



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

HİPOTİROİDİZM OLUŞTURULMUŞ RATLARDA ALKOLİK OLMAYAN YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI GELİŞİMİNİN VE EPİKARDİYAL YAĞ DOKUSUNUN DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

DR. ŞULE DEMİR

DANIŞMAN

Prof. Dr. Engin GÜNEY

AYDIN-2015

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**HİPOTİROİDİZM OLUŞTURULMUŞ
RATLARDA ALKOLİK OLMAYAN YAĞLI
KARACİĞER HASTALIĞI GELİŞİMİNİN VE
EPİKARDİYAL YAĞ DOKUSUNUN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. ŞULE DEMİR

DANIŞMAN

Prof. Dr. Engin GÜNEY

AYDIN-2015

Bu araştırma Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından **TPF-15011** numaralı proje olarak desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince büyük emekleri ve katkıları olan, bilgi ve deneyimleri ile her zaman yol gösteren, her aşamada yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, kendisiyle çalışmaktan onur ve mutluluk duyduğum saygıdeğer hocam ve tez danışmanım Prof.Dr. Engin GÜNEY'e ve tez çalışmamın her aşamasında öneri ve yardımlarını esirgemeyen Yrd.Doç.Dr. Mustafa ÜNÜBOL'a, ayrıca İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde büyük emekleri bulunan değerli ve saygıdeğer hocalarımdan başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof.Dr.Yavuz YENİÇERİOĞLU olmak üzere Prof.Dr. A. Zahit BOLAMAN, Prof.Dr. Ali Önder KARAOĞLU, Prof.Dr. Taşkın ŞENTÜRK, Prof.Dr. M. Hadi YAŞA, Prof.Dr. Sabri BARUTÇA, Prof.Dr. A. Vahit YÜKSELEN, Prof.Dr. V. Gürhan KADIKÖYLÜ, Prof.Dr. Nezih MEYDAN, Prof.Dr. Hulki Meltem SÖNMEZ, Doç.Dr. İrfan YAVAŞOĞLU, Yrd.Doç.Dr. Adil ÇOŞKUN, Yrd.Doç.Dr. Hakan AKDAM, Yrd.Doç.Dr. Mediha AYHAN, Yrd.Doç.Dr. Hilal BEKTAŞ UYSAL' a

Tezim sırasında desteklerini ve katkılarını esirgemeyen Adnan Menderes Üniversitesi Veteriner Fakültesi hocalarından Prof. Dr. Recai TUNCA, Yrd.Doç.Dr. Serap ÜNÜBOL AYPAK, Araş.Gör. Emrah İPEK, Araş.Gör. Gamze SEVRİ EKREN ve Uzm.Vet. Serdar AKTAŞ'a

Hayatım boyunca sevgileriyle her zaman yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen aileme, eşime ve oğluma teşekkür ederim.

Dr. Şule DEMİR

Aydın, 2015

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
KISALTMALAR.....	V
TABLOLAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
RESİM DİZİNİ.....	IX
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1.TİROİD BEZİ EMBRİYOLOJİ,ANATOMİ VE HİSTOLOJİSİ.....	4
2.1.1.Embriyoloji.....	4
2.1.2.Anatomi.....	4
2.1.3.Histoloji.....	4
2.2.TİROİD HORMONLARININ PATOFİZYOLOJİSİ.....	5
2.2.1.Tiroid Hormonlarının Sentezi.....	5
2.2.2.Tiroid Hormonlarının Etkileri.....	6
2.3.HİPOTİROİDİ.....	7
2.3.1.Etiyoloji.....	7
2.3.2.Klinik.....	9
2.3.3.Hashimoto Tiroiditi.....	9
2.3.4.Tanı.....	10
2.3.5. Tedavi.....	10
2.4.ALKOLİK OLMAYAN YAĞLI KARACİĞER HASTALIĞI.....	10
2.4.1.Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığı Tanım ve Önemi.....	10
2.4.2.Epidemiyoloji.....	12
2.4.3.Etiyoloji.....	13
2.4.4.Histopatoloji.....	14
2.4.5.Patogenez.....	14
2.4.6.Tanı.....	18
2.4.6.1.Belirti ve Bulgular.....	18
2.4.6.2.Karaciğer Görüntüleme Yöntemleri.....	18

2.4.6.3.Karaciğer Biyopsisi.....	19
2.4.7.Tedavi.....	19
2.4.7.1.Risk Faktörlerinden Korunma.....	19
2.4.7.2.Diğer Tedavi Yöntemleri.....	20
2.4.7.3.Karaciğer Nakli.....	20
2.5.ATEROSKLEROZ.....	21
2.6.EPİKARDİYAL YAĞ DOKUSU.....	22
2.7.VİSFATİN.....	23
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	25
3.1. ETİK KURUL ONAYI.....	25
3.2.ÇALIŞMA PROTOKOLÜ.....	25
3.3.BİYOKİMYASAL PARAMETRELERİN ÇALIŞILMASI.....	26
3.3.1.Serum ve Kan Örneklerinin Hazırlanması.....	26
3.3.1.1.Serum Serbest Tri-iodotironin Düzeyinin Belirlenmesi.....	26
3.3.1.2. Serum Serbest Tiroksin Düzeyinin Belirlenmesi.....	28
3.3.1.3. Serum Tiroid Stimulan Hormon Düzeyinin Belirlenmesi.....	30
3.3.1.4. Serum Visfatin Düzeyinin Belirlenmesi.....	32
3.3.1.5. Serum Glukoz Düzeyinin Belirlenmesi.....	34
3.3.1.6. Serum Trigliserit Düzeyinin Belirlenmesi.....	36
3.3.1.7. Serum AlaninAminotransferaz Düzeyinin Belirlenmesi.....	38
3.3.1.8. Serum AspartatAminotransferaz Düzeyinin Belirlenmesi.....	39
3.4.PATOLOJİK İNCELEME.....	41
3.5.İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	42
4.BULGULAR.....	43
4.1.OBEZİTE DEĞERLENDİRMESİ.....	43
4.2.BİYOKİMYASAL PARAMETRE SONUÇLARI.....	43
4.3.PATOLOJİ BULGULARI.....	44
4.3.1.Makroskopik Bulgular.....	44
4.3.2.Mikroskopik Histopatolojik Bulgular.....	45
4.3.3.Mikroskopik Epikardiyal Yağ Dokusu Değerlendirmesi.....	46
5.TARTIŞMA.....	47
6.SONUÇ.....	55

7.ÖZET	56
8.SUMMARY	57
9.KAYNAKLAR	58

KISALTMALAR

ALP: Alkalen fosfataz

ALT: Alanin aminotransferaz

AST: Aspartat aminotransferaz

BT: Bilgisayarlı tomografi

CRP: C reaktif protein

DHAP: Dihidroksiaseton fosfat

DIT: Di-iodo-tirozin

DM: Diyabetes mellitus

EYD: Epikardiyal yağ dokusu

FTS: Fizyolojik tuzlu su

GGT: Gama glutamil transferaz

HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein

KAH: Koroner arter hastalığı

LCAT: Lesitin kolesterol açıl transferaz

LDH: Laktat dehidrogenaz

LDL: Düşük dansiteli lipoprotein

MIT: Mono-iodo-tirozin

MR: Manyetik rezonans

NAD: Nikotinamid adenin di-nükleotid

NASH: Non-alkolik steatohepatit

NAYK: Non-alkolik yağlı karaciğer

NAYKH: Non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı

PPAR- α : Peroksizom proliferatör aktive reseptör-alfa

T3:Tri-iodo-tironin

T4: Tiroksin

TBG: Tiroksin bağlayan globulin

TBPA: Tiroksin bağlayan prealbumin

TGF- β :Transforme edici büyüme faktörü beta

TNF- α :Tümör nekroz faktör alfa

TSH: Tiroid stimulan hormon

TRH: Tirotropin salgılatıcı hormon

USG: Ultrasonografi

VLDL: Çok düşük dansiteli lipoprotein

VKİ: Vücut kitle indeksi

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo-I: Hipotiroidi Nedenleri

Tablo-II: SekonderHepatikSteatoz Nedenleri

Tablo-III: Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer ve İlgili Tanımlar

Tablo-IV: Steatohepatit İçin Önerilen Skorlama Sistemi

Tablo-V: Ateroskleroz Risk Faktörleri

Tablo-VI: Biyokimyasal Parametre Sonuçları

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil-1: Serbest Tri-iodotironin Standart Eğrisi

Şekil-2: Serbest Tiroksin Standart Eğrisi

Şekil-3: Tiroid Stimulan Hormon Standart Eğrisi

Şekil-4: Visfatin Standart Eğrisi

RESİM DİZİNİ

Resim-1: Kontrol grubu karaciğer makroskopik normal görünüm

Resim-2: Hipotiroidi modeli oluşturulan rat grubunda karaciğerin solgun görünümü

Resim-3: Hipotiroidi modeli oluşturulan ratlarda HE ile boymada X20 ile

mikroveziküler tipte vakuol

Resim-4: Hipotiroidi modeli oluşturulan ratlarda HE boymada X20 ile

mikroveziküler tipte vakuol

Resim-5: Oil red boyama X20 ile hipotiroidi modeli oluşturulan ratlarda yağ

vakuolleri

Resim-6: Oil red boyama X20 ile hipotiroidi modeli oluşturulan ratlarda yağ

vakuolleri

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Tiroid bezinden salgılanan tiroksin (T4) ve tri-iodotironin (T3) hormonları vücutta tüm majör metabolik yolları etkilemektedir. En belirgin ve bilinen etki protein, karbonhidrat ve lipid metabolizması üzerinden bazal enerji kullanımının arttırılmasıdır. Bu bağlamda, tiroid hormonlarındaki değişimler, lipid metabolizmasını da etkilemektedir. (1)

Tiroid hormonları, başlı başına Low Density Lipoprotein; Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) sentezi ve yıkımını etkileyebilmektedir. (2) Ayrıca lipoprotein taşınmasında anahtar rol oynayan enzimlerin aktivitelerinde de düzenleyici etkiye sahiptir. (3) Yapılan çalışmalarda hipotiroidizmli hastaların plazmalarında, kolesterol ve LDL biriktiği görülmüştür. (4,5) Trigliserid ve fosfolipidleri hidrolize eden hepatik lipazın şiddetli tiroid yetersizliğinde azaldığı ve L-tiroksin tedavisinden sonra arttığı gösterilmiştir. (4)

Tiroid hormonları karaciğerde yağ asitlerinin beta oksidasyonunu da artırmaktadır. (6) Yağ asidi beta oksidasyonundaki artışın hepatosit hasarına neden olan hepatik yağ birikimini azalttığı tahmin edilmektedir. (7,8) Dolayısıyla tiroid hormon eksikliği olan hipotiroidi ile alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı'nın (NAYKH) ilişkili olduğunu öne süren çalışmalar vardır. (7)

NAYKH dünya çapında karaciğer hastalığının önde gelen nedeni haline gelmiştir. (9) Basit bir steatozdan, alkolik olmayan steatohepatit (NASH), fibrozis ve siroza kadar değişen geniş bir patolojik spektrum içermektedir. (10,11) Ayrıca hepatocellüler karsinoma yatkınlığa da neden olmaktadır. (9) İnsülin direnci, hipertansiyon, dislipidemi ve obezite ile güçlü ilişkisi olan NAYKH'nın metabolik sendromunhepatik komponentini yansıttığı düşünülmektedir. (12)

Hipotiroidide tiroid hormon yetmezliğine ikincil gelişen dislipidemi, hipertansiyon, obezite ve metabolik anormallikler nedeniyle kardiovasküler hastalık riski artmıştır. (13,14) Bunların yanı sıra hiperhomosisteinemi, endotelial disfonksiyon, karotis arter intima media ve epikardial yağ doku (EYD) kalınlığında artışların olduğu çalışmalarda hipotiroidi ile kardiyovasküler hastalıklar ve risk faktörleri arasındaki ilişki gösterilmiştir. (15-18)

Epikardiyal yağ dokusu kalp ve koroner arterlerin etrafında yerleşmiş, parakrin, vazokrin ve enflamatuvar etkilere sahip visseral bir yağ dokusudur. (19-21) Koroner Arter

Hastalığı (KAH), metabolik sendrom, insülin direnci ve hipertansiyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. (22-27) Sağlıklı durumlarda epikardiyal yağ dokusu damar fonksiyonlarının koruyucu yönde düzenlenmesi ve enerji ihtiyacının sağlanması için önemli olmasına rağmen epikardiyal yağ dokusu artışı onu lipolitik, protrombotik ve proenflamatuvar bir organ haline getirir. (28) Bu nedenlerden dolayı EYD yeni bir kadiyovasküler risk faktörü olarak kabul edilmektedir. (21)

Hipotiroidizmin klinik çalışmalarında, metabolik sendrom, obezite ve lipid metabolizması bozukluğu ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Bu nedenle tiroid hormonlarının eksikliğinin NAYKH ve NASH patogenezinde rolü olabileceği tahmin edilmektedir. Ancak literatür taramasında hipotiroidizm ile NAYKH / NASH rolü ile ilgili çalışmaların sonuçları tutarsızdır. (29-31)

Klinik çalışmalarda, NAYKH karaciğer Ultrasonografisi (USG) ile değerlendirilmiştir. (32-34) USG kullanıcıya göre değişkenlik gösterebilen radyolojik bir yöntemdir. USG, Bilgisayarlı Tomografi (BT) ve Manyetik Rezonansın (MR) yağlı karaciğer hastalığındaki tanı değeri daha çok yağlanmanın saptanması ile sınırlıdır. Bu incelemelerle yağlı karaciğer hastalığının değişik formları için ayırıcı tanı yapmak mümkün değildir. (35)

Karaciğer hücrelerinde yağ varlığının tanısını koymanın ve hastalığın ciddiyetini değerlendirmenin tek yolu karaciğer biyopsisidir. (36) Ancak hipotiroidizm ile NAYKH arasındaki ilişkinin değerlendirilmesinde hastalara karaciğer biyopsisi yapılması invaziv bir yöntem olup, mümkün görünmemektedir.

Hipotiroidizm ile kardiyovasküler hastalık riski arasındaki ilişki son zamanlarda önemli araştırma konuları arasında yer almaktadır. Aynı şekilde bu konuda ve farklı çalışma sonuçları ile ilgili çelişkili görüşler hala vardır.

Hipotiroidizm ile koroner arter hastalığı arasındaki ilişkinin değerlendirildiği klinik çalışmalarda, invaziv olmayan gösterge olarak EYD'nun ekokardiyografik değerlendirmeleri mevcuttur. Ancak yine hipotiroidizm ile ekokardiyografik EYD arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalarda karşıt görüşler mevcuttur. (37-41) Hipotiroidi ile EYD arasındaki ilişki daha önce hayvan modellerinde çalışılmamıştır. Ekokardiyografik EYD değerlendirilmesi klinik olarak invaziv olmayan, kolay bir yöntem olmasına karşın yöntem nedeniyle yapan kişiye

bağlı bir değişkenlik içerebilmektedir. EYD'nun klinik çalışmalarda patoloji ile değerlendirilmesi mümkün görünmemektedir.

Bu çalışma ile hipotirodizmin metabolik riskleri artırıp artırmadığının değerlendirilmesi için NAYKH, ateroskleroz ve EYD kalınlığının hayvan modellerinde çalışılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Tiroid Bezi Embriyoloji, Anatomi Ve Histolojisi

2.1.1.Embriyoloji:

Tiroid bezinin embriyolojik gelişimi birinci ayda başlamaktadır. İlk olarak farinks tabanındaki epitelde bir kalınlaşma ortaya çıkar ve giderek bir divertikül oluşur. Bu divertikül aşağıda, trakeanın önüne doğru uzanır, daha sonra bifurkasyon yapar ve hücre kümeleri oluşturur. Bu hücre kümeleri birbirine ince bir istmusla bağlı iki tiroid lobuna dönüşürler. Aşağıya olan göç sırasında tiroid bezini farinks tabanına bağlayan dal uzayarak tiroglossal duktusu oluşturur. Normal gelişim sırasında, yaklaşık olarak ikinci ayda tiroglossal duktus kaybolmaya başlar, dil kökündeki kalıntısı foramen cecum'u oluşturur, alt parçası ise tiroid bezine katılır ve piramidal lob denilen, istmusla bağlantılı, ince bir uzantıyı oluşturur.(42,43)

2.1.2.Anatomi:

İnsan vücudunda endokrin fonksiyonlar için önemli bir organ olan tiroid bezi, boyunun anterior kısmında trakea'nın her iki yanında yer alan ve isthmus ile birbirine bağlanan iki lobdan oluşmuş kelebek şeklinde bir organdır. Tiroid bezi, tiroid kıkırdağının alt yarısı, krikoid kıkırdak ve üst 5. ya da 6. trakea halkaları üzerinde yer alır. (44,45) Normal koşullarda her bir tiroid lobunun uzun eksen boyutu 50 mm'nin, ön-arka ve latero-medial boyutları 20 mm'nin altındadır. Normal tiroid hacmi ise 10 cm³' den azdır. (46) Tiroidin sağ lobu sola göre daha vaskülerdir ve genellikle daha büyüktür. Tiroid bezi kan damarlarından zengindir. Başlıca arterleri eksternal karotidden çıkan süperior tiroid ve tiroservikal turunkustan çıkan inferior tiroid arterlerdir. Venöz drenaj süperior, lateral ve inferior tiroid venlerle olur. Tiroide olan kan akım hızı ortalama 5 mL/gr/dak'dır. (42) Lenfatik drenaj da fazladır. Tiroidin innervasyonu servikal ganglionlardan çıkan sempatik ve vagustan çıkan parasempatik sinirlerle olur. (42,47)

2.1.3.Histoloji:

Tiroid dokusu folliküllerden oluşmaktadır. 3 milyon kadar follikül içermektedir. Follikül hücresine tiroisit denir. Tiroid 20-40 follikülden oluşan lobüllere bölünmüştür. Follikül sferik şekillidir ve ortalama 30 mikron çapındadır. Kübik epitel ile çevrilidir,

merkezinde epitel hücrelerden salınan kolloid içerir. Epitel hücreleri Tiroid Stimulan Hormonunun (TSH) etkisi altında kolloid salgılar. (48,49) Tiroidin ikinci bir sekretuar hücre grubu da C hücreleri ya da parafoliküler hücrelerdir; bu hücreler kalsitonin içerir ve salgılar. C hücreleri ayrı ayrı veya intrafolliküler stromada küçük gruplar halinde birlikte bulunur. Tiroid loblarının üst pollerinde yerleşmişlerdir ve nöroektodermal hücre kökenlidir. (50,51)

2.2.Tiroid Hormonlarının Patofizyolojisi

2.2.1. Tiroid hormonlarının sentezi

Tiroid hormonlarının sentezi ve sekresyonu çeşitli aşamalardan geçerek gerçekleşir. İlk aşamada tiroid hücreleri iyodu plazmadan aktif transport yoluyla alırlar. Tiroid bezi içine giren iyot, oksidasyona uğrar ve folikül hücresince sentezlenen tiroglobülinin tirozil rezidülerine bağlanır.Bu şekilde oluşan iyodotirozin molekülleri (monoiyodotirozin (MIT) ve diiyodotirozin (DIT)) hormonal yönden aktif değildir. Daha sonraki aşamada iyodotirozin molekülleri, tiroid peroksidaz aracılığıyla oksidatif olarak couplinge uğrarlar ve hormonal yönden aktif olan iodoironinleri oluştururlar. Bunların başlıcaları T3 ve T4'tür. Bundan sonraki aşamalarda aktif hormonların kana salınımı gerçekleşir. Bunun için tiroglobülin proteazlar vasıtasıyla hidrolize uğrar ve açığa çıkan serbest T3 ve T4 kana verilir. (42) T4'ün tamamı, T3'ün %10'u tiroid bezi tarafından salgılanır. T3'ün geriye kalanı periferik dokulardan T4'ün deiyodinasyonu ile oluşur. (52,53) Tiroglobulin tiroid hücreleri tarafından sentezlenir ve ekzositoz yoluyla follikül içine salgılanır. T4 ve T3 salgılanıncaya kadar kolloid içinde tiroglobuline peptid bağıyla bağlı olarak kalır. T4 ve T3 salgılanacağı zaman, kolloid tiroid hücreleri tarafından alınır, peptid bağları hidrolize edilir ve serbest T3 ve T4 kapillere atılır. (53)Tiroid hormonları salgılandıktan sonra dolaşımda değişik proteinlere bağlanır. Bunlar; albumin, Tiroksin Bağlayan Prealbumin (TBPA), Tiroksin Bağlayan Globulin (TBG)'dir. (52,53) Tiroksini bağlama kapasitesi en yüksek olan albumin, en düşük olan TBG'dir.Tiroidhormonları karaciğer ve böbrekler başta olmak üzere birçok dokuda deiyodine edilir. (52,53)

T3 ve T4'ün meydana gelmesi için gerekli tüm reaksiyonlar hipofizden salgılanan TSH'nın etkisi ve kontrolü ile oluşur. TSH'nın hipofizden salınımı ve miktarı ise dolaşımdaki serbest T3 ve serbest T4 tarafından negatif feedback mekanizması ve hipotalamustan salınan TRH ile düzenlenir. (54)

2.2.2. Tiroid hormonlarının etkileri

Tiroid hormonları hücre zarından geçerek çekirdekteki reseptörlere bağlanır. T3 kuvvetli, T4 ise daha zayıf olarak bağlanır. Daha sonra tiroid hormon-reseptör kompleksi DNA'ya bağlanır ve spesifik genlerin ekspresyonunu artırır. Sonuçta oluşan mRNA çeşitli enzimlerin ortaya çıkmasına neden olur. (53) T3 reseptörlere T4'den daha yüksek affinite ile bağlandığından T3'ün biyolojik aktivitesi daha yüksektir ancak T4'ün etki süresi ise T3'ten dört kat daha uzundur. (54-56) Tiroid hormonları metabolik olarak aktif dokuların hemen hemen hepsinde oksijen tüketimini artırır. İstisna olan dokular, erişkin beyni, testisler, uterus, lenf nodülleri, dalak ve adenohipofizdir. (53)

Tiroid hormonlarının vücutta pek çok sistem üzerinde etkisi gözlenmektedir. Tiroid hormonları karbohidrat metabolizmasının her aşamasını stimüle eder. Gastrointestinal kanaldan glikoz absorpsiyonunu artırır. Glikoliz ve glikojenolizi artırır. Glikozun hücreler tarafından kullanımını artırır. İnsülin düzeyinin artışına yol açar. Hipertiroidizmde karbohidrat alımından sonra kan glikoz düzeyi önce artar daha sonra insülin etkisiyle azalır. (52,53)

Tiroid hormonları yağ dokusunu mobilize ederek kanda serbest yağ asitlerinin artışına neden olur. Aynı zamanda serbest yağ asitlerinin hücreler tarafından kullanılmasını sağlar. Karaciğerde LDL reseptör sayısını artırarak kan kolesterol seviyesinin azalmasına neden olur. Kolesterol dışında kan fosfolipid ve trigliserid seviyesini azaltır. (52,53)

Tiroid hormonlarının artışıyla doku metabolizmasının yükselmesi sonucu oksijen tüketimi artar ve metabolik son ürünlerin artışına yol açar. Bunun sonucunda dokulara giden kan akımı hızlanır ve artan vücut ısısını azaltmak için vazodilatasyon olur. Vazodilatasyonun etkisiyle ekstraselüler mesafeye sıvı geçişiyle intravasküler ortamdaki kan miktarı azalır. (52) Tiroid hormonlarının etkisiyle kalpteki beta reseptör sayısı artarak kalbin kontraktilite hızında ve kuvvetinde artışa yol açar. Çok aşırı artan tiroid hormonları protein katabolizmasına bağlı olarak ve kalp hızının artması sonucu diastolik zamanın azalmasının etkisiyle kalp fonksiyonlarının bozulmasına yol açar. (52) Tiroid hormonları sistolik basıncın yükselmesine, diastolik basıncın azalmasına neden olarak nabız basıncının artışına yol açar. (52) Hipertiroidide kardiyak debi ve kalp hızı artarken hipotiroidili hastalarda düşük kardiyak

debi, azalmış atım hacmi, azalmış intravasküler hacim, artmış vasküler direnç, artmış dolaşım zamanı ve uzamış diyastolik gevşeme zamanı gözlenir. (42)

Hipotiroidi durumunda büyüme önemli ölçüde geri kalır. Hipertiroidide aşırı iskelet büyümesi ve ani boy uzaması olur. Büyüme sırasında epifizler erken yaşta kapandığı için erişkin dönemde boy kısa kalabilir. Tiroid hormonları postnatal dönemin ilk birkaç yılında beynin büyüme ve gelişmesini sağlar. Tiroid hormonlarının büyümeyi artıran etkisi protein sentezini artırmasına bağlıdır. Ancak tiroid hormonlarının aşırı miktarı, protein sentezinden daha hızlı protein yıkımına yol açar. (52)

2.3. Hipotiroidi

Hipotiroidi tiroid bez fonksiyonlarının ve tiroid hormon üretiminin azalması olarak tanımlanmaktadır. (57) Kadınların %5-20'si, erkeklerin %3-8'i hipotiroididen etkilenmektedir. (58) Hipotiroidinin kadınlardaki prevalansı %1.9 olup ilerleyen yaşla birlikte artmaktadır. (59) Erkeklerde de %0.1-0.2 civarında bildirilmektedir. En sık tiroid bezinin kendinden kaynaklanır ve primer hipotiroidi olarak adlandırılır. Primer hipotiroidizm tüm vakaların %95'ini oluşturur. (42) Hipofiz hastalığı nedeniyle geliştirse sekonder hipotiroidi, hipotalamik hastalığa bağlı geliştirse tersiyer hipotiroidi olarak adlandırılır. Hipotiroidi nedenleri Tablo-I'de sıralanmıştır. (60,61)

2.3.1.Etiyoloji

Hipotiroidinin en sık sebepleri tiroid bezinin otoimmün destrüksiyonu, geçirilmiş tiroid cerrahisi ve radyoaktif iyot tedavisidir. Yüksek doz iyot alımı, amiodaron, lityum, interferon, interleokinler ve granülosit-makrofaj koloni stimülan faktör kullanımı da hipotiroidiye sebep olmaktadır. (58)

Tablo-I Hipotiroidi Nedenleri:

Primer Hipotiroidi:

1.Tiroid dokusu miktarı yetersiz:

- a.Otoimmün doku destrüksiyonuna bağlı: -Hashimoto Tiroiditi (atrofik ve guatröz form)
- Graves hastalığı (end stage)

b.İatrojenik doku destrüksiyonuna bağlı: -I131 tedavisi

- Cerrahi tiroidektomi
- Eksternal radyasyon

c.İnfiltratif sürece bağlı doku destrüksiyonu:-Amiloidoz

- Lenfoma
- Skleroderma

2.Tiroid hormon biyosentezindeki defekte bağlı:

- a.Konjenital enzim defekti
- b.Konjenital TSH reseptör mutasyonu
- c.İyot eksikliği veya aşırılığı
- d.İlaçlar (lityum, thionamid, sülfonamidler, interlökin, TNF alfa vb.)

Sekonder Hipotiroidi:

- a.Panhipopitüitarizm (neoplazm, radyasyon, cerrahi, Sheehan sendromu.)
- b.İzole TSH eksikliği

Hipotalamik Hipotiroidi:

- a.Konjenital
- b.Enfeksiyöz
- c.İnfiltratif (sarkoidoz, granülom)

Transient Hipotiroidi:

- a.Sessiz veya subakut tiroidit
- b.Tiroksin çekilmesi

Tiroid Hormonuna Genel Direnç

2.3.2. Klinik

Hipotiroidinin semptomları arasında yorgunluk, letarji, kilo artışı, soğuk intoleransı, konstipasyon, ses kısıklığı, güçsüzlük, kuru cilt, eklem ağrıları, depresyon, menstrüel düzensizlik, mental yeteneklerde azalma, saç dökülmesi sayılabilir. Kız çocuklarında erken puberte, menoraji, amenore ve galaktore görülebilmektedir. Etkilenen hastalarda girişkenlik ve sosyalleşmede azalma ile birlikte depresif duygudurum gelişebilmektedir. Kognitif defisitler hafızada hafif bozulmalardan deliryum, demans, nöbetler ve komaya kadar değişmektedir. (43) Hipotiroidizm ile ilişkili fizik muayene bulguları hastalığın ciddiyeti ve başlangıç yaşına göre değişir. Çocuklar kilo alımına rağmen lineer büyümede gecikme, erken veya gecikmiş puberte ve kas psödohipertrofisi ile prezente olabilir. Yetişkinlerde bradikardi, diyastolik hipertansiyon ve hafif hipotermi görülebilir. Deri kaba, kuru ve periferik vazokonstriksiyon nedeniyle soğuk olabilir. Saçlarda diffüz azalma ve lateral kaş kaybı saptanabilir. Tırnaklar kırılabilir. (62) Boyun muayenesinde tiroid bezi palpe edilemeyebilir veya guatr saptanabilir. Kardiyovasküler muayenede kalp sesleri derinden duyulabilir, bradikardi, hipo veya hipertansiyon saptanabilir. Ekstremitelerde muayenesinde glikozaminoglikan depolanmasına bağlı olarak göde bırakmayan diffüz ödem saptanabilir. Nörolojik muayenede yavaş, dizartrik konuşma, derin tendon reflekslerinde diffüz yavaşlama tespit edilebilir. (43,63)

2.3.3. Hashimoto Tiroiditi

Hashimoto tiroiditi primer hipotiroidinin en sık sebebi olup otoimmün bir hastalıktır. (64) Genelde orta yaşlı kadınları etkiler ve sıklıkla ağrısız, hassasiyet içermeyen diffüz guatr olarak karşımıza çıkar. (65) Erkeklerle oranla kadınlarda 5-10 kat daha fazla görülür ve kadınlardaki prevalansı %1-2 civarındadır. (66) Otoimmün tiroiditin etyolojisinde genetik ve çevresel faktörler rol oynar. Genetik faktörler daha dominant olmakla beraber immünitinin ortaya çıkmasında %80 rol oynamaktadır. Etiyolojinin %20'si çevresel faktörlere atfedilmekte olup bunlar arasında sigara kullanımı, iyot alımı, selenyum eksikliği, çevre kirliliği, infeksiyöz koşullar, fiziksel ve emosyonel stres, puberte, hızlı büyüme, gebelik, menopoza, yaşlanma, kadın cinsiyeti gibi fizyolojik durumlar sayılabilmektedir. (67) Hastaların %95'inde tiroid peroksidaz ve %80'inde tiroglobulin antikorları pozitifdir. Hashimoto tiroiditi olan birçok hastada hastalık asemptomatik ve guatr küçük olduğundan tedaviye gerek yoktur. Klinik durum değişmeksizin hastalık uzun yıllar stabil kalabilir. Hipotiroidi gelişme riski

yönünden düzenli aralıklarla takip yeterlidir ancak büyük guatr ve TSH yüksekliği ile hipotiroidi varlığında tiroid hormon tedavisi gereklidir. Tedavi ömür boyudur ancak başlangıçta hipotiroidik olan hastaların bir kısmında yıllar içinde spontan düzelme görülerek hormon replasman ihtiyacı ortadan kalkabilir. (42)

2.3.4. Tanı

Semptomların hafif olduğu vakalarda ve yaşlı vakalarda hipotiroidi tanısı koymak kolay değildir. (68) Yetişkinlerde tanı almamış hipotiroidi vakaları yenidoğanlara kıyasla daha fazla olmasına rağmen yenidoğanlarda da 1/4000 gibi azımsanamayacak bir oranda hipotiroidi saptanmaktadır. (69) Primer hipotiroidide TSH yüksekliği ve düşük serbest T4 düzeyleri saptanırken, TSH yüksekliği varken serbest T4'ün normal sınırlarda olması subklinik hipotiroidiyi düşündürür. Santral hipotiroidide ise TSH normal veya düşük saptanırken serbest T4 düzeyi düşüktür. (43) Diğer laboratuvar anormallikleri arasında anemi, hiponatremi, hipoglisemi, kreatinin fosfokinaz yüksekliği, prolaktin yüksekliği, homosistein yüksekliği, trigliserit yüksekliği, LDL yüksekliği sayılabilir.

2.3.5. Tedavi

Hipotiroidinin medikal tedavisinde kullanılan, günlük kullanıma izin veren yedi günlük yarılanma ömrüne sahip olan levotiroksindir. (70) Tiroksinin ortalama replasman dozu 1.7 mikrogram/kilogram/gündür. Yaşlı hastalarda 50-100 mikrogram/günlük tedaviler verilir. Koroner arter hastalığı, anjina, aritmi öyküsü olanlarda 12.5-25 mikrogram/gün dozunda başlanıp hedeflenen doza ulaşılan kadar aylık 12.5-25 mikrogram/günlük doz artışları yapılır. Serum TSH düzeyini normal sınırlar içerisinde tutan optimal tiroksin replasman dozu sağlandıktan sonra TSH ölçümleri yıllık olarak yapılmalıdır. (71-74)

2.4. Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığı

2.4.1. Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığı Tanım ve Önemi

Karaciğer yağlanması karaciğerde yağlanma görülen bütün durumları kapsayan genel bir kavramdır. (35) Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı tanımı için ise hepatik steatozun görüntüleme yöntemleri ile ya da histolojik olarak kanıtlanması ve hepatik yağ birikiminin neden olacak sekonder hiçbir sebebin olmaması gereklidir. Bu sebepler Tablo-II'de gösterilmiştir. (75)

Tablo-II Sekonder Hepatik Steatoz Nedenleri

Makrovasküler Steatoz

- Aşırı Alkol Tüketimi*
- Hepatit C (genotip 3)
- Wilson Hastalığı
- Lipodistrofi
- Açlık
- Parenteral Beslenme
- Abetalipoproteinemi
- İlaçlar (amiadaron,metotreksat, kortikosteroid, tamoksifen vb)

Mikrovasküler Steatoz

- Reye Sendromu
- İlaçlar (valproat, antiretroviral ilaçlar)
- Gebeliğin akut yağlı karaciğeri
- HELLP Sendromu
- Doğumsal Metabolizma Hastalıkları (LCAT eksikliği, kolesterol ester depo hastalığı, Wolman hastalığı vb)

* Ciddi alkol tüketimi için kabul edilen değerler; günlük etil alkol kullanımının erkekler için 30 gr, kadınlar için 20 gr'ın üzerinde olmasıdır. (3İ)

NAYKH basit komplikasyonsuz yağlanmadan steatohepatit, ilerlemiş fibroz ve siroza kadar yayılan geniş bir karaciğer hasarı spektrumunu içerir. (77) NAYKH, histolojik olarak Alkolik olmayan yağlı karaciğer (NAYK) ve NASH olarak kategorize edilir (Tablo-III). NAYK, hepatosit hasarı olmadan hepatik steatoz olarak tanımlanır. NASH ise fibrozis olmadan ya da fibrozisle birlikte hepatosit hasarı, inflamasyon ve hepatik steatoz olarak tanımlanır. (75) NASH, NAYKH'nın en ciddi formudur. Kronik karaciğer hastalığı, siroz ve hepatosellüler karsinoma ilerleyebilir. (78) Hastaların çoğunda NAYKH obezite, diabetes mellitus (DM), dislipidemi ve metabolik risk faktörleri ile ilişkilidir. (75) NAYKH olan hastaların çoğunluğu tanı sırasında asemptomatiktir. Kriptojenik sirozlu hastalardaki klinik ve demografik özelliklerin çoğu NAYKH olan hastalarla örtüşmektedir. Bu yüzden sebebi bilinmeyen siroz olarak teşhis edilmiş birçok hastada siroz nedeni olarak daha önceden fark edilmemiş NAYKH olması muhtemeldir. (79) NAYKH gelişen olguların ise yaklaşık %10-

15'i gerçek NASH olup bu olgularının %20-30'unda ilerleyici fibrozis ve siroz gelişmektedir. (80)

Tablo-III Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığı ve İlgili Tanımlar

- **NAFLD:** Önemli ölçüde alkol tüketimi olmadan gelişen yağlı karaciğer hastalığının tüm spektrumunu kapsar.
- **NAFL:** Karaciğerde yağlanma görülmekte, fakat iltihabi infiltrasyon, hepatositlerde balonlaşma ve fibrozis bulunmamaktadır. Siroz ve karaciğer yetmezliğine ilerleme nadirdir.
- **NASH:** Karaciğerde yağlanma ile birlikte hepatositlerde balonlaşma, iltihabi infiltrasyon ve bazı olgularda fibrozis gibi bulguların mevcut olduğu hastalıktır. Siroz, karaciğer yetmezliği ve nadiren hepatosellüler karsinoma ilerleyebilir.
- **NASH Siroz:** Mevcut veya önceden histolojik olarak kanıtlanmış steatoz ve steatohepatitle birlikte siroz varlığı.
- **Kriptojenik Siroz:** Hiçbir belirgin etyoloji olmadan siroz varlığı.
- **NAFLD Aktivite Skoru:** Klinik çalışmalarda NAFLD olan hastalarda karaciğerdeki histolojik değişiklikleri ölçmek için kullanılan bir araçtır.

2.4.2 Epidemiyoloji

NAYKH insidansının araştırıldığı sınırlı sayıda çalışma vardır. Japonya'da yapılan iki çalışmada NAYKH insidansı sırasıyla 31/1000 ve 86/1000 oranında raporlanırken İngiltere'de yapılan bir çalışmada 29/100.000 daha düşük oranda bildirilmiştir. (81-83) NAYKH prevalansına ilişkin yayınlanmış önemli çalışmalar bulunmaktadır. Canlı karaciğer donörleri ile yapılan iki farklı çalışmada histolojik olarak kanıtlanmış NAYKH prevalansı sırasıyla %20 ve %51 bulunmuştur. (84,85) Hindistan'da yapılmış bir çalışmada karaciğer hastalığının diğer nedenleri dışlandıktan sonra USG bulgularına göre erişkinlerdeki prevalansının %19 olduğu bildirilmiştir. (86) Yapılan bir diğer çalışmada USG ile tanımlanan NAYKH prevalansı %17-%46 aralığında değişmektedir. (87) Yaklaşık 400 orta yaşlı bireyden oluşan başka bir çalışmada USG ile tanımlanmış NAYKH prevalansı %46 ve histolojik olarak kanıtlanmış

NASH prevalansı %12.2 olarak bildirilmiştir. (88)Özet olarak, dünya çapında yapılan çalışmalarda NAYKH prevalansı genel popülasyonda ortalama %20 olarak tahmin edilmektedir. (87)Diğer taraftan NASH prevalansı ise daha düşük oranda %3-5 olarak tahmin edilmektedir. (87) Prevalans yaşla birlikte artar; çocuklarda %2,6 iken, 40-59 yaş arası bireylerde %26 oranında görülür. (89) En sık görüldüğü yaş grubu 40-60'lı yaşlardır. İlk yapılan klinik çalışmalarda vakaların çoğu kadındır. Son zamanlarda hemen hemen kadınlara yakın veya daha yüksek oranda erkeklerde de saptandığı bildirilmiştir. (90) Obezite, DM ve hiperlipidemi sıklıkla NAYKH ilişkili durumlardır. Vücut kitle indeksi (VKİ)>30 kg/m² ve üzerinde olanlarda NAYKH sıklığı % 60-95, diyabetiklerde %28-55 ve hiperlipidemisi olanlarda %20-92 olarak bildirilmiştir. (91) Diyabetes mellitus ile obezitenin birlikteliği, ek bir risk daha oluşturmakta ve diyabeti olan şiddetli obez hastaların %100'ünde en azından hafif steatoz, %50'sinde steatohepatit, %19'unda siroz tespit edilmektedir. (92)

2.4.3 Etiyoloji

Birçok nedene bağlı olarak gelişen multifaktöryel bir hastalık olan NAYKH'nda hiçbir neden bulunmayabilir. Karaciğerdeki yağ asidi birikimi artık sebepten çok hastalığın sonucu olduğu ileri sürülmektedir. İnsülin direnci, ister NAYKH olsun isterse NASH gelişmiş olsun, hemen hemen tüm olgularda dikkat çekmektedir. Önceleri hastalığın edinsel olduğu düşünülmüşse de, günümüzde artık genetik yatkınlığın ve çevresel faktörlerinde hastalığın oluşması ve gelişmesinde katkıda bulunduğu anlaşılmıştır. (93) Obezite NAYKH'nın en sık birlikte görüldüğü durumdur. NAYKH sıklığı, obezlerde kilosu normal kişilere göre altı kat daha fazla bulunmuştur. Obezite; DM ve yaştan bağımsız olarak fibrozis şiddeti ile ilişkili bir risk faktörüdür. Morbid obezlerin %75'inden fazlasında karaciğer steatozu, %24'inde NASH, %3-11'inde siroz geliştiği bildirilmiştir. DM ile NAYKH arasında ilişkide bir başka önemli durumdur. Tanı anında NAYKH hastalarının %30'undan fazlasında DM tespit edilmiştir. Steatohepatit riski diyabetiklerde 2.6 kat artmıştır. NAYKH olan hastalarda DM, karaciğer fibrozisi için güçlü bağımsız bir göstergedir. Şiddetli fibrozisi olan hastaların çoğu diyabetiktir. (94-97) Lipid metabolizması NAYKH tanılı hastaların %8-20'sinde bozuktur. Hipertrigliserideminin özellikle NAYKH patogenezi ile birlikteliği bilinmektedir. Hipertrigliseridemi tedavisi ile karaciğer testlerinde düzelme saptanmıştır.

2.4.4 Histopatoloji

NAYKH'nın majör histolojik özellikleri alkole bağlı karaciğer hastalığına benzer ve steatoz (karaciğer yağlanması), steatohepatit (yağlı karaciğer+fokal nekrozlu veya nekrozsuz parankimal iltihap) ve siroz da dahil olmak üzere fibrozisi değişen derecelerde içerir. Mikroveziküler yağlanma görülmesi ve zon 3 (perivenüler) steatoz zaman zaman bildirilmesine rağmen steatoz, ağırlıklı olarak makrovezikülerdir ve genellikle karaciğer lobülü boyunca diffüz olarak dağılır. Hafif lenfositik, nötrofilik veya karışık inflamatuvar infiltrasyonlar gözlenebilir ve glikojenlenmiş çekirdekler yaygındır. (98) NASH, NAYKH'nın ilerlemiş bir formudur. Alkolik hepatitten histolojik olarak ayırt edilemez. Steatoz tüm olgularda mevcuttur ve diffüz veya primer olarak santral zonlardaki hepatik lobülleri etkileyebilir. Steatoz derecesi hastanın vücut kitle indeksi ile korele olabilir ve genelde NASH'de alkolik hepatitten daha şiddetli olabilir. (99) Lobüler inflamasyon NASH'in bir işaretidir. Lenfositler, diğer mononükleer hücreler ve polimorfonükleer nötrofil infiltrasyonu ile karakterizedir. İnflamasyonun yoğunluğu steatohepatit şiddetine göre değişir ve alkolik hepatitte NASH'den daha hafif olabilir. (100) Glikojenlenmiş çekirdek bulunabilir. Hepatosit balonlaşması ve çeşitli derecelerdeki hepatosit nekrozu sıklıkla mevcuttur ve kötü prognoz habercisi olabilirler. (101,102) Mallory cisimciği küçük, seyrek ve göze çarpmayabilir fakat sık görülür. Hafif boyanabilen demir hastaların %50'si kadarında mevcut olabilir. Perisellüler, perisinüzoidal ve periportal fibroz NASH olan hastaların %37-84'ünde tariflenmiştir. Fibrozis dağılımı değişkendir. Perisinüzoidal fibrozis özellikle yetişkinlerde yaygındır, başlangıçta hafif ve terminal hepatik venler etrafında ağırlıklı olarak zon 3 bölgesindedir. (103) NAYKH veya NASH için yaygın olarak kabul edilmiş bir skorlama sistemi yoktur. Genel olarak Brunt'un (104) önerdiği skorlama sistemi kullanılmaktadır.(Tablo-IV)

2.4.5 Patogenezi:

NAYKH patogenezi son yıllarda aydınlatılmaya başlanmıştır. En sık kabul edilen teori Day CP ve ark.'nın (105) 1998 yılında öne sürdükleri çift hasar hipotezidir. Çift hasar hipotezine göre, ilk hasar özellikle hepatositlerde yağ asidi ve trigliserid birikimidir.(106,107)

Tablo-IV Steatohepatit için önerilen skarlama sistemi

Değişken	Skor	Tanımlama
Steatozis	0	Yok
	1	Asininin %33'e kadarı, özellikle makroveziküler
	2	Asininin %34–66'sı
	3	Asininin %66'sının üzerinde (panasiner), sıklıkla mikst steatoz
Hepatosit balon dejenerasyon	0	Yok
	1	Ara sıra zon III'de
	2	Bariz zon III'de
	3	Belirgin, dominant olarak zon III'de
Lobüler inflamasyon	0	Yok
	1	Seyrek nötrofiller, ara sıra mononükleer hücreler, 20x objektif her odakta bir ya da iki balonlaşmış hepatositle ilişkili nötrofiller, hafif kronik inflamasyon
	2	20x objektifte her odakta üç ya da dört akut ve kronik inflamasyon, nötrofiller zon III'de konsantre olabilirler
	3	20x objektifte her odakta dördün üzerinde değişken
Portal İnflamasyon	0	Yok
	1	Hafif, bazı portal alanlar
	2	Hafif ya da orta, çoğu portal alanlar
	3	Orta ya da şiddetli, çoğu portal alanlar
Evre	0	Fibrozis yok
	1	Zone III perivenüler, perisinuzoidal fibrozis
	2	Evre I değişimler+periportal fibrozis
	3	Köprüleşme fibrozisi
	4	Sirozis

Steatoz oluştuğunda hücre adaptasyon sağlamak için sinyal iletisinde değişimler yapmaktadır. Oksidatif stres, genetik yatkınlık, besin eksikliği, sitokin artışı, kupfer hücre disfonksiyonu, mitokondriyal bozukluk ve fibrojenesis gibi faktörlerin etkisi ile ikinci hasar gelişmektedir. Bu hasar neticesinde hepatositlerde apopitozis, nekroz ve karaciğerde inflamasyon gerçekleşmektedir. (106,108,109)

ilk Hasar:

NAYKH hastalarının çoğunda insülin direnci görülmekte ve genellikle DM, obezite ve hipertrigliseridemi tabloya eşlik etmektedir. (108,110) İnsülin direnci ve hiperinsülinemi NAYKH patogenezinde ilk basamaktır. (106,107) İnsülin sinyalinde (yağ dokusunun serum glukozundaki değişimlere cevap verme kapasitesi) ve yağ metabolizmasında olan değişiklikler steatozu tetiklemektedir. (109,111,112) İns lindeki artış adipoz dokuda lipolizi arttırarak karaciğere serbest yağ asidi transferini arttırmaktadır. Karaciğerde ise serbest yağ asidi sentezini arttırarak beta oksidasyonu azaltmaktadır. (106,107,110) Artmış serbest yağ asitleri de insülin reseptör substratını azaltarak insülin direncini artırır. (109,110,112,113) Serbest yağ asitlerinin artışı ve karaciğere taşınması ile yağ metabolizmasındaki denge değişerek Very Low Density Lipoprotein; çok düşük dansiteli lipoprotein (VLDL) sekresyonu azalmaktadır. (12,106,107,108) Serbest yağ asitlerindeki artış karaciğerde trigliserid oluşumunu arttırmaktadır. (108,109,114) Sonuçta, vücuttaki yağ dengesi bozulduğunda steatoz oluşmaktadır. (106,107,108,115)

ikinci Hasar:

Karaciğerde inflamasyon, balon dejenerasyonu, nekroz ve fibrozis ikincil hasarı oluşturmaktadır. (106,109,112) Bu olaylara neden olan faktörler hala tam olarak aydınlatılamamıştır. (111) Steatozun NAYKH'na ilerlemesine neden olan ilk faktör oksidatif streştir. (106) Oksidatif stres zamanla karaciğerde harabiyete neden olmaktadır. Karaciğerde depolanan serbest yağ asitleri oksidasyona uğramakta ve reaktif oksijen ürünleri oluşmaktadır. (106,108,109,114) İnsülin direncine paralel olarak artan serbest yağ asitleri de hepatositlere direk toksik etkide bulunmaktadır. (106,109,116) Artmış serbest yağ asitleri lizozomların zarlarının parçalanmasına ve Tümör Nekroz Faktör-  (TNF- )'nın uyarılmasına neden olmaktadır. (106,114,116) Sitokrom P450 enzimleri uyarılarak serbest oksijen radikallerinin üretilmesini arttırarak Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör-  (PPAR- )'nın uyarılmasına

neden olur. (106,109,114) PPAR- α serbest yağ asidi oksidasyonunu artırırken oksidatif stresi de artırır. (106,109,114,117) Serbest yağ asitlerindeki artış, lipid peroksidasyonunda rolü olan bir enzim olan CYP2E1 aktivitesini de artırmaktadır. Kronik oksidatif stres, doğal antioksidan havuzunu azaltarak hepatositte aşırı reaktif metabolit oluşturmaktadır. (106,108,116,118) Serbest yağ asitlerinin mitokondrial hasar nedeniyle peroksizomal β oksidasyon yoluna kayması hidrojen peroksit oluşumunu artırmaktadır. (114,116,119) Aşırı reaktif oksijen radikalleri, hücre membranında lipid peroksidasyonu yaparak hepatosit, kupfer hücresi ve adipositlerden proinflamatuvar sitokin salınımına neden olmaktadır. (106,116) TNF- α 'nın artması insülin direncini artırmakta ve steatozun NAYKH'na dönüşünü hızlandırmaktadır. (106,108,120) Ayrıca yağ asitlerinin sentezinde artış olması sitokin salınımı, nötrofil kemotaksisi, apoptoz ve fibrozis gibi olaylara neden olmakta ve hasarı artırmaktadır. (114,120) NAYKH patogeneğinde kupfer hücreleri disfonksiyonu önemli bir yer tutmaktadır. (106,108,120) Özellikle obezite, kupfer hücre fonksiyonlarını bozup, İnterlökin-10 (IL-10) seviyesini azaltarak karaciğerde yağlanma gelişimini hızlandırır. (106,112,121) Fibrozis, ilerlemiş yağlı karaciğerde sıklıkla görülen bir bulgudur. (108,112) Karaciğer hasarının başlangıcında zon-3'de perisinüzoidal alanda kollajen depolanması, olası NASH için karakteristik sayılırken; bazı yayınlarda NASH için karakteristik sayılan bulgunun periselüler fibrozis olabileceği belirtilmiştir. (107,108,122) Disse boşluğundaki subendotelial stellat hücrelerinin uyarılması sonucu fibrozis oluşur. (107,108) Progresif hasar sonucunda portal alanda da fibrozis gelişir, portal-portal ve sentral-portal köprüleşmeler ve siroz görülebilir. Fibrotik süreci uyaran faktörler inflamatuvar sitokinler, anjiotensinojen ve oksidatif streştir. (106,108) NAYKH'nda lipid peroksidasyon ürünleri karaciğerden Transforming Growth Factor- β ; Dönüştürücü büyüme faktörü-beta (TGF- β) üretilmesine neden olur ve TGF- β da stellat hücrelerinin uyarılmasını sağlar. (106,108,119,123) TNF- α sekresyonunun artması fibrojenezi başlatan sitokinlerin artmasına neden olur. (106,108,112) Hiperinsülinemi de hepatik stellat hücrelerinden bağ dokusu büyüme faktörü salınımını uyarak fibrozis gelişimini tetikler. (119,124) Bunun yanı sıra leptinin kupfer hücreleri ve sinüzoidal hücrelerden TGF- β salınımını uyarak fibrozisi tetiklediği gösterilmiştir. (106,108,123)

2.4.6. Tanı

2.4.6.1. Belirti ve Bulgular

NAYKH tanısı olan hastalar genellikle asemptomatiktir, bununla beraber bazı olgular halsizlik ve sağ üst kadranda rahatsızlıktan yakınabilir. Daha ağır karaciğer hastalığı olanlarda kas atrofisi, sarılık, gastrointestinal sistem kanaması ve asit gelişebilir. Fizik muayenede sıklıkla hepatomegali vardır. (108) NASH hastalarında sıklıkla hiperglisemi, hiperkolesterolemi, hipertrigliseridemi ve karaciğer enzim yüksekliği saptanır. Bununla birlikte NAYKH ayırımında karaciğer enzim yüksekliği duyarlı bir belirteç değildir. Çünkü hastaların %78'inde normal düzeylerde saptanabilir. Normal Alanin aminotransferaz (ALT) düzeyi olan hastalar NAYKH'nın tüm histolojik spektrumuna sahip olabilir. (103) Enzim yüksekliği olanlarda genellikle ALT ve Aspartat aminotransferaz (AST) artmıştır. Gama Glutamil Transferaz (GGT) ve Alkalen Fosfataz (ALP) normal veya hafif yükselmiş olabilir. AST ve ALT yüksekliği genellikle normal değerlerin 1.5 katı kadardır, nadiren on katın üzerine çıkar. (125) Hiperglisemi hastaların yaklaşık üçte birinde, hiperlipidemi (genellikle hipertrigliseridemi) ise hastaların yaklaşık %20-25'inde saptanır. Hastaların yaklaşık %25'inde İmmünglobulin-A düzeyleri yükselmiştir. Yine olguların yaklaşık üçte birinde anti nükleer antikor titreleri pozitif bulunabilir, ancak bu pozitiflik sıklıkla beraber bulunan bir otoimmün durumla ilişkili değildir. Serum demiri ve bununla ilgili parametrelerde anormallikler saptanabilir, ancak bu durum genellikle hemokromatozis için genetik araştırmayı gerektirmez. Klinik değerlendirmede metabolik risk faktörlerinin varlığı ve ileri karaciğer hastalığı yönünden risk faktörleri olan 45 yaş üzeri olmak, DM varlığı, artmış VKİ ve AST/ALT oranının birin üzerinde olması gibi durumlara dikkat edilmelidir. (125)

2.4.6.2. Karaciğer Görüntüleme Yöntemleri

Karaciğer yağlanması tanısında USG, BT ve MR görüntüleme sık kullanılan görüntüleme yöntemleridir. Bu yöntemler yağlanmanın varlığını saptamanın yanında karaciğer enzim yüksekliğine neden olan biliyer hastalıklar ve fokal karaciğer hastalıklarının ayırıcı tanısında da yararlıdır. Son yıllarda kullanıma giren ve hepatik yağlanmayı kantitatifolarak gösteren MR spektroskopisi, USG, BT ve MR görüntüleme yöntemlerine göre daha avantajlı bir tanı aracıdır (126). Bununla birlikte sayılan görüntüleme yöntemlerinden hiçbirinin karaciğer yağlanması olanlarda NASH veya NASH-fibrozis ayırımını yapmada tanısallık değeri yoktur. (127)

2.4.6.3. Karaciğer Biyopsisi

Basit yağlanma ile NASH ayırımında ve NASH evreleme ve derecelendirmesinde karaciğer biyopsisi altın standarttır. (128-131) NAYKH olanlarda biyopsinin klinik değerlendirmedeki rolü tartışmalıdır. Karaciğer biyopsisi NASH varlığını doğrulayabilir, fibrozis veya siroz olup olmadığını gösterebilir ve ayrıca kronik karaciğer hastalığının diğer nedenlerinin dışlanması faydalı olabilir. (132,133) Bununla birlikte örnekleme hatası, fibrozis evrelemesinde yanlış pozitiflik veya yanlış negatiflik, patologlar arasındaki uyumsuzluk, istenmeyen etkiler (hastanede yatacak kadar ciddi komplikasyon gelişme olasılığı %1-5, %0.1-0.01 oranında da ölüm), maliyet ve istenen ölçüde doku örneğinin alınamaması işlemin yapılmasını sınırlamaktadır. (134-139)

2.4.7. Tedavi

2.4.7.1. Risk Faktörlerinden Korunma

Kilo Kaybı

Yavaş ve devamlı kilo kaybının NASH hastalarında karaciğer histolojisini ve serum transaminaz seviyelerini düzelttiği gösterilmiştir. Altı ayda vücut ağırlığının %10'u kadar kilo verilmesi ve bunun devam ettirilmesi gereklidir. Günlük klinik uygulamada bunu sağlamak zor olsa da, özellikle obez hastaların bunu başarması için sürekli teşvik edilmelidir. (140-142)

İnsülin Direncine Yönelik Tedavi

NAYKH olanlarda anormal glikoz toleransı, insülin direnci ve hiperinsülinemisinin varlığı buna yönelik tedavi seçeneklerinin de araştırılması ile ilgili çalışmaları teşvik etmiştir. Metforminin karaciğer yağlanması olan hayvan modellerinde yağlanmayı düzelttiği, hepatik tümör nekrozis faktör ve lipojenik transkripsiyon faktörlerini azalttığı gösterilmiştir. İnsanlarda yapılan pek çok küçük pilot çalışma karaciğer enzimlerini düşürme, insülin direncinde düzelme gibi bazı yararlı etkileri olduğunu gösterse de histolojik düzelme üzerine olan etkileri tartışmalıdır. (143-149)

Thiazolidinedion tedavisi sonrası karaciğer enzimlerinde gerileme olduğu gösterilmiştir. Rosiglitazon ve pioglitazon tedavide güvenli görünse de, rosiglitazonun ciddi hepatotoksiste yapabileceği bildirilmiştir. (117,150,151)

Hiperlipidemi Tedavisi

Gemfibrozilin trigliserid oluşumunu azaltarak ve VLDL klerensini artırarak normal veya yüksek trigliserid düzeyi olan NASH'lı hastalarda serum transaminaz ve GGT düzeylerini düşürdüğü saptanmıştır. (152)

Küçük hasta gruplarında yapılan bazı çalışmalarda atorvastatinin, biyokimyasal ve histolojik parametreleri düzelttiği gösterilmiştir. (153-155) Buna karşın plasebo kontrollü bir çalışmada ise histolojik olarak anlamlı bir düzelme olmadığı belirtilmiştir. (156)

2.4.7.2. Diğer Tedavi Yöntemleri

Ursadeoksikolik Asit

Ursadeoksikolik asit tedavisi ile serum transaminaz, ALP ve GGT düzeylerini düzeldiği, hepatik yağlanmanın gerilediği gösterilse de nekroinflamasyon ve fibroziste düzelme olmamıştır. (157)

Vitamin E

Vitamin E'nin serum transaminaz, ALP ve GGT düzeylerini düşürdüğü gösterilmiştir. Ancak histoloji üzerine etkileri bilinmemektedir. (158)

N-Asetil Sistein

N-asetil sistein glutatyon seviyelerini yükselterek karaciğeri oksidatif stresten korur. NASH'lı hastalarda serum transaminaz ve GGT düzeylerinin düştüğü gösterilmiştir. (159)

Demir Yükünün Azaltılması

Altı-oniki ay flebotomi uygulanan NASH'lı hastalarda serum transaminaz seviyelerinde düşme, tedavi sonrası yapılan karaciğer biyopsilerinde inflamatuvar reaksiyonda önemli oranda gerileme olduğu saptanmıştır. (160) Ayrıca bir başka çalışmada flebotomi sonrası serum ALT düzeylerinin normalleştiği ve plazma insülin düzeylerinin azaldığı gözlenmiştir. (161)

2.4.7.3. Karaciğer Nakli

Son dönem karaciğer hastalığı olanlarda karaciğer nakli yapılan NASH hastalarının oranı düzenli olarak artmaktadır. 1995-2000 yılları arası %0.01 iken 2000-2005 yılları arası

%3.5 olmuştur. Ancak nakil sonrası NAYKH tekrar edebilmektedir. Çünkü patogeneizde rol alan mekanizmalar karaciğer nakli ile düzelmemektedir. (162,163)

2.5. Ateroskleroz

Lipidler, fibroblastlar, makrofajlar, düz kas hücreleri ve hücre dışı maddeleri değişik oranlarda içeren intimal plaklara bağlı olarak meydana gelen, ilerleyici arteriyel darlık ve tıkanmalara, arterlerin esneklik ve antitrombotik özelliklerinin bozulmasına yol açan hastalığa ateroskleroz denir. Ateroskleroz, nedenleri tespit edilip tedavi edilebildiği takdirde durdurulabilen veya geriletilebilen multifaktöryel, morbid ve mortal, sadece koroner damarları değil tüm arteriyel yapıları tutabilen ve etkileyen sistemik bir hastalıktır.(164)

Kardiyovasküler hastalık ve ateroskleroz gelişimi için risk faktörleri Tablo-V’de gösterilmiştir. (165)

Tablo-V Ateroskleroz Risk Faktörleri

Klasik risk faktörleri	Diğer risk faktörleri
▪ Yaş: Erkek > 45 Kadın > 55 ▪ Hipertansiyon (kan basıncı >140/90 yada antihipertansif tedavi alan) ▪ Sigara içimi ▪ Ailede erken yaşta koroner kalp hastalığı: -1.dereceden erkek akraba <55 yaş - 1. dereceden kadın akraba <65 yaş ▪ Dislipidemi ▪ Diabetes mellitus	▪ Serum Lipoprotein (a) > 33 mg/dl ▪ Serum homosistein > 10 nmol/l ▪ Küçük yoğun LDL partikülleri ▪ Hiperinsülinemi ve insülin direnci ▪ Abdominal obezite ▪ Yüksek serum CRP konsantrasyonu ▪ Yüksek lökosit ve/veya hematokrit ▪ Anjiotensin dönüştürücü enzim için DD genotipi ▪ Antioksidan vitaminlerin eksikliği ▪ Klamidya enfeksiyonu ▪ Yüksek plazma fibrinojen, Faktör VII, VIII, plazminojen aktivatör inhibitör tip 1 konsantrasyonları

Yapılan çeşitli çalışmalarda, bu klasik faktörlerin yanısıra diğer başka risk faktörleri de tanımlanmıştır. (166,167) Bu risk faktörlerine yeni tespit edilmiş bazı faktörler de eklenmiştir. Yeni risk faktörleri; Apolipoprotein B, Apolipoprotein A-1, trigliserid, trigliseridden zengin lipoprotein kalıntıları, bozulmuş açlık glukozu olarak belirlenmiştir. (165)

2.6. Epikardiyal Yağ Dokusu

Vasküler yaralanma yerinde düz kas proliferasyonu üzerindekiotokrin ve parakrin iltihap aracılarının merkezi rolü ileri sürülmüştür. (168) Normal yetişkinlerde, epikardiyal yağ atrioventriküler ve interventriküleroluklar ve koroner arter ana dalları boyunca, az bir ölçüde atriyumlaretrafında, sağ ventrikül serbest duvarı üzerinde ve sol ventrikül apeksiüzerinde yoğunlaşmıştır. (19, 20) Ancak, fizyolojik ve metabolik rollerihakkında oldukça az bilgiye sahip olunmuştur. Birçok kanıta göre epikardiyalyağın çeşitli endokrin ve parakrin işlevleri ile son derece aktif bir organolduğu, çeşitli pro-enflamatuar sitokinlerin ve pro-aterojenik kaynağı olduğu (TNF α , MCP-1, IL-6, resistin, visfatin, omentin, leptin, PAI-1 ve anjiotensinojen) gösterilmiştir. (169-174) Bu medyatörlerin sentezlenmesi veserbest bırakılması ile epikardiyal yağın koroner aterosklerozun gelişiminderölü olabilmektedir. (175-177) Adipositler ve miyokardın arasında fasya eksikliğıenedeniyle vasküler yatak ve çevredeki epikardiyal yağ doğrudan etkileşimisağlanmıştır. (19) Diğer bir deyişle, epikardiyal yağ ve miyokardı bölenherhangi bir kas veya fasya olmadığından dolayı iki doku aynı mikro vaskülyyatağı paylaşmaktadır. Adipositlerden salgılanan ve koroner arterlerin içinedifüze eden adipokinler kanıtlanmıştır. (178) Vasküler dokuda iltihapişaretleri, genellikle, kan yoluyla bulaşan hücrelerin intima içinde tutulan veyerleşik vasküler orijinli hücreleri aktive etmesi ile bağlantılıdır. (169) Koroner arterlerin dışında kaynaklanan iltihabi aracılar da intima içtabakasında kompozisyon değişikliklerini indükleme özelliğine sahiptir. (179,180) Epikardiyal koroner arterleri çevreleyen perivaskülerdoku zeminindeki değişikliklerin damar homeostazisini değiştirebilmesi, endotel disfonksiyonuna, damar iltihabının amplifikasyonuna, intimal lezyonlardaplak ilerlemesine katkıda bulunduğuna dair artan kanıtlar vardır. "Dıştan içe doğru" hücresel çapraz ilişki kavramı ile epikardiyal ve adventisya iltihabıgibi koroner arter dışında enflamatuar mediatörler, intimal aterosklerotiklezyonlara da katkıda bulunabilmektedir. (179-182) Bazı yeni çalışmalardaciddi koroner arter hastalığı olan

hastalarda subepikardiyal adipoz dokuda artmış durumda enflamatuvar tepkiler gösterilmiştir. (169,183)

2.7.Visfatin

İlk olarak 1994 yılında lenfositlerden salınan, sitokin benzeri yeni moleküller aranırken bulunmuştur. Bulunan bu molekülün B hücre öncüllerinin maturasyonu üzerine interlökin-7 ve kök hücre faktörünün etkilerini artırdığı belirlenmiş ve bu nedenle Pre-B cell colony-Enhancing Factor; Pre-B-hücre koloni-artırıcı faktör (PBEF) olarak adlandırılmıştır. (184)

Daha sonra Rongvaux ve ark. (185) 2002 yılında PBEF'i Nikotinamid Adenin Dinükleotid (NAD) biyosentezinde yer alan nikotinamid fosforibozil transferaz olarak tanımlamışlardır. 2005 yılında Fukuhara ve ark. (186) tarafından, yeni tanımlanan adipositokine temel olarak visceral adipoz dokuda üretildiği için "visfatin" ismi verilmiştir.

Visfatin, 491 amino asitten oluşan 52 kDa ağırlığında bir polipeptittir ve geni 7. kromozomun uzun kolunda bulunmaktadır. (187)

Visfatinin iki farklı formu bulunmaktadır. İntrasellüler formu; NAD-bağımlı enzimlerin aktivitesinin sürdürülmesinde temel bir rol oynar, besin alımına yanıt, maturasyon, hayatta kalma gibi hücresel metabolizma olaylarının düzenlenmesinde görev alır. Ekstrasellüler formu ise, hem adipoz doku hem de pek çok farklı hücre tipi tarafından sentezlenip ekstrasellüler ortama salınmakta ve bu şekilde geniş bir alanda endokrin/ parakrin etkiler gösterebilmektedir. (188)

Visfatinin temel olarak visceral yağ dokusunda eksprese edildiği bildirilmiştir. 101 erkek ve kadından oluşan bir çalışmada plazma visfatin seviyelerinin; visceral yağ kitlesi ile güçlü, subkutan yağ kitlesi ile ise zayıf bir korelasyon gösterdiği saptanmıştır. (186) Bununla birlikte visfatin için tek kaynak visceral yağ dokusu değildir. Visfatin aynı zamanda lenfosit, monosit, nötrofil, hepatosit, iskelet kası ve pnömositlerde de sentezlenmektedir. (189)

Visfatinin insülin benzeri etkileri olduğu, adiposit ve myositlerde glikoz alımını artırdığı, hepatositlerden glikoz çıkışını azalttığı preadipositlerde trigliserit akümüülasyonunu ve yine bu hücrelerde trigliserit sentezini artırdığı bildirilmiştir. (186)

İnsanlarda ve deneysel hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda visfatin'in aort ve koroner arter gibi damarların perivasküler yağ dokusunda da bulunduğu belirlenmiştir. (188) Periaortik ve perikoroner yağ dokusundaki visfatin ekspresyonundaki artma ile koroner

ateroskleroz gelişimi arasında pozitif bir korelasyon olduğu bulunmuştur. (190) Visfatinin vasküler düz kas proliferasyonuna katkıda bulunduğu gösterilmiştir. (191) Vasküler düz kas hücre proliferasyonu ise aterosklerotik lezyon gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır. (188)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Etik Kurul Onayı

Bu çalışma için Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan (ADÜ_HADYЕК) 27/01/2015 tarih ve 64583101/2015/002 sayılı etik kuruluonay alındı.

3.2. Çalışma Protokolü

Bu çalışmada 16 adet Wistar Albino cinsi erişkin erkek (8-12 haftalık, 200gr-350gr ağırlığında) rat kullanıldı. 24°C±1 oda ısısında 12 saat ışık (07:00–19:00) ve 12 saat karanlıkta (19:00–07:00) tutuldu. Tüm ratlar aynı ortamda gözetim altında tutulup ve aynı standart rat yemi verilerek add-libitum su ve yiyecek alımları sağlandı.

Grup-1 Sağlıklı kontrol grubu (n=8): Bu gruptaki ratlara günlük içme suyu ve yem dışında herhangi bir şey verilmedi.

Grup-2 Hipotiroidizm oluşturulan grup (n=8): Hipotiroidizm, 12 hafta boyunca onların içme suyuna 0.025% metimazol (MMI; Sigma, USA) verilerek oluşturuldu. (192)

Ratların haftada bir gün kilo ölçümleri yapıldı. 12 haftanın sonunda tüm gruptaki ratların 12 saatlik açlık sonrası kilo ölçümleri ve nazo-anal mesafeleri ölçüldü. Lee indeksi ile obezite değerlendirmesi yapıldı. Bu indeks, vücut ağırlığının (g) küp kökü x 10/nazo-anal uzunluk (mm) olarak hesaplandı. Çıkan sonuç ≤ 0.300 ise normal, > 0.300 ise obez olarak değerlendirildi. (193,194) Anestezi işlemi için intraperitoneal 40 mg/kg ketamin + 4 mg/kg xylazine uygulandı. Anestezi altında sistemik dolaşımdan kan alınarak servikal dislokasyon yapıldı. Histopatolojik inceleme için karaciğer sol lop ve kalp çıkarıldı. Biyokimyasal çalışma yapılacak olan materyal folyo ile kapatılarak çok kısa sürede biyokimya laboratuvarına ulaştırıldı.

3.3. Biyokimyasal Parametrelerin Çalışılması

3.3.1. Serum ve Kan Örneklerinin Hazırlanması

Tüm hayvanlardan toplanan kan örnekleri jel içeren serum tüplerine alındı, 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek serumları elde edildi. Serum örnekleri yapılacak analizlere yeterli miktarda olacak şekilde küçük porsiyonlara ayrıldı ve analiz yapılincaya kadar (Glukoz ve ALT analizleri hariç) -20°C’de saklandı.

3.3.1.1. Serum Serbest-Tri-iodotironin Düzeyinin Belirlenmesi

Prensip:

Ratlardan elde edilen serumlarda sT3 düzeyini ölçmek için spesifik sandwich elisa tekniğine dayanan enzim immunoassay tekniği kullanıldı (SunRed, Biotechnology Company, Shanghai, Cat. No. 201-11-0738). Rat sT3 spesifik monoklonal antikor kaplı kuyucuklara sT3 (örnek) eklenerek inkübe edildikten sonra biotin ile işaretlenmiş sT3 antikorları eklendi ve Streptavidin-HRP konjugatı ile birleştirilerek immun kompleks oluşturuldu. Bağlanmayan enzimlerin uzaklaştırılması için yapılan yıkama işlemlerinin ardından bağlı enzimin substrat ile reaksiyon vermesi ile oluşan rengin şiddeti ölçülerek örneklerdeki sT3 miktarı tayin edildi.

Reaktifler

1. Standart (25.6ng/mL)
2. Standart dilüsyon solüsyonu
3. Monoklonal antikor kaplı mikrotitrasyonstripleri (her biri 12 kuyucuklu sekiz adet strip)
4. Streptavidin-HRP konjugatı
5. Yıkama solüsyonu (30X)
6. Biotinli Anti-Rat sT3 antikor solüsyonu
7. Renk oluşturuç solüsyon A (Substrat solüsyonu A)
8. Renk oluşturuç solüsyon B (Substrat solüsyonu B)
9. Durdurma çözeltisi

Serbest-Tri-iodotironin Reaktiflerinin Hazırlanması

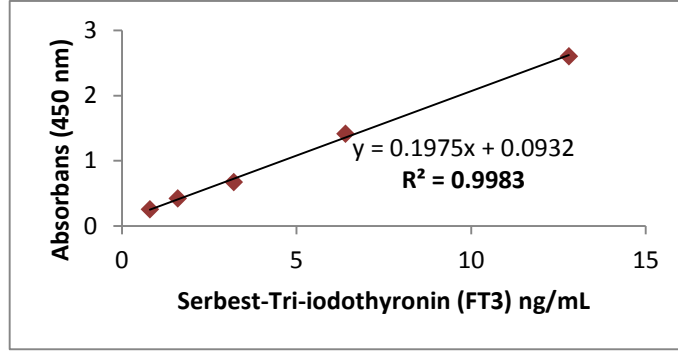
Kit analiz öncesi 2-8 °C’de saklandığı için, tüm reaktifler ölçüm öncesi 18-28 °C’ye getirildi. 25.6 ng/mL’lik stok standart çözeltisinden, standart dilüsyon solüsyonu ile 0.8, 1.6, 3.2, 6.4, 12.8 ng/mL konsantrasyonlarında olacak şekilde seri dilüsyonlar yapıldı. 30X konsantre yıkama solüsyonu örnek sayısına uygun miktarda 1X olacak şekilde seyreltilerek kullanıldı.

Serbest-Tri-iodotironin çalışma basamakları

1. Dondurularak saklanmış serumlar oda ısısına getirildi.
2. Standartların hazırlanışı: Plakadaki kuyucuklara 50 µL standart ve 50 µL Streptavidin-HRP pipetlendi. Standartlar daha önceden biotin antikoru ile birleştirildiği için Biotinli Anti-Rat sT3 antikor solüsyonu ilave edilmedi.
3. Örneklerin hazırlanışı: Plakadaki kuyucuklara 40 µL standart, 50 µL Streptavidin-HRP ve 10 µL Biotin ile işaretlenmiş Anti-Rat sT3 antikor solüsyonu pipetlendi.
4. Plakadaki kör kuyucuğu boş bırakıldı.
5. Kuyucuklar 37 °C 60 dakika inkübe edildi.
6. İnkübasyonun ardından kuyucuklar yıkama solüsyonu ile beş defa yıkandı.
10. Her kuyucuğa 50 µL renk oluşturu A (Substrat solüsyonu A) ve 50 µL renk oluşturu B (Substrat solüsyonu B) eklendi ve 37°C’de on dakika inkübe edildi.
11. Her kuyucuğa 50 µL durdurma çözeltisi eklendi.
12. Onbeş dakika içinde ELISA okuyucuda (Optik İvymenSystem, İspanya) 450 nm dalga boyunda optik dansiteleri okundu.

Hesaplaması:

Standart çözeltiler kullanılarak grafik çizildi. Bilinmeyen örneğin konsantrasyonu standart eğrisinden elde edilen $y = 0.1975x + 0.0932$ denkleminde yararlanarak belirlendi.



Şekil-1 Serbest-Tri-iodotironin standart eğrisi

3.3.1.2. Serum Serbest Tiroksin Düzeyinin Belirlenmesi

Prensip:

Ratlardan elde edilen serumlarda serbest Tiroksin (sT4) düzeyini ölçmek için spesifik sandwich Elisa tekniğine dayanan enzim immunoassay tekniği kullanıldı (SunRed, Biotechnology Company, Shanghai, Cat. No. 201-11-0736). Rats T4 spesifik monoklonal antikor kaplı kuyucuklara sT4 (örnek) eklenerek inkübe edildikten sonra biotin ile işaretlenmiş sT4 antikorları eklendi ve Streptavidin-HRP konjugatı ile birleştirilerek immun kompleks oluşturuldu. Bağlanmayan enzimlerin uzaklaştırılması için yapılan yıkama işlemlerinin ardından bağlı enzimin substrat ile reaksiyon vermesi ile oluşan rengin şiddeti ölçülerek örneklerdeki sT4 miktarı tayin edildi.

Reaktifler

1. Standart (160pmol/mL)
2. Standart dilüsyon solüsyonu
3. Monoklonal antikor kaplı mikro titrasyon stripleri (her biri 12 kuyucuklu sekiz adet strip)
4. Streptavidin-HRP konjugatı
5. Yıkama solüsyonu (30X)
6. Biotinli Anti-RatsT4 antikor solüsyonu
7. Renk oluşturucu solüsyon A (Substrat solüsyonu A)
8. Renk oluşturucu solüsyon B (Substrat solüsyonu B)
9. Durdurma çözeltisi

Serbest Tiroksin Reaktiflerinin Hazırlanması

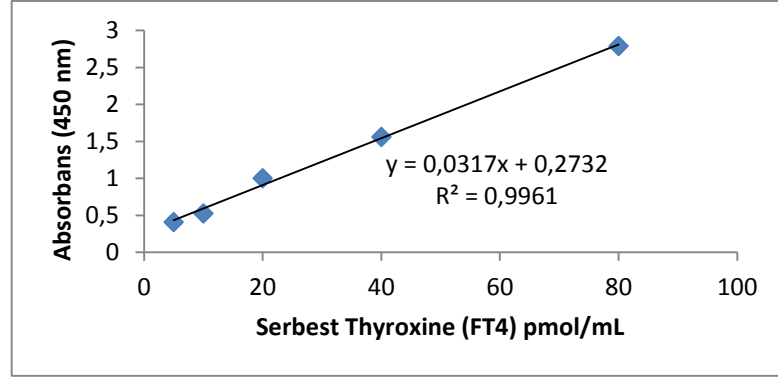
Kit analiz öncesi 2-8 °C’de saklandığı için, tüm reaktifler ölçüm öncesi 18-28 °C’ye getirildi. 160 pmol/mL’lik stok standart çözeltisinden, standart dilüsyon solüsyonu ile 5, 10, 20, 40, 80 pmol/mL konsantrasyonlarında olacak şekilde seri dilüsyonlar yapıldı. 30X konsantre yıkama solüsyonu örnek sayısına uygun miktarda 1X olacak şekilde seyreltilerek kullanıldı.

Serbest Tiroksin Çalışma Basamakları

1. Dondurularak saklanmış serumlar oda ısısına getirildi.
2. Standartların hazırlanışı: Plakadaki kuyucuklara 50 µL standart ve 50 µL Streptavidin-HRP pipetlendi. Standartlar daha önceden biotin antikoru ile birleştirildiği için Biotinli Anti-RatsT4 antikor solüsyonu ilave edilmedi.
3. Örneklerin hazırlanışı: Plakadaki kuyucuklara 40 µL standart, 50 µL Streptavidin-HRP ve 10 µL Biotin ile işaretlenmiş Anti-RatsT4 antikor solüsyonu pipetlendi.
4. Plakadaki kör kuyucuğu boş bırakıldı.
5. Kuyucuklar 37 °C 60 dakika inkübe edildi.
6. İnkübasyonun ardından kuyucuklar yıkama solüsyonu ile beş defa yıkandı.
7. Her kuyucuğa 50 µL renk oluşturu A (Substrat solüsyonu A) ve 50 µL renk oluşturu B (Substrat solüsyonu B) eklendi ve 37°C’de on dakika inkübe edildi.
8. Her kuyucuğa 50 µL durdurma çözeltisi eklendi.
9. Onbeş dakika içinde ELISA okuyucuda (Optik İvymenSystem, İspanya) 450 nm dalga boyunda optik dansiteleri okundu.

Hesaplaması:

Standart çözeltiler kullanılarak grafik çizildi. Bilinmeyen örneğin konsantrasyonu standart eğrisinden elde edilen $y = 0.0317x + 0.2732$ denkleminde yararlanarak belirlendi.



Şekil-2 Serbest Tiroksin Standart Eğrisi

3.3.1.3. Serum Tiroid Stimulan Hormon Düzeyinin Belirlenmesi

Prensip:

Ratlardan elde edilen serumlarda TSH düzeyini ölçmek için spesifik sandwich elisa tekniğine dayanan enzim immunoassay tekniği kullanıldı. (SunRed, Biotechnology Company, Shanghai, Cat. No. 201-11-0181) TSH spesifik monoklonal antikor kaplı kuyucuklara TSH (örnek) eklenerek inkübe edildikten sonra biotin ile işaretlenmiş TSH antikorları eklendi ve Streptavidin-HRP konjugatı ile birleştirilerek immun kompleks oluşturuldu. Bağlanmayan enzimlerin uzaklaştırılması için yapılan yıkama işlemlerinin ardından bağlı enzimin substrat ile reaksiyon vermesi ile oluşan rengin şiddeti ölçülerek örneklerdeki TSH miktarı tayin edildi.

Reaktifler

1. Standart (8mIU/L)
2. Standart dilüsyon solüsyonu
3. Monoklonal antikor kaplı mikro titrasyon stripleri (her biri 12 kuyucuklu sekiz adet strip)
4. Streptavidin-HRP konjugatı
5. Yıkama solüsyonu (30X)
6. Biotinli TSH antikor solüsyonu
7. Renk oluşturunucu solüsyon A (Substrat solüsyonu A)
8. Renk oluşturunucu solüsyon B (Substrat solüsyonu B)
9. Durdurma çözeltisi

Tiroid Stimulan Hormon Reaktiflerinin Hazırlanması

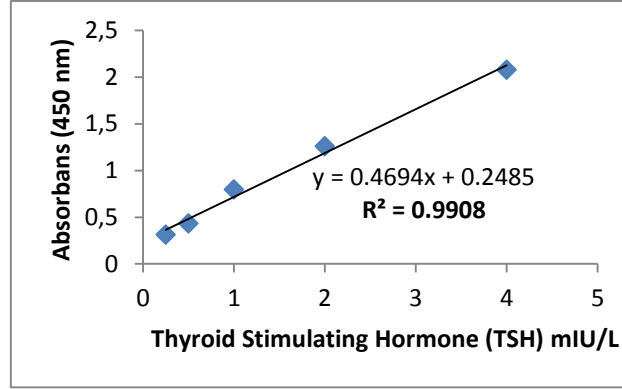
Kit analiz öncesi 2-8 °C’de saklandığı için, tüm reaktifler ölçüm öncesi 18-28 °C’ye getirildi. 8mIU/L’lik stok standart çözeltisinden, standart dilüsyon solüsyonu ile 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0mIU/L konsantrasyonlarında olacak şekilde seri dilüsyonlar yapıldı. 30X konsantre yıkama solüsyonu örnek sayısına uygun miktarda 1X olacak şekilde seyreltilerek kullanıldı.

Tiroid Stimulan Hormon Çalışma Basamakları

1. Dondurularak saklanmış serumlar oda ısısına getirildi.
2. Standartların hazırlanışı: Plakadaki kuyucuklara 50 µL standart ve 50 µL Streptavidin-HRP pipetlendi. Standartlar daha önceden biotin antikoru ile birleştirildiği için Biotinli Anti-Rat TSH antikor solüsyonu ilave edilmedi.
3. Örneklerin hazırlanışı: Plakadaki kuyucuklara 40 µL standart, 50 µL Streptavidin-HRP ve 10 µL Biotin ile işaretlenmiş Anti-Rat TSH antikor solüsyonu pipetlendi.
4. Plakadaki kör kuyucuğu boş bırakıldı.
5. Kuyucuklar 37 °C 60 dakika inkübe edildi.
6. İnkübasyonun ardından kuyucuklar yıkama solüsyonu ile beş defa yıkandı.
7. Her kuyucuğa 50 µL renk oluşturu A (Substrat solüsyonu A) ve 50 µL renk oluşturu B (Substrat solüsyonu B) eklendi ve 37°C’de on dakika inkübe edildi.
8. Her kuyucuğa 50 µL durdurma çözeltisi eklendi.
9. Onbeş dakika içinde ELISA okuyucuda (Optik İvymenSystem, İspanya) 450 nm dalga boyunda optik dansiteleri okundu.

Hesaplaması:

Standart çözeltiler kullanılarak grafik çizildi. Bilinmeyen örneğin konsantrasyonu standart eğrisinden elde edilen $y = 0.4694x + 0.2485$ denkleminde yararlanarak belirlendi.



Şekil-3Tiroid Stimulan Hormon Standart Eğrisi

3.3.1.4. Serum Visfatin Düzeyinin Belirlenmesi

Prensip:

Ratlardan elde edilen serumlarda visfatin düzeyini ölçmek için spesifik sandwich elisa tekniğine dayanan enzim immunoassay tekniği kullanıldı. (SunRed, BiotechnologyCompany, Shanghai, Cat. No. 201-11-0472) Visfatin spesifik monoklonal antikor kaplı kuyucuklara visfatin (örnek) eklenerek inkübe edildikten sonra biotin ile işaretlenmiş visfatin antikorları eklendi ve Streptavidin-HRP konjugatı ile birleştirilerek immun kompleks oluşturuldu. Bağlanmayan enzimlerin uzaklaştırılması için yıkama işlemlerinin ardından bağlı enzimin substrat ile reaksiyon vermesi ile oluşan rengin şiddeti ölçülerek örneklerdeki visfatin miktarı tayin edildi.

Reaktifler

1. Standart (480 ng/mL)
2. Standart dilusyon solüsyonu
3. Monoklonal antikor kaplı mikro titrasyon stripleri (her biri 12 kuyucuklu sekiz adet strip)
4. Streptavidin-HRP konjugatı
5. Yıkama solusyonu (30X)
6. Biotinli visfatin antikor solüsyonu
7. Renk oluşturuç solüsyon A (Substrat solüsyonu A)
8. Renk oluşturuç solüsyon B (Substrat solüsyonu B)
9. Durdurma çözeltisi

Visfatin Reaktiflerinin Hazırlanması

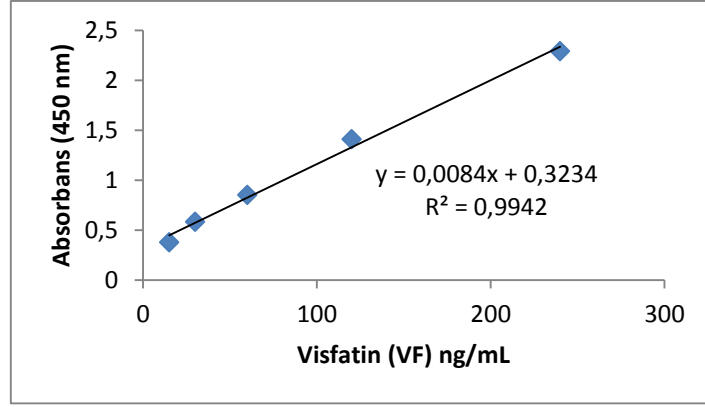
Kit analiz öncesi 2-8 °C’de saklandığı için, tüm reaktifler ölçüm öncesi 18-28 °C’ye getirildi. 480 ng/mL’lik stok standart çözeltisinden, standart dilüsyon solüsyonu ile 15, 30, 60, 120, 240 ng/mL konsantrasyonlarında olacak şekilde seri dilüsyonlar yapıldı. 30X konsantre yıkama solüsyonu örnek sayısına uygun miktarda 1X olacak şekilde seyreltilerek kullanıldı.

Visfatin çalışma basamakları

1. Dondurularak saklanmış serumlar oda ısısına getirildi.
2. Standartların hazırlanışı: Plakadaki kuyucuklara 50 µL standart ve 50 µL Streptavidin-HRP pipetlendi. Standartlar daha önceden biotin antikoru ile birleştirildiği için Biotinli Anti-RatVisfatin antikor solüsyonu ilave edilmedi.
3. Örneklerin hazırlanışı: Plakadaki kuyucuklara 40 µL standart, 50 µL Streptavidin-HRP ve 10 µL Biotin ile işaretlenmiş Anti-RatVisfatin antikor solüsyonu pipetlendi.
4. Plakadaki kör kuyucuğu boş bırakıldı.
5. Kuyucuklar 37 °C 60 dakika inkübe edildi.
6. İnkübasyonun ardından kuyucuklar yıkama solüsyonu ile beş defa yıkandı.
7. Her kuyucuğa 50 µL renk oluşturu A (Substrat solüsyonu A) ve 50 µL renk oluşturu B (Substrat solüsyonu B) eklendi ve 37°C’de on dakika inkübe edildi.
8. Her kuyucuğa 50 µL durdurma çözeltisi eklendi.
9. Onbeş dakika içinde ELISA okuyucuda (Optik İvymenSystem, İspanya) 450 nm dalga boyunda optik dansiteleri okundu.

Hesaplaması:

Standart çözeltiler kullanılarak grafik çizildi. Bilinmeyen örneğin konsantrasyonu standart eğrisinden elde edilen $y = 0.0084x + 0.3234$ denkleminde yararlanarak belirlendi.



Şekil-4 Visfatin Standart Eğrisi

3.3.1.5. Serum Glukoz Düzeyinin Belirlenmesi

Serumda glukoz tayini BIOLABO (Maizy, France) firmasının hazır kitleri ile yapılmıştır.

Prensip:

Glukoz oksidazmetoduna dayanan kitin çalışma prensibi glukozun, glukozoksidaz ile enzimatikoksidasyonu ile oluşan hidrojen peroksitin, peroksidaz aracılığı ile fenol ve 4-aminoantipirin ile reaksiyona girerek kırmızı-mor renkli kinoneimin oluşumuna dayanmaktadır. Oluşan renk 546nm’de spektrofotometrik olarak ölçülerek glukoz düzeyi belirlenir.

Serum glukoz tayininde kullanılan çözeltiler;

Reaktif 1: Enzim-Tampon Solusyonu

Fosfat tamponu pH7.5	150 mmol/L
Glukoz oksidaz (GOD)	≥ 20 000 UI/L
Peroksidaz (POD)	≥ 1 000 UI/L
4-amino-antipirin (PAP)	0.8mmol/L

Reaktif 2: Kromojen Solusyonu

Kloro-4-fenol 2 mmol/L

Reaktif 3: Standart Solusyonu

Glukoz 100 mg/dL 5.55 mmol/L

Kullanıma hazır solüsyonlar 2-8 °C’de muhafaza edildi. Ölçümü yapılacak serumlar oda ısısına getirildi ve örnekler alındıktan en geç bir saat için de çalışıldı. Liyofilize formda olan reaktif-1 250 mL distile su ile çözülerek temiz bir şişeye aktarıldı, üzerine kitin içinden kullanıma hazır olan reaktif-2 ilave edilerek çalışma reaktifi elde edildi.

Kör, standart ve örnekler için deney tüpleri alınıp, işaretlendi. Kör olarak işaretlenen deney tüpüne 1 mL çalışma reaktifi, 10 µl distile su pipetlendi. Standart deney tüpüne 1 mL çalışma reaktifi, 10 µl standart çözelti ilave edildi. Örnekler için hazırlanmış deney tüpüne 1 mL çalışma solüsyonu, 10 µl serum kondu. Bu tüpler çalkalanarak iyice karıştırıldı. Elde edilen bu karışımlar oda sıcaklığında 20 dakika bekletildikten sonra köre karşı standart ve örneklerin absorbansı 560 nm’de 20 dakika içinde fotometre’de okunarak sonuçlar kaydedildi.

Glukoz tayini için kör, örnek ve körün hazırlanışı:

	KÖR	STANDART	ÖRNEK
REAKTİF	1 mL	1 mL	1 mL
DİSTİLE SU	10 µL		
STANDART		10 µL	
ÖRNEK			10 µL

Hesaplamalar aşağıdaki formül yardımı ile yapılmıştır

Serum:

$\text{mg/dLglukoz} = (\text{örnek absorbansı/standart absorbansı}) \times \text{standart konsantrasyonu}$

3.3.1.6. Serum Triglicerit Düzeyinin Belirlenmesi

Serumda triglicerit tayini BIOLABO (Maizy, France) firmasının hazır kitleri ile yapılmıştır.

Prensip:

Fossati ve Prencipe metodu ile Trinder Reaksiyonunun birleştirilmesi ile elde edilen yöntemde, trigliserid, lipaz enzimi ile gliserol ve yağ asidlerine hidrolize edilir. Gliserol, gliserokinaz enzimi ile gliserol-3-fosfata fosforillenir. Gliserol-3-fosfat, gliserol-3 fosfat oksidaz enzimi ile Dihidroksiaseton fosfat (DHAP) ve H_2O_2 'e yükseltgenir. Oluşan H_2O_2 ; 4-aminoantipirin ve 4-klorofenol ile reaksiyona girerek bir kinonemin renkli bileşiği oluşturulur ve bu bileşiğin renk şiddeti 546 nm'de ölçülür.

Serum triglicerit tayininde kullanılan çözeltiler;

Reaktif-1: Tampon

PIPES	100 mmol/L
Magnezyum klorür	9.8mmol/L
Kloro-4-fenol	3.5mmol/L

Koruyucu

Reaktif-2: Enzim

Lipaz	$\geq 1000 \text{ IU/L}$
Peroksidaz (POD)	$\geq 1700 \text{ IU/L}$
Gliserol 3 fosfat oksidaz (GPO)	$\geq 3000 \text{ IU/L}$

Gliserolkinaz (GK)	≥ 660 IU/L
4-amino-antipirin (PAP)	0.5mmol/L
Adenozin trifosfat Na (ATP)	1.3mmol/L

Reaktif-3: Standart Solusyonu

Gliserol	2.28 mmol/L
Trigliserit	200 mg/dL (2.28 mmol/L)

Kullanıma hazır solüsyonlar 2-8 °C’de muhafaza edildi. Ölçümü yapılacak serumlar oda ısısında çözdürüldü. Enzim solüsyonu içeren Reaktif-1 tampon içeren Reaktif-2 içerisine boşaltıldı. Yavaşça karıştırılan solüsyonlar kullanımdan iyice çözünmesi için iki dakika bekledikten sonra çalışma reaktifi elde edildi.

Kör, standart ve örnekler için deney tüpleri alınıp, işaretlendi. Kör olarak işaretlenen deney tüpüne 1 mL çalışma reaktifi, 10 µl distile su pipetlendi. Standart deney tüpüne 1 mL çalışma reaktifi, 10 µl standart çözelti ilave edildi. Örnekler için hazırlanmış deney tüpüne 1 mL çalışma solüsyonu, 10 µl serum kondu. Bu tüpler çalkalanarak iyice karıştırıldı. Elde edilen bu karışımlar oda sıcaklığında on dakika bekletildikten sonra köre karşı standart ve örneklerin absorbansı 520 nm’defotometre’de okunarak sonuçlar kaydedildi.

Trigliserit tayini için kör, örnek ve körün hazırlanışı:

	KÖR	STANDART	ÖRNEK
REAKTİF	1 mL	1mL	1 mL
DİSTİLE SU	10 µL		
STANDART		10 µL	
ÖRNEK			10 µL

Hesaplamalar aşağıdaki formül yardımı ile yapılmıştır.

Serum:

mg/dLTrigliserit= (örnek absorbansı/standart absorbansı) x standart konsantrasyonu

3.3.1.7. Serum Alanin Aminotransferaz Düzeyinin Belirlenmesi

Serumda ALT tayini BIOLABO (Maizy, France) firmasının hazır kitleri ile yapılmıştır.

Prensip:

Alanintransaminaz enzimi; L- Alaninin (amino asit) amin grubunu, α – ketoglutarikaside (keto aside) taşıyarak glutamik asit (amino asit) ve pirüvik asit oluşumunu katalizler.

Reaksiyon sonunda ortaya çıkan pirüvik asit, Laktat dehidrogenaz (LDH) enzimi tarafından NADH^+ yükseltgenmesiyle L-Laktata dönüştürülür. 340 nm’de NADH^+ ’ın NAD^{+} ’a oksidasyonunda oluşan azalma ile ALT düzeyi belirlenir.

Serum ALT düzeyinin tayininde kullanılan çözeltiler;

Reaktif-1: Çalışma Solusyonu

2-oksoglutarat	15mmol/L
L-Alanin	500 mmol/L
LDH	≥ 1600 UI/L
NADH	≤ 0.18 UI/L
Tris tamponu	100 mmol/L
30 °C’de pH 7.5 $\pm$ 0.1	
Koruyucu	

Kullanıma hazır solüsyonlar 2-8 °C’de muhafaza edildi. Ölçümü yapılacak serumlar oda ısısında çözündürüldü. Liyofilize formda olan çalışma reaktifi 30 mLdistile su ile çözüldü. Solüsyonun iyice çözünüp homojen hale gelmesi için yaklaşık iki dakika yavaşça karıştırıldı. Örnekler için hazırlanmış deney tüpüne 1 mL çalışma solüsyonu, 100 µl serum kondu. Bu tüpler çalkalanarak iyice karıştırıldı. Serum ilave edildikten birdakika sonra üç dakika boyunca her dakikada absorbansları kaydedildi.

ALT tayini için örneklerin hazırlanışı:

ÖRNEK	
REAKTİF	1 mL
ÖRNEK	100 µL

Karıştırılır. 340 nm’de bir dakika sonra üç dakika boyunca her dakika absorbans okunur.

Hesaplamalar aşağıdaki formül yardımı ile yapılmıştır.

Serum:

$$\text{IU/L} = (\Delta\text{Abs/min}) \times 1746$$

3.3.1.8. Serum Aspartat Aminotransferaz Düzeyinin Belirlenmesi

Serumda AST tayini BIOLABO (Maizy, France) firmasının hazır kitleri ile yapılmıştır.

Prensip:

Aspartat aminotransferaz enzimi; L– Aspartik asidin (amino asit) amin grubunu α-ketoglutarik aside (keto asit) taşıyarak glutamik asit (amino asit) ve oksalasetik asit oluşumunu katalizler. Reaksiyon sonunda ortaya çıkan oksalaasetik asit, MDH enzimi

tarafından NADH⁺ yükseltgenmesiyle L-Laktata dönüştürülür. 340 nm’de NADH⁺’ın NAD⁺’a oksidasyonunda oluşan azalma ile AST düzeyi belirlenir.

Serum AST düzeyinin tayininde kullanılan çözeltiler;

Reaktif-1: Çalışma Solusyonu

EDTA	5 mmol/L
2-oksooglutarat	12 mmol/L
L-Aspartat	200 mmol/L
MDH	495 UI/L
LDH	820 IU/L
NADH	≤ 0.18 UI/L
Tris tamponu	80 mmol/L
30 °C’de	pH7.80 ±0.1
Koruyucu	

Kullanıma hazır solüsyonlar 2-8 °C’de muhafaza edildi. Ölçümü yapılacak serumlar oda ısısına gelmesi için beklendi. Liyofilize formda olan çalışma reaktifi 30 mLdistile su ile çözüldü. Solüsyonun iyice çözünüp homojen hale gelmesi için yaklaşık iki dakika yavaşça karıştırıldı.

Örnekler için hazırlanmış deney tüpüne 1 mL çalışma solüsyonu, 100 µl serum konu. Bu tüpler çalkalanarak iyice karıştırıldı. Serum ilave edildikten bir dakika sonra üç dakika boyunca her dakikada absorbanları kaydedildi.

AST tayini için örneklerin hazırlanışı:

ÖRNEK

REAKTİF

1 mL

ÖRNEK

100 µL

Karıştırılır. 340 nm’de bir dakika sonra üç dakika boyunca her dakika absorbans okunur.

Hesaplamalar aşağıdaki formül yardımı ile yapılmıştır.

Serum:

$$\text{IU/L} = (\Delta\text{Abs/min}) \times 1746$$

3.4. Patolojik inceleme

Ötenaziyi takiben çıkarılan karaciğer ve kalp, öncelikle Fizyolojik Tuzlu Su (FTS) ile yıkandı. Kalpte tespit öncesi meydana gelebilen artefaktların önüne geçmek için Keenan ve ark. (195) tarafından önerilen yöntem takip edildi. Bu amaçla kalp soğuk (+4°C) FTS ile yıkandı. Kalp ve karaciğerin küçültülmesinde ve incelenecek bölümlerin belirlenmesinde Christine RF ve ark (196) önerileri dikkate alındı.

Yıkama işleminin ardından, kalp longitudinal olarak apeksbazis yönünde iki eşit parçaya ayrılırken, karaciğer sol lateral lob, kaudat lob ve sağ ve sol medial lobun her ikisinden de geçecek şekilde küçültüldü. Küçültülen dokular kasetlere yerleştirilerek 24-48 saat süreyle %4'lük tamponlanmış formaldehid solüsyonunda (Sigma-Aldrich) immersiyon yöntemiyle tespit edildi. Bu süre sonunda 6-8 saat süreyle akan çeşme suyunda yıkanan dokular aşağıdaki yöntemle otomatik doku takip cihazında (Leica TP1020) takip edilerek parafine gömüldü. .

%70 alkol 1 saat

%80 alkol 1 saat

%90 alkol 1 saat

%96 alkol 1 saat

Absolut alkol 1 saat

Ksilen 20 dakika

Ksilen 20 dakika

Parafin (erime sıcaklığı 46-48 C) 1 saat

Parafin (erime sıcaklığı 56-58 C) 1 saat

Parafine gömülen dokulardan lamlara (ThermoScientific) 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kalp ve karaciğerin histopatolojik incelemesi amacıyla kesitler hematoxilen-eozin ile boyandı. (197) Karaciğerde yağ vakuollerinin varlığının gösterilmesi amacıyla, tespit işlemi sonrası küçültülen karaciğer örnekleri dondurma mikrotomunda 10 µm kalınlığında kesildi. Ardından kesitler “Oil Red-O” boyama yöntemi ile boyandı.(197) Hazırlanan kalp ve karaciğer preparatları ışık mikroskopunda (Olympus BX51) incelendi ve mikroskopik dijital fotoğraflar (Olympus C-5050) çekilerek bilgisayar ortamına aktarıldı. Ayrıca kalpte sağ atriyum ve ventrikül geçiş sınırındaki epikardiyalyüzeyinin üçmmaltında epikardiyal yağın alanı, HE yöntemi ile boyanan kesitlerde ışık mikroskop ve analiz programı yardımıyla ölçüldü.

3.5. İstatistiksel analiz

Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 17.0 (Statistical Package for the Social Science, version 17.0) kullanılarak değerlendirildi. Verilerin analizlerinin karşılaştırılmasında Kolmogorov-Smirnov testi ile dağılım yapıları değerlendirildikten sonra Student T Test ve chi-square kullanıldı. p değeri <0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Obezite değerlendirmesi

Hipotiroidi oluşturulan grubunun çalışmanın ilk günü ölçülen açlık vct ağırlığı ortalaması 287.25 ± 15.78 g, kontrol grubunun ise 282.88 ± 33.59 g olup benzerlik göstermekteydi ($p > 0.05$). Çalışmanın son günü ölçülen açlık vct ağırlıkları ortalaması ise hipotiroidi oluşturulan grupta 297.38 ± 19.62 g, kontrol grubunda 290.75 ± 33.34 g olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$). Lee indeksine göre obezite açısından yapılan değerlendirmede, çalışma öncesi değerler iki grup arasında benzerken ($p > 0.05$), çalışma sonunda hipotiroidi oluşturulan grupta Lee indeksi 0.309 ± 0.005 , kontrol grubunda 0.292 ± 0.008 olup iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0.001$). Çalışma öncesinde her iki gruptaki ratlarda obezite mevcut değildi. Çalışma sonunda hipotiroidi oluşturulan gruptaki tüm ratlarda obezite gelişti. Kontrol grubunda ise sadece birratda obezite saptandı. Obezite açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0.001$).

4.2. Biyokimyasal parametre sonuçları

Hipotiroidi oluşturulan grubun TSH değeri 2.16 ± 0.35 mIU/L olup kontrol grubu ile arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı ($p < 0.001$). Hipotiroidi oluşturulan grupta T_4 değeri 10.33 ± 4.46 pmol/L olup kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptandı ($p = 0.006$). Yine benzer şekilde hipotiroidi grubunda sT_3 değerleri 5.32 ± 0.62 nmol/L olup kontrol grubuna göre belirgin düşük saptandı ($p < 0.001$). Her iki grup arasında visfatin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$). Biyokimyasal parametreler toplu halde Tablo-VI'da verildi.

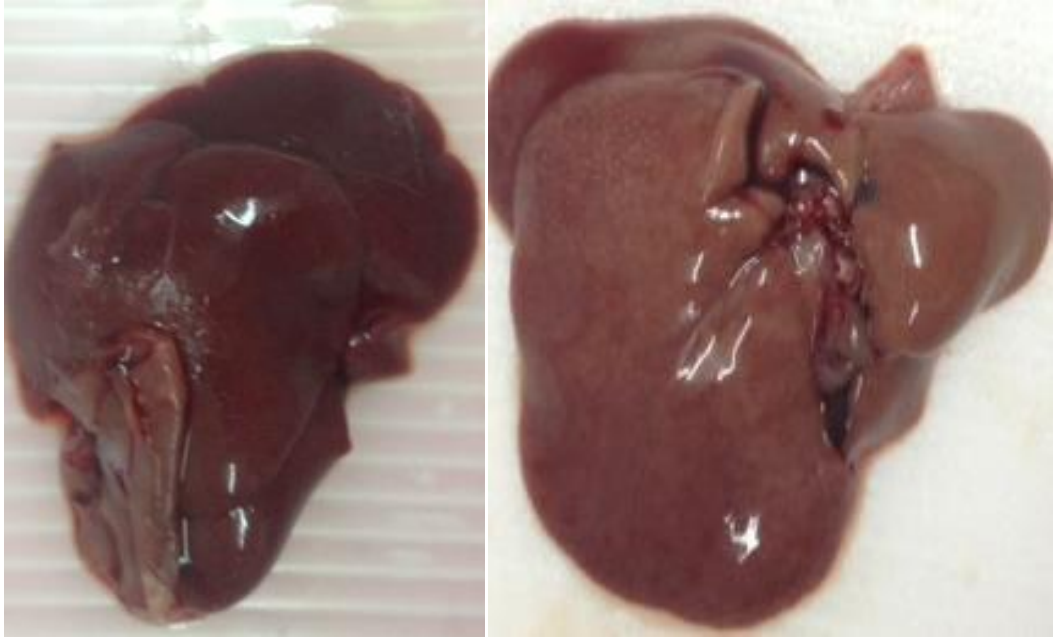
Tablo-VI Biyokimyasal Parametre Sonuçları

	Hipotiroidi (n=8)	Kontrol (n=8)	P
TSH (mIU/L)	2.16±0.35	0.84±0.06	<0.001
sT4 (pmol/L)	10.33±4.46	16.07±2.19	0.006
sT3 (nmol/L)	5.32±0.62	7.47±0.12	<0.001
Visfatin (ng/mL)	88.04±7.29	89.67±5.92	>0.05
Açlık serum glikoz (mg/dl)	126.25±23.4	102.63±15.51	0.032
ALT	58.38±22.9	38.75±6.04	0.034
AST	153.63±35.1	98.5±17.65	0.001
Trigliserid	38.5±6.89	37.63±11.36	>0.05
HDL	24.5±3.34	23±1.93	>0.05
LDL	53±10.85	35.88±3.8	0.001

4.3. Patoloji bulguları

4.3.1. Makroskopik bulgular

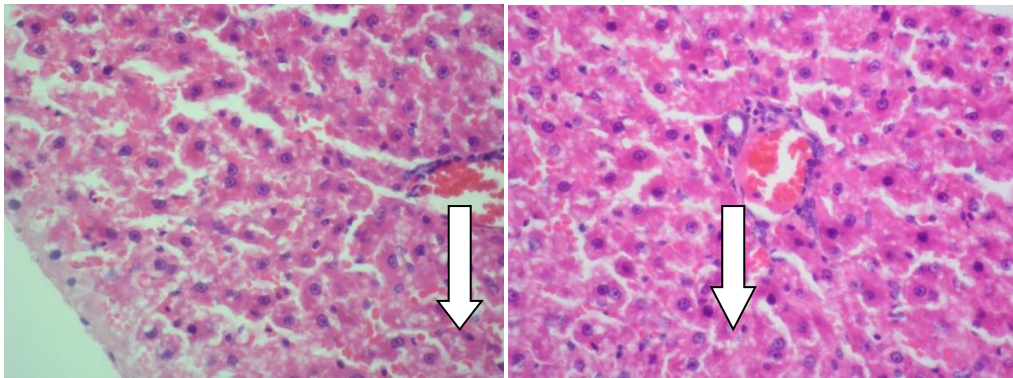
Hipotiroidi modeli oluşturulan ratların tümünde karaciğerin solgun görünümde ve gevrek kıvamda olduğu gözlemlendi. Kontrol grubundaki hayvanların karaciğerinde makroskopik değişikliğe rastlanmadı.



Resim 1: Kontrol grubu karaciğer makroskopik normal görünüm
Resim 2: Hipotiroidi modeli oluşturulan rat grubunda karaciğerin solgun görünümü

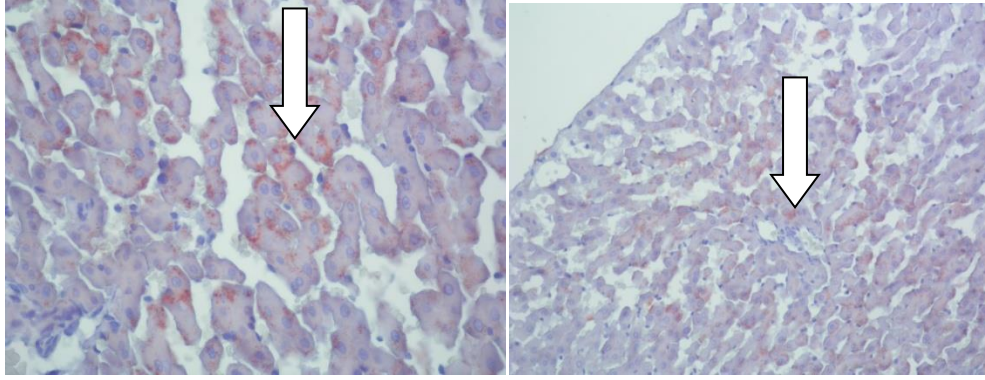
4.3.2. Mikroskopik Histopatolojik Bulgular

Hipotiroidi modeli uygulanan ratların karaciğerinde hafif steatozis tablosu görüldü. HE boyamada gelişi güzel dağılan ve hepatositleri değişen şiddette tutan keskin kenarlı, berrak, mikroveziküler tipte vakuoller görüldü (Resim 3-4)



Resim 3-4: Hipotiroidi modeli oluşturulan ratlarda, H&E boyamada X20 ile mikroveziküler tipte vakuol

Bu vakuollerin Oil red boyama sonucu yağ vakuolleri olduğu belirlendi.(Resim 5-6)Yağ vakuolleri biriktiren hepatositlerin çekirdekleri normal görünümde ve yerleşiminde idi. Bununla birlikte, remark kordonlarının yapısının bozulması ve hafif şiddette parankim dejenerasyonu görülen diğer değişikliklerdi.



Resim 5-6: Oil red boyama, X20 ile hipotiroidi modeli oluşturulan ratlarda yağ vakuolleri

Kontrol grubundaki ratların karaciğerinde, Oil red boyamada güçlükle seçilebilen, gelişmiş güzel dağılan tek tük mikroveziküler yağ vakuollerine rastlandı. Hem hipotiroidi grubunda hem de kontrol grubunda portal yerleşimli hafif şiddette lenfositler ve makrofajlardan oluşan mononükleer hücre birikimlerine rastlandı.

Hem hipotiroidi hem de kontrol grubundaki ratların kalplerinde herhangi bir histopatolojik değişikliğe ve ateroskleroza rastlanmadı.

4.3.3. Mikroskopik Epikardiyal Yağ Dokusu Değerlendirmesi

Epikardiyal yağ dokusunun değerlendirilmesinde, epikardiyal yağ dokusu kalınlığı hipotiroidi oluşturulan grupta 42127 ± 22808 mikron², kontrol grubunda ise 34928 ± 11986 mikron² olup her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

5. TARTIŞMA

Tiroid hormonları, vücut ağırlığı ve adipogenez, enerji homeostazisi, karbonhidrat ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır.(198,199) Bu nedenle tiroid hormonlarının NASH ve NAYKH patogenezinde rolü olabileceği tahmin edilmektedir. (7) Hipotiroidizmin klinik çalışmalarında, metabolik sendrom, obezite ve lipid metabolizması bozukluğu ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. (13,14) Ancak literatür taramasında hipotiroidizm ile NAYKH / NASH rolü ile ilgili çalışmalarda karşıt sonuçlar mevcuttur. (29-31)

EshraghianA. ve ark.'nın(7) tiroid disfonksiyonu ve NASH/NAYKH arasındaki ilişki ile ilgili çalışmaların derlendiği makalesinde, NASH/NAYKH olan hastalarda subklinikhipotiroidizmin ve hipotiroidizmin yaygın görüldüğü, bazı çalışmalarda hipotiroidizmin NASH/NAYKH için bağımsız bir risk faktörü olduğu, ancak buna karşın son dönemdeki bazı çalışmalarda ise herhangi bir ilişkinin olmadığı vurgulanmıştır. Bu nedenle NASH ve hipotiroidizm arasındaki ilişkiyi aydınlatacak yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır.

Liangpunsakul S. ve ark.'nın (200) çalışmasında karaciğer biyopsisi ile tanı almış 174 NASH tanılı hasta çalışmaya alınmış. NASH'lı hastaların %15'inde, kontrol grubunun ise %7.2'sinde hipotiroidizm saptanmış. NASH'lı hastalarda hipotiroidi prevalansının kontrol grubuna göre daha sık görüldüğü öne sürülmüştür.

Silveira ve ark.'nın (201) çalışmasında da primer bilier sirozlu hastalarda tiroid disfonksiyonu sıklığı %13, primer sklerozan kolanjitli hastalarda %11, NAYKH olan hastalarda %25 oranında görülürken, NAYKH olan hastaların %20'sinde hipotiroidizm saptanmıştır.

Pagadala ve ark.'nın (202) yaptığı kesitsel çalışmada, karaciğer biyopsisi ile NASH/NAYKH tanısı konulmuş hastaların %21'inde, NASH olmayan NAYKH tanılı hastaların %25'inde ve sağlıklı kontrol grubunun ise %12.8'inde hipotiroidizm saptanmıştır. NAYKH tanılı hastalarda kontrol grubuyla karşılaştırıldığında hipotiroidizmin prevalansının yüksek olduğu öne sürülmüştür.

Parikh P. ve ark.'nın (203) Batı Hindistan'daki hastalarda yaptığı çalışmasında da USG ile NAYKH saptanan hastaların %16.8'inde hipotiroidizm saptanmış ve kontrol grubuna

göre anlamlı yüksek görüldüğü gösterilmiştir. Hipotiroidizmin, NAYKH için bilinen risk faktörlerinden bağımsız bir risk faktörü olduğu vurgulanmıştır.

Mazo DF ve ark.'nın (204) çalışmasında NAYKH tanılı hastalarda hipotiroidizm prevalansı %15.5 olarak bulunmuştur. NASH'lı hastalarda hipotiroidi %15.7, steatozisli hastalarda %15.2 saptanmıştır.

Carulli L. ve ark.'nın (30) çalışmasında da karaciğer biyopsisi ile 69 hastada NAYKH, 44 hastada NASH, 25 hastada steatozis saptanmış. NASH'lı hastalar steatozisli hastalarla karşılaştırıldığında TSH seviyesi anlamlı olarak daha yüksek saptanmış, TSH seviyesinin NASH için bağımsız pozitif bir risk faktörü olabileceği vurgulanmıştır.

Chung GE. ve ark.'nın (205) çalışmasında hipotiroidili hastalar sağlıklı kontrol grubu ile ultrasonografik olarak NASH/NAYKH açısından araştırılmış. Hipotiroidili grubun %30.2'sinde, kontrol grubunun ise %19.5'inde NAYKH saptanmış. İki grup arasında anlamlı farklılık saptanmış.

Xu L. ve ark.'nın (206) çalışmasında, 63 subklinik hipotiroidili hasta ile 35 ötiroid sağlıklı kontrol grubu ortalama 4.92 yıl süre ile NAYKH gelişimi açısından izlenmiş. Subklinik hipotiroidili bireylerde NAYKH gelişim insidansı ötiroid bireylere göre anlamlı derecede artmış bulunmuştur.

Ancak bu çalışmaların aksine, hipotiroidizm ve NASH/NAYKH arasında ilişki olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Ittermann T.ve ark.'nın (34) çalışmasında hepatosteatozis ile hipotiroidizm arasında bir ilişki saptanmamıştır. Hepatosteatozis ile TSH ve sT3 konsantrasyonları arasında bir ilişki saptanmazken düşük sT4 konsantrasyonu arasında ilişki gösterilmiştir.

Eshraghian A. ve ark.'nın (31) çalışmasında da NAYKH ile tiroid disfonksiyonu arasında korelasyon saptanmamıştır. NAYKH olan ve olmayanlar arasında TSH, sT4 ve sT3 arasında istatistiksel farklılık saptanmamıştır.

Literatür taramamızda hipotiroidili hastalarda karaciğer biyopsisi ile hepatosteatoz, NASH, NAYKH gelişimini değerlendiren çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda, hipotiroidinin hepatosteatoz, NASH, NAYKH gelişimine neden olup olmadığını

histopatolojik olarak değerlendirdik. İnsanlarda hipotiroidili hastalarda karaciğer biyopsisi ile değerlendirmek invaziv bir işlem olacağı için çalışmamız hayvan modelinde çalışılmıştır.

Çalışmamızda, hipotiroidi modeli geliştirilen ratların tümünde hafif hepatosteatozis saptadık. Sağlıklı kontrol grubunu oluşturan ratların karaciğerinde görülen gelişigüzel dağılan tek tük yağ vakuolleri ise normal olarak rat karaciğerinde bulunabilmektedir. (207) Hipotiroidi modeli geliştirilen gruptaki ratların karaciğerinde etkilenen hepatosit sayısı ve yağ vakuollerinin birikiminin şiddeti göz önünde bulundurulduğunda, hipotiroidinin karaciğerde yağlı değişikliğe neden olduğunu göstermektedir. Hem hipotiroidi modeli oluşturulan grupta hem de kontrol grubunda portal alanda yerleşen hafif şiddetli mononükleer hücre birikimleri, rat karaciğerlerinde rastlanabilen önemi bilinmeyen değişikliklerdendir. (208)

Karaciğer yağlanması, karaciğerde yağlanma görülen bütün durumları kapsayan genel bir kavram olarak düşünülmektedir. (35) NAYKH, alkol dışı nedenlere bağlı olarak meydana gelen karaciğer yağlanmalarını tanımlar. NAYKH için hepatik steatozun görüntüleme yöntemleri ile ya da histolojik olarak kanıtlanması gereklidir. (75) NAYKH basit komplikasyonsuz yağlanmadan steatohepatit, ilerlemiş fibroz ve siroza kadar yayılan geniş bir karaciğer hasarı spektrumunu içerir. Steatozda ise karaciğerde yağlanma görülmekte, fakat iltihabi infiltrasyon bulunmamaktadır. (77) Bizim hipotiroidi modeli uygulanan ratların karaciğerinde hafif steatozis tablosu görüldü. HE boyamada gelişi güzel dağılan ve hepatositleri değişen şiddette tutan keskin kenarlı, berrak, mikroveziküler tipte vakuoller görüldü. Normal sağlıklı rat grubunda hepatosteatozis saptanmadı.

NASH tanımlanması için tam bir histolojik kriter henüz tanımlanmamıştır. NASH patolojik sınıflandırma konusunda fikir birliğine ulaşmak için, Pathology Committee of the National Institutes of Health NASH 14 histolojik özelliği içeren bir skrolama sistemi önermiştir. (209,210)

Ancak şimdiye kadar, NAYKH veya NASH için bir skrolama sistemi yaygın olarak kabul edilmiş değildir. Brunt'un (211) nerdiği skrolama sistemi genel olarak kullanılmaktadır. (104) Bizim alışmamızda hipotiroidi modeli oluşturulan grupta Brunt'un önerdiği skrolama sistemine göre skor 3 olarak saptandı.

Farklı bir yaklaşım Matteoni ve ark.'nın (159) yapmış olduğu sınıflandırmadır. Bu araştırmacılar NAYKH histopatolojik bulguları temelinde 4 tipe ayırmışlardır.

Tip I: Sadece yağlanma bulunup iltihabi infiltrasyon görülmeyenler

Tip II: Yağlanma + lobular iltihabi infiltrasyon

Tip III: Yağlanma + hepatositlerde balonlaşma

Tip IV: Yağlanma + hepatositlerde balonlaşma + fibrozis veya Mallory cisimcikleri

Bizim çalışmamızda hipotiroidi modeli oluşturulan grupta Matteoni ve ark.'nın (159) sınıflandırmasına göre Tip II NAYKH görüldü.

NAYKH başlangıcı hepatositlerde trigliserid birikimi şeklinde olmaktadır. Bununla birlikte çok farklı nedenlerle oluşabilen karaciğer yağlanmasının tek ve basit bir patogenetik süreç içerisinde açıklanması olanaklı değildir. İnsülin direnci, sitokin regülasyonundaki anormallikler, oksidatif stres, mitokondrial disfonksiyon gibi faktörlerin hastalığın gelişiminden sorumlu olabildiği düşünülmektedir. (212)

Hipotiroidi ile NAYKH arasındaki ilişkinin mekanizmasının açıklanmasında birçok faktörün etkili olduğunu düşünmekteyiz. Bu faktörlerden biri olan obezite, NAYKH ile sıklıkla birlikte görülen bir durumdur. Morbid obez hastalarda NAYKH sıklığı %90'lara yükselmekte ve ilerlemiş hastalık (NASH gibi) %9-40 arasında görülmektedir. VKİ ile yağlanmanın derecesi ve karaciğer hasarı arasındaki ilişki çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. (213-215) Bariatrik cerrahi geçirecek obez kohortlarda, steatohepatitis biyopsi ile prevalansının %37 ile % 91 kadar yüksek olabileceği vurgulanmıştır. (216)

Hipotiroidi ile NAYKH arasındaki ilişkiyi destekleyen çalışmalarda, bu ilişkinin hipotiroidiye bağlı obezite gelişmesi ile ilgili olabileceği vurgulanmıştır. (217,218)

Eshraghian A. ve ark.'nın (31) çalışmasında, santrol obezite ile NAYKH arasında ilişki saptanmıştır. Ancak hipotiroidi ile NAYKH arası ilişki saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda hipotiroidi modeli oluşturulan grupta Lee indeksine göre tüm ratlarda obezite geliştiği gözlemlendi. Sağlıklı kontrol grubunda ise sadece birratda obezite görüldü. Her iki grup arasında obezite görülmesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Hipotiroidi ile NAYKH arasındaki ilişkinin gelişiminde obezitenin önemli etkileyicilerden biri olduğunu düşünmekteyiz.

Hipotiroidizm, hiperlipideminin sekonder nedenleri arasında yer almaktadır. (219) Tiroid hormonları karaciğerde eksprese edilen tiroid hormon reseptör β aracılığıyla lipid metabolizması üzerindeki etkilerine neden olmaktadır. (220) Aynı zamanda hipotiroidizm hepatik lipoprotein lipaz aktivitesini azaltarak artmış serum trigliserit düzeylerine sebep olabilmektedir. (221) Çeşitli çalışmalarda subklinik hipotiroidili hastalarda LDL kolesterol seviyesinde artış gösterilmiştir. (14,40,222)

Fabbrini E. ve ark.'nın (223) çalışmasında da plazma VLDL ve trigliserid konsantrasyonları subklinik hipotiroidili hastalarda ötiroid hastalara göre yüksek saptanmıştır. Farklı çalışmalarda trigliserid seviyeleri ile sT4 seviyesi arasında negatif korelasyon gösterilmiştir. (224,225)

Hipertigliseridemi, NAYKH gelişimini artıran bir neden olarak bilinmektedir. (226,227) NAYKH/NASH tanılı hastalarda lipid profilinde LDL kolesterol ve trigliserid seviyelerinde önemli artış görülmektedir. (228)

Cable EE. ve ark.'nın (229) hepatosteatoz modeli geliştirdikleri hayvan çalışmasında, karaciğer hedefli tiroid hormon reseptör agonisti verilmiş. Çalışmada NASH ile hiperlipidemisi birlikte olanlarda karaciğer hedefli tiroid hormon reseptör agonisti kullanımının LDL kolesterolü düşürdüğü ve terapötik yararlı ek etkiler sağlayabildiği gösterilmiştir.

Bizim çalışmamızda hipotiroidi modeli oluşturulan grubun LDL düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. Serum trigliserid ve High Density Lipoprotein; Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) düzeyleri açısından fark bulunmamaktaydı. Lipid profilindeki bu değişikliğin hipotiroidi modeli oluşturulan grupta NAYKH gelişimini desteklediğini düşünmekteyiz.

NAYKH hastalarının çoğunda insülin direnci görülmekte ve genellikle DM tabloya eşlik etmektedir. (110) Liangpunsakul S. ve ark.'nın (200) çalışmasında NAYKH görülen hastaların %38.5'inde DM saptanmıştır. Pagadala MR. ve ark.'nın (202) çalışmasında da NAYKH görülen hastaların %42.7'sinde DM görülmüş olup kontrol gruba göre belirgin yüksek saptanmıştır.

Hipotiroidizmde insülin direnci görülebileceği, hipotiroidinin tedavisi ile insülin direncinin azalabileceği bildirilmiştir. (230) Smithson MJ. (231) çalışmasında diyabetli hastalarda topluma göre hipotiroidinin daha sık görüldüğünü saptamıştır. Gronich N.ve ark.'nın (232) çalışmasında hipotiroidizm DM için bir risk faktörü olarak belirtilmiştir. Hipotiroidinin belirlenmesi ve tedavi edilmesi ile DM riskinin azalacağı vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda hipotiroidi modeli oluşturan grupta ortalama açlık plazma glukozu 126.25 ± 23.4 mg/dl, kontrol grubunda ise 102.63 ± 15.51 mg/dl olup iki grup arasında istatistiksel olarak belirgin farklılık saptandı ($p=0.032$). Bulgularımız hipotiroidinin diyabet riskini artırdığı görüşünü desteklemekteydi. Hipotiroidizm modeli oluşturulan grupta hipergliseminin kontrol grubuna göre belirgin olması NAYKH gelişmesini destekleyen bulgulardan biri olduğu düşünüldü.

NAYKH patogeneğinde adipokinlerin rolü daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. (233,234) Bir adipokin olan Visfatin, aynı zamanda plazma seviyeleri obezite, visseral yağ, Tip 2 DM ve metabolik sendrom ile ilişkili bir hormondur. (235) Obezitede, Tip 2 DM'da ve metabolik sendromda hastalarda visfatin düzeyi yüksek bulunmuştur. (236,237)

NAYKH ve visfatin düzeyi arasında sınırlı sayıda veri bulunmaktadır. NASH'lı hastalarda NAYKH tanılı hastalara göre visfatin düzeyi daha düşük saptanmıştır. (234,238)

Çeşitli çalışmalar hipotiroidi ve NAYKH arasındaki mekanizmayı adipokinler ile açıklamaya çalışmıştır. Bu çalışmalardan bazılarında adipokinler ve hipotiroidi arasında ilişki saptanmamıştır. (239,240) Visfatin ile hipotiroidizm arasındaki ilişki hakkında karışık görüşler mevcuttur. Bir çalışmada TSH seviyesi ve visfatin düzeyi arasında pozitif korelasyon, sT3, sT4 ve visfatin düzeyi arasında negatif korelasyon saptanmıştır. (241) Başka bir çalışmada ise visfatin düzeyi hem hipertiroidi hem hipotiroidili olgularda kontrol grubuna göre yüksek saptanmış ve tedavi sonrası visfatin seviyelerinde artış izlenmiştir. (242) Tiroid hormonlarının visfatin regülasyonundaki rolü ile ilgili dekarşık görüşlü çalışmalar mevcuttur. (243,244)

Özkaya M. ve ark.'nın (241) çalışmasında adipositokinlerin üretimi ve salınımı üzerindeki tiroid disfonksiyonu etkisi hala tam anlaşılmamış olsa da, çeşitli metabolik parametreler üzerinde hipotiroidi etkilerinin kısmen visfatin aracılı olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Bizim çalışmamızda iki grup arasında visfatin düzeyleri açısından fark bulunmamaktaydı. Çalışmamız, hipotiroidiye bağlı NAYKH gelişiminde visfatinin rolü olmadığı görüşünü desteklemektedir.

Hipotiroidi ve kardiyovasküler hastalık arasındaki ilişkiyi inceleyen pek çok çalışma mevcuttur. Ancak, hipotiroidinin aterosklerotik kalp hastalığı riskinin araştırıldığı çalışmalarda farklı karşıt görüşler mevcuttur. (245,246-250)

Cappola ve ark.'nın (245) çalışmasında aşikar hipotiroidi ve subklinik hipotiroidili hastalarda ötiroid kontrole göre kardiyovasküler hastalık ve mortalite açısından bir artış olmadığı öne sürülmüştür. Farklı çalışmalarda hipotiroidizm, erken ateroskleroz ve kalp-damar hastalığı ile ilişkili bulunmuştur. Rotterdam Çalışması subklinik hipotiroidinin yaşlı kadınlarda ateroskleroz ve miyokard enfarktüsü riskinin güçlü bir göstergesi olduğunu göstermiştir. (247)

Gao ve ark.'nın (251) subklinik hipotiroidi modeli oluşturdukları hayvan çalışmasında, subklinik hipotiroidili ratların arterlerinde histopatolojik olarak patolojik değişiklik saptanmamıştır. Bizim çalışmamızda da hipotiroidi modeli geliştirilen ratlarda kalpte ve arterlerinde histopatolojik olarak herhangi bir patoloji saptanmadı.

Yağ dokusu aktif bir endokrin organdır. Ayrıca ateroskleroz gelişiminde katılan adipokinler olarak bilinen birçok inflamatuvar mediatörleri ve sitokinleri salgılamaktadır. (252)

Viseral yağ dokusu kardiyovasküler olaylar ve metabolik durumlar için önemli bir risk göstergesi olarak kabul edilmektedir. (253) Epikardiyal yağ dokusu bir visceral yağ türüdür. (19) Son dönemlerde artan kanıtlar çeşitli inflamatuvar adipokinleri üreterek KAH gelişiminde ve patogenezinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir. (37) Epikardiyal yağ kalınlığı artışı, önemli ölçüde bilinen KAH olan hastalarda KAH şiddeti ile korelasyon göstermektedir. (254) Altta yatan KAH varlığı ve şiddeti ile otopsi sırasında ölçülen EYD kalınlığı korele saptanmıştır. (39)

Son dönemlerde subklinik ve aşikar hipotiroidili hastalarda ekokardiyografik olarak EYD kalınlığı ile ilgili karşıt görüşlü çalışmalar mevcuttur. (40,255,256) Ünübol ve ark.'nın (40) çalışmasında subklinik hipotiroidili hastalarda EYD kalınlığı artmış olarak saptanmıştır.

Santos OC ve ark.'nın (41) çalışmasında ise subklinik hipotiroidi ile EYD kalınlığı arasında bir ilişki saptanmamıştır.

Literatür taramamızda hipotiroidizm ile EYD arasındaki ilişkiyi değerlendiren histopatolojik bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda hipotiroidi modeli oluşturulan ratlarda histopatolojik olarak EYD kalınlığında kontrole göre istatistiksel bir farklılık saptanmadı. Çalışmamızda hipotiroidi modeli oluşturulan ratlarda histopatolojik olarak aterosklerozun görülmemesi ile EYD kalınlık artışının olmaması sonuçların paralelik gösterdiğini düşündürmekteydi.

Sonuç olarak, hipotiroidi modeli oluşturulan ratlarda kontrol grubunda farklı olarak histopatolojik olarak hafif hepatosteatozis görüldüğünü saptadık. Çalışmamız hipotiroidinin NAYKH'na neden olabileceğini düşündürmektedir. Hipotiroidi ile aterosklerozun histopatolojik bulguları ve EYD kalınlığı arasında bir ilişki saptamadık.

6. SONUÇLAR

Hipotiroidi modeli oluşturulan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede TSH değeri yüksek, sT4 ve sT3 değeri düşük saptandı.

Hipotiroidi modeli oluşturulan grupta histopatolojik olarak hafif hepatosteatozis saptanmıştır. Kontrol grubuna göre AST ve ALT değerleri istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır. Bulgularımız hipotiroidinin NAYKH'na neden olabileceğini düşündürmektedir.

Hipotiroidi modeli oluşturulan grubun tamamında Lee indeksine göre obezite gelişmiştir ve kontrol grubuna göre belirgin farklılık saptanmıştır. Hipotiroidinin obeziteye neden olmasının NAYKH gelişimini desteklediğini düşünmekteyiz.

Hipotiroidi modeli oluşturulan grubun LDL düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptandı. Hipotiroidi hiperlipidemi gelişimine neden olmaktadır. Bu durumun NAYKH gelişimini desteklediğini düşündürmektedir.

Hipotiroidi modeli oluşturan grupta ortalama açlık plazma glukozu 126.25 ± 23.4 mg/dl, kontrol grubunda ise 102.63 ± 15.51 mg/dl olup iki grup arasında istatistiksel olarak belirgin farklılık saptandı. Hipotiroidi hiperglisemi ve diyabet gelişimini tetiklemektedir.

Hipotiroidi ile visfatin düzeyi arasında bir ilişki saptanmamıştır. Hipotiroidiye bağlı gelişen NAYKH'nın mekanizmasında visfatinin rolü olmadığını düşünmekteyiz.

Hipotiroidi modeli oluşturan grupta ateroskerozun histopatolojik bulguları ile EYD kalınlık artışı saptanmamıştır. Çalışmamızda, hipotiroidi ile ateroskleroz ve EYD kalınlığı arasında ilişki saptanmamıştır.

7. ÖZET

Amaç: Hipotiroidizmin, metabolik sendrom, obezite ve hiperlipidemi ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Bu nedenle tiroid hormonlarının NAYKH ve ateroskleroz patogenezinde rolü olabileceği tahmin edilmektedir. EYD bir viseral yağ türüdür. EYD kalınlık artışının KAH gelişiminde ve patogenezinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Ancak literatür taramasında hipotiroidizm ile NAYKH, ateroskleroz ve EYD kalınlık artışı arasındaki ilişkiyi değerlendiren çalışmalarda çelişkili sonuçlar mevcuttur. Çalışmamızda, hipotiroidi modeli geliştirilen ratlarda, histopatolojik olarak NAYKH, ateroskleroz ve EYD kalınlığının değerlendirilmesi amaçlandı.

Yöntem: 16 adet Wistar Albino cinsi erişkin erkek rat kullanıldı. Hipotiroidizm oluşturulan grup (n=8), 12 hafta boyunca içme suyuna 0.025% metimazol (MMI; Sigma, USA) verilerek oluşturuldu. 12 haftanın sonunda Lee indeksi ile obezite değerlendirmesi yapıldı. Sekiz saat açlık sonrasianestezi altında sistemik dolaşımdan kan alınarak servikal dislokasyon yapıldı. Plazma glikoz, ALT, AST, LDL, HDL, trigliserid, TSH, sT4, sT3, visfatin düzeyleri çalışıldı. Kalp ve karaciğerin histopatolojik incelemesi amacıyla kesitler hematoksilen-eozin ve ardından “Oil Red-O” ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 17.0 kullanılarak değerlendirildi. p değeri <0.05 olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Çalışma sonunda hipotiroidi oluşturulan grubun tamamında hafif hepatosteatozis saptandı. Histopatolojik olarak ateroskleroz bulgusu ve EYD kalınlık artışı saptanmadı. Hipotiroidi oluşturulan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde, sT4 ve sT3 düşük, TSH, AST, ALT, açlık glikoz, LDL yüksek saptandı. Visfatin düzeyi her iki grupta benzerdi.

Sonuç: Sonuç olarak, hipotiroidi modeli oluşturulan ratlarda kontrol grubundan farklı olarak histopatolojik olarak hafif hepatosteatozis görüldüğünü saptadık. Çalışmamız hipotiroidinin NAYKH’na neden olabileceğini düşündürmektedir. Hipotiroidi ile aterosklerozun histopatolojik bulguları ve EYD kalınlığı arasında bir ilişki saptamadık

Anahtar Kelimeler: Hipotiroidi, yağlı karaciğer, epikardiyal yağ dokusu, visfatin, ateroskleroz

8.SUMMARY

EVALUATION OF NON-ALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE DEVELOPMENT AND EPICARDIAL ADIPOSE TISSUE IN RATS WITH INDUCED HYPOTHYROIDISM

Purpose: It had been shown that Hypothyroidism can be associated with metabolic syndrome, obesity and hyperlipidemia. Therefore, it is estimated that NAFLD (Nonalcoholic fatty liver disease) may play a role in the pathogenesis of atherosclerosis and thyroid hormones. EAD (epicardial adipose tissue) is a kind of visceral fat. EAD thickness increase is known to play an important role in the pathogenesis and development of CAD (Coronary Artery Disease). However, during the literature screening there some opposite results that evaluate the association between NAFLD with hypothyroidism, and atherosclerosis with EAD thickness increase is available In our study, hypothyroidism developed model in rats, NAFLD histopathology, aimed to evaluate the thickness of atherosclerosis and EAD.

Method: 16 adult male Wistar albino rats were used. Hypothyroidism created group was created by giving methimazole (n = 8), 0.025% in drinking water for 12 weeks (MMI; Sigma, USA).After 12 weeks Obesity evaluation was performed with Lee index. After eight hour fasting, cervical dislocation was performed by taking venous blood from the systemic circulation under anesthesia. Plasma glucose, ALT, AST, LDL, HDL, triglycerides, TSH, FT4, FT3 and visfatin levels were studied. In order to histopathological examination of the heart and liver,the fractions were stained with hematoxylin-eosin and then "Oil Red-O" and were examined by light microscope.The data obtained from this study were analyzed using SPSS 17.0.When p value of <0.05 was considered statistically significant.

Symptoms: At the end of the study, mild hepatosteatosis mild was found in the all hypothyroidism created group. As histopathologically atherosclerosis finding and EAD(epicardial adipose tissue) increase were not detected. The group that was formed hypothyroidism, compared with the control group, a statistically significant level, low FT4 and FT3, TSH, ALT, AST, fasting glucose, LDL were detected high. Visfatin levels were similar in the two groups.

Result: As a result, on the rats that were created hypothyroid model, we found that mild hepatosteatosis was seen histologically, different from the control group.Our study causes us to think hypothyroidism causes to NAFLD. We did not observe an association between Hypothyroidis, histopathological findings of atherosclerosis and EAD.

Key Words: Hypothyroidi, hepatosteatosis, epicardial adipose tissue, visfatin, atherosclerosis

KAYNAKLAR

1. Şen H, Dönderici Ö, Cengiz O, Cansaran S, Türker İ. Dislipidemili hastalarda subklinik hipotiroidi sıklığı. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2007; 27: 344-9.
2. Friis T, Pedersen LR. Serum lipids in hyper and hypothyroidism before and after treatment. *Clin Chim Acta* 1997; 162: 155-63.
3. Ness GC, Dugan RE, Lakshmanan MR, Nepokroeff CM, Porter JW. Stimulation of hepatic β hydroxymethyl glutaryl Coenzyme A reductase activity in hypophysectomized rats by L-triiodothyronine. *Proc Nat Acad Sci* 1993; 70: 839-42.
4. Salter AM, Hayashi R, al-Seeni M, Brown NF, Bruce J, Sorensen O, et al. Effects of hypothyroidism and high-fat feeding on mRNA concentrations for the low-density-lipoprotein receptor and on acyl-CoA: cholesterol acyltransferase activities in rat liver. *Biochemical Journal* 1991; 276: 825-32.
5. Liu XQ, Rahman A, Bagdade JD, Alaupovic P, Kannan CR. Effect of thyroid hormone on plasma apolipoproteins and apoA- and apoB-containing lipoprotein particles. *European Journal of Clinical Investigation* 1998;28: 266-70.
6. Cordeiro A, Souza LL, Einicker-Lamas M, Pazos-Moura CC. Non-classic thyroid hormone signalling involved in hepatic lipid metabolism. *J Endocrinol* 2013; 25: 47–57.
7. Eshraghian A, Hamidian Jahromi A. Non-alcoholic fatty liver disease and thyroid dysfunction: a systematic review. *World J Gastroenterol* 2014;20: 8102-9.
8. Dullaart RPF, van den Berg EH, van der Klauw MM, Blokzijl H. Low normal thyroid function attenuates serum alanine aminotransferase elevations in the context of metabolic syndrome and insulin resistance in white people. *Clin Biochem* 2014;47: 1028-32.
9. Loomba R, Sanyal AJ. The global NAFLD epidemic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013;10: 686-90.
10. Clark JM. The epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease in adults. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 5–10.
11. Erickson SK. Nonalcoholic fatty liver disease. *J Lipid Res* 2009;50: 412–16.

12. Pagano G, Pacini G, Musso G, Gambino R, Mecca F, Depetris N et al. Nonalcoholic steatohepatitis, insulin resistance, and metabolic syndrome: further evidence for an etiologic association. *Hepatology* 2002;35: 367-72.
13. Tzotzas T, Krassas GE, Konstantinidis T et al. Changes in lipoprotein(a) levels in overt and subclinical hypothyroidism before and during treatment. *Thyroid*.2000; 10: 803-8.
14. Efstathiadou Z, Bitsis S, Milionis HJ, Kukuvtis A, Bairaktari ET, Elisaf MS, et al. Lipid profile in subclinical hypothyroidism: is L-thyroxine substitution beneficial? *Eur J Endocrinol*.2001; 145: 705-10.
15. Cappola AR, Ladenson PW. Hypothyroidism and atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2438- 44.
16. Mitu F, Cojocaru E, Tamba B, Leon MM. Prevalence of cardiovascular diseases in patients with hypothyroidism. *Rev Med Chir Soc Med Nat* 2012; 116: 413-18.
17. Asik M, Sahin S, Ozkul F, Anaforoglu I, Ayhan S, Karagol S, et al. Evaluation of Epicardial Fat Tissue Thickness in Patients with Hashimoto Thyroiditis. *Clin Endocrinol* 2013; 79: 571-76.
18. Hak AE, Pols HA, Visser TJ, Drexhage HA, Hofman A, Witteman JC. Subclinical hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: the Rotterdam Study. *Annals of Internal Medicine* 2000;15: 270-78.
19. Iacobellis G, Corradi D, Sharma AM. Epicardial adipose tissue: anatomic, biomolecular and clinical relationships with the heart. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2005;2: 536-43.
20. Sacks HS, Fain JN. Human epicardial adipose tissue: a review. *Am Heart J* 2007;153: 907-17.
21. Iacobellis G, Bianco AC. Epicardial adipose tissue: emerging physiological, pathophysiological and clinical features. *Trends Endocrinol Metab* 2011;22: 450-57.
22. Ahn SG, Lim HS, Joe DY, Kang SJ, Choi BJ, Choi SY, et al. Relationship of epicardial adipose tissue by echocardiography to coronary artery disease. *Heart* 2008; 94:7.

23. Eroglu S, Sade LE, Yildirim A, Bal U, Ozbicer S, Ozgul AS, et al. Epicardial adipose tissue thickness by echocardiography is a marker for the presence and severity of coronary artery disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009;19: 211-7.
24. Iacobellis G, Ribaudo MC, Assael F, Vecci E, Tiberti C, Zappaterreno A, et al. Echocardiographic epicardial adipose tissue is related to anthropometric and clinical parameters of metabolic syndrome: a new indicator of cardiovascular risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88: 5163-8.
25. Iacobellis G, Leonetti F. Epicardial adipose tissue and insulin resistance in obese subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90: 6300-2.
26. Eroğlu S, Sade LE, Yıldırım A, Demir O, Müderrisoğlu H. Association of epicardial adipose tissue thickness by echocardiography and hypertension. *Türk Kardiyol Dern Ars* 2013;41: 115-22.
27. Dicker D, Atar E, Kornowski R, Bachar GN. Increased epicardial adipose tissue thickness as a predictor for hypertension: a cross-sectional observational study. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2013;15: 893-8.
28. Iozzo P. Myocardial, perivascular, and epicardial fat. *Diabetes Care* 2011;34: 371-9.
29. Zhang J, Sun H, Chen L, Zheng J, Hu X, Wang S et al. Relationship between serum TSH level with obesity and NAFLD in euthyroid subjects. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2012;32: 47-52.
30. Carulli L, Ballestri S, Lonardo A, Lami F, Violi E, Losi L et al. Is nonalcoholic steatohepatitis associated with a high-though-normal thyroid stimulating hormone level and lower cholesterol levels? *Intern Emerg Med* 2013;8: 297-305.
31. Eshraghian A, Dabbaghmanesh MH, Eshraghian H, Fattahi MR, Omrani GR. Nonalcoholic fatty liver disease in a cluster of Iranian population: thyroid status and metabolic risk factors. *Arch Iran Med* 2013;16: 584-89.
32. Xu C, Xu L, Yu C, Miao M, Li Y. Association between thyroid function and nonalcoholic fatty liver disease in euthyroid elderly Chinese. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011;75: 240-6.

33. Tao Y, Gu H, Wu J, Sui J. Thyroid function is associated with non-alcoholic fatty liver disease in euthyroid subjects. *Endocr Res* 2014; 20: 1-5.
34. Ittermann T, Haring R, Wallaschofski H, Baumeister SE, Nauck M, Dörr M et al. Inverse association between serum free thyroxine levels and hepatic steatosis: results from the Study of Health in Pomerania. *Thyroid* 2012;22: 568-74.
35. Sonsuz A, Baysal B. Karaciğer Yağlanması ve Non Alkolik Steatohepatit. *Güncel Gastroenteroloji* 2011;15: 98-106.
36. Agarwal N, Sharma BC. Insulin resistance and clinical aspects of nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Hepatology Research* 2005; 33: 92-6.
37. Gao X, Mi S, Zhang F, Gong F, Lai Y, Gao F, et al. Association of chemerin mRNA expression in human epicardial adipose tissue with coronary atherosclerosis. *Cardiovasc Diabetol* 2011; 10: 87.
38. Yerramasu A, Dey D, Venuraju S, Anand DV, Atwal S, Corder R, et al. Increased volume of epicardial fat is an independent risk factor for accelerated progression of sub-clinical coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2012;220:223-30.
39. Silaghi A, Piercecchi-Marti MD, Grino M, Leonetti G, Alessi MC, Clement K, et al. Epicardial adipose tissue extent: relationship with age, body fat distribution, and coronaropathy. *Obesity* 2008;16: 2424-30.
40. Unubol M, Eryilmaz U, Guney E, Akgüllü C, Kurt Omurlu I. Epicardial adipose tissue in patients with subclinical hypothyroidism. *Minerva Endocrinol.* 2014;39: 135-40.
41. Santos OC, Silva NA, Vaisman M, Turano MD, Dytz MG, Huber GA, et al. Evaluation of epicardial fat tissue thickness as a marker of cardiovascular risk in patients with subclinical hypothyroidism. *J Endocrinol Invest.* 2015; 38: 421-27.
42. İliçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal S (eds). İç Hastalıkları 3. Baskı Ankara: Güneş Kitabevi, 2012; 1967-2024.

43. Goldman L, Ausiello D. Cecil Medicine. Ünal S (ed). 23.Baskı Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2011: 1698-1713.
44. Putman C, Ravin C, Gelfand R. Thyroid. In: Textbook Of Diagnostic Imaging. 2nd Ed. 1457-68.
45. Yüceer D. Tiroid Bezi Nodüllerine Ultrasonografi Eşliğinde Yapılan Core İğne Biyopsi Sonuçlarının Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Düzce: Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji Anabilim Dalı, 2009.
46. Coşkun Ü. Tiroid Bezi Patolojilerine Radyolojik Yaklaşım. Okmeydanı Tıp Dergisi 2012;8: 56-70.
47. Kumar P, Clark M. Clinical Medicine. Tabak F, Tabak Ö (eds). 1.Baskı İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2010: 1035-100.
48. Hilger AW, Thompson SD, Smallman LA, Watkinson JC. Papillary carcinoma arising in athyroglossal duct cyst: A case report and literature review. J Laryngol Otol, 1995;109:1124-7.
49. Livolsi VA. Developmental biology and anatomy of the thyroid, including the aberrant thyroid. In Surgical Pathology of the Thyroid. Philadelphia: WB Saunders; 1990; 22: 13.
50. Many MC, Denef JF, Haumont S, van den Hove-Vandenbroucke MF, Cornette C, Beckers C. Morphological and Functional changes during thyroid hyperplasia and involution in C3H effects of iodine and 3.5.3- triiodothyronine during involution. Endocrinology, 1985; 116: 798.
51. Vassard G, Dumont J. Identification of polysomes synthesizing thyroglobulin. eur J. Biochem. 1973; 32: 332.
52. Guyton AC, Hall J. Textbook of Medical Physiology 7th Edition, 2001: 1291-1301.
53. William F Ganong. Ganong Medical Physiology 16th Edition, 2002: 345-356.
54. Guyton A, Hall J. Tiroidin Metabolik Hormonları. Çavuşoğlu H (ed). 9. Baskı; Nobel, İstanbul. 1996; 945-56.

55. Glass C, Holloway J. Regulation of Gene Expression by The Thyroid Hormone Receptor. *Biochem Biophys Acta* 1990;1032:157-76.
56. Brent G, Moore D, Larsen P. Thyroid Hormone Regulation of Gene Expression. *Ann Rev Physiol* 1991;53: 17-35.
57. Pinto A, Glick M. Management of patients with thyroid disease. *JADA*, 2002; 133: 849-58.
58. Laurberg P, Andersen S, Bülow Pedersen I, Carlé A. Hypothyroidism in the elderly: pathophysiology, diagnosis and treatment. *Drugs Aging*. 2005;22: 23-38.
59. Hallengren B. Hypothyroidism clinical findings, diagnosis, therapy. Thyroid tests should be performed on broad indications. *Lakartidningen*. 1998; 16;95: 4091-6.
60. Jameson J.W. Tiroid Bezi Hastalıkları. A Braunwald E, Kasper DL (eds). *Harrison İç Hastalıkları Prensipleri*, 15. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri & Mcgraw-Hill Companies. İstanbul. 2004: 2061-69.
61. Dillmann W.H. The Thyroid. Goldman, Ausiello Cecil Text Book Of Medicine 22nd Edition, Saunders, Philadelphia, USA, 2004; 239: 1391-1408.
62. Sağlam F, Çakır B. Clinical Approach To Thyroid Diseases In Primary Health Care. *Ankara Medical Journal* 2012; 12: 136-39.
63. Mehta V, Savino JA. Surgical Managment of the Patient with A Thyroid Disorder. *Clin Geriatr Med*. 1995;11: 291-309.
64. Tagami T, Tamanaha T, Shimazu S, Honda K, Nanba K, Nomura H, et al. Lipid profiles in the untreated patients with Hashimoto thyroiditis and the effects of thyroxine treatment on subclinical hypothyroidism with Hashimoto thyroiditis. *Endocr J*. 2010;57: 253-8.
65. Li Y, Nishihara E, Kakudo K. Hashimoto's thyroiditis: old concepts and new insights. *Curr Opin Rheumatol*. 2011;23: 102-7.
66. Staii A, Mirocha S, Todorova-Koteva K, Glinberg S, Jaume JC. Hashimoto thyroiditis is more frequent than expected when diagnosed by cytology which uncovers a pre-clinical state. *Thyroid Res*. 2010; 3: 11.

67. Baretić M. 100 years of Hashimoto thyroiditis, still an intriguing disease. *Acta Med Croatica*. 2011;65: 453-7.
68. Isabela M Bensenor, Rodrigo D Olmos, Paulo A Lotufo. Hypothyroidism in the elderly: diagnosis and management. *Clinical Interventions in Aging* 2012; 7: 97-111.
69. Weetman AP. Hypothyroidism: Screening and Subclinical Disease. *BMJ*. 1997;314: 1175-78.
70. Roberts CG, Ladenson PW. Hypothyroidism. *Lancet*. 2004;363: 793–803.
71. Mazaffer EL. Evaluation and Management of Common Thyroid Disorders in Women. *Am J Obstet Gynecol*. 1997;176:507-514.
72. Liel Y, Sperber AD, Shany S. Nonspecific intestinal adsorption of levothyroxine by aluminum hydroxide. *Am J Med*. 1994;97: 363-5.
73. Sherman SI, Tielens ET, Ladenson PW. Sucralfate causes malabsorption of L-thyroxine. *Am J Med*. 1994;96: 531-5.
74. Campbell NRC, Hasinoff BB, Stalts H, Rao B, Wong NCW. Ferrous sulfate reduces thyroxine efficacy in patients with hypothyroidism. *Ann Intern Med* 1992; 117: 1010-13.
75. Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, et al. The Diagnosis and Management of Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. *Gastroenterology* 2012;142:1592-1609.
76. Becker U, Deis A, Sorenson TL. Prediction of risk of liver disease by alcohol intake, sex and age: a prospective population study. *Hepatology* 1996; 23: 1025-1029.
77. Angulo P, Lindor KD. Non-alcoholic fatty liver disease: Quadrennial review. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 186-190.
78. Anne B, Michael RL. Non alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and orthotopic liver transplantation. *American Journal of Transplantation* 2004; 4: 686-693.

79. Caldwell SH, Oelsner DH, Jezzani JC, Hespendheide EE, Battle EH, Driscoll CJ. Cryptogenic cirrhosis. Clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology* 1999; 29: 664-9.
80. Younossi ZM, Diehl AM, Ong JP. Nonalcoholic fatty liver disease: An agenda for clinical research. *Hepatology* 2002; 35: 746-52.
81. Suzuki A, Angulo P, Lymp J, St Sauver J, Muto A, Okada T, et al. Chronological development of elevated aminotransferases in a nonalcoholic population. *Hepatology*. 2005;41: 64-71.
82. Hwang ST, Cho YK, Yun JW, Park JH, Kim HJ, Park DI, et al. The metabolic syndrome as a predictor of non-alcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med* 2005; 143:722-8.
83. Whalley S, Puvanachandra P, Desai A, Kennedy H. Hepatology outpatient service provision in secondary care: a study of liver disease incidence and resource costs. *Clin Med*. 2007;7: 119-24.
84. Lee JY, Kim KM, Lee SG, Yu E, Lim YS, Lee HC, et al. Prevalence and risk factors of non-alcoholic fatty liver disease in potential living liver donors in Korea: a review of 589 consecutive liver biopsies in a single center. *J Hepatol*. 2007;47: 239-44.
85. Marcos A, Fischer RA, Ham JM, Olzinski AT, Shiffman ML, Sanyal AJ, et al. *Transplantation* 2000;69: 2410-15.
86. Amarapurkar D, Kamani P, Patel N, Gupte P, Kumar P, Agal S et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease: population based study. *Ann Hepatol* 2007; 6: 161-3.
87. Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011;34: 274-85.
88. Williams CD, Stenger J, Asike MI, Torres DM, Shaw J, Contreras M, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis among a largely middle-aged population utilizing ultrasound and liver biopsy: a prospective study. *Gastroenterology* 2011;140:124-131.

89. Adams LA, Angulo P, Lindor KD. Nonalcoholic fatty liver disease. CMAJ 2005; 172: 899-905.
90. Diehl AM. Nonalcoholic steatohepatitis. Semin Liver Dis. 1999; 19: 221-29.
91. Lee RG. Non alcholic steatohepatitis. A study of 49 patients. Hum Pathol 1989; 20: 594-8.
92. Silverman JF, Pories WJ, Caro JF. Liver pathology in diabetes mellitus and morbid obesity: clinical, pathological and biochemical considerations. Pathol Annu 1989; 24: 275-302.
93. Duman DG, Tözün N, Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı: karaciğerin en sık görülen hastalığı, Türk Aile Hek Derg 2004; 8: 9-13.
94. Arthur J, McCullough. Update on nonalcoholic fatty liver diseases. J Clin Gastroenterol 2002; 34: 255-62.
95. Chitturi S, Farrell GC. Etiopathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. Seminars in Liver Disease 2001; 21: 27-41.
96. Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology 2002; 122: 1649-57.
97. Ruhl CE, Everhart JE. The determinants of the association of overweight with elevated serum alanine aminotransferase activity. Gastroenterology 2003; 124: 71-79.
98. Yalçın M, Bengi G, Akarsu M. Non-Alkolik Steatohepatit. Güncel Gastroenteroloji 2014; 18: 232-43.
99. Cortez-Pinto H, Baptista A, Camilo M, De Moura M. Nonalcoholic steatohepatitis-a long-term follow-up study: Comparison with alcoholic hepatitis in ambulatory and hospitalized patients. Dig Dis Sci 2003; 48: 1909-13.
100. Zafrani E. Non-alcoholic fatty liver disease: An emerging pathological spectrum. Virchows Arch 2004; 444:3-12.
101. Gramlich T, Kleiner D, McCullough A. Pathologic features associated with fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. Hum Pathol 2004; 35: 196-9.

102. Ratzliff V, Giral P, Charlotte F. Liver fibrosis in overweight patients. *Gastroenterology* 2000; 118:1117-23.
103. Mofrad P, Contos MJ, Haque M. Clinical and histologic spectrum of nonalcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. *Hepatology* 2003; 37: 1286-92.
104. Elizabeth M. Brunt, MD. Nonalcoholic steatohepatitis: Pathologic features and differential diagnosis. *Semin Diagn Pathol* 2005; 22: 330-8.
105. Day CP, James OF. Steatohepatitis: A Tale of Two 'Hits' ? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-5.
106. Pachos P, Paletas K. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Metabolic Syndrome. *Hippokratia* 2009; 13: 9-19.
107. Mezey E, Shiff ER, Sorrell MF. Diseases of the Liver. *Lipincott- Raven* 1999; 8.th ed. Philadelphia: 185: 1204- 1326.
108. Neuschwander- Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic Steatohepatitis: Summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003; 37: 1202-19.
109. Harrison SA, Maj MC, Kadakia S, Lang KA, Schenker S. Nonalcoholic Steatohepatitis: What We Know in the New Millennium. *AJG* 2002; 97: 2714-24.
110. Stein LL, Dong MH, Loomba R. Insulin Sensitizers in Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Steatohepatitis: Current Status. *Adv Ther* 2009; 26: 893-907.
111. Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, et al. NASH and Insulin Resistance: Insulin Hypersecretion and Specific Association with the Insulin Resistance Syndrome. *Hepatology* 2002; 35: 373- 9.
112. AGA Technical Review on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 1705-25.
113. Yalçın S. Karaciğer Hastalıkları ve Hepatosteatoz. 'İç Hastalıkları' Büyükoztürk K (Editör). İstanbul: Nobel Yayıncılık, 1993: 811- 48.

114. Pessayre D, Mansouri A, Fromenty B. Nonalcoholic Steatosis and Steatohepatitis V. Mitochondrial Dysfunction in Steatohepatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 282: 193-9.
115. Kim JK, Fillmore JJ, Chen Y, Yu C, Moore IK, Pypaert M, et al. Tissue-specific Overexpression of Lipoprotein Lipase Causes Tissue-specific Insulin Resistance. *PNAS* 2001; 98: 7522-7.
116. Schmitz- Peiffer C. Signalling Aspects of Insulin Resistance in Skeletal Muscle: Mechanisms Induced by Lipid Oversupply. *Cellular Signalling* 2000; 12: 583-94.
117. Angulo P. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *N Engl J Med* 2002; 346: 1221-31.
118. Leclercq IA, Farrell GC, Field J, Bell DR, Gonzalez FJ, Robertson GR. Cyp2E1 and Cyp4A as Microsomal Catalysts of Lipid Peroxides in Murine Nonalcoholic Steatohepatitis. *J Clin Invest* 2000; 105: 1067-75.
119. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshah F, Rizzow B, Contos MJ, Sterling RK, et al. Nonalcoholic Steatohepatitis: Association of Insulin Resistance and Mitochondrial Abnormalities. *Gastroenterology* 2001; 120: 1183-92.
120. Seki S, Habu Y, Kawamura T, Takedo K, Dobashi H, Ohkawa T, et al. The Liver as Crucial Organ in the First Line of Host Defense: The Role of Kupffer Cells, Natural Killer (NK) Cells and NK1.1 Ag⁺ T Cells in T Helper 1 Immune Responses. *Immunol Reviews* 2000; 174: 35-46.
121. Kugelmas M, Hill DB, Vivian B, Marsano L, McClain CJ. Cytokines and NASH: A Pilot Study of the Effects of Lifestyle Modification and Vitamin E. *Hepatology* 2003; 38: 413-9.
122. Vuppalanchi R, Chalasani N. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Nonalcoholic Steatohepatitis: Selected Practical Issues in Their Evaluation and Management. *Hepatology* 2009; 49: 306-17.
123. Saxena NK, Ikeda K, Rockey DC, Friedman SL, Anania FA. Leptin in Hepatic Fibrosis: Evidence for Increased Collagen Production in Stellate Cells and Lean Littermates of ob/ob Mice. *Hepatology* 2002; 35: 762-72.

124. Paradis V, Perlemuter G, Bonvoust F, Dargere D, Parfait B, Vidaud M. High Glucose and Hyperinsulinemia Stimulate Connective Tissue Growth Factor Expression: A Potential Mechanism Involved in Progression to Fibrosis in Nonalcoholic Steatohepatitis. *Hepatology* 2001; 34: 738-44.
125. Angulo P, Keach JC, Batts KP, Lindor KD. Independent predictors of liver fibrosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 1999; 30: 1356-62.
126. Szczepaniak LS, Nurenberg P, Leonard D, Browning JD, Reingold JS, Grundy S, et al. Magnetic resonance spectroscopy to measure hepatic triglyceride content: prevalence of hepatic steatosis in the general population. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288:462-8.
127. Joy D, Thava VR, Scott BB. Diagnosis of fatty liver disease: is biopsy necessary? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 539-43.
128. Adams LA, Angulo P. Recent concepts in non-alcoholic fatty liver disease. *Diabet Med* 2005; 22: 1129–33.
129. Marchesini G, Marzocchi R, Agostini F, Bugianesi E. Nonalcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome. *Curr Opin Lipidol* 2005; 16: 421–7.
130. McCullough AJ. Pathophysiology of non-alcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 17–29.
131. Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steato-hepatitis and the metabolic syndrome. *Am J Med Sci* 2005; 330:326–35.
132. Adams LA, Lindor KD, Angulo P. The prevalence of autoantibodies and autoimmune hepatitis in patients with nonalcoholic Fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1316-20.
133. van Ness MM, Diehl AM. Is liver biopsy useful in the evaluation of patients with chronically elevated liver enzymes? *Ann Intern Med* 1989; 111:473-8.

134. Kelleher TB, Afdhal N. Noninvasive Assessment of Liver Fibrosis. Clin Liver Dis 2005; 9: 667-83.
135. Bedossa P, Poynard T. The METAVIR cooperative group. Inter- and intra-observer variation in the assesment of liver biopsy of patients chronic hepatitis C. J Viral Hepatology 1994; 20: 15-20.
136. Froehlich F, Lamy O, Fried M, Gonvers JJ. Practice and coplication of liver biyopsy. Results of anationwide survey in Switzerland. Dig Dis Sci 1993; 38: 1480-4.
137. Gronbaek K, Christensen RB, Hamilton-Dutoit S, Federspiel BH, Hage E, Jensen OJ, et al. Interobserver variation in interpretation of serial liver biopsies from patients chronic hepatis C. J Viral Hepat 2002; 9: 443-9.
138. Poynard T, Munteanu M, Imbert-Bismut F,Charlotte F, Thabut D, Le Calvez S,et al. Prospective analysis of discordant results between biiyopsy in patients with chronic hepatitis C. Clin Chem 2004; 50: 1344-55.
139. Thampanitchawog P, Piratvisuth T. Liver biyopsy: complications and risk factors. World J Gastroenterol 1999; 5: 301-4.
140. Capron JP, Delamarre J, Dupas JL, Brailion A, Degott C, Quenum C. Fasting in obesity another cause of liver injury with alcoholic hyaline? Dig Dis Sci 1982; 27: 265-8.
- 141.Sanyal AJ. Insulin resistance and nonalcoholic steatohepatitis: Fat or fiction? Am J Gastroenterol 2001; 96: 274-6.
142. Ueno T, Suagawara H, Sujaku K, Hashimoto O, Tsuji R, Tamaki S, et al. Therapeutic effects of restricted diet and exercise in obese patients with fatty liver. J Hepatol 1997; 27: 103-7.

143. Bugianesi E, Gentilcore E, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, et al. A randomized controlled trial of metformin versus vitamin E or prescriptive diet in nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 2005; 100:1082-90.
144. Lin HZ, Yang SQ, Chuckaree C, Kuhajda F, Ronnet G, Diehl AM. Metformin reverses fatty liver disease in obese, leptin-deficient mice. *Nat Med* 2000; 6: 998-1003.
145. Magalotti D, Marchesini G, Ramilli S, Berzigotti A, Bianchi G, Zoli M. Splanchnic haemodynamics in non-alcoholic fatty liver disease: effect of a dietary/pharmacological treatment. A pilot study. *Dig Liver Dis* 2004; 36: 406-11.
146. Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Zoli M, Melchionda N. Metformin in non-alcoholic steatohepatitis. *Lancet* 2001; 358:893-4.
147. Nair S, Diehl AM, Wiseman M, Farr GH Jr, Perrillo RP. Metformin in the treatment of non-alcoholic steatohepatitis: a pilot open label trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 23-8.
148. Schwimmer JB, Middleton MS, Deutsch R, Lavine JE. A phase 2 clinical trial of metformin as a treatment for non-diabetic paediatric non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 871-9.
149. Uygun A, Kadayifci A, Isik AT, Ozgurtas T, Deveci S, Tuzun A, et al. Metformin in the treatment of patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 537-44.
150. Marceau P, Biron S, Hould FS, Marceau S, Simard S, Thung SN, et al. Liver pathology and the metabolic syndrome X in severe obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 1513-7.
151. Roberts EA. Steatohepatitis in children. *Best Pract Clin Gastroenterol* 2002;16: 749-65.
152. Tilg H, Hotamisligil GS. Nonalcoholic fatty liver disease: Cytokine-adipokine interplay and regulation of insulin resistance. *Gastroenterology* 2006; 131:934-45.

153. Gómez-Domínguez E, Gisbert JP, Moreno-Monteagudo JA, García-Buey L, Moreno-Otero R. A pilot study of atorvastatin treatment in dyslipemic, non-alcoholic fatty liver patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 1643-7.
154. Hatzitolios A, Savopoulos C, Lazaraki G, Sidiropoulos I, Haritanti P, Lefkopoulos A, et al. Efficacy of omega-3 fatty acids, atorvastatin and orlistat in non-alcoholic fatty liver disease with dyslipidemia. *Indian J Gastroenterol*. 2004; 23: 131-4.
155. Kiyici M, Gulten M, Gurel S, Nak SG, Dolar E, Savci G, et al. Ursodeoxycholic acid and atorvastatin in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Can J Gastroenterol*. 2003; 17: 713-8.
156. Rallidis LS, Drakoulis CK, Parasi AS. Pravastatin in patients with nonalcoholic steatohepatitis: results of a pilot study. *Atherosclerosis*. 2004; 174:193-6.
157. Gung G, Viola L, Thome M. Ursodeoxycholic acid in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis results of a prospective clinical controlled trial. *Hepatology* 1997: 326-87.
158. Lavine JE. Vitamin E treatment of nonalcoholic steatohepatitis in children: A pilot study. *J Pediatr* 2000; 136:734-8.
159. Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999; 116:1413-9.
160. Nitecki J, Jackson FW, Alton M. Effect of phlebotomy on non-alcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2000; 118:147.
161. Guillygomarc'h A, Mendler MH, Moirand R, Lainé F, Quentin V, David V, et al. Venesection therapy of insulin resistance associated hepatic iron overload. *J Hepatol* 2001; 35:344-9.

162. Ayata G, Gordon FD, Lewis WD, Pomfret E, Pomposelli JJ, Jenkins RL, et al. Cryptogenic cirrhosis: clinicopathologic findings at and after liver transplantation. *Hum Pathol* 2002; 33:1098–104.
163. Ong J, Younossi ZM. Non-alcoholic fatty liver disease after liver transplantation: a case of nurture and nature. *Am J Gastroenterol* 2010; 105:621-3.
164. Gimbrone MA Jr. Vascular endothelium, hemodynamic forces and atherosclerosis. *Am J. Pathol* 1999; 155:1-5.
165. Fruchard JC, Nierman MC, Stroes ESG, Kastelein JJ, Duriez P. New risk factors for atherosclerosis and patient risk assessment. *Circulation* 2004 Jun 15; 109: 15-9.
166. Maher VNG, Brown BG, Marcovina SM, Hillger LA, Zhao XQ, Albers JJ. Effects of lowering elevated LDL cholesterol on the cardiovascular risk of lipoprotein(a). *JAMA* 1995; 274:1771-4.
167. Knopp RH. Drug treatment of lipid disorders. *N Eng J Med*. 1999; 341:498-511.
168. Libby P, Schwartz D, Brogi E, Tanaka H, Clinton SK. A cascade model for restenosis. A special case of atherosclerosis progression. *Circulation* 1992; 86: 47-52.
169. Mazurek T, Zhang L, Zalewski A, Mannion JD, Diehl JT, Arafat H, et al. Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators. *Circulation* 2003; 108: 2460-6.
170. Baker AR, Silva NF, Quinn DW, Harte AL, Pagano D, Bonser RS, et al. Human epicardial adipose tissue expresses a pathogenic profile of adipocytokines in patients with cardiovascular disease. *Cardiovasc Diabetol* 2006; 5: 1.
171. Chaldakov GN, Fiore M, Stankulov IS, Manni L, Hristova MG, Antonelli A, et al. Neurotrophin presence in human coronary atherosclerosis and metabolic syndrome: a role for NGF and BDNF in cardiovascular disease? *Prog Brain Res* 2004; 146: 279-89.

- 172.Kremen J, Dolinkova M, Krajickova J, Blaha J, Anderlova K, Lacinova Z, et al. Increased subcutaneous and epicardial adipose tissue production of proinflammatory cytokines in cardiac surgery patients: possible role in postoperative insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 4620-7.
- 173.Cheng KH, Chu CS, Lee KT, Lin TH, Hsieh CC, Chiu CC, et al. Adipocytokines and proinflammatory mediators from abdominal and epicardial adipose tissue in patients with coronary artery disease. *Int J Obes (Lond)* 2008; 32: 268-74.
- 174.Fain JN, Sacks HS, Buehrer B, Bahouth SW, Garrett E, Wolf RY, et al. Identification of omentin mRNA in human epicardial adipose tissue: comparison to omentin in subcutaneous, internal mammary artery periadventitial and visceral abdominal depots. *Int J Obes (Lond)* 2008; 32: 810-5.
175. Aldhahi W, Hamdy O. Adipokines, inflammation, and the endothelium in diabetes. *Curr Diab Rep* 2003; 3: 293-8.
- 176.Funahashi T, Nakamura T, Shimomura I, Maeda K, Kuriyama H, Takahashi M, et al. Role of adipocytokines on the pathogenesis of atherosclerosis in visceral obesity. *Intern Med* 1999; 38: 202-6.
- 177.Chaldakov GN, Stankulov IS, Aloe L. Subepicardial adipose tissue in human coronary atherosclerosis: another neglected phenomenon. *Atherosclerosis* 2001; 154: 237-8.
- 178.Lohn M, Dubrovskaja G, Lauterbach B, Luft FC, Gollasch M, Sharma AM. Periadventitial fat releases a vascular relaxing factor. *FASEB J* . 2002; 16: 1057-63.
- 179.Miyata K, Shimokawa H, Kandabashi T, Higo T, Morishige K, Eto Y, et al. Rho-kinase is involved in macrophage-mediated formation of coronary vascular lesions in pigs in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 2351-8.

180. Shimokawa H, Ito A, Fukumoto Y, Kadokami T, Nakaike R, Sakata M, et al. Chronic treatment with interleukin-1 beta induces coronary intimal lesions and vasospastic responses in pigs in vivo. The role of platelet-derived growth factor. *J Clin Invest* 1996; 97: 769-76.
181. Pagano PJ, Clark JK, Cifuentes-Pagano ME, Clark SM, Callis GM, Quinn MT. Localization of a constitutively active, phagocyte-like NADPH oxidase in rabbit aortic adventitia: enhancement by angiotensin II. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 14483-8.
182. Wang HD, Pagano PJ, Du Y, Cayatte AJ, Quinn MT, Brecher P, et al. Superoxide anion from the adventitia of the rat thoracic aorta inactivates nitric oxide. *Circ Res* 1998; 82: 810-8.
183. Chaowalit N, Somers VK, Pellikka PA, Rihal CS, Lopez-Jimenez F. Subepicardial adipose tissue and the presence and severity of coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2006; 186: 354-9.
184. Samal B, Sun Y, Stearns G, Xie C, Suggs S, McNiece I. Cloning and characterization of the cDNA encoding a novel human pre-B-cell colony-enhancing factor. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 1431-7.
185. Rongvaux A, Shea RJ, Mulks MH, Gigot D, Urbain J, Leo O, et al. Pre-B-cell colony-enhancing factor, whose expression is up-regulated in activated lymphocytes, is a nicotinamide phosphoribosyltransferase, a cytosolic enzyme involved in NAD biosynthesis. *Eur J Immunol* 2002; 32: 3225-34.
186. Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, Segawa K, Tanaka M, Kishimoto K, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science* 2005; 307: 426-30.
187. Sommer G, Garten A, Petzold S, Beck-Sickinger AG, Blüher M, Stumvoll M, et al. Visfatin/PBEF/Nampt: structure, regulation and potential function of a novel adipokine. *Clin Sci (Lond)* 2008; 115: 13-23.
188. Peiró C, Romacho T, Carraro R, Sánchez-Ferrer CF. Visfatin/PBEF/Nampt: A New Cardiovascular Target? *Front Pharmacol* 2010; 1: 1-7.

189. Kukla M, Mazur W, Buldak RJ, Zwirska-Korczala K. Potential role of leptin, adiponectin and three novel adipokines--visfatin, chemerin and vaspin--in chronic hepatitis. *Mol Med* 2011; 17: 1397-410.
190. Spiroglou SG, Kostopoulos CG, Varakis JN, Papadaki HH. Adipokines in periaortic and epicardial adipose tissue: differential expression and relation to atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 2010; 17: 115-30.
191. Wang P, Xu TY, Guan YF, Su DF, Fan GR, Miao CY. Perivascular adipose tissue-derived visfatin is a vascular smooth muscle cell growth factor: role of nicotinamide mononucleotide. *Cardiovasc Res* 2009; 81: 370-80.
192. Alva-Sánchez C, Ortiz-Butrón R, Pacheco-Rosado J. Kainic acid does not affect CA3 hippocampal region pyramidal cells in hypothyroid rats. *Brain Res Bull.* 2004; 63: 167–171.
193. Bernardis LL, Patterson BD. Correlation between 'Lee index' and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *J Endocrinol.* 1968;40:527-8.
194. Malafaia AB, Nassif PA, Ribas CA, Ariede BL, Sue KN, Cruz MA. Obesity induction with high fat sucrose in rats. *Arq Bras Cir Dig.* 2013; 26: 17-21.
195. Keenan CM, Vidal JD. Standard morphologic evaluation of the heart in the laboratory dog and monkey. *Toxicol Pathol.* 2006;34: 67-74.
196. Christine RF, Birgit K, Gerd M, Paul D, Charlotte K, Charles RM, et al. Revised guides for organ sampling and trimming in rats and mice-Part 1 Experimental Toxicologic Pathology 2003;55: 91-106.
197. Carson FL, Hladik C. Histotechnology A Self-Instructional Text (3rd edition) American Society for Clinical Pathology Press. 2009: 1-400.
198. Michalaki MA, Vagenakis AG, Leonardou AS, Argentou MN, Habeos IG, Makri MG, et al. Thyroid function in humans with morbid obesity. *Thyroid* 2006; 16: 73-78.

199. Raftopoulos Y, Gagné DJ, Papasavas P, Hayetian F, Maurer J, Bononi P, et al. Improvement of hypothyroidism after laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass for morbid obesity. *Obes Surg* 2004; 14: 509-513.
200. Liangpunsakul S, Chalasani N. Is hypothyroidism a risk factor for non-alcoholic steatohepatitis? *J Clin Gastroenterol* 2003; 37: 340-343.
201. Silveira MG, Mendes FD, Diehl NN, Enders FT, Lindor KD. Thyroid dysfunction in primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis and non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2009; 29: 1094-100.
202. Pagadala MR, Zein CO, Dasarathy S, Yerian LM, Lopez R, McCullough AJ. Prevalence of hypothyroidism in nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 528-534.
203. Parikh P, Phadke A, Sawant P. Prevalence of hypothyroidism in nonalcoholic fatty liver disease in patients attending a tertiary hospital in western India. *Indian J Gastroenterol*. 2015;34: 169-73.
204. Mazo DF, Lima VM, Stefano JT, Rabelo F, Faintuch J, Oliveira CP. Gluco-lipidic indices in treated hypothyroidism associated with nonalcoholic fatty liver disease. *Arq Gastroenterol*. 2011;48: 186-9.
205. Chung GE, Kim D, Kim W, Yim JY, Park MJ, Kim YJ, et al. Non-alcoholic fatty liver disease across the spectrum of hypothyroidism. *J Hepatol*. 2012;57: 150-6.
206. Xu L, Ma H, Miao M, Li Y. Impact of subclinical hypothyroidism on the development of non-alcoholic fatty liver disease: a prospective case-control study. *J Hepatol*. 2012;57: 1153-4.
207. Scudamore CL. *A Practical guide to the histology of Mouse* Wiley Blackwell. 2014; 1-248.
208. Scudamore CL. Acquiring, recording, and analyzing pathology data from experimental mice: an overview. *Curr Protoc Mouse Biol*. 2014;4: 1-10.
209. Kleiner DE, Brunt EM, Van Natta M. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2005; 41: 1313-21.

210. Mendler MH, Kanel G, Govindarajan S. Proposal for a histological scoring and grading system for non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2005; 25: 294-304.
211. Brunt EM. Pathology of steatohepatitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16: 691-707.
212. McClain CJ, Mokshagundam SP, Barve SS, Song Z, Hill DB, Chen T, et al. Mechanisms of non-alcoholic steatohepatitis. *Alcohol* 2004; 34: 67-79.
213. Park J-W, Jeong G, Kim S. Predictors reflecting the pathological severity of non-alcoholic fatty liver disease: Comprehensive study of clinical and immunohistochemical findings in younger Asian patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 491-7.
214. Moretto M, Kupski C, Mottin. Hepatic steatosis in patients undergoing bariatric surgery and its relationship to body mass index and co-morbidities. *Obes Surg* 2003; 13: 622-4.
215. Hsiao PJ, Kuo KK, Shin SJ. Significant correlations between severe fatty liver and risk factors for metabolic syndrome. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 2118-23.
216. Machado M, Marques-Vidal P, Cortez-Pinto H. Hepatic histology in obese patients undergoing bariatric surgery. *Journal of Hepatology* 2006; 45: 600-6.
217. Knudsen N, Laurberg P, Rasmussen LB, Bulow I, Perrild H, Ovesen L, et al. Small differences in thyroid function may be important for body mass index and the occurrence of obesity in the population. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90: 4019-24.
218. Nyren A, Jorde R, Sundsfjord J. Serum TSH is positively associated with BMI. *Int J Obes (Lond)* 2006;30: 100-10.
219. Jameson J.L. Harrison Endokrinoloji. 16. Baskı. Ed. Bereket A. Nobel Tıp Kitabevleri & Mcgraw-Hill Companies. İstanbul. 2009: 346-7.
220. Hulbert AJ. Thyroid hormones and their effects: a new perspective. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2000; 75: 519-631.
221. Duntas LH. Thyroid disease and lipids. *Thyroid* 2002; 12: 287-93.

222. Turemen EE, Cetinarslan B, Sahin T, Canturk Z, Tarkun I. Endothelial dysfunction and low grade chronic inflammation in subclinical hypothyroidism due to autoimmune thyroiditis. *Endocr J.* 2011; 58: 349-54.
223. Fabbri E, Magkos F, Patterson BW, Mittendorfer B, Klein S. Subclinical hypothyroidism and hyperthyroidism have opposite effects on hepatic very low density lipoprotein triglyceride kinetics. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97: 414-8.
224. Lin SY, Wang YY, Liu PH, Lai WA, Sheu WH. Lower serum free thyroxine levels are associated with metabolic syndrome in a Chinese population. *Metabolism* 2005;54: 1524-28.
225. Shon HS, Jung ED, Kim SH, Lee JH. Free T4 is negatively correlated with body mass index in euthyroid women. *Korean J Intern Med* 2008; 23: 53–57.
226. Goldberg IJ, Ginsberg HN. Ins and outs modulating hepatic triglyceride and development of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2006;130:1343–46.
227. Puri P, Baillie RA, Wiest MM, Mirshahi F, Choudhury J, Cheung O, et al. A lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2007;46: 1081–90.
228. Musso G, Gambino R, Cassader M. Recent insights into hepatic lipid metabolism in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Prog Lipid Res* 2009; 48: 1-26.
229. Cable EE, Finn PD, Stebbins JW, Hou J, Ito BR, van Poelje PD, et al. Reduction of hepatic steatosis in rats and mice after treatment with a liver-targeted thyroid hormone receptor agonist. *Hepatology* 2009; 49: 407-17.
230. Kowalska I, Borawski J, Nikolajuk A, Budlewski T, Otziomek E, Górka M, et al. Insulin sensitivity, plasma adiponectin and sICAM-1 concentrations in patients with subclinical hypothyroidism: response to levothyroxine therapy. *Endocrine* 2011; 40: 95-101.
231. Smithson MJ. Screening for thyroid dysfunction in a community population of diabetic patients. *Diabet Med.* 1998; 15: 148–150.
232. Gronich N, Deftereos SN, Lavi I, Persidis AS, Abernethy DR, Rennert G. Hypothyroidism Is a Risk Factor for New-Onset Diabetes Mellitus: A Cohort Study. *Diabetes Care.* 2015 Jun 12. pii: dc142515.

233. Musso G, Gambino R, Durazzo M, Biroli G, Carello M, Fagà E, et al. Adipokines in NASH: postprandial lipid metabolism as a link between adiponectin and liver disease. *Hepatology* 2005; 42: 1175-83.
234. Jarrar MH, Baranova A, Collantes R, Ranard B, Stepanova M, Bennett C, et al. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 412-21.
235. Haider DG, Schaller G, Kapiotis S, Maier C, Luger A, Wolzt M. The release of the adipocytokine visfatin is regulated by glucose and insulin. *Diabetologia* 2006; 49: 1909-14.
236. Chen MP, Chung FM, Chang DM, Tsai JC, Huang HF, Shin SJ, et al. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 295-99.
237. Haider DG, Schindler K, Schaller G, Prager G, Wolzt M, Ludvik B. Increased plasma visfatin concentrations in morbidly obese subjects are reduced after gastric banding. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91: 1578-81.
238. Aller R, de Luis DA, Izaola O, Sagrado MG, Conde R, Velasco MC, et al. Influence of visfatin on histopathological changes of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1772-77.
239. Altinova AE, Törüner FB, Aktürk M, Bukan N, Cakir N, Ayvaz G, et al. Adiponectin levels and cardiovascular risk factors in hypothyroidism and hyperthyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006; 65: 530-5.
240. Aragão CN, Souza LL, Cabanelas A, Oliveira KJ, PazosMoura CC. Effect of experimental hypo- and hyperthyroidism on serum adiponectin. *Metabolism* 2007; 56: 6-11.
241. Ozkaya M, Sahin M, Cakal E, Yuzbasioglu F, Sezer K, Kilinc M, et al. Visfatin plasma concentrations in patients with hyperthyroidism and hypothyroidism before and after control of thyroid function. *Journal of Endocrinological Investigation* 2009; 32: 435-39.

242. Caixàs A, Tirado R, Vendrell J, Gallart L, Megía A, Simón I, et al. Plasma visfatin concentrations increase in both hyper and hypothyroid subjects after normalization of thyroid function and are not related to insulin resistance, anthropometric or inflammatory parameters. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009; 71: 733-8.
243. Tanaka M, Nozaki M, Fukuhara A, Segawa K, Aoki N, Matsuda M, et al. Visfatin is released from 3T3-L1 adipocytes via a non-classical pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2007 359 194–201.
244. MacLaren R, Cui W, Cianflone K. Visfatin expression is hormonally regulated by metabolic and sex hormones in 3T3-L1 pre-adipocytes and adipocytes. *Diabetes, Obesity & Metabolism* 2007; 9: 490–7.
245. Cappola AR, Fried LP, Arnold AM, Danese MD, Kuller LH, Burke GL, et al. Thyroid status, cardiovascular risk, and mortality in older adults. *JAMA*. 2006; 295: 1033-41.
246. Nanchen D, Gussekloo J, Westendorp RG, Stott DJ, Jukema JW, Trompet S, et al. Subclinical Thyroid Dysfunction and the Risk of Heart Failure in Older Persons at High Cardiovascular Risk. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012; 97:852-61.
247. Hak AE, Pols HAP, Visser TJ, Drexhage HA, Hofman A, Witteman JC. Subclinical hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: the Rotterdam Study. *Ann Intern Med*. 2000; 132: 270-8.
248. Vanderpump MPJ, Tunbridge WMG, French JM, Appieton D, Bates D, Clark F, et al. The incidence of thyroid disorders in the community: A twenty year follow up of the Whickam Survey. *Clin Endocrinol*. 1995; 43:55-69.
249. Chiche F, Jublanc C, Coudert M, Carreau V, Kahn JF, Bruckert E. Hypothyroidism is not associated with increased carotid atherosclerosis when cardiovascular risk factors are accounted for in hyperlipidemic patients. *Atherosclerosis*. 2008; 203: 269-76.

250. Christ-Crain M, Meier C, Guglielmetti M, Huber PR, Riesen W, Staub JJ, et al. Elevated C-reactive protein and homocysteine values: cardiovascular risk factors in hypothyroidism? A cross-sectional and a double-blind, placebo-controlled trial. *Atherosclerosis*. 2003; 166:379-86.
251. Gao C, Li T, Liu J, Guo Q, Tian L. Endothelial Functioning and Hemodynamic Parameters in Rats with Subclinical Hypothyroid and the Effects of Thyroxine Replacement. *PLoS One*. 2015;10: 1-14.
252. Fischer-Posovszky P, Wabitsch M, Hochberg Z. Endocrinology of adipose tissue –an update. *Horm Metab Res*. 2007;39: 314–21.
253. Iacobellis G, Assael F, Ribaudo MC, Zappaterreno A, Alessi G, Di Mario U, et al. Epicardial fat from echocardiography: a new method for visceral adipose tissue prediction. *Obes Res*. 2003; 11:304-10.
254. Jeong JW, Jeong MH, Yun KH, Oh SK, Park EM, Kim YK, et al. Echocardiographic epicardial fat thickness and coronary artery disease. *Circ J*. 2007; 71:536-9.
255. Belen E, Değirmencioğlu A, Zencirci E, Tipi FF, Altun Ö, Karakuş G, et al. The Association between Subclinical Hypothyroidism and Epicardial Adipose Tissue Thickness. *Korean Circ J*. 2015; 45:210-5.
256. Korkmaz L, Sahin S, Akyuz AR, Ziyrek M, Anaforoglu I, Kose M, et al. Epicardial adipose tissue increased in patients with newly diagnosed subclinical hypothyroidism. *Med Princ Pract*. 2013;22:42-6.