

**HİPERTİROİDİZMDE MTOR VE NRF2 SİNYALİZASYONUNUN
FERROPTOZ ÜZERİNE ETKİLERİ**

MERVE CANAYAKIN DEĞİRMEN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
Doç. Dr. Ceyhan HACIOĞLU**

DÜZCE, 2024

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

HİPERTİROİDİZMDE MTOR VE NRF2 SİNYALİZASYONUNUN
FERROPTOZ ÜZERİNE ETKİLERİ

Merve CANAYAKIN DEĞİRMEN tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Ceyhan HACIOĞLU

Düzce Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Ceyhan HACIOĞLU

Düzce Üniversitesi

Doç. Dr. Merve ALPAY

Düzce Üniversitesi

Doç. Dr. Fatih KAR

Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Tez Savunma Tarihi: 22/07/2024

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

22 Temmuz 2024

Merve CANAYAKIN DEĞİRMEN

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans öğreniminin her aşamasında beni yönlendiren, bana fikir ve umut veren, eğitim sürecimdeki zorluklarda bilgi ve tecrübesini benden esirgemeyen çok değerli ve kıymetli hocam Sayın Doç. Dr. Ceyhan HACIOĞLU'na bu tez çalışmamızın hazırlanmasında gösterdiği her türlü destek, anlayış, sabır ve yardımdan dolayı en içten dileklerimle teşekkür eder, saygı, sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Tez çalışmam boyunca değerli katkılarını esirgemeyen, tavsiye ve görüşleri ile bana destek olan kıymetli hocam Sayın Doç. Dr. Merve ALPAY'a teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

Zor, meşakkatli süreçlerden geçerken maddi ve manevi desteğini her an hissettiğim, çalışmam boyunca beni her daim teşvik edip cesaretlendiren, bu süreçte varlığı ile güç bulduğum ve sevgisiyle hayatımın her anını güzel kılan çok sevgili ve değerli eşim Hakan DEĞİRMEN'e tüm kalbim ile sonsuz sevgi ve minnetimi sunuyorum.

Bu çalışma boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen, beni yalnız bırakmayan ve her konudaki ilk destekçim olan kıymetli anneciğim Zeliha CANAYAKIN başta olmak üzere çok sevgili aileme ve yanımda olan değerli arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

22 TEMMUZ 2024

Merve CANAYAKIN DEĞİRMEN

İÇİNDEKİLER

Sayfa No



LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

.....	i
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	viii
ÖZET.....	ix
KISALTMALAR.....	xi
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. TIROİT.....	4
1.1.1. Tiroit Bezi Embriyolojisi.....	4
1.1.2. Tiroit Bezi Anatomisi.....	4
1.1.3. Tiroit Bezi Fizyolojisi.....	5
1.1.4. Tiroit Hormon Metabolizması.....	5
1.1.5. Tiroit Hastalıkları.....	7
1.1.5.1. Guatr.....	8
1.1.5.2. Tiroiditler.....	8
1.1.5.2.1. Akut Tiroidit.....	9
1.1.5.2.2. Subakut Tiroidit.....	9
1.1.5.2.3. Sessiz Tiroidit.....	9
1.1.5.2.4. Doğum Sonrası Tiroidit (Postpartum).....	9
1.1.5.2.5. Kronik Tiroidit (Hashimoto Tiroiditi).....	10
1.1.5.2.6. Riedel Tiroidit.....	10
1.1.5.3. Hipotiroidizm.....	10
1.1.5.4. Tiroit Kanserleri.....	11
1.1.5.5. Hipertiroidizm ve Tirotoksikoz.....	11
1.1.5.6. Graves Hastalığı.....	13
1.2. HÜCRE BÜYÜMESİ, ÇOĞALMASI VE ÖLÜMÜ.....	13
1.2.1. Hücre Döngüsü.....	13
1.2.2. Hücre Ölüm Yolakları.....	14
1.2.2.1. Nekroz.....	15
1.2.2.2. Otofaji.....	15
1.2.2.3. Apoptoz.....	16
1.2.2.4. Ferroptoz Ölüm Yolağı.....	16
1.2.3. Ferroptozun Moleküler Temelleri.....	17
1.2.3.1. Ferroptozun Lipid Peroksidasyonu Yolu İle Düzenlenmesi.....	17
1.2.3.2. Ferroptozun Amino Asit ve Glutasyon Metabolizması ile Düzenlenmesi.....	18
1.2.3.3. Ferroptozun Demir Metabolizması ile Düzenlenmesi.....	19
1.2.3.4. Ferroptozun ROS Metabolizması İle Düzenlenmesi.....	20
1.2.3.5. Ferroptoz duyarlılığını kontrol eden diğer metabolik yollar.....	21
1.3. MTOR VE NRF2.....	21

1.3.1. MTOR	21
1.3.1.1. MTOR ve Ferroptoz	23
1.3.1.2. MTOR ve Tiroit	24
1.3.2. NRF2	25
1.3.2.1. NRF2 ve Ferroptoz	26
1.3.2.2. NRF2 ve Tiroit	27
2. MATERYAL VE YÖNTEM	30
2.1 MATERYAL	30
2.1.1. Araştırmanın Yeri ve Süresi	30
2.1.2. Araştırmanın Örneklemi	30
2.1.3. Araştırmada Etik Konular	31
2.1.4. Araştırmanın Sınırlılıkları	32
2.1.5. ELISA Testi Prosedürü	32
2.1.5.1. Serum ACSL4 Seviyelerinin Ölçümü	32
2.1.5.2. Serum GSH Seviyelerinin Ölçümü	34
2.1.5.3. Serum MDA Seviyelerinin Ölçümü	35
2.1.5.4. Serum MTOR Seviyelerinin Ölçümü	37
2.1.5.5. Serum NRF2 Seviyelerinin Ölçümü	38
2.1.5.6. Serum TAS Seviyelerinin Ölçümü	39
2.1.5.7. Serum TOS Seviyelerinin Ölçümü	40
2.1.6. Verilerin Değerlendirilmesi	41
3. BULGULAR	43
3.1. ELİSA KİTLERİ ANALİZ SONUÇLARI	43
3.1.1. Hipertiroidizm Hastalarındaki Serum ACSL4 Seviyeleri	43
3.1.2. Hipertiroidizm Hastalarındaki Serum GSH Seviyeleri	43
3.1.3. Hipertiroidizm Hastalarındaki Serum MDA Seviyeleri	44
3.1.4. Hipertiroidizm Hastalarındaki Serum MTOR Seviyeleri	45
3.1.5. Hipertiroidizm Hastalarındaki Serum NRF2 Seviyeleri	45
3.1.6. Hipertiroidizm Hastalarındaki Serum TAS Seviyeleri	46
3.1.7. Hipertiroidizm Hastalarındaki Serum TOS Seviyeleri	47
4. TARTIŞMA	48
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	56
6. KAYNAKLAR	57
ÖZGEÇMİŞ	64

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. 1. Negatif Feed-back Mekanizması	5
Şekil 1. 2. Tiroit Hormon Sentezi.....	6
Şekil 1. 3. Hücre Döngüsü.....	14
Şekil 1. 4. MTORC1 ve Ferroptoz.....	24
Şekil 1. 5. NRF2'nin Tiroit Hormon Sentezindeki Rolü.....	29
Şekil 2. 1. ACSL4 Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi.....	33
Şekil 2. 2. MDA Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi.....	36
Şekil 2. 3. MTOR Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi.....	37
Şekil 2. 4. NRF2 Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi.....	39
Şekil 3. 1. Hipertiroidizmlı hastalardaki ACSL4 seviyeleri.....	43
Şekil 3. 2. Hipertiroidizmlı hastalardaki GSH seviyeleri.....	44
Şekil 3. 3. Hipertiroidizmlı hastalardaki MDA seviyeleri.....	44
Şekil 3. 4. Hipertiroidizmlı hastalardaki MTOR seviyeleri.....	45
Şekil 3. 5. Hipertiroidizmlı hastalardaki NRF2 seviyeleri.....	46
Şekil 3. 6. Hipertiroidizmlı hastalardaki TAS seviyeleri.....	46
Şekil 3. 7. Hipertiroidizmlı hastalardaki TOS seviyeleri.....	47

ÇİZELGE LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Çizelge 2. 1. ACSL4 analizi sırasında kullanılan reaktifler.	33
Çizelge 2. 2. GSH analizi sırasında kullanılan reaktifler.....	34
Çizelge 2. 3. MDA analizi sırasında kullanılan reaktifler.	35
Çizelge 2. 4. MTOR analizi sırasında kullanılan reaktifler.	37
Çizelge 2. 5. NRF2 analizi sırasında kullanılan reaktifler.	38
Çizelge 2. 6. TAS analizi sırasında kullanılan reaktifler.	39
Çizelge 2. 7. TAS Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi.	40
Çizelge 2. 8. TOS Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi.	41
Çizelge 2. 9. TOS Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi.	41

ÖZET

HİPERTİROİDİZMDE MTOR VE NRF2 SİNYALİZASYONUNUN FERROPTOZ ÜZERİNE ETKİLERİ

Merve CANAYAKIN DEĞİRMEN

Düzce Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ceyhan HACIOĞLU

Temmuz 2024, 63 sayfa

Tiroit, vücuttaki tüm hücreler üzerinde gelişme, büyüme ve metabolizmayı düzenlemek için hareket eden tiroit hormonları tiroksin (T4) ve triiyodotironin (T3) üretiminden sorumlu bir endokrin bezdir. Hipertiroidizm, dokunun aşırı miktarda dolaşımdaki tiroit hormonuna maruz kaldığı patolojik bir sendromdur. Hipertiroidizm nedeniyle mitokondrinin oksidatif metabolizması hızlanmakta ve reaktif oksijen ürünlerini (ROS) arttırmaktadır. ROS'daki artış oksidatif strese neden olabilir. Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (NRF2), oksidatif strese karşı hücre koruyucu reaksiyonların başlatılması için redoks duyarlı olarak aktifleşen ilk ve en önemli transkripsiyonel aktivatör olup antioksidan tepkinin ana düzenleyicisi olarak kabul edilmektedir. Ferroptoz, demir şelatörleri ve lipofilik antioksidanlar tarafından kontrol edilen, hücrelerin antioksidan kapasitesi azaldığında hücre içi lipid ve ROS birikimi ile karakterize bir tür düzenlenmiş hücre ölümü şeklindedir. Hücreler ferroptozla maruz kaldığında, antioksidan sistemde GPX4'ün hem ekspresyonu hem de aktivitesi azalacaktır. NRF2 hem lipid peroksidasyonunun hem de ferroptozun kritik bir hafifleticisidir. Ferroptoz düzenleyicileri arasında yer alan rapamisin proteininin memeli hedefi 1 (MTORC1), evrimsel olarak korunmuş serin-treonin kinaz enerji dengesi, büyüme faktörleri, besinler ve oksijendeki değişiklikleri algılayarak hücre döngüsü ilerlemesini ve büyümesini modüle eder. Rapamisin proteininin memeli hedefi (MTOR), tiroit hücrelerinde iyodür alımını da düzenleyen fosfatidilinositol-3 kinaz (PI3K)/Akt yolunun aşağı akış efektörüdür. Yürütmekte olduğumuz tez çalışmamızda hipertiroidizm hastalarında ferroptoz yolağının incelenmesi hedeflenmiştir. Çalışmamızda hipertiroidizm hastası 90 kişi ve kontrol grubu 90 kişi olmak üzere 180 kişi şeklinde toplamda iki grup oluşturulmuştur.

Çalışmamızda kullandığımız biyokimyasal parametrelerimiz uzun zincirli yağ asidi-KoA ligaz 4 (ACSL4), glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA), MTOR, NRF2, total antioksidan durumu (TAS) ve total oksidan durumu (TOS) şeklinde olup Enzim bağlı immünosorbent deneyi (ELİSA) metodu ile analizi yapılmıştır. Ulaşılan veriler ışığında hipertiroidizmli hastaların serumlarında, kontrol grubunda yer alan hastaların serumlarına kıyas ile ACSL4, MDA, MTOR ve TOS biyokimyasal parametrelerde artış görülmüştür. Öte yandan GSH, NRF2 ve TAS biyokimyasal parametrelerinde kontrol grubuna göre düşüş olduğu bulunmuştur. Sonuçlarımıza göre hipertiroidizmli kişilerde yapılan serum analizlerine göre ferroptoz sinyal yolağının indüklendiği tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma ile hipertiroid koşullarının oluşturduğu ferroptozun baskılanması için MTOR yolağının inhibisyonu NRF2 yolağının indüksiyonu üzerine detaylı çalışmalar yapılarak hastalarda meydana gelen hasarlara katkı sağlayabileceği ön görülmektedir.

Anahtar Sözcükler: Ferroptoz, Hipertiroidizm, MTOR, NRF2



KISALTMALAR

AA	Araşidonik asit
ACD	Kaza sonucu hücre ölümü
ACSL4	Uzun zincirli yağ asidi-KoA ligaz 4
ARE	Antioksidan tepki elemanları
ATİ	Anti-tiroit ilaç
CAT	Katalaz
COX	Siklooksijenaz
DTK	Diferansiye tiroit kanseri
ELİSA	Enzim bağlı immünosorbent deneyi
FPN1	Ferröz demir ihracatçısı ferroportin 1
FTH1	Ferritin ağır zincir 1
FTL	Ferritin hafif zincir
H2O2	Peroksit
GPX4	Glutasyon peroksidaz 4
GSH	Glutasyon
IREB2	Demire duyarlı eleman bağlayıcı protein 2
KEAP1	Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein 1
KT	Kemoterapi
LOX	Lipooksijenaz
LPCAT3	Lisofosfatidilkolin asiltransferaz 3
LT4	Levotiroksin
MDA	Malondialdehit
MMI	Metimazol
MTK	Medüller tiroit kanseri
MTOR	Rapamisin proteininin memeli hedefi
MTORC1	Rapamisin kompleksinin mekanik hedefi 1
NFE2L2	Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2
NRF2	Nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2
OS	Oksidatif stres
O ⁻²	Süperoksit
PCD	Programlı hücre ölümü
PE	Fosfatidiletanolamin
PHÖ	Programlı hücre ölümü
(PI3K) /Akt	Fosfatidilinositol-3 kinaz
PI3K/AKT/MTOR	Fosfoinositid 3 kinaz /protein kinaz B /rapamisinin memeli hedefi
PIKK	Fosfatidilinositol 3-kinazla ilişkili kinaz
PPT	Postpartum tiroidit
PTC	Papiller tiroit karsinomu
PTU	Propiltiourasil
PUFA	Çoklu doymamış yağ asitleri
PUFA-PL	Çoklu doymamış yağ açıl fosfolipid
RAİ	Radyoaktif iyot tedavisi
RCD	Düzenlenmiş hücre ölümü
ROS	Reaktif oksijen ürünleri
SOD	Süperoksit dismutaz
TAS	Toplam antioksidan durumu
TCA	Trikarboksilik asit döngüsü
TFR1	Transferrin reseptörü 1

Tg	Tiroglobulinin
TİİAB	Tiroit ince iğne aspirasyon biyopsisi
TOS	Toplam oksidan durumu
TPO	Tiroit peroksidaz
TRab	TSH reseptör antikoru
TRH	Tirotropin salgılatıcı hormon
TSH	Tiroit uyarıcı hormon
T3	Triiyodotironin
T4	Tiroksin
USG	Ultrasonografi



ABSTRACT

EFFECTS OF MTOR AND NRF2 SIGNALING ON FERRPTOSIS IN HYPERTHYROIDISM

Merve CANAYAKIN DEGIRMEN

Düzce University

Graduate Education Institute, Department of Medical Biochemistry

Master's Thesis

Supervisor: Ass. Rofessor Ceyhan HACIOGLU

July 2024, 63 pages

The thyroid is an endocrine gland responsible for the production of thyroid hormones, thyroxine (T4) and triiodothyronine (T3), which act on all cells in the body to regulate development, growth, and metabolism. Hyperthyroidism is a pathological syndrome where the tissue is exposed to excessive circulating thyroid hormones. Due to hyperthyroidism, mitochondrial oxidative metabolism accelerates, increasing reactive oxygen species (ROS). The increase in ROS can cause oxidative stress. Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (NRF2) is the primary and most important transcriptional activator that is redox-sensitive and activates to initiate cell-protective reactions against oxidative stress, being considered the main regulator of the antioxidant response. Ferroptosis is a type of regulated cell death characterized by intracellular lipid and ROS accumulation when the antioxidant capacity of cells decreases, and it is controlled by iron chelators and lipophilic antioxidants. When cells are subjected to ferroptosis, both the expression and activity of GPX4 in the antioxidant system will decrease. NRF2 is a critical mitigator of both lipid peroxidation and ferroptosis. Among the regulators of ferroptosis is the mammalian target of rapamycin complex 1 (MTORC1), an evolutionarily conserved serine-threonine kinase that modulates cell cycle progression and growth by sensing changes in energy balance, growth factors, nutrients, and oxygen. The mammalian target of rapamycin (MTOR) is a downstream effector of the phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K) /Akt pathway, which also regulates iodide uptake in thyroid cells. Our ongoing thesis project aims to investigate the ferroptosis pathway in patients with hyperthyroidism. Our study comprises a total of two groups: 90 patients with hyperthyroidism and 90 individuals in the control group, making a total of 180 participants.

The biochemical parameters used in our study include long-chain fatty acid-CoA ligase 4 (ACSL4), glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), MTOR, NRF2, total antioxidant status (TAS), and total oxidant status (TOS), all of which were analyzed using the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) method. Based on the obtained data, it was observed that there was an increase in the biochemical parameters ACSL4, MDA, MTOR, and TOS in the serum of patients with hyperthyroidism compared to the serum of individuals in the control group. On the other hand, it was found that the biochemical parameters GSH, NRF2, and TAS decreased compared to the control group. According to our results, it was determined that the ferroptosis signaling pathway is induced based on the serum analyses conducted on individuals with hyperthyroidism. This study suggests that detailed studies on the inhibition of the MTOR pathway and the induction of the NRF2 pathway could contribute to mitigating the damage caused by ferroptosis under hyperthyroid conditions.

Keywords: Ferroptosis, Hyperthyroidism, MTOR, NRF2



1. GİRİŞ

Tiroit, tiroit hormonları adı verilen T4 ve T3 üretiminden sorumlu bir endokrin bezdir [1]. Boyun bölgesinde nefes borusunun ön kısmında yer almaktadır. Görünümü kelebek şekline benzemektedir [2]. Tiroit hormonlarının vücuttaki tüm hücreler üzerinde gelişme, büyüme ve metabolizmayı düzenleme görevleri vardır. Vücut dokularının oksidatif metabolizmalarını normal düzeyde tutmak için hareket ederken, homeostazda da önemli etkileri bulunmaktadır [1]. Tiroidin çalışması hipotalamus-hipofiz-tiroit aksında tirotropin salgılatıcı hormon (TRH), tiroit uyarıcı hormon (TSH) ve T4 ile T3 arasındaki negatif geri bildirim mekanizması ile kontrol edilmektedir. Tiroit hormon üretimi ve/veya salgılanmasındaki dengesizlik, bedenin işlevlerinde bozukluklara neden olabilmektedir. Tiroit hormonlarının az miktarda salgılanmasıyla kan dolaşımında meydana gelen tiroit hormonları yetersizliğine hipotiroidizm, fazla salgılanması sonucunda tiroit hormonlarının düzeylerinde görülen artışla karakterize durums ise hipertiroidizm denmektedir [1]. Hipertiroidizm sık rastlanılan, kanda tiroit hormonlarının aşırı derecede yükselmesi sonucu çevre dokuların yüksek düzeyde hormon etkisinde kalmasıyla ortaya çıkan, hipermetabolizmayla sonuçlanan, fizyolojik, biyolojik klinik bulguların oluşturduğu bir durumdur. Vücut metabolizmasında genel bir hızlanma durumu görülür. Bazı kaynaklara göre bu sendromu tariflemek için ‘tirotoksikoz’ terimi de kullanılabilirken, bazı kaynaklara göre ise hipertiroidizm, tirotoksikozun bir alt kümesidir ve çoğu kez hipertiroidizme bağlı olarak tanımlanır [1], [3], [4]. Hipertiroidizmin sebebi olan hastalıklar tiroit bezi kaynaklı olabileceği gibi, hipofiz ya da hipofiz dışı sebeplerle de meydana gelebilmektedir [1].

Hücreler yaşamın ana düzenleyici birimleridir. Hücre bölünmesi, farklılaşması, fonksiyonel özellikleri ve sonuçta hücre ölümü yaşam için çok kritik öneme sahiptir [5]. Çok hücreli organizmalarda hastalıkların önlenmesi için doku ve organlarda uygun hücre sayısının devam ettirilmesi gerekmektedir. Hücre sayısındaki denge yeni hücre oluşumu ve sabit bir ölüm hızı ile denge sağlanır [6]. Hücre ölümü, memeli gelişiminin, homeostazisinin ve hastalığının çeşitli yönlerinde kritik öneme sahiptir ve diğer biyolojik süreçlerle sıkı bir şekilde bütünleşmiştir [7]. Çok hücreli organizmalardaki hücreler, vücut için artık gerekli olmayan veya kusurlu durumdaki hücrelerin kontrollü yıkımı

programlanmış hücre ölümü adı verilen hücre ölüm mekanizmaları tarafından kontrol edilir [8]. Programlı hücre ölümü (PHÖ), çok hücreli organizmalarda embriyonun oluşması ve gelişmesi, doku homeostazı, immün yanıt ve normal gelişim süreçlerinin temelini oluşturmakta ve kanser gibi hastalıkların önlenmesinde kritik rol oynamaktadır. Programlanmış hücre ölümünün en iyi çalışılan şekli apoptoz olarak bilinirken; piroptoz, nekroz ve ferroptoz gibi çeşitli PHÖ türleri de tanımlanmıştır [9], [10].

Ferroptoz; son yıllarda daha çok araştırılan, demire bağımlı, lipid peroksidasyonu ve artmış oksidatif stres ile karakterize, kontrollü ve programlı bir hücre ölümü biçimidir [10], [11], [12]. İlk olarak 2012 yılında, Dixon ve arkadaşları tarafından keşfedilmiş olup biyokimyasal ve genetik olarak, bilinen diğer hücre ölüm mekanizmaları olan apoptoz, otofaji ve klasik nekrozdan farklıdır [12]. Ferroptozun en önemli morfolojik nitelikler arasında mitokondride gözlenen küçülme ve membran yoğunluğu vardır. Ferroptozda otofajide gözlemlenen sitoplazmik vakuolizasyon, apoptozda gözlemlenen kromatin kondenzasyonu ve nekrozda gözlemlenen hidrojen peroksit ile indüklenen morfolojik nitelikler ile karşılaşmamaktadır. Ayrıca, ferroptoz yolu ile oluşan hücre yıkımı, apoptoz ve otofaji inhibitörleri ile engellenememektedir [11]. Ferroptoz hücre içi serbest demir miktarındaki yükseliş ve GSH ile GPX4'ün redoks içeriğini aşan ROS birikimine bağlı lipid peroksidasyonundan kaynaklanmaktadır. Lipid peroksidasyonu ferroptozun bir biyobelirteci olmakla beraber lipid üretimi aslında hayatta kalmanın temelidir [10], [11]. Lipid peroksidasyonu, serbest radikaller tarafından yürütülen bir pozitif geri besleme zincir reaksiyonudur. Süperoksit ($O_2^{\cdot-}$), peroksit (H_2O_2 ve $ROOH$) ve serbest radikaller ($HO\cdot$ ve $RO\cdot$) dahil olmak üzere ROS, çoklu doymamış yağ asitlerini hedefleyerek lipidlerin peroksidasyonuna neden olmaktadır [10]. Bu nedenle ROS, ferroptozun düzenlenmesinde görev alan diğer çok kritik faktörlerden biridir [13]. Hücre içi artan ROS miktarı hem hücre bütünlüğüne hem de hücre içi organel membranlarının hasar görmesine neden olmakta ve böylece ferroptozu uyarmaktadır. Hücre içi demir ise hücre fonksiyonların yerine getirilmesinde oldukça önemlidir. Ancak hücre içi demir birikimi, oksidatif fosforilasyonun yan ürünü olan hidrojen peroksit ile demirin Fenton reaksiyonlarına girmesine ve lipidler için oldukça tehlikeli olan peroksitlerin oluşmasına neden olmaktadır. Özellikle demire bağlı fenton reaksiyonu ile üretilen hücre içi ROS ferroptozda ana ROS kaynağını oluşturmaktadır [10]. Sonuçta demir, lipidler ve ROS hücre sağ kalımında yeri doldurulamaz bir rol oynamaktadır [10], [11]. Ferroptoz demir şelatörleri ve lipofilik antioksidanlar ile inhibe olur. Bu durum ferroptozun en önemli özelliğidir ve ferroptozu diğer oksidatif hücre yıkımlarından farklı kılar [11].

Ferroptozun hem indüksiyonu hem de inhibisyonu yoluyla farmakolojik modülasyonu, ilaca dirençli kanserlerin, iskemik organ yaralanmalarının ve aşırı lipid peroksidasyonuna bağlı diğer dejeneratif hastalıkların tedavisi için büyük potansiyele sahiptir [5].

Ferroptoz düzenleyicilerinden biri MTORC1'dir. MTOR hücre büyümesini, hücre döngüsünün ilerlemesini, besin alımını, protein sentezini ve otofajiyi düzenleyen korunmuş bir serin treonin kinazdır [14]. Bu protein, adını 1972'de *Streptomyces hygroscopicus*'tan izole edilen bir bileşik olan rapamisininden almıştır. Rapamisinin MTOR'u inhibe ettiği ve antibakteriyel, antifungal, immünosupresif, antitümör ve gerontoprotektif aktiviteler sergilediği bulunmuştur [15]. MTORC1 inhibitörleri, kanser de dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır [16]. Ferroptoz hassasiyetini kontrol eden diğer metabolik yollardan biri de NRF2'dir [13],[7]. NRF2, gen promotör bölgelerindeki antioksidan tepki elemanlarını (ARE'ler) tanıyarak ve bunlara bağlanarak çok çeşitli hücre proteinleri düzenleyen bir ana transkripsiyon faktörüdür [17]. NRF2 kısa ömürlü bir proteindir (yarı ömür, ~15 dakika); aktive edici faktörlerin yokluğunda, NRF2 her yerde bulunur ve proteazomal bozulmaya uğrar. Ayrıca NRF2/ARE, MTOR'u pozitif olarak düzenler. Bu ilk olarak Shibata ve ark. tarafından gösterilmiş olup MTOR üzerindeki NRF2 etkisinin en belirgin mekanizması Bendavit ve arkadaşları tarafından önerilmiştir [15].

Hipertiroidizm ve tirotoksikoz, tiroit hormonlarının aşırı üretimi ve/veya salınımı ile karakterize olup, tiroit hormonlarının yüksek konsantrasyonları, periferik dokuların aşırı uyarılmasına neden olarak metabolizmada genel bir artışa ve enerji ve oksijen talebinin artmasına neden olmaktadır [18]. Hipertiroidizm/tirotoksikoz aynı zamanda OS ile ve tiroit hormonlarının hedef dokularında NRF2 sinyalleme sinin aktivasyonu ile ilişkilidir. Spesifik olarak, tiroit hormonu uygulamasının sıçan karaciğerinde NRF2 aktivasyonunu indüklediği ve bu aktivasyonun ROS temizleyici N-asetil sistein ile ön tedavi ile baskılandığı birkaç yıldır bilinmektedir [18]. M. Zhang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise rapamisin tedavisinin hipertiroidizm üzerindeki etkisi tiroit otoantikorları, fonksiyonu ve patolojisi ile değerlendirilmiştir ve rapamisin tedavisi hipertiroidizm sıklığını %87,5'ten %25'e düşürdüğü görülmüştür [19]. Bu tez, literatürdeki çalışmalardan yola çıkarak hipertiroidizimli hastalardaki MTOR ve NRF2 sinyalizasyonun ferroptoz üzerine olan etkilerini çeşitli biyokimyasal test yöntemleri ile araştırmayı hedeflemektedir.

1.1. TİROİT

1.1.1. Tiroit Bezi Embriyolojisi

Tiroit bezi gebeliğin üçüncü haftasında barsak sisteminin bir uzantısı olarak gelişen vücudun ilk endokrin bezidir [20]. Gestasyonun beşinci haftasında sağ ve sol loblara bölünür. Ayrıca, beşinci hafta boyunca faringeal keseden ultimobranşiyal cisimler ortaya çıkarak parafoliküler C-hücrelerine farklılaşmaktadır. Bu hücreler kalsiyum homeostazında görev alır [21]. Hücresel farklılaşma ve olgunlaşma, tiroit 12. gebelik haftasında fonksiyonel olarak olgunlaşana kadar devam eder. Yaklaşık 30-35. haftalarda hipotalamus, hipofiz ve tiroit aksı fonksiyonel olarak aktif hale gelir [22]. Tiroit bezi embriyolojik gelişimini tamamladıktan sonra bir kapsül ile çevrelenir. Bu kapsül fibröz yapıdadır ve bez içine yaptığı uzantılarla bez de lobülasyonlar yapar. Bu lobüllerde tiroit bezinin yapısal ve fonksiyonel birimleri olan foliküller bulunur [20], [22]. Foliküllerin içi kolloid ile doludur, etrafında tek sıra kolumnar-kuboidal hücre ile çevrilidir ve en dışta da bu epiteli çevreleyen bazal membran bulunur. Tiroit bezi tiroaminler olarak adlandırılan T4 ve T3 adında iki hormon salgılar [20].

1.1.2. Tiroit Bezi Anatomisi

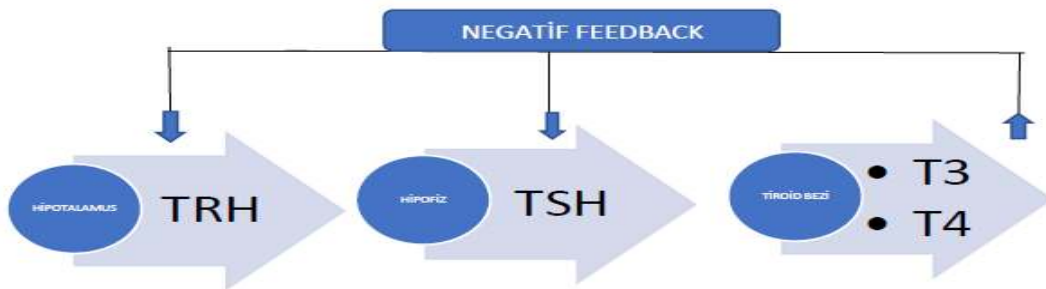
Tiroit bezi boynun ön alt bölgesinde 5, 6 ve 7. vertebraların hizasında nefes borusunun önünde yer almaktadır [2]. Yapısı itibarıyla kelebeğe benzemekte olup damardan oldukça zengin, H veya U harfine benzeyen, kahverengi-kırmızı renkli parankimal bir organdır [2], [23]. Üç bölümden oluşmaktadır. İsthmus; trakeanın ikinci ve üçüncü halkasını örter. Lateral loblar; tiroit kartilajdan başlayıp altıncı trakea halkasına kadar uzanır. Piramidal lob; isthmustan yukarı doğru çıkıntı yapan, genelde sol tarafta bulunan ve tiroidin embriyolojik sürecinden bir kalıntıyı temsil eden ek bir lop görülebilmektedir. Piramidal lob inferior tiroglossal duktusun parçasından kaynaklanır ve insanların yaklaşık %40'ında görülür [24], [25]. Normal tiroit bezi ortasından ince bir yapı olan isthmus ile birbirine bağlanan simetrik olan lateral sağ ve sol iki lobdan oluşmaktadır [23], [21].

Tiroit bezi son derece zengin bir kanlanma ağına sahiptir ve böbrekten 6 kat ve beyinden yaklaşık 3-4 kat daha fazla vasküler olduğu tahmin edilmektedir. Tiroit bezi iki ana arter tarafından beslenir. Bu arterler inferior ve superior tiroit arterlerdir. Tiroit bezinin venleri ise inferior, superior ve lateral tiroideal venlerdir. Vena tiroidea süperior ve lateralis sistemde vena jugularis interna'ya dökülürken, vena tiroidea inferior ise direkt olarak sol vena brakiosefalikaya dökülür [24]. Her iki tiroit lobunun süperior ve inferior

komşuluğunda, posteriorda birer tane olmak üzere genellikle 4 tane paratiroid bezi bulunmaktadır [22]. Paratiroid bezleri ovaş şekilli ve sarı kahverengi renktedir. Paratiroid bezlerinin büyüklüğü 5-7 mm iken, 35-40 mg ağırlığındadır. Paratiroid bezlerinin kanlanması yüksek oranda inferior tiroit arterin dallarından olmaktadır. Süperior tiroit arter ise üst bezlerin %20 kadarının beslenmesinden sorumludur [26].

1.1.3. Tiroit Bezi Fizyolojisi

Tiroit bezinin temel görevi, vücuttaki metabolik süreçlerin düzenlenmesi için gerekli tiroit hormonları olan T4 ve T3'ü üretmektir [27]. Hormon üretimi ve salınımı süreci hipotalamo-hipofiz-tiroit arasındaki negatif feed-back mekanizmalarıyla kontrol edilmektedir [28]. Tiroit bezinden hormon salınımını TSH ve TRH kontrol eder [2]. TSH hipofiz ön loptan salgılanan glikoprotein yapılı bir hormondur. Bazofil hücreleri tarafından üretilir. TSH kontrolü ise hipotalamustan salgılanan tiotropin salgılatıcı hormon ile sağlanır [2]. Hipofiz bezinden salgılanan TRH aracılığı ile ön hipofiz bezi uyarılarak TSH salınır. TSH'a yanıt olarak tiroit bezinde büyüme, T3 ve T4 hormonlarının üretimi ve salınımı pozitif uyarım sonucunda artar. Artan T3 ve T4 hormonları negatif geri bildirim ile ön hipofizde bulunan tiotropik hücrelerin TRH reseptörlerini aşağı regülasyona uğratar, TRH azalmasına yanıt olarak TSH salınımı da azalarak homeostaz sağlanmaktadır (Şekil 1.1) [28].

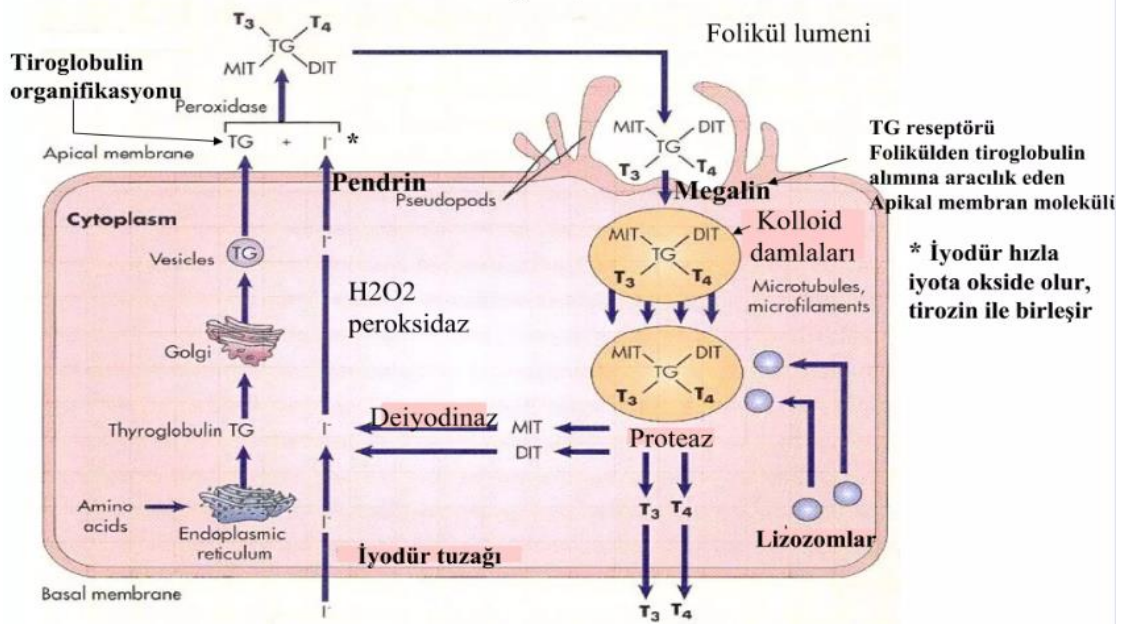


Şekil 1. 1. Negatif Feed-back Mekanizması

1.1.4. Tiroit Hormon Metabolizması

Tiroit hormonu sentezindeki ilk basamak iyot basamağıdır [27]. Oral alınan iyot plazma proteinlerine bağlanarak taşınır, tiroit folikül hücrelerinden içeri sodyum-iyot simporter ile alınır [28]. Vücut için alınması gereken günlük iyot miktarı 150 µg olup bunun 120µg'ı

tiroid bezi tarafından alınır ve 80 µg'ı T3 ve T4'ün yapımı için kullanılır, çoğunluğu renal yolla vücuttan uzaklaştırılır [2]. Tiroid foliküler hücresi içerisine alınan iyot, hidrojen peroksit ve tiroid peroksidaz (TPO) tarafından organifikasyon reaksiyonu ile reaktif iyot atomuna dönüşür. Reaktif iyot atomu, TPO'yu da içeren bir dizi reaksiyon ve eter bağı bağlanması sonucu tiroglobulin (TG) proteini ile birleşerek, içerdiği iyot atomu sayısına göre T3 ve T4 olarak isimlendirilen tiroid hormonlarını oluşturur (Şekil 1.2) [28]. Tiroid bezinden salınım gösteren başlıca hormon T4 (%90) hormonudur. Tiroksin hormonunun deiyodinasyonu ile birlikte T3 (%10) oluşumu meydana gelir [29]. Dolaşımda yüksek oranda T4 bulunur, dolaşımdaki T3 hormonlarının ise büyük çoğunluğu periferel dolaşım sırasında T4'ten dönüşmüştür. Dolaşımda bulunan T3 ve T4 hormonlarının her ikisi de aktif formdadır ancak hücre çekirdeğindeki tiroid hormon reseptörleri T3 için 10 kat fazla afiniteye sahiptir, bu nedenle T3 daha aktiftir [28].



Şekil 1. 2. Tiroid Hormon Sentezi.

T4'ün çoğu daha sonra T3'ün daha aktif formuna dönüşmesine rağmen, her ikisi de hedef hücreleri değişen derecelerde uyarma ile etkiler [2]. Tiroid hormonları neredeyse insan vücudundaki tüm hücrelerin çalışmasında rol alırlar. Bu hormonların başlıca görevleri bazal metabolizmanın hızına etki etmek, protein sentezini düzenlemek, uzun kemik gelişimine büyüme hormonlarıyla sinerjik etkileşerek fayda sağlamak, sinir sisteminin olgunlaşmasını sağlamak ve hücrelerin katekolaminlere (örneğin adrenaline) karşı geçirgenliğinin arttırmaktır [30]. Tiroid hormonları insan vücudundaki hücrelerin gelişiminde ve farklılaşmasında da etkilidir. Ayrıca vücudun enerji depolarının kontrol

ederek; protein metabolizmasını (anabolik etki), yağ metabolizmasını (kolesterol yıkımı) ve karbonhidrat metabolizmasını (glikojenolizi artırır, hepatik glukoneogenezi artırır, bağırsaktan glikoz absorpsiyonunu artırır) etkiler [30]. Tiroit bezinden salgılanan T3 hormonu çok önemlidir. Hamilelerde bebeğin merkezi sinir sisteminin gelişmesinde etkilidir. Ayrıca dokuların insüline karşı afinitelerini azaltarak insülin yıkımını hızlandırır [2]. Tiroit folikülleri arasında veya tiroit foliküllerinin duvarı içinde, parafoliküler hücreler olarak da bilinen küçük C hücreleri bulunur ve kalsitonin olarak bilinen polipeptit hormonunu salgılar. Kalsitonin kalsiyum metabolizmasında etkili olan hormondur [2]. Hipokalsemiye yol açan iskelet ve diğer dokularda kalsiyum ve fosfatın birikmesine yardımcı olur. Bu fonksiyon parathormonun tersidir [22].

Yetersiz çalışan bir tiroit bezinin sebep olduğu hipotiroidizmin semptomları başlıca bradikardi, soğuk intoleransı, kabızlık, yorgunluk ve kilo alımı olarak kendini gösterir. Tiroit bezi fonksiyonunun artmasının neden olduğu hipertiroidizm ise kilo kaybı, ısı intoleransı, ishal, sinirlilik semptomlarıyla karşımıza çıkar. İyot, ince bağırsakta emilen temel bir eser element olup T3 ve T4'ün ayrılmaz bir parçasıdır. Azalan iyot alımı, iyot eksikliğine ve tiroit hormon sentezinin azalmasına neden olabilir. İyot eksikliği kretinizm, guatr, miksödem koması ve hipotiroidizme neden olabilir [22]. İyot ihtiyacı ekmek ve tuza katılan katkıları ile balık, süt, yumurta gibi besinlerden karşılanır. Tiroit vücudun içerdiği iyodun %90'dan fazlasını depolar ve plazma iyot kaybının 1/3'ünden sorumludur. Kalan plazma iyotu ise böbrekler aracılığı ile vücuttan atılır [26].

1.1.5. Tiroit Hastalıkları

Tiroit hormonu insan vücudunda hem homeostazda hem de büyüme ve gelişmede önemli etkilere sahiptir. Bu nedenle, tiroit hormon sentez ve/veya salgılanmasındaki herhangi bir düzensizlik vücudun işlevlerinde ağır bir bozukluğa yol açabilmektedir. Tiroit bezi hastalıkları hekimlerin en sık karşılaştığı endokrinolojik anormalliklerden biridir [1]. Tiroit bezi hastalıklarının değerlendirilmesi öncelikle fizik muayene ile tiroit fonksiyon testleri yapılmakta olup, tiroit dokusu fizik muayeneyle değerlendirilse de gelişen teknoloji sayesinde ultrasonografi fizik muayenenin önemli bir parçası haline gelmiş bulunmaktadır [24]. Tiroit hastalıkları genel olarak; guatr, tiroitit, hipertiroidi, hipotiroidi ve tiroit kanseri olmak üzere 5 ana grupta incelenmektedir [1].

1.1.5.1. Guatr

Guatr terimi, tiroit bezinin düzensiz ve anormal büyümesini ifade etmektedir [31]. İyot alımındaki veya tiroit hormon sentezindeki herhangi bir bozukluk sonucunda tiroit bezindeki şişkinlik ile karakterizedir. Guatra neden olabilecek faktörlerin arasında iyot yetersizliği, selenyum yetersizliği, genetik eğilim, tiroit bezinin iltihaplı hastalıkları (Hashimoto veya Tiroiditler), psikiyatrik hastaların kullandığı lityum ilacı, gebelik (iyot yetmezliği olan bölgelerde) ve hipofiz bezinden aşırı TSH hormon salgılanması bulunmaktadır. Kadınlarda erkeklere oranla daha sık karşılaşılmaktadır [1]. Guatrın klinik belirtileri, guatrın büyüklüğü ve tiroit disfonksiyonu yapmasına bağlıdır. Guatr hastalığı, diffüz (basit) guatr ve nodüler guatr olarak görülebilmektedir. Diyetle eksik iyot alınmasına bağlı olarak tiroit hormonlarının yetersiz sentezlenmesi ve TSH salgısının artması sonucu ortaya çıkan hastalığa non-toksik veya basit guatr anlamına gelen ötiroid guatr denir. Sonuçta, tiroit bezi büyümesi olur, nodül oluşumu görülmemektedir [1]. Hastanın yakınmaları tiroit büyüklüğü sebebiyle olup yutma ve solunum güçlüğü ve nadir olarak ses kısılması da olabilmektedir [4]. İyot eksikliği olan bölgelerde nüfusun %10'dan fazlasında guatr ortaya çıkıyorsa, bu guatlara endemik guatr, bu bölgelere de endemik bölgeler denir [30]. Endemik guatr önlenebilir bir hastalıktır [26]. Tiroit nodülleri, tiroit bezinde oluşan ve bezin normal dokusuna benzemeyen, farklı büyüklükte, yuvarlak veya oval kitlelerdir. Bu nodüller iyot eksikliği nedeniyle olabileceği gibi tiroit hormonu etkisizliği sonucu olarak da oluşabilmektedir. Tiroit nodülü saptandığında; TSH düzeyinin kontrolünü sağlamak, tiroit ultrasonografisi yaparak nodülün özelliklerinin değerlendirilmesi sağlamak gerekmektedir [29]. TSH ölçümü hastanın tiroit fonksiyonlarını göstermesinin yanında malignite riski yönünden de bilgi vermektedir [1].

1.1.5.2. Tiroiditler

Tiroidit, tiroit bezi iltihaplandığında ortaya çıkan, kana fazlaca tiroit hormon salınımı ile karakterize geçici bir tirotoksikoz sebebidir [32], [33], [34]. Genellikle ağrılı veya ağrısız kategorilere ayrılabilen birçok tiroidit türü vardır [32]. Tiroiditlerin çoğunlukla hepsinde tiroit follikülünün normal yapısı bozulmaktadır. Her bir tiroidit tipinin kendine özgü histolojik özelliği vardır. Tiroiditler, başlangıç hızına göre akut, subakut ve kronik tiroidit olarak sınıflandırılmaktadır [1]. Ayrıca sessiz (ağrısız, postpartum) tiroidit, doğum sonrası tiroidit, Riedel tiroiditi ve diğer tiroiditler de mevcuttur [35].

1.1.5.2.1. Akut Tiroidit

Akut tiroidit bakteriyel veya fungal enfeksiyonlar sonucunda oluşan iltihabi bir tiroit bezi hastalığıdır [1]. Genellikle malnütrisyonlu çocuklarda, bakımsız yaşlılarda ve immün sistemi çeşitli nedenlerle baskılanmış kişilerde görülür [23]. Klinikte ateş, tek taraflı şiddetli ağrı, tek taraflı şişlik (tipik olarak sol taraflı) ile karşımıza çıkar. Tanısında tiroit fonksiyon testlerinden ziyade akut sistemik hastalık ve sepsisin biyokimyasal bulguları görülür [35]. Tedavisinde abse drenajı ve antibiyoterapi kullanılan yöntemlerdir [26]. Tedaviden sonra genellikle tam iyileşme olur [35].

1.1.5.2.2. Subakut Tiroidit

Subakut tiroidit ağrılı tiroit bezi hastalıklarının en sık nedenidir [32]. Geçirilmiş bir viral enfeksiyonun ardından geliştiği düşünülmektedir. Genellikle tiroidit bulgularının ortaya çıkmasından 2-8 hafta önce geçirilmiş üst solunum yolları enfeksiyonu mevcuttur [35]. Yaygın semptomlar boyun ağrısı veya rahatsızlığı, palpasyonda hassasiyet ve ötiroidizm, hipotiroidizm gibi durumlardır [32]. Klinik olarak kulağa ve çeneye yayılan boğaz ağrısı, ses kısıklığı, yutma güçlüğü yanında fizik muayenede boyunda ağrı ve hassasiyet vardır [34]. Tedavisinde steroidler ve adrenokortikotropik hormon kullanılır [26].

1.1.5.2.3. Sessiz Tiroidit

Sessiz tiroit hashimoto tiroitinin bir alt grubu olarak kabul edilmektedir [1]. Semptomları hafiftir ve 4-8 hafta sonra azalmaya başlamaktadır. Tiroit bezinde ağrı veya hassasiyet yoktur. Bazı hastalarda ise hiç semptom görülmemekte hastalık rutin tetkikler sırasında saptanabilmektedir. Hastaların yarısında küçük bir guatr şekillenmiştir [1]. Tiroit fonksiyon testleri hastalığın fazlarına göre değişkenlik gösterir. Hastaların bir kısmında anti-tiroit peroksidaz antikoru saptanabilir. Kadınlar erkeklerden dört kat daha fazla etkilenmektedir ve diyetle iyot alımının yüksek olduğu bölgelerde yaşayan kişilerde risk artmaktadır [23].

1.1.5.2.4. Doğum Sonrası Tiroidit (Postpartum)

Fetal tiroit hücrelerine karşı oluşan antikorların annenin tiroit bezinde biriktiği otoimmün bir oluşumdur. Annede pozitif tiroit peroksidaz antikoru veya diğer otoimmün hastalıkların varlığı bir risk faktörüdür [32]. Yaygın bir otoimmün bozukluktur, hashimoto tiroiditinden sonra en yaygın ikinci otoimmün tiroidit tipidir. Doğumdan sonraki bir yıl içinde bir otoimmün mekanizma tarafından indüklenen yıkıcı bir tiroidittir. Postpartum tiroidit geçiren hastalarda senede bir defa tiroit fonksiyon test kontrolü

yapılmalıdır [35]. PPT’de tiroit hassasiyeti ve ağrısı görülmez, bildirilen semptomlar arasında yorgunluk, çarpıntı, ısı intoleransı ve sinirlilik bulunur [23].

1.1.5.2.5. Kronik Tiroidit (Hashimoto Tiroiditi)

Kronik lenfositik tiroidit ya da otoimmün tiroidit olarak da adlandırılmaktadır [25]. Dünya’da yeterli iyot olan bölgelerde hipotiroidizmin en sık nedenidir ve kadın olmakla ve yaşla sıklığı artmaktadır [33]. Tiroide karşı oluşan otoantikorlar hastalığa sebep olmaktadır [35]. Otoimmün/Hashimoto tiroiditi için tanı testleri, hastaların %90’ında bulunan tiroit peroksidaz antikorunu ve %20 ila %50’sinde bulunan tiroglobulin antikorunu içerir. Tiroit fonksiyon testleri, yüksek TSH ve düşük T3 ve T4 ile hipotiroidi tablosunu gösterir [32]. Esas tedavi medikal olup hipotiroidizm tedavisinde hastalar yaşam boyu günlük levotiroksin kullanır. Cerrahi tedavi malignite şüpheli vakalarda, ciddi servikal bası olduğunda veya kozmetik nedenlerle yapılır [23].

1.1.5.2.6. Riedel Tiroidit

Tiroidin tümünü tutan kronik inflamatuvar bir hastalıktır ve nadir görülmektedir [26]. Tiroit bezinin sertliğini ve büyüklüğünü azaltmak ve üst solunum yolu semptomlarını gidermek amacıyla kullanılan glukokortikoidler tedavinin temelini oluşturur [23]. Ancak trakeal ve özofageal obstruksiyon varsa bulguları gidermek amaçlı cerrahi müdahale gerekebilmektedir [26].

1.1.5.3. Hipotiroidizm

Hipotiroidi, tiroit hormonu üretimi azalması veya nadiren normal seviyedeki tiroit hormonlarının etkisizliği sonucu ortaya çıkan, metabolizmada yavaşlama ile karakterize bir hastalıktır [36]. Hastalarda kilo artışı, uykuya eğilim, egzersiz kapasitesinde azalma ve soğuğa karşı intolerans, yorgunluk, kötü hafıza gibi belirtiler mevcuttur [1], [33]. Hipotiroidizm semptomu olan her hastada ilk bakılması gereken tetkik TSH’dır. Aşık hipotiroidizm yüksek TSH ve düşük serbest T4 düzeyi ile ilişkili olup, normal serbest T4 ve artmış TSH subklinik hipotiroidiyi göstermektedir. Düşük TSH veya beklenmeyen durumla normal olan TSH seviyelerine eşlik eden düşük serbest T4 düzeyleri varlığı sekonder hipotiroidi durumunu gösterir ve hipotalamus-hipofiz yetmezliğinin güçlü bir destekleyicisidir [33]. Hipotiroidizm birçok durumda kalıcıdır, tanı kesinleştikten sonra tedavi edilmelidir. Tedavisi genellikle ömür boyu sürer [26]. Günümüzde hipotiroidi tedavisinde tercih edilen ilaç levotiroksin (LT4)’dir [28].

1.1.5.4. Tiroit Kanserleri

Tiroit kanseri tiroit nodüllerinin %7-15'inde görülür [3]. Tiroit nodülü tespitinin amacı, tiroit kanseri (malign nodüller) olan vakaları belirlemektir. Günümüzde en yaygın görülen malign endokrin tümördür ve tüm kanser hastalarının %3,8'ini temsil etmektedir [20]. Tiroit kanserleri klinik ve prognoz yaş, tümör alt tipi, hastaya ait faktörlere göre değişmekle birlikte genellikle iyi diferansiye tiroit kanserleri uzun süredir var olan, yavaş ilerleyen, asemptomatik bir seyre sahiptir [20]. Kadınlarda erkeklerden 3 kat daha sık görülür [29]. Tiroit parankimi iki ana hücre tipinden oluşur; diferansiye tiroit kanserine (DTK) yol açan tiroit foliküler hücreleri ve medüller tiroit kanserine (MTK) yol açan parafoliküler veya C hücreleridir [22]. Tiroit kanserlerinden; papiller tiroit kanseri en sık görülen tiptir, ikinci olarak ise foliküler tiroit karsinomu en sık görülmektedir [20]. En iyi prognoz gösteren tip PTK'dir [29]. Ses kısıklığı, ağrı, yutma güçlüğü, şişlik, boyun asimetrisi tiroit kanserlerinin başlıca klinik belirtileridir [29]. Tiroit kanseri için risk faktörleri arasında guatr ve tiroit nodülü varlığı, belirgin bir tiroit hikayesi, tiroitit veya hipertiroidizm varlığı düşünülmektedir. Endemik guatr bölgeleri veya iyot alımının yüksek olduğu alanlar dahil iyot dengesizliği olan bölgeler ile zayıf beslenme koşullarının olduğu bölgelerde ve ayrıca özellikle baş ve boyun bölgesine iyonize radyasyona maruz kalmış kişilerde tiroit kanserine daha sık rastlanılmaktadır [1]. Ölüm oranı son birkaç yılda sabit kalırken, insidansı dünya çapında istikrarlı bir şekilde artmaktadır [22]. Tiroit kanserinin klinik başvuru bulgusu palpe edilen veya daha sıklıkla boyun ultrasonografi (USG) ile saptanan bir nodüldür. Tiroit kanserinin kesin tanısı çoğunlukla tiroit ince iğne aspirasyon biyopsisi (TİİAB) ile konulmaktadır. Tiroit karsinomlarının birinci basamak tedavisi cerrahidir. Tüm yüksek riskli hastalarda cerrahiden sonra kalan tiroit hücrelerini yok etmek için genellikle oral olarak uygulanan radyo-iyodin önerilir [37]. Tiroit kanseri tedavisinde güncel yaklaşımda kullanılan tedavi seçenekleri cerrahi yaklaşım, radyoaktif iyot tedavisi (RAİ) dışında kemoterapi (KT), hormonal tedavi, kinaz inhibitörleri ve takip şeklinde sınıflandırılabilir [29].

1.1.5.5. Hipertiroidizm ve Tirotoksikoz

Hipertiroidizm tiroit hormonlarının yüksek düzeyde sentezlenmesi ve salgılanması sonucunda T4'ün, T3'ün veya her ikisinin birlikte kan konsantrasyonlarının yüksek olmasıdır [38], [24]. Ortaya çıkan bulgular genellikle kalp atımında hızlanma, ellerde titreme, çarpıntı hissi ve kontrolsüz kilo kaybı olarak görülmektedir [28]. Hipertiroidi biyokimyasal ciddiyetine göre aşikâr (klinik) ve subklinik hipertiroidi olarak

sınıflanmaktadır. Aşikâr hipertiroide baskılanmış TSH, yüksek ST4 ve/veya ST3 vardır [39]. Subklinik hipertiroide, düşük TSH düzeylerinin yanında normal seviyede ST3 ve ST4 konsantrasyonu vardır [24]. Hipertiroidizm yaşla birlikte artar ve kadınlarda 10 kat daha fazla görülür [38], [24]. Tedavi edilmemiş hipertiroidi durumunda osteoporoz, fragilite fraktürleri, embolik olaylar, atriyal fibrilasyon ve kardiyovasküler disfonksiyon gelişebilmektedir [39]. Hipertiroidizmin sinir sistemi üzerine ciddi etkileri olabilir. Değişen zihinsel durum ve bilişsel bozukluk ortaya çıkabilir. Hipertiroidizmde tanı anamnez ve fizik muayene ile başlar. Tanıyı kesinleştirmek için ilk bakılacak tetkikler TSH ve ST4'tür. ST4 normal bulunursa ST3 bakılmalıdır [38]. Hipertiroidi tanısı kesinleştikten sonra etiyolojik araştırma için radyoaktif işaretli teknesyum veya iyot ile tiroit sintigrafisi yapılmalıdır [39]. Tedavi için anti-tiroit ilaç (ATİ), cerrahi, RAİ tedavisi ve semptomatik tedavi kullanılabilir [28]. ATİ olarak çoğu hastada metimazol (MMI), gebelikte, gebelik planlayan hastalarda ve tirotoksik krizde ise propiltiourasil (PTU) kullanılmalıdır [39]. Radyoaktif iyot tedavisi güvenli ve uygun maliyetlidir [38]. Radyoaktif iyot tedavisinde amaç hastada ötiroidizm sağlamaktır Kontrendikasyonların başlıcaları gebelik, gebelik planı, emzirmedir [28]. Tiroidektominin öncelikli tercih edildiği durumlar; tiroit bezinin çok büyük olması, bası semptomlarının olması, RAİ için kontrendikasyonu olması, Graves oftalmopatisi olması, 18 yaşın altı ve hastanın operasyon istemesidir [28].

Tirotoksikoz kanda yüksek derecede tiroit hormonu bulunması ile karakterize durumdur. Eğer tirotoksikoz tiroit bezinin aşırı tiroit hormonu sentezlemesinden kaynaklanıyorsa bu tabloya hipertiroidi, bunun dışındaki nedenlerden (örneğin tiroidite bağlı tiroide depolanmış hormonların kana salınmasıyla oluşan tablodaki gibi) kaynaklanıyorsa hipertiroidi olmayan tirotoksikoz denir. Tirotoksikozun en sık sebebi Graves hastalığıdır [34] Tirotoksikoz tanısında en sık kullanılan laboratuvar incelemeleri serum tiroit hormonu ve TSH düzeyi ölçümleridir. Tirotoksikozlu bir hastada hipertiroidizm bulunup bulunmadığına tiroitde radyoiyot tutulumu testi ile bakılır [4]. Görüntüleme yöntemlerinden teknesyum-99m (^{99m}Tc) veya RAİ tutulumu tirotoksikozun ayırıcı tanısı için yol göstericidir. Tutulumun normal ya da artması hipertiroidizm (toksik adenom, toksik multinodüler guatr ya da Basedow-Graves) düşündürürken azalmış tutulum ise artmış üretime bağlı olmayan tirotoksikozlar lehinedir [28]. Tedavi seçenekleri ATİ, RAİ, cerrahi ve semptom kontrolü için kullanılan ilaçlardan oluşur. En sık kullanılan antitiroit ilaçlar tiyonamidler; PTU ve MMI'dır [38]. Tirotoksikozun etkin ve hızlı tedavisi cerrahidir. Özellikle oftalmopatisi olan hastalarda total tiroidektomi en ideal cerrahi

yöntemdir. Medikal ve radyoaktif iyot tedavisinin başarısız olduğu hastalar için cerrahi müdahale düşünülmelidir [26]. Tiroit fırtınası meydana gelen hastaların tedavisinde hızlı sıvı replasmanı, beta-blokörler, antitiroit ilaçlar, steroidler ve iyot solüsyonları kullanılmaktadır [26].

1.1.5.6. Graves Hastalığı

Tirotoksikozun en sık rastlanan sebebi Graves hastalığıdır [34]. Hastalığın oluşumunda genetik faktörler önceliklidir [3]. Her yaşta görülme ihtimali vardır ve kadınlarda daha sık karşılaşılır [4]. TSH reseptörlerini uyaran tirotropin reseptör antikörlerinin tiroit hormon sentezini artırdığı otoimmün bir hastalıktır [34]. Graves hastalığı tiroit otoantikor varlığı ile bezde bulunan otoreaktif lenfositlerle karakterizedir [24]. Tirotoksikoz tanısı konulmuş olan bir hastada orbitopati, dermopati, akropati gibi Graves hastalığı için tanı konulmasını sağlayan bulgular varsa ileri bir teste ihtiyaç kalmaz. Eğer bu bulgular yoksa TSH reseptör antikoru (TRAb) tanıya yardımcı olur [3]. Graves hastalığının tedavisinde semptom ve altta yatan hipertiroidizmin kontrolü için ATİ ile medikal tedavi, radyoaktif iyot tedavisi ve total tiroidektomi temel tedavi yöntemleridir [3]. Tedavi sürecinde nüks sık görülür. 12 aydan uzun süre antitiroit ilaç titrasyonu, immünosupresif ajanlar, vitamin D, selenyum ve sigarayı bırakma Graves hastalarında nüksü önlemek için faydalı bulunmuştur [37].

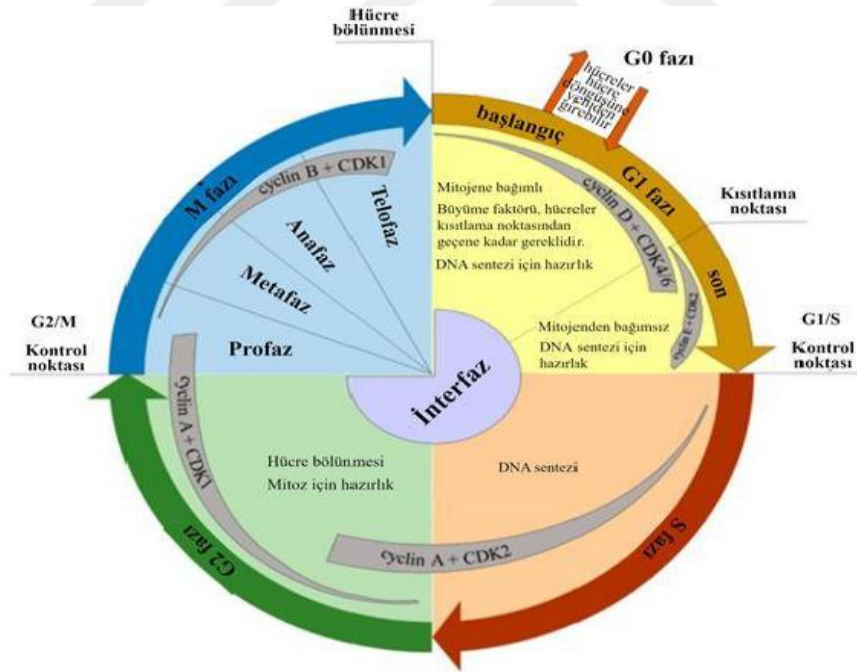
1.2. HÜCRE BÜYÜMESİ, ÇOĞALMASI VE ÖLÜMÜ

1.2.1. Hücre Döngüsü

Hücre proliferasyonu, farklılaşması, fonksiyonel özellikleri ve sonuçta hücre ölümü yaşam için kritik öneme sahiptir [5]. Bir hücrenin genomunu kopyalayarak büyüdüğü ve bölünerek genetik olarak birbiri ile özdeş iki yavru hücrenin meydana getirdiği olaylar zincirine hücre döngüsü denmektedir [40], [41]. Hücre döngüsündeki süreç hücre dışı büyüme sinyalleri, hücrenin boyutu, DNA bütünlüğünün kontrolü gibi mekanizmaları içeren oldukça düzenli bir süreçtir [42]. Hücrelerin yaşamı sürekli bir döngü şeklinde devam etmektedir [8]. Bu döngü hücre büyümesi, üremesi ve hücre onarımı için gereklidir. Döngüdeki mutasyonlar, aksamalar ve eksiklikler sebebiyle kanser gibi ciddi hastalıklar meydana gelebilmektedir [40].

Hücre döngüsü G1 fazı, S fazı (sentez), G2 fazını içeren interfaz evresi ve M fazı (mitoz ve sitokinez) olarak bilinen mitotik evre olmak üzere dört aşamadan oluşmaktadır (Şekil

1.3) [40], [43]. İnterfazda hücre büyür, kromozomlarını çoğaltır ve hücre bölünmesine hazırlanır. İnterfaz G0, G1, S ve G2 fazı olarak dört evreden oluşur [8]. İnterfazın ilk evresi olan G1'de hücre DNA sentezine hazırlık için protein sentezi ve organel sayısı artırır. Bölünmeye uygun olan hücre, S evresine doğru ilerleyerek bölünme yoluna girer. Belirli dış sinyaller tarafından uyarılmayan hücre ise G0 olarak isimlendirilen dinlenme evresine girer [41]. S fazı sırasında, DNA replikasyonu meydana gelir ve her bir kromozom, iki kardeş kromatit haline gelecek şekilde kopyalanır [40]. Mitoz için hazırlık evresi olan G2'de protein/lipid sentezi gerçekleşir ve bu durum ortalama 4 saat civarı sürmektedir. G2/M kontrol noktasında DNA replikasyonu sonrasında oluşan DNA çift sarmal kırıkları onarılır ve hücre bölünmesinin tamamlanması için mitoz evresine geçiş olur [41]. Daha kısa süren ikinci periyot ise hücrelerin genetik materyalinin bölündüğü ve sitokinezin olduğu M fazı olarak adlandırılan mitozdur [8]. M evresi; profaz, prometafaz, metafaz, anafaz ve telofaz olmak üzere beş evrede gerçekleşen mitozla başlayıp sitokinez ile sonlanmaktadır [40]. M fazı da tamamlandıktan sonra hücre bölünmesi gerçekleşir ve geriye iki hücre kalır, hücre döngüsü yeniden başlayabilir [8].



Şekil 1. 3. Hücre Döngüsü.

1.2.2. Hücre Ölüm Yolakları

Hücreler gelişim süreçleri de dahil olmak üzere çeşitli durumlarda düzenlenmiş hücre ölümü biçimlerine maruz kalmaktadırlar. Hücre ölümü işlevsel yönlerine göre kaza sonucu hücre ölümü (ACD) ve düzenlenmiş hücre ölümü (RCD) olarak ayrılır. Kaza

sonucu hücre ölümü, herhangi bir olası kontrol mekanizmasını aşan beklenmedik saldırı ve yaralanma ile tetiklenebilmekte iken düzenlenmiş hücre ölümü fizyolojik koşullarda ortaya çıkar ve programlanmış hücre ölümü olarak da bilinir [44]. Çok hücreli organizmalarda bir hücre zarar görürse veya o hücreye daha fazla ihtiyaç duyulmazsa, hücre içi ölüm programı devreye girer ve hücre aşamalı bir şekilde ölür. Bu yüzden bu süreç ‘Programlı Hücre Ölümü’ adını almıştır [45]. Programlanmış hücre ölümü, çok hücreli organizmalarda çeşitli fizyolojik süreçler için çok önemlidir. Programlanmış hücre ölümünün kuralılaştırılması, kanser ve nörodejenerasyon gibi birçok insan hastalığının gelişmesine katkıda bulunur [9]. Hücre Ölümü Adlandırma Komitesi’ne göre programlanmış hücre ölümleri nekroz, otofaji, apoptoz, ferroptoz başta olmak üzere toplam 11 farklı mekanizma şeklinde gerçekleşir [8].

1.2.2.1. Nekroz

Hücreler ani şekilde hasar gördüklerinde şişerek ve patlayarak ölürlere ve içeriklerini etrafa dağıtarak yangısal (iltihaplı) bir yanıt oluştururlar. Bu ölüm şekline ‘nekroz’ denilmektedir [45]. Nekroz tip III hücre ölümüdür ve tip I ve II gibi diğer mekanizmaların eşlik ettiğı ölüm biçimlerine göre daha hızlı olarak ilerlemektedir. Nekrozda hücrelerde otofaji ve apoptozda gözlemlenen morfolojik olaylar görülemezken, bazen yüksek oksidatif stres ve hücre haciminde artış görülebilmektedir [11].

1.2.2.2. Otofaji

Otofaji, Yunanca kendi kendini yeme anlamına gelmektedir [46]. Gereksiz veya işlevsiz hücre bileşenleri ortadan kaldıran düzenlenmiş bir mekanizma olan otofaji aynı zamanda metabolik substratları geri dönüştürür. Hücre ve organizma homeostazının korunması için temel moleküler bir yoldur [47]. Otofaji, hücre içi büyük moleküllerin ve organellerin bir kesecik içine alınarak lizozomlara gönderilmesi ve burada lizozomlar ile birleşerek parçalanmasını sağlayan bir mekanizmadır [46]. Lizozomlardaki hücre içi proteinleri ve organelleri tutmak, parçalamak ve geri dönüştürmek için besin yoksunluğu ve stres tarafından uyarılmaktadır. Bu bozunma şeklinin temel işlevleri, metabolitlerin geri dönüşümü ve sağlanması yoluyla metabolizmayı sürdürmek, protein ve organel kalitesini kontrol etmek ve hücre içi bakterileri ortadan kaldırmaktır [47]. Üç tip otofaji bilinmektedir. Bunlar; mikrootofaji, şaperon aracılı otofaji ve makrootofajidir [45]. Mikrootofaji, seçici organellerin bozulma sürecinde rol oynar ve lizozomlar tarafından sitozolik içeriğın direkt olarak parçalanması ile gerçekleşir [46]. Şaperon aracılı otofaji,

proteinlerin lizozoma getirildiği biyokimyasal bir süreçtir [45]. Makrootofaji ise, üzerinde en çok çalışılan otofaji tipi olarak PHÖ ile ilişkilendirilir. Büyük hücresel yapıların veya organellerin çift membranlı otofagozom içine alınarak ve lizozomlar ile birleşerek otolizozom meydana getirmesi ve sindirilmesi işlemidir [46].

1.2.2.3. Apoptoz

Apoptoz programlanmış bir hücre ölümü şekli olup, hücrenin doğal bir mekanizmasıdır. Organizmanın görevini tamamlamış, ihtiyaç duymadığı veya hasarlanmış hücreleri zararsız bir şekilde ortadan kaldırmasını sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen yüksek derecede düzenlenmiş, adenosin trifosfat (ATP) bağımlı ve enzim aracılı bir süreçtir [48]. Normal şartlarda organizmanın gelişimi ve yaşlanma sürecinde homeostaziye sağlama görevi görüyor olsa da aynı zamanda organizmanın savunma mekanizmasında da görev almaktadır [45]. Apoptozda morfolojik olarak hücre membranı sağlam kalır [48]. Hücredeki organeller de membran gibi bozulmadan kalır [48]. Apoptozun ilk başlarında, hücre küçülmesi ve sitoplazma yoğunlaşması görülür. Apoptozun bir diğer dikkat çeken özelliği hücrede piknoz durumu denilen çekirdek büzüşmesidir. Piknoz, kromatin yoğunlaşmasının bir sonucudur. Daha sonra karyoreksis adı verilen kromatinlerin sitoplazmada dağılması ve hücre parçalarının apoptotik cisimlere ayrılması gelir [8]. Ölen hücrelerin ortadan kaldırılması, apoptotik cisimlerin kendiliğinden parçalanıp sekonder nekroz oluşumunu dolayısı ile immün cevabı önler ve dokunun yeniden şekillenmesini sağlar. Apoptozun belki de en dikkat çekici özelliği, oldukça düzenli doğasıdır [44]. Birçok hastalıkta kontrol edilemeyen hücre ölümü veya hücre çoğalması temel mekanizmalardan olduğu için birçok hastalığın güncel tedavisinde apoptoz önemli yer tutmaktadır [48].

1.2.2.4. Ferroptoz Ölüm Yolu

Ferroptoz İlk olarak 2012 yılında, Dixon ve arkadaşları tarafından erastin bileşiğinin fibrosarkoma hücrelerindeki etkisinin araştırılması sırasında keşfedilmiştir [7], [12]. Demir bağımlı lipid peroksidasyonu ve artmış oksidatif stres ile karakterize düzenlenmiş, kontrollü bir hücre ölüm mekanizmasıdır [11]. Ferroptozun tümörjenez ve kanser, nörodejenerasyon, doku hasarı ve enfeksiyonla ilişkili olduğu bilinmekte olup kanser hücrelerinde metabolik yeniden programlanmanın ferroptozu karşı kazanılmış duyarlılıkla ilgili olduğu ve bu nedenle ferroptozu hedeflemenin tümör baskılanmasında önemli rolünün olacağı belirtilmektedir [10]. Ferroptozda hücre hacminin küçülmesi ve

artan mitokondriyal membran yoğunluğu dahil olmak üzere hücre içi ROS, lipid peroksitleri ve demir düzeylerinin artışı, redükte glutasyonu okside eden enzimlerden özellikle GPX4 eksikliği, xCT sisteminin inhibisyonu gibi bazı genlerin transkripsiyon düzeylerindeki belirli değişiklikler ile karakterize edilmektedir [49], [12]. Ferroptozun morfolojik özelliği, apoptoz sırasında rastlanan hücre büzülmesinden ve kabarcıkklanmadan farklı olarak hücre şişmesidir. Bu tür hücre ölümü, demir şelatörleri (deferoksamin) ve E vitamini gibi antioksidanlarla ya da sentetik bir inhibitör olan ferrostatin-1 (Fer-1) ile inhibe edilebildiği gibi NRF2 gibi hücrel transkripsiyon faktörleri ile de inhibe edilebilmektedir [12]. Ferroptozun başlatılması ve yürütülmesi, amino asit, lipid ve demir metabolizmasının kesişiminde yatmaktadır, ancak ferroptoz duyarlılığı aynı zamanda diğer birkaç yol ve süreç tarafından da modüle edilir [7].

1.2.3. Ferroptozun Moleküler Temelleri

1.2.3.1. Ferroptozun Lipid Peroksidasyonu Yolu İle Düzenlenmesi

Lipit üretimi, hayatta kalmanın temelidir ve lipid peroksidasyon yolu ferroptozun düzenlenmesinde anahtar rol oynamaktadır [10], [50]. Lipid peroksidasyon döngüsü doymamış yağlardan hidrojenin kopmasıyla meydana gelen lipid radikallerini bulundurmaktadır [11]. Çalışmalar, ferroptozun araşidonik asit (AA) ve epinefrin gibi spesifik polifosforile fosfatidiletanolamin (PE) içeren çoklu doymamış yağ asitlerini (PUFA'lar) tercihli olarak oksitlediğini göstermektedir [50]. PUFA'lar, lipit peroksidasyonuna duyarlı olup ferroptozun yürütülmesi için gereklidir [7]. PUFA'ların bolluğu ve lokalizasyonu, hücrelerde meydana gelen lipit peroksidasyonunun derecesini ve ferroptozun işlevselliğini belirler [7]. Serbest PUFA'lar, lipit sinyal aracılarının sentezi için gerekli substratlardır, ancak ferroptotik sinyaller haline gelmek için membran fosfolipitlerine esterleştirilmeleri ve oksidasyona uğramaları gerekmektedir [7]. Ferroptozda görülen lipid peroksidasyonu demir bağımlı olup, non-enzimatik olarak gerçekleşmektedir. Hücrede bulunan ferröz demir ile doymamış lipid yapılı moleküller fenton reaksiyonuna girerek lipid radikallerini oluşturmaktadırlar [12]. Bu lipid radikalleri oksijenasyona uğrayarak lipid peroksi-radikallerini meydana getirerek diğer doymamış yağlardan hidrojenin kopmasına sebebiyet vermektedir. Sonrasında lipid peroksitler, lipid oksi radikalleri ve hidroksi radikallerine parçalanabilmektedir [11]. Lipidlerin enzimatik oksidasyonunda siklooksijenazlar (COX), lipooksijenazlar (LOX) ve sitokrom p450 enzimleri görev almaktadır. Bunlardan ferroptoz için en önemli olanı

demir içeren LOX enzimleridir. Özellikle ALOX15 enziminin ferroptotik hücre ölümünde membran lipidlerinin oksidasyonundan sorumlu olduğu bildirilmektedir [12]. Lipid peroksidasyonu sonucunda bir grup aldehit yapılı oksidasyon ürünü oluşmaktadır. MDA, 4-hidroksihekzenal (4-HHE) ve 4- hidroksinonenal (4-HNE) bu ürünlerden en yaygın olanlarıdır. MDA oldukça mutajenik bir üründür ve özellikle araşidonik asit ile daha büyük PUFA moleküllerinin peroksidasyonu sonucu oluşmaktadır. Hücrede yüksek miktarda MDA birikimi diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser gibi patolojik olaylarla ilişkilendirilmektedir [12]. Lipid bileşimini düzenleyen anahtar bir enzim olan ACSL4 ferroptozun yürütülmesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Lipid peroksidasyon yolu sırasında ACSL4, endoplazmik retikulum ile ilişkili oksijenasyon merkezinde oksitlenmiş PE üreterek ferroptozu teşvik eder ve ACSL4, AA veya AdA asil Co-A türevlerini üretmek için AA veya adrenalinin (AdA) bağlanmasını katalize eder. Daha sonra lisofosfatidilkolin asiltransferaz 3 (LPCAT3) ile PE'ye (AA-PE ve AdA-PE) esterleştirilerek AA-PE ve AdAPE, lipid hidroperoksit üretmek üzere 15-lipoksijenaz (15-LOX) tarafından oksitlenir ve bu sonuçta ferroptozu yol açar [50]. Lipid peroksidasyonuna sebebiyet veren substratlar olan çoklu doymamış yağ açıl fosfolipidlerin (PUFA-PL) azalması, demir şelatörleri, lipofilik antioksidanlar ve lipid peroksidasyon inhibitörleri, ferroptoz inhibitörleri olarak bilinmektedir [11]. Ayrıca lipofilik antioksidanlar, lipid radikal ara ürünlerini baskılayarak ve lipid peroksitlerini direkt olarak hidrojen atom transferi ile lipid alkollerine indirgeyerek ferroptotik hücre ölümünü engellemektedir [11].

1.2.3.2. Ferroptozun Amino Asit ve Glutasyon Metabolizması ile Düzenlenmesi

Amino asit metabolizması ferroptozun düzenlenmesi için önemlidir [50]. Membran lipidlerini ve diğer moleküllerin oksidasyona uğramasını engellediği için hücrede GSH varlığı önem kazanmaktadır. GSH, sistein, glutamat ve glisinden türetilen bir tripeptittir [51]. Hücreler GSH'ı sentezleyebilmek için bazı aminoasitlerin varlığına ihtiyaç duymaktadırlar ve bunların arasında sistein hız sınırlayıcı öncüdür. Sistein aminoasiti, hücre içinde yeterli düzeyde bulunmadığından, hücre dışından da sistein alınması gerekmektedir. Bu transportu, XCT sistemi sağlamaktadır [8], [12]. Sistem Xc disülfid bağlı heterodimer yapıda olan bir Na^{+2} bağımlı membran sistein-glutamat taşıyıcısıdır ve bir hafif zincir (XCT, SLC7A11) ve bir ağır zincir alt biriminden (SLC3A2) oluşmaktadır [49]. Hücre içi glutamat, hücre dışına taşınırken, Xc sistemi hücre dışı sisteini hücre içine taşır, sonrasında GSH sentezi için sistein haline dönüşür. Sisteinin hücreye alımı, GSH

sentezi için önemli bir adımdır ve GSH üretimi, hücrelerin, oksidatif stres yanıtlarının neden olduğu hasardan korunması için kritik bir öneme sahiptir [49]. GPX4 vücudumuzdaki bir lipit onarım enzimidir. GPX4, potansiyel olarak toksik lipid hidroperoksitleri (L-OOH) toksik olmayan lipid alkollere (L-OH) dönüştürerek demir ve oksijene bağlı lipit peroksidasyonuna direnç gösterir ve ferroptoz düzenlemesinde anahtar enzim olarak görev yapar. GSH, GPX4 için bir kofaktör ve sentetik bir substrattır ve GPX4'ün artan oksidatif stres sırasında hücre zarlarının lipid peroksidasyonunu düzenlemesi için gereklidir [50]. GSH biyosentezi ve GPX4'ün düzgün çalışması, ferroptozu kontrol altında tutmaktadır. GPX4 inhibisyonu ile sonuçlanan koşullar ferroptotik hücre ölümünü hassaslaştırmakta ve tetiklemektedir. Tümör hücrelerinde GPX4 baskılanması ferroptozu indükleyebilir [10], [52]. Glutamin-sistein sentaz aktivitesi, sistein konsantrasyonu ve GSH geri besleme inhibisyonu, doğrudan GSH sentezini düzenler, böylece GPX4'ün enzimatik aktivitesini etkiler [10]. Glutamat ve glutamin de ferroptozun önemli düzenleyicileridir [7]. Glutamat, GSH 'nın sentezi için gerekli olan önemli bir ham maddedir ve alımı esas olarak sistein/glutamat taşıma kompleksi Sistem Xc'e bağlıdır [10]. Hücre dışı glutamatın birikmesi, fizyolojik bağlamlarda ferroptozu tetiklemek için doğal bir tetikleyici görevi görebilir. Yüksek hücre dışı glutamat konsantrasyonları Sistem Xc'yi inhibe eder ve ferroptozu indükler; bu belki de glutamatın sinir sisteminde yüksek konsantrasyonlara biriktiğinde toksik etkilerini açıklar. Glutamin, insan dokularında ve plazmasında doğal olarak yüksek konsantrasyonlarda bulunur ve glutaminoliz yoluyla bozunması, trikarboksilik asit (TCA) döngüsü için yakıt ve lipid biyosentezi gibi temel biyosentetik işlemler için yapı taşları sağlar. Glutamin yokluğunda veya glutaminoliz inhibe edildiğinde, sistein açlığı ve sistein ithalatının bloke edilmesi, ROS, lipit peroksidasyonunun ve ferroptozun birikmesini tetiklemede başarısız olur [7].

1.2.3.3. Ferroptozun Demir Metabolizması ile Düzenlenmesi

Demir, serbest radikal oluşumunda ve lipit peroksidasyonunun yayılmasında rol oynayabilen redoks aktif bir metaldir. Hücre içi demir, hücresel fonksiyonların yerine getirilmesinde oldukça önemli olup ferroptotik hücre ölümü demire ihtiyaç duyan bir hücre yıkım biçimi olarak bilinmektedir [10], [11], [50]. Yüksek demir seviyeleri, ROS tarafından Fenton reaksiyonu üreterek ferroptozu katkıda bulunur [49]. Vücutta dolaşımdaki transferrine bağlı biçimde bulunan ferrik demir (Fe^{3+}) transferrin reseptörü 1 (TFR1) yolu ile hücrelere alınmaktadır. TFR1 bir membran proteindir [11]. Fe^{3+} daha

sonra endozomlarda STEAP3 ile ferröz demir (Fe^{2+}) ye dönüştürülebilir [13]. Ferröz demir sonrasında, SLC11A2 şeklinde de isimlendirilen DMT1 vasıtasıyla, endozomun içinden sitoplazmadaki bir kararsız demir havuzuna aktarılmaktadır [11]. Artan demir, bir demir depolama protein kompleksi olan ferritin içinde veya hem de depolanabilir [49]. Ferritin iki alt birim içerir; bunlar FTL (hafif zincir) ve FTH1 (ağır zincir)'dir [10]. Demirin dışarı atılması, SLC11A3 şeklinde de isimlendirilen bir demir akış pompası olan ferroportin vasıtası ile meydana gelmektedir [11]. Nükleer reseptör koaktivatörü 4 (NCOA4), ferritinin lizozomal otofajik dönüşümü için seçici bir reseptördür. Hücre içi demirler tükendikten sonra ferritin, NCOA4 yoluyla otofajik bozunmaya uğrar ve böylece artan serbest demir seviyelerine Fe^{2+} salınır. Bu süreç, Fenton reaksiyonu yoluyla ferroptozu teşvik eden, ROS birikimi ve lipid peroksidasyonu ile sonuçlanan ferritinofajidir [13]. Ferroptoz regülasyonunda rol oynadığı gösterilen bir diğer protein ise hücre içi demir düzeylerine yanıt olarak aktif veya inaktif olan IREB2 (Demire duyarlı eleman bağlayıcı protein 2) molekülüdür. Bu protein hücre içi demir düzeyleri düşük olduğunda aktifleşerek demir metabolizmasında rol alan mRNA'ların translasyonunu regüle etmekte ve sonuçta demir miktarını arttırmaktadır. IREB2 demir metabolizmasının en önemli transkripsiyon faktörü konumunda bulunmaktadır. IREB2'nin RNA interferans metodu ile baskılanması neticesinde demir metabolizmasıyla alakalı gen ekspresyonunun büyük miktarda arttığı ve bu olayın erastin kaynaklı ferroptozu engellediği kanıtlanmıştır. Bu veriler, hücrede ferroptozun uyarılması için demirin alınması ve yararlanılmasına gereksinim duyulduğunu ispat etmektedir. Kanser hücrelerinde demir düzeylerinin artış göstermesinden hareketle organizmanın, bu yüksek orandaki demiri kullanarak bir çeşit adaptif hücre ölümü geliştirdiği ve böylece ferroptozu kansere karşı bir savunma mekanizması olarak kullandığı düşünülmektedir [11].

1.2.3.4. Ferroptozun ROS Metabolizması İle Düzenlenmesi

Hücrede çeşitli metabolik olaylar sonucunda oluşan en dış orbitallerinde eşleşmemiş elektronu bulunan radikal, iyon veya moleküllere ROS adı verilir [8]. ROS konsantrasyonunun; hücrenin kendi antioksidan sistemlerini kullanarak bunları detoksifiye etme yeteneğinin üstesinden geldiğinde ortaya çıkan dengesizliğe oksidatif stres denilmektedir [18]. OS'ye bağlı bozukluklar birçok dokuyu etkileyebilir, özellikle de dış ortamla (örn. akciğer) doğrudan temas halinde olan dokuları etkileyebilir, normal fizyolojilerinin (örn. kas) araçları veya yan ürünleri olarak yüksek miktarda serbest radikal üretir [18]. Hücre içinde çeşitli biyokimyasal olaylar sonucunda oluşan ROS

elimine edilmediği takdirde önemli hücrel yapıları oksidasyona uğratarak fonksiyon bozukluklarına ve/veya ölüme neden olmaktadır. Bunun engellenmesi için ROS türevleri hücrede bulunan antioksidan etkili glutatyon tarafından non-toksik formlara dönüştürülmektedir [12]. Hücrede oksidatif stresi azaltmak, hücreyi buna karşı korumak ve hücreden ROS türlerini temizlemek için yer alan antioksidan sistemleri; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), GSH, GPX, glutatyon redüktaz (GR) şeklinde karşımıza çıkmaktadır [10], [11]. Hidroksil radikalleri (OH-) ve hidroperoksitler (ROO), oksidatif stres sırasında lizozomal membranların bütünlüğünü tehlikeye atarak hücre sağkalımını ve lipidleri etkileyen en yaygın iki ROS'dur [10]. ROS, ferroptozda anahtar sinyaller olarak kabul edilen redoks reaksiyonlarından kaynaklanan oksidanlardır ve ferroptozda hücre içinde bulunan kararsız Fe²⁺ iyonları H₂O₂ ile fenton reaksiyonuna girerek lipidler için oldukça tehlikeli olan ROS türevlerinin üretilmesine sebep olmaktadır. Hücre içi artan ROS miktarı hem hücre bütünlüğüne hem de hücre içi organel membranlarının hasar görmesine neden olmakta ve böylece ferroptozu uyarmaktadır [10], [13]. Tutarlı bir şekilde, ferroptoz inhibitörleri (ferrostatin gibi) ve çeşitli antioksidanlar veya ROS temizleyicilerin tümü, hücrel ROS birikimini ve ferroptotik hücre ölümünü tamamen engelleyebilir [9].

1.2.3.5. Ferroptoz duyarlılığını kontrol eden diğer metabolik yollar

Ferroptoz birçok yolk tarafından düzenlenmektedir [49]. Yakın zamanda farklı ferroptoz düzenleyicileri de keşfedilmiştir, bunların arasında MTORC1, hücre büyümesi ve metabolizmasının merkezi bir kontrolörüdür. MTORC1 inhibitörleri, kanser de dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır [16]. Çok sayıda çalışma, MTORC1, AMPK, p53, BAP1 ve diğer bazı düzenleyicilerin, XCT ekspresyonunun modüle edilmesinde ve ferroptozun düzenlenmesinde önemli roller sergilediğini göstermektedir [30]. Çeşitli çalışmalar ise, NRF2'nin demir, lipid ve amino asit metabolizması vb. çeşitli fonksiyonları nedeniyle ferroptozun düzenlenmesinde son derece önemli bir rol üstlendiğini kanıtlamıştır [53].

1.3. MTOR VE NRF2

1.3.1. MTOR

Rapamisin'in memeli hedef proteini olarak adlandırılan MTOR (memeli veya rapamisin'in mekanik hedefi) ilk olarak 1995 yılında RT Abraham'ın laboratuvarı tarafından rapor

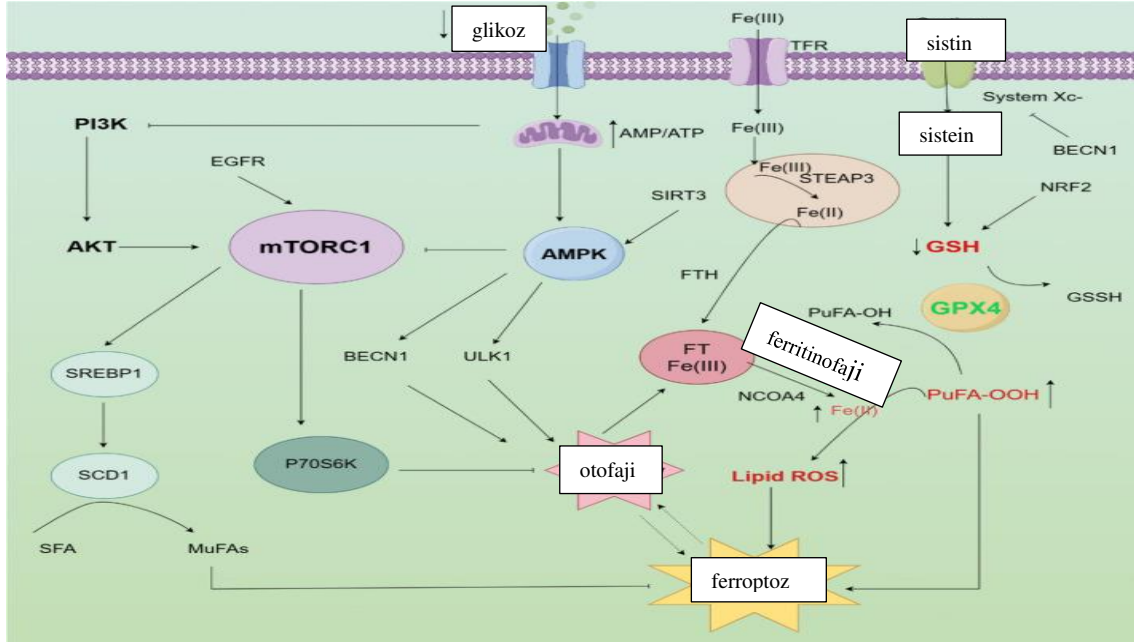
edilmiş olup fosfatidilinositol 3-kinazla ilişkili kinaz (PIKK) protein ailesinin bir parçasıdır [13]. MTOR tüm hücre tiplerinde her yerde eksprese edilen nispeten büyük (259 kDa) ve yüksek oranda korunmuş serin/treonin protein kinazdır. Bu protein, adını 1972'de *Streptomyces hygroscopicus*'tan izole edilen bir bileşik olan rapamisininden almıştır [16]. Tüm ökaryotlarda hücre büyümesi ve bölünmesini büyüme faktörleri dahil olmak üzere enerjiyi, stresi ve besin bolluğunu çevresel girdiler eşliğinde kontrol etmektedir [54]. Araştırmalar, MTOR'un, protein sentezinden otofajiyi düzenlemeye kadar birçok temel hücre sürecinin düzenlenmesinde ve düzensiz MTOR sinyallemesinin, yaşlanma sürecinin yanı sıra kanser ve diyabetin ilerlemesinde de merkezi bir rol aldığını göstermiştir [55]. Birçok insan kanseri türünde sıklıkla serbest bırakılır [56]. Hücre büyümesi ve apoptozun merkezi bir düzenleyicisi olan MTOR, hücrelerde MTORC1 ve MTORC2 olarak bulunmaktadır [13], [16], [17]. MTORC1 temel olarak, raptor (MTOR ile ilişkili düzenleyici protein) ve mLST8'den (memeli öldürücü Sec13 protein 8, ayrıca GβL olarak da bilinir) oluşur [13]. MTORC1 hücre anabolik süreçlerin düzenleyicisi olarak, büyüme faktörleri, amino asitler, lipid metabolizması ve enerji kaynakları gibi çok sayıda sinyali entegre ederek otofaji gibi hücre büyümesi ve metabolizması için önemli olan çeşitli biyolojik süreçten sorumlu önemli bir protein kompleksidir [30], [17], [57]. Nükleotid, lipid ve protein sentezini düzenlemek için besinleri, büyüme faktörlerini ve hücre enerjiyi algılar; otofajiyi inhibe eder ve hücre büyümesini teşvik eder [58]. Protein sentezi oldukça enerji tüketen bir süreçtir ve bu nedenle besin ve enerji mevcudiyeti ile sıkı bir şekilde koordine edilmesi gerekir. MTORC1 protein sentezini düzenlemek için çok çeşitli çevresel ipuçlarını birleştiren bir anahtar sinyal düğümü olarak bilinir [51]. MTORC2, karmaşık işlev için gerekli olan üç benzersiz protein olan Rictor (MTOR'un rapamisin-duyarsız yoldaşı), mSin1 (memeli stresi ile aktive olan harita kinaz etkileşimli protein 1) ve Protor (Rictor ile gözlenen protein)'dan oluşup, rapamisine duyarlı değildir [59]. MTORC2'nin hücre hayatta kalmasını ve proliferasyonunu kontrol ettiği bilinmektedir. MTOR aktivitesinin inhibisyonu, kanser hücrelerinin kritik derecede önemli bir özelliği olduğu için, kanser karşıtı terapötikler de dahil olmak üzere, son yıllarda yoğun anti-kanser klinik araştırmalarının hedefi olmuştur [17]. MTOR modülatörleri lösemi vb. dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. MTOR modülatörleri ile ferroptoz arasında da bir korelasyon vardır. AZD8055, MTOR'un yeni ATP rekabetçi inhibitörünün bir modülatörü olup, p70S6K ve 4E-BP1 yolu yoluyla ferroptozu indükler. MTOR inhibisyonu, farklı aşağı yönlü yollar yoluyla otofajiye veya ferroptozu açabilir ve

otofajiye bağlı olarak artan hücre içi lipit peroksidasyonu da ferroptozu yol açabilir. Ayrıca MTOR, ISCU yoluyla ISC oluşumunu yukarı doğru düzenleyebilir, bu da demir taşınmasıyla ilişkili genlerin ekspresyonunun azalmasına neden olur ve ferroptozu inhibe eder [13]. Sonuç olarak MTOR ile ferroptoz arasındaki ilişki göz ardı edilemez.

1.3.1.1. MTOR ve Ferroptoz

MTORC1 sinyalinin düzensiz mekanik hedefi, ferroptoz direnci ve tümör oluşumunda kritik bir rol oynamaktadır [57]. Araştırmalarda MTORC1'in kanser hücrelerinde ferroptozun negatif düzenleyicisi olarak görev yaptığı bulunmuştur. Örneğin Zhang ve arkadaşları sisteinin mTORC1 sinyalini aktive ederek GPX4 protein sentezini desteklediğini ve ferroptoz direncini arttırdığını bildirmişlerdir. Ayrıca MTORC1'in, sterol düzenleyici element bağlayıcı protein 1/stearoil-KoA desat raz 1 eksenini yukarı doğru düzenleyerek de ferroptoz direncini desteklediği de rapor edilmiştir [57]. GPX4, demire bağımlı ferroptozun düzenlediği hücre ölümünün inhibisyonunda birçok role hizmet eder.  alışmalar, MTOR sinyal yolu ile GPX4 ifadesi arasındaki etkileşimleri tanımlamış ve klasik ferroptoz aktivatörü RSL3' n kullanımının ayrıca MTOR aktivasyonunu bloke edebildiğini göstermiştir. MTOR yolunun ROS üretimini düzenleyerek demir aracılı hücre ölümünü önlediği gösterilmiştir [52]. GPX4' n farmakolojik ve genetik baskılanması, MTOR sinyal yolu inhibisyonunun yeni bir mekanizması yoluyla ferroptozu, DNA hasarını ve in vitro hücre canlılığının azalmasını indükler [60]. I3K/AKT/MTOR sinyal yolunun inhibisyonu ferroptozu teşvik eder. Fosfoinositid 3 kinaz (PI3K)/protein kinaz B (AKT)/rapamisin'in memeli hedefleri (MTOR)sinyal yolu çeşitli tümörlerde aktive edilir veya inhibe edilir. PI3K/AKT/MTOR yolunun, redoks homeostazisini koruyarak hücre içi oksidatif stresin düzenlenmesinde rol oynadığı rapor edilmiştir [13]. Huilin Liao ve arkadaşları 2024 yılında tümörlerde MTORC1 ve ferroptoz üzerine yaptığı çalışmada; MTOR inhibisyonu koşulları altında, sistein girişini önlemek için sistem Xc'yi inhibe etmek üzere sınıf I FIN'in kullanılmasının ferroptozu inhibe ettiği sonucuna ulaşılmıştır. Ferroptozun MTOR ile yakın ilişkisi vardır. Bu nedenle, MTOR ile ilişkili ilaçların kullanılması, çeşitli tümörlerin tedavisinde ferroptoz oluşumunu teşvik etmek mümkündür [13]. GPX4 ve MTOR'un kombine hedeflemesi ferroptozu yol açar. Ferroptozun önemli bir düzenleyicisi olan GPX4, AMPK/MTOR aracılığıyla hücresel otofajiye indükleyebilen selenosistein olmadan aktive edilemez. MTOR sinyal yolunun inhibe edilmesinin, hücrelerde ferroptozu inhibe etmek için GPX4 ve SOD ekspresyonunu yukarı regüle ettiği

bulunmuştur. Ayrıca MTORC1 inhibisyonunun GPX4 ekspresyonunu aşağı regüle edebileceği öne sürülmüştür. MTORC1'in, NRF2 birikimine yol açan KEAP1 bağlanmasını etkinleştirmek ve böylece antioksidan yolu yönlendirmek için P62'yi kolaylaştırabildiği rapor edilmiştir. MTORC1'in inhibisyonu, hücreleri NRF2 aracılı sinyal yoluna göre bağımsız bir mekanizma olarak ferroptozu karşı daha duyarlı hale getirir. (Şekil 1.4) Yani MTOR birçok faktör tarafından düzenlenir ve MTOR, ferroptozu düzenlemek için bunlarla etkileşime girer [13].



Şekil 1. 4. MTORC1 ve Ferroptoz.

1.3.1.2. MTOR ve Tiroit

Tiroit hormonlarının 2 formu, T4 ve T3, enerji kullanımını kontrol eden metabolik süreçleri düzenlemektedir [60]. Tiroit hormonlar, in vivo mitokondriyal oksijen tüketimi yoluyla hücresel OS modüle etmektedir. OS hem hipo hem de hipertiroid durumlarında rol oynar [62]. Değişen TH seviyeleri, ROS temizlenmesinde dengesizliğe yol açan antioksidan enzimlerin oranında ince değişikliklere neden olmaktadır. Aşırı ROS birikimi, çevrelerinde bulunan proteinler, lipidler ve DNA üzerinde bozucu etkilere neden olmaktadır [62]. Metabolik olarak aktif dokularda, mitokondri (mitofaji) gibi hasarlı organellerin verimli bir şekilde yenilenmesi için otofaji gereklidir. Otofaji, aktive edilmiş MTORC1 tarafından ULK1'in fosforilasyonu yoluyla MTOR yolu tarafından inhibe edilir [61]. PI3K/AKT/MTOR geleneksel bir otofaji yoludur [63]. T3, MTOR'u inhibe ederek otofajiyi indükler [61]. MTOR ve tiroit hastalıkları arasındaki ilişkiyle ilgili yapılan

çalışmalara bakılacak olursa; Wangenstein ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, MTOR aktivasyonunun, tiroit hormonu fazlalığının neden olduğu kalp hipertrofisinde rol oynadığı ve bu durumun MTOR inhibitörü rapamisin tarafından önlenebildiği rapor edilmiştir. Tiroit hormonunun NHE-1 proteini ekspresyonunu arttırmıştır ve NHE-1 inhibisyonu ile hipertiroid kalp hipertrofisinin önlenmiştir. Böylece rapamisin ile MTOR inhibisyonu hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak tiroit hormonunun neden olduğu kalp hipertrofisini önlediği gösterilmiştir [64]. Otoimmün bir hastalık olan Graves hastalığı (GD), yetişkinlerde hipertiroidizmin ana nedenidir [19]. M. Zhang ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada rapamisin tedavisinin hipertiroidizm üzerindeki etkisi tiroit otoantikorları, fonksiyonu ve patolojisi ile değerlendirilmiş ve rapamisinin, Graves orbitopatisi farelerinde yörüngepatiyi ve hipertiroidizmi etkili bir şekilde iyileştirdiği görülmüştür [19]. Tiroit kanseri şu anda dünyada endokrin kanserinin en yaygın şeklidir ve tüm endokrin malignitelerin %90'ından fazlasını oluşturur [52]. Tiroit kanserinin en yaygın türü papiller tiroit karsinomudur (PTC) [52]. MTOR sinyali, diğer klinik olarak agresif tiroit kanseri türlerinde aktive edilir. PI3K/Akt/mTOR yolunun aşırı aktivasyonu medüller tiroit kanserinin patogenezinde hayati bir rol oynar. Tiroit kanserlerinin tüm histolojik tipleri arasında en yaygın ve önemli olanlardan biri PI3K/AKT/MTOR yoludur [60]. Aktive edilmiş MTOR, PTC'nin gelişiminde ve ilerlemesinde rol oynar [60].

1.3.2. NRF2

NRF2, gen promotör bölgelerindeki ARE'leri tanıyarak ve bunlara bağlanarak çok çeşitli hücrel proteinleri düzenleyen iyi bilinen bir ana transkripsiyon faktörüdür ve redoks homeostazisi sistemlerinin ana düzenleyicisidir [15]. Aynı zamanda NFE2L2 olarak da adlandırılmakta olup 'nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2' 'nin kısaltılmasıdır [53]. Şimdiye kadar altı NF-E2 (nükleer faktör eritroidden türetilmiş) protein tanımlanmıştır, bunlardan en çok çalışılanı NRF2'dir. NRF2 kısa ömürlü bir proteindir (yarı ömür, ~15 dakika); aktive edici faktörlerin yokluğunda, NRF2 her yerde bulunur ve proteazomal bozulmaya uğrar [15]. NRF2, Neh1 (NRF2-ECH homoloji alanı-1) ile Neh7 olarak adlandırılan yedi yüksek oranda korunmuş homoloji alanına sahip 605 amino asit içerir [53]. Genel olarak Keap1-NRF2 sistemi, OS'ye hücrel yanıt için çok önemli bir mekanizmadır[65]. Vücut oksidatif strese girdiğinde veya çok sayıda elektrofil veya sitotoksik ajan varsa NRF2, Keap1 bağlanma bölgesinden salınır ve hızla çekirdeğe aktarılır, ardından promotör bölgedeki antioksidan yanıt elemanı (ARE) ile etkileşime

girer. Hedef genin sentezini gerçekleştirir ve daha sonra oksidatif stresi dengelemek ve hücrel redoks homeostazisini sürdürmek için transkripsiyonel yolu aktive eder [50]. NRF2 öncelikle Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein 1 (KEAP1) tarafından düzenlenir. Bir dizi hastalık ve bozukluk için terapötik ve önleyici ilaçların geliştirilmesinde Keap1-NRF2 protein-protein etkileşimi (PPI), ARE kontrollü sito-koruyucu oksidatif stres tepkisi enzimlerinin yukarı regülasyonu için bir hedef olarak ortaya çıkmıştır [62]. NRF2/ARE, MTOR'u pozitif olarak düzenler. Bu ilk olarak Shibata ve arkadaşları tarafından araştırılmış olup bu yazarlar, yapısal olarak aktive edilmiş NRF2'ye sahip mutant hücre hatlarının, MTORC1'i aktive eden küçük G-proteinlerine ait RagD proteininin yukarı regüle edilmiş ekspresyonunu gösterdiğini göstermiştir. Daha sonra Sasaki ve arkadaşları, NRF2'nin RagD ifadesinin düzenlenmesine ve dolayısıyla MTORC1 aktivitesine dahil olduğunu doğrulamışlardır. MTOR üzerindeki NRF2 etkisinin en belirgin mekanizması Bendavit ve arkadaşları, MTOR'un promotöründe ARE dizisini tanımlayan gen ve NRF2'nin bu genin ekspresyonunu doğrudan düzenleyebileceğini göstermiştir [15].

Ferroptoz birçok yolk tarafından düzenlenmektedir. Sun ve arkadaşlarının 2016 yılında yaptıkları çalışmada, p62-Keap1-NRF2 yolunun, NRF2'nin ekspresyonunu düzenleyerek karaciğer kanser hücrelerinde ferroptozu duyarlılığı düzenlediğini bulmuşlardır [49].

1.3.2.1.NRF2 ve Ferroptoz

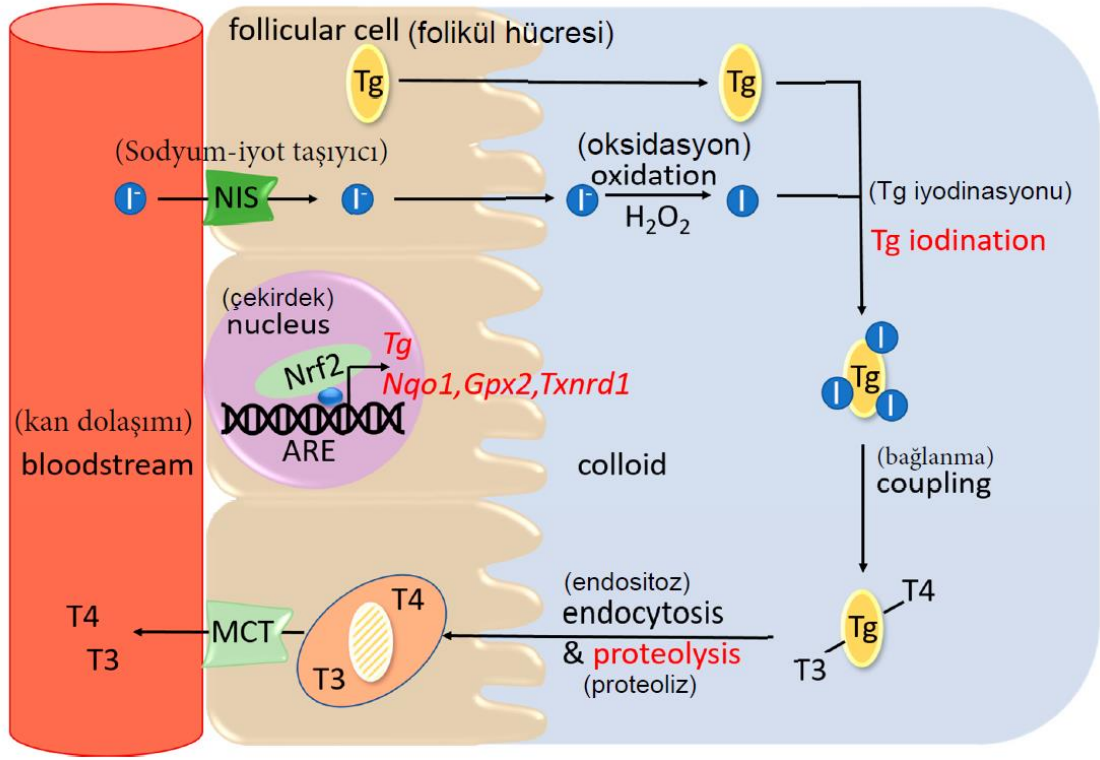
NRF2, antioksidasyonda anahtar rol oynayan iyi bilinen bir transkripsiyon faktörüdür ve ferroptoz için önemli bir düzenleyicidir [50]. NRF2, ferroptozu birçok yönden düzenler. Öncelikle GPX4 ifadesini ve işlevini doğrudan veya dolaylı olarak düzenleyebilir. NRF2'nin GPX4 ve peroksizom proliferatörle aktifleştirilen reseptör gama (PPAR γ) yolunun sentezini ve fonksiyonunu doğrudan etkileyerek ferroptozu düzenlediği elde edilmiştir. Ferroptoz için bilinen düzenleyici faktörler arasında, vücuttaki temel demir depolama proteini ferritinin hafif ve ağır zincirleri (FTL/FTH1) ve hücre dışı atık hücrelerden sorumlu ferritin (SLC40A1), NRF2 tarafından kontrol edilmektedir [50]. NRF2 hedef genleri lipid peroksidasyonunu ve serbest demir birikimini önlemektedir. NRF2'nin yıkılması, kanser hücrelerini ferroptozu karşı duyarlı hale getirmek için yeterlidir. NRF2'nin farmakolojik inhibisyonu, ferroptoz indükleyicilerle kombinasyon halinde kullanılabilir [66]. Hücrenin antioksidan, demir ve ara metabolik durumunun tamamına NRF2 hedef genleri tarafından aracılık edilebileceği gerçeği özellikle önemlidir. İnhibisyonu ferroptozu başlatan en kritik hedeflerden ikisi

olan XCT ve GPX4'ün NRF2 tarafından düzenleneceği iyice belirlenmiştir. Bu nedenle, lipid peroksidasyonu ve ferroptozun yaygın olduğu hastalıklarda NRF2'yi hedeflemek son derece geçerli bir yaklaşım olmaya devam etmektedir [66]. Şu ana kadar ferroptoz katılan hemen hemen tüm genler, GSH regülasyonu (System Xc ve GPX4 gibi), demir regülasyonu (FTH1 (ferritin ağır zincir 1), FTL (ferritin hafif zincir) ve FPN1 (ferröz demir ihracatçısı ferroportin 1), NADPH rejenerasyonu [G6PD (glukoz-6-fosfat dehidrojenaz)] ve ME1 (malik enzim 1) dahil olmak üzere NRF2'nin transkripsiyonel regülasyonunda yer almaktadır [53]. Erastin, sistin-glutamat taşıma reseptörü ve voltaja bağımlı anyon kanalı gibi birden fazla molekülü modüle ederek hücre ferroptozunu indüklemekte ve transkripsiyon faktörü NRF2 antioksidan gen transkripsiyonunu teşvik ederek ferroptozu karşı koymaktadır [67]. Ferroptozu baskılamak için antioksidan transkripsiyon faktörü NRF2'yi hedeflemek, nörodejeneratif kontrol için çekici yeni bir seçenektir. NRF2'yi hedeflemenin kanser hücreleri bağlamında anti-ferroptoz etkileri göstermektedir [50]. Ferroptoz, nörodejeneratif hastalıkların ilerlemesini teşvik ederken, NRF2 ve hedef genlerinin (Ho-1, Nqo-1 ve Trx) ekspresyonu yaşlanmayla birlikte azalmıştır [50].

1.3.2.2. NRF2 ve Tiroit

H₂O₂ gibi ROS'lar, normal tiroit hücresi çoğalmasının yanı sıra tiroit foliküler hücreleri tarafından salgılanan ana hormonların, T₃ ve T₄ sentezi için gereklidir. Bununla birlikte, kontrolsüz bir ROS fazlalığı, iltihaplanma ve kanser de dahil olmak üzere geniş bir hastalık yelpazesinin patogeneğinde yer alan bir faktör olan OS'ye neden olabilir [68]. Tiroit bezinin oksidatif stres ve reaktif oksijen türlerine sürekli maruz kalması sebebiyle kendi homeostazisini korumak amaçlı antioksidan savunma sistemleri bulunmaktadır. Çünkü hem hormon dengesini korumak için reaktif oksijen türlerini üretmesi gerekirken hem de ROS konsantrasyonu fizyolojik düzeylerin üzerine çıktığında hücrelere zarar vereceğinden tüm dokular gibi ROS'a karşı da kendini savunmak zorundadır [18]. Süperoksit anyonları ve hidrojen peroksiti içeren ROS'un tiroit fonksiyonu üzerinde hem fizyolojik hem de patolojik etkileri vardır. Fizyolojik olarak ROS, çeşitli hücresel süreçlerde ikincil haberci olarak görev yapar ve tiroit hormonunun sentezinde rol oynar. Bununla birlikte, suprafizyolojik seviyelerde aşırı ROS üretimi DNA hasarına yol açabilir ve potansiyel olarak tiroit kanserinin başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulunabilir [65]. NRF2, aşırı ROS'un neden olduğu OS'ye karşı etkili olan önemli bir transkripsiyon faktörüdür [65]. Tiroidin temel endojen antioksidan sistemlerden biri,

transkripsiyon faktörü NRF2 ve bunun sitoplazmik inhibitörü Keap1 merkezli yoldur. Tiroit ve diğer dokular arasındaki bir fark, ROS'un öncelikle fizyolojisinin bir yan ürünü değil, onun vazgeçilmez bir parçası olmasıdır. Tiroit foliküler hücreleri aktif olarak H_2O_2 iyodürü sırayla oksitleyen, Tg içindeki tirozin kalıntılarını iyodürlemekte ve Tg'nin iyotlu tirozin kalıntılarını T4 ve T3 oluşturmak üzere birbirine bağlayan bir dizi redoks reaksiyonunu kolaylaştırmaktadır [18]. Tiroit foliküler hücrelerindeki antioksidan fonksiyonuna ek olarak, NRF2'nin tiroit hormon sentezinin iki merkezi yönünü de etkilediği bulunmuştur [18]. Farelerde ve kültürlenmiş foliküler hücrelerde yapılan çalışmalar, NRF2'nin, fareler tarafından üretilen ana protein olan tiroglobulinin (Tg) hem bazal hem de TSH indüklediği intratiroidal bolluğu üzerinde çarpıcı bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir [68]. Bir yandan, yukarı akış güçlendiricisindeki iki ARE aracılığıyla tiroglobulini (Tg, tiroit hormonlarının öncü proteini) kodlayan genin transkripsiyonunu doğrudan yukarı regüle eder ve böylece tiroiddeki Tg protein bolluğunu pozitif olarak düzenler [18]. NRF2'nin bir diğer çarpıcı etkisi ise tiroit hormon sentezinde önemli bir adım olan Tg iyotlanmasını azaltmasıdır; NRF2 farelerde, özellikle iyot fazlalığına tepki olarak tiroiddeki iyotlu Tg seviyeleri oldukça artar. NRF2, tiroit folikül fizyolojisinin önemli bir düzenleyicisi olarak ortaya çıkmakta, hormon sentezi için gerekli olan Tg düzeylerini artırmakta ve aşırı iyotlanmasını önlemekte olup özellikle iyot aşırı yüklenmesi koşullarında intratiroidal oksidatif hasara karşı korumaktadır [68]. (Şekil 1.5)



Şekil 1. 5. NRF2'nin Tiroit Hormon Sentezindeki Rolü.

Hipertiroidizm, tiroit hormonları T3 ve T4'ün aşırı salgılanmasıyla karakterize bir endokrin bozukluk olup hipertiroidizmin ROS artışına sebep olduğuyla ilgili çalışmalar mevcuttur. Costila ve arkadaşları hipertiroidizm durumunun oluşturduğu oksidatif stresin NRF2'ye etkisi üzerine çalışma yapmışlardır. Hipertiroid koşulları altında ROS Keap-1/NRF2 kompleksinin sülfhidril gruplarını oksitlemektedir. Serbest NRF2, hipertiroid durumunda aktivitelerini artıran iki kinaz olan PKC ve ERK tarafından fosforile edilebilir. Fosforile edilmiş NRF2, hücre çekirdeğine yer değiştirir ve antioksidan enzim genlerinin transkripsiyonunu aktive eder. Antioksidan enzimlerin artan ekspresyonu, hipertiroid koşullarının oluşturduğu oksidatif stres seviyelerinin azaltılmasına katkıda bulunmuştur [69]. Tüm bu bilgilere dayanarak çalışmamızda hipertiroidizmlili hastalarda MTOR ve NRF2 sinyalizasyonunun ferroptoz üzerine etkileri araştırılacaktır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 MATERYAL

2.1.1. Araştırmanın Yeri ve Süresi

Araştırmamız Düzce Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Merkezi Aile Hekimliği Polikliniğinde takip edildi. Bu hastanenin tercih edilme nedeni ilde yer alan en kapsamlı ve donanımlı eğitim ve araştırma hastanesi olmasından ötürüdür. Araştırma Aralık 2022 tarihinde başladı ve Mart 2023 tarihine kadar yaklaşık olarak 4 aylık sürede yürütüldü. Yürütmekte olunan bu tez çalışması sırasında hipertiroidizmlı hastaların MTOR, NRF2, MDA, GSH, ACSL4, TAS, TOS düzeyleri, kontrol grubu hastalarındaki düzeylerle karşılaştırılarak hipertiroidizmlı hastalardaki MTOR ve NRF2 sinyalizasyonunun ferroptoz üzerindeki etkisinin araştırılması amacı ile ilgili tez çalışması yapılmıştır.

2.1.2. Araştırmanın Örneklemi

Düzce Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Merkezi Aile Hekimliği Polikliniğine Aralık 2022 / Mart 2023 tarihleri arasında başvuran 90 hipertiroidizmlı ve 90 sağlıklı kişiden oluşmaktadır.

Çalışmaya katılan bireyler için dahil olma kriterleri ve dışında tutulma kriterleri ise;

Dahil olma kriterleri:

- 18-65 yaş aralığında, TSH <0.5 mUI/L olan subklinik hipertioridi veya klinik hipertiroidili;
- Graves Hastalığı
- Toksik Adenom
- Toksik multinoduler guatrli hastalar

Dışında tutulma kriterleri:

- 18 yaş altı ve 65 yaş üzeri,
- Subakut tiroidit, Sessiz tiroidit, postpartum tiroiditli olgular
- Aktif enfeksiyon hastalığı bulunanlar
- Kollojen doku hastalığı bulunanlar

- İyatrojenik hipertiroidili vakalar
- Anemili vakalar
- Akut sistemik hastalığı bulunanlar
- Malignitesi olan olgular
- Alkolikler
- Renal yetmezlikli,
- Kronik karaciğer hastalıklı
- Gebeler
- Elektrolit imbalanslı

Biyokimyasal Analizler

Araştırma verilerinin toplanma süreci maddeler halinde aşağıdaki gibi açıklanmıştır.

- Araştırmada ilk veriler, Düzce Üniversitesi Uygulama ve Araştırma Merkezi Aile Hekimliği Polikliniğine başvuran hipertiroidizmli hastalar üzerinden en az 12-14 saatlik açlık sonrası alınan kan tetkikleri ile sağlandı.
- Biyokimyasal ölçümler, tüm sterilizasyon şartları sağlanmış kan örneklerinde enzimatik kalorimetrik yöntem ile *IDS analyzer B0728* otoanalizörü cihazı kullanılarak Düzce Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarında gerçekleştirildi. Alınan kan örnekleri aseptik koşullara dikkat edilerek Düzce Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalında 4°C’de ve 3000 rpm devir ile 15 dakika süreyle santrifüje edildi. Ayrılan serum örnekleri -80°C’de çalışma zamanına kadar saklandı, tüm örnekler toplandığında birlikte analiz edildi. Analiz süreci, hipertiroidizm hastalıkları çalışma koşullarının tüm risklerini kontrol altına alarak gerçekleşti. Biyokimyasal parametrelerden poliklinik tarafından rutin istenenler otoanalizörde; MTOR (LSBio, katalog numarası LS-F13334), NRF2 (LSBio, katalog numarası LS-F9480), MDA (LSBio, katalog numarası LS-F25697), GSH (Elabscience, katalog numarası E-BC-K030-S), ACSL4 (FineTest, katalog numarası EH6088), total antioksidan (TAS) (Elabscience, katalog numarası E-BC-K801-M), total oksidan (TOS) (Elabscience, katalog numarası E-BC-K802-M) düzeyleri ticari ELİSA analiz kitleri kullanılarak Biotech cihazında ölçümü gerçekleştirildi.

2.1.3. Araştırmada Etik Konular

Yapılmış olan tez çalışmamızın süreci boyunca Düzce Üniversitesi Uygulama ve

Araştırma Merkezi Aile Hekimliği Anabilim Dalı Başkanlığına başvuran ve deneye katılma kriterlerini karşılayan 90 hipertiroidizmlı hasta ve 90 sağlıklı birey olmak üzere toplamda 180 kişiden oluşuyordu. Çalışmanın planlanma programı sürecinde Düzce Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 20.02.2023 tarihli 2023/23 karar numarası ile gerekli izinler alındı. Bu süreçte çalışmaya dahil olan her bir hasta ile çalışma ile ilgili bilgilendirmeler yapılarak aydınlatılmış onam formu imzalatıldı.

2.1.4. Araştırmanın Sınırlılıkları

Yapılan çalışmanın sınırlılığı, çalışmaya katılanların tek merkezden ve sınır sayıda seçilmiş olmasıdır.

2.1.5. ELISA Testi Prosedürü

Tez çalışmamızda ACSL4 (FineTest, katalog numarası EH6088), GSH (Elabscience, katalog numarası E-BC-K030-S), MDA (LSBio, katalog numarası LS-F25697), MTOR (LSBio, katalog numarası LS-F13334), NRF2 (LSBio, katalog numarası LS-F9480), TAS (Elabscience, katalog numarası E-BC-K801-M) ve TOS (Elabscience, katalog numarası E-BC-K802-M) kitlerini kullanılmıştır. Kit kriterlerimiz ise maddeler şeklinde aşağıda belirtilmiştir.

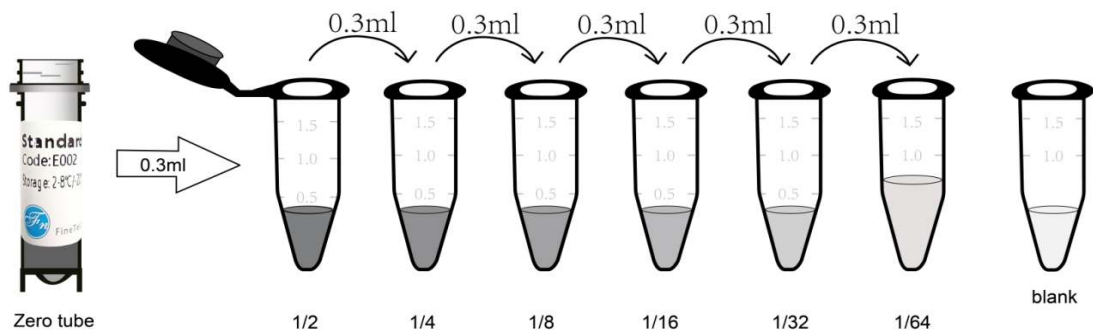
2.1.5.1. Serum ACSL4 Seviyelerinin Ölçümü

ACSL4 kiti ELİSA testi prosedürü kit kriterleri aşağıda yer alan Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2. 1. ACSL4 analizi sırasında kullanılan reaktifler.

İnsan ACSL4 (Uzun Zincirli Yağ Asidi Açıl Koenzim A Sentetaz Ligaz 4) ELISA Kiti		
Reaktifler	Miktar	Saklama Durumu
	48 ton / 96 ton	
Ön Kaplamalı Mikroplak	6 şerit x 8 kuyu/ 12 şerit x 8 kuyu	2-8°C'de 1 ay -20°C'de 6 ay
Liyofilize Standart	1 şişe / 2 şişe	2-8°C'de 1 ay -20°C'de 6 ay
Biotin etiketli Antikor (Konsantre, 100X)	60 mcl / 120 mcl	2-8°C (Doğrudan Işıktan Kaçının)
HRP-Streptavidin Konjugatı (SABC, 100X)	60 mcl / 120 mcl	2-8°C (Doğrudan Işıktan Kaçının)
TMB Substrat	5 ml / 10 ml	2-8°C (Doğrudan Işıktan Kaçının)
Numune Seyreltme Tamponu	10 ml / 20 ml	2-8°C
Antikor Seyreltme Tamponu	5 ml / 10 ml	2-8°C
SABC Seyreltme Tamponu	5 ml / 10 ml	2-8°C
Reaktif Durdur	5 ml / 10 ml	2-8°C
Yıkama Tamponu(25X)	15 ml / 30 ml	2-8°C
Plaka Kapatıcı	3 parça /5 parça	
Ürün Açıklaması	1 kopya / 1 kopya	

ACSL4 kiti ELİSA testi prosedürü kiti için standartların hazırlanması Şekil 2.1'de yer almaktadır.



Şekil 2. 1. ACSL4 Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi.

ELİSA kiti buzdolabından yaklaşık 20 dakika önce alındı ve oda sıcaklığına (18-25°C) dengelendi. 30ml konsantre yıkama tamponu deiyonize veya damıtılmış suyla 750ml yıkama tamponuna seyreltildi ve iyice karıştırıldı. Standart, pilot numune ve kontrol (boş) kuyucuklarını sırasıyla önceden kaplanmış plaka üzerine yerleştirildi ve ardından konumları kaydedildi. Her standart kuyucuğa 100 ul eklendi. Ayrıca kontrol (boş)

kuyucuğuna 100 µl numune seyreltme tamponu eklendi. Daha sonra her numune kuyucuğuna 100 µl numune eklendi. Plakayı kapatıp 90 dakika boyunca 37°C'de inkübe edildi. Kapağı çıkarıp, plaka temiz, emici bir kağıt üzerine iki veya üç kez vuruldu. Daldırma olmadan her bir kuyucuğa 350 µl yıkama tamponu eklendi. Yıkama adımı iki kez tekrarlandı. Her kuyucuğa 100 µl biyotin etiketli antikor çalışma solüsyonu eklendi. Plaka kapatıldı ve 37°C'de 60 dakika boyunca inkübe edildi. Ardından üç kez yıkandı. Her kuyucuğa 100 µl SABC çalışma solüsyonu eklendi. Plaka kapatıldı ve 30 dakika boyunca 37°C'de inkübe edildi. Beş kez yıkandı. Her bir kuyucuğa 90ul TMB Substrat eklendi, plaka kapatıldı ve 10-20 dakika içinde karanlıkta 37°C'de inkübe edildi. Her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi. Renk hemen sarıya döndü. Optik yoğunluk (OD) 450 nm'de bir mikropilaka okuyucuda analiz edildi.

2.1.5.2. Serum GSH Seviyelerinin Ölçümü

GSH kiti ELİSA testi prosedürü kit kriterleri aşağıda yer alan Çizelge 2.2'de gösterilmiştir.

Çizelge 2. 2. GSH analizi sırasında kullanılan reaktifler.

Reaktifler	Bileşen	Boyut 2 (100 tahlil)
Reaktif 1	Asit Reaktifi	45 mL × 2 şişe
Reaktif 2	Fosfat	Toz × 2 şişe
Reaktif 3	DTNB Çözümü	30 mL × 1 şişe
Reaktif 4	Tuz Reaktifi	Toz × 4 şişe
Reaktif 5	GSH Standardı	3,07 mg × 2 şişe
Reaktif 6	GSH Standart Stok Seyreltici	6 mL × 1 şişe

GSH kiti ELİSA testi prosedürü kiti için standartların hazırlanması aşağıda yer almaktadır.

Reaktifleri kullanmadan önce oda sıcaklığına gelmesi sağlandı. Fosfat uygulama

solüsyonunun hazırlanması için bir şişe fosfat 75 mL çift damıtılmış suyla tamamen çözüldü. Tuz reaktifi uygulama solüsyonunun hazırlanması için bir şişe tuz reaktifi 10 mL çift damıtılmış suyla çözüldü. GSH standart stok uygulama çözümü hazırlanması için 100 µL GSH standart stok seyreltici 900 µL çift damıtılmış suyla seyreltilti. 1 mmol/L GSH standart çözeltisinin hazırlanması için bir şişe GSH standardı 10 mL GSH standart stok uygulama solüsyonuyla çözüldü. 20 µmol/L standart çözeltinin hazırlanması için her tüp için 1 mL 20 µmol/L standart solüsyon hazırlandı. Numunenin ön işlemi: 0,7 mL numune alındı, 0,7 mL asit reaktifi eklendi ve iyice karıştırıldı. 4500×g'de 10 dakika boyunca santrifüjlendi. Tespit için süpernatant toplandı. Boş tüp 5 mL'lik tüplere 1 mL asit reaktifi eklendi. Standart tüp 5 mL'lik tüplere 1 mL 20 µmol/L GSH standart çözeltisi eklendi. 1,25 mL fosfat uygulama solüsyonu, 0,25 mL DTNB solüsyonu eklendi ve her tüpe 0,05 mL tuz reaktifi uygulama solüsyonu iyice karıştırıldı ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletildi. Spektrofotometre şu şekilde ayarlandı: çift damıtılmış su ile sıfırlandı ve her tüpün OD değerleri 420 nm'de ölçüldü.

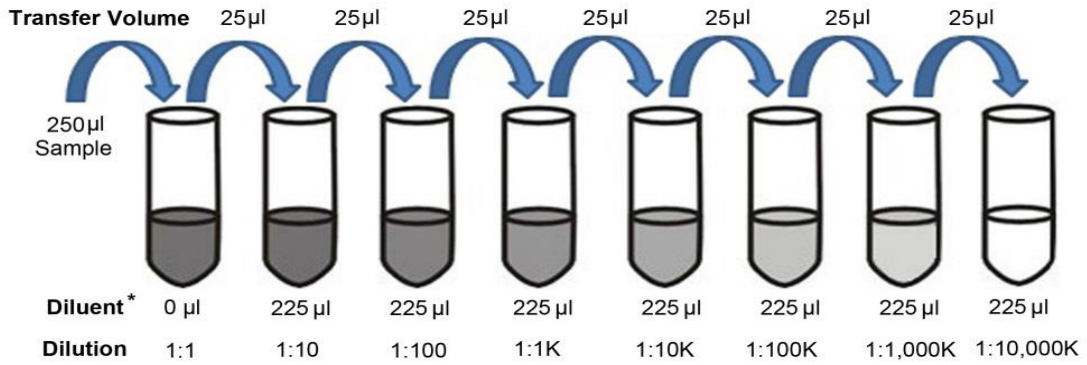
2.1.5.3. Serum MDA Seviyelerinin Ölçümü

MDA kiti ELİSA testi prosedürü kit kriterleri aşağıda yer alan Çizelge 2.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 2. 3. MDA analizi sırasında kullanılan reaktifler.

Reaktifler	Miktar
Kaplamalı 96-kuyucuklu Şerit Plakası	1
Standart (Liyofilize)	2 şişe
Referans Standardı ve Numune Seyreltici	1 şişe x 20 ml
Biyotinlenmiş Tespit Antikoru (100x)	1 şişe x 120 µl
Saptama Antikoru Seyreltici	1 şişe x 14 ml
HRP Konjugatı (100x)	1 şişe x 120 µl
HRP Konjugat Seyreltici	1 şişe x 14 ml
Yıkama Tamponu(25x)	1 şişe x 30 ml
TMB Substrat	1 şişe x 10 ml
Durdurma Solüsyonu	1 şişe x 10 ml
Yapışkan Plaka Kapatıcılar	4
Kullanım Kılavuzu	1

MDA kiti ELİSA testi prosedürü kiti için standartların hazırlanması Şekil 2.2’de yer almaktadır.



Şekil 2. 2. MDA Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi.

Tüm reaktifler ve numuneler ilave bir işlem yapmadan oda sıcaklığına getirildi. Tüm reaktifler, çalışma standartları ve numuneler gerektiği gibi hazırlandı. Kuyucuk başına 50 µl standart, boş veya numune eklendi. Her kuyucuğa 50 µl 1x biyotinlenmiş antikor eklendi, üzeri kapatıldı. Plaka kapatıcı ile iyice karıştırıldı ve 37°C'de 45 dakika inkübe edildi. Her kuyucuktan sıvı aspire edildi ve 3 kez yıkandı. Her kuyucuğa 100µl 1x HRP Konjugat çalışma solüsyonu eklendi, kapağı kapatıldı. Yeni bir plaka kapatıcıyla kaplandı ve 30 dakika boyunca 37°C'de inkübe edildi. Her bir kuyucuktan sıvı aspire edildi ve 5 kez yıkandı. Her kuyucuğa 90 µl TMB Substrat eklendi, yeni bir plakayla kapatıldı. 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. Işıktan korundu ve optimum renk gelişimi sağlanana kadar periyodik olarak izlendi. Her kuyucuğa 50µl durdurma solüsyonu eklendi. Mavi rengin sarı renge dönüştüğü görüldü. Her kuyucuğun OD değeri 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropilaka okuyucu kullanılarak belirlendi.

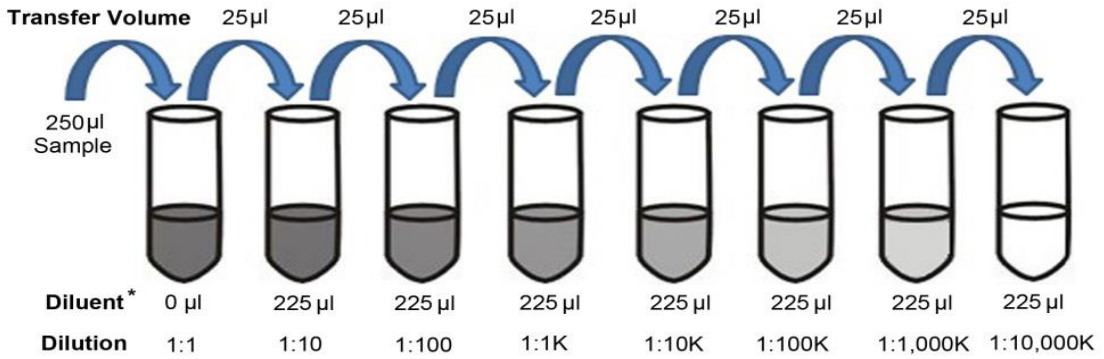
2.1.5.4. Serum MTOR Seviyelerinin Ölçümü

MTOR kiti ELİSA testi prosedürü kit kriterleri aşağıda yer alan Çizelge 2.4 ‘de gösterilmiştir.

Çizelge 2. 4. MTOR analizi sırasında kullanılan reaktifler.

Reaktifler	Miktar
	96 ton
Kaplamalı 96-kuyucuklu Şerit Plakası	1
Standart (Liyofilize)	2 şişe
Numune Seyreltici	1 şişe x 20 ml
Test Seyreltici A	1 şişe x 10 ml
Test Seyreltici B	1 şişe x 10 ml
Saptama Reaktifi A	1 şişe x 120 µl
Saptama Reaktifi B	1 şişe x 120 µl
Yıkama Tamponu (25x)	1 şişe x 30 ml
TMB Substrat	1 şişe x 10 ml
Durdurma Solüsyonu	1 şişe x 10 ml
Yapışkan Plaka Kapatıcılar	4
Kullanım Kılavuzu	1

MTOR kiti ELİSA testi prosedürü kiti için standartların hazırlanması Şekil 2.3’de yer almaktadır.



Şekil 2. 3. MTOR Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi.

Tüm reaktifler ve numuneler ilave bir işlem yapmadan oda sıcaklığına getirildi. Tüm reaktifler, çalışma standartları ve numuneler gerektiği gibi hazırlandı. Kuyu başına 100 µl standart, boş veya numune eklendi, üzeri bir kapakla kapatıldı. 2 saat boyunca 37°C’de

inkübe edildi. Her kuyucuğun sıvısı aspire edildi. Her kuyucuğa 100 µl Tespit Reaktifi A çalışma solüsyonu eklendi, plaka kapatıcıyla örtüldü 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Her kuyucuktan sıvı aspire edildi ve 3 kez yıkandı. Her kuyucuğa 100 µl Reaktifi B çalışma solüsyonu eklendi, yeni bir plaka kapatıcıyla örtüldü ve 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. Her bir kuyucuktan sıvı aspire edildi ve 5 kez yıkandı. Her kuyucuğa 90 µl TMB Substrat solüsyonu eklendi, yeni bir kapakla kapatıldı ve 37°C'de 10-20 dakika inkübe edildi. Optimum renk gelişimi sağlanana kadar periyodik olarak ışık verildi ve izlendi. Her kuyucuğa 50 µl Durdurma Solüsyonu eklendi. Mavi rengin sarı renge dönüştüğü görüldü. Her kuyucuğun OD değeri 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropilok okuyucu kullanılarak belirlendi.

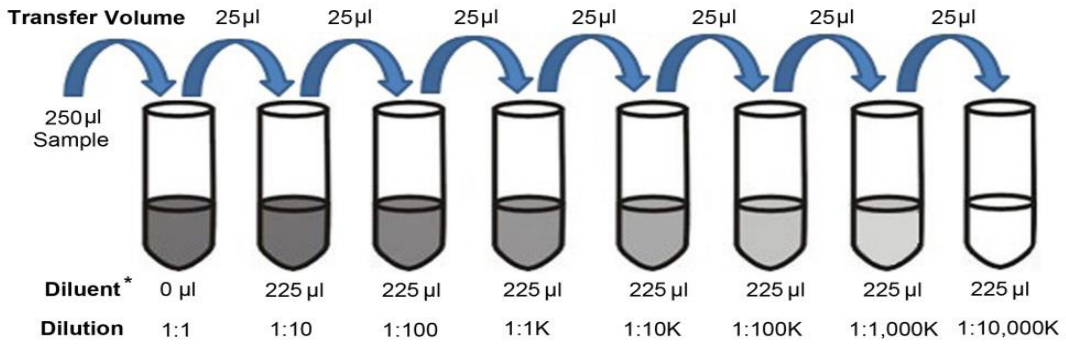
2.1.5.5 Serum NRF2 Seviyelerinin Ölçümü

NRF2 kiti ELİSA testi prosedürü kit kriterleri aşağıda yer alan Çizelge 2.5'de gösterilmiştir.

Çizelge 2. 5. NRF2 analizi sırasında kullanılan reaktifler.

Reaktifler	Miktar
	96 ton
Kaplamalı 96-kuyucuklu Şerit Plakası	1
Standart (Liyofilize)	2 şişe
Numune Seyreltici	1 şişe x 20 ml
Test Seyreltici A	1 şişe x 12 ml
Test Seyreltici B	1 şişe x 12 ml
Saptama Reaktifi A	1 şişe x 120 µl
Saptama Reaktifi B	1 şişe x 120 µl
Yıkama Tamponu (30x)	1 şişe x 20 ml
TMB Substrat	1 şişe x 9 ml
Durdurma Solüsyonu	1 şişe x 6 ml
Yapışkan Plaka Kapatıcılar	4
Kullanım Kılavuzu	1

NRF2 kiti ELİSA testi prosedürü kiti için standartların hazırlanması Şekil 2.4'de yer almaktadır.



Şekil 2. 4. NRF2 Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi.

Tüm reaktifler ve numuneler ilave bir işlem yapmadan oda sıcaklığına getirildi. Kuyu başına 100 µl standart, boş veya numune eklendi. 1 saat boyunca 37°C'de inkübe edildi. Her kuyucuğa 100µl tespit reaktifi A çalışma solüsyonu eklendi. 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Her kuyucuktan sıvı aspire edildi ve 3 kez yıkandı. Her kuyucuğa 100 µl saptama reaktifi B çalışma solüsyonu eklendi. 30 dakika boyunca 37°C'de inkübe edildi. Her bir kuyucuktan sıvı aspire edildi ve 5 kez yıkandı. Her kuyucuğa 90 µl TMB Substrat solüsyonu eklendi ve 37°C'de 10-20 dakika inkübe edildi. Optimum renk gelişimi sağlanana kadar periyodik olarak ışık verildi. Her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi. Mavi rengin sarı renge dönüştüğü görüldü. Her kuyucuğun OD değeri 450 nm'ye ayarlanmış bir mikropilaka okuyucu kullanılarak ölçüldü.

2.1.5.6. Serum TAS Seviyelerinin Ölçümü

TAS kiti ELİSA testi prosedürü kit kriterleri aşağıda yer alan Çizelge 2.6'da gösterilmiştir.

Çizelge 2. 6. TAS analizi sırasında kullanılan reaktifler.

Reaktifler	Bileşen	Boyut 2 (96 T)
Reaktif 1	Tampon Çözeltilisi	30 mL × 1 şişe
Reaktif 2	Kromojenik Ajan	5 mL × 1 şişe
Reaktif 3	2 mmol/L Standart	4 mL × 1 şişe
	Mikroplak	96 kuyu
	Plaka Kapatıcı	2 adet

TAS kiti ELİSA testi prosedürü kiti için standartların hazırlanması Çizelge 2.7’de yer almaktadır.

Çizelge 2. 7. TAS Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi.

Madde	1	2	3	4	5	6	7	8
Konsantrasyon (mmol/L)	0	0,4	0,8	1,2	1,4	1,6	1,8	2
2 mmol/L standart (µL)	0	40	80	12	140	160	180	200
%60 etanol (µL)	200	160	120	80	60	40	20	0

Tüm reaktifler ve numuneler ilave bir işlem yapmadan oda sıcaklığına getirildi. Standart kuyucuğuna farklı konsantrasyonlarda 10 µL standart eklendi. Numune kuyucuğuna 10 µL numune eklendi. Her kuyucuğa 200 µL tampon solüsyonu eklendi. Mikroplak okuyucuyla her bir kuyucuğun OD değerleri 660 nm’de ölçüldü. A1 olarak kaydedildi. Sonrasında her kuyucuğa 20 µL kromojenik ajan eklendi. 5-6 kez tekrar tekrar emdirildi ve çırpıldı. 37°C’de 5 dakika boyunca inkübe edildi. Her kuyucuğun OD değerlerini mikroplaka okuyucuyla 660nm’de ölçüldü.

2.1.5.7. Serum TOS Seviyelerinin Ölçümü

TOS kiti ELİSA testi prosedürü kit kriterleri aşağıda yer alan Çizelge 2.8’de gösterilmiştir.

Çizelge 2. 8. TOS Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi.

Reaktifler	Bileşen	Boyut 2 (96 T)
Reaktif 1	Kromojenik Ajan	24 mL × 1 şişe
Reaktif 2	Substrat	6 mL × 1 şişe
Reaktif 3	200 µmol/L H ₂ O ₂ Standart	1 mL × 1 şişe
	Mikroplak	96 kuyu
	Plaka Kapatıcı	2 adet

TOS kiti ELİSA testi prosedürü kiti için standartların hazırlanması Çizelge 2.9’da yer almaktadır.

Çizelge 2. 9. TOS Standart solüsyonlarının hazırlanmasının şematik gösterimi.

Madde	1	2	3	4	5	6	7	8
Konsantrasyon (µmol/L)	0	10	20	40	50	60	80	100
200 µmol/L H ₂ O ₂ standartı (µL)	0	10	20	40	50	60	80	100
Çift damıtılmış su (µL)	200	190	180	160	150	140	120	100

Tüm reaktifler ve numuneler ilave bir işlem yapmadan oda sıcaklığına getirildi. Standart kuyucuğuna farklı konsantrasyonlarda 20 µL standart eklendi. Numune kuyucuğuna 20 µL numune eklendi. Her kuyucuğa 200 µL kromojenik ajan eklendi. Mikroplak okuyucuyla 5 saniye boyunca tamamen karıştırıldı ve her birinin OD değerleri 590 nm’de ölçüldü. A1 olarak kaydedildi. Sonrasında her kuyucuğa 50 µL substrat eklendi. Mikroplak okuyucuyla 5 saniye boyunca tamamen karıştırıldı ve 37°C’de 5 dakika boyunca inkübe edildi. Her kuyucuğun OD değerlerini mikroluka okuyucuyla 590 nm’de ölçüldü.

2.1.6. Verilerin Değerlendirilmesi

Elde edilen veriler GraphPad Prism 8 programı kullanılarak bilgisayar ortamında bir istatistik uzmanından danışmanlık alınarak analiz edilip değerlendirme sağlanacaktır. Grupların karşılaştırılmasında ise (Kolmogrov-Simirnov sonuçlarına göre) *t* testi

kullanımıdır. Verileri ortalama $\pm$ SD olarak sunulacaktır. 0.05'ten küçük herhangi bir p değeri istatistiksel analiz olarak anlamlı kabul edilecektir.

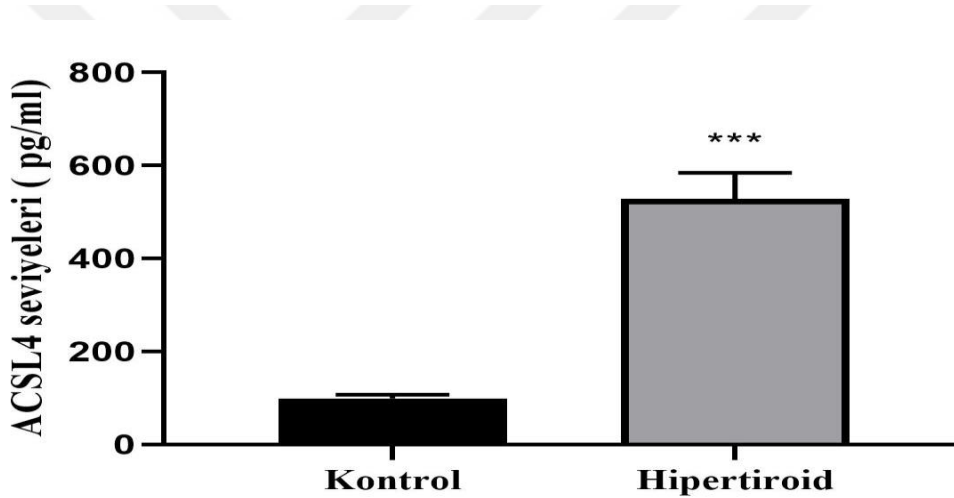


3. BULGULAR

3.1. ELİSA KİTLERİ ANALİZ SONUÇLARI

3.1.1. Hipertiroidizm Hastalarındaki Serum ACSL4 Seviyeleri

Kontrol grubu hastalar ve hipertiroidizmli hastalardaki ACSL4 sonuçları aşağıda yer alan Şekil 3.1’de istatistiksel açıdan değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubu ve hipertiroidizmli hastalar arasındaki ACSL4 verileri normal dağılım göstermiştir. Kontrol grubu ortalama ACSL4 değeri 99,2 pg/ml olarak bulunmuştur. Hipertiroid grubu ortalama ACSL4 değeri 528 pm/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında hipertiroidizmli hastalardaki ACSL4 seviyelerinde % 432,25 bir artış görülmüştür ($p=0,0001$).

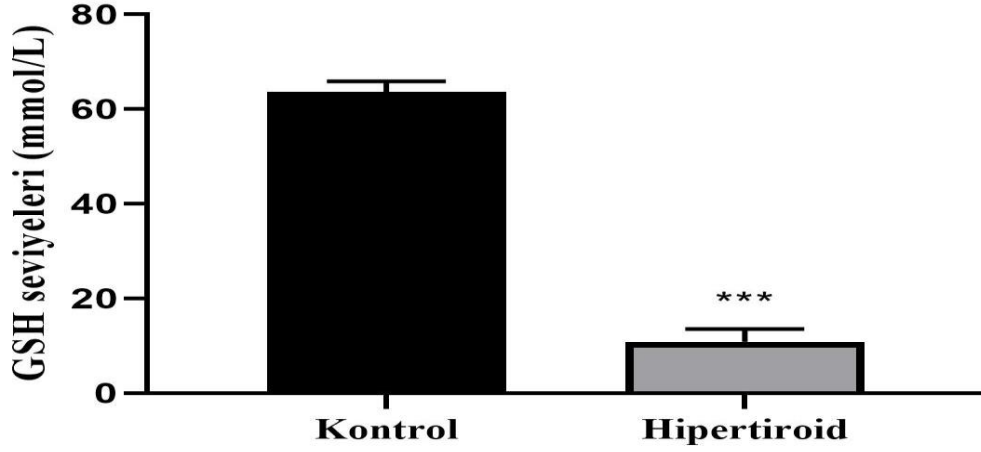


Şekil 3. 1. Hipertiroidizmli hastalardaki ACSL4 seviyeleri.

(*** $p=0,0001$ kontrol grubuyla karşılaştırıldığında)

3.1.2. Hipertiroidizm Hastalarındaki Serum GSH Seviyeleri

Kontrol grubu hastalar ve hipertiroidizmli hastalardaki GSH sonuçları aşağıda yer alan Şekil 3.2’de istatistiksel açıdan değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubu ve hipertiroidizmli hastalar arasındaki GSH verileri normal dağılım göstermiştir. Kontrol grubu ortalama GSH değeri 63,6 mmol/L olarak bulunmuştur. Hipertiroid grubu ortalama GSH değeri 10,8 mmol/L olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında hipertiroidizmli hastalardaki GSH seviyelerinde % 83,01’lik bir düşüş görülmüştür ($p=0,0001$).

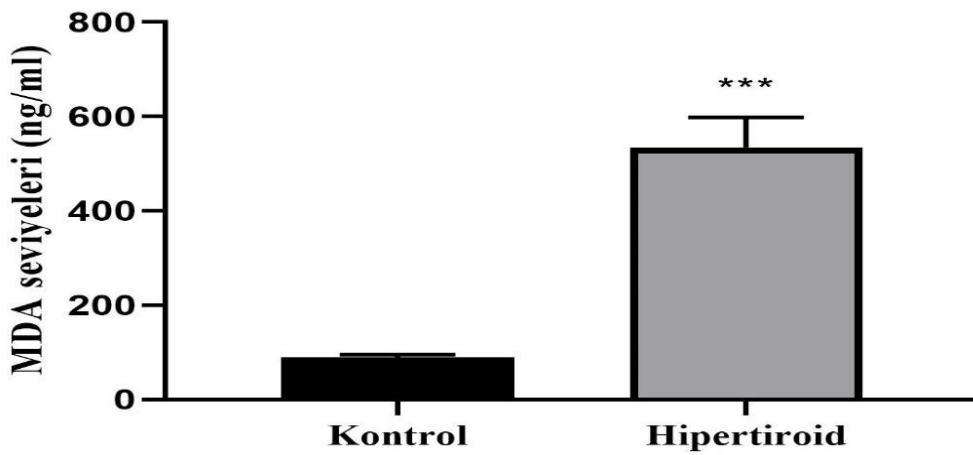


Şekil 3. 2. Hipertiroidizmli hastalardaki GSH seviyeleri.

(***p=0,0001 kontrol grubuyla karşılaştırıldığında)

3.1.3. Hipertiroidizm Hastalarındaki Serum MDA Seviyeleri

Kontrol grubu hipertiroidizm hastalarındaki MDA sonuçları aşağıda yer alan Şekil 3.3’de istatistiksel açıdan değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubu ve hipertiroidizmli hastalar arasındaki MDA verileri normal dağılım göstermiştir. Kontrol grubu ortalama MDA değeri 88,8 ng/ml olarak bulunmuştur. Hipertiroid grubu ortalama MDA değeri 534 ng/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında hipertiroidizmli hastalardaki MDA seviyelerinde % 501,35’lik bir artış görülmüştür (p =0,0001).

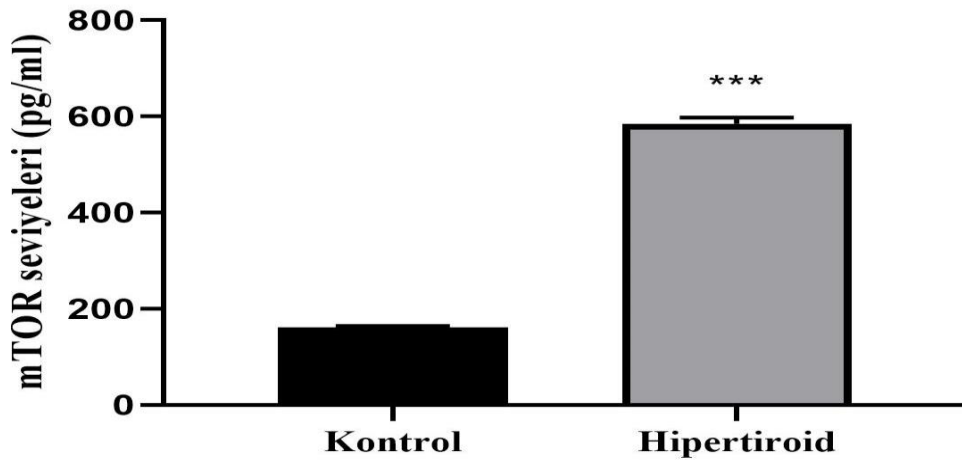


Şekil 3. 3. Hipertiroidizmli hastalardaki MDA seviyeleri.

(***p=0,0001 kontrol grubuyla karşılaştırıldığında)

3.1.4. Hipertiroidizm Hastalarındaki Serum MTOR Seviyeleri

Kontrol grubu hipertiroidizm hastalarındaki MTOR sonuçları aşağıda yer alan Şekil 3.4’de istatistiksel açıdan değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubu ve hipertiroidizmli hastalar arasındaki MTOR verileri normal dağılım göstermiştir. Kontrol grubu ortalama MTOR değeri 161 pg/ml olarak bulunmuştur. Hipertiroid grubu ortalama MTOR değeri 585 pg/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında hipertiroidizmli hastalardaki MTOR seviyelerinde % 263,35’lik bir artış görülmüştür ($p=0,0001$).

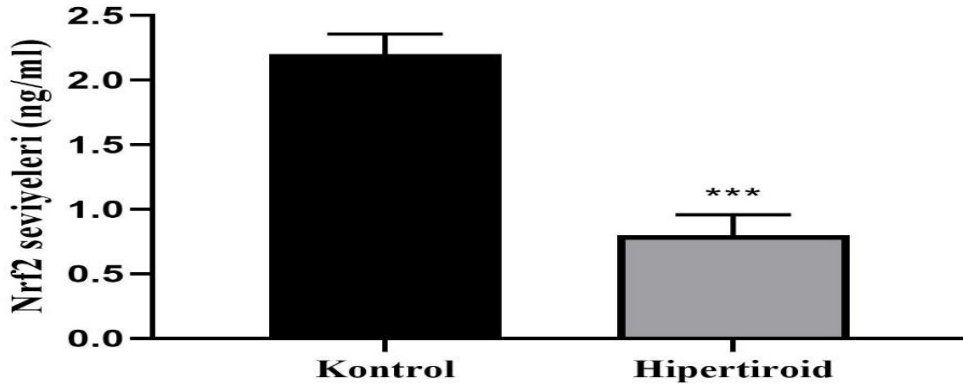


Şekil 3. 4. Hipertiroidizmli hastalardaki MTOR seviyeleri.

(*** $p=0,0001$ kontrol grubuyla karşılaştırıldığında)

3.1.5. Hipertiroidizm Hastalarındaki Serum NRF2 Seviyeleri

Kontrol grubu hipertiroidizm hastalarındaki NRF2 sonuçları aşağıda yer alan Şekil 3.5’de istatistiksel açıdan değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubu ve hipertiroidizmli hastalar arasındaki NRF2 verileri normal dağılım göstermiştir. Kontrol grubu ortalama NRF2 değeri 2,2 ng/ml olarak bulunmuştur. Hipertiroid grubu ortalama NRF2 değeri 0,8 ng/ml olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında hipertiroidizmli hastalardaki NRF2 seviyelerinde % 63,63’lük bir düşüş görülmüştür ($p=0,0001$).

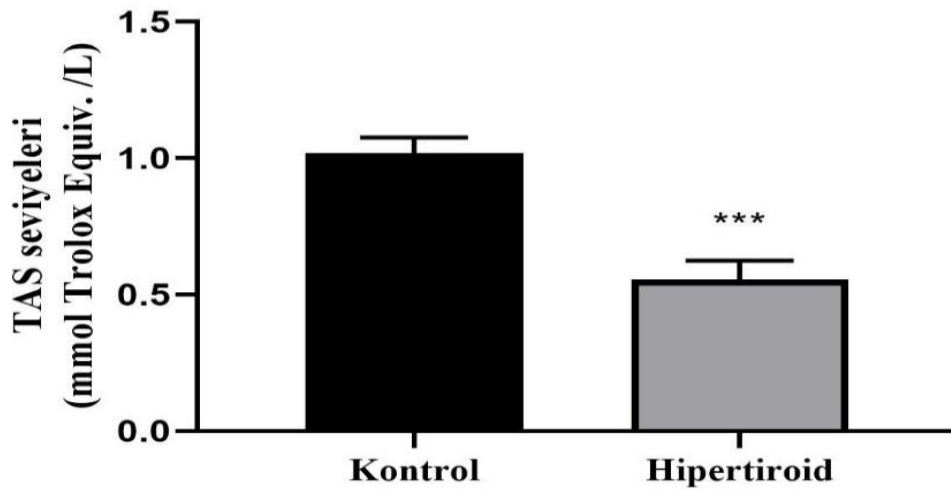


Şekil 3. 5. Hipertiroidizmli hastalardaki NRF2 seviyeleri.

(***p=0,0001 kontrol grubuyla karşılaştırıldığında)

3.1.6. Hipertiroidizm Hastalarındaki Serum TAS Seviyeleri

Kontrol grubu hipertiroidizm hastalarındaki TAS sonuçları aşağıda yer alan Şekil 3.6'da istatistiksel açıdan değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubu ve hipertiroidizmli hastalar arasındaki TAS verileri normal dağılım göstermiştir. Kontrol grubu ortalama TAS değeri 1,108 mmol Trolox Equiv./L olarak bulunmuştur. Hipertiroid grubu ortalama TAS değeri 0,556 mmol Trolox Equiv./L olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında hipertiroidizmli hastalardaki TAS seviyelerinde % 49,81'lik bir düşüş görülmüştür (p =0,0001).

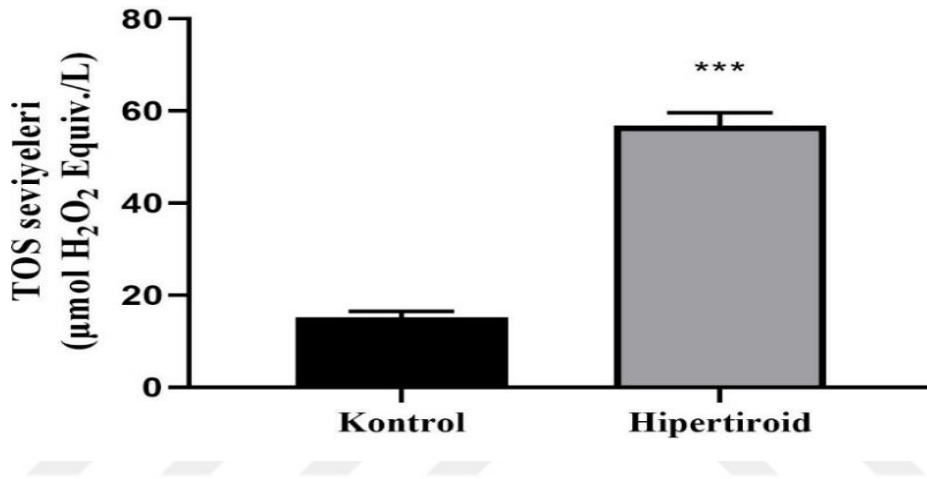


Şekil 3. 6. Hipertiroidizmli hastalardaki TAS seviyeleri.

(***p=0,0001 kontrol grubuyla karşılaştırıldığında)

3.1.7. Hipertiroidizm Hastalarındaki Serum TOS Seviyeleri

Kontrol grubu hipertiroidizm hastalarındaki TOS sonuçları aşağıda yer alan Şekil 3.7’de istatistiksel açıdan değerlendirilmeye alınmıştır. Kontrol grubu ve hipertiroidizmli hastalar arasındaki TOS verileri normal dağılım göstermiştir. Kontrol grubu ortalama TOS değeri 15,2 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L olarak bulunmuştur. Hipertiroid grubu ortalama TOS değeri 56,8 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında hipertiroidizmli hastalardaki TOS seviyelerinde % 273,68 ‘lik bir artış görülmüştür ($p=0,0001$).



Şekil 3. 7. Hipertiroidizmli hastalardaki TOS seviyeleri.

(*** $p=0,0001$ kontrol grubuyla karşılaştırıldığında)

4. TARTIŞMA

Ferroptoz GSH ve GPX4'ün redoks içeriğini aşan ROS birikimine hücre içi demir aşırı yüklenmesine bağlı şiddetli lipid peroksidasyonundan kaynaklanan programlı hücre ölüm şeklidir [10]. Literatürde lipid bileşimini düzenleyen anahtar bir enzim olan ACSL4'ün ferroptozun yürütülmesine katkıda bulunduğu bildirilmiştir [11]. Ferroptoz hakkındaki raporlara göre, ACSL4 ferroptoz için bir biyobelirteç olarak kullanılabilir ve ferroptozu destekleyebilir [70]. ACSL4'ün proferroptoz etkisi esas olarak AA ve AdA metabolizmasında ve lipid peroksidasyonunda oynadığı kritik rolden kaynaklanmaktadır [71]. AA da dahil olmak üzere PUFA'ları tercihen substrat olarak kullanmakta ve koenzim A (KoA) ile tiyoesterifikasyon yoluyla AA'yı aktive ederek AA metabolizmasının ilk adım reaksiyonu olan araşidonil-KoA'yı üretmektedir. Lizofosfatidilkolin asiltransferaz 3 (LPCAT3) ve LOX, araşidonil-KoA'ların zarlardaki fosfolipitlere dahil edilmesinde ve bu fosfolipitlerin oksidasyonunda rol oynamaktadır. Bu nedenle, ACSL4, PUFA metabolizmasında önemlidir [70]. Yapılan bir çalışmada yağ asidi metabolizmasının bir grup enzim tarafından anabolik ve katabolik yollar tarafından sağlandığı bildirilmiş, ACSL ailesinin açıl-KoA'lar oluşturmak için yağ asitlerini katalize etmekte olduğu ifade edilmiştir ve ACSL4 ferroptozla karşı hassasiyetle ilişkilendirilmiştir. ACSL4 inhibe edildiğinde ferroptoz direnci artarken ACSL4'ün gen aktarımı yolu ile sağlanan aşırı aktivasyonu kanser hücrelerinde ferroptoz duyarlılığına neden olmuştur. Ferroptoz duyarlı hücreler nispeten yüksek ACSL4 ifadesine sahipken dirençli hücreler çok düşük seviyede ya da hiç ACSL4 ifade etmemiştir. ACSL4'ün baskılanması ile ferroptoz büyük ölçüde azalmıştır. ACSL4 ekspresyonunun inhibe edilmesi ile yalnızca MDA üretimi azalmıştır, demir birikiminde farklılık görülmemiştir. ACSL4'ün ekspresyonunun indüklenmesi ile MDA seviyesi yükselmiştir demir birikimi bu parametre ile de değişmemiştir. Bu bulgular ACSL4'ün lipid peroksidasyonunu artırarak ferroptozla katkıda bulunduğunu göstermektedir [72]. Kagan ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, spesifik olarak ACSL4 tarafından fosfolipite katılan araşidonik asit lipid peroksidasyonunun, ferroptozla aracılık ettiği gösterilmiştir [73]. Bu çalışmalara dayanarak bizim çalışmamızda ferroptoz lipid yolağında görevli ACSL4 düzeyleri araştırılmış olup kontrol grubuna göre kıyaslandığında hipertiroidizmli hastalardaki

ACSL4 seviyelerinde % 432,25 bir artış görülmüştür.

GSH, GPX4 için bir kofaktör ve sentetik bir substrattır ve GPX4'ün artan oksidatif stres sırasında hücre zarlarının lipid peroksidasyonunu düzenlemesi için gereklidir. Sentetik küçük molekül bileşiği erastin, sistin-glutamat antiporterinin (sistem Xc⁻) aktivitesini inhibe ederek ferroptozu tetikleyebilir ve bu da sentezi sistein gerektiren başlıca hücrel antioksidan olan GSH tükenmesine yol açabilir. Bu nedenle, ferroptoz hücrel redoks homeostazının kaybından kaynaklanır. Ayrıca, sitozolik ROS yerine lipid ROS/peroksitlerin ferroptozda daha önemli roller oynadığı ve lipid ROS'un temizlenmesi için gerekli bir enzim olan GPX4'ün inaktivasyonunun, hücrel sistein ve GSH içerikleri normal olsa bile ferroptozu indükleyebileceği görülmektedir [9]. GSH, protein olmayan tiyol gruplarının yaklaşık %90' ını temsil etmektedir, oksidatif ve serbest radikal aracılı hasara karşı koruyucudur ve GSH sistemi vücuttaki oksidatif strese karşı en önemli endojen savunma sistemidir. GSH biyosentezi ve GPX4 'ün düzgün çalışması, ferroptozu kontrol altında tutmaktadır. GPX4 inhibisyonu ile sonuçlanan koşullar ferroptotik hücre ölümünü hassaslaştırmakta ve tetiklemektedir [10]. Hücre içi GSH içeriğindeki fark, hücrel ferroptoz duyarlılığının değişimini doğrudan etkiler. GSH seviyesi yüksek olduğunda, hücre içi ROS azalır ve hücre antioksidan uzmanlığındadır, GSH seviyesi düştüğünde ise hücre içi ROS seviyesi yükselir ve hücre oksidatif stres durumundadır [74]. SCL7A11 ifadesinin baskılanması ya da hedef ajanlarla inhibe edilmesi hücre içine sistein alımını sınırlar. Bunun sonucunda hücre içinde GSH tükenmesine sebep olur. GSH tükenmesi lipidlerin oksitlenmesi sonucu lipid peroksidasyonu ile sonuçlanır [10]. Sun ve arkadaşları GSH tükenmesinin insan RPE hücrelerinde stres kaynaklı erken yaşlanma (SIPS) ve hücre ölümü üzerindeki alt akış etkilerini inceledikleri bir çalışmada ilk kez, GSH tükenmesinin RPE hücrelerinde ferroptozu indüklediğini göstermiştir [75]. Liu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ferroptozun klinik ortamlarda sağ kalımı ve prognozu engellediğine dair giderek artan kanıtlar vardır. Raporlar ferroptozun GPX4 ve ACSL4 tarafından negatif olarak düzenlendiğini ileri sürmüştür [76]. GPX4, lipid hidroperoksitleri toksik olmayan lipid alkollere indirmek için kofaktörü olarak GSH'yi kullanır, böylece çift fosfolipit katmanlarının bütünlüğünü korur ve ferroptozu önler. GPx4'ün farmakolojik veya genetik olarak inaktivasyonu, toksik lipid peroksitlerin şiddetli birikimine yol açar ve ferroptozu tetikler [77]. Kumar ve arkadaşları çalışmalarında hipertiroid hastalarında hücrelerin önemli bir antioksidanı olan GSH/tCr oranında artış ve bu oranın takipte hastalarda artma eğilimi gösterdiğini bulmuşlardır.

Yüksek tiroit hormon seviyelerinin (hipertiroidizm) oksidatif strese neden olduğu bildirilmiştir. GSH'deki artış, muhtemelen artan oksidatif stresi dengelemek için lokal GSH üretiminin yukarı regülasyonunu veya GSH yıkımında aşağı regülasyonu yansıtabildiği kanaatine varmışlardır [78]. Er tarafından yapılan çalışmada subklinik ve klinik hipotiriodi ve hipertiroidili hastalarda serum GSH düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalma göstermiştir. Hipertiroidili ve hipotiriodili hastalarda lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyelerinin artması ve GSH tüketimi bu hastalıkların oksidatif strese yol açtığı ve bu parametrelerin oksidatif streste şiddetin göstergesi olarak kullanılabileceğini göstermektedir [79]. Adalı ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada hipertiroidili hastalarda GSH aktivitesinin kontrol grubuna göre düşük olduğunu rapor etmişlerdir ve hipertiroidi tedavisi sonrası GSH aktivitesinin tedavi öncesine göre arttığını göstermişlerdir [80]. Konukoğlu ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada hipertiroidili hastaları ilk kontrolde ve 4 haftalık propiltiourasil (PTU) tedavisi sonrası değerlendirmişler ve tedavi öncesi grubun eritrosit GSH seviyelerini düşük bulmuşlardır. Ayrıca tedavi sonrası GSH seviyelerinin anlamlı düzeyde arttığını göstermişlerdir [81]. 2007 yılında Kıran tarafından yapılan bir başka çalışmada GSH aktivitesinin hipertiroidili ve hipotiriodili hastalarda sırası ile %73 ve %46 oranında azaldığı gösterilmiştir [82]. Literatürdeki bu çalışmalara dayanarak bizim yaptığımız çalışmada ise ferroptoz lipit yolağında görevli GSH düzeyleri araştırılmış olup kontrol grubuna göre kıyaslandığında hipertiroidizmlili hastalardaki GSH seviyelerinde % 83,01'lik bir düşüş görülmüştür.

MDA, çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidatif bozunmasında lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan aldehit yapılı oksidasyon ürünüdür [12]. MDA, HNE ve F2-izoprostanlar, OS'in, yani lipit peroksidasyonunun yaygın olarak kabul edilen biyobelirteçleridir [83]. MDA membran bileşenlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna neden olmaktadır ve bu durum da deformasyon, hücre yüzey bileşenlerinin kümelenme eğilimi gibi membran özelliklerini değiştirebilmektedir. Bu etkiler MDA'nın neden mutajenik, genotoksik ve karsinojenik olduğunu açıklamaktadır [4]. Adana ve arkadaşlarının çalışmasında hipertiroidi ve hipotiriodili hastalar ile hipertiroidi iken PTU ile ötiroid hale getirilen ve hipotroidi iken L-Tiroksin kullanarak ötiroid hale getirilen hasta gruplarında eritrosit SOD, GSH-PX, CAT, MDA ve serum MDA düzeyleri ölçülmüş olup hipertiroidili grupta kontrol grubuna göre eritrosit CAT, MDA ve serum MDA düzeyleri istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. PTU ile tedavi

edilen hipertiroidili grupta ise eritrosit CAT, MDA ve serum MDA düzeylerinin kontrol grubu düzeylerine yaklaştığı görülmüştür. Sonuç olarak tiroit hastalıklarında oksidan-antioksidan dengesini bozulabileceği ve bunun da organizmayı olumsuz olarak etkileyebileceği düşünülmüştür [84]. Yılmaz ve arkadaşları deneysel hipotiroidizmlı ratların kas ve karaciğer dokularındaki MDA seviyelerinin kontrol gruplarından yüksek olduğunu göstermişlerdir [85]. Venditti ve arkadaşları karaciğer, kalp ve iskelet kasında MDA seviyelerini araştırmışlar ve hipertiroitli hastalarda MDA seviyelerinde artış, hipotiroitli hastalarda düşüş gözlemlemişlerdir [86]. Çetinkaya ve arkadaşları ise subklinik hipertiroidili hastaların serum MDA düzeylerini incelemişler ve kontrol grubuna göre subklinik hipertiroidili hastaların MDA düzeylerini anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır [87]. Karabağ tarafından yapılan bir çalışmada hipertiroidizm ve hipotiroidizmlı hastalarda serum MDA seviyeleri belirgin bir şekilde artmıştır. Tiroit hormon seviyelerindeki bu değişimler serbest radikal oluşumunu tetiklemiş ve MDA ve protein karbonil gruplarında yükselmeye sebep olmuştur [4]. Er tarafından yapılan bir çalışmada serum MDA düzeyleri subklinik, klinik hipotiroidi ve subklinik, klinik hipertiroidili hastalarda artarken, serum GSH düzeyleri azalmaktadır sonucu bulunmuştur [79]. Çalışmamızda ferroptoz lipit yolağında görevli MDA düzeyleri araştırılmış olup kontrol grubuna göre kıyaslandığında hipertiroidizmlı hastalardaki MDA seviyelerinde % 501,35'lik bir artış görülmüştür.

Yakın zamanda keşfedilen ferroptoz düzenleyicilerden olan MTOR ve NRF2 düzeyleri de çalışmamızdaki kontrol grubu ve hipertiroidizmlı hasta grubunda analiz edilmiş ve yorumlanarak çalışmamız desteklenmiştir. Geçtiğimiz on yıllar, MTOR ve PCD arasındaki düzenleyici bağlantıların gelişmiş bir şekilde anlaşılmasını sağlamıştır. MTOR, otofaji için iyi karakterize edilmiş bir inhibitördür. PCD, otofajiye bağlı mekanizmalar aracılığıyla MTOR tarafından düzenlenebilir. Ancak, MTOR'un protein sentezinde, hücre metabolizmasında ve karmaşık sinyal ağlarıyla etkileşimlerde oynadığı temel roller göz önüne alındığında, MTOR, otofajiden bağımsız olarak PCD'yi doğrudan düzenleyebilir. Örneğin, MTOR'un ana alt akış efektörleri olan p60S6K ve 4E-BP1, Bcl-2 protein süper ailesi ve antioksidan sistem gibi önemli PCD ile ilişkili moleküllerin sentezine katılır. Dahası, MTOR ile diğer sinyal eksenleri arasındaki etkileşimler de hücre ölümünü düzenlemede önemli ölçüde rol oynar [88]. MTORC1 inhibisyonunun, GPX4 protein seviyelerini azaltarak, kanser hücrelerini GPX4 inhibitörleri tarafından indüklenen ferroptozla karşı duyarlı hale getirip getiremeyeceği üzerine yapılan Lei ve arkadaşlarının çalışmasında MTORC1 inhibisyonunun kanser hücrelerini veya

tümörlerini ferroptozaya karşı duyarlı hale getirdiğini göstermiştir [16]. Peng ve arkadaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada mitokondriyal ROS'un kombine tedavinin neden olduğu ferroptozun ana uygulayıcısı olduğu ve ROS'un MTORC1 fonksiyonunu baskılamak için AMPK yolunu aktive ettiği, xCT lizozomal bozulmayı teşvik ettiği ve sonuçta ferroptozaya neden olduğu gösterilmektedir [30]. Bu çalışmalarda MTOR baskılanmasının ferroptozaya duyarlılığı artırdığı gösterilmişse de bu durumun aksi ile karşılaşılan çalışmalar mevcuttur. Sanchez ve arkadaşlarının hipertiroidizm hastalarında beslenme değişikliklerinin hipotalamik MTOR sinyalizasyonunun bozulmasıyla ilişkili olup olmadığını değerlendirmek amaçlı yaptıkları çalışmalarında buldukları veriler hipertiroid durumunda artan beslenmenin tiroid hormonu kaynaklı MTOR sinyalleşmesinin yukarı düzenlenmesiyle ilişkili olduğunu göstermiştir [89]. Kuzman ve arkadaşlarının bir çalışmada, T4'ün MTOR'u ve p70S6k sinyalleşmesini aktive ettiği gösterilmiştir [90]. Bizim çalışmamızda ise kontrol grubuna göre kıyaslandığında hipertiroidizmli hastalardaki MTOR seviyelerinde % 263,35'lik bir artış görülmüştür.

Vücutta redoks homeostazının korunmasına yönelik iki önemli yol, GSH ve tiyoredoksin antioksidan yollarıdır. GSH sadece NRF2 tarafından düzenlenmekle kalmaz, tiyoredoksin bazlı antioksidan sistem (TXN1, TXNRD1) de NRF2 tarafından düzenlenir ve bu, NRF2'nin proteinlerin redoks durumunu düzenlediğini gösterir. Özellikle önemli olan, GPX4 sentezi ve işlevi, hücre içi demir homeostazisi ve lipid peroksidasyonu temizliğinin tümünün NRF2 hedef genleri tarafından aracılık edilebilmesidir [50]. NRF2 antioksidan protein ifadesini doğrudan düzenleyebilen önemli bir transkripsiyon faktörüdür. Birkaç yazar, NRF2'nin diğer dokulardaki antioksidan enzimlerin ifadesine katılımını tanımlanmıştır. Hipertiroid farelerin lenfoid dokusunda NRF2'nin fosforilasyonunda önemli bir artış bulunmuştur. Hipertiroid farelerin lenfoid dokusunda PKC aktivitesinde, PKC'nin klasik *izoenzimleri* α , β ve γ 'nin protein ekspresyonundaki artışla ilişkili bir artış Costilla ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada bulunmuştur. Bu enzimler lenfoid hücrelerde eksprese edilir ve aktiviteleri Ca^{2+} ve fosfolipitlere bağlıdır [69]. Bendavit ve arkadaşları bir çalışmalarında NRF2'nin MTOR promotörüne bağlanabildiğini ve NRF2 indüksiyonunun MTOR promotörünü düzenleyebildiğini göstermektedir. Bu çalışma p65'in MTOR promotörüne bağlandığını ve NRF2 tarafından MTOR düzenlenmesinde rol oynadığını gösteren ilk rapordur. Çevresel stresi algılama NRF2 sistemi ile metabolizmada önemli bir hücre protein olan MTOR arasında bir bağlantı bulunmaktadır [17]. Thanas ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışma tiroit alanının

mevcut odaklı incelemesi, KEAP1/NRF2 sisteminin tiroit patolojileri için biyobelirteçler ve/veya ilaç hedefleri arayışında da faydalı olabileceğini öne sürmektedir [18]. KEAP1-NRF2 sistemi, ferroptozda bir transkripsiyonel savunma mekanizmasıdır. Durgun koşullar altında, transkripsiyon faktörü NRF2, KEAP1 ile bağlanması nedeniyle UPS aracılığıyla sürekli olarak parçalanır. Oksidatif strese ve elektrofilik strese yanıt olarak, KEAP1 inaktive olur ve bu da NRF2'nin stabilizasyonuna ve ardından birçok sitoprotektif genin ekspresyonunun transkripsiyonel aktivasyonuna yol açar. NRF2 ayrıca GSH salınımında rol oynayan genleri baskılayarak RSL3, erastin ve ML162 tarafından in vitro indüklenen ferroptozu teşvik eder. Chen ve arkadaşlarının bir çalışmasındaki bu bulgular, NRF2'nin ferroptozda transkripsiyona bağlı bir işlevi olduğunu göstermektedir [91]. Song ve arkadaşları çalışmalarında NRF2'nin ferroptozla ilgili yollar üzerindeki düzenleyici etkisini PPI ağ analizi yoluyla daha da doğrulamışlardır [50]. Son yıllardaki çalışmalar NRF2'nin bolluğu ferroptozu karşı hücre duyarlılığı ile ilişkili olan PPAR γ (peroksisom proliferatör aktive reseptör- γ) yoluyla lipid metabolizmasının düzenlenmesine dolaylı olarak katıldığını ileri sürmüştür. Dolayısıyla, bol miktarda yukarı ve aşağı akış efektörüyle, NRF2 sinyal yolunu hedeflemek ferroptozu etkili bir şekilde etkileyebilmekte, NRF2 sinyal yolunu düzenleyerek ferroptozu destekleyen veya engelleyen terapilerin uygulanabilmesine yol göstermektedir [53]. Bizim yaptığımız çalışmada kontrol grubuna göre kıyaslandığında hipertiroidizmli hastalardaki NRF2 seviyelerinde % 63,63'lük bir düşüş görülmüştür.

ROS protein, karbohidrat ve lipid moleküllerinde oksidatif hasara sebep olmaktadır. Tiroit hormonlarının etkisiyle meydana gelen ROS, lipidler, proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlar üzerine etkilidirler. Serbest oksijen radikalleri özellikle tiroit hormonları ile indüklenir ve oksidatif strese sebep olarak sonuçta lipid peroksidasyonunu artırmaktadır. Araştırmacılar tiroit hormon seviyelerinin yükseldikçe, serbest radikal artışı ve hipertiroidizmin semptomlarını ateşlediğini öne sürmüşlerdir [4]. Tiroit hormonu oksijenli solunumu hızlandırmaktadır ve tiroit hormonu bu etkisini oksijenli solunumda görev alan komplekslerin sayısını ve aktivitesini de artırmaktadır. Oksijenli solunumun hızlanması sonucu süperoksit üretimi artar ve süperoksit serbest radikallere dönüşerek oksidan stresi artırır. Venditti ve arkadaşlarının bir çalışmasında antioksidan sistemin tamamı göz önüne alındığında hipotiroid ve hipertiroid durumunda antioksidan kapasitenin birbirinden ayrı ve bağımsız komponentlerinin azalması nedeni ile antioksidan kapasite ötiroid durumuna göre azalmış olarak değerlendirilmiştir [92]. 2010

yılında Petrulea ve arkadaşlarının hipertirodizmin oksidatif stres parametrelerine etkisini araştırdıkları çalışma sonucunda tirotoksik grupta serumda karbonil protein düzeylerinin kontrol grubuna göre artmış, SH grupları, GSH ve SOD tiroksin tedavisiyle anlamlı olarak azalmış ve deneysel hipertirodizmin artmış oksidatif stres ve antioksidan sistem bozukluğu ile birlikte olduğu kanaatine varılmıştır [93]. Karabağ'ın 2006 yılında yaptığı çalışmasının sonucunda hipertirodizm ve hipotirodizmlili hastalarda serum MDA ve protein karbonil seviyeleri belirgin bir şekilde artmış, SH düzeyleri ise azalmıştır. Protein SH grupları oksidasyon zincirini kırma özelliğine sahip önemli antioksidanlardır. Tiroit hormon seviyelerindeki bu değişimler serbest radikal oluşumunu tetiklemiş ve protein karbonil gruplarında yükselmeye sebep olmuştur aynı zamanda vücudu oksidatif stresten koruyan doğal bir antioksidan olan SH gruplarındaki düşüş oksidatif hasarın önemli bir göstergesi olduğu sonucuna ulaşılmıştır [4]. Vücutta ROS oluşumunu ve ROS'un meydana getirdiği oksidatif hasarı önlemek için "antioksidan savunma sistemi" adı verilen savunma mekanizmaları gelişmiştir. Serbest radikallerin uyardığı oksidatif strese karşı antioksidan savunma sistemi bir bütün şeklinde mücadele eder. Oksidatif hasarı önlemek için dokular GPX4, CAT ve SOD gibi çok sayıda antioksidan enzim içerirler. Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı, plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Albumin, ürik asit ve askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan durumun %85'inden fazlasını oluşturmaktadır. Plazmada antioksidanlar etkileşim içindedir. Bu etkileşimden dolayı ve antioksidan moleküller genelde sinerjik çalıştıkları için antioksidanların tek başlarına göstereceği etki beraber göstereceği etkiden daha azdır. Antioksidan moleküllerin toplam ölçümü daha kolay ve net bir sonuç verebileceği için tüm vücuttaki antioksidan durumu değerlendirmek için total antioksidan kapasite ölçümleri yapılmaktadır [94]. Bu bilgilere dayanarak bizim çalışmamızda hipertirodizmdeki oksidatif stresi değerlendirmek için TAS ve TOS düzeyleri incelenmiş olup kontrol grubu ortalama TAS değeri 1,108 mmol Trolox Equiv./L olarak bulunmuştur. Hipertiroid grubu ortalama TAS değeri 0,556 mmol Trolox Equiv./L olarak bulunmuştur. Kontrol grubuna göre kıyaslandığında hipertirodizmlili hastalardaki TAS seviyelerinde %49,81'lik bir düşüş görülmüştür. Antioksidan moleküllerdeki gibi oksidan moleküller de birbiriyle etkileşime girmesi sebebiyle konsantrasyonlarını ayrı ayrı ölçmek sağlıklı bir sonuç vermeyebilir. Oksidan moleküllerin konsantrasyonlarını da ayrı ayrı ölçmek maliyetli ve zaman alıcı olması sebebiyle TOS ölçümü tercih edilmektedir [95]. Kontrol grubu ortalama TOS değeri 15,2 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L olarak bulunmuştur. Hipertiroid grubu ortalama TOS değeri 56,8 $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equiv./L olarak bulunmuştur.

Kontrol grubuna göre kıyaslandığında hipertiroidizmli hastalardaki TOS seviyelerinde %273,68 ‘lık bir artış görölmüştür.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda kontrol grubu ve hipertiroidizmli hasta gruplarında lipit peroksidasyonu düzeyini araştırmak için ACSL4, GSH ve MDA analizleri yapılmıştır. Hipertiroidizmli hastalarda ACSL4 ve MDA düzeylerinde artış, GSH düzeylerinde düşüş görülmüştür. Bu sonuçlar lipit peroksidasyonunun ve oksidatif stresin hipertiroidizmli hastalarda daha yüksek olduğunu göstermektedir. Sağlıklı bireylere kıyasla hipertiroidizmli bireylerde GSH seviyelerinin azalışı, ACSL4 ve MDA seviyelerinin artışı birlikte değerlendirildiğinde hipertiroidizmin ferroptozu indüklediği düşünülebilir. MTOR ve NRF2'nin ferroptozu olan etkileriyle ilgili çalışmalara dayanarak hastalarda bu parametrelere de bakılmıştır. Kontrol grubuyla kıyaslandığında MTOR seviyelerinde artış NRF2 seviyelerinde düşüş görülmüştür. Ancak MTOR normalde protein sentezini desteklemektedir ve GSH ve GPX4 sentezini desteklediği gösteren çalışmaların da mevcut olduğu gösterilmiştir. Tüm vücuttaki antioksidan ve oksidan durumu değerlendirmek için kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hipertiroidizmli bireylerin serum TAS konsantrasyonu istatistiksel olarak düşük; TOS konsantrasyonu istatistiksel olarak yüksek bulunmuştur. MTOR, ACSL, MDA ve TOS seviyelerinin artması, GDH, NRF2 ve TAS, seviyelerinin azalması lipit peroksidasyonunun ve oksidatif stresin hipertiroidizmli hasta grubunda daha yüksek olduğunu ve ferroptozun indüklendiğini göstermektedir. Ancak; hipertiroit durumunda MTOR seviyeleri artmasına rağmen değişen oksidan dengeyle hipertiroitli kişilerde ferroptoz mekanizması artmıştır. Bizim çalışmamızdaki önemli bir eksiklik budur aslında. Buradan yola çıkarak daha ileri çalışmaların yapılması kanaatine varılmıştır. Bu hastalarda demir ve ferritin seviyelerinin takibinin yapılması aslında ferroptoz mekanizması hakkında daha fazla bilgi sağlayabilir.

6. KAYNAKLAR

- [1] Z. Durgun, C. Yazıcı, ve A. O. İnan, “Tiroit hormonları ve hastalıkları”, *Akdeniz Spor Bilimleri Dergisi (ASBD) / Mediterranean Journal of Sport Science*, c. 2, sayı 1, ss. 28-40, 2019.
- [2] Ş. Yel, “Tiroid nodülü sitoloji sonuçlarının tiroid fonksiyon testleri ve nodülün ultrasonografi bulguları ile olan ilişkisi”, Tıpta uzmanlık tezi, İstanbul Kanuni Sultan Süleyman Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 2022.
- [3] A.Ş. Hacımustafaoğlu, “Tirotoksikozlu hastalarda kemik turnover belirteçlerinin tiroid fonksiyon testleri ile korelasyonu”, Uzmanlık tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Bursa, Türkiye, 2023.
- [4] S.F. Karabağ, “Hipertiroidizm ve hipotiroidizm olgularında oksidatif stres”, Yüksek lisans tezi, Biyokimya Anabilim Dalı, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyon, Türkiye, 2006.
- [5] X. Jiang, B. R. Stockwell, ve M. Conrad, “Ferroptosis: mechanisms, biology and role in disease”, 01 Nisan 2021, *Nature Research*. doi: 10.1038/s41580-020-00324-8.
- [6] D. Güvenç ve T. Güvenç, “Apoptotik hücre ölümü ve toksikolojik yanıtta önemi”, *Animal Health Prod and Hyg*, c. 6(2), ss. 499-504, 2017.
- [7] B. R. Stockwell vd., “Ferroptosis: A Regulated Cell Death Nexus Linking Metabolism, Redox Biology, and Disease”, 05 Ekim 2017, *Cell Press*. doi: 10.1016/j.cell.2017.09.021.
- [8] Ö. Güler, “Hct-116 ve ht-29 kolon hücre hattında kuersetinin hücre ölüm yolları üzerine etkisinin incelenmesi”, Yüksek lisans tezi, Biyokimya Anabilim Dalı, Düzce Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı, Düzce, Türkiye, 2023.
- [9] M. Gao, P. Monian, Q. Pan, W. Zhang, J. Xiang, ve X. Jiang, “Ferroptosis is an autophagic cell death process”, *Cell Res*, c. 26, sy 9, ss. 1021-1032, Eyl. 2016, doi: 10.1038/cr.2016.95.
- [10] Ç. Arkan, “Disülfiram ile muamele edilen multipl miyelom hücrelerinde ferroptosis hücre ölüm yolağının araştırılması”, Yüksek lisans tezi, Biyoloji Anabilim Dalı, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Burdur, Türkiye, 2023.
- [11] E. Denizli Karakaş, “Covid-19 hastalığında ferroptosis mekanizmasının incelenmesi”, Uzmanlık tezi, Aile Hekimliği Anabilim Dalı, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Şanlıurfa, Türkiye, 2022.
- [12] E. Özkan, “Çeşitli kemoterapötiklerin meme kanseri hücreleri üzerinde ferroptozu indükleyici etkilerinin araştırılması”, Doktora tezi, Biyokimya Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye, 2022.
- [13] H. Liao vd., “Relationship of mTORC1 and ferroptosis in tumors”, 01 Aralık 2024, *Springer Science and Business Media B.V.* doi: 10.1007/s12672-024-00954-w.

- [14] A.F. Ay, “Primer hiperparatiroidizmde otofaji düzenleyicisi olan beclin-1 ve rapamisin memeli hedefi (Mtor) serum düzeyleri ve hastalık komplikasyonları ile ilişkisi”, Uzmanlık tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta, Türkiye, 2023.
- [15] A. P. Gureev, V. N. Popov, ve A. A. Starkov, “Crosstalk between the mTOR and Nrf2/ARE signaling pathways as a target in the improvement of long-term potentiation”, 01 Haziran 2020, *Academic Press Inc.* doi: 10.1016/j.expneurol.2020.113285.
- [16] G. Lei, L. Zhuang, ve B. Gan, “mTORC1 and ferroptosis: Regulatory mechanisms and therapeutic potential”, 01 Ağustos 2021, *John Wiley and Sons Inc.* doi: 10.1002/bies.202100093.
- [17] G. Bendavit, T. Aboukassim, K. Hilmi, S. Shah, ve G. Batist, “Nrf2 transcription factor can directly regulate mTOR: Linking cytoprotective gene expression to a major metabolic regulator that generates redox activity”, *Journal of Biological Chemistry*, c. 291, sy 49, ss. 25476-25488, Ara. 2016, doi: 10.1074/jbc.M116.760249.
- [18] C. Thanas, P. G. Ziros, D. V. Chartoumpekis, G. P. Sykiotis, ve C. O. Renaud, “The keap1/nrf2 signaling pathway in the thyroid—2020 update”, 01 Kasım 2020, *MDPI*. doi: 10.3390/antiox9111082.
- [19] M. Zhang vd., “Rapamycin improves Graves’ orbitopathy by suppressing CD4 + cytotoxic T lymphocytes”, 2023, doi: 10.1172/jci.
- [20] D. Atasoy, “Tiroid ince iğne aspirasyon biyopsi patoloji raporunda ‘önemi belirsiz atipi(au): kategori 3’ olarak değerlendirilen hastaların total tiroidektomi sonrası patoloji sonuçlarının değerlendirilmesi”, Uzmanlık tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas, Türkiye, 2023.
- [21] N. Semiz, “İnflamasyon belirteçlerinin tiroid nodülü ve tiroid maligniteleri ile ilişkisinin retrospektif analizi”, Tıpta uzmanlık tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye, 2022.
- [22] A.İ. Sağlam, “Tiroid ince iğne aspirasyon biyopsisi uygulanan hastalarda non diagnostik tanının tiroid kanseri ile ilişkisi”, Tıpta uzmanlık tezi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat, Türkiye, 2023.
- [23] M.Y. Akar, “Subakut granülomatöz tiroidit (de quervain tiroiditi) olgularımızın retrospektif değerlendirilmesi”, Uzmanlık tezi, Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi, Rize, Türkiye, 2023.
- [24] A. Doğan, “Tiroid hastalığı dışı sebeplerle başvuran hastaların tiroid fonksiyon testlerinin incelenmesi”, Uzmanlık tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi, Tekirdağ, Türkiye, 2022.
- [25] K. Kurt, “Hashimoto tiroiditi tanılı hastalarda otoantikör düzeyi ile tiroid nodülü arasındaki ilişkinin belirlenmesi”, Tıpta uzmanlık tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İzzet Baysal Üniversitesi, Bolu, Türkiye, 2023.
- [26] E.H. Polat, “Tiroid papiller karsinomlarında klinik nod negatif hastalarda uygulanan total tiroidektomiye karşın total tiroidektomi ve santral boyun diseksiyonu analizi”, Tıpta uzmanlık tezi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara, Türkiye, 2022.
- [27] H.S. Munis, “Aksiyal spondiloartritli hastalarda anti-tümör nekroz faktör

- tedavisinin tiroid nodülü ve tiroid fonksiyonları üzerine etkisi”, Uzmanlık tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gaziantep Üniversitesi, Gaziantep, Türkiye, 2023.
- [28] G.A. Tatar Besler, “Hipotiroidi hastalarında tedavi dozunun belirlenmesinde yağsız vücut ağırlığının kullanılması ve ihtiyaç duyulan dozun hastalık etiyojilerine (kronik otoimmün tiroidit, radyoaktif iyot sonrası hipotiroidizm ve total tiroidektomi sonrası hipotiroidizm) göre karşılaştırılması”, Tıpta uzmanlık tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 2023.
- [29] F. Aydoğdu, “Normotiroid diferansiye tiroid karsinomu olgularında serum tiroid hormon ve tiroglobulin oranlarının tanısal değerlerinin belirlenmesi”, Uzmanlık tezi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi, Ankara, Türkiye, 2022.
- [30] S. Peng *vd.*, “Synergism of non-thermal plasma and low concentration RSL3 triggers ferroptosis via promoting xCT lysosomal degradation through ROS/AMPK/mTOR axis in lung cancer cells”, *Cell Communication and Signaling*, c. 22, sy 1, Ara. 2024, doi: 10.1186/s12964-023-01382-z.
- [31] F. Akinci, “Dev guatr nedeniyle bilateral total tiroidektomi yapılan hastalarda u-flep yöntemi ile standart orta hat yaklaşımının retrospektif olarak karşılaştırılması”, Tıpta uzmanlık tezi, Genel Cerrahi Anabilim Dalı, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Ankara, Türkiye, 2023.
- [32] M. Koçak, “Subakut tiroidit hastalığında mır375 ve mır451a genlerinin ifade düzeylerinin araştırılması”, Yüksek lisans tezi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Tokat, Türkiye, 2023.
- [33] A. Bozdaş, “Otoimmün tiroiditli hastalarda helicobacter pylori pozitifliğinin retrospektif olarak değerlendirilmesi”, Tıpta uzmanlık tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi İç Hastalıkları Kliniği, Ankara, Türkiye, 2023.
- [34] E. Kut ve H. Atmaca, “Tirotoksikoz”, *J Exp Clin Med*, c. 29, sy 4S, ss. 309-314, Nis. 2013, doi: 10.5835/jecm.omu.29.s4.018.
- [35] M.C. Salihoğlu, “Subakut tiroidit ile covid-19 pandemisi ilişkisi”, Tıpta uzmanlık tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 2023.
- [36] Z. Akgül Kızılcay, “Otoimmün tiroidit ve total tiroidektomiye bağlı hipotiroidik hastalarda tiroid hormon replasmanının klinik ve biyokimyasal olarak karşılaştırmalı değerlendirmesi”, Tıpta uzmanlık tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul, Türkiye, 2022.
- [37] D. Çelik Eliş, “Papiller tiroid kanseri ile tiroid otoimmünitesi arasındaki ilişki”, Tıpta uzmanlık tezi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi İç Hastalıkları Kliniği, İstanbul, Türkiye, 2022.
- [38] B. Kuyumcu, “Toksik adenom ve toksik multinodüler guatr nedeniyle radyoaktif iyot tedavisi alan hastaların retrospektif olarak değerlendirilmesi ve hipotiroidi gelişimini etkileyen faktörler”, Uzmanlık tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, On Sekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çanakkale, Türkiye, 2021.
- [39] I. Koç, “Toksik adenom, toksik multinodüler guatr ve toksik diffüz guatr hastalarında radyoaktif iyot tedavisinin uzun dönemde tiroid bezi, tiroid volümü, nodül yapısı ve tiroid fonksiyonları üzerine etkisi”, Tıpta uzmanlık tezi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, 2021.
- [40] H. Yılmazoğulları, “Akciğer kanserinde borik asitin hücre döngüsünü düzenleyen genlerin ekspresyonları üzerindeki etkisinin incelenmesi”, Yüksek lisans tezi,

Tıbbi Biyoloji ve Geneti Anabilim Dalı, İstinye Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 2022.

- [41] S. Altun, “SH-SY5Y (Nöroblastom) hücrelerinde hn1’in hücre döngüsünün düzenlenmesine katkısı”, Doktora tezi, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye, 2023.
- [42] G. Çınar, “Azometin grubu içeren heterosiklik bileşiklerin nöroblastom hücrelerinde hücre döngüsü ve apoptoz yolağı üzerine etkisinin in vitro ve in silico incelenmesi”, Yüksek lisans tezi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas, Türkiye, 2022.
- [43] İ.N. Başlılar, “İndolin-2-on türevlerinin kanser hücre döngüsü ve ölümüne etkisi”, Yüksek lisans tezi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Gebze Teknik Üniversitesi, Gebze, Türkiye, 2023.
- [44] N. Bayramova, “Metabolik sendrom modelinde vitamin d’nin karaciğer dejenerasyonu ve hücre ölümü üzerine etkileri”, Yüksek lisans tezi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 2023.
- [45] B.H. Gölge, “Arpa (hordeum vulgare l.) köklerinde alüminyum ile uyarılmış programlı hücre ölümünün immünohistokimyasal analizi”, Yüksek lisans tezi, Biyoloji Anabilim Dalı, Marmara Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 2018.
- [46] T. Ergin, “Bombyx mori orta bağırsak dokusunda açlık koşulunda gerçekleşen otofaji ile metamorfozda gerçekleşen otofajinin karşılaştırılması”, Yüksek lisans tezi, Biyoloji Anabilim Dalı, Ege Üniversitesi, İzmir, Türkiye, 2019.
- [47] E. Tanriverdi, “Kolon kanseri hücrelerinde kolekalsiferol/d3 vitamin uygulamasının otofaji ve endoplazmik retikulum stresi üzerinden değerlendirilmesi”, Yüksek lisans tezi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Konya, Türkiye, 2023.
- [48] H. G. Kazıcı, “Renal tübüler epitel hücreleri (hk2) ve renal kanser hücrelerinde (caki-1) şok dalga tedavisinin apoptotik etkisinin ve hücre ölümünün değerlendirilmesi”, Uzmanlık tezi, Üroloji Anabilim Dalı, Adnan Menderes Üniversitesi, Aydın, Türkiye, 2021.
- [49] A. Çelenk, “Yeni Bir Hücre Ölüm Şekli Olarak Ferroptosis”, *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, c. 30, sy 4, ss. 258-268, Ara. 2021, doi: 10.17827/aktd.980659.
- [50] X. Song ve D. Long, “Nrf2 and Ferroptosis: A New Research Direction for Neurodegenerative Diseases”, 21 Nisan 2020, *Frontiers Media S.A.* doi: 10.3389/fnins.2020.00267.
- [51] Y. Zhang vd., “mTORC1 couples cyst(e)ine availability with GPX4 protein synthesis and ferroptosis regulation”, *Nat Commun*, c. 12, sy 1, Ara. 2021, doi: 10.1038/s41467-021-21841-w.
- [52] K. R. Sekhar vd., “Glutathione peroxidase 4 inhibition induces ferroptosis and mTOR pathway suppression in thyroid cancer”, *Sci Rep*, c. 12, sy 1, Ara. 2022, doi: 10.1038/s41598-022-23906-2.
- [53] R. Yan, B. Lin, W. Jin, L. Tang, S. Hu, ve R. Cai, “NRF2, a Superstar of Ferroptosis”, 01 Eylül 2023, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. doi: 10.3390/antiox12091739.
- [54] R. Zoncu, A. Efeyan, ve D. M. Sabatini, “MTOR: From growth signal integration

- to cancer, diabetes and ageing”, Ocak 2011. doi: 10.1038/nrm3025.
- [55] R. A. Saxton ve D. M. Sabatini, “mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease”, 09 Mart 2017, *Cell Press*. doi: 10.1016/j.cell.2017.02.004.
 - [56] A. K. Murugan vd., “Absence of somatic mutations of the mTOR gene in differentiated thyroid cancer”, *Meta Gene*, c. 6, ss. 69-71, Ara. 2015, doi: 10.1016/j.mgene.2015.08.005.
 - [57] Z. Wang vd., “Augmented ERO1 α upon mTORC1 activation induces ferroptosis resistance and tumor progression via upregulation of SLC7A11”, *Journal of Experimental and Clinical Cancer Research*, c. 43, sy 1, Ara. 2024, doi: 10.1186/s13046-024-03039-2.
 - [58] H. Hua, Q. Kong, H. Zhang, J. Wang, T. Luo, ve Y. Jiang, “Targeting mTOR for cancer therapy”, 05 Temmuz 2019, *BioMed Central Ltd*. doi: 10.1186/s13045-019-0754-1.
 - [59] A. P. Gureev, V. N. Popov, ve A. A. Starkov, “Crosstalk between the mTOR and Nrf2/ARE signaling pathways as a target in the improvement of long-term potentiation”, 01 Haziran 2020, *Academic Press Inc*. doi: 10.1016/j.expneurol.2020.113285.
 - [60] A. Derwich, M. Sykutera, B. Bromińska, M. Andrusiewicz, M. Ruchała, ve N. Sawicka-Gutaj, “Clinical Implications of mTOR Expression in Papillary Thyroid Cancer—A Systematic Review”, 01 Mart 2023, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. doi: 10.3390/cancers15061665.
 - [61] W. W. Yau vd., “Thyroid hormone (T3) stimulates brown adipose tissue activation via mitochondrial biogenesis and MTOR-mediated mitophagy”, *Autophagy*, c. 15, sy 1, ss. 131-150, Oca. 2019, doi: 10.1080/15548627.2018.1511263.
 - [62] P. Mishra vd., “Possible activation of NRF2 by Vitamin E/Curcumin against altered thyroid hormone induced oxidative stress via NF κ B/AKT/mTOR/KEAP1 signalling in rat heart”, *Sci Rep*, c. 9, sy 1, Ara. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-43320-5.
 - [63] L. H. Wu, C. R. Pangilinan, ve C. H. Lee, “Downregulation of AKT/mTOR signaling pathway for Salmonella-mediated autophagy in human anaplastic thyroid cancer”, *J Cancer*, c. 13, sy 11, ss. 3268-3279, 2022, doi: 10.7150/jca.75163.
 - [64] R. Wangenstein vd., “Dietary salt restriction in hyperthyroid rats. Differential influence on left and right ventricular mass”, *Exp Biol Med*, c. 240, sy 1, ss. 113-120, Oca. 2015, doi: 10.1177/1535370214544265.
 - [65] Z. Gong vd., “Targeting Nrf2 to treat thyroid cancer”, 01 Nisan 2024, *Elsevier Masson s.r.l*. doi: 10.1016/j.biopha.2024.116324.
 - [66] M. Dodson, R. Castro-Portuguez, ve D. D. Zhang, “NRF2 plays a critical role in mitigating lipid peroxidation and ferroptosis”, 01 Mayıs 2019, *Elsevier B.V*. doi: 10.1016/j.redox.2019.101107.
 - [67] B. Wang vd., “EP1 activation inhibits doxorubicin-cardiomyocyte ferroptosis via Nrf2”, *Redox Biol*, c. 65, Eyl. 2023, doi: 10.1016/j.redox.2023.102825.
 - [68] C. O. Renaud, P. G. Ziros, D. V. Chartoumpekis, M. Bongiovanni, ve G. P. Sykiotis, “Keap1/Nrf2 Signaling: A New Player in Thyroid Pathophysiology and Thyroid Cancer”, *Front Endocrinol (Lausanne)*, c. 10, Ağu. 2019, doi:

10.3389/fendo.2019.00510.

- [69] M. Costilla, R. M. Delbono, A. Klecha, G. A. Cremaschi, ve M. L. B. Arcos, “Oxidative stress produced by hyperthyroidism status induces the antioxidant enzyme transcription through the activation of the Nrf-2 factor in lymphoid tissues of BALB/c mice”, *Oxid Med Cell Longev*, c. 2019, 2019, doi: 10.1155/2019/7471890.
- [70] P. Liao vd., “CD8+ T cells and fatty acids orchestrate tumor ferroptosis and immunity via ACSL4”, *Cancer Cell*, c. 40, sy 4, ss. 365-378.e6, Nis. 2022, doi: 10.1016/j.ccell.2022.02.003.
- [71] B. Jia, J. Li, Y. Song, ve C. Luo, “ACSL4-Mediated Ferroptosis and Its Potential Role in Central Nervous System Diseases and Injuries”, 01 Haziran 2023, *Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI)*. doi: 10.3390/ijms241210021.
- [72] B. Kibar, “Renal iskemi reperfüzyon hasarıyla indüklenen ferroptozun lipit yolağı ile ilişkili miR497, miR3584, miR106b ve miR92a2’nin ekspresyon düzeylerinin farklı iskemi sürelerine bağlı olarak araştırılması”, Yüksek lisans tezi, Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, Türkiye, 2023.
- [73] V. E. Kagan vd., “Oxidized arachidonic and adrenic PEs navigate cells to ferroptosis”, *Nat Chem Biol*, c. 13, sy 1, ss. 81-90, Oca. 2017, doi: 10.1038/nchembio.2238.
- [74] Y. Jiang, C. Glandorff, ve M. Sun, “GSH and Ferroptosis: Side-by-Side Partners in the Fight against Tumors”, *Antioxidants*, c. 13, sy 6, s. 697, Haz. 2024, doi: 10.3390/antiox13060697.
- [75] Y. Sun, Y. Zheng, C. Wang, ve Y. Liu, “Glutathione depletion induces ferroptosis, autophagy, and premature cell senescence in retinal pigment epithelial cells article”, *Cell Death Dis*, c. 9, sy 7, Tem. 2018, doi: 10.1038/s41419-018-0794-4.
- [76] F. Khan vd., “Emerging trends of phytochemicals as ferroptosis modulators in cancer therapy”, 01 Nisan 2024, *Elsevier Masson s.r.l.* doi: 10.1016/j.biopha.2024.116363.
- [77] C. Hacıoğlu ve F. Davran, “Kolorektal Kanseri Hücrelerinde Boraksın Gpx4/ACSL4 Sinyal Yolu Aracılığıyla Sitotoksik Etkileri”, *Sağlık Bilimlerinde Değer*, c. 13, sy 1, ss. 54-60, Oca. 2023, doi: 10.33631/sabd.1180766.
- [78] M. Kumar vd., “Neurometabolite Changes in Hyperthyroid Patients Before and After Antithyroid Treatment: An in vivo 1H MRS Study”, *Front Hum Neurosci*, c. 15, Kas. 2021, doi: 10.3389/fnhum.2021.739917.
- [79] H. B. Er, “Hipertiroidizm ve hipotiroidizmli hastalarda vitamin d düzeylerinin değerlendirilmesi”, Yüksek lisans tezi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar, Türkiye, 2015.
- [80] M. Adalı, M. İ. Erden, A. Akalin, ve B. Efe, “Effects of Propylthiouracil, Propranolol, and Vitamin E on Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in Hyperthyroid Patients”, *Clinical Biochemistry*, Vol. 32, No. 5, ss. 363-367, 1999.
- [81] D. Konukoğlu, H. K. Yelke, H. Hatemi, ve T. Sabuncu, “Effects Of Oxidative Stress On The Erythrocyte Na + ,K + Atpase Activity In Female Hyperthyroid Patients”, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 63, ss. 289-295, 2001.

- [82] T. R. Kıran, “Hipertiroidili ve hipotiroidili hastalarda oksidatif stres parametreleri ve adenoazin deaminaz aktivitesi”, Doktora tezi, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Malatya, Türkiye, 2007.
- [83] Ş. Dağlı ve T. Özgöçer, “COVID-19 Hastalarında Total Oksidan ve Antioksidan Düzeylerinin Uzun Vadeli Araştırılması”, *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, c. 19, sy 1, ss. 176-183, Nis. 2022, doi: 10.35440/hutfd.1096787.
- [84] A. A. Adana ve N. Delibaş, “Hiper ve hipotiroidili hastalarda MDA, SOD, GSH-PX ve katalaz düzeyleri”, Tıpta uzmanlık tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Isparta, Türkiye, 2000.
- [85] S. Yılmaz, S. Ozan, F. Benzer, ve H. Canatan, “Oxidative damage and antioxidant enzyme activities in experimental hypothyroidism”, *Cell Biochem Funct*, c. 21, ss. 325-330, 2003, doi: 10.1027/cbf.1031.
- [86] P. Venditti, S. Di Meo, ve M. Balestrieri, “Effect of thyroid state on lipid peroxidation, antioxidant defences, and susceptibility to oxidative stress in rat tissue”, *Journal of Endocrinology*, c. 155, ss. 151-157., 1997.
- [87] A. Cetinkaya, E. B. Kurutas, M. A. Buyukbese, B. Kantarceken, ve E. Bulbuloglu, “Levels of malondialdehyde and superoxide dismutase in subclinical hyperthyroidism”, *Mediators Inflamm*, c. 2005, sy 1, ss. 57-59, Şub. 2005, doi: 10.1155/MI.2005.57.
- [88] J. Ni, K. Chen, J. Zhang, ve X. Zhang, “Inhibition of GPX4 or mTOR overcomes resistance to Lapatinib via promoting ferroptosis in NSCLC cells”, *Biochem Biophys Res Commun*, c. 567, ss. 154-160, Ağu. 2021, doi: 10.1016/j.bbrc.2021.06.051.
- [89] M. N. Sanchez, L. Varela, ve L. Martins, “Hypothalamic mTOR pathway mediates thyroid hormone-induced hyperphagia in hyperthyroidism”, *Endocrine Abstracts*, c. 29, ss. 1564-1564, 2012.
- [90] J. A. Kuzman, T. D. O’Connell, ve A. M. Gerdes, “Rapamycin prevents thyroid hormone-induced cardiac hypertrophy”, *Endocrinology*, c. 148, sy 7, ss. 3477-3484, Tem. 2007, doi: 10.1210/en.2007-0099.
- [91] X. Chen, C. Yu, R. Kang, G. Kroemer, ve D. Tang, “Cellular degradation systems in ferroptosis”, 01 Nisan 2021, *Springer Nature*. doi: 10.1038/s41418-020-00728-1.
- [92] M. Ünlü ve M. Kaçmaz, “Hipotiroidi hastalarında endotel disfonksiyonu ve oksidatif stres”, Uzmanlık tezi, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kırıkkale, Türkiye, 2015.
- [93] M. S. Petrulea, I. Duncea, ve A. Muresan, “Effect of hyperthyroidism on parameters of oxidative stress and antioxidant status in Wistar rats”, *Endocrine Abstracts*, c. c.22, ss. 763-763, 2010.
- [94] V. Altunkaya, “Normotermik ve hipotermik bypass’da total antioksidan seviye (Tas), total oksidan seviye (Tos) ve oksidatif stres indeksi (Osi) değişimlerinin araştırılması”, Yüksek lisans tezi, Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Anabilim Dalı, Harran Üniversitesi, Şanlıurfa, Türkiye, 2014.
- [95] M. Kandilci, “Obez ve obez olmayan bireylerde total antioksidan kapasite (Tak), total oksidan seviye (Tos) ve tiyol disülfid ölçümü”, Yüksek lisans tezi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Medipol Üniversitesi, İstanbul, Türkiye, 2018.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Merve CANAYAKIN DEĞİRMEN
Yabancı Dili : İngilizce

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Tıbbi Biyokimya	Düzce Üniversitesi	2024
Lisans	Eczacılık	İstanbul Üniversitesi	2017
Lise		Gerede Anadolu Öğretmen Lisesi	2012