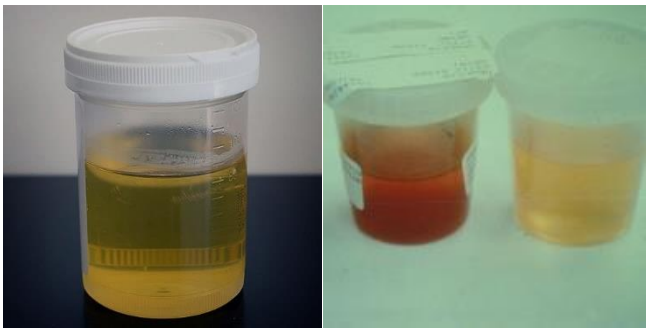
İdrar örnekleri:

1. Standart prosedüre göre steril bir kapta idrar toplanmıştır (Şekil 3.2).

2. 2.000 x g'de 15 dakika süreyle filtre veya 0.45 mikron filtre kullanılarak çökeltiyi uzaklaştırmak için Santrifüj edilmiştir.

3. Daha sonra kullanmak üzere ≤ -20ºC'de alikuotlarda sakladıktan sonra test edilmiştir.

Tekrarlanan donma-çözülme döngülerinden kaçınılmalıdır.



Şekil 3.2 İdrar örnekleri

Test prosedürü

a. Şerit kaplı ön kuyuları alüminyum folyo torbadan çıkarılmış ve oda sıcaklığına bekletilmiştir. Maviden pembeye rejeneratif renk değişiklikleri meydana gelirse veri performansı tehlikeye girdiği anlaşılmaktadır.

b. 8-OHdG standardının seri dilüsyonlarını hazırlanmıştır. Testi üç kopya halinde gerçekleştirmek için 150 µL'lik son hacimler önerilmektedir.

3.6 İstatistiksel Analiz

Elde edilen DNA hasarı ve 8-OHdG sonuçları SPSS v.15 programı kullanılarak istatistiksel analiz yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistiklerden frekans, yüzde ve ortalama değerler ± standart sapma (SD) belirlenmiştir. Varyans analizi (ANOVA), Dunnet'in post hoc testi kullanılarak $p < 0,05$ ile yapılmışve %95 güven aralığı ile olasılık oranı üzerinden değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 DTC için Sonuçlar

İlişkilerin tanımlayıcı analizi, cinsiyet ve tütün alışkanlığı açısından olgular ve kontroller arasında bir fark olmadığını göstermiştir (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 Cinsiyet, etnik köken ve tütün alışkanlığı gibi özellikler için vaka ve kontrol arasındaki ilişki

Özellikler	DTC (N)	Kontrol grubu (N)	P. değeri
Kadın	48	46	0,1032
Erkek	44	62	
Sigara içen	36	18	0,3006
Sigara içmeyen	56	90	

Bununla birlikte, menopoz ($p < 0,0001$) ve hormon replasmanı ($p < 0,0001$) gibi östrojenle ilgili bazı verilerle ilgili olarak vakalar ve kontroller arasında bir fark söz konusu olsa da kontraseptif kullanımı için değildir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Hormon replasman kullanımı, menopoz ve kontraseptif kullanımı ile ilgili hasta ve kontrollerin özellikleri

Özellikler	DTC		Kontrol grubu		P. değeri
	Evet (%)	Hayır (%)	Evet (%)	Hayır (%)	
Hormon Değişimi	8,47	37,90	4,69	7,98	<0,0001
Menopoz	46,37	53,63	14,29	85,71	<0,0001
Doğum kontrol	61,69	38,31	62,96	37,04	0,7784

4.2 GD için Sonuçlar

Tüm polimorfizmler için, ortalama yaş = 29,74 ± 10,66 yaş olan toplam 92 GD vakası (48 kadın ve 44 erkek), ortalama yaş = 26,86 ± 10,93 yaş olan 108 kontrol (46 kadın ve 62 erkek) ile karşılaştırma yapılmıştır. Deneklerin tanımlayıcı analizi, cinsiyet ve etnik köken açısından vakalar ve kontroller arasında bir fark olmadığını göstermiştir. Ancak,

GD'li hastalar arasında sigara alışkanlığı olan bireylerin (p = 0,0006) menopoz oluşumu da hastalıkla ilişkili bulunmuştur (p = 0,0002). Ancak aşağıda Çizelge 4.3'te gösterildiği gibi hormon replasmanında olduğu gibi (p = 0,0042) kontraseptif kullanımı hastalar arasında kontrollere göre daha nadir bulunmuştur (p <0,0001).

Çizelge 4.3 Sigara tüketimi, hormon replasmanı kullananımı; doğum kontrol hapı kullanımı veya menopoz durumu

	GD		**Kontrol**		**P. değeri**
Özellikler	**Evet**	**Hayır**	**Evet**	**Hayır**	
	(%)	(%)	(%)	(%)	
Sigara kullanımı	34,40	65,60	21,75	78,25	0,0006
Hormon Değişimi	3,80	19,62	4,69	7,98	0,0042
Menopoz	28,97	71,03	14,29	85,71	0,0002
Doğum kontrol	21,29	78,71	62,96	37,04	<0,0001

4.3 Tüm Genler için Sonuçlar

Sitokrom P-450A1 m1 ve Sitokrom P-450B1 genleri için lojistik regresyon analizlerinin tüm sonuçlarını göstermektedir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 Lojistik regresyon analizi sonucu

Gen	**Karşılaştırma**	**Olasılık oranı**	**%CI_{95}**	**P. değeri**
Sitokrom P-450A1 m1	CT x TT	2,12	1,480-3,037	<0,0001
Sitokrom P-450B1 119	GG x TT	6,942	4,213-11,440	< 0,0001
	GT x TT	2,374	1,547-3,643	< 0,0001
Sitokrom P-450B1 432	GG x CC	1,733	1,087-2,764	0,0208
	GC x CC	1,498	1,017-2,205	0,0408

Mann-Whitney istatistiksel testi (Mogharbel *et al.* 2017), Çizelge 4.5'te gösterildiği gibi, ileri yaş ile menarş, daha yüksek sayıda gebelik, parite ve düşük ve GD görünümü riski arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir.

Çizelge 4.5 Mann-Whitney istatistik testinin sonucu

	Kontrol	**GD**	**P. değeri**
Özellikleri	%	%	
Yaş	36,9	39,8	0,0021
Menopoz	12,3	12,9	0,0012
Hamilelik	1,3	2,7	<0,0001
Eşitlik	1,1	2,3	<0,0001
Kürtaj	0,2	0,4	0,0029

Adım adım seçilen, yaşa, etnik kökene ve sigaraya göre ayarlanmış çoklu süreç, yaş, sigara kullanımı, Sitokrom P-450B1 kodon 119 ve Sitokrom P-450A1 m1 genlerinin polimorfizmleri ile GD'ye duyarlılık arasında bir ilişki olduğunu doğrulamaktadır (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6 Adım adım istatistiksel testinin sonucu

Değişken	**Referans**	**P. değeri**	**Olasılık oranı**	**CI_{95}%**
Yaş	-	0,0467	-	-
Etnik köken	-	0,0197	-	-
Sigara kullanımı	-	0,0101	-	-
Sitokrom P-450B1 119	GG x TT	<0,0001	7,278	4,321-12,258
	GT x TT	<0,0001	2,559	1,633-4,008
Sitokrom P-450A1 M1	TC x TT	0,0009	1,951	1,317-2,892

Hematolojik profili (Ht, Hb, toplam lökositler, nötrofiller ve trombositler), biyokimyasal ölçümleri (glisemi, CT ve fraksiyonlar, TGL, TGO ve TGP) ve oksidatif profili (CAT, SOD, NO • ve MDA) TSC ve EU'da istatistiksel olarak Çizelge 4.7'de gösterildiği gibi anlamlılık göstermemiştir.

FT4 ve TSH'nin hormonal dozajları, değerlendirilen iki durumda sırasıyla p: 0,014 ve 0,001'den az olmak üzere istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir. TT3 dozu, p: 0,05 ile istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Çizelge 4.7 Laboratuvar bulguları

Parametre	TSC	EU	P. değeri
Hematolojik profil			
Hemoglobin (g / dL)	14,74 ± 6,3	13,15 ± 0,98	0,26
Lökositler (mm^3)	5852 ± 1663	5828 ± 1455	0,929
Nötrofiller (mm^3)	3545 ±1400	3411 ± 1007	0,562
Trombositler (mm^3)	293650 ± 57206	281200 ± 69176	0,203
Biyokimyasal dozajlar			
Glikoz (mg /dL)	93,8 ± 15	93,33 ± 10,54	0,837
Toplam kolesterol (mg /dL)	214,38 ± 43,35	217 ± 47,8	0,581
HDL (mg/dL)	55,19 ± 13,66	55,57 ± 16,19	0,347
LDL (mg/dL)	131,6 ± 32,44	132,75 ± 35,9	0,763
VLDL (mg/dL)	27,65 ± 14,2	27,91 ± 16,16	0,909
Trigliseritler (mg /dL)	138 ± 70	139,8 ± 80,9	0,878
TGO (U/L)	32,76 ± 13,18	31 ± 13,18	0,312
TGP (U/L)	30,95 ± 22,72	28 ± 15,59	0,258
Hormonal dozajlar			
Total T3 (ng/mL)	1,12 ± 0,21	1,02 ± 0,18	0,05
Free T4 (ng/dL)	1,05± 0,18	0,93 ± 0,14	0,014
TSH (µUI/ mL)	0,11 ± 0,1	2,01 ± 1,49	<0,001
Oksidatif profil			
CAT (atv/min)	57,68 ± 22,91	62,91 ± 18,62	0,435
SOD (atv/ min)	1390 ± 453,5	1509 ± 364	0,48
NO (mg/L)	35,05 ± 20,3	30,15 ± 12,21	0,18
MDA (µM)	2,91 ± 0,51	3,00 ± 0,61	0,73

* CAT: Katalaz; AB: Ötiroidizm; HDL: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein; LDL: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein; MDA: Malonaldehit; NO: Nitrik Oksit; SOD: Süperoksit Dismutaz; TSC: Subklinik tirotoksikoz; TGO: Glutamik-Oksalasetik Transaminaz; TGP: Glutamik-Piruvik Transaminaz; TSH: Tiyostimüle edici Hormon; VLDL: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein.

Sağlık durumuna göre oksidatif DNA hasarı olan deneklerinlerle ile ilgili olarak, sağlıklı yaşlıların gösterdiği %31 oranın aksine, GD'nin %59'unun ve DTC'li hastaların %53'ünün oksidatif DNA hasarı olan hücreler gösterdiği ve farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p < 0,01$) (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8 Gruplara göre DNA hasarının sıklığı

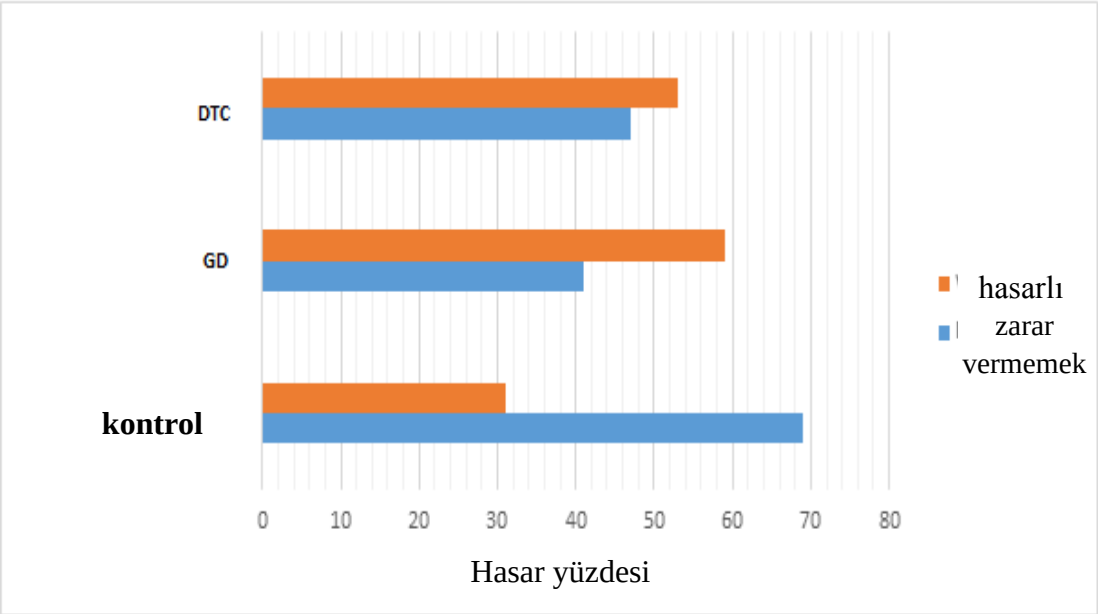
Hasar yüzdesi	**Sağlıklı**	**GD**	**DTC**
Hasar yok	%69	%41	%47
Hasarlı	%31	%59 *	%53
* Sunulan veriler, komet testi yoluyla DNA hasarı olan veya olmayan hücreleri olan deneklerin sayısıdır. test p = 0,005			

Öte yandan, komet testinde DNA hasarına bağlı migrasyon ortalama değerleri arteriyel DTC'li yaşlı grupta sağlıklı gruba göre anlamlı olarak daha yüksek olmuştur (DTC, 27,32 ± 8,00 vs. sağlıklı 24,30 ± 5,07, p < 0,05). Benzer şekilde, istatistiksel anlamlılık sınırdaydı (GD, 26,94 ± 7,87, sağlıklı 24,30 ± 5,07, p = 0,06) (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.9 Gruplara göre DNA hasarına bağlı migrayon

Teşhis	**Ortalama migrasyon (µm)**	**P değer**
Sağlıklı	24,30±5,07	
GD	26,94±7,87	0,068
DTC	27,32±8,00	0,021*
*Veriler ortalama ± SD olarak sunulmuştur. Dunnett Post hoc tek faktörlü ANOVA testi.		

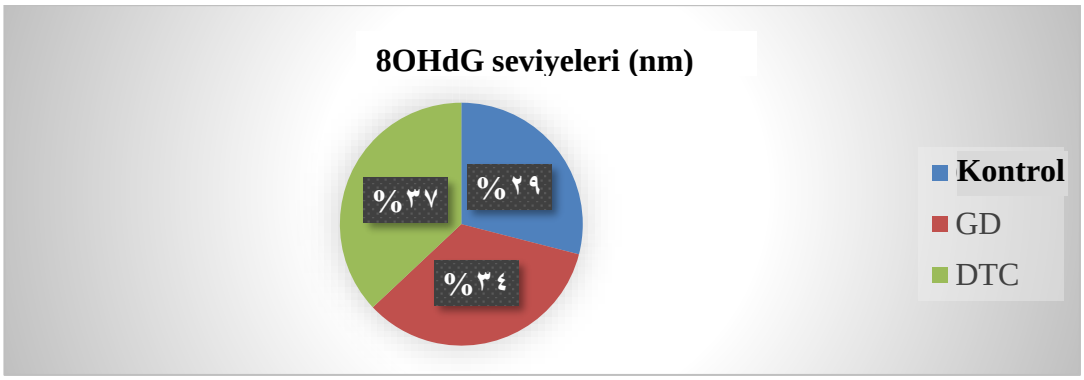
Oksidatif DNA hasarı için bir risk faktörü olarak sağlık durumunun analizinde, GD, DNA hasarı (OR = 3,2, %95 CI 1,6 ila 6,7, p <0,05) ve ayrıca DTC (OR = 2,5, %95 GA 1,3 ila 4,9, p <0,05) olmuştur (Şekil 4.1). İdrarda 8-OHdG [nM] atılımı ile ilgili olarak, sağlıklı yaşlı erişkinler grubunda DTC'li gruplara göre daha yüksek bir konsantrasyon gözlenmiştir. Ancak GD grubuna göre fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (sağlıklı, 54,89 ± 8,22 - GD, 39,27 ± 16,36, p> 0,05). DTC grubu ile fark sınırda (sağlıklı, DTC'ye karşı 54,89 ± 8,22, 18,98 ± 5,56, p = 0,06) (Çizelge 4.10, Şekil 4.2).



Şekil 4.1 Gruplara göre DNA hasarı olan hücreleri olan deneklerin yüzdesi

Çizelge 4.10 Gruplara göre idrar 8-OHdG atılımı

Teşhis	**8-OHdG (nM)**	**P değer**
Sağlıklı	54,89 ± 8,22	
GD	39,27 ± 16,36	0,592
DTC	18,98 ± 5,56	0,067
Veriler ortalama ± SD olarak sunulmuştur. Dunnett Post hoc tek faktörlü		

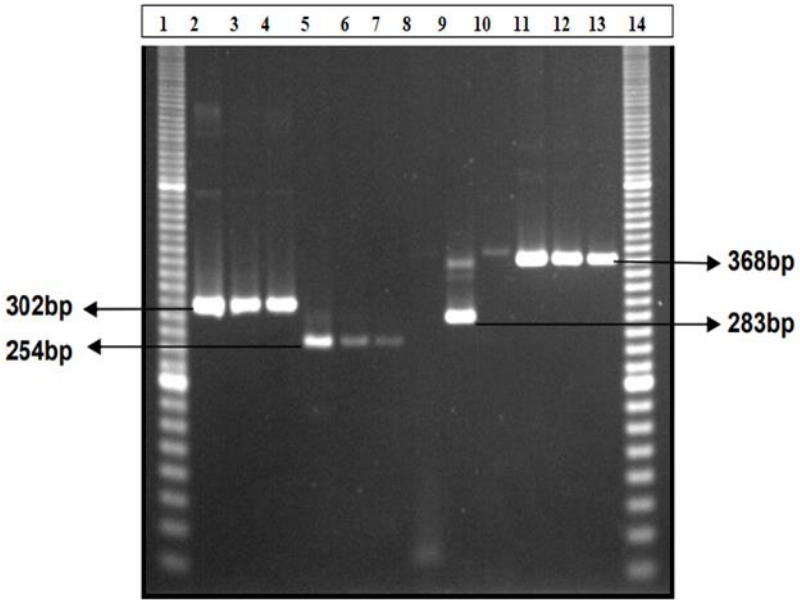


Şekil 4.2 Gruplara göre idrar 8-OHdG atılımının konsantrasyonu

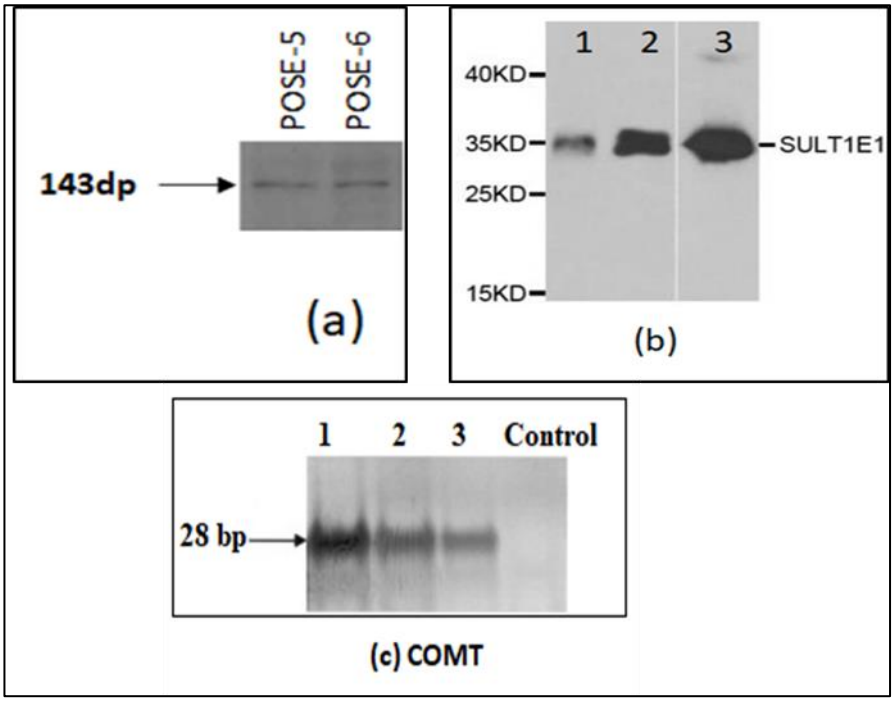
4.4 Aşağıdaki Genlerin Real-Time PCR Analizinden Sonra Amplikonların Agaroz Jel Görüntüsü

- Cytochrome P-450 17A1, (CYP 17A1)
- Cytochrome P-450 A1, (CYP A1)
- Cytochrome P-450 A2, (CYP 17A2)
- Cytochrome P-450B1, (CYP 17 B1)
- 17 – β – Hydroxysteroid Dehydrogenase 1,
- COMT (Catechol-O-Methyltransferase)
- Sulphotransferase1E1

Şu anda, gerçek zamanlı PCR, gen ekspresyonundaki küçük varyasyonların saptanmasına imkan sağlamanın yanı sıra, düşük miktarda RNA'ların ölçülmesi için oldukça hassas bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Birçok enzimin modülasyonu transkripsiyon sonrası düzeyde gerçekleşse de, RNA transkripsiyonundaki bir değişiklik, ilgili protein düzeyindeki değişikliklere dair güçlü kanıtlar sağlamaktadır. Bu nedenle, RNA kopyalanmazsa, enzim sentezlenmeyecektir ve bunun aksine, gen ekspresyonunun indüksiyonu, protein sentezinde bir artışı temsil etmektedir. Bu çalışmada gerçekleştirilen RT-PCR tahlilleri, enzimatik aktiviteyi ölçmek için tahlillerde metaboliti saptanmayan, araştırılan (Şekil 4.3) seçili CYP'lerin (17A1, A1, 17A2, 17B1) saptanmasına olanak sağlamıştır. Ek olarak, amplifikasyon ürünlerinin %2.5 agaroz jel elektroforezi, amplifikasyon reaksiyonlarında kullanılan primerlerin özgünlüğünü teyit ederek, beklenen boyutlara karşılık gelen fragmanların üretildiğini göstermektedir. Şekil 4.4 (a-c) diğer genleri göstermektedir. Birincil hOSE'de (POSE) 17b-hidroksisteroid dehidrojenazların (17b-HSD'ler) gen ekspresyonu incelenmiştir.



Şekil 4.3 RT-PCR ürünlerinin %2.5 agaroz jel elektroforezi. Şerit 1 ve 14: En alttaki 20 bp PCR moleküler boyut işaretçisi. Şerit 2 ila 4: CYP A1 gen amplifikasyon ürünleri, Şerit 5 - 7: CYP 17 A1 gen amplifikasyon ürünleri. Şerit 8-10: CYP 17B1 gen amplifikasyon ürünleri. Şerit 11-13: CYP 17A2 gen amplifikasyon ürünleri



Şekil 4.4 (a) 17 □-HSD-1; (b) sülfotransferaz 1 E1 geni (SULT1E1) (c) Katekol-O-Metiltransferaz (COMT)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada, sağlık durumları, özellikle DTC'nin varlığı ile lenfosit DNA'sında oksidatif hasar arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Bu anlamda, çalışma gruplarının biyokimyasal parametrelerinin değerleri, diyabetik grup için glikoz ve DTC hastaları için kan basıncı dışında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir ve bu durum da gruplar arasındaki karşılaştırılabilirliği doğrulamaktadır.

Harman (1956)'a göre yaşlanmanın oksidatif stresten kaynaklandığı, böylece yaş arttıkça makromoleküllerde (DNA, proteinler, karbonhidratlar ve lipidler) oksidatif hasara neden olan serbest radikallerin (RL) oluşumunun arttığı ve varlığı lehine olduğu öne sürülmüştür ve aralarında DTC'nin de bulunduğu çok sayıda akut ve kronik hastalığın komplikasyonları göze çarpmaktadır. Oksidan moleküllerin oluşumunu önlemek ve dokulara ve biyomoleküllere oksidatif hasarı onarmak için, tüm aerobik organizmalar, enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunmaların harmonik bir kompleksine sahiptir. RL üretimi ve antioksidan savunmalar arasındaki denge, oksidatif stresin derecesini belirlemektedir.

Subklinik tirotoksikoz ile ilişkili olarak oksidatif profili inceleyen az sayıda çalışma vardır (Mousa and Al Joborae 2018). Bazı çalışmalar, hipertiroidizmli veya spontan veya indüklenmiş subklinik tirotoksikozlu hayvanlardan ve insanlardan alınan biyolojik örneklerde artan lipid peroksidasyon ürünleri varlığı ve antioksidan aktivite ile ilgili çelişkili sonuçlar sunmaktadır.

DTC'li hastalar değerlendirilmişi ve altta yatan etiyoloji %52.4 DTC, %33.3 Hashimoto tiroiditi, RIT sonrası hipotiroidizm, cerrahi sonrası toksik olmayan multinodüler guatr ve hipotiroidizm altında subakut tiroidit %4.8 ile hepsine suprafizyolojik dozlarda LT4 replasmanı yapılmıştır. Demografik veriler açısından diğer çalışmalarla herhangi bir farklılık yoktur. Araştırmamızda katılımcıların yaşı 22 ile 58 arasında değişmekte olup, 42,16 ± 9,69 yaş ve 42,2 ± 1,2 yaş olan diğer araştımacıalrla uyumludur. Subklinik hipertiroidizm prevalansı yaşlı kadınlarda daha yüksektir (Chatterjee and Walker 2017).

LT4'ün yerine koyma dozu, altta yatan patolojiye bağlıdır. İyi huylu patolojileri olan hastalarda, baskılayıcı tiroid hormonu dozlarının değiştirilmesi gerekli değildir. DTC'li hastalarda, TSH'yi baskılamak ve rekürrens veya hastalığın progresyon şansını azaltmak için yukarıdaki fizyolojik dozun üzerinde tiroid hormon replasmanı ihtiyacına karar vermek için tanı sırasında yaş, histolojik alt tip ve tümör yayılımı gibi prognostik faktörlerin değerlendirilmesi önemlidir. Bu baskının seviyesi, CDT'nin aşamasına göre değişecektir (Azqueta *et al.* 2014).

Garg ve Vanderpump (2013)'ın çalışmasında subklinik hipertiroidizm ile ilgili komorbiditeler; özellikle kalp hastalıkları, serebrovasküler hastalıklar ve osteoporoz olmuştur (Garg and Vanderpump 2013). Çalışmamızda DTC hastalarında bu oran yaklaşık %24 iken diğer patolojilere göre klinik şikayet olmamıştır.

İyi tiroid patolojilerine bağlı hipotiroidili genç erişkin hastalarda LT4'ün yerine koyma dozu ortalama 1,6 µg/kg/gün'dür. Ancak, DTC'li hastalarda ihtiyaç ortalama olarak 2 µg/kg/gün ile daha fazladır (Dalle-Donne *et al.* 2006). Hastalarımızda, TSC'ye yol açan başlangıç dozları 1.64 ± 0.73µg / kg ve EU elde etmek için ortalama doz 1.17 ± 0.44 µg / kg/gün LT4 olmuş ve bu sonuçlar da istatistiksel olarak anlamlı farklılıklara neden olmuştur (Frijhoff *et al.* 2015).

Çalışmamızda tiroid hormonları TT3 ve FT4 normal aralıkta olmuş ancak FT4 (TSC ve EU) için her iki zamanda da istatistiksel olarak anlamlı bir fark söz konusu olmuştur. TSH, ilk toplamada referans değerin altında olmuş ancak son toplamada değerler normalize edilmiş ve fark istatistiksel olarak anlamlı olmuştur. İyi huylu patolojileri olan grup ile DTC'si olan grup karşılaştırıldığında HT ve TSH açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark söz konusu olmamıştır.

Tiroid hormonları lipid profilini etkilemektedir. T3, hepatik LDL reseptörlerini artırarak LDL'yi düşürmekte olup onu oksidasyondan korur. HT, kolesterol ester transfer proteinini (CETP) yükselterek HDL'yi artırmakta ve trigliseritten zengin lipoproteinleri katabolize eden lipoprotein lipazı (LPL) uyarır. Bununla birlikte, muhtemelen TSC'li hastalar oldukları için lipid profilinde anlamlı farklılıklar bulunamamıştır.

Çalışmamızda değerlendirilen EO parametreleri SOD, CAT, NO ve MDA olmuş ve her iki zamanda da benzerlik göstermiştir (sırasıyla TSC'ye karşı EU): SOD (1390 ± 453,5 ve 1509 ± 364 atv/dak; p = 0,48) ; CAT (57,68 ± 22,91'e karşı 62,91 ± 18,62 atv/dak; p = 0,435); NO• (35,05 ± 20,3'e karşılık 30,15 ± 12,21 mg/L; p = 0,18) ve MDA (2,91 ± 0,51'e karşı 3,00 ± 0,61 μM; p = 0,73).

Ameen vd. (2019) çalışmasında, her biri 30 hastada EU ile ilişkili olarak subklinik hipertiroidizmde MDA ve SOD'nin arttığı gösterilmiş, bu da EO'nun TSC'de bulunacağını ve klinik hipertiroidizmin ilerlemesinde önemli bir rolü olacağını düşündürmektedir. Hipertiroidili hastalar ile sağlıklı bireyleri karşılaştıran bir başka çalışmada, eritrositlerde GPx'de artış ve düşük toplam antioksidan kapasite (TAS) görülmüş ancak SOD ve CAT hiçbir farklılık göstermemiştir. Tiyol gruplarıyla ilgili olarak, disülfid köprüleri (SH) içeren bu proteinlerin RL'ye duyarlı olduğunu ve EO'da tüketildiğini gösteren bir azalma görülmüştür. Diğer daha önemli molekülleri oksidasyon sürecinden muhafaza ederek korumada temel bir role sahiptirler (Rapley and Theophilus 2002).

Mousa ve Al Joborae (2018) 20 EU ve 15 kontrol grubuyla otoimmün olmayan hipertiroidizmi olan 20 hastayı değerlendirmiş ve sonuçları Ameen vd. (2019) ile karşılaştırıldığında MDA ile uyumlu olmamıştır. Üç grup karşılaştırıldığında SOD1, hiçbir değişiklik göstermemiş olup Nsaif vd. (2018) tarafından yapılan çalışma ile uyumlu olarak, ötiroidizm ve kontrol grubuna kıyasla hipertiroidizmde SOD2 artmıştır. SOD3 (hücre dışı), hipertiroidizm ile kontrol grubu ve hipertiroidizm ile ME ile ilişkili olarak artmıştır. MDA, hipertiroidizmi olan kadınlarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, p <0,05 ile anlamlı olarak artmıştır. Bu son çalışmada değerlendirilen tüm parametreler, EU ve kontrol grubundakiler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir.

Mansour vd. (2020) 22 hipertiroidili hastayı ve 15 kişiden oluşan kontrol grubunu değerlendirmiş ve incelenen hipertiroid hastalarındaki tüm OE belirteçlerinin (CAT, MDA, GPx ve SOD) kontrol grubundakilere göre yükseldiği gösterilmiştir.

Kumari, Sandhya ve Gowda (2011), 40 kişiden oluşan kontrol grubuna göre NO'da azalma ve SOD'da artış gösteren hipertiroidizmli 40 hastayı incelemiştir.

Son olarak, klinik hipertiroidizmi olan 45 hastayı, 20'si subklinik ve 30 kontrol grubunda olan hastayı incelemiş ve kontrol grubuna göre her iki hipertiroidi tipinde de MDA'da bir artış göstermiştir. MDA'daki artış, EU'ye karşı hipertiroidizm ile karşılaştırıldığında daha belirgindir (Al-Shaibani *et al.* 2014).

Dört çalışmada EU ile karşılaştırıldığında klinik hipertiroidili hastalarda bir azalma söz konusu olan Andryskowski ve Owczarek (2007) dışında, MDA anlamlı olarak artmıştır. Subklinik hipertiroidizmde iki çalışmada MDA'nın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gösterilmiştir (Al-Shaibani *et al.* 2014, Nsaif *et al.* 2018). Bu veriler, tirotoksikozun daha az şiddetli olduğunu, PL varlığının daha düşük olduğunu ve ilaca bağlı TSC durumunda lipid peroksidasyonu nedeniyle oksidatif hasar oluşmadığını göstermektedir. Bizim çalışmamızda her iki zamanda da MDA'da istatistiksel bir anlamlılık söz konusu olmamıştır.

SOD'un hipertiroidizmdeki aktivitesi literatürde hala tam olarak belirlenmemiştir. Bazı çalışmalar, (Mansour *et al.* 2020, Ameen *et al.* 2019) kontrol grubuna kıyasla hipertiroidizmde SOD'da bir artış olduğunu göstermektedir. Başka bir çalışma, iki tiroid durumu arasında istatistiksel bir fark göstermemiştir (Al-Shaibani and Al-A'araji 2014). Bizim çalışmamızda SOD aktivitesinde istatistiksel bir anlamlılık söz konusu olmamıştır. CAT, H_2O_2'yi H_2O ve O_2'ye dönüştürür. İki çalışma, hipertiroidizmde CAT aktivitesinde bir artış olduğunu gösterse de bu enzimin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğunu göstermemiştir. Çalışmamız CAT için istatistiksel anlamlılık göstermemiş ve ilaç TSC'nin enzimi doyurmadığını ve daha fazla üretimi indüklemediğini öne sürmektedir.

T3, NOS yoluyla NO üretimi ile yakından ilişkili olmasına rağmen, hipertiroidili hastalarda yapılan az sayıda çalışma tutarsızdır. Ghadhban (2018)'de, hipertiroidizmi olan 40 hastayı incelemiş ve 40 kişiden oluşan kontrol grubu ile karşılaştırmış ve NO'da istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemleyebilmiştir (Ghadhban 2018).Çalışmamız,

muhtemelen normal TT3 konsantrasyonundan dolayı NO üretiminde istatistiksel olarak anlamlılık göstermemiştir.

Gerçekleştirilen çeşitli çalışmalarda OE belirteçlerinin sonuçlarındaki değişkenlik için sayısız olası açıklama vardır. Dahil etme ve hariç tutma kriterleri farklıdır, bu durum da verileri etkileyebilir, çünkü tirotoksikoz ile ilgili olmayan birkaç komorbidite EO'yu etkileyebilir. Ayrıca HT fazlalığının derecesi yani subklinik veya açık olması da çalışmaların sonuçlarını değiştirebilir. Bu çalışma boylamsal bir tasarıma sahiptir, yani aynı hastalar AB ve TSC'de değerlendirilmiştir. Bu tasarım, EO'yu etkileyebilecek diğer faktörlerin etkisini azaltır. Çalışmamızın bazı sınırlamaları vardır. Dahil etme kriterleri, EO'yu etkileyebilecek faktörlerin sayısını azaltmak için kısıtlayıcı olduğundan, değerlendirilen örnek küçük tutulmuştur. DTC (5; %23,8), DG (3; %14,3) ve hiperkolesterolemi (6; %28,6) olan hastalar dahil edilmiş, ancak çalışmanın uzunlamasına tasarımı muhtemelen EO değerlendirmesinde bu üç faktörün etkisini azaltmıştır. DTC'nin iki alt grubunu ve iyi huylu patolojileri EO parametreleriyle ilgili olarak yaptığımız karşılaştırmada değerlendirilen dozajların hiçbirinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur. Çalışmamız, CAT, SOD, NO ve MDA ölçümü ile değerlendirilen EO'nun ilaç TSC'sinden etkilenmediğini göstermektedir. Son yıllarda, hastalığa duyarlılıktaki bireysel farklılıklara ilişkin önemli miktarda kanıt toplanmıştır. Birçok hastalığın monogenetik kökenli olmadığı, aksine çevresel faktörler ve farklı genler arasındaki karmaşık etkileşimin sonucu olduğu açıktır (van Eijl *et al.* 2012).

Sonuç olarak, tipik fenotipler, tek bir lokusa atfedilebilen klasik Mendel kalıtım kalıplarını göstermez. Ek olarak, farklı genler, belirli bir kişide bireysel duyarlılık derecelerine neden olarak çeşitli kombinasyonlarda hareket ediyor gibi görünmektedir (Ahmed 2017). Diyabet, DTC ve preeklampsi gibi kantitatif özellikler için ve örneğin endometriozis ve meme kanseri gibi karmaşık özellikler için poligenetik bir özellik önerilmiştir (Selman *et al.* 2020).

Amerikan Tiroid Derneği'ne göre, kadınlarda tiroid kanseri görülme sıklığı erkeklere göre 3 ila 4 kat daha fazladır. Gerçek şu ki, bir kadının tiroid hastalığı geliştirme riski 8'de

1'dir, bu nedenle bir kadının sporadik meme kanseri geliştirme riski ile karşılaştırılabilir. Hamilelik ve erken menopoz bu riski artırmaktadır (Allawi 2013).

Verilerimiz DTC ile menopoz ve hormon replasmanı arasında bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bu veriler, cinsiyet hormonları ile tiroid kanseri arasında olası bir ilişki olduğunu düşündürmektedir, zira araştırmalar, kadınların, özellikle de 45 yaşın üzerindekilerin, bu kanser türünün görülme oranındaki artışın çoğundan sorumlu olduğunu göstermekte olup tiroid neoplastik dokularında sağlıklı dokulardan daha yüksek miktarda östrojen varlığı ile zaten ilişki kurmuşlardır (Ghadhban 2018, Aldabagh *et al.* 2018). Menopozal kadınlarda ilk ve tekrarlayan tümörler arasında östrojen ekspresyonunda bir artış olduğunu öne sürmek, östrojenin hastalığın ilerlemesini etkilediğini düşündürmektedir (Mohammed 2020). Menopoz, kontraseptif kullanımı ve hormon replasmanı da GD'yi etkiler ve GD'nin patogenezinde rol oynayan hormonal faktörlerin olduğu teorisini güçlendirmektedir (Al-Bustany 2011). Çalışmamızda, GD ile zaten iyi bilinen sigara alışkanlığı arasındaki ilişki de gözlemlenmiştir (Al-Heety 2020).

Östrojen, anöploidi ve yapısal kromozomal değişiklikleri indükleyebilir (Muss *et al.* 2018). Hayvan çalışmaları östrojeni kanserojen olarak tanımlamaktadır (Kizys *et al.* 2012). Çalışmalar, östrojen metabolitlerinin genetik hasarın başlatıcıları olarak hareket ettiğini göstermektedir (Kizys *et al.* 2012). Serbest radikallerin östrojen kaynaklı DNA ve metabolitlerine verdiği zararlar arasında basit zincir kırılması, artan 8-hidroksiguanin oluşumu, östrojen-DNA bağları ve proteinlerin ve lipidlerin oksidasyonu yer alır (Qader *et al.* 2020). Hücre proliferasyonu ve genotoksik metabolitlerdeki artış, katkı maddesi veya sinerjik olarak hareket edebilir (Al-Heety 2020). Çalışmada, sitokrom P-45017A1 geninin homozigot polimorfik kalıtımının DTC'ye duyarlılığı 1,6 kat arttırdığını gösterilmiştir. Meme kanseri riski ile Sitokrom P-45017A1 geninin polimorfizmi arasında bir ilişki söz konusu olmakla beraber, bu durum da serum hormonal konsantrasyonlarının genotipe bağlı olarak değişebileceğini düşündürmüştür (Shnawa and Al-Majmaie 2021). Başka bir çalışma, Sitokrom P-45017A1 gen polimorfizminin genç nullipar kadınlarda serum östradiol ve progesteron konsantrasyonları ile ilişkili olduğunu bulmuştur (Aldabagh *et al.* 2018). Sitokrom P-45017A1 ve meme kanserini tartışan birkaç çalışma, sonuçların tutarsız ve etnik gruplar arasında heterojenlik kanıtını göstermektedir (Nsaif

et al. 2018, Ahmed 2017). Literatürde Sitokrom P-45017A1 polimorfizmi ile tiroid kanseri arasındaki ilişkiye dair bir kayıt bulunmamaktadır. Ancak çalışmada heterozigot kalıtımın düşük sayısı ile ilişkili olduğunu gözlemlenmiştir. Heterozigotluk polimorfizminin spontan abortu etkilemediğini gösterse de (Al-Heety 2020), Sitokrom P-45017A1 geninin heterozigotunun düşük riskinde artışa yatkınlık oluşturabileceğini öne sürülmektedir (Morris *et al.* 2016). Sitokrom P-45017A1 ile GD arasında bir ilişki bulamamış olsak da, literatür bu genin doğrudan otoimmün hastalıklarla bağlantılı olduğunu göstermektedir (Qader *et al.* 2020, Pereira *et al.* 2020). Bir kez daha, çalışılan popülasyonların etnik bileşimi, verilerimiz ile literatürdekiler arasındaki eşitsizlikten sorumlu olabilir. Verilerimiz ayrıca 17 – β – Hidroksisteroid Dehidrojenaz 1 geninin DTC'ye duyarlılığını da etkilemediğini göstermektedir. 17 – β – Hidroksisteroid Dehidrojenaz 1 östrojen konsantrasyonlarındaki değişikliklerle ilişkilendirildiğinden ve bu değişiklik gebelik ve parite ile olduğundan, homozigozdaki polimorfik kalıtımın gebelik sayısı ve GD hastalarının paritesi ile ilişkili olabileceğini önermekteyiz (Qader *et al.* 2020). Estradiol ve estron, A ve D halkalarının hidroksilasyonu yoluyla iki ana yolla metabolize edilir (Muss *et al.* 2018).

A halkası ile hidroksilasyon, katekol, 2- veya 4-hidroksi östrojen östrojen oluşumuna yol açarken, D halkası ile hidroksilasyon, 16a-hidroksi östrojen üretir. Katekol östrojenler, östrojenin ana metabolitleridir (Ali *et al.* 2020). Östrojen için başlıca metabolik yol, insanlarda Sitokrom P-450A1 ve Sitokrom P-450A2 enzimleri tarafından katalize edilen 2-hidroksilasyondur (Allawi 2013). Hastalarımızda Sitokrom P-450A1 m1 ve Sitokrom P-450A2 * F geni, CT genotipinin kalıtımının duyarlılığı 1,3 kat artırdığını göstermekte olup AC genotipinin kalıtımı, DTC'nin gelişimine duyarlılık açısından 1,6 kat artmış riske sahiptir. Sayısız çalışma, bu ilişkinin var olduğunu, ancak diğer kanser türleriyle olduğunu göstermektedir (Aldabagh *et al.* 2018, Pereira *et al.* 2020). Sadece Sitokrom P-450A1 geninin DTC'ye duyarlılıkla ilgili olduğunu göstermiştir (Mula-Hussain 2014). 2-hidroksi östrojen, östrojen reseptörüne zayıf bir bağlanma kapasitesine sahip olmakla beraber hücre farklılaşması ve apoptoz ile ilişkilendirilmiştir, bu nedenle antiöstrojenik özellikler sunmaktadır (Qader *et al.* 2020, Muss *et al.* 2018). Bununla birlikte, bu genler polimorfizmlere sahip olduğunda, bu varyantlar enzim aktivitesinde bir artışa ve sonuç olarak, aktive edilmiş karsinojenlerin konsantrasyonlarında bir artışa yol açar (Stathatos

and Daniels 2012). Sigara ile Sitokrom P-450A2 geni arasındaki ilişki deneklerimiz tarafından da gösterilmiştir (Al-Bustany 2011). Ancak henüz menopoza girmemiş kadınların AC genotipinin kalıtımı ile ilgili olduğunu gösteren bir veri yoktur, mevcut bulgularımız ile gösterildiği gibi, sadece menarşta etki ettiğini ve bu genotipin yaşı etkilemediğini göstermektedir (Ali *et al.* 2020). GD'de TC genotipinin varlığının hastalığa duyarlılığı etkilediğini ve bu genotipin gebelik sayısı, parite, düşük ve guatrın gram cinsinden ağırlığı ile ilişkili olduğunu bulunmuştur. Deneklerimiz daha önce bu genin polimorfizminin GD riskini artırdığını göstermiştir (Shnawa and Al-Majmaie 2021). DAIT'li birçok kadında adet düzensizlikleri, doğurganlık sorunları ve düşük sayısında artış görülmektedir. 2-hidroksilasyonun aksine, Sitokrom P-450B1 geninden sorumlu olan 4-hidroksilasyon üretimi vardır. 4-hidroksi östrojen ile 2-hidroksi östrojen arasındaki konsantrasyon oranı 4:1'dir.

Bulgularımız, kodon 119'un TT genotipinin kalıtımının, DTC geliştirme riskini GG genotipine kıyasla 4 kattan ve GT genotipine kıyasla 2 kattan fazla artırdığını göstermektedir. Menarş yaşı ile ilişkili olduğunu göstermesinin yanı sıra sigara, menopoz ve hormon replasmanı ile de bir ilişki olduğunu göstermektedir. GD için, TT genotipinin kalıtımı ayrıca hastalığa yakalanma riskini GG genotipine göre yaklaşık 7 kat, GT genotipine kıyasla 2 kattan fazla artırır. Hem T4L hem de TRAb konsantrasyonları, GD gelişimi için sırasıyla GT ve TT genotipinden etkilenir. Ayrıca kodon 432 heterozigot varlığının DTC gelişimine duyarlılığı etkilediği ve polimorfik homozigot kalıtımının papiller tiroid karsinomunu etkilediği de gözlenmiştir. Polimorfik homozigot, GD gelişimine duyarlılığı 1.7 ve heterozigotta 1.4 defa etkilemektedir. Yaş ve VKİ, GG genotipinden etkilenir. Kodon 453 polimorfizmleri ile DTC veya GD'nin ortaya çıkmasına duyarlılık arasında herhangi bir ilişki gözlemlemedik, ancak DTC'li kadınlarda kontraseptif kullanımı ve CC genotipi arasında bir ilişki bulduk. Dolayısıyla bu kalıtım, kanser riski taşıyan bir grubu da karakterize edebilir.

Menstrüel ve üreme faktörlerinin, kadınlar arasında çok daha yüksek insidansı ve östrojenler gibi endojen hormonlar veya oral kontraseptifler gibi eksojen hormonlar olup olmadığına bakılmaksızın hormonal faktörlerin olası etkileri nedeniyle çeşitli hastalıklarla ilişkili olduğundan şüphelenilmektedir (Mula-Hussain 2014, Muss *et al.*

2018). Verilerimizin önerdiği gibi, bu tür adet ve üreme faktörleri, östrojen ve tiroid uyarıcı hormonlar gibi endojen veya oral kontraseptifler gibi eksojen olsa da, muhtemelen tiroid hastalıkları için kadın ve erkek arasındaki farkın nedenlerinden ve tiroid kanseri riskini artıran bir durumdur. Selman vd. (2020) geç menarş ve menopozun tiroid kanseri ile bağlantılı olduğunu düşündürmektedir. COMT ve Sulfotransferaz genleri ile GD ve DTC'ye duyarlılık veya klinik özellikler arasında herhangi bir ilişki gözlemlenmemiş ve bu genlerin bu hastalıkların patogenezinde önemli olmadığını düşündürmüştür (Selman *et al.* 2020).

DTC'nin daha fazla serbest radikal (RL) üretimi ürettiği ve dolayısıyla Diyabetes mellitus (DM) ile bağlantılı çoklu komplikasyonların gelişiminin bir destekleyicisi olan oksidatif stres hasarını (EOx) arttırdığı yaygın olarak gösterilmiştir. Oksidatif fosforilasyon sırasında oksijen tam olarak indirgenmediğinde mitokondride süperoksit (O_2-), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil (• OH) radikalleri aşırı derecede üretilir. Bu RL, DNA'nın çift sarmalındaki lipidlerin, proteinlerin ve kesiklerin oksidasyonu ile hücresel hasara neden olur. Bu şekilde, DNA zincirini kıran bir DTC durumunda aşırı miktarda süperoksit (O-2) olduğunda, poli [ADP riboz] polimeraz] (PARP) enzimi aktive olur. PARP aktive edildikten sonra, oksitlenmiş nikotinamid adenin dinükleotid (NAD+) molekülünü nikotinik asit ve ADP-riboz'a parçalayarak, ADP-riboz polimerleri oluşturarak, enzim gliseraldehit-3 fosfat dehidrojenaz (G3PDH) birikerek yapısal hareketsizliğine neden olur. Bu enzim glikolizdeki sınırlayıcı işlevi nedeniyle önemlidir. Bu nedenle GD'deki gliseraldehit-3 fosfat (G3P) seviyeleri, G3PDH tarafından metabolize edilemediği için yüksektir ve G3P birikimi doku hasarının dört farklı mekanizmasını aktive eder. Bunlar;proteinlerin glikosilasyonu ve ileri düzey glikosilasyon ürünlerin son oluşumu; sorbitol, heksozaminler ve protein kinaz C yolaklarının aktivasyonudur.

DNA hasarı, oksidatif hasarın önemli belirteçlerinden biridir, çünkü DNA, esas olarak radikal süperoksit (O• -) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) tarafından ROS saldırılarına maruz kaldığından, hem tek hem de çift zincirlerde kırılmalara maruz kalırken, bazların oksidasyonu ve karbonhidratların parçalanmasını üretirler (Mousa and Al Joborae 2018). Bu anlamda, çalışmamızda DNA hasarının migrasyon ortalamaları, DTC hasta grubunda sağlıklı olanlara göre anlamlı olarak daha yüksek olmuş ve bunu farkı sınırda olan GD

grubu izlemiştir. Bu bulgular, diyabet komplikasyonlarına ve insülin direncine yol açan hücresel yolların çoğunun serbest radikallerin ve oksidanların oluşumuyla bağlantılı olduğuna işaret eden H Al-Hakiem (2003) tarafından bildirilenlerle tutarlıdır. DTC şu anda metabolik ve yapısal anormalliklerin (genetik ve edinilmiş) bir sendromu olarak kabul edilmektedir. Bu anlamda, reaktif oksijen türevli türlerin (ROS) arteriyel DTC'nin gelişiminde patofizyolojik bir rol oynadığını gösteren kanıtlar ortaya çıkmıştır. Süperoksit anyonu (O_2-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali (• OH) ve nitrik oksit (NO) salınımındaki azalma gibi ana ROS fazlalığı ile ilgili mekanizmalar vardır (Singer *et al.* 1996). DTC, ROS, kardiyak ve vasküler bütünlüğün korunmasında önemli bir fizyolojik rol ve DTC gibi durumlarla ilişkili kardiyovasküler disfonksiyonda patofizyolojik bir rol oynar.

Fizyolojik koşullar altında, ROS düşük konsantrasyonlarda kontrollü bir şekilde üretilir ve vasküler düz kas hücrelerini düzenleyen sinyal molekülleri olarak işlev görür. Patolojik koşullar altında, ROS üretimi artar, endotel disfonksiyonuna, artan kontraktiliteye, vasküler düz kas hücresi büyümesine, apoptoz, monosit göçüne, lipid peroksidasyonuna, inflamasyona ve artan birikime yol açar. Hücre dışı matris proteini, kardiyovasküler hastalıkta vasküler hasara katkıda bulunan ana süreçler arasındadır (Altieri *et al.* 2008). Bu bağlamda, bu çalışmada elde edilen sonuçlar, arteriyel DTC'li yaşlı yetişkinlerin, sonuçları birçok araştırmacının bildirdiği ile tutarlı olan sağlıklı gruba (% 15) kıyasla daha yüksek oranda yüksek DNA hasarına (%19) sahip olduğunu göstermiştir (Hamid and Hadi 2018). Aşırı ROS üretiminin ve üretilen lezyonların yetersiz onarım kapasitesinin yanı sıra antioksidan enzimlerin aktivitesinde azalmanın bu tip hastalarda DNA hasarına yol açtığını göstermektedir. Yukarıdakilerden, HT'li hastalarda ortalama migrasyon, farkı istatistiksel olarak anlamlı olan sağlıklı hastalardan daha yüksek olmuş; bu sonuç, DTC hastalarında normotansif hastalara göre ROS'un neden olduğu DNA hasarının daha sık olduğunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak, deneysel ve klinik kanıtlar, DTC ve DG'nin gelişimi ve ilerlemesinde ROS ve oksidatif stresin patofizyolojik rolünü desteklemektedir. Öte yandan, idrarda 8-OHdG ölçümünün mantığı, oksidatif DNA hasarının ortadan kaldırılması için spesifik onarım sistemlerinin varlığına dayanmaktadır (Altieri *et al.* 2008). 8-OHdG içeren plazmitler,

Sitozin transversiyonları, Timin- Adenin sıklığını artıran üç ila beş kat sıklık gösteren yetkin hücrelerin oranı ile karşılaştırıldığında eksik insan hücrelerinde eksizyon onarımında yalnızca %25 oranında çoğalır (Chatterjee and Walker 2017).

Bu durum, insanlarda 8-OHdG'nin çıkarılması için nükleotid eksizyon onarımının gerekli olduğunu göstermektedir. İdrar 8-OHdG ölçümü bazı avantajlar sunar: (1) yöntem non-invazivdir (2) numune alma veya türevlendirme prosedürü sırasında artefakt üretimi yoktur (3) 8-OHdG daha fazla metabolizmaya uğramaz ve idrarda yüksek stabilite gösterir ve (4) 8-OHdG atılımının vücuttaki tüm hücrelerden oksidatif DNA hasarını ve onarımını yansıtması muhtemeldir. Örneğin, 24 saatlik idrardaki 14 nmol 8-OHdG miktarı, insan vücudundaki hücre başına günde 140 hasarlı-oksitlenmiş ve onarılmış guanini (6 x 1013 hücre) hedefleyecektir. Hücre ölümünün üriner DNA lezyonlarının kaynağı olabileceği öne sürülmüştür, ancak son zamanlarda idrar 8-OHdG düzeylerinin hücre ölümünden bağımsız olduğu sonucuna varılmıştır (Al-Wasiti 2015, Valavanidis *et al.* 2009).

Ek olarak, oksitlenmiş bazların seviyeleri, yalnızca DNA'daki artan oksidatif hasar nedeniyle değil, aynı zamanda onarım hızındaki bir değişiklik nedeniyle de değişebilir. Örneğin, 8-OHdG atılım oranlarını artıran bir ajan, DNA hasarını arttırdığına inanılıyorsa "kötü" olarak yorumlanabilir, ancak onarımı uyarırsa ve dolayısıyla vücuttaki sabit 8-OHdG seviyelerini düşürürse aslında "iyi" olabilir, bu nedenle Dalle-Donne vd. (2006) tarafından belirtildiği gibi DNA, bu anlamda, 8-OHdG bir DNA onarım markörü olarak atfedilebilir (Valavanidis *et al.* 2009, Dalle-Donne *et al.* 2006).

Bu nedenle araştırmamızda sağlıklı yaşlı erişkinler grubunda 8-OHdG'nin idrarla atılım düzeylerinin diyabetik ve DTC hastalarına göre daha yüksek konsantrasyonda olduğu gözlemlenmiş olup, GD ve DTC hastaları grubundaki düşük 8-OHdG atılımı seviyeleri, hastalığın patofizyolojisine bağlı olarak azalmış bir onarım kapasitesi olduğunu düşündürmekte olup böylece prognostik yardımcı programıyla 8-OHdG, DNA'daki oksidatif hasarın onarımı için bir biyobelirteç olabilir (Drake *et al.* 2019). Son olarak, çalışmanın kesitsel tipte olması ve örneklem büyüklüğünün temsili olmaması çalışmanın sınırlılıkları olarak vurgulanmalıdır, bu nedenle bulgularımızı doğrulamak için temsili bir

örneklemle boylamsal çalışmalar yapılması gerekecektir. Bununla birlikte, diyabetes mellitus veya yüksek tansiyonlu yaşlıların tedavisinin bir parçası olarak antioksidan takviyeleri belirtme önerisini desteklemektedirler. Verilerimiz östrojen metabolizması ile ilgili genlerin genotipik profilinin GD ve DTC gelişimini etkilediğini göstermiştir.

Bu çalışmaya göre; GD ve (DTC) olan yaşlı hastalarda oksidatif DNA hasarının sağlıklı insanlara göre arttığı, ayrıca hasta yaşının ilerlemesi ile birlikte hasar seviyelerinin de arttığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca, normal FT4 seviyeleri ile karakterize edilen subklinik ilaç tirotoksikozunun, tiroidizm durumuna göre biraz artmasına rağmen, lipid peroksidasyon derecesindeki veya SOD ve CAT enzimlerin aktivitesi veya üretimindeki değişikliklerle ilişkili olmadığını göstermektedir. Bu veriler, diferansiye tiroid kanserli hastaların tedavisinde ilaca bağlı subklinik tirotoksikozun oksidatif streste bir artışa yol açmadığını göstermektedir. Bu verileri doğrulamak için daha büyük örneklemli çalışmalar yapılmalıdır. Bazı çalışmalar GD ve DTC'nin oksidatif strese ve dolayısıyla onarım kapasitesinde bir azalma ile birlikte DNA hasarına neden olduğunu göstermiştir, dolayısıyla sağlıklı yaşlılara kıyasla DNA'ya ve önemli ölçüde daha düşük 8-OHdG seviyelerine sahiptir. Bu hastalıkları olan yaşlı yetişkinlerin daha yüksek sıklıkta ve derecede oksidatif hasar göstereceği sonucuna varılmıştır. Bulgularımız, GD ve DTC'nin DNA'da oksidatif hasara neden olduğunu ve patofizyolojik olarak onarım kapasitesini etkilediğini, yaşlılıkta GD ve DTC tedavisinin bir parçası olarak antioksidan takviyeleri belirtme önerisini desteklemektedir. 8-OHdG'nin idrarla atılımının ölçümü, yaşlılıkta GD ve DTC için prognostik bir biyobelirteç olabilir. Bulgularımızı doğrulamak için DNA'da antioksidan enzimler, SOD, GPx, CAT gibi bazı belirteçleri göz önünde bulundurarak ve onarım kinetiği gerçekleştirerek, EOX belirteçlerinin daha geniş olarak değerlendirilmesine izin veren temsili popülasyon örnekleriyle boylamsal çalışmalar tasarlayarak bu araştırma dizisine devam edilmesi tavsiye edilmektedir. Öte yandan, cinsiyetin (kadın) yanı sıra yaşam tarzlarının (fiziksel egzersiz, diyet, uyku, benlik saygısı, diğerleri arasında)etkisini göz önünde bulundurarak, farklı popülasyonlarda ve coğrafi bölgelerde DNA hasarının koruyucu faktörlerini araştırmak önemlidir.

KAYNAKLAR

Abd Oun, M., AL-Thwani, A., Khudaier, S. and Kamel, L. 2013. Thyroid Examination in Low-Radiation Exposed Iraqi Clean-up Workers Immunogenetic Study. Journal of US-China Medical Science, 10: 85-92.

Ahmed, H. S. 2017. A comparative estimation of metabolic and hormonal parameters among Iraqi hypothyroid patients. The Iraqi postgraduate medical journal, 16: 9-204.

Al Shahrani, A. S., El-Metwally, A., Al-Surimi, K., Salih, S. B., Saleh, Y., Al-Shehri, A. and Ali, A. 2015. The epidemiology of thyroid diseases in the Arab world: A systematic review. Journal of Public health and Epidemiology, 8: 17-26.

Al-Askeri, M. and J., Al-Turaihy, Ferdous. 2016. FASL Gene Polymorphism with Oxidative Stress of Iraqi Females with Breast Cancer. International Journal of PharmTech Research, 9: 324-333.

Al-Bustany, D. A. 2011. Clinical study of cases with hyperthyroidism in Erbil Governorate, Kurdistan Region-Iraq. Zanco Journal of Medical Sciences, 15: 6-12.

Aldabagh, M., Karieb, S. S., M.Kadri, Z., Yaseen, A., Almothaffar, A. and Abbas, M. 2018. Influence of Immune Engines in Iraqi Patients with Acute Myeloid Leukemia. Journal of Global Pharma Technology, 2: 12-25.

Al-Heety, R. 2020. Assocıatıon Of Cırculatıng Mıcro-Rnas Wıth Clınıcal Features In Iraqı Patıents Wıth Graves Dısease. The Malaysian Society For Biochemistry and Molecular Biology, 1: 41-46

Ali, H. S., Fahad, H. M. and Jasim, M. B. 2020. Investigation of interleukin 12 (IL-12) in graves' disease of Iraqi patients by using ELIZA. EurAsian Journal of BioSciences, 14: 4645-4648.

Al-Kazazz, F. F. and AL-Bahadlii, M. M. 2013. Biochemical Study of Gonad Hormones in Sera of Iraqi Patients with Thyroid Disorder. Baghdad Science Journal, 10: 907-914.

Allawi, A. A. 2013. Prevalence of Hypothyroidism In Chronic Kidney Disease Among Sample Of Iraqi Patients. Journal of the Faculty of Medicine Baghdad, 55: 97-101.

Al-Msari, A. M. A., AL-Duleimy, A. H. S. and Lateef, I. A. 2014. Evaluation of Patients with Thyroid Diseases in Baquba City According to Thyroid Function Tests. Diyala Journal of Medicine, 7: 76-79.

Al-Musawi, A. K., Al-Rubae'i, S. H. N. and Mahdi, M. F. 2021. Role of Caspase-3, IL-1β and oxidative stress in Iraqi women with breast cancer. In Journal of Physics Conference Series, 1: 12-50.

AL-Ramahi, I. J. 2011. Molecular and Genetic Study in samples of Iraqi patients with Thyroid Disorders. Gen. Eng and Biotech Inst Postgrad Stud. Iraq., 24 :10-96.

Al-Shaibani, A., Al-A'araji, S. and al Mofarji, S. 2014. Studying Association between Thyroid Disorders and Helicobacter pylori infection in Iraqi Patients. Baghdad Science Journal, 11: 1528-1541.

Altieri, F., Grillo, C., Maceroni, M. and Chichiarelli, S. 2008. DNA damage and repair: from molecular mechanisms to health implications. Antioxidants and redox signaling, 10: 891-938.

Al-Wasiti, E. 2015. An increased degree of oxidative DNA damage in Iraqi males with breast tumors. International Journal, 3: 602-608.

Ameen, I. A., Saleh, E. S. and Taha, K. N. 2019. Serum Ferritin Levels for Iraqi Patients with Hashimoto's Thyroiditis. Indian Journal of Public Health Research and Development, 10: 90-140

Andryskowski, G. and Owczarek, T. 2007. The evaluation of selected oxidative stress parameters in patients with hyperthyroidism. Polskie Archiwum Medycyny Wewnetrznej, 117: 285-293.

Azqueta, A., Slyskova, J., Langie, S. A., O'Neill Gaivão, I. and Collins, A. 2014. Comet assay to measure DNA repair: approach and applications. Frontiers in genetics, 5: 3-8.

Brennan, K., Offiah, G., McSherry, E. A. and Hopkins, A. M. 2009. Tight Junctions: A Barrier to the Initiation and Progression of Breast Cancer? Journal of Biomedicine and Biotechnology, 2: 1-16.

Chakarov, S., Petkova, R., Russev, G. C. and Zhelev, N. 2014. DNA damage and mutation. Types of DNA damage. BioDiscovery, 11, 30-50.

Chatterjee, N. and Walker, G. C. 2017. Mechanisms of DNA damage, repair, and mutagenesis. Environmental and molecular mutagenesis, 58: 235-263.

Cherian, M. G., Jayasurya, A. and Bay, B. H. 2003. Metallothioneins in human tumors and potential roles in carcinogenesis. Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 533: 201-209.

Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D. and Milzani, A. 2006. Biomarkers of oxidative damage in human disease. Clinical chemistry, 52: 601-623.

Drake, D. M., Shapiro, A. M. and Wells, P. G. 2019. Measurement of the Oxidative DNA Lesion 8-Oxoguanine (8-oxoG) by ELISA or by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) with Electrochemical Detection BT - Developmental Toxicology: Methods and Protocols. M. Hansen and L. M. Winn J., 5: 313-328.

Fleck, O. and Nielsen, O. 2004. DNA repair. Journal of Cell Science, 117: 515-517.

Frijhoff, J., Winyard, P. G., Zarkovic, N., Davies, S. S., Stocker, R., Cheng, D., Knight, A. R., Taylor, E. L., Oettrich, J., Ruskovska, T., Gasparovic, A. C., Cuadrado, A., Weber, D., Poulsen, H. E., Grune, T., Schmidt, H. H. H. W. and Ghezzi, P. 2015. Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress. Antioxidants and Redox Signaling, 23: 1144-1170.

Garg, A. and Vanderpump, M. P. 2013. Subclinical thyroid disease. Br. Med. Bull, 107: 101-16.

Ghadhban, B. R. 2018. Incidence of differentiated thyroid carcinoma in multinodular goiter patients. International Journal of Surgery Open, 15: 18-24.

H Al-Hakiem, B. 2003. Malıgnant Thyroıd Dısease: A Report From One Major Hospıtal In Basrah. Basrah Journal Of Surgery, 9: 159-163.

Hamid, B. and Hadi. 2018. Bacterıal Conjunctıvıtıs In Patıents Wıth Graves' Dısease And Its Assocıatıon Wıth Il-17 Level In Babylon Provınce, Iraq J., 20: 104-109.

Hanahan, D. and Weinberg, R. A. 2000. The hallmarks of cancer. cell, 100(1): 57-70.

Harman, J. W. 1956. The cytochondria of cardiac and skeletal muscle. International Review of Cytology, 5: 88-146.

Hasan, H. R., Mathkor, T. H. and Al-Habal, M. H. 2012. Superoxide dismutase isoenzyme activities in plasma and tissues of Iraqi patients with breast cancer. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 13: 2571-2576.

Hristozov, D., Gadjeva, V., Vlaykova, T. and Dimitrov, G. 2001. Evaluation of oxidative stress in patients with cancer. Archives of physiology and biochemistry, 109: 331-336.

Jwaid, S. H., Sabbar, A. G. and Touma, A. M. 2018. Study the Level of Certain Biochemical Parameters in Iraqi Patients with Thyroid Disorder. Internatıonal Journal Of Pharmaceutıcal Qualıty Assurance, 9: 431-434.

Kareem, R., Jasim, I., Jumaah, M. and Hasan, M. 2021. Thyroid Disorders Among People with Type 2 Diabetes in Misan Province: Prevalence Study. International Journal of Research in Pharmaceutical Sciences, 12: 88-92.

Kizys, M., Cardoso, M., Lindsey, S., Harada, M., Soares, F., Melo, M., Zapata Montoya, M., Kasamatsu, T., Kunii, I., Giannocco, G., Martins, J. R., Cerutti, J., Maciel, R. and Dias-da-Silva, M. 2012. Optimizing nucleic acid extraction from thyroid fine-needle aspiration cells in stained slides, formalin-fixed/ paraffin-embedded tissues, and long-term stored blood samples. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia, 56: 618-626.

Knight, J., Sienz, M. A. and Bayram-Weston, Z. 2021. Endocrine system 3: thyroid and parathyroid glands. Endocrine system 3: thyroid and parathyroid glands, 117(7): 46.

Kreeger, P. K. and Lauffenburger, D. A. 2010. Cancer systems biology: a network modeling perspective. Carcinogenesis, 31(1): 2-8.

Machado-Silva, A., Cerqueira, P. G., Grazielle-Silva, V., Gadelha, F. R., de Figueiredo Peloso, E., Teixeira, S. M. R. and Machado, C. R. 2016. How Trypanosoma cruzi deals with oxidative stress: Antioxidant defence and DNA repair pathways. Mutation Research/Reviews in Mutation Research, 767: 8-22.

Mansour, A. A., Ali Alhamza, A. H., Abdullah Almomin, A. M. S., Zaboon, I. A., Alibrahim, N. T. Y., Hussein, R. N., Kadhim, M. B., Mohammed, A. G., Al-Waeli, D. K. J. and Nwayyir, H. A. 2020. SAT-164 Pattern and Spectrum of Adrenal Disorders Seen Among Adults in Southern Iraq. A Tertiary Center Experiences. Journal of the Endocrine Society, 4: 164-388.

McMillan, C., Bradley, C., Razvi, S. and Weaver, J. 2006. Psychometric evaluation of a new questionnaire measuring treatment satisfaction in hypothyroidism: the ThyTSQ. Value in Health, 9: 132-139.

Michalski, M., Segiet, O., Piecuch, A., Brzozowa-Zasada, M., Helewski, K., Harabin-Słowińska, M. And Wojnicz, R. 2016. In 18th European Congress of Endocrinology. BioScientifica, 1166 page, Germany.

Mittal, A., Sathian, B., Kumar, A., Chandrasekharan, N. and Dwedi, S. 2010. The Clinical implications of thyroid hormones and its association with lipid profile: A comparative study from western Nepal. Nepal Journal of Epidemiology, 1: 11-16.

Mogharbel, B. F., Abdelwahid, E., Irioda, A. C., Francisco, J. C., Simeoni, R. B., De Souza, D., De Souza, C. M. C. O., Beltrame, M. P., Ferreira, R. J. and Guarita-Souza, L. C. 2017. Bone marrow-derived stem cell populations are differentially regulated by thyroid or/and ovarian hormone loss. International Journal of Molecular Sciences, 18: 2-16.

Mohammed, A. A. 2020. Evaluation of Oxidative Stress and Antioxidants in Iraqi Patients with Hydatid Disease. Indian Journal of Forensic Medicine and Toxicology, 14: 967-977.

Morris, L. G., Tuttle, R. M. and Davies, L. 2016. Changing trends in the incidence of thyroid cancer in the United States. JAMA Otolaryngology–Head & Neck Surgery, 142: 709-711.

Mousa, B. A. and Al Joborae, S. F. F. 2018. Subclinical Hypothyroidism Prevalence in Pregnant Ladies in AL-Hilla city in Iraq. Journal of University of Babylon for Pure and Applied Sciences, 26: 157-163.

Mula-Hussain, L. 2014. Cancer in Iraq: 8 War and Its Consequences for Cancer Trends and Services in Iraq. New York University Press, 188 page, USA.

Muss, T. Q., AL-Faham, M. and Gorial, F. I. 2018. Assessment of Serum Galectin-8 in Iraqi Patients with Rheumatoid arthritis. Journal of Pharmacy and Biological Sciences, 14: 68-71.

Nagai, H. and Kim, Y. H. 2017. Cancer prevention from the perspective of global cancer burden patterns. Journal of Thoracic Disease, 9: 448-451.

Najm, M. A., Alfatlawi, W. R., Saleh, R. O. and Al Taie, S. M. K. 2009. Evaluation of Antioxidant (GSH, CAT, SOD) and MDA in Iraqi Women with Breast Cancer. Journal of Global Pharma Technology, 6: 57-110.

Nsaif, G. S., Abdallah, A. H., Ahmed, N. S. and Alfatlawi, W. R. 2018. Evaluation of Estridiol and Some Antioxidant in Breast Cancer Iraqi Women. Al-Nahrain Journal of Science, 21: 35-40.

Pereira, M., Williams, V. L., Hallanger Johnson, J. and Valderrabano, P. 2020. Thyroid cancer incidence trends in the United States: association with changes in professional guideline recommendations. Thyroid, 30: 1132-1140.

Petrulea, M. S., Duncea, I. and Muresa, A. 2009. Thyroid Hormones In Excess Induce Oxıdatıve Stress In Rats. Acta Endocrinologica, 5: 155-164.

Qader, G., Aali, M., Amen, K. M., Mahmood, K., Hasan, B., Shekha, M., Mohammad, D. K., Najmuldeen, H. H., Mahmood, D. and Awla, F. A. 2020. The status of cancer publications in the Kurdistan region of Iraq. Journal of Cancer Policy, 24: 2-10.

Rapley, R. and Theophilus, B. D. 2002. Internal labeling of DNA probes. In PCR Mutation Detection Protocols. Humana Press, 1: 13-15.

Razaq, S. 2018. Detection of some Physiological and Immunological parameters in clinical and subclinical hypothyroid patients: Relationship study. Current Res. Microbiol. Biotechnol., 6: 1411-1419.

Reehan, N. S. R. 2018. A comparative study of oxidative stress and Some physiological and biochemical variables in patients with myeloid and lymphoid leukemia in Baghdad city. journal of kerbala university, 10: 50-130.

Saini, R. K., Keum, Y. S., Daglia, M. and Rengasamy, K. R. 2020. Dietary carotenoids in cancer chemoprevention and chemotherapy: A review of emerging evidence. Pharmacological research, 157: 104-830.

Selman, N. A., Rahma, A. M., Ali, A. Y. and Abed, H. K. 2020. Thyroid Nodules of Iraqi Patients with Acromegaly. Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology, 14: 821-832.

Shnawa, B. H. and Al-Majmaie, S. M. 2021. Oncology research productivity of Iraqi authors: A bibliometric Analysis during 1955–2019. Medico Legal Update, 21: 174-182.

Singer, P. A., Cooper, D. S., Daniels, G. H., Ladenson, P. W., Greenspan, F. S., Levy, E. G., Braverman, L. E., Clark, O. H., McDougall, I. R., Ain, K. V and Dorfman, S. G. 1996. Treatment guidelines for patients with thyroid nodules and well-differentiated thyroid cancer. American Thyroid Association. Archives of Internal Medicine, 156: 2165-2172.

Stathatos, N. and Daniels, G. H. 2012. Autoimmune thyroid disease. Current Opinion in Rheumatology, 24: 70-5.

Valavanidis, A., Vlachogianni, T. and Fiotakis, C. 2009. 8-hydroxy-2′-deoxyguanosine (8-OHdG): a critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. Journal of environmental science and health, 27: 120-139.

Van Eijl, S., Zhu, Z., Cupitt, J., Gierula, M., Götz, C., Fritsche, E. and Edwards, R. J. 2012. Elucidation of xenobiotic metabolism pathways in human skin and human skin models by proteomic profiling. PloS. one J., 7: 3-12.

Van Loon, B., Markkanen, E. and Hübscher, U. 2010. Oxygen as a friend and enemy: How to combat the mutational potential of 8-oxo-guanine. DNA repair, 9: 604-616.

Varricchio, C. G. 2004. A cancer source book for nurses. Boston: Jones and Bartlett Publishers, 229 page, UK.

Ward, M. H., Kilfoy, B. A., Weyer, P. J., Anderson, K. E., Folsom, A. R. and Cerhan, J. R. 2010. Nitrate intake and the risk of thyroid cancer and thyroid disease. Epidemiology J., 21: 389-395.

EKLER

EK 1. Etik kurul Raporu

EK 1. Etik kurul Raporu

Irak Sağlık Bakanlığı
Zi Kar Sağlık Dairesi
Eğitim ve İnsani Kalkınma Merkezi
Araştırma ve Bilgi Yönetimi Şubesi
Sayı: 175
Tarih: 13/9/2020

DİYABET VE ENDOKRİNOLOJİ MERKEZİ DİKKATİNE
KONU / GÖREV KOLAYLAŞTIRILMASI

Saygı sınarız..
Lisansüstü çalışmalar – Yüksek Lisans öğrencisi (Biyolog **ALI AHMED ABDULRITHA**)'nın 13/9/2020 tarihli talebi üzerine, ayrıca araştırma projesinin tamamlanması ile ilgili onay formuna yönelik geçici onayınıza dayanarak;

Aşağıda adı belirtilen araştırmanın tamamlanması konusunda bilgi alım görevinin kolaylaştırılmasına onay veriyoruz.

(İki tür tiroid hastalığı arasında olası bir ayrım olarak oksitlenmiş DNA düzeyinin değerlendirilmesi)
Dairemiz herhangi bir mali veya yasal sorumluluk üstlenmez.

Görev kolaylaştırma bedeli 13/9/2020 tarihli ve (0647184) sayılı makbuz karşılığı tahsil edilmiştir.

Bilginize saygılarımızla sunulur.

Zi Kar Sağlık Dairesi Eğitim ve İnsani Kalkınma Merkezi resmi mührü
İmza
Dr. Murtaza Kazım Yaser
Bölüm müdürü adına
13/9/2020

Dağıtım:

- Araştırmacı ALI AHMED ABDULRITHA-Çankırı Üniversitesi-Türkiye/saygılarla.
- Eğitim ve İnsani Kalkınma bölümü/araştırma ve bilgi yönetimi şubesine.. İlgili evraklarla birlikte sunulur.

ALAKSA
TURİZM TERCÜME EĞİTİM
DANIŞMANLIK TARIM TİC. LTD. ŞTİ.
Cumhuriyet Mahallesi Atatürk Bulvarı No:91/4
Çankaya / ANKARA Tel:0538 996 66 66
Çankaya V.D. 048 133 4940

İş bu Belge, Ben Yeminli Tercüman Ahmed ALSHAER Tarafından Asıl'na Uygun Olarak Arapça'dan Türkçe'ye Türkçe'den Arapça'ya Çevrilmiştir.

İş bu Belgenin Arapça'dan Türkçe'ye / Türkçe'den Arapça'ya Dairemizde Kimliği Saklı Yeminli Tercümanımız Ahmed ALSHAER tarafından Tercüme Edildiğini Onaylarım.

Ministry Of Health / Environment
Health Office Of Thi Qar
Training &
Human Development Center

وزارة الصحة
دائرة صحة ذي قار
مركز التدريب والتنمية البشرية
شعبة ادارة البحوث و المعرفة
العدد/ ٥٧٠
التاريخ ٢٠٢٠/٩/١٢

الى / مركز السكري والغدد الصماء

م/ تسهيل مهمة

تحية طيبة ..

بناءً على الطلب المقدم من طالب الدراسات العليا – الماجستير (البيولوجي علي احمد عبد الرضا) بتاريخ ٢٠٢٠/٩/١٣ وبناءً على موافقتكم المبدئية على استمارة الموافقة على مشروع البحث،

لا مانع لدينا من تسهيل مهمتها لغرض الحصول على بيانات لاستكمال بحثها الموسوم :

(تقدير مستوى تلف الحمض النووي المؤكسد في نوعين من امراض الغدة الدرقية كتمييز محتمل بينهما)

على ان لا تتحمل دائرتنا أي تبعات مالية او قانونية

تم استيفاء اجور تسهيل المهمة بموجب الوصل المرقم(٠٦٤٧١٨٤) في ٢٠٢٠/٩/١٣

للتفضل بالاطلاع مع الاحترام ..

الدكتور
مرتضى كاظم ياسر
مدير القسم
٢٠٢٠/٩/ ١٣

ALAKSA
TURİZM TERCÜME EĞİTİM
DANIŞMANLIK TARIM TİC. LTD. ŞTİ.

نسخه منه الى :-
- الباحث علي احمد عبد الرضا- جامعه جانكيري - تركيا / مع التقدير
- قسم التدريب و التنمية البشرية / شعبة ادارة البحوث و المعرفة ... مع الاوليات.

البريد الالكتروني thiqarhealthtraining@yahoo.com

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Ali Ahmed ABDULRIDHA

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2021-Halen
Lisans	Dhi Qar Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı	2013-2017