

ARAŞTIRMA

Mahmut Karapehlivan¹
Ümit Volkan Ekinci²
İnan Kaya²
Şaban Maraşlı¹
Ayla Özcan¹

¹Kafkas Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Kars

²Kafkas Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalı, Kars

*Klinik biyokimya uzmanları derneğinin 5. Ulusal kongresinde (2009) bildiri (P20) olarak sunulmuştur.

İletişim Adresi:

Doç. Dr. Mahmut Karapehlivan
Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya AD. Kars
E-mail: mkarapehlivan@hotmail.com

Konuralp Tıp Dergisi

e-ISSN1309-3878
konuralptipdergi@duzce.edu.tr
konuralpgeneltip@gmail.com
www.konuralptipdergi.duzce.edu.tr

Hipertiroidi Hastalarında Tiroid Hormonları İle Serum Sialik Asit Arasındaki İlişkinin Araştırılması

ÖZET

Amaç: Çalışmada, hipertiroidili hastaların serum triiyodotironin (T₃), tetraiyodotironin (T₄), tiroid uyarıcı hormon (TSH) ile sialik asit (SA) düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Metod: Çalışma materyalini yaşları 25 ile 35 arasında değişen 14 sağlıklı ve 14 hipertiroidili toplam 28 birey oluşturdu. Serum T₃, T₄ ve TSH ölçümleri otomatik analizörde, total sialik asit (TSA) ve lipid bağlı sialik asit (LSA) analizleri ise spektrofotometrik olarak yapıldı.

Bulgular: Serum TSA (p<0.001), LSA (p<0.001), T₃ (p<0.05) ve T₄ (p<0.05) düzeyleri hipertiroidili bireylerde sağlıklı olanlara göre yüksek, TSH düzeyi ise düşük (p<0.001) düzeyde tespit edildi.

Sonuç: Sonuç olarak, hipertiroidili bireylerin serum T₃, T₄ düzeyleri ile SA seviyeleri arasında pozitif, TSH düzeyleriyle SA seviyeleri arasında ise negatif bir korelasyonun olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Hipertiroidi, Triiyodotironin, Tiroksin, Sialik Asit

The Relationship between Thyroid Hormone and Serum Sialic Acid Levels in Hyperthyroid Patients

ABSTRACT

Objective: In this study, it was aimed to investigate the relationship between sialic acid concentration and serum levels of triiodothyronine (T₃), tetraiodothyronine (T₄), thyroid stimulating hormone (TSH) in hyperthyroid patients.

Methods: Twenty eight subjects consisting of 14 healthy and 14 hyperthyroid patients at 25–35 years of age were used. Serum T₃, T₄ and TSH levels were determined using autoanalyzer, while total sialic acid (TSA) and lipid-bound sialic acid (LSA) were spectrophotometrically measured.

Results: Serum TSA (p<0.001), LSA (p<0.001), T₃ (p<0.05), and T₄ (p<0.05), levels in patients with hyperthyroidism were higher than healthy subjects whereas serum TSH level in hyperthyroid patients was lower than (p<0.001) healthy patients.

Conclusion: Positive correlation, between serum levels of T₃, T₄ and sialic acid concentration and a negative correlation between TSH and sialic acid level were observed in hyperthyroid patients.

Keywords: Hyperthyroidism, Triiodothyronine, Tetraiodothyronine, Sialic Acid

GİRİŞ

Tiroid bezi salgıladığı hormonlar ile büyüme ve gelişmede birçok temel rol oynamaktadır. Tiroglobulin tiroid folikül hücrelerinde oluşup, folikül boşluğuna salınan, yapısında 5800 amino asit ve yaklaşık %8-10 kadar karbonhidrat bulunduran bir glikoproteindir. Folikül içindeki tiroglobulinin başlıca işlevi tiroid hormonlarının oluşumunu ve depo edilmesini sağlamaktır (1). Farklı türlerde karbonhidrat kompozisyonu iyi korunmuş olan bu molekülde sadece mannoz ve N-asetil glukozamin içerir A (α) ünitesi ile laktozamin, sialik asit kalıntıları, galaktoz ve fukoza içeren B (β) ünitesi yer almaktadır (2-4).

Tiroid uyarıcı hormon (TSH), tiroidin morfolojisini ve fonksiyonunu etkileyen bir hormondur. Bir yandan tiroisitlerin gelişmesini kontrol ederken; diğer yandan tiroisitlerde tiroid peroksidaz ve tiroglobulin yapımını, tiroglobulin proteolizisini, iyodun tutulmasını ve organifikasyonunu, iyodotirozinler, triiyodotironin ($3'$ - $3,5$ triiyodotironin; T_3) ve tiroksin ($3'$, $5'$ - $3,5$ tetraiyodotironin; T_4) hormonlarının sentez ve salınmasını kontrol etmektedir. Tiroglobulindeki tirozin kalıntılarının iyodinasyonu sonucu oluşan ve genel metabolik aktivitenin denetlenmesinde rol alan T_3 ve T_4 'ün, tüm bu fonksiyonları TSH'nin tiroisit membranındaki TSH reseptörüne bağlanması sonucu ortaya çıkmaktadır (5-7). T_3 ve T_4 'ün total ve serbest formlarının dolaşımdaki düzeylerinin düşmesi, tiroid bezinin uyarılması sonucu TSH salınımını artırmaktadır (8,9).

N-asetil nöraminik asitin (NANA) türevleri olan sialik asitler (N- ve O- açıl türevleri) glikoprotein, glikolipit ve nadiren glikozaminoglikanların oligosakkarit yan zincirinin terminal karbonhidrat kalıntıları olarak makromoleküllerin ve reseptörlerin yapısında bulunmaktadır (10,11). SA'lar yapılarındaki karboksil gruplarından dolayı iyonlaşabilme özelliğine sahip olup, hücre yüzeyine negatif yük kazandırmaktadırlar. Taşıdıkları negatif yükten dolayı trombosit, eritrosit ve kanser hücrelerinde görülen elektrostatik itmeden sorumlu tutulmaktadır (10).

Çalışmada hipertiroidili hastaların serum TSA, LSA düzeyleri ile TSH, serbest T_3 ve T_4 düzeyleri arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığının (05.12.2008 tarih ve 1062 sayılı) izniyle yapılan araştırmanın materyalini Kars Devlet Hastanesine gelen 25-35 yaş aralığında (14 hipertiroidili ve 14 sağlıklı birey) toplam 28 birey oluşturdu. Alınan kan örneklerinden elde edilen serumlarda serbest T_3 ve T_4 ile TSH ölçümleri otomatik analizörde (OLYMPUS AU 640) yapıldı. Serum TSA tayini Sydow (1985)'un (12), serum LSA tayini ise Katapodis ve ark. (1982)'nin bildirdiği metoda göre tayin edildi (13).

Serum TSA düzeylerinin tayini; 0,2 mL serum üzerine 1,5 mL perklorik asit ilave edilerek 100°C 'de 5 dk kaynatıldıktan sonra soğutulur ve 2500 rpm'de 4 dk santrifüj edilir. Süpernatant kısımdan 1 mL başka tüplere aktarılarak üzerine 0,2 mL erlich ayırıcı ilave edilir ve 100°C 'de 15 dk kaynatılır. Soğutulan tüpler üzerine 1 mL distile su ilave edilerek 525 nm'de optik dansiteleri spektrofotometrik olarak okunur.

Serum LSA düzeylerinin tayini; 50 μL serum üzerine 150 μL distile su ilave edilerek 5 sn vortekslenir. Tüplere 3 mL soğuk kloroform:metanol (2:1) karışımı ilave edilerek 30 sn vortekslenir. Daha sonra 0.5 mL soğuk su eklenerek 1200 g'de 5 dk santrifüj edilir. Süpernatant kısımdan 1mL diğer tüplere aktarılarak üzerine 50 μL fosfotungustik asit (1g/mL) ilave edilip, vortekslenir ve oda ısısında 5 dk bekletildikten sonra 1200 g'de santrifüj edilir. Üsteki Süpernatant kısım atılarak dipte kalan tortu kısmın üzerine 1 mL 37°C 'de distile su ilave edilerek 1 dk karıştırılır. 1 mL rezorsinol reaktifi ilave edilerek 100°C 'de 15 dk kaynatılır. Soğutulan tüplere 2 mL butil asetat/n-butanol (85/15) karışımı ilave edilerek vortekslenir. Daha sonra oda ısısında 1200 g'de 5 dk santrifüj işlemine tabi tutulur. Elde edilen renkli sıvının absorbansı köre karşı 580 nm'de okunur.

Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS paket programı (SPSS 15.0 for Windows Evaluation Version) kullanılarak yapıldı. Veriler arasındaki ilişki independent samples t-testi ile hesaplandı. Sonuçlar; ortalama \pm standart sapma ($X \pm SD$) olarak gösterildi. Parametreler arası korelasyonun belirlenmesinde Pearson korelasyon analizi kullanıldı.

BULGULAR

Sağlıklı ve hipertiroidili bireylerde serum LSA, TSA, TSH, serbest T_3 ve T_4 düzeyleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Serum TSA ($p < 0.001$), LSA ($p < 0.001$), serbest T_3 ($p < 0.001$) ve T_4 ($p < 0.05$) düzeyleri hipertiroidili bireylerde sağlıklı olanlara göre yüksek, TSA düzeyi ise düşük ($p < 0.001$) tespit edildi.

Tablo 1. Sağlıklı ve hipertiroidili bireylerde serum LSA, TSA, T_3 , T_4 ve TSH düzeyleri.

Parametreler	Kontrol (n=14)	Hipertiroidi (n=14)	p
LSA (mg/dl)	12.58 \pm 1.94	17.76 \pm 4.13	<0.001
TSA (mg/dl)	31.19 \pm 3.77	41.74 \pm 7.62	<0.001
T_3 (pg/ml)	1.94 \pm 0.34	4.08 \pm 1.41	<0.001
T_4 (ng/dl)	1.05 \pm 0.11	1.82 \pm 0.98	<0.05
TSH (IU/ml)	1.59 \pm 0.72	0.385 \pm 0.20	<0.001

LSA ile serbest T_3 ve T_4 düzeyleri arasında $r = 0.68$, $p < 0.001$; $r = 0.66$, $p < 0.001$ anlamlı pozitif korelasyonun olduğu gözlemlendi. Yine TSA ile serbest T_3 ve T_4 düzeyleri arasında sırasıyla $r = 0.64$,

$p<0.001$; $r=0.63$, $p<0.001$ pozitif korelasyon olduğu belirlendi. TSH ile LSA ve TSA düzeyleri arasında ise $r=-0.48$, $p<0.05$; $r=-0.52$, $p<0.05$ negatif korelasyon tespit edildi.

TARTIŞMA

Hipertiroidili hastalardaki açlık kan glukozunun artış nedeni, yükseltgenen deoksihemoglobinin oksihemoglobinden iki kat daha hızlı glikolize olabilmesine bağlanmaktadır (14,15). Yine hipertiroidili hastalarda doku oksijen miktarının azalması eritropoietinin uyarılması ile eritrosit kütlelerini artırmaktadır (16,17). Organizmanın hem artan oksijen ihtiyacının karşılanması, hem de oluşabilecek doku hasarına yanıt olarak molekül ya da ilgili yapıların yeniden düzenlenmesiyle beraber akut faz protein (AFP) miktarında da artış olabileceği bildirilmektedir (18,19). AFP'nin büyük bir kısmı oligosakkarit yan zincirlerinin terminal pozisyonunda SA kalıntıları içeren glikoproteinlerdir (11,20). Bu bilgilere bağlı olarak serum TSA düzeylerindeki artışın, karaciğer AFP'nin artan atılımı sonucu olabileceği düşünülmektedir. Hipertiroidili bireylerde yüksek miktarlarda bulunan tiroglobulin molekülü de glikoprotein yapısına sahip olup, oligosakkarit yan zinciri ile SA içermektedir. Tiroglobulin molekülünün yapısındaki SA'nın azalmasında ve yokluğunda tiroglobulinin anormal glikozillenmesi durumu hem deneysel rat tiroid tümöründe hem de doğuştan guatr hastalığına sahip olan insanlarda gösterilmiştir (2,3). Foliküler lümen içerisine salgılama yapılmadan önce tiroglobulinin karbonhidrat içeriğinde posttranslasyonel modifikasyonların olduğu bildirilmekte olup, sialilasyon ile iyodürleşme arasında yakın bir korelasyonun olabileceği öngörülmektedir (4). Serum SA düzeylerinin neoplastik hastalıkların teşhisinde önemli bir biyokimyasal gösterge olduğu ve kanser hastalarında vücut sıvılarının sitolojisi ile TSA ve LSA arasında pozitif bir korelasyon bulunduğu belirtilmektedir (21). Kandaki serum SA konsantrasyonlarındaki artışın, SA kalıntılarının uzaklaştırılarak sialoglukokonjugatların ve sialooligosakkaritlerin katabolizmasını başlatmaktan sorumlu enzim olan sialidazın

aktivitesindeki artıştan kaynaklanabileceği ileri sürülmektedir (22). Biyolojik sistemlerde sialidaz tarafından SA kalıntılarının uzaklaştırılmasının dolaşımdaki sialoglukokonjugatların turnoverini, reseptörler tarafından tanınmasını ve antijenik ekspresyonlarını etkileyebileceği ileri sürülmektedir (11). Yapılan bu çalışmadan elde edilen bulgulara göre bir glikoprotein ve aynı zamanda T_3 ile T_4 'ün öncülü olan tiroglobulinin kullanılması sonucunda oligosakkarit yan zincirinde bulunan SA kalıntılarının SA düzeylerini önemli oranda artırabileceği kanaatine varılmıştır.

Lipoprotein metabolizması ve termogenez üzerinde T_3 ve T_4 'ün düzenleyici etkileri olduğu bilinmektedir (7,23). Knudsen ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada vücut kitle indeksi ile TSH düzeyleri arasında pozitif bir korelasyonun olduğu kaydedilmektedir (24). Yine Şen ve ark. tarafından sublinik hipotiroidili hastalarda yapılan başka bir çalışmada, artan TSH düzeylerine rağmen normal sınırlardaki T_4 düzeyleri lipid metabolizmasının düzenli işleyişinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (25). L-tiroksin uygulanarak hipertiroidizm oluşturulan başka bir çalışmada, HDL kolesterol seviyelerindeki azalmanın sebebi, plazma hepatik trigliserit lipaz seviyesindeki artışa bağlanmıştır. Tiroid hormonlarının hepatik lipazı etkilemesiyle HDL₂ alt fraksiyonunda bir değişiklik olduğu ve HDL₂/HDL₃ oranında bir azalma meydana geldiği bildirilmektedir (26). Hipertiroidili insanlarda trigliserit, fosfolipit, esterleşmiş ve serbest kolesterol miktarlarında %40 ile %50 oranlarında bir düşüş meydana geldiği belirtilmektedir (7,27). Tavşanlarda L-tiroksin ile hipertiroidizm oluşturularak yapılan başka bir çalışmada ise deney grubu tavşanların total kolesterol, HDL ve LDL-kolesterol seviyelerinde önemli bir azalma olduğu bildirilmektedir (7).

Sonuç olarak, hipertiroidili bireylerin serum sialik asit düzeyleri ile serum serbest T_3 ve T_4 düzeyleri arasında pozitif, TSH düzeyleri ile sialik asit düzeyleri arasında ise negatif bir korelasyonun olduğu tespit edilmiş olup, çalışmadan elde edilen verilerin hipertiroidi ile ilgili diğer çalışmalara ışık tutacağı kanaatini taşımaktadır.

KAYNAKLAR

1. Greenspan FS, The thyroid gland. In: Greenspan FS, Gardner D.G, eds. Basic and Clinical Endocrinology. 7th ed. New York: McGraw Hill; 2004: 215–47.
2. Monaco F, Grimaldi S, Dominici R, et al. Defective thyroglobulin synthesis in an experimental rat thyroid tumor: iodination and thyroid hormone synthesis in isolated tumor thyroglobulin. Endocrinology 1975;97(2):347-51.
3. Grollman EF, Doi SQ, Weiss P, et al. Hyposialylated thyroglobulin in a patient with congenital goiter and hypothyroidism. J Clin Endocrinol Metab 1992;74(1):43-8.
4. Grollman EF, Saji M, Shimura Y, et al. Thyrotropin regulation of sialic acid expression in rat thyroid cell. J Biol Chem 1993;268(5):3604-9.
5. Spencer CA, Thyroid testing for the new millennium. Thyrotropin/thyroid stimulating hormone (TSH) measurement. Thyroid 2003;13:33–44.

6. Aksungar FB, Eren A, Kengil I, et al. In vitro yüksek sıcaklıkların biyokimyasal tiroid fonksiyon testleri üzerine etkisi. *Turk J Biochem* 2005;30(2):183-6.
7. Yur F, Bayrođlu F, Baydař B, et al. Hipertiroidizm oluşturulmuş tavşanlarda glukoz, total protein, trigliserid, total kolesterol, HDL-kolesterol ve LDL-kolesterol seviyelerinin araştırılması. *Van Tıp Derg* 1999;6(2):4-7.
8. Wang DH, Koehler SM, Mariash CN, Detecting Graves' Disease: Presentations in young athletes. *Phys Sportsmed*. 1996;24(12):35-6.
9. Duman C, Erden BF, Birinci basamak sağlık hizmetlerine y6nelik biyokimyasal laboratuvar verilerinin kısa yorumu. *Sted* 2004;13(7):256.
10. Schauer R, Chemistry, metabolism and biological functions of sialic acids. *Adv Carbohydr Chem Biochem* 1982;40:131-4.
11. G6ng6r O, Sunar B, 6z6elik F, et al. Akut miyokard infarkt6s6nde sialik asit d6zeyleri ve seruloplazmin ile iliřkisi. *Turk J Biochem* 2004;29(3):226-31.
12. Sydow G, A simplified quick method for determination of sialic acid in serum. *Biomed Biochim Acta* 1985;44(11-12):1721-3.
13. Katopodis N, Hirshaut Y, Geller NL, et al. Lipid-associated sialic acid test for the detection of human cancer. *Cancer Res* 1982;42(12):5270-5.
14. Levy LJ, Adesman JJ, Spergel G, Studies on the carbohydrate and lipid metabolism in thyroid disease: effects of glucagon. *J Clin Endocrinol Metab* 1970;30(3):372-9.
15. Laville M, Riou JP, Bougneres PF, et al. Glucose metabolism in experimental hyperthyroidism: intact in vivo sensitivity to insulin with abnormal binding and increased glucose turnover. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;58(6):960-5.
16. Muldowney FP, Crooks J, Wayne EJ, The total red cell mass in thyrotoxicosis and myxoedema. *Clin Sci (lond)* 1957;16(2):309-14.
17. Das KC, Mukherjee M, Sarkar TK, et al. Erythropoiesis and erythropoietin in hypo-and hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1975;40(2):211-20.
18. Habif S, İnflamatuvar yanıtta akut faz proteinleri. *İzmir Atat6rk Eđitim Hastanesi Tıp Dergisi* 2005;43(2):55-65.
19. Kahramanođlu M, Yařar MA, Demirel İ, et al. Weaning başarisızlığının g6stergesi olarak y6ksek serum C reaktif protein d6zeyi. *Fırat Tıp Derg* 2007;12(2):115-7.
20. G6kmen SS, Kılı6lı G, 6z6elik F, et al. Koroner kalp hastalarında damar tıkanıklığı ile serum total ve lipide bağlı sialik asit d6zeyleri arasındaki ilişki. *Trakya 6niversitesi Tıp Fak6ltesi Dergisi* 2002;19(1):24-9.
21. L6pez S6ez JJ, Senra-Varela A, Evaluation of lipid-bound sialic acid (LSA) as a tumor marker. *Int J Biol Markers* 1995;10(3):174-9.
22. Hanson VA, Shettigar UR, Loungani RR, et al. Plasma sialidase activity in acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1987(1);114:59-63.
23. Rosato RR, Jahn GA, Gimenez MS, Amelioration of some metabolic effects produced by hyperthyroidism in late pregnant rats and their fetuses. *Horm Metab Res* 1992;24(1):15-20.
24. Knudsen N, Laurberg P, Rasmussen LB, 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(7):4019-4.
25. şen H, D6nderici 6, Cengiz O, et al. Dislipidemili hastalarda subklinik hipotiroidi sıklığı. *T Klin J Med Sci* 2007;27(3):344-9.
26. Staels B, Van Tol A, Chan L, et al. Alterations in thyroid status modulate apolipoprotein, hepatic triglyceride lipase and low density lipoprotein receptor in rats. *Endocrinol* 1990;127(3):1144-52.
27. Ponsin G, Vialle-Valentin C, Berthezene F, Alterations of high density lipoproteins induced by thyroid hormones in man and rat. *Adv Exp Med Biol* 1991;285:147-54.