



**GRAVES' OFTALMOPATİDE SİĞARA KULLANIMININ
MİTOKONDİRİYAL BİYOGENEZİS İLE TOTAL OKSİDAN VE
ANTİ-OKSİDAN DURUM ÜZERİNE ETKİSİ**

Nilay YÜKSEL

**DOKTORA TEZİ
TİBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ŞUBAT 2019

Nilay YÜKSEL tarafından hazırlanan “Graves’ Oftalmopatide Sigara Kullanımının Mitokondriyal Biyogenezis İle Total Oksidan Ve Anti-Oksidan Durum Üzerine Etkisi” adlı tez çalışmasında aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Neslihan Bukan

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Danışman: Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye: Doç. Dr. Tamer Takmaz

Göz Hastalıkları Kliniği, Ankara Şehir Hastanesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye: Doç. Dr. Emine Şen

Ulucanlar Göz Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Sağlık Bilimleri Üniversitesi

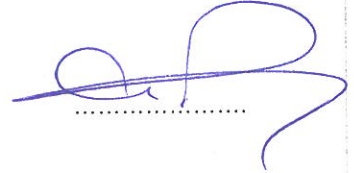
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Üye: Doç. Dr. Canan Yılmaz

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/~~onaylamıyorum~~



Tez Savunma Tarihi: 11/02/2019

Jüri üyeleri tarafından DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

.....
Prof. Dr. Mustafa ASLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Nilay YÜKSEL

11/02/2019

GRAVES' OFTALMOPATİDE SİĞARA KULLANIMININ MİTOKONDRIYAL
BİYOGENEZİS İLE TOTAL OKSİDAN VE ANTİ-OKSİDAN DURUM ÜZERİNE
ETKİSİ

(Doktora Tezi)

Nilay YÜKSEL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Şubat 2019

ÖZET

Graves' oftalmopati (GO), Graves' hastalığının en sık görülen tiroid dışı bulgusudur. GO'nun ortaya çıkmasında ve prognozunda, sigaranın oksidatif stresi (OS) artırarak önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Çalışmamızda, European Group on Graves' Orbitopathy (EUGOGO) kriterlerine göre orta-ciddi GO'lu olgularda, sigara kullanımının OS ve mitokondriyal biyogenezis ile ilişkili parametreler üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla, sigara kullanan GO'lu olgular (Grup 1, n=30), sigara kullanmayan GO'lu olgular (Grup 2, n=30), sigara kullanan sağlıklı bireyler (Grup 3, n=30), sigara kullanmayan sağlıklı bireyler (Grup 4, n=30) olarak gruplanan olgularda seçilen biyokimyasal parametrelerin serum düzeylerinin farklılığı değerlendirildi. Ayrıca, GO'lu olgular kendi içlerinde klinik aktivite skorlarına göre aktif veya inaktif olarak da biyokimyasal parametreler açısından değerlendirildi. Total anti-oksidadan seviye (TAS) değerlerinin 4 grupta da istatistiksel olarak benzer olduğu tespit edildi. Total oksidadan seviye (TOS) ve OS indeksi (OSİ) değerleri, Grup 1'de diğer gruplara göre daha yüksek tespit edildi. Grup 2'deki TOS ve OSİ değerleri, Grup 3 ve 4'ten daha yüksek izlendi. Gruplar arasında, peroksizom proliferatör aktive reseptör- γ koaktivatör 1- α (PGC-1 α) düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Anti-oksidadan özellikteki paraoksonaz-1 (PON-1) enzim aktivitesi, Grup 1'de en düşük; Grup 4'te en yüksek düzeyde tespit edildi. mtDNA'nın devamlılığın sağlanmasında rolü olan mitokondriyal transkripsiyonel faktör A (MTFA)'nın düzeyleri, Grup 1'de, diğer tüm gruplara göre daha düşük tespit edildi. Grup 1 ve 2'de aktif ve inaktif olgularda TAS ve PGC-1 α düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı. TOS ve OSİ değerleri, sigara kullanan aktif GO'lu olgularda en yüksek değerde tespit edildi. En düşük PON-1 enzim aktivitesi ve MTFA düzeyleri, sigara kullanan GO'lu olgularda izlendi. Sonuçlarımıza göre GO'lu olgularda sigara kullanımı, OS'yi arttıran ve bu nedenle de mitokondriyal biyogenezis üzerine muhtemel olumsuz etki potansiyeline sahip bir risk faktörüdür.

Bilim Kodu	: 1010
Anahtar	: Graves' oftalmopati, mitokondriyal transkripsiyonel faktör A,
Kelimeler	oksidatif stres indeksi, paraoksonaz-1, peroksizom proliferatör aktive reseptör- γ koaktivatör 1- α , sigara kullanımı, total anti-oksidadan seviye, total oksidadan seviye
Sayfa Adedi	: 80
Danışman	: Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU

THE EFFECT OF CIGARETTE SMOKING ON MITOCHONDRIAL BIOGENESIS,
TOTAL OXIDANT STATUS AND ANTI-OXIDANT STATUS IN GRAVES'
OPHTHALMOPATHY

(Ph. D. Thesis)

Nilay YÜKSEL

GAZI UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE
February 2019

ABSTRACT

Graves' ophthalmopathy (GO) is the most frequent extrathyroidal manifestation of Graves' disease. It is thought that cigarette smoking plays an important role in emergence and prognosis of GO by increasing oxidative stress (OS). In this study, the effects of cigarette smoking on OS and mitochondrial biogenesis related parameters in patients with moderate to severe GO according to European Group on Graves' Orbitopathy (EUGOGO) criteria were investigated. For this purpose, the differences in serum levels of selected biochemical parameters in smoking GO patients (Group 1, n=30), non-smoking GO patients (Group 2, n=30), smoking healthy subjects (Group 3, n=30) and non-smoking healthy subjects (Group 4, n=30) were evaluated. In addition, GO patients were evaluated on their own as active or inactive according to clinical activity score for biochemical parameters. Total anti-oxidant status (TAS) values were found to be statistically similar among 4 groups. Total oxidant status (TOS) and OS index (OSI) values were the highest in Group 1 compared to other groups. TOS and OSI values in Group 2 were found to be higher compared to Group 3 and 4. There was no statistically significant difference in peroxisome proliferator activated receptor- γ coactivator1- α (PGC-1 α) levels among the groups. Paraoxonase-1 (PON-1) enzyme activity, which has an anti-oxidant property, was the lowest in Group 1 and highest in Group 4. The levels of mitochondrial transcriptional factor A (MTFA) which has a role in maintaining continuity of mtDNA was the lowest in Group 1 compared to other groups. There were no statistically significant difference in terms of TAS ve PGC-1 α levels between active and inactive GO patients in Group 1 and 2. TOS and OSI values were found highest in smoking active GO patients. The lowest PON-1 enzyme activity and MTFA levels were detected in smoking active GO patients. According to our results, cigarette smoking in GO patients is a risk factor that increases OS and for this reason it has an unfavorable impact potential on mitochondrial biogenesis.

Science Code : 1010

Key Words : Graves' ophthalmopathy, mitochondrial transcriptional factor A, oxidative stress index, paraoxonase-1, peroxisome proliferator activated receptor- γ coactivator1- α , smoking, total anti-oxidant status, total oxidant status

Page Number : 80

Advisor : Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU

TEŞEKKÜR

Her ne kadar bilimsel ve akademik bir sürecin sonu gibi görünse de her tez, içinde çok daha fazlasını barındırır...

Önce beyin çalışır; sayfalara bilgileri, bildiklerini dökmek için... Ta ki sıra teşekkür sayfasına gelene kadar. Çünkü artık sıra yürektedir... Birikmiştir söyleyecekleri:

Hepsi hayata dair... Artanlar-azalanlar, gidenler-kalanlar, öğrenilenler-unutulanlar, olmasa da olurmuşlar- iyi ki varlar.. Ama en önemlisi hep güzel hatırlanacaklar...

İşte şimdi unutulmayacak değerli insanlara teşekkür vakti...

Doktora eğitimi ve tez hazırlama sürecinin zorlu her aşamasında, değerli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, bu yolu tamamlamak konusunda en büyük desteği veren ve daima kolaylaştıran değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU'na, teorik derslerimde bilgi ve tecrübelerini paylaşan, yolumun kesiştiği Gazi Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine, tezimin laboratuvar çalışmaları sırasında, her türlü sabrı gösteren, mesleğine olan hakimiyetini daima örnek alacağım ve iyi ki tanıdığım Öğretim Görevlisi Dr. Özge Tuğçe PAŞAOĞLU'na, doktora öğrenciliğimi, keyifli bir yol arkadaşlığına çeviren sevgili arkadaşım biyolog Ayşe ŞENELMİŞ'e ve son olarak hayattaki en büyük şanslarım olan sevgili eşim Dr. Öğretim Üyesi Erdem YÜKSEL'e ve canım kızım Beray YÜKSEL'e minnetle teşekkür ediyorum.

“Dünya'nın Gördüğü her büyük başarı, önce bir hayaldi. En büyük çınar bir tohumdu, en büyük kuş bir yumurtada gizliydi.

Edgar Allen Poe”

Bu çalışma, 03/08/2018 tarihinde 01/2018-27 proje koduyla Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vi
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Graves’ Oftalmopati Etyopatogenezi	4
2.1.1. Oksidatif stresin rolü	7
2.1.2. Sigaranın rolü	9
2.2. Graves’ Oftalmopatide Klinik Bulgular	10
2.3. Graves’ Oftalmopatide Hastalık Aktivite ve Ciddiyetinin Değerlendirilmesi ...	12
2.4. Graves’ Oftalmopatide Tedavi	15
2.4.1. Antioksidan tedavinin yeri.....	17
2.4.2. Sigaranın tedaviye etkisi.....	19
2.5. Oksidatif Stres	20
2.6. Mitokondriyal Biyogenezis	21
2.7. Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör- γ Koaktivatör 1- α (PGC-1 α).....	22
2.8. Mitokondriyal Transkripsiyonel Faktör A (MTFA).....	23
2.9. Paraoksonaz-1 (PON-1)	24
2.10. Total Anti-oksidan Seviye (TAS), Total Oksidan Seviye (TOS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ).....	25

	Sayfa
3. YÖNTEM	27
3.1. Hasta ve Kontrol Grubu	27
3.2. Örnek Alınması ve Hazırlanması	28
3.3. Kullanılan Aletler ve Cihazlar.....	28
3.4. Metodların Uygulanması.....	29
3.4.1. Serum TAS analizi.....	29
3.4.2. Serum TOS analizi.....	29
3.4.3. Oksidatif stres indeksi analizi.....	29
3.4.4. Serum PON-1 enzim aktivitesi analizi	29
3.4.5. Serum MTFA analizi	30
3.4.6. Serum PGC-1 α analizi	32
3.4.7. Tiroid fonksiyon testleri ve TSHR-Ab düzeylerinin ölçülmesi.....	35
3.5. Verilerin Analizi.....	35
4. BULGULAR	37
4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik Özellikleri	37
4.2. Serum TAS – TOS Düzeyleri ve OSİ	39
4.3. Serum PON-1 Enzim Aktivitesi.....	42
4.4. Serum PGC-1 α Düzeyleri	42
4.5. Serum MTFA Düzeyleri.....	43
4.6. GO Aktivitesine Göre Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi	44
4.7. Sigara Kullanan GO Olgularında Günde Kullanılan Sigara Sayısı ve Biyokimyasal Parametrelerin Korelasyonu	46
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ	55
KAYNAKLAR	57
EKLER	73

	Sayfa
EK-1. Etik Kurul raporu	74
ÖZGEÇMİŞ	76

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Klinik aktivite skoru kriterleri	13
Çizelge 2.2. EUGOGO çalışma grubunun hastalık ciddiyeti sınıflandırması.	14
Çizelge 3.1 MTFA kit standartlarının hazırlanışı	30
Çizelge 3.2. Serum MTFA analizi	31
Çizelge 3.3. PGC-1 α kit standartlarının hazırlanışı	33
Çizelge 3.4. Serum PGC-1 α analizi	33
Çizelge 4.1. GO ve kontrol gruplarının demografik özellikleri.....	38
Çizelge 4.2. Sigara kullanan ve kullanmayan GO'lu olguların klinik özellikleri.....	38
Çizelge 4.3. GO ve kontrol gruplarında biyokimyasal parametrelerin değerleri.....	39
Çizelge 4 4. Sigara kullanan ve kullanmayan GO'lu olgularda aktivasyon durumuna göre biyokimyasal parametreler	45
Çizelge 4.5. Sigara kullanan GO'lu olgular ile biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizi.....	46

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Graves' oftamopati etyopatogenezi	5
Şekil 2.2. Graves' oftalmopatide orbital fibroblastların tiroid stimulan antikorlara cevabı.....	6
Şekil 2.3. Graves' oftalmopatide orbital fibroblastların rolü.....	7
Şekil 2.4. Rundle eğrisi.....	12
Şekil 2.5. Graves' oftalmopatide tedavi algoritması	15
Şekil 2.6. PGC-1 α 'nın TFAM ve NRF-2 üzerinden mitokondriyal biyogenezisi regülasyonu	22
Şekil 2.7. PON-1 enziminin fonksiyonu	24
Şekil 3.1. Serum MTFA standart eğri grafiği	32
Şekil 3.2. Serum PGC-1 α standart eğri grafiği	34
Şekil 3.3. PGC-1 α ELISA kit görüntüsü.....	35
Şekil 4.1. Çalışma gruplarında serum TAS düzeyleri.....	40
Şekil 4.2. Çalışma gruplarında serum TOS düzeyleri.....	41
Şekil 4.3. Çalışma gruplarında OSI düzeyleri	41
Şekil 4.4. Çalışma gruplarında serum PON-1 enzim aktivitesi düzeyleri	42
Şekil 4.5. Çalışma gruplarında serum PGC-1 α düzeyleri.....	43
Şekil 4.6. Çalışma gruplarında serum MTFA düzeyleri	44

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Graves' oftalmopatili bir olguda proptozis, kapak ödemi ve üst kapak retraksiyonu.	10
Resim 2.2. Ekstraoküler kaslarda, glikozaminoglikan birikimine bağlı anormal kalınlaşma.....	11
Resim 2.3. Aktif fazda olan Graves' oftalmopatili bir olgu. Belirgin konjonktival ödem, konjonktival hiperemi ve karünkül ödemi izleniyor.....	13
Resim 2.4. Belirgin proptozisi olan orta-ciddi Graves' oftalmopatili bir olgu.....	14
Resim 2.5. Aktif fazda olan bir olgu ve IV steroid tedavisi sonrası görünümü.....	16

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Kısaltmalar	Açıklamalar
ATP	Adenozin trifosfat
CASQ	Kalsekestrin
CREB	cAMP yanıt elemanı
CTGF	Bağ doku büyüme faktörü (Connective tissue growth factor)
DNA	Deoksiribo nükleik asit
ERRα	Östrojen ilişkili reseptör α (Eustrogen related receptor α)
GAG	Glikozaminoglikan
GH	Graves' hastalığı
GO	Graves' oftalmopati
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GST	Glutasyon S transferaz
GSH	Redükte glutasyon
GSSG	Oksidize glutasyon
HA	Hyalüronik asit
HIF-1	Hipoksi indüklenabilir faktör-1 (Hypoxia inducible factor-1)
HSP	Isı şok proteini (Heat shock protein)
H₂O₂	Hidrojen peroksit
IFN	İnterferon
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
IGF1-R	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 reseptörü
IL-	İnterlökin-
KAS	Klinik aktivite skoru
KAT	Katalaz
MDA	Malondialdehit
NRF-1 ve NRF-2	Nükleer respiratuar faktör 1 ve 2
PGC-1α	Peroksizom proliferatör aktive reseptör- γ koaktivatör 1- α
PON	Paraoksonaz

Kısaltmalar	Açıklamalar
PON-1	Paraoksonaz-1
PPAR	Peroksizom proliferatör – aktive reseptör
OKSFOS	Oksidatif fosforilasyon
OS	Oksidatif stres
RNA	Ribo nükleik asit
ROT	Reaktif oksijen türleri
Se	Selenyum
SLE	Sistemik lupus eritematozis
SOD	Süperoksit dismutaz
mtDNA	Mitokondriyal DNA
MTFA	Mitokondriyal transkripsiyonel faktör A
Mn-SOD	Manganez-Süperoksit dismutaz
TAS	Total anti-oksidan seviye
TGF	Transforme edici büyüme faktörü
TH	T-yardımcı hücreler
TNF	Tümör nekrozis faktör
TOS	Total oksidan seviye
TSİ	Tiroidi stimüle edici immünglobülin
TSH	Tiroid stimülan hormon
TSHR-Ab	TSH reseptör antikoru
TSH-R	TSH reseptörü
TxR	Thioredoksin
YY1	Ying yang 1 transkripsiyon faktör
8-OHdG	(8-hidroksi 2'-deoksiguanozin
O2-	Süperoksit anyonu

1. GİRİŞ

Graves' hastalığı (GH), hipertiroidizm, toksik diffüz guatr, oftalmopati ve deri tutulumu ile karakterize otoimmün bir hastalıktır [1]. Graves' oftalmopati (GO) – bilinen diğer adlarıyla: tiroid ilişkili oftalmopati veya tiroid göz hastalığı – sıklıkla otoimmün tiroid disfonksiyonu ile ortaya çıkan, GH'nın en sık görülen ve en önemli tiroid dışı bulgusudur. Orbital yağ dokusu, çizgili kaslar ve lakrimal bezde genişleme ve skarlaşmaya neden olan otoimmün orbital enflamasyonla karakterizedir [2, 3].

GO, tüm dünyada en sık görülen orbital hastalıktır ve prevalansı %0.5-2 arasındadır ve tüm ırkları etkileyebilir. Kadınlarda, erkeklere göre 4 kat daha fazla görülür [4, 5]. Her ne kadar kendini sınırlayan bir hastalık olsa da hem kalıcı görme kaybına neden olabilme hem de ciddi kozmetik bozukluğa neden olabilme potansiyeli nedeniyle hayat kalitesinde azalmaya eden olmaktadır [6].

GO'nun etyopatogenezi henüz tam olarak anlaşılamamıştır. En sık kabul edilen hipotez, tiroid ve orbitada ortak bulunan antijenleri tanıyan otoreaktif T lenfositlerin, orbital dokuları ve göz dışı kasları infiltre etmesidir. Bu otoimmün hücrelerin anormal birikimi ile çeşitli sitokinler, büyüme faktörleri ve reaktif oksijen türlerinin (ROT) salınımının olduğu bir kaskad başlar. Bu durum, orbita içerisinde adiposit ve fibroblast proliferasyonunu tetikler. Sonuçta, artmış glikozaminoglikan (GAG) birikimi ve buna bağlı olarak dokuların su tutması ile ödem ve konjesyon meydana gelir [1].

Oksidatif stres (OS), ROT üretilmesiyle, organizmanın bu reaktif ara ürünleri kolayca detoksifiye etme ya da oluşan hasarı onarma yeteneği arasındaki bir dengesizliği belirtir. Günümüzde, nörodejeneratif, kardiyovasküler, diyabetes mellitus, kanser gibi pek çok önemli hastalığın OS ile ilişkisi gösterilmiştir [7]. Yapılan çalışmalar, otoimmün hastalıkların da, sebep veya sonuç olarak, OS ile ilişkili olabileceğine dikkat çekmektedir [8].

Otoimmün hastalıklar içinde en sık görülenlerden biri olan GH ve onun en ciddi tiroid dışı komplikasyonlarından olan GO'nun OS ile ilişkisini araştıran ve destekleyen pek çok bilimsel çalışma mevcuttur [9-15]. GO'lu hastaların takiplerinde, sigara kullanımının klinik

tabloyu kötüleştirdiği gözlemlenmiştir [16]. Bu durumun, sigaranın ROT oluşumunu yani OS'yi arttırmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Hücresinin alt birimi olan organellerden olan ve enerji üretimini gerçekleştiren mitokondri, sorumlu olduğu oksidatif fosforilasyon (OKSFOS) nedeniyle ROT'larla yakın ilişki içindedir. Mitokondri, nükleus dışında, kendi DNA'sına sahip tek organelidir. Ancak, DNA tamir enzimleri, nükleusa göre çok daha az bulunmaktadır.

Mitokondri, hem OS'in kaynağı hem de OS'e en yakından maruz kalan hücresel yapı olarak bilinmektedir. Daha önce yapılan çalışmalarda, GO'lu hastalarda çeşitli mitokondriyal enzimlerde etkilenme olduğu gösterilmiştir.

Mitokondriyal fonksiyonların düzgünlüğünü yani biyogenezisi düzenleyen iki protein, mitokondriyal transkripsiyonel faktör A (MTFA) ve peroksizom proliferatör aktive reseptör- γ koaktivatör 1- α (PGC-1 α)'dür [17]. OS durumlarında, sentezleri artarak, mitokondriyal fonksiyonların devamlılığını sağlarlar.

Paraoksonazlar (PON), mitokondri ve mitokondri ilişkili membranlarla ilişkilidir. Mitokondri ilişkili süperoksit üretimini kontrol ederler ve apoptozisi önlerler. Mitokondriyal disfonksiyonu önlemede önemli rolleri vardır [18].

Biz de bu çalışmamızda, GO'nun prognozunda kötüleşmeye yol açtığı bilinen sigaranın, olası etki mekanizmasını, OS'in hem kaynağı hem de etkileneni olarak görünen mitokondri üzerinden araştırmayı amaçladık. Bu doğrultuda, sigara kullanan ve kullanmayan GO'lu hastaların serumlarında, mitokondriyal biyogenezisi değerlendirmeyi sağlayan moleküller olan MTFA, PGC-1 α ile organizmanın genel oksidan ve anti-oksidan durumu hakkında bilgi veren total oksidan seviye (TOS), total anti-oksidan seviye (TAS), PON-1 düzeylerini çalışmayı planladık.

GO'ya neden olan ve klinik tabloyu kötüleştiren nedenlerin ve bunların mekanizmalarının anlaşılmasının, yeni medikal seçeneklerin geliştirilmesine, önlemlerin alınmasına yardımcı olacağını düşünmekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

GO, %80 oranında GH ile birlikte görülürken; tiroid kanserleri veya Hashimoto tiroiditine bağlı otoimmün hipotiroidi olgularında (%10) ve hiçbir tiroid hastalığı olmayan bireylerde de (%10) görülebilir [19].

Otoimmün hastalıklar içerisinde en sık görülenlerden biri GH'dır. Serumda bulunan TSH reseptör otoantikorları (TSHR-Ab) ile karakterize olan ve hipertiroidizme yol açan bir hastalıktır. GO, GH'nın en sık tiroid dışı bulgusudur ve GH olan hastaların %25-50'sini etkilemektedir. GO, kesin sebebi bilinmemekle beraber, otoimmün zemini olan enflamatuvar bir hastalık olarak kabul edilmektedir [9]. Otoimmüitenin tetiklediği kronik enflamasyon, artmış ROT'lar ile karakterizedir. Fizyolojik koşullarda, antioksidan sistem (superoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon (GSH), vitamin C ve vitamin E), ROT'a bağlı hasarı engellemek için çalışır. Hücrenin redoks durumunun stabil olması, hücre homeostasisinin, yani yaşamın devam edebilmesi için gereklidir. Bu dengenin ROT üretimi lehine bozulması, OS olarak adlandırılır.

Günümüzde kanser, nörodejeneratif hastalıklar, yaşlanma ve diyabetes mellitus gibi pek çok hastalığın etyolojisi gibi, GH da OS ile ilişkili bulunmuştur [20, 21]. Otoimmünite ilişkili kronik enflamasyon yanında, artmış olan tiroid hormonları da, bazal metabolizma hızını ve hücrel oksidatif metabolizmayı hızlandırarak ROT üretimini arttırmakta ve OS'ye neden olmaktadır [22]. Hem OS'yi gösteren, hem de antioksidan sistemi oluşturan pek çok parametre, GO'da, kan, idrar ve orbital fibroadipoz dokuda geniş olarak çalışılmıştır [9, 10, 13, 15]. Ayrıca, GO'yu şiddetlendiren bir faktör olarak bilinen sigaranın da OS'yi arttırarak etki ettiği düşünülmektedir [23]. Bu hastaların tedavisinde anti-tiroid tedaviye ek olarak antioksidanların eklenmesi de önerilmektedir [24]. GH'da sigara kullanımının rekürrensi artırdığı yapılan çalışmalarda belirtilmiştir [25]. Yine, sigara kullanımının, GO tablosunda kötüleşmeye neden olduğu ve GO'da uygulanan tedavilerin başarısını azalttığı da gösterilmiştir [26, 27].

GO, hafif oküler irritasyondan, ciddi şekil bozuklukları ve kalıcı görme kaybına kadar uzanan geniş yelpazede bulgulara neden olabilir [28]. Olguların çoğunda hafif oküler semptomlar mevcutken, görmeyi tehdit eden komplikasyonlar olguların %3-5'inde görülür

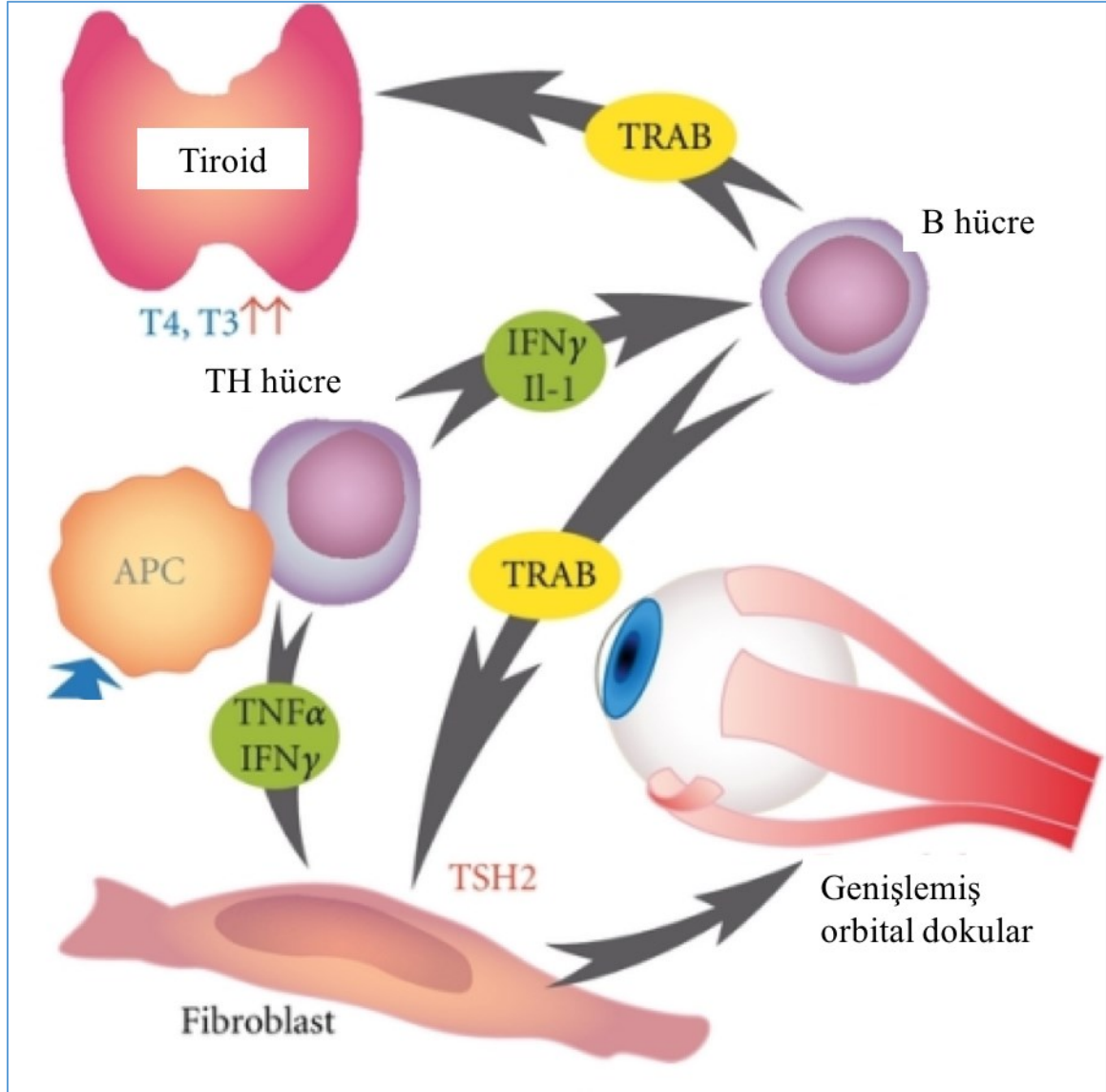
ve sıklıkla kompresif optik nöropati ve ekspozur korneal ülserasyona bağlı meydana gelir [29].

2.1. Graves' Oftalmopati Etyopatogenezi

GH, temel olarak TSH reseptörlerine (TSH-R) karşı gelişmiş otoantikörlerin sebep olduğu bir hipertiroidizm durumudur. GO gelişmesinin patofizyolojik mekanizmaları oldukça karmaşıktır ve tam olarak aydınlatılmaya ihtiyacı vardır.

GO etyopatogenezinde temel mekanizmanın, retroorbital bazı proteinlerin tiroid proteinleriyle benzerliğinin tetiklediği otoimmün reaksiyonlar olduğu kabul edilmektedir. Ortak antijen olarak görev yapan bu proteinin TSH-R olduğu, otoimmünitenin bu proteine karşı geliştiği düşünülmektedir. TSH-R proteinin, retroorbital fibroblastlar ile yağ dokuda bulunması ve GH'nın nedeni olan tiroidi stimüle edici immünglobülinlerin (TSİ) retroorbital fibroblastlardaki TSH-R'ye bağlanması GO'yu başlattığı hipotezi günümüzde kabul görmektedir (Şekil 2.1). GO klinik tablosunun, GH dışında farklı tiroid hastalıklarında hatta ötiroid olgularda görülmesi TSH-R'den başka faktörlerin de patogeneizde rol alabileceğini düşündürmektedir. GO'lu olguların orbital fibroblastlarında insülin benzeri büyüme faktörü-1 reseptörünün de (IGF-1R) artmış ekspresyonu tespit edilmiştir [30]. Ekstraoküler kaslar ve levator kasının etkilendiği GO'lu olgularda yapılan bir çalışmada, kalsiyum bağlayıcı protein kalsekstrinin (CASQ) gen ekspresyonu araştırılmış ve kalsekstrin-1'in, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber, 4,1 kat arttığı gösterilmiştir. Kardiyak kalsekstrin (CASQ-2) gen ekspresyonundaki up-regülasyonun patogeneizde rolü olabileceği öne sürülmüştür [31]. Orbital fibroblast membran antijen kollajen VIII, otoimmüniteyi tetikleyen diğer bir protein olarak araştırılmıştır [28].

Salvi ve ark., 64kDa'lık bir proteini hem tiroid bezi hem orbitada tanımlamışlardır [32].



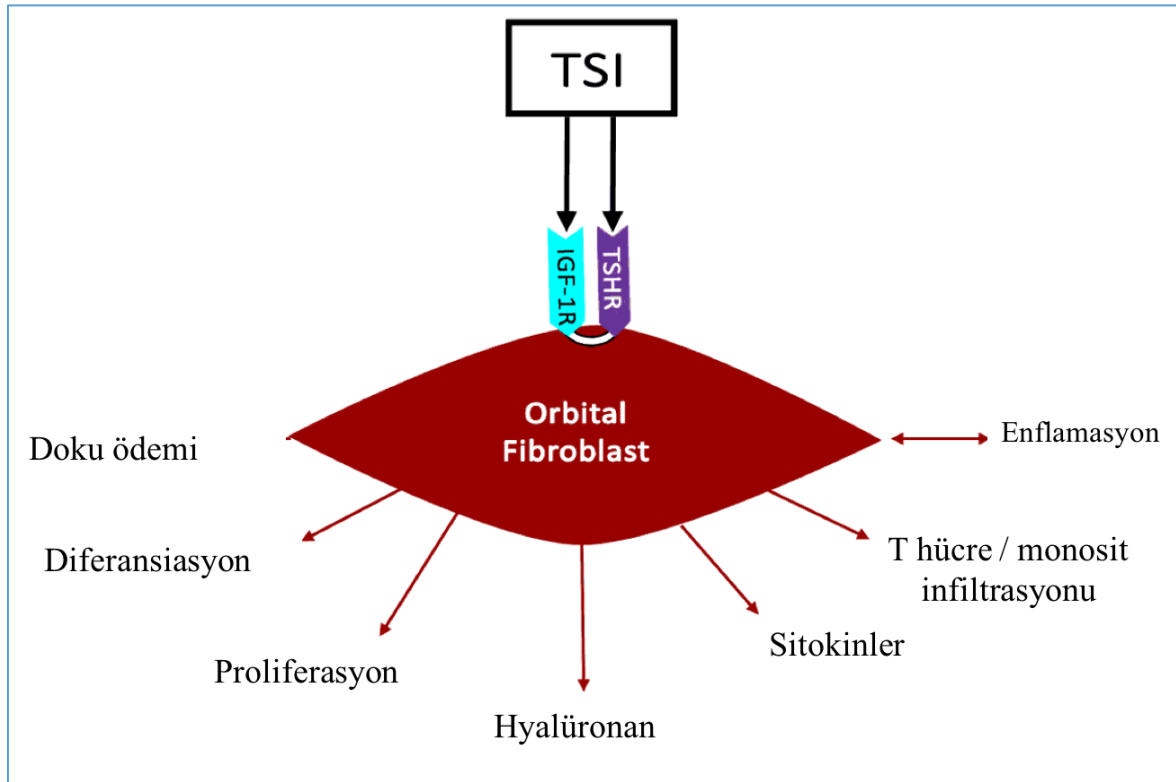
Şekil 2.1. Graves' oftamopati etyopatogenezi

Tiroid bezi ve orbitadaki ortak antijene karşı uyarılmış T lenfositler, orbitayı infiltre ederler. Orbital fibroblastlar, bu immün hücreler tarafından salınan sitokinlerin ana hedefidir [2, 33]. Erken GO'da, orbitada ağırlıklı olarak CD4+ T hücreler bulunurken; bunlara ilave olarak CD8+ T hücreler, makrofajlar, plasma hücreler ve B hücreleri ekstraoküler kaslar ve adipoz dokuda bulunur [34, 35]. Hastalığın başlangıç dönemlerinde, Tip 1 T-yardımcı (TH) hücreler IL-2, IFN- γ ve TNF- α gibi sitokinleri salarlar [2]. Hastalık, kronik faza ilerledikçe Tip 2 TH hücreler, diğer sitokinlere ilave olarak IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 [36] üretirken; makrofaj, fibroblast ve adipositler IL-1, IL-6, IL-16 ve TGF- α sentezleyip salarlar [2, 37].

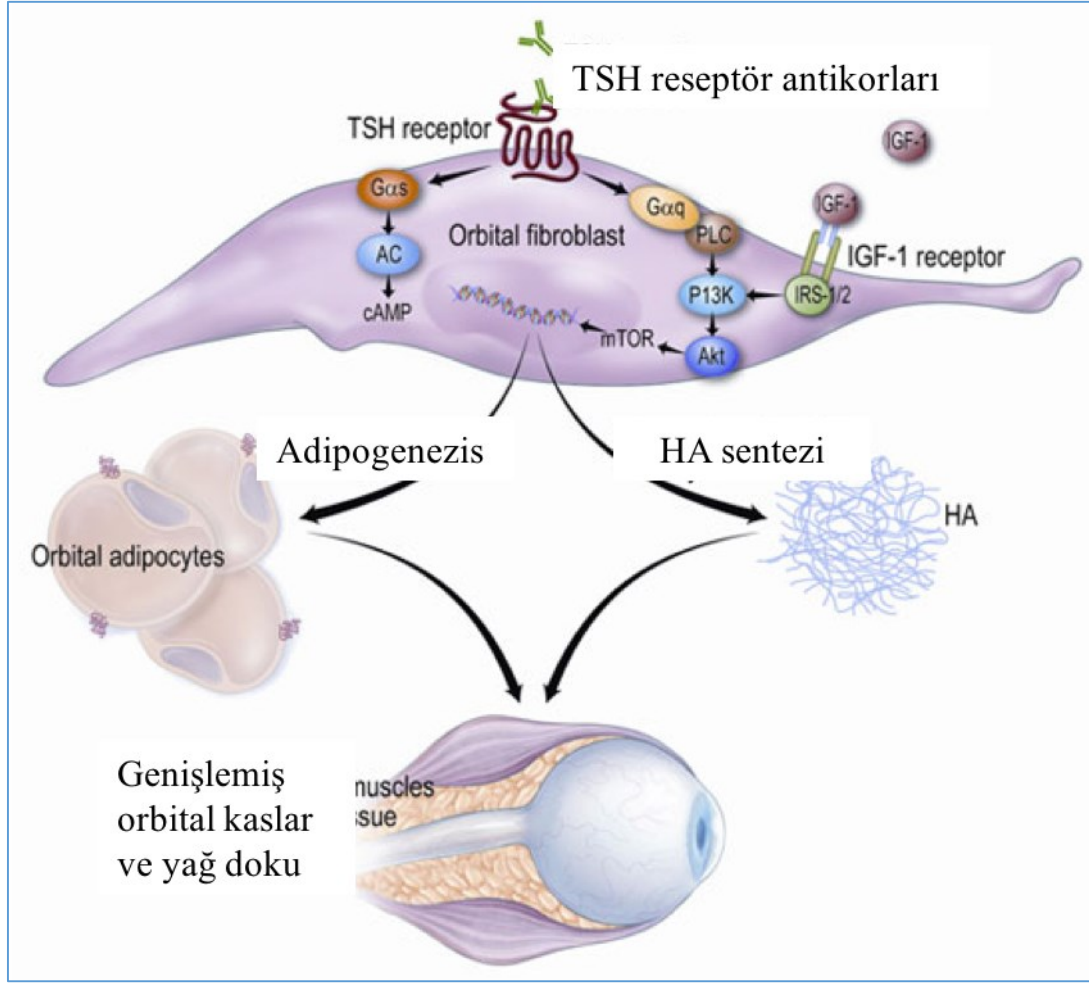
Orbital fibroblastlar bu sitokinlere, daha fazla sitokin salınımı, GAG (özellikle hyalüronik asit (HA)) sentezi, prostoglandinlerin ve profibrotik faktörlerin salınımı ile cevap verirler

[33] (Şekil 2.2). Sitokinlerin etkisiyle sentez ve salınımı artan GAG'lar, sıvı çekme özellikleri nedeniyle periorbital ödem, ekstraoküler kaslarda şişme ve nihayetinde proptozise neden olurlar [38]. Ayrıca, bu süreçte fibroblastların adipositlere diferansiasyonu ile orbita yağ dokusunda genişleme görülür [39, 40] (Şekil 2.3). Orbita içinde artan TGF- β düzeyleri ile fibroblastlar miyofibroblastlara dönüşür ve fibroziste rol alırlar [2, 41]. GO olgularının orbitalarında çok sayıda CD34+ fibrositler tespit edilmiştir [42, 43]. Bu hücreler, TSH-R ve IGF-1 reseptör ekspresyon etmelerine ikincil olarak GO patogenezinde önemli rol alıyor olabilirler [30, 44].

GO endojen yani değiştirilemez (yaş, cinsiyet, genetik faktörler) ve çevresel yani değiştirilebilir (sigara kullanımı, radyoiodin, yüksek TSHR-Ab seviyeleri, OS) risk faktörlerinin arasındaki kompleks mekanizmalar ile ortaya çıkan bir klinik durumdur [45, 46].



Şekil 2.2. Graves' oftalmopatide orbital fibroblastların tiroid stimulan antikorlara cevabı



Şekil 2.3. Graves' oftalmopatide orbital fibroblastların rolü

2.1.1. Oksidatif stresin rolü

Orbital fibrodiapöz dokuları infiltrate eden lenfositlerin aktivasyonu, artmış sitokin, büyüme faktörleri ve ROT salınımının olduğu olaylar kaskadını başlatır [20, 30]. Enflamatuar süreç, orbital fibroblastların proliferasyonuna neden olur. Orbital fibroblastlar, önce preadipositlere, sonra adipositlere diferansiye olurlar ve fazla miktarda hidrofilik GAG'ların - özellikle HA- sentez ve salınımı yaparlar [30]. Sonuç olarak, orbital yapıların hacmi artar ve GO'nun klinik bulguları ortaya çıkar.

GO patogeneğinde pek çok farklı mekanizmanın iç içe geçtiği kabul edilmekle beraber, bu karışık tablonun merkezinde OS'nin bulunduğu inanılmaktadır [20, 30, 47].

OS ilişkili in vitro çalışmalar GO'lu hastalardan elde edilen orbital fibroblast kültürlerinde yapılmıştır. Heufelder ve ark., ısı şok proteini (HSP) - 72'nin, stres koşulları altında, GO

fibroblastlarında, kontrol fibroblastlara göre ekspresyonunda artış tespit etmişlerdir [48]. Aynı yazarlar, GO fibroblastlarının eş zamanlı veya önceden anti-oksidan ya da anti-tiroid ilaçlarla tedavi edilmesinin OS'yi azalttığını rapor etmişlerdir. Tsai ve ark., orbital fibroadipoz dokuda ve orbital fibroblast kültürlerinde yaptıkları çalışmada oksidatif DNA hasar belirteci olarak bilinen 8-hidroksi 2'-deoksiguanozin (8-OHdG), lipid peroksidasyonunu gösteren malondialdehit (MDA) ve intraselüler ROT miktarını ölçmüşlerdir [10]. GO fibroblastlarında, kontrol fibroblastlarına göre daha yüksek 8-OHdG, MDA ve ROT miktarı tespit etmişlerdir. Tsai ve ark.'nın bir diğer orbital fibroblast kültür çalışmasında, GO fibroblastlarında, MDA, 8-OHdG, süperoksit anyonu ($\cdot\text{O}_2^-$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve Mn-SOD (Manganez-Süperoksit dismutaz) aktivitesinin bazal seviyelerinin daha yüksek olduğunu; ortama H_2O_2 eklenmesiyle ROT miktarının arttığı ve GO fibroblastlarında OS'ye bir hipersensitivite olduğu gösterilmiştir [11]. Tsai ve ark., GO orbital fibroblastlarında, düşük ve yüksek doz (50 μM) H_2O_2 'nin etkisini incelemişler ve düşük doz (6.25 μM) H_2O_2 'nin fibroblast proliferasyonunu stimüle ettiğini, pro-enflamatuar sitokin salınımını arttırdığını izlemişlerdir. N-asetilsistein ve vitamin C gibi anti-oksidanların ortamda olmasının pro-enflamatuar sitokin salınımı ve fibroblast proliferasyonu üzerine olumlu etkilerini bildirmişlerdir [49].

Burch ve ark., GO fibroblastlarının daha fazla süperoksit-indüklenmiş proliferasyon gösterdiklerini rapor etmişlerdir [50]. Farklı bir çalışmada, hem normal hem de GO'lu olgulardan elde edilen kültüre orbital fibroblastlarda, IL-1 β 'nin indüklediği GAG akümüülasyonunun arttığı izlenmiştir [51].

In vitro çalışmaların yanında, GO ve OS ilişkisini gösteren klinik çalışmalar da mevcuttur. Hondur ve ark., GO'lu olgulardan elde ettikleri fibroadipoz dokuda, lipid hidroperoksit düzeylerinin ve SOD, GPx, GR enzim aktivitelerinin arttığı izlenirken; anti-oksidan bir molekül olan GSH'ın azaldığı izlenmiştir [15].

GO'lu hastalarda, göz yaşında OS'yi değerlendirmek için ölçülen 8-OHdG ve MDA düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek tespit edilmiştir [52]. Bednarek ve ark., GO'su olan ve olmayan 47 GH'li hastada, plazma SOD ve KAT seviyelerinde, kontrol grubuna göre artış tespit etmişlerdir [53]. Bu çalışma grubunda, ötiroidizmin sağlanması sadece GO olmayan GH'li hastalarda biyokimyasal parametrelerde normalizasyon sağlamıştır.

Yazarlar, bu sonuçlara göre orbital enflamasyonun da serum OS belirteçlerini ayrıca arttırdığını ifade etmişlerdir.

Bir başka çalışmada, sistemik oksidatif DNA hasar belirteci olarak üriner 8-OHdG'nin, sağlıklı bireylere kıyasla, aktif GO'lu olgularda daha yüksek olduğu tespit edilmiştir [9].

2.1.2. Sigaranın rolü

Sigara dumanının, orbitayı çevreleyen sinüslerle direkt ilişki halinde olduğundan veya indirekt olarak kan dolaşımı yoluyla orbital boşlukta ROT üretimini artırarak etki ettiği düşünülmektedir [54].

Sigara kullanımı, GO'nun ortaya çıkması veya kötüleşmesi için en çok önemsenen çevresel risk faktörlerden biridir ve bu risk günlük içilen sigara adedi ile paralel artış gösterir [46, 55, 56]. İlave olarak, sigara kullanımının GO'da tedaviye kötü cevapla ilişkili olduğu [57-59] ve sigarayı bırakmanın, GO'yu önlemede bilinen tek yöntem olduğu bilinmektedir [60, 61]. Plack ve ark., aktif ciddi GO'da intraorbital yağ dokusunda, IL-1 β ve IL-6 düzeylerinin sigara kullananlarda kullanmayanlara göre sırasıyla 2,3 ve 2,4 kat daha fazla eksprese olduğunu izlenmişlerdir [62]. Bu çalışmaya göre, sigara kullanımının adipogenezis ve enflamasyonla ilgili yolları aktive ettiği düşünülmektedir. Kau ve ark., GO orbital fibroblast kültürlerinde sigara özütü eklenmesine yanıt olarak bağ doku büyüme faktörü (CTGF) geninin ekspresyonunda ve intraselüler IL-1 β ve TGF- β 1'de artış tespit etmişlerdir [63]. Benzer şekilde, kültüre orbital fibroblastlarda, sigara özütünün IL-1 ve ROT üretimini artırma yoluyla adiposit diferansiasyonunu stimüle ettiği rapor edilmiştir [54, 61]. Mack ve ark., tütün ürünlerine maruz bırakılan orbital fibroblastlarda, HLA-DR ve adhezyon moleküllerinin ekspresyonunun artışı rapor etmişlerdir [64]. GO orbital fibroblastlarında, sigara özütünün, kontrol fibroblastlara göre zaten yüksek olan hipoksi-indüklenebilir faktör-1 (HIF-1) seviyelerini daha da arttırdığı gösterilmiştir [65]. Yazarlar, sigaranın oluşturduğu hipoksik ortamın, HIF-1 ilişkili yollar üzerinden anjiogenezis ve adipogenezisi stimüle ederek, GO'da doku yeniden modellenmesine yol açtığını öne sürmüşlerdir.

Klinik çalışmalarda ise, tedavi edilmemiş GO olgularında, sigara kullanımının ekstraoküler kas hacimlerinde artışla birliktelik gösterdiği rapor edilmiştir [66]. Hafif GO'ya sahip GH olan kişilerde, yüksek doz radyoiyodin tedavisinin, steroid profilaksisi altında uygulansa

bile, sigara kullananlarda GO'da progresyona neden olduğu gösterilmiştir [67]. Radyoiyodin tedavisi sonrası, serum TSHR-Ab düzeylerindeki artışın sigara kullananlarda daha yüksek olduğu belirtilmiştir. Daha eski bir retrospektif çalışmada da, sigarayı bırakmanın ekzoftalmus ve diplopi riskini azalttığı vurgulanmıştır [56]. Bununla birlikte, GO'da şaşılık gelişimi için prognostik faktörlerin değerlendirildiği klinik bir çalışmada, aktif sigara kullanımı ile ilişki saptanmamıştır [68]. Lee ve ark., sigara kullanımının GO ciddiyeti ve optik nöropati gelişimi için prediktif bir risk faktörü olduğunu belirtmişlerdir [69]. Tüm bu bulgular, sigaranın OS'yi arttırmak yoluyla GO patogenezinde yer alabileceğini işaret etmektedir.

2.2. Graves' Oftalmopatide Klinik Bulgular

GO, GH'nın %25-50'sinde, Hahimoto tiroiditli olguların 1/3'ünde ortaya çıkar. GO, çoğunlukla bilateral ancak asimetrik göz tutulumu ile karakterizedir [1]. GO'nun en sık bulgu ve semptomları, ekstraoküler kasların insersiyö bölgelerindeki damarlarda kızarıklık, oküler yüzey irritasyonuna bağlı epifora, çift görme ve göz arkasında basınç hissidir [2]. En sık klinik bulgular sırasıyla, göz kapağı retraksiyonu (%90), proptozis (%60) ve şaşılıktır (%40) [70] (Resim 2.1).

Yumuşak doku tutulumu, GO'nun en erken bulgusudur. Periorbital ödem, konjonktival hiperemi, kemozis ve süperior limbik keratokonjonktivit ile kendini gösterebilir. Yumuşak doku tutulumu olan olgularda, yabancı cisim hissi, buna bağlı epifora, göz kapakları ve konjonktivada ödem ve hiperemi, bulanık görme ve retroorbital ağrı gibi semptomlar görülebilir.

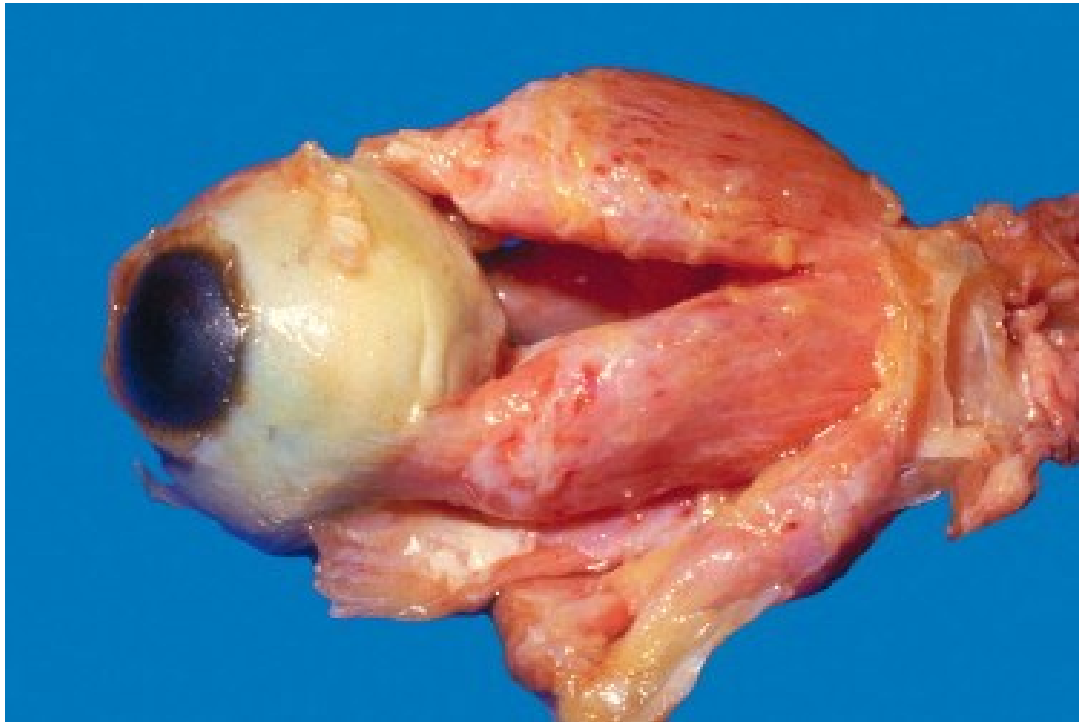


Resim 2.1. Graves' oftalmopatili bir olguda proptozis, kapak ödemi ve üst kapak retraksiyonu

Göz kapağı retraksiyonu, azalmış göz kırpma sıklığı, artmış göz yaşı buharlaşması ve tam olmayan göz kapağı kapanması (lagofthalmus) ile birlikte semptomatik göz kuruluğuna neden olur.

Proptozis, orbital yağ ve ekstraoküler kaslar gibi orbita içeriğini oluşturan yapılarda genişleme nedeniyle ortaya çıkar ve gözün öne itilmesiyle karakterizedir. %90 bilateral izlenir. Hipertiroidizm tedavisine yanıt vermez ve olguların %70'inde kalıcıdır. Minimal proptozisi olan olguların, kompartman sendromuna yol açması nedeniyle, daha fazla kompresif optik nöropatiye neden olduğu gösterilmiştir.

Restriktif şaşılık, GO'da, ekstraoküler kasların enflamasyonu ve fibrozisine sekonder ortaya çıkar. Histopatolojik olarak, kas liflerinin yapısı normal olmasına rağmen, kas liflerinin sıvı, yağ, GAG birikimi nedeniyle ayrılması ve fibrozis, skar ve lökosit infiltrasyonu izlenir (Resim 2.2). En sık inferior rektusu, azalan sırayla medial, superior, lateral rektus ve oblik kasları tutar [2].

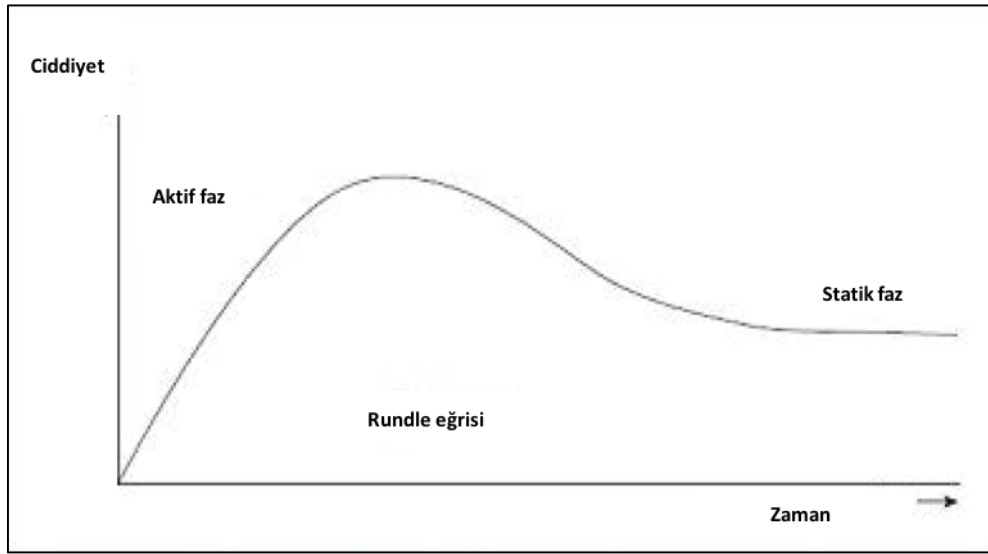


Resim 2.2. Ekstraoküler kaslarda, glikozaminoglikan birikimine bağlı anormal kalınlaşma

Görmeyi tehdit eden, korneal ülserasyon ve kompresif optik nöropati gibi komplikasyonlar daha nadir (%3-5) olup acil ve agresif tedavi gerektirirler [29]. Korneal ülserasyon, ciddi

proptozise bağlı göz kapağının kapanmaması ile ortaya çıkar. Kompresif optik nöropati ise, genişlemiş eksta-oküler kasların, orbitanın sabit kemik duvarları arasında, optik sinire veya onu besleyen vasküler yapılara basınç uygulaması sonucu ortaya çıkar ve görmeyi tehdit eder.

GO'nun doğal seyri değişkendir ve önemli bir kısmında kendiliğinden düzelir. Tiroid hormonlarının kontrolü dışında herhangi bir tedavi almayan hastaların tipik seyri Rundle eğrisi ile tanımlanmıştır (Şekil 2.4). Başlangıçta, aktif progresif faz ile başlar ve ortalama 3-6 ay, hatta bazen 3 yıl kadar uzun sürebilir. Konjonktival kızarıklık, kemozis, diplopi, proptozis ve nadiren korneal ülserasyon ve kompresif optik nöropati gibi klinik bulgularla karakterizedir. Hastalığın aktivitesi azaldıkça bir platoya ulaşılır. Bu fazı, fibrotik inaktif faz takip eder. Bu statik faz, stabil proptozis, gözkapağı retraksiyonu, ve persistan restriktif şaşılık ile karakterizedir.



Şekil 2.4. Rundle eğrisi

2.3 Graves' Oftalmopatide Hastalık Aktivite ve Ciddiyetinin Değerlendirilmesi

Günümüze kadar, GO'nun aktivitesi ve ciddiyetini değerlendiren çok çeşitli sınıflamalar geliştirilmiş olsa da, henüz aktif enflamatuar faz ve kronik fibrotik fazı birbirinden kesin olarak ayıran bir yöntem yoktur [71]. Bu iki fazın ayrımı, uygulanacak tedavi yöntemlerinin farklı olması nedeniyle önemlidir. Hastalığın aktivitesi ve ciddiyeti her zaman korelasyon göstermemekle birlikte; ciddi hastalık sıklıkla aktif dönemde izlenir [72].

Hastalık aktivitesini değerlendirmek için 1989 yılında Mourits ve ark. tarafından klinik aktivite skoru (KAS) geliştirilmiştir [73, 74]. Bu skarlama sisteminde, 10 farklı enflamatuvar değişiklik değerlendirilir ve her bulguya 1 puan verilir, sonuçta KAS 0-10 arasında bir değer alır. 1992 yılında, kullanımı kolaylaştırmak için, skarlama sistemi modifiye edilmiş ve değerlendirme kriterlerinin sayısı azaltılmıştır [75] (Çizelge 2.1). Yedi kriter üzerinden ve 3 ve üzeri skor alan hastalar aktif GO olarak değerlendirilmektedir (Resim 2.3).

Çizelge 2.1. Klinik aktivite skoru kriterleri

Klinik Aktivite Skoru
1. Spontan retrobulber ağrı
2. Göz hareketleri ile ağrı
3. Göz kapağı kızarıklığı
4. Konjonktiva kızarıklığı
5. Kemozis
6. Karünkül ödemi
7. Göz kapağı ödemi
Toplam:
0-2: İnaktif GO
3-7: Aktif GO



Resim 2.3. Aktif fazda olan Graves' oftalmopatili bir olgu. Belirgin konjonktival ödem, konjonktival hiperemi ve karünkül ödemi izleniyor

GO'lu hastalarda takip ve tedavi kriterlerini belirleyen diğer bir faktör hastalığın ciddiyetidir (Resim 2.4). GO'nun ciddiyetin değerlendirilmesinde, EUGOGO tarafından yapılan ciddiyet sınıflandırması kullanılmaktadır [76, 77]. Bu sınıflandırmada, GO, ciddiyetine göre, hafif, orta-ciddi ve görmeyi tehdit eden olarak GO olarak 3 gruba ayrılmaktadır (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.2. EUGOGO çalışma grubunun hastalık ciddiyeti sınıflandırması.

1. Hafif GO: < 2 mm kapak retraksiyonu, hafif düzeyde yumuşak doku tutulumu, ara ara olan diplopi veya diplopi olmaması, yaşa ve cinse göre belirlenmiş normal oküler protrüzyon değerlerine göre 3 mm'den az olan ekzoftalmus, lubrikanlara cevap veren kornea tutulumunu içeren bulgulardan bir veya daha fazlasının mevcut olması.
2. Orta-ciddi GO: $\geq$ 2 mm kapak retraksiyonu, orta veya ileri düzeyde yumuşak doku tutulumu, sabit veya sabit olmayan diplopi, yaşa ve cinse göre belirlenmiş normal oküler protrüzyon değerlerinin 3 mm ve üzerinde olan ekzoftalmus, orta düzeyde kornea tutulumunu içeren bulgulardan bir veya daha fazlasının mevcut olması.
3. Görmeyi tehdit eden GO: Tiroide bağlı optik sinir tutulumu ve/veya ciddi kornea tutulumu
GO: Graves' oftalmopati
Sabit diplopi: Primer pozisyonda diplopi; Sabit olmayan diplopi: Yan bakışlarda diplopi

GO'nun aktivite ve ciddiyeti ile OS düzeyi arasında ilişki olduğunu gösteren çalışmalar literatürde yer almaktadır [9, 13, 14, 52].



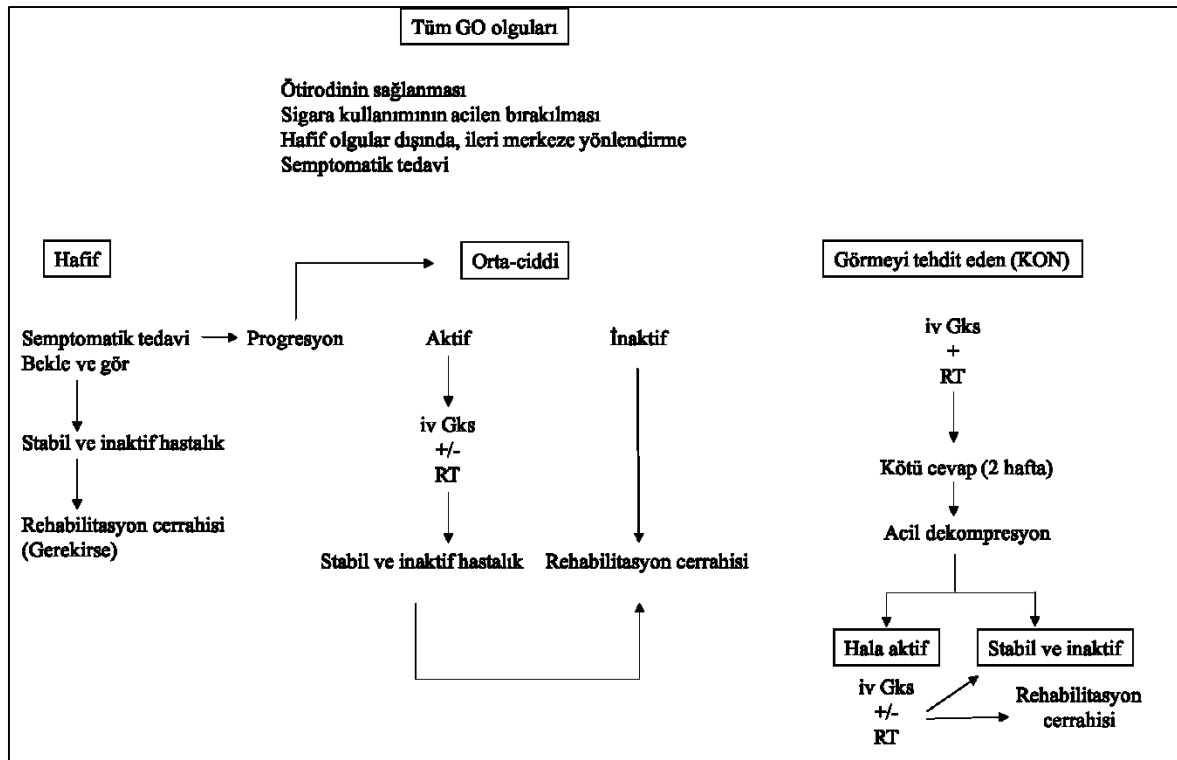
Resim 2.4. Belirgin proptozisi olan orta-ciddi Graves' oftalmopatili bir olgu

2.4. Graves' Oftalmopatide Tedavi

GO'da tedavi kararı, hastalığın aktivite ve ciddiyet bulgularına göre değişir. Tedavi kararı, multidisipliner bir yaklaşım içinde, oftalmolog, endokrinolog, radyolog, nükleer tıp ve radyasyon onkolojisi uzmanlarının ortak değerlendirilmesi ile verilir.

Çoğu olguda, hafif ve progresif olmayan oküler tutulum nedeniyle tedavi gerekmez. Hastalık çoğunlukla kendi kendini sınırlama eğiliminde olduğu için, hafif olgularda "bekle ve gör" stratejisi uygulanabilir.

Hastalığın tedavi ve takibi sürecinde, sigara kullanımının olumsuz etkileri nedeniyle, sigaranın bırakılması en önemli basamağı oluşturmaktadır [76]. EUGOGO'nun önerdiği tedavi algoritması aşağıda özetlenmiştir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Graves' oftalmopatide tedavi algoritması

Tedavinin başlangıcında, ilk önce ötiroidizmin sağlanmalıdır. Ötiroid olgulara kıyasla, hiper veya hipotiroidisi olan hastalarda klinik bulgular daha şiddetli seyretmektedir [77, 78]. Hastalığın aktif döneminde, anti-tiroid ilaçlarla medikal tedavi ile ötiroidizm sağlanmaya

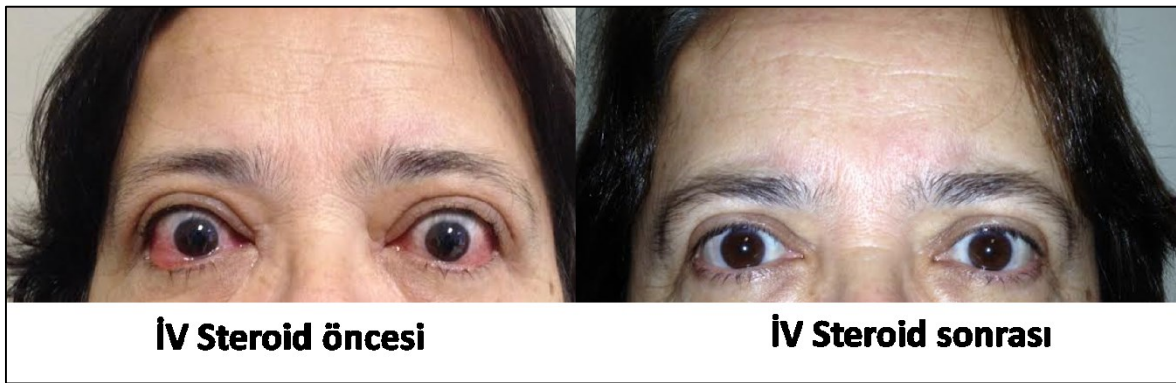
çalışılır. GO, inaktif döneme girene kadar tiroidektomi ve radyoaktif iyot tedavisinin ertelenmesini öneren çalışmalar vardır [79].

Hafif GO kendi kendine sınırlayabilen bir durum olmasına rağmen %15 oranında klinik bulgulara ilerleme olabilir [80]. Bu nedenle yakın takip önemlidir. Korneal ekspozura yönelik, gece kapama ve oküler yüzeyin lubrikan damlalarla tedavi edilmesi önerilir. Semptomatik diplopsi olan olgulara prizmatik gözlük önerilebilir.

Orta-ciddi GO'da aktif fazdaki hastalarda medikal tedavi (immünsupresif/anti-enflamatuar), inaktif hastalarda gerekli olgularda rehabilitasyon cerrahileri uygulanabilir.

Anti-enflamatuar medikal tedavi sadece aktif fazdaki hastalar için uygulanır [81, 82]. Anti-enflamatuar tedavi olarak steroidler 50 yıldan uzun bir zamandır GO'da kullanılmaktadır. Steroid tedavisi oral veya intravenöz (IV) yoldan sistemik olarak uygulanır. IV pulse steroid tedavisinin, oral tedaviye göre daha etkili olduğu ve daha az yanetkiye neden olduğu gösterilmiştir [82-84]. En sık tercih edilen tedavi protokolü, ilk 6 hafta boyunca 500 mg/hafta; sonraki 6 hafta boyunca 250 mg/hafta olmak üzere toplam 12 haftada 4.5 gram IV metilprednizolondur [84, 85] (Resim 2.5).

Sistemik steroid tedavisinin, klinik bulgulardaki iyileşmenin yanında, OS parameterlerinde de düzelmeyi sağladığını gösteren klinik çalışmalar mevcuttur [13, 86, 87].



Resim 2.5. Aktif fazda olan bir olgu ve IV steroid tedavisi sonrası görünümü

Orbitayı infitre eden lenfositlerin radyosensitif olması ve radyoterapinin (RT) anti-enflamatuar özelliği nedeniyle seçilmiş olgularda orbital RT önerilmektedir [19]. Uzun dönemde karsinojenik etki potansiyeli nedeniyle 35 yaşın altındaki hastalara

önerilmemektedir. Ayrıca mikrovasküler komplikasyonları kötüleştirebilmesi nedeniyle diyabetik ve hipertansif olgularda da önerilmemektedir [88]. Genellikle, sistemik steroid tedavisine yanıt vermeyen aktif orta-ciddi GO olgularında önerilmektedir.

GO'lu olguların %20'sinde steroid tedavisine yanıt alınamamakta, %4 olguda ise tedaviye rağmen ilerleme olmaktadır [89]. GO'nun patofizyolojisi, moleküler düzeyde daha da detaylandırıldıkça tedavide yeni ajanların geliştirilmesine yol açmıştır. Siklosporin, azatiopürin, mikofenolat mofetil, TSH-R ve IGF-R gibi reseptör antagonistleri, IL-6 ve TNF- α gibi enflamatuar sitokinlerin etkisini bloke eden ajanlar ve anti-CD20 gibi B lenfositlere karşı monoklonal antikorlar immünoterapide kullanılan diğer ajanlardır [90].

GO bulgularının en az 6 ay stabil seyrettiği olgularda, kozmetik veya terapötik amaçlı cerrahiler uygulanabilir. Uygulanacak cerrahilerin sırası, orbita dekompresyonu, şaşılık cerrahisi ve kapak cerrahisi şeklinde olmalıdır [76].

2.4.1. Anti-oksidan tedavinin yeri

GO'lu olguların çoğunda hafif oküler tutulum söz konusudur. Suni göz yaşı, pomadlar ve güneş gözlüğü gibi sadece semptomatik tedavinin verildiği bu gruptaki hastalarda hayat kalitesini arttırmak adına farklı tedavi seçenekleri gündeme getirilmiştir. GO'nun, humoral ve hücrel immünite, sitokin üretimi, OS gibi karmaşık patogenetik mekanizmalarında, anti-oksidan ve immünmodulator etkisi olduğu bilinen selenyumun (Se) tedavide bir seçenek olabileceği üzerinde durulmuştur.

Se, tiroidin hem fizyolojik fonksiyonları hem de otoimmün hastalıklarında önemli bir ko-faktör olduğu bilinmektedir. Marcocci ve ark.nın 18 aydan kısa süredir hafif bulgu ve semptomları olan 159 GO'lu hastalarda yaptıkları randomize, çift kör, plasebo kontrollü çalışmada, Se veya pentoksifilin etkisi araştırılmıştır [91]. 6 aylık değerlendirmede, plasebo alan gruba kıyasla, Se alan grupta hayat kalitesinin arttığı ve daha az göz tutulumu olduğu ve GO'nun progresyonunun daha yavaş seyrettiği izlenmiştir. Dharmasena'nın, GO'da Se kullanımı ile sunmuş olduğu derlemede, Se'un ekstraoküler kas ve orbital yağ doku enflamasyonunu azalttığı ve Se'un bu etkisini tiroid peroksidaz antikorları (TPO-Ab) ve TSHR-Ab düzeylerini azaltarak, immün mekanizmaları regüle ederek ve orbital enflamasyonu inhibe ederek gösteriyor olabileceği öne sürülmüştür [92]. Se, aynı zamanda

GPx ve tioredoksin (TxR) gibi önemli anti-oksidan enzimlerin aktif bölgesinde bulunur. Glutasyon, organizmadaki tiol havuzunu oluşturan en yaygın ve en popüler low-molecular weight tioldür. OS altında, redükte glutasyon (GSH), oksidize glutasyon (GSSG) formuna döner. GPx, toksik peroksitlerin (H_2O_2 ve lipid peroksitler), GSH aracılığıyla indirgenmesini sağlar. Dottore ve ark., GO'lu hastalardan elde ettikleri orbital fibroblast kültürlerinde, Se'nin, OS altındaki fibroblastların proliferasyonunu ve pro-enflamatuar sitokinlerin salınımını azalttığı ve GPx aktivitesini arttırdığını rapor etmişlerdir [93]. TxR, protein tiol gruplarının redükte durumda kalmasını sağlayarak süperoksit oluşumunun azalmasını sağlar. GO ve otoimmün tiroid hastalığının ciddiyetini azaltmak için uygun hastalarda önerilen Se takviyesi, tiol havuzunu oluşturan GSH'nin anti-oksidan etki göstermesinde rol alan GPx ve/veya redükte tiol moleküllerin devamlılığını sağlayan TxR gibi önemli proteinlerin fonksiyonunu arttırarak etki ediyor olabilir. In vitro ve klinik çalışmalarda, Se'den başka anti-oksidan moleküllerin de olumlu etkileri raporlanmıştır [94-96].

GO'da anti-oksidan tedavi seçeneği olarak Se, bir çok çalışmada irdelenmiştir. GO orbital fibroblast kültür çalışmasında, Se uygulanan kültürlerde, H_2O_2 'nin indüklediği GSSG artışına engel olduğu gösterilmiştir [93]. Aynı şekilde, GPx seviyesinin de artış saptanması, Se'un anti-oksidan aktivitesini göstermiştir. Se, H_2O_2 'nin neden olduğu OS'yi inhibe edici etkisinden bağımsız olarak, HA sentezini de azaltmıştır. Fibroblastlar, OS şartları altında TNF- α , IL-1 β ve IFN- γ gibi pro-enflamatuar sitokin salınımına neden olurlar. Bu sitokinler, HA sentazı aktive ederek HA salınımını arttırmırlar [97]. Düşük doz H_2O_2 'nin hem GO hem de kontrol fibroblastlarda TNF- α , IL-1 β ve IFN- γ salınımını arttırmıştır [93]. Se, hem GO hem kontrol fibroblastlarda, H_2O_2 'nin TNF- α ve IFN- γ üzerindeki etkisini azaltmıştır.

2000 yılında yapılan bir pilot çalışmada, yeni tanı almış GO'lu olgular, 3 ay boyunca allopürinol (300mg/gün) ve nikotinamid (300mg/gün) ile tedavi edilmiş ve plasebo alan grupla karşılaştırılmıştır [96]. Anti-oksidan tedavi alan olguların %82'sinde, plasebo alan olguların %27'sinde GO bulgularında düzelme saptanmıştır.

Resveratrol, antioksidan kapasitesi iyi bilinen bir polifenolik flavonoiddir. GO'lu hastalardan elde edilen orbital fibroblast kültürlerinde, resveratrolün ROS miktarını azalttığı, adipogenezisi inhibe ettiği izlenmiştir [98]. Anti-enflamatuar, anti-proliferatif ve anti-oksidan özellikleri tanımlanmış bir molekül olan protocatechuic aldehid, GO'da orbital fibroblast kültüründe, anti-oksidan, anti-adipojenik etki göstermiş ve HA üretimini

azaltmıştır. Bu etkileri sayesinde, GO için yeni bir tedavi ajanı olabileceği öne sürülmüştür [99]. Benzer özellikte olan bir diğer molekül, Tanshinone IIA, GO'lu hastalardan elde edilen primer fibroblastların üzerinde anti-enflamatuar, anti-oksidan ve anti-adipojenik etki göstermiştir [100]. Rotondo ve ark., GO orbital fibroblast kültürlerinde, H₂O₂ ile indüklenen OS ortamında, anti-oksidan olarak kullandıkları Vitamin C, N-asetil-L-sistein ve melatoninin olumlu etkilerini bildirmişlerdir [101]. Yine, 200 µM H₂O₂ ile oluşturan OS ortamında, N-asetilsistein ve Vitamin C ile anti-oksidan preinkübasyonu yapılan orbital fibroblast kültürlerinde, artmış olan CTGF ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir [102]. Yoon ve ark., GO orbital fibroblast kültürlerinde, sigara özütü ile adiposit diferansiasyonunu indüklemiş ve anti-oksidan bir molekül olan quercetin'in etkisini değerlendirmişlerdir. Bu çalışmada, quercetin ROT miktarını azaltarak, adipogenezisi inhibe etmiştir [54].

Bu çalışmalar, farklı anti-oksidan moleküllerin muhtemel klinik kullanımı için umut ışığı oluşturmaktadır.

2.4.2. Sigaranın tedaviye etkisi

Sigara, GO hastalarında, steroide kötü tedavi cevabı ile ilişkilidir [103]. Her ne kadar aksini bildiren nadir çalışmalar olsa da [104], EUGOGO'nun tedavi algoritmasında alınacak ilk önlemler arasında sigaranın bırakılması vardır [77].

Sigara kullanımı ve GO ilişkisini irdeleyen 14 makaleyi içeren bir derlemede, aktif sigara kullanımının GO progresyonu ve kötü tedavi yanıtı ile bağlantılı olduğu tekrar vurgulanmıştır [105].

Bartalena ve ark., sigara kullanımının, hipertiroidiye yönelik radyoiyodin tedavisinden sonra GO progresyonu için riski arttırdığını ve orbital RT ve steroid tedavisinin etkinliğini azalttığını rapor etmişlerdir [26].

Prabhu ve ark., sigara kullanan GO'lu olgularda, orbital RT'nin olumlu etkisinin daha az olduğu ve RT sonrası dekompresyon cerrahisi ihtiyacının, sigara kullanmayanlara göre daha fazla olduğunu belirtmişlerdir [59].

Eckstein ve ark.'nın yaptıkları 60 olguluk prospektif çalışmada, sigara kullanan GO'lu olguların oral steroid ve orbital RT'ye daha az yanıt verdiğini, tedavi başlangıcından sonraki

ilk yılda hastalığın daha uzun sürdüğünü belirtmişlerdir (58). Sigaranın, anti-enflamatuvar tedaviye ilk yanıtı etkilemesi doz bağımlı olsa da, final sonucu etkilemediğini ifade etmişlerdir. Hofbauer ve ark., GO'da orbital RT'ye sigara nedeniyle ortaya çıkan yetersiz cevabın düşük serum IL-1 reseptör antagonist düzeyi ile ilişkili olduğunu öne sürmüşlerdir [106]. Çünkü IL-1 reseptör antagonisti, orbital fibroblastların GAG üretimini inhibe etmektedir [107]. Stan ve Salvi, GO'da rituksimabın etkinliğini değerlendirdikleri derlemede, sigara kullanımının rituksimaba yanıtı etkileyebileceğini öne sürmüşlerdir [108].

Xing ve ark., geçmişte olsa bile, sigara kullanımının intravenöz steroidlere azalmış cevap verilmesinde bağımsız bir risk faktörü olduğunu belirtmişlerdir [57]. Sigara kullanan veya geçmişte kullanım hikayesi olan GO olgularında, daha yüksek steroid veya orbital RT kombinasyonu önermişlerdir. İki çalışmada, GO olgularında steroid rezistansının patogenezi araştırılmıştır. Glukokortikoid cevap gen polimorfizmi (ER22/2EK, N363S ve BCL1) ve azalmış serum miR-224-5p düzeyleri ile steroid rezistansı arasında ilişki olabileceği gösterilmiştir [109, 110].

2.5. Oksidatif Stres

Canlı organizmalarda, metabolik reaksiyonların sonucunda sürekli ve kontrollü olarak ROT ve bu moleküllerin birikimini dolayısıyla da zararlı etkilerini engellemek için anti-oksidan moleküller üretilir. Organizmadaki başlıca anti-oksidanlar, SOD, GSH, GPx, GR, glutatyon S transferaz (GST), katalaz (KAT), A, C ve E vitaminleridir. Anti-oksidan moleküller ile serbest radikaller arasındaki dengenin bozulması OS olarak tanımlanır. Anti-oksidan moleküllerin yetersizliği veya serbest radikallerin aşırı üretilmesine neden olan durumlarda ortaya çıkar. Oksidan moleküllerin, hücrenin yapı taşları olan protein, lipid, karbonhidrat, enzim ve nükleik asitlere zarar vermesi ile oksidatif doku hasarı meydana gelir. OS, aynı zamanda nötrofil gibi immün sistem hücrelerini aktive ederek enflamasyona neden olur. Enflamasyonun kendisi de OS nedeni olduğu için bir kısır döngü oluşur.

ROT'lar, solunumun doğal bir yan ürünüdür. Moleküler oksijenin ~% 1-2'sinin kompleks I veya III'ten elektron sızıntısına bağlı olarak süperoksit haline dönüştüğü düşünülmektedir.

Süperoksit, sitozole sızsa da, etkilerinin çoğu mitokondride meydana gelir. Süperoksit radikali H_2O_2 'e indirgenir. Yüksüz ve daha az reaktif olan H_2O_2 daha stabildir ve sitozole diffüze olur [111].

ROT'lar, solunum zinciri defektlerinde kompensatuar bir mekanizma olarak PGC-1 α yoluyla mitokondriyal proliferasyonu indüklemek ve mitokondriyal biyogenezisin devamını sağlayan sinyal moleküllerinden biri olarak düşünülürler [112].

OS, günümüzde kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar, enflamatuar bozukluklar, diyabet, ateroskleroz, kanser ve otoimmün hastalıkların patogenezi ile ilişkilendirilmektedir [113-115].

2.6. Mitokondriyal Biyogenezis

Mitokondri; en önemli görevi, OKSFOS yoluyla hücelere adenozin trifosfat (ATP) formunda enerji sağlamak olan bir organeldir. Bu görevi ile, aminoasit sentezi, lipid metabolizması, enerji üretimi, serbest radikal oluşumu, kalsiyum homeostazisi, termogenezis gibi birçok biyokimyasal reaksiyonun merkezinde rol almasının yanında apoptozisin de anahtar düzenleyicisidir. Endojen ve ekzojen uyarılara cevap olarak morfolojisini, sayısını, hücre içindeki lokalizasyonunu ve fonksiyonunu değiştirebilen çok yönlü bir organeldir [116].

Mitokondri, dual genetik orijine sahip özel bir organeldir. Yaklaşık 1500 mitokondriyal proteinin çoğu nükleusta kodlanırken; OKSFOS sisteminin yaklaşık 13 esansiyel altbirimini mitokondrinin kendi genomu ile sentezlenir.

Mitokondriyal biyogenezis oldukça komplekstir ve biyogenezisin devamlılığı için mitokondriyal DNA (mtDNA) tarafından kodlanan proteinlerin sentezinin dışında, nükleer kodlanmış proteinlerin sentezi ve mitokondri içine alınması, dual genetik orijine sahip proteinlerin birleştirilmesi ve mtDNA replikasyonu gibi işlevlerin düzenli ve senkronize olmasını gerekir.

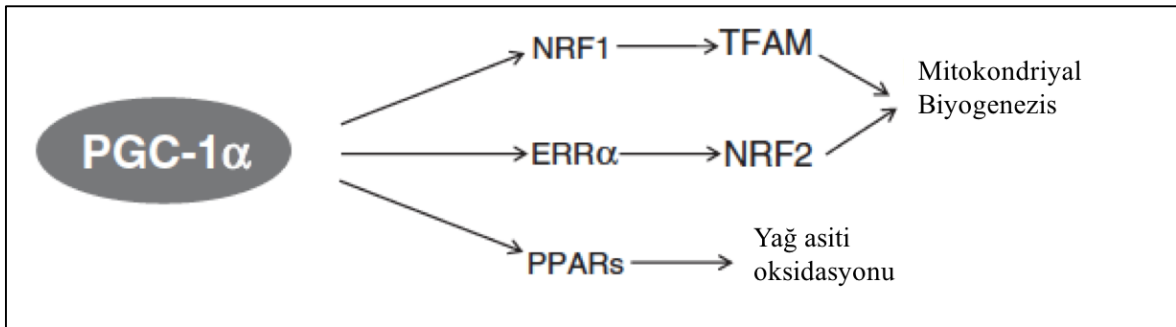
Mitokondriyal gen ekspresyonun en önemli düzenleyicileri MTF α , RNA polimeraz γ ve mitokondriyal transkripsiyon faktör B2 (TFB2)'dir. Bu faktörler mtDNA transkripsiyonu

için en önemli faktörlerdir [117]. MTFA, aynı zamanda mtDNA'nın paketlenmesinde ve rol alır ve mtDNA'nın devamlılığı için gereklidir.

Mitokondriyal biyogenezisin regülasyonu, hiyerarşik bir sıralama ile nükleer faktörler tarafından yönetilir. Bu regülasyon bir grup nükleer transkripsiyon faktörünü içerir. Nükleer kodlanmış proteinlerin ekspresyonunun regülasyonunu sağlayan tanımlanmış ilk transkripsiyon faktörleri nükleer respiratuar faktör 1 ve 2'dir (NRF-1 ve NRF-2). Sitokrom c ve sitokrom c oksidaz altbirimlerini kodlayan genlerin ekspresyonunu kontrol ederler.

Östrojen ilişkili reseptör α (ERR α), cAMP yanıt elemanı (CREB) ve ying yang 1 transkripsiyon faktör (YY1) mitokondriyal genlerin regülasyonundan sorumlu diğer transkripsiyon faktörleridir [118].

Mitokondriyal biyogenezisin, peroksizom proliferatör – aktive reseptör (PPAR) koaktivatörler ailesi tarafından daha yüksek seviyede bir kontrol mekanizması da vardır. Bu ailenin en bilinen üyesi PPAR koaktivatör 1 α (PGC-1 α)'dır. Nükleer kodlanmış mitokondriyal proteinlerin ekspresyonunu regüle eden önemli basamaklarda görev alması, PGC-1 α 'nın mitokondriyal biyogenezisin ana düzenleyicisi olarak tanımlanmasına yol açmıştır [119, 120] (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. PGC-1 α 'nın TFAM ve NRF-2 üzerinden mitokondriyal biyogenezisi regülasyonu [117].

2.7. Peroksizom Proliferatör Aktive Reseptör- γ Koaktivatör 1- α (PGC-1 α)

PGC-1 ailesi, hücre metabolizmasını düzenleyen spesifik genlerin ekspresyonunu kontrol eden pekçok nükleer veya non-nükleer reseptörünün ligandlarını içerir. Bu ailenin ilk keşfedilen üyesi, farelerde kahverengi yağ dokusunda izole edilen, 91 kDa'luk nükleer

protein olan PGC-1 α 'dır [121, 122]. Biyolojik aktivitesi, transkripsiyonel seviyede, transkriptlerin alternatif uç birleştirme ve post-translasyonel seviyede (metilasyon, fosforilasyon, asetilasyon gibi) sıkıca kontrol edilir. Birçok transkripsiyonel faktörün (NRF-1, NRF-2, PPARs, ERRs) nükleer kodlanmış koaktivatör enzimi olarak bilinir. Bu nedenle hücre enerji metabolizmasının ana organizatörü olarak tanımlanmaktadır.

PGC-1 α 'nın en büyük etkisini NRF üzerinde gösterir. In vitro olarak kas hücrelerine verildiğinde, NRF-1 ve NRF-2'nin gen ekspresyonunu arttırdığı izlenmiştir [123]. Sıcaklık, nutrisyonel durum, fiziksel aktivite gibi çevresel faktörler PGC-1 α 'nın düzeylerini ve fonksiyonlarını etkiler [124].

2.8. Mitokondriyal Transkripsiyonel Faktör A (MTFA)

mtDNA, respiratuar fonksiyon için gerekli multikopya sirküler bir genomdur. Mitokondriyal genom sekansının doğruluğu, transkripsiyon veya translasyon ile ilgili herhangi bir bozukluk ATP yetersizliğine ve hastalıklara neden olur. mtDNA anormallikleri Parkinson, Alzheimer, yaşlanma, kardiyovasküler hastalık, diyabet ve kanser ile ilişkilendirilmiştir [125]. MTFA, sekans spesifik veya non-spesifik olarak mtDNA'ya bağlanan, hem mitokondriyal transkripsiyonu başlatan hem de mtDNA kopya sayısını düzenleyen, nükleer kodlanmış önemli bir proteindir. mtDNA'yı korur ve hasarlı mtDNA'yı tamir eder. Mitokondri gibi, OS'e neden olan (içerisinde gerçekleşen OKFOS nedeniyle) ve bu nedenle sürekli OS'e maruz kalan bir organelin DNA'sının korunması oldukça önemlidir.

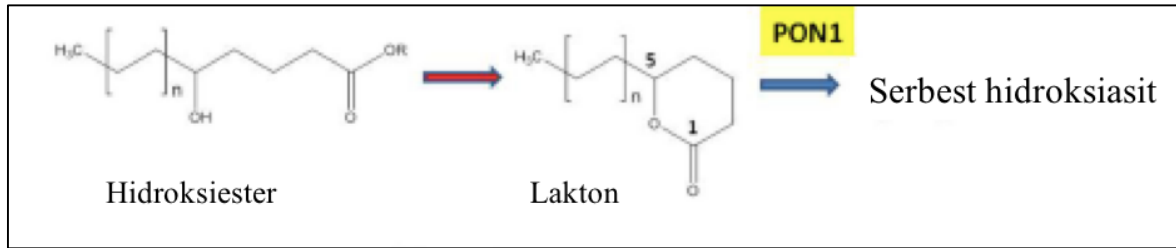
Daha önce bahsedildiği gibi, PGC-1 α , iki tane önemli nükleer transkripsiyon faktörü (NRF-1 ve NRF-2) ile etkileşerek mitokondriyal biyogenezisin ana düzenleyicisi olarak fonksiyon görür. NRF-1 ve NRF-2, MTFA'yı aktive eder ve elektron transport zincirinin 5 kompleksinin altbirimlerini kodlayan nükleer genlerin promotor bölgelerine bağlanır [126]. Artan MTFA seviyeleri, OS durumlarında, mitokondriyal fonksiyonların aksamadan devam etmesini sağlar.

Sonuç olarak, mtDNA'nın transkripsiyonu, replikasyonu ve döngüsü oksidatif kapasite ve hücresel homeostazisin devamı için çok önemlidir. MTFA, mtDNA'yı organize eden ana faktördür.

Hem otoimmün bir hastalık olması hem de etyopatogenezinde OS'in yer alması nedeniyle GO, mtDNA hasarına neden olabilir. MTFA seviyelerinin değerlendirilmesi ile bu hastalıkta mitokondriyal biyogenezis hakkında fikir edinilebilir.

2.9. Paraoksonaz-1 (PON-1)

Paraoksonazlar, (arildialkilfosfatazlar, E.C 3.1.8.1) PON-1, PON-2 ve PON-3 adı verilen üç enzimi içeren bir enzim ailesidir. Lipid peroksidasyonunu ve OS'in diğer formlarını önlemek gibi önemli biyokimyasal yollarda görev alırlar (Şekil 2.7). Aynı zamanda, esterolitik özellikleri olan, organofosfat bileşiklerini hidrolize eden bir enzim ailesidir. PON'ları kodlayan üç gen insanda 7. kromozom üzerinde yer almaktadır. Epidemiyolojik çalışmalar her 3 PON gen ekspresyonunun pek çok enflamatuvar hastalıkla negatif korelasyonunu göstermiştir [127].



Şekil 2.7. PON-1 enziminin fonksiyonu

PON-1, 354 aminoasitten oluşan bir glikoproteindir. İki adet kalsiyum bağlama bölgesi vardır; birisi enzim stabilitesi için; diğeri ise katalitik aktivitesi için önemlidir [128]. Aktivitesi ve serum konsantrasyonu bireyler arasında çok farklılık gösterebilir. Konsantrasyonu 13 kata kadar, aktivitesi 40 kata kadar varyasyon gösterebilir. Bu durumdan, genetik ve çevresel faktörler sorumludur [128]. Örneğin, sigara kullananlarda kullanmayanlara göre PON-1 seviyesi ve aktivitesi daha düşük bulunmuştur [129, 130]. PON-1, insektisit olan parathionun aktif metaboliti olan paraoksonun plazma hidrolazını taramak için PON'ların ilk tanımlananı olmakla birlikte, PON ailesinin dolaşımında en çok bulunan formudur [127]. Esas olarak karaciğerde sentezlenen, 45 kDa ağırlığında olan PON-1, az miktarda böbrek ve kolonda da sentezlenir, kan dolaşımına verilir ve yüksek dansiteli lipoproteinlere (HDL) ile bağlanır [131]. HDL, PON-1'in karaciğerden sekresyonunu kolaylaştırır, onu stabilize eder ve fonksiyon görebilmesi için hidrofobik bir çevre sağlar [132]. PON-1, pekçok hücrenin zarında ve kan dolaşımında HDL'ye bağlı olarak bulunur

[133]. Hem hücre içinde hem de dolaşımdaki lipit peroksidlerinin degradasyonunu sağlayarak anti-oksidan enzim görevi görür [133]. PON-1 enzim aktivitesi, enflamasyondan ve oksidize düşük-dansiteli lipoprotein (LDL) seviyelerinden etkilenir. LDL'yi oksidasyondan korur ve HDL'nin anti-oksidan ve anti-enflamatuar fonksiyonlarının devamlılığını sağlar.

PON-1 enzim aktivitesi, spektrofotometrik olarak, paraoksonu (PON aktivitesi), fenilasetatı (arilesteraz; ARE aktivitesi) veya sentetik laktonları (tiobütil bütirolakton; LAC aktivitesi) katalitik hidroliz edebilme fonksiyonu ile ölçülür.

Çok sayıda in vitro, hayvan ve insan çalışmasında PON-1'in anti-enflamatuar ve anti-oksidan özellikleri gösterilmiştir. Diyabetes mellitus, kanser, kardiyovasküler hastalıklarda, tiroid disfonksiyonlarında, obezite ve böbrek hastalıklarında patogeneizde muhtemel rolleri olduğu öne sürülmüştür [133-137]. PON-1, insan vücudundaki endojen serbest radikal temizleme sistemlerinden birini oluşturur.

2.10. Total Anti-oksidan Seviye (TAS), Total Oksidan Seviye (TOS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Normal fizyolojik şartlarda, ekzojen ve endojen sebeplerle oluşan ROT'larla, dolayısıyla OS ile mücadele eden gelişmiş bir anti-oksidan defans sistemi vardır. Bir çok metabolik ve fizyolojik olayın doğal sonucu olarak ortaya çıkan ROT'lar enzimatik (SOD, KAT, GPx, GR) veya enzimatik olmayan (GSH, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, seruloplazmin, transferrin, Se, koenzim Q10, α -lipoik asit) anti-oksidan mekanizmalarla uzaklaştırılır [138]. Bu, endojen anti-oksidanların dışında vitamin A, C ve E ile folik asit ekzojen anti-oksidanlar bilinir. Albümin, askorbik asit ve ürik asit insan plazmasındaki total anti-oksidan sistemin %85'ini oluşturur.

Anti-oksidanların ayrı ayrı ölçülmesi, karmaşık teknikler gerektirdiği için zaman alıcı ve maliyetli olabilir. Total anti-oksidan seviye (TAS) olarak isimlendirilen ölçümün en büyük avantajı bir numunedeki bütün anti-oksidanların tek seferde ölçülebilmesine imkan sağlamasıdır. Bu nedenle, günümüzde bilimsel araştırmalarda sık sık kullanılmaktadır.

Organizmadaki ROT'ların düzeyleri de tek tek ölçülebilir. Bu molekülleri de ayrı ayrı ölçmek yerine daha pratik olması açısından total OS'yi ölçebilecek bir metod geliştirilmiştir. Dolaşımdaki total OS'in toplam seviyesi total oksidan seviye (TOS) olarak ölçülmektedir.

TOS'un TAS'a yüzde olarak oranı oksidatif stres indeksini (OSİ) verir.

3. YÖNTEM

Bu çalışma, 12/02/2018 tarihinde Gazi Üniversitesi Yerel Etik Kurulu tarafından G.Ü ET 97 kod numarası kararı ile kabul edilmiş (EK-1) ve 03/08/2018 tarihinde 01/2018-27 proje koduyla Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir.

3.1. Hasta ve Kontrol Grubu

Çalışma, Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Bölümü Oküloplastik Cerrahi Birimi ile Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı işbirliği ile çok merkezli olarak gerçekleştirilmiştir. Tüm hastalara çalışma hakkında bildirim yapılmış ve tüm hastaların onayı alınmıştır.

2017-2018 yılları arasında, Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Göz Hastalıkları Bölümü Oküloplastik Cerrahi Biriminde GO tanısı ile en az 1 yıldır takip edilen ve European Group on Graves' Orbitopathy (EUGOGO) [76, 77, 139] kriterlerine göre orta-ciddi GO olan olgular prospektif olarak çalışmaya dahil edildi.

Tüm hastaların yaş, cinsiyet, GH'nın süresi, kullandıkları ilaçlar, ilk göz bulgularının ortaya çıkış zamanı, GO'ye yönelik daha önce herhangi bir medikal/cerrahi tedavi alıp almadıkları, sigara alışkanlıkları kaydedildi.

Tüm hastaların tam oftalmolojik muayeneleri yapıldı. Görme keskinliği Snellen eşeli ile ölçüldü. Refraksiyon kusuru tespit edilen hastalarda en iyi düzeltilmiş görme keskinliğini belirlemek için refraksiyon muayenesi yapıldı. Biyomikroskopik muayene ile kornea tutulumu değerlendirildi. Proptosis miktarını belirlemek için Hertel ekzoftalmometre kullanıldı. Hastalık aktivitesi KAS ile değerlendirildi [75]. $KAS \geq 3/7$ olan olgular aktif GO olarak değerlendirildi.

Refraksiyon kusuru nedeniyle, göz hastalıkları polikliniğine başvuran, yaş ve cinsiyet olarak, çalışma grubu ile eşleştirilmiş sağlıklı bireyler kontrol grubunu oluşturdu

GO'dan başka oküler herhangi bir hastalığı olan, anti-oksidan kullanan, anti-tiroid ilaçlar dışında ilaç kullanan, hamilelik durumu olan, diyabetes mellitus, karaciğer veya böbrek

hastalığı, kanser, diğer endokrin bozukluklar, immünolojik veya enflamatuvar hastalık gibi akut veya kronik sistemik hastalığı olanlar çalışma dışı bırakıldı.

Tiroid hormonlarının anormal seviyelerinin OS durumunu etkileyebilmesi nedeniyle en az 6 aydır ötiroid (serbest T3 ve T4 normal seviyelerde; TSH düşük veya normal seviyede) olan GO hastaları çalışmaya dahil edildi. GO'lu hastaların hiçbirinde daha önce sistemik steroid, RT alma veya orbital dekompresyon, şaşılık, gözkapığı cerrahisi geçirme hikayesi yoktu.

Çalışmaya dahil edilen bireyler 4 gruba ayrıldı.

1. Grup 1 (Orta-ciddi GO – Sigara kullanan): Günde en az 5 adet olmak üzere en az 1 yıldır aktif içici olan orta-ciddi GO olan hastalar (n = 30)
2. Grup 2 (Orta-ciddi GO – Sigara kullanmayan): En az 1 yıldır sigara kullanım hikayesi olmayan orta-ciddi GO olan hastalar (n = 30)
3. Grup 3 (Kontrol grubu – Sigara kullanan): Günde en az 5 adet olmak üzere en az 1 yıldır aktif içici olan sağlıklı bireyler (n = 30)
4. Grup 4 (Kontrol grubu – Sigara kullanmayan): En az 1 yıldır sigara kullanım hikayesi olmayan sağlıklı bireyler (n = 30)

3.2. Örnek Alınması ve Hazırlanması

Hasta ve kontrol grubunun kan örnekleri 10-12 saat açlığı takiben sabah, kırmızı kapaklı Vacutainer SST tüplerine (Becton Dickinson) alındı. Alınan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra serum kısmı ayrıldı. Serum örnekleri çalışılana kadar - 80°C'de saklandı.

Serbest T3, serbest T4, TSH ve TSHR-Ab düzeyleri, tam kan numunesinden aynı gün çalışıldı.

3.3. Kullanılan Aletler ve Cihazlar

1. Elisa Analizatör (Sunrise)
2. Elisa Yıkayıcı (Tecan)
3. Otoanalizör (Roche Cobas model E601 marka ve Stratec gamma counter)
4. Santrifüj cihazı (Thermo Scientific, Heraeus Megafuge 40R)
5. Otomatik pipetler (Transferpette, İsolab, Medispec-plus, Isotherm)

3.4. Metodların Uygulanması

3.4.1. Serum TAS analizi

TAS seviyeleri, Relassay marka kit ile Relassay Selectra E cihazında ölçüldü. Bu metod, ABTS+ (2,2' – azino - bis(3-ethylbenzothiazoline – 6 – sulfonik asid)) radikalini oluşturduğu karakteristik mavi-yeşil rengin ortama ilave edilen numunedeki antioksidanlarla azalması esasına dayanmaktadır. ABTS, ABTS+ radikalini oluşturmak üzere bir peroksidaz olan metmyoglobin (HX-Fe⁺) ve H₂O₂ ile inkübe edildi. Oluşan ferrilmiyoglobin ABTS ile ABTS radikalini oluşturmak üzere reaksiyona sokuldu. Renk değişim ölçümleri 660 nm’de yapıldı. Test, %3'ten daha düşük olan mükemmel hassasiyet değerlerine sahiptir. Sonuçlar mmol Trolox ekivalan/L olarak ifade edildi [140].

3.4.2. Serum TOS analizi

TOS seviyeleri, Relassay marka kit ile Relassay Selectra E cihazında ölçüldü. Yeni otomatize metotta, değerlendirilen numunedeki oksidan moleküller, ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyonla oksidize edildi. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan gliserol molekülleri ile arttırıldı. Ferrik iyon, asidik ortamda ksilenol turuncu ile renkli bir kompleks oluşturdu. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan toplam oksidan molekül miktarını ifade eder. Sonuçlar litre başına mikromolar hidrojen peroksit ekivalan ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L) cinsinden ifade edildi [141].

3.4.3. Oksidatif stres indeksi analizi

TOS'un TAS'a oranı oksidatif stres indeksi (OSİ) olarak kabul edildi.

$$\text{OSİ} = \text{TOS} (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ ekivalan/L}) / \text{TAS} (\mu\text{mol Trolox ekivalan/L}) [142].$$

3.4.4. Serum PON-1 enzim aktivitesi analizi

Paraoksonaz-1 (PON-1) enzim aktivitesi, Relassay marka kit kullanılarak Relassay Selectra E cihazı ile ölçüldü. Paraoksonun hidroliz hızı (diethylp-nitrophenylphosphate) 412 nm 37°C’de absorbansının artışı spektrofotometrik olarak monitorizasyonu ile ölçüldü. Oluşan

p-nitrophenol, pH 8.5’de $18.290 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ olan molar absorbsiyon katsaysayısından hesaplandı. Serum PON-1 aktivitesi U/Lolarak ifade edildi.

3.4.5. Serum MTFA analizi

Serum MTFA düzeyleri, ticari olarak elde edilen YL Biont marka (Katalog No: YLA4057HU) elisa kit ile ölçüldü. Bu kit, MTFA’nın monoklonal antikor ile yaptığı kompleksin biyotin ile işaretlenmesi, yıkama ve inkübasyon sonrası substratlarla rengin maviye sonrasında sarı renge değişiminin spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır.

Kit içeriği:

- ELISA plate
- Standart dilüsyon
- Standart solüsyon (640pg/ml)
- Streptavidin-HRP
- Stop solüsyonu
- Kromojenik reaktif A
- Kromojenik reaktif B
- Anti MTFA antikor (biyotinle işaretlenmiş)
- Yıkama solüsyonu

Standartların hazırlanışı:

Çizelge 3.1’de gösterildiği gibi seri dilüsyonlarla standartlar hazırlandı.

Çizelge 3.1 MTFA kit standartlarının hazırlanışı

Standart 5	320 pg/ml	120µl Standart + 120µl Standart dilüsyon
Standart 4	160 pg/ml	120µl Standart 5 + 120µl Standart dilüsyon
Standart 3	80 pg/ml	120µl Standart 4 + 120µl Standart dilüsyon
Standart 2	40 pg/ml	120µl Standart 3 + 120µl Standart dilüsyon
Standart 1	20 pg/ml	120µl Standart 2 + 120µl Standart dilüsyon

Yıkama solüsyonu hazırlanışı:

Yıkama solüsyonu distile su ile (30X) seyreltildi.

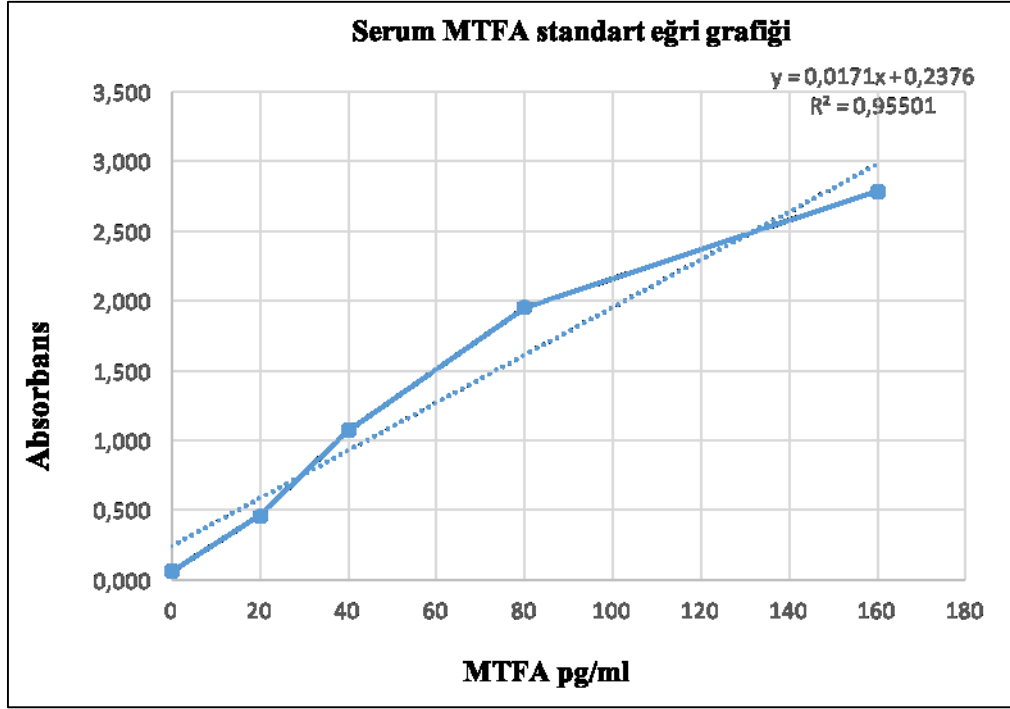
Deneyin yapılışı:

Çizelge 3.2. Serum MTFA analizi

	Numune	Standart	Blank
Standart	-	50 µl	-
Numune	40 µl	-	-
Streptomycin-HRP	-	50 µl	-
MTFA antikör	10 µl	-	-
Streptavidin-HRP	50 µl	-	-
Solüsyonlar eklendikten plate üstü membran kağıtla kapatıldı. Hafifçe karıştırıldıktan sonra 37 °C’de 1 saat inkübe edildi. Sonrasında plateki her bir kuyucuk 5 kere olmak üzere yıkanıp, kurutuldu.			
Kromojenik reaktif A	50 µl	50 µl	50 µl
Kromojenik reaktif B	50 µl	50 µl	50 µl
Solüsyonlar eklendikten sonra plate karanlıkta 10 dakika inkübe edildi.			
Stop solüsyonu	50 µl	50 µl	50 µl

Hesaplama:

Kuyucuklara stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içinde 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüme dayanarak hesaplama yapıldı. Blank’te okunan absorbans değeri standart ve numunelerde okunan absorbans değerinden çıkarıldı. Şekil 3.1’de gösterildiği gibi standart eğri grafiği ve denklemi hesaplandı ve bu denklemden numunelerin konsantrasyonu “pg/ml” olarak ölçüldü.



Şekil 3.1. Serum MTFA standart eğri grafiği

3.4.6. Serum PGC-1 α analizi

Serum PGC-1 α düzeyleri, ticari olarak elde edilen YL Biont marka (Katalog No: YLA1036HU) elisa kit ile ölçüldü. Bu kit, PGC-1 α 'nın monoklonal antikor ile yaptığı kompleksin biyotin ile işaretlenmesi, yıkama ve inkübasyon sonrası substratlarla rengin maviye sonrasında sarı renge değişiminin spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanmaktadır.

Kit içeriği:

- ELISA plate
- Standart dilüsyon
- Standart solüsyon (32 ng/ml)
- Streptavidin-HRP
- Stop solüsyonu
- Kromojenik reaktif A
- Kromojenik reaktif B
- Anti PGC-1 α antikor (biyotinle işaretlenmiş)
- Yıkama solüsyonu

Standartların hazırlanışı:

Çizelge 3.3'te gösterildiği gibi seri dilüsyonlarla standartlar hazırlandı.

Çizelge 3.3. PGC-1 α kit standartlarının hazırlanışı

Standart 5	16 ng/ml	120 μ l Standart + 120 μ l Standart dilüsyon
Standart 4	8 ng/ml	120 μ l Standart 5 + 120 μ l Standart dilüsyon
Standart 3	4 ng/ml	120 μ l Standart 4 + 120 μ l Standart dilüsyon
Standart 2	2 ng/ml	120 μ l Standart 3 + 120 μ l Standart dilüsyon
Standart 1	1 ng/ml	120 μ l Standart 2 + 120 μ l Standart dilüsyon

Yıkama solüsyonu hazırlanışı:

Yıkama solüsyonu distile su ile (30X) seyreltildi.

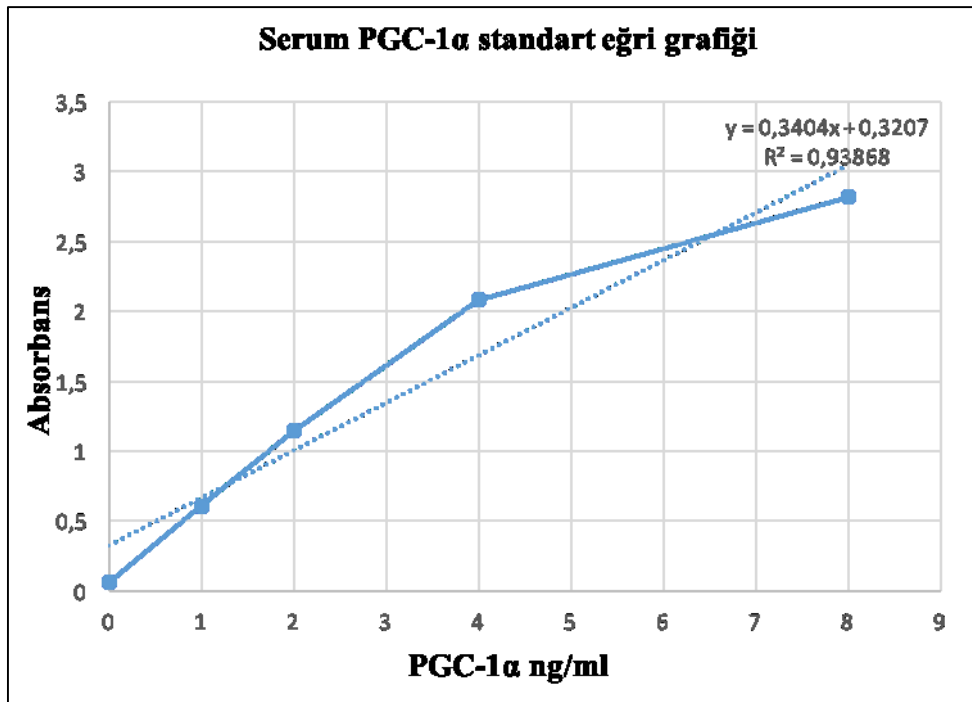
Deneyin yapılışı:

Çizelge 3.4. Serum PGC-1 α analizi

	Numune	Standart	Blank
Standart	-	50 μ l	-
Numune	40 μ l	-	-
Streptomycin-HRP	-	50 μ l	-
PGC-1α antikor	10 μ l	-	-
Streptavidin-HRP	50 μ l	-	-
Solüsyonlar eklendikten plate üstü membran kağıtla kapatıldı. Hafifçe karıştırıldıktan sonra 37 $^{\circ}$ C'de 1 saat inkübe edildi. Sonrasında plateki her bir kuyucuk 5 kere olmak üzere yıkanıp, kurutuldu.			
Kromojenik reaktif A	50 μ l	50 μ l	50 μ l
Kromojenik reaktif B	50 μ l	50 μ l	50 μ l
Solüsyonlar eklendikten sonra plate karanlıkta 10 dakika inkübe edildi.			
Stop solüsyonu	50 μ l	50 μ l	50 μ l

Hesaplama:

Kuyucuklara stop solüsyonu eklendikten sonra 10 dakika içinde 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçüme dayanarak hesaplama yapıldı. Blank'te okunan absorbens değeri standart ve numunelerde okunan absorbens değerinden çıkarıldı. Şekil 3.2'de gösterildiği gibi standart eğri grafiği ve denklemini hesaplandı ve bu denklemden numunelerin konsantrasyonu “ng/ml” olarak ölçüldü.



Şekil 3.2. Serum PGC-1 α standart eğri grafiği



Şekil 3.3. PGC-1 α ELISA kit görüntüsü

3.4.7. Tiroid fonksiyon testleri ve TSHR-Ab düzeylerinin ölçülmesi

Serbest T3, serbest T4 ve TSH düzeyleri Roche Cobas E601 otoanalizöründe Roche'a ait ticari kitler kullanılarak elektrokemilüminesans yöntemi çalışıldı.

TSHR-Ab düzeyleri, Stratec gamma counter analizörü kullanılarak cihaza ait ticari kitler kullanılarak ölçüldü.

3.5. Verilerin Analizi

Çalışmadan elde edilen verilerin analizi Statistical Package for Sciences (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software for Windows, versiyon 20 programı kullanılarak yapıldı. Verilerin sunumu için, ortalama, standart hata, maksimum, minimum değerler kullanıldı. Değerlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk test ile analiz edildi. Gruplar arası karşılaştırmada, niceliksel değerler için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) testi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ altında olan değerler için farklılığa neden olan grubun tespitinde Post Hoc Tukey testi kullanıldı. Niteliksel değişkenlerin değerlendirilmesinde Ki-Kare test kullanıldı. Korelasyon analizi için Pearson korelasyon testi uygulandı. İstatistiksel olarak anlamlılık $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik Özellikleri

Grup 1’de (n = 30) (sigara kullanan GO grubu) (14 K, 16 E) ortalama yaşı $37,36 \pm 8,84$ idi (dağılım: 22-50). Hipertiroidizm nedeniyle 11 olgu tiroidektomi, 8 olgu radyoaktif iyot, 11 olgu anti-tiroid ilaç tedavisi almıştı.

Grup 2’de (n = 30) (sigara kullanmayan GO grubu) 13 K, 17 E) ortalama yaşı $35,14 \pm 8,39$ idi (dağılım: 23-50). Hipertiroidizm nedeniyle 9 olgu tiroidektomi, 8 olgu radyoaktif iyot, 13 olgu anti-tiroid ilaç tedavisi almıştı.

Grup 3’te (n = 30) (sigara kullanan sağlıklı kontrol grubu): (14 K, 16 E) ortalama yaşı $35,43 \pm 9,11$ idi (dağılım: 20-50).

Grup 4’te (n = 30) (sigara kullanmayan sağlıklı kontrol grubu): (16 K, 14 E) ortalama yaşı $36,36 \pm 8,55$ idi (dağılım: 22-50).

Çalışmadaki 4 grup arasında cinsiyet ve yaş açısından fark yoktu ($p = 0,807$, $p = 0,720$; sırasıyla) (Çizelge 4.1).

Sigara kullanan GO’lu ve sağlıklı bireyler arasında sigara kullanım özellikleri açısından fark yoktu ($p = 0,246$ ve $p = 0,872$) (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. GO ve kontrol gruplarının demografik özellikleri

	GO		Kontrol		p değeri
	Sigara +	Sigara -	Sigara +	Sigara -	
Yaş (yıl)	37,36±8,84 (22-50)	35,14±8,39 (23-50)	35,43±9,11 (20-50)	36,36±8,55 (22-50)	0,720
Cinsiyet (K/E)	14/16	13/17	14/16	16/14	0,807
Günde Kullanılan Sigara Sayısı (adet)	14,30±8,04 (5-40)	-	16,3±7,97 (5-30)	-	0,246
Sigara tüketimi (paket-yıl)	14,3±8,04 (5-30)	-	13,2±8,61 (5-30)	-	0,872

Sigara kullanan ve kullanamayan GO'lu hastalar arasında hipertiroidizimin süresi, GO süresi, aktif/inaktif olgu sayıları, serbest T3, serbest T4, TSH ve TSHR-Ab düzeyleri açısından fark izlenmedi. (Çizelge 4.2)

Çizelge 4.2. Sigara kullanan ve kullanmayan GO'lu olguların klinik özellikleri

	GO Sigara (+)	GO Sigara (-)	p değeri
Hipertiroidizm süresi	3,48±2,43 (1-10)	4,01±2,07 (1-8)	0,455
GO süresi	2,03±1,03 (1-5)	2,7±1,61 (1-6)	0,341
Aktif/İnaktif	11/19	9/21	0,367
KAS	3,18±2,15 (0-7)	2,87±2,18 (0-7)	0,711
Serbest T3 (pg/mL)	3,21±1,07 (2,01-4,21)	2,91±1,72 (2,21-3,98)	0,512
Serbest T4 (ng/dL)	1,1±0,34 (0,98-1,56)	1,4±1,1 (1,01-1,63)	0,423
TSH (µIU/mL)	0,56±1,12 (0,32-3,98)	0,81±0,98 (0,78-2,88)	0,366
TSHR-Ab U/L	7,12±1,01 (2-14)	5,95±1,34 (4-12)	0,721

KAS: Klinik Aktivite Skoru

Çalışmadaki olguların TAS, TOS, OSİ, PON-1, PGC-1 α ve MTFA düzeyleri Çizelge 4.3.'te özetlenmiştir.

Çizelge 4.3. GO ve kontrol gruplarında biyokimyasal parametrelerin değerleri

	GO		Kontrol		p değeri
	Sigara + Grup 1	Sigara - Grup 2	Sigara + Grup 3	Sigara - Grup 4	
TAS (mmol/L)	1,64 $\pm$ 0,16 (1,35-1,98)	1,65 $\pm$ 0,16 (1,32-2,07)	1,67 $\pm$ 0,16 (1,34-2,03)	1,68 $\pm$ 0,15 (1,38-1,95)	0,521
TOS (μmol/L)	12,16 $\pm$ 4,10*†§ (4,28-21,55)	10,38 $\pm$ 3,52*¶‡ (4,50-22,83)	8,83 $\pm$ 5,02*¶¥ (4,39-17,36)	6,01 $\pm$ 2,40*‡¥ (3,89-15,61)	0,031
OSİ (AU)	0,69 $\pm$ 0,42*†§ (0,27-2,18)	0,61 $\pm$ 0,35*¶‡ (0,28-1,66)	0,64 $\pm$ 0,34*¶¥ (0,27-2,07)	0,52 $\pm$ 0,14*‡¥ (0,25-0,90)	0,042
PON-1 (U/L)	303,88 $\pm$ 204,47†§ (108-775)	347,70 $\pm$ 224,31¶‡ (127-962)	433,73 $\pm$ 182,54†¶ (116-1006)	437,92 $\pm$ 255,90§‡ (117-1090)	0,024
PGC-1α (ng/mL)	3,39 $\pm$ 1,22 (1,15-6,98)	3,48 $\pm$ 1,36 (1,92-6,97)	3,69 $\pm$ 1,31 (2,28-6,86)	4,05 $\pm$ 1,49 (2,40-7,62)	0.388
MTFA (pg/mL)	60,72 $\pm$ 26,56*†§ (26,40-147,74)	82,78 $\pm$ 29,39*¶‡ (41,78-148,21)	97,40 $\pm$ 24,72*¶¥ (51,78-151,25)	104,06 $\pm$ 29,73*‡¥ (43,94-151,66)	0,012

* p < 0,05, Grup 1-Grup 2

† p < 0,05, Grup 1-Grup 3

§ p < 0,05, Grup 1-Grup 4

¶ p < 0,05, Grup 2-Grup 3

‡ p < 0,05, Grup 2-Grup 4

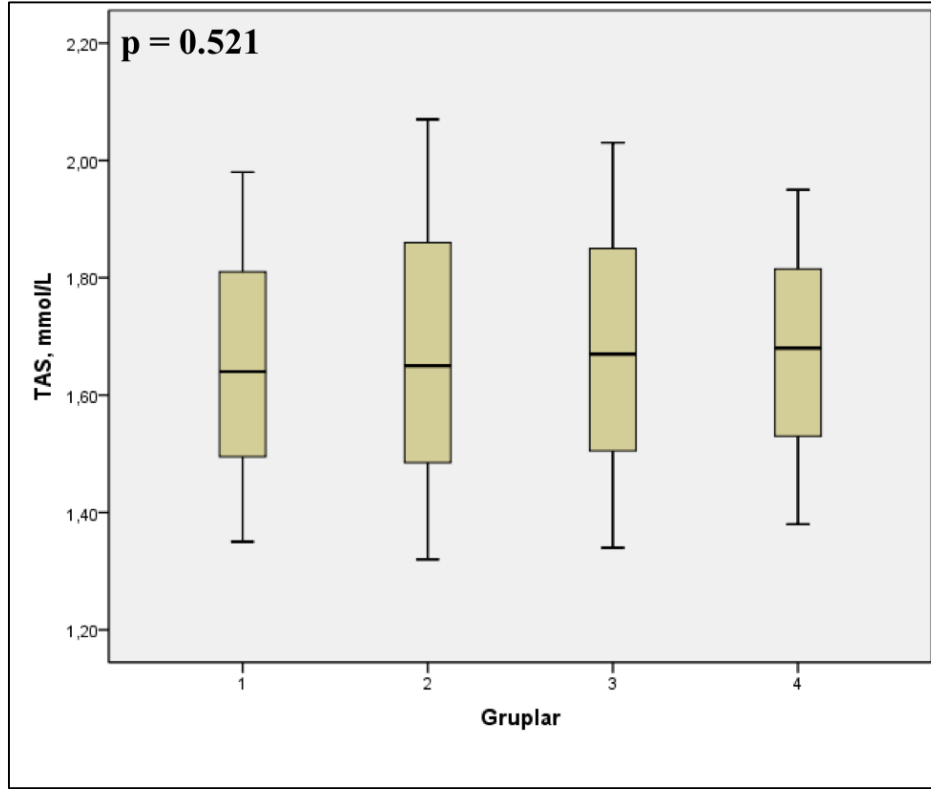
¥ p < 0,05, Grup 3-Grup 4

4.2. Serum TAS – TOS Düzeyleri ve OSİ

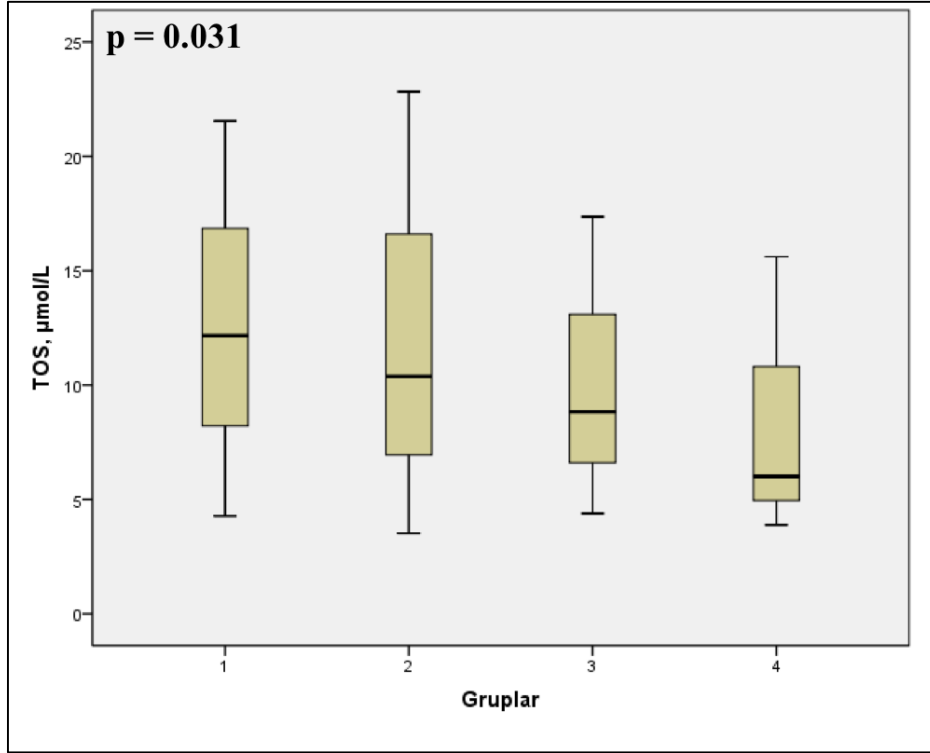
Serum TAS düzeyleri arasında 4 çalışma grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (p = 0,521) (Şekil 4.1).

Serum TOS düzeyleri arasında 4 çalışma grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi (p = 0,031). Gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde, en yüksek değerlerin Grup 1’de, en düşük değerlerin Grup 4’te olduğu izlendi. Gruplar arasında yapılan tüm ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. (Şekil 4.2)

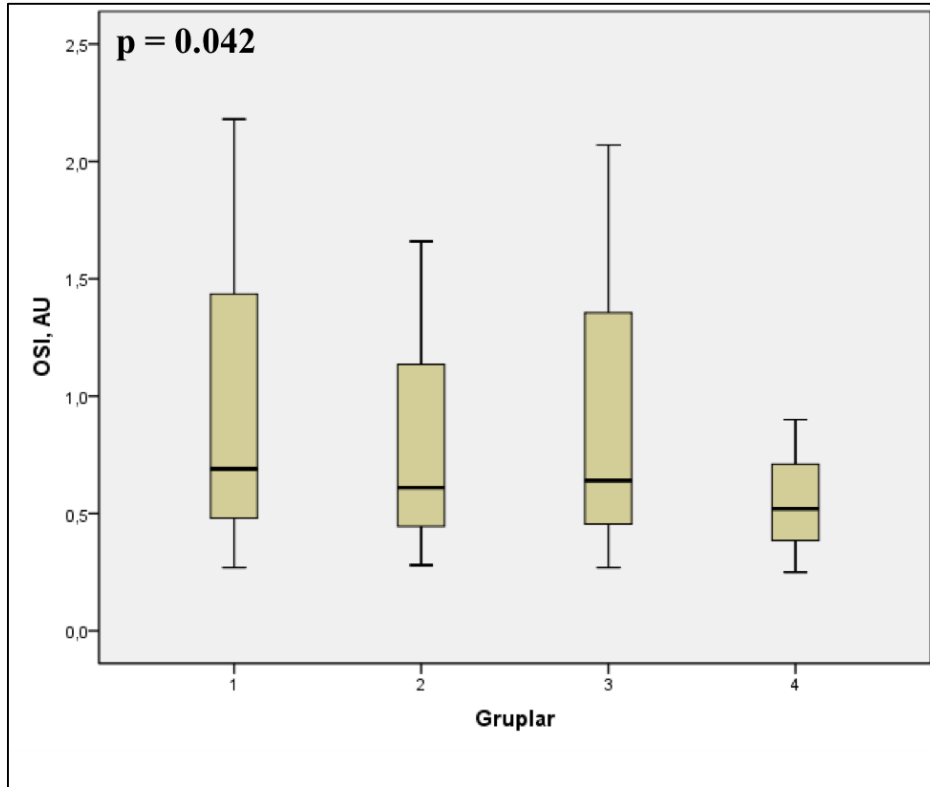
OSİ değerlendirildiğinde ise 4 grup arasında anlamlı fark izlendi ($p = 0,042$). Gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde, en yüksek değerlerin Grup 1’de, en düşük değerlerin Grup 4’te olduğu izlendi. Gruplar arasında yapılan tüm ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. (Şekil 4.3)



Şekil 4.1. Çalışma gruplarında serum TAS düzeyleri



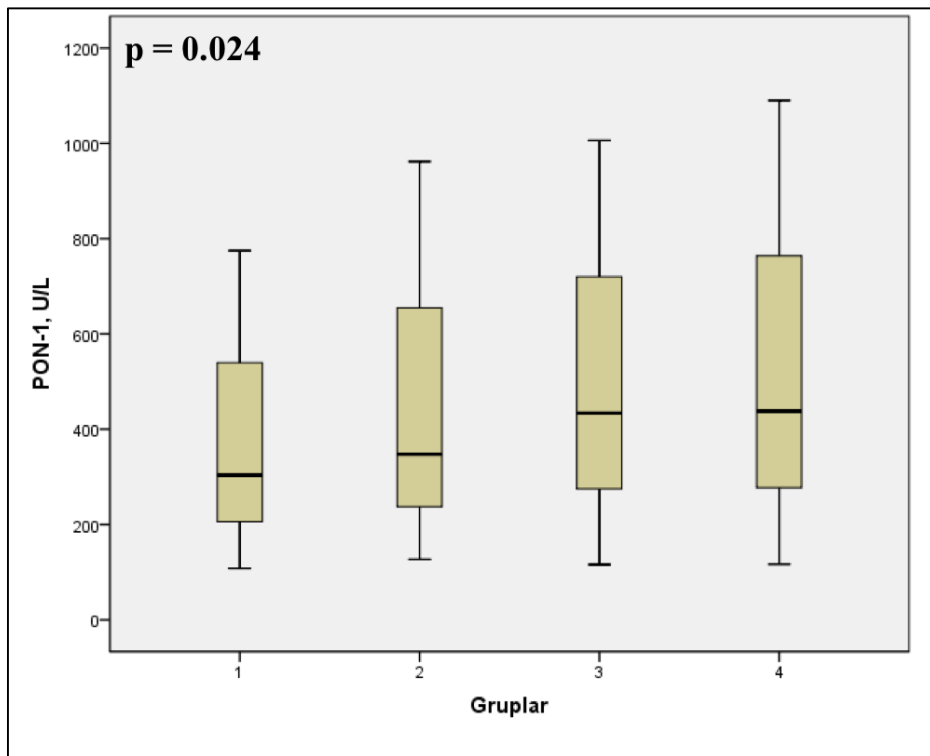
Şekil 4.2. Çalışma gruplarında serum TOS düzeyleri



Şekil 4.3. Çalışma gruplarında OSI düzeyleri

4.3. Serum PON-1 Enzim Aktivitesi

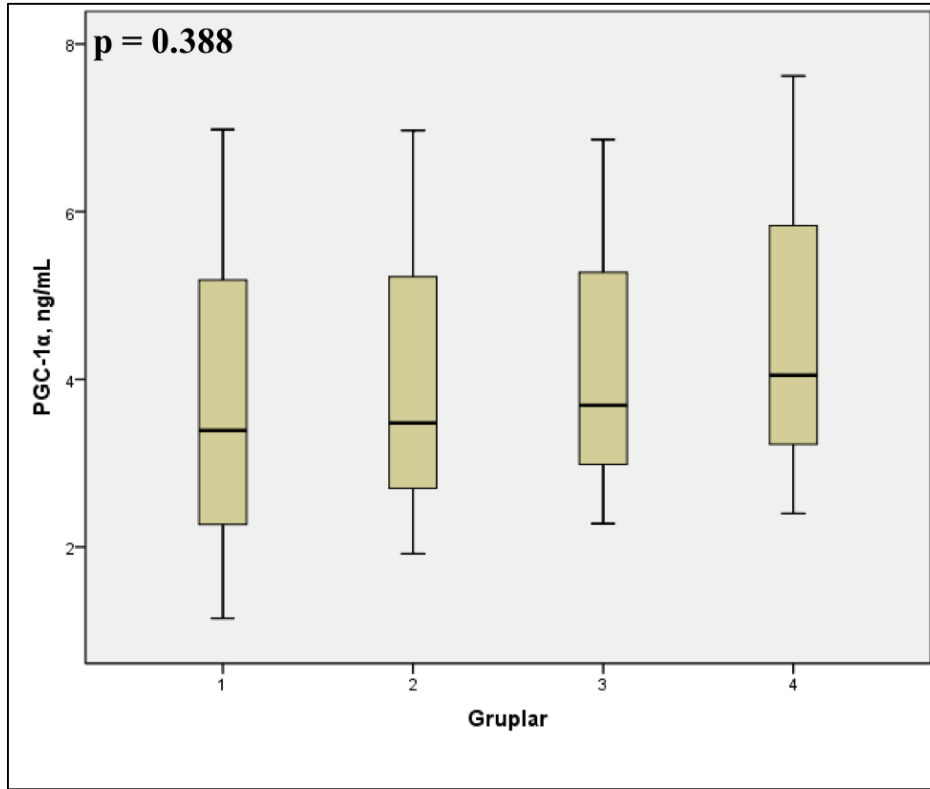
Serum PON düzeyleri arasında 4 çalışma grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi ($p = 0,024$) (Şekil 4.4). Gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde, en düşük değerlerin Grup 4'te, en düşük değerlerin Grup 1'de olduğu izlendi. GO olguları kendi aralarında karşılaştırıldığında (Grup 1 ve Grup 2) değerler arasında anlamlı fark izlenmedi ($p > 0,05$). Benzer şekilde, kontrol grubu kendi arasında değerlendirildiğinde (Grup 3 ve Grup 4) değerler arasında anlamlı fark izlenmedi ($p > 0,05$). Grup 1 ile Grup 3-Grup 4'teki değerler arasında anlamlı fark izlendi ($p < 0,05$). Grup 2 ile Grup 3-Grup 4'teki değerler arasında anlamlı fark izlendi ($p < 0,05$).



Şekil 4.4. Çalışma gruplarında serum PON-1 enzim aktivitesi düzeyleri

4.4. Serum PGC-1 α Düzeyleri

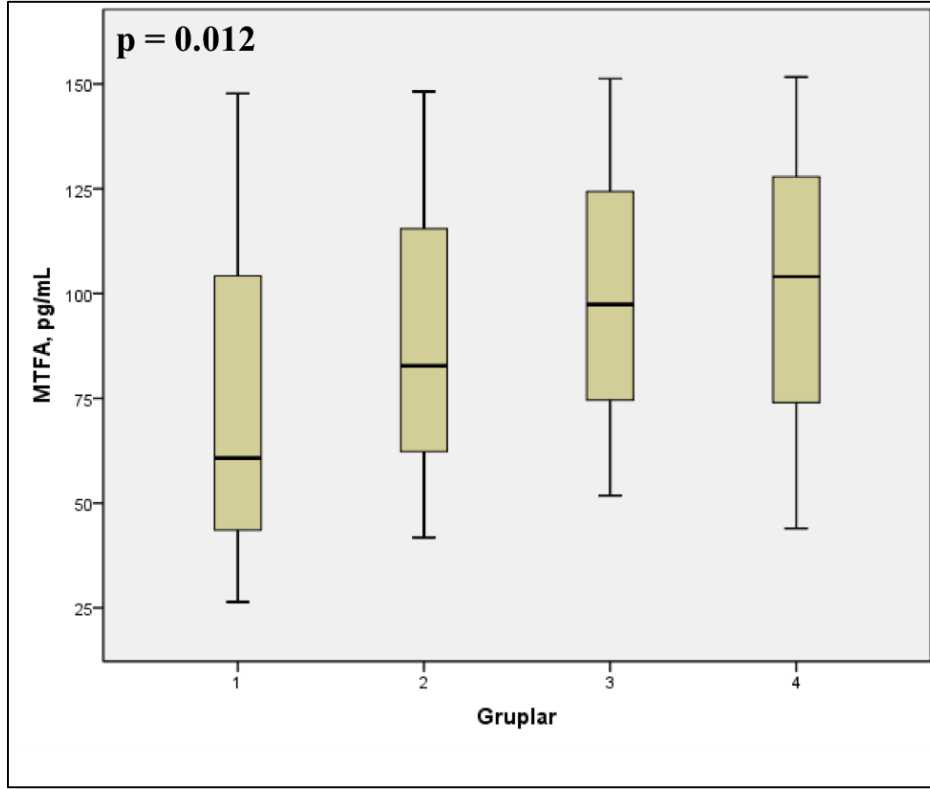
Serum PGC-1 α düzeyleri arasında 4 çalışma grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ($p = 0,388$) (Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Çalışma gruplarında serum PGC-1α düzeyleri

4.5. Serum MTFA Düzeyleri

Serum MTFA düzeyleri arasında 4 çalışma grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlendi ($p = 0,012$) (Şekil 4.6). Gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde, en düşük değerlerin Grup 4'te, en düşük değerlerin Grup 1'de olduğu izlendi. Gruplar arasında yapılan tüm ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi.



Şekil 4.6. Çalışma gruplarında serum MTFA düzeyleri

4.6. GO Aktivitesine Göre Biyokimyasal Parametrelerin Değerlendirilmesi

GO'lu olgularda hastalık aktivitesine göre biyokimyasal parametrelerin düzeyleri Çizelge 4.4.'te özetlenmiştir.

Sigara kullanan ve kullanmayan GO'lu olgular kendi içlerinde aktif (Grup 1A, Grup 2A) ve inaktif olgular (Grup 1B, Grup 2B) olarak incelendiklerinde serum TOS, OSI, PON-1 ve MTFA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p = 0,027$, $p = 0,048$, $p = 0,039$, $p = 0,022$; sırasıyla).

Serum TAS ve PGC-1 α düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p = 0,092$, $p = 0,621$; sırasıyla).

Serum TOS düzeyleri, sigara kullanan aktif GO'lu olgularda en yüksek değerde tespit edildi ve bu fark ikili karşılaştırmalarda diğer üç gruba göre anlamlıydı. İnaktif GO olgularında, sigara kullanımının serum TOS düzeylerinde fark oluşturmadığı izlendi. Aktif GO olgularında ise sigara kullanımı serum TOS düzeylerinde anlamlı bir artışa neden olmaktaydı.

OSİ değerleri, sigara kullanan aktif GO'lu olgularda daha yüksek tespit edildi. Diğer gruplar arasında ikili karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi.

Serum PON-1 aktivitesi, sigara kullanan aktif GO'lu olgularda en düşük tespit edildi. İkili karşılaştırmada, bu fark sadece sigara kullanmayan inaktif GO'lu olgularla kıyaslandığında anlamlıydı.

Serum MTFA düzeyleri, sigara kullanan aktif GO'lu olgularda en düşük düzeyde tespit edildi ve bu fark ikili karşılaştırmalarda diğer üç gruba göre anlamlıydı. İkili karşılaştırmada, diğer üç grup arasındaki fark anlamlı değildi.

Çizelge 4.4. Sigara kullanan ve kullanmayan GO'lu olgularda aktivasyon durumuna göre biyokimyasal parametreler

	GO Sigara (+)		GO Sigara (-)		p değeri
	Aktif Grup 1A	İnaktif Grup 1B	Aktif Grup 2A	İnaktif Grup 2B	
TAS (mmol/L)	1,62±0,11 (1,35-1,92)	1,66±0,06 (1,39-1,98)	1,60±0,24 (1,34-2,07)	1,67±0,11 (1,32-1,91)	0,092
TOS (μmol/L)	18,16±4,51*†§ (5,58-21,55)	6,99±2,92*¶ (4,28-16,21)	14,81±4,22*¶‡ (4,39-22,83)	7,12±3,07*‡ (4,50-19,89)	0,027
OSİ (AU)	0,74±0,82*†§ (0,41-2,18)	0,66±0,47* (0,27-2,01)	0,65±0,34† (0,28-1,66)	0,57±0,19§ (0,28-1,45)	0,048
PON-1 (U/L)	278,71±217,71§ (114-690)	328,11±261,54 (108-775)	334,21±145,14 (127-962)	360,82±305,21§ (177-878)	0,039
PGC-1α (ng/mL)	3,36±1,81 (1,29-6,98)	3,42±1,12 (1,15-6,01)	3,26±1,91 (1,92-6,97)	3,90±2,99 (2,28-6,62)	0,621
MTFA (pg/mL)	41,57±20,17*†§ (26,40-131,22)	80,56±27,12* (38,91-147,74)	74,40±31,62† (57,90-148,21)	96,12±27,98§ (51,78-139,74)	0,022

* p < 0,05, Grup 1A-Grup 1B

† p < 0,05, Grup 1A-Grup 2A

§ p < 0,05, Grup 1A-Grup 2B

¶ p < 0,05, Grup 1B-Grup 2A

‡ p < 0,05, Grup 2A-Grup 2B

4.7. Sigara Kullanan GO Olgularında Günde Kullanılan Sigara Sayısı ve Biyokimyasal Parametrelerin Korelasyonu

Sigara kullanan GO'lu olgularda günde kullanılan sigara sayısı ile çalışmadaki hiçbir biyokimyasal parametrelerin arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Sigara kullanan GO'lu olgular ile biyokimyasal parametrelerin korelasyon analizi

	GO Sigara (+)	p değeri
	r	
TAS (mmol/L)	-0,140	0,721
TOS (μmol/L)	0,065	0,438
OSI (AU)	0,090	0,618
PON-1 (U/L)	-0,280	0,115
PGC-1α (ng/mL)	0,040	0,826
MTFA (pg/mL)	0,216	0,228

5. TARTIŞMA

GH, en sık görülen otoimmün hastalıklardan biridir. Serumda bulunan TSH reseptör otoantikörleri ile karakterize olan ve hipertiroidizme yol açan bir hastalıktır. GO, GH'nın en sık tiroid dışı bulgusudur ve GH olan hastaların %25-50'sini etkilemektedir. GO, kesin sebebi bilinmemekle beraber, otoimmün zemini olan enflamatuvar bir hastalık olarak kabul edilmektedir [143]. Otoimmünitenin tetiklediği kronik enflamasyon, artmış ROT ile karakterizedir. Bunun yanında, artmış tiroid hormonları da bazal metabolizma ve hücrel metabolizmayı hızlandırarak ROT oluşumunu artırır ve OS'ye neden olur [22]. OS'yi değerlendiren bir çok parametre ve anti-oksidan sistem, GO'de kan, idrar ve fibroadipoz dokuda çalışılmıştır [9-15]. Bu konuda literatürdeki çalışmaların çoğunluğu OS ve GO arasındaki ilişkiyi destekler sonuçlar rapor etmişlerdir. Bu çalışmalarda, OS parametreleri ayrı ve birbirinden bağımsız olarak ölçülmüştür. Bu parametreleri ayrı ayrı ölçmek yerine, vücuttaki total OS'yi ölçebilen pratik bir yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemle, dolaşımdaki OS'nin toplam seviyesi TOS olarak ölçülmektedir. Çalışmamızda, literatürü destekler şekilde, TOS seviyeleri, GO grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edildi. GO hastaları kendi arasında incelendiğinde sigara kullanan grupta TOS değerleri anlamlı olarak daha yüksekti. Bu bulgulara göre, sigara kullanımı, GO'da zaten var olan OS'yi daha da arttırmaktadır diye düşünmekteyiz. Kontrol gruplarında da, sigara kullanan bireylerde TOS seviyeleri daha yüksekti. Sağlıklı erkek bireylerde yapılan bir çalışmada da, sigara kullanan bireylerde TOS düzeyleri sigara kullanmayan bireylere göre daha yüksek tespit edilmiştir [144].

Vücuttaki redoks dengesinin, ROT üretimi lehine bozulması, yani OS durumu hücre homeostazisini tehdit eder. Homeostazisin yani yaşamın devam edebilmesi için, organizmanın, endojen ve ekzojen ROT'larla mücadele edecek gelişmiş bir anti-oksidan defans sistemi vardır. Anti-oksidan moleküller de endojen ve ekzojen olarak incelenmektedir. Endojen anti-oksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan olarak iki gruba ayrılır. SOD, KAT, GPx, GR enzimatik endojen anti-oksidanları oluştururken; GSH, melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, seruloplazmin, transferrin, Se, koenzim Q10, α -lipoik asit gibi moleküller enzimatik olmayan endojen anti-oksidanlardır. Vitamin A, C ve E ile folik asit ise ekzojen anti-oksidanları oluşturur [138]. Bu moleküllerden, albümin, C vitamini ve ürik asit, insanda total anti-oksidan sistemin %85'ini oluşturur. Sayıca çok fazla olan bu anti-oksidan moleküllerin tek tek ölçülmesi, hem maliyet hem de zaman anlamında

pratik değildir. Bu sorunların üstesinden gelmek için geliştirilen TAS ölçümü bir çok araştırma makalesi ve derlemede değerlendirilmiştir. Çalışmamızda, TAS düzeyleri açısından 4 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi. TOS düzeylerinin, GO gruplarında, özellikle de sigara kullanan GO'lu bireylerde yüksek çıkmasına karşın, anti-oksidan düzeylerinin benzer olması, OS ile mücadele etmek için tüm anti-oksidan moleküllerin sentezinin artmasıyla ilgili olabilir. Çalışmamızdaki tüm olguların yaşlarının 50 ve altında olması aynı zamanda eşlik eden başka sistemik hastalıklarının olmaması ve GO gruplarının ötiroid olması TAS seviyelerinin sigara ve GO'ya rağmen sağlıklı bireylerle benzer düzeyde kalmasını sağlamış olabilir.

TOS'un TAS'a yüzde oranı OSİ olarak ifade edilir ve OS derecesinin göstergesi olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızda, 4 grup arasında OSİ değerleri en yüksekten düşüğe sırasıyla; sigara kullanan GO'lu olgularda, sigara kullanmayan GO'lu olgularda, sigara kullanan sağlık bireylerde ve sigara kullanmayan sağlıklı bireylerde tespit edildi. Saptanan OSİ değerlerine göre, TOS sonuçları ile uyumlu olarak, sigara kullanımı ve GO, OS'ye neden olmaktadır. Sigara kullanımı, GO olmasa bile, tek başına OS'i arttıran bir faktör gibi görünmektedir. Karademirci ve ark.nın sağlıklı erkek bireylerde yaptığı çalışmadakine benzer olarak, sadece sigara bile TOS ve OSİ değerlerinde artışa neden olmaktadır [144].

Günümüzde, hastalıkların etyopatogenezlerini daha iyi anlayabilmek için yapılan çalışmalar, giderek daha moleküler düzeye inmekte ve doğrudan hücre yüzeyini (reseptörler) veya hücre içindeki alt yapıları hedeflemektedir. Teknoloji geliştikçe ve araştırmalar detaylandırıldıkça, hücrenin alt birimleri olan organeller, spesifik olarak pek çok hastalık ile ilişkilendirilmeye başlanmıştır. Glokom, dejeneratif retinal hastalıklar, meibomian bez disfonksiyonları, katarakt ve GO gibi birbirinden çok farklı oftalmolojik hastalıkta da, peroksizom, ribozom, endoplazmik retikulum, golgi aygıtı, mitokondri, lizozom, nükleusun (DNA) rolü araştırılmış ve pek çok yeni çalışmaya, yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesine yol açmıştır [145-151].

Bütün bu organeller içinde, mitokondri, diğer organellere göre daha farklı imtiyazlarla fonksiyon görmektedir. Kendine ait genetik sistemi (mtDNA), ribozomları, taşıyıcı RNA (tRNA), protein sentez enzimlerinin olması, mitokondrilerin, hücre içinde simbiyotik yaşam süren bakterilerden evrimleştiğini düşündürmektedir. Yaşam için mutlak gerekli olan su (H_2O) ve oksijen (O_2), yaşamsal anlamlarını mitokondride kazanırlar. Bu iki yaşamsal

molekül, mitokondride, ATP sentezinde rol alırlar. ATP sentezinin gerçekleştiği ve hücrenin güç evi olarak bilinen mitokondri, hücrenin beyni olan nükleus da dahil olmak üzere tüm organellerin fonksiyon görmesi için gereklidir. Hücreden başlayarak doku, organ yani tüm vücut ATP olmadan fonksiyon göremez. Bu nedenle, ATP yaşam demekse, mitokondri de yaşamsal öneme sahiptir demek yanlış olmayacaktır.

Yukarıda daha önce bahsedildiği gibi, hücrede DNA içeren iki birim vardır: Nükleus ve mitokondri. Nükleer genomla karşılaştırıldığı zaman, mtDNA'da mutasyon görülme oranı 10 kat daha fazladır [152]. Çünkü, ATP'nin sentezlendiği OKSFOS sürecinde çok fazla miktarda ROT oluşmaktadır. ROT'lar kimyasal özellikleri gereği, protein, lipid ve DNA gibi pek çok biyolojik yapı ile kolayca reaksiyona girerek yapılarını ve dolayısıyla fonksiyonlarını bozmaktadır. Mitokondri, işlevi gereği ROT'larla yakın ilişki içindedir. ROT'lara karşı koruyucu olan ve nükleer DNA'da bulunan yapısal özellikler mtDNA'da bulunmaz. Ayrıca, DNA tamir enzimlerinin, nükleusa göre mitokondride daha az bulunması, mtDNA'yı ROT hasarına karşı daha duyarlı hale getirir [153, 154]. Bu farklılıklar, somatik mutasyonların, mtDNA'da neden daha fazla görüldüğünü açıklamaktadır. Görüldüğü gibi, mitokondri hem hücredeki ROT'un ana kaynağı olmakta hem de en çok kendisi etkilenmektedir.

mtDNA somatik mutasyonların rolü, kanser, nörodejeneratif hastalıklar, kardiyak ve bazı otoimmün hastalıklarda gösterilmiştir [155-157]. Aynı zamanda , yaşlanma süreci sırasında da mtDNA somatik mutasyonlarının arttığı gösterilmiştir [158].

Chen ve ark., mtDNA'da somatik mutasyonlardan kaynaklanan mutasyonel self peptidlerin immün cevabı tetiklediği ve çapraz reaksiyonla, sağlıklı self peptidlere karşı da immün cevap oluştuğunu göstermişlerdir [159].

Otoimmün bir hastalık olan romatoid artritli hastaların sinovyal sıvılarında, mtDNA somatik mutasyonlarının, osteoartritli olgulara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir [160]. Bir diğer otoimmün hastalık olan sistemik lupus eritematozis (SLE) hastalarında mitokondriyal biyogenezisin etkilendiği bildirilmiştir [161]. Yine SLE hastalarında, hastalık aktivite indeksi ile mtDNA kopya sayısı ve mtDNA'nın D310 heteroplazmisi arasında ilişki tespit edilmiştir [162]. Özetle, mtDNA'daki mutasyonlar, mutasyonel self peptidlerin oluşumuna

sebeep olabilir, böylece otoimmün hastalıkların başlamasına veya devam etmesine sebee olabilir. Sonuç olarak da, bu mutasyonlar, mitokondriyal biyogenezisi bozabilir.

Literatürde, tiroid hormonlarının mitokondriyal biyogenezisteki önemli rolünü vurgulayan yayınlar mevcuttur [163, 164]. Tiroid hormonları, metabolizma üzerinde çok derin etkileri iyi bilindiğı için mitokondriyal biyogenezis üzerindeki rolleri beklenen bir durumdur. Ancak, otoimmün hastalıkların en sık görülenlerinden olan GH ve GO ile mitokondriyal biyogenezisi irdleyen bir çalışma literatürde henüz yoktur.

GO'da, elektron mikroskobisi ile ekstraöküler kas tutulumu olan üç olguda, kas dokusunda mitokondriyal anormallikler gösterilmiştir [165]. Yazarlar, mevcut mitokondriyal anormalliklerin, göz kaslarındaki otoimmün reaksiyonu yansıtabileceğini ifade etmişlerdir. Bu çalışma, mitokondrinin yapısal anormalliğini göstermekte ancak, mitokondrinin fonksiyonel bozukluğu hakkında bir bilgi vermemektedir.

Hosal ve ark. ile Gunji ve ark., GO olan hastaların serumlarında mitokondriyal bir enzim olan süksinat dehidrogenazın flavoprotein alt ünitesine karşı oluşmuş antikor düzeylerini değerlendirmişlerdir [166, 167]. Her iki çalışmada da, süksinat dehidrogenazın flavoprotein alt ünitesine karşı oluşmuş antikorlar ve kas tutulumu arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. Cheng ve ark.nın, orbita yağ dokusunda, farklı orbital proteinlerin proteomik analizini yaptıkları çalışmada, mitokondriyal enzimler olan izositrat dehidrogenaz ve ATP sentazın düzeylerinin arttığı gösterilmiştir [149]. Bu çalışmalarda, farklı mitokondriyal enzimler değerlendirilmiştir; ancak tek bir enzimin değerlendirilmesi mitokondrinin bütününe yönelik bir fikir vermemektedir. Örneğin, tiroid bezinin sağlığı, farklı hormonlarla (sT3, sT4, TSH), çeşitli antikor düzeyleriyle ve görüntüleme yöntemleriyle değerlendirilir. Bu parametrelerden bir tanesinin normal veya anormal olması, bize tiroid bezinin bütünü hakkında bilgi vermez. Mitokondriyal fonksiyonu daha genel anlamda gösteren parametreler, mitokondrinin ne kadar stres altında olduğu ve etkilendiğı hakkında daha bütünsel bir bilgi verecektir.

PGC-1 α , mitokondriyal biyogenezisi düzenleyen en önemli proteinlerden bir tanesidir. PGC-1 α , bir transkripsiyon faktörü olarak, mitokondride gerçekleşen yağ asitlerinin oksidasyonu, glukoz metabolizması, trikarboksilik asit döngüsü, OKSFOS, elektron transport sistemi, anti-oksidan defans sistemi, termogenezis, hem biyosentezi gibi

yolaklarda önemli proteinlerin gen ekspresyonunun regülasyonunda sorumludur [168]. Bu proteinin seviyelerinin artması, mitokondriyal biyogenezisin potansiyel indükleyicisidir ve mitokondri sayısı ve kapasitesini arttırdığı gösterilmiştir [169].

Bu nedenle, mitokondriyal fonksiyonların ve dolayısıyla hücre enerji metabolizmasının ana organizatörü olarak tanımlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda, PGC-1 α 'nın anti-oksidan özellikleri de gösterilmiştir. SOD1, SOD2 (MnSOD), GPx1 gibi anti-oksidan enzimleri indükleyerek OS'yi baskıladığı iyi bilinmektedir [170].

Çalışmamızda, 4 grup arasında PGC-1 α düzeyleri açısından anlamlı fark saptanmadı. Ancak yine de, en düşük değerlerin sigara kullanan GO'lu hastalarda tespit edilmesi, GO ve sigaranın birlikte en olumsuz etkiye yol açtığını göstermektedir. Sigara kullanmayan GO'lu bireylerin değerlerinin de sigara kullanan sağlıklı bireylerden düşük olması, GO'nun varlığının tek başına sigara kullanımından daha fazla olumsuz etkiye yol açtığını düşündürülebilir.

PGC-1 α 'nın mitokondriyal biyogenezis üzerindeki etkilerinden biri de, MTFA proteinin de sentezini arttırmaktadır. PGC-1 α aktive olarak, önce NRF-1 ve NRF-2'yi, ardında da MTFA'yı aktive eder. PGC-1 α – NRF – MTFA yolağının aktivasyonu mtDNA ve protein sentezini arttırarak yeni mitokondrilerin oluşumunu sağlar. MTFA, nükleus tarafından kodlanan ve mtDNA kopya sayısının regülasyonundan (ekspresyonu ve gerektiği zaman tamiri) sorumlu ana moleküldür. OS durumlarında, MTFA'nın aşırı sentezlenmesi ile mtDNA'nın devamlılığı sağlanarak, mitokondriyal fonksiyonların normal olarak devam etmesi sağlanır [171]. Kısaca, PGC-1 α ve MTFA düzeyleri mitokondriyal biyogenezisi göstermektedir. Fizyolojik ve patolojik koşullarda, sürekli ROT hasarına maruz kalan mtDNA için MTFA çok önemlidir. Çalışmamızda MTFA değerleri, TOS'un daha yüksek bulunduğu sigara kullanan GO grubunda daha düşük bulundu. Bu sonuçlara göre, GO ve sigaranın beraber varlığı, MTFA'nın sentezinin artmasına engel olmaktadır. Böylece, belki de mitokondriyal biyogenezisin devamlılığının korunması tehlikeye girmektedir. Sağlıklı anti-oksidan defans sistemi varlığında, PGC-1 α 'nın ve MTFA'nın artarak OS'in olumsuz etkilerinin üstesinden gelmesi beklenir. Sigara maruziyetinin solunum yolu epitel hücreleri ve düz kaslarında mitokondriyal yapı ve fonksiyonda değişikliğe neden olduğunu göstermişlerdir [172, 173]. Sigara kullanımı potansiyel olumsuz etkisiyle, zaten OS altında

olan GO hastalarında, mitokondriyal biyogenezisin önemli iki proteininin sentezinin artışı daha da engelliyor olabilir.

Tiroid hormonlarının da MTFA'yı etkilediği bilinmektedir [174]. İskelet kas liflerinde, mitokondriyal membran üzerinde T3 reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir [175]. Bu da, tiroid hormonlarının mitokondriyal fonksiyonlar üzerindeki etkisini desteklemektedir. Hashimoto hipotiroid miyopatisi olan hastalarda, iskelet kası dokusunda MTFA düzeylerinin ve mtDNA kopya sayısının azaldığı gösterilmiştir [176]. Her ne kadar çalışmamızdaki GO'lu tüm hastalar ötiroid olsa da, temelinde tiroid bezi fonksiyon bozukluğunun yattığı için, bu mekanizma üzerinden de mitokondriyal fonksiyonların zarar görmesi muhtemeldir.

Paraoksonazlar (PON), hücre içi ve lipoproteinlerin içindeki lipid peroksidlerini degrade etmeleri nedeniyle endojen anti-oksidan bir enzim olarak kabul edilirler. Bu etkilerini, peroksidaz, esteraz, ve laktonaz aktiviteleriyle gösterirler. Obezite, kanser, diyabet, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklarda PON ve PON ilişkili mitokondriyal disfonksiyonun potansiyel etkisi araştırmalara konu olmaktadır [18]. OS altındaki hücrelerde, mitokondriyal disfonksiyonu önlemede PON enzim ailesinin rolü çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. PON-1 defektli farelerde, aterojenik diyetle beraber, karaciğer yağlanmasında artış, dokudaki OS belirteçlerinin düzeylerinde yükselme ve Krebs siklusunda ciddi azalma tespit edilmiştir [177]. PON'lar mitokondri ilişkili $\cdot O_2^-$ üretimini kontrol ederler ve apoptozisi önlerler [18]. Bu sebeple, mitokondriyal disfonksiyonu önlemede önemli rolleri vardır. Çalışmamızda, sigara kullanan ve kullanmayan GO'lu olguların serum PON-1 düzeyleri, her iki kontrol grubundan da (sigara kullanan ve kullanmayan) daha düşük tespit edildi. GO'lu olgular kendi içinde değerlendirildiğinde, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber, sigara kullanan GO'lu olguların serum PON-1 düzeyleri daha düşüktü. Sağlıklı bireyler arasında, sigara kullananlarda serum PON-1 düzeyleri daha düşük tespit edilmekle beraber, aradaki farkın anlamlı olmadığı izlendi. Korkmaz ve ark., otoimmün tiroid hastalığında (Hashimoto tiroiditi ve GH) azalmış serum PON-1 aktivitesi rapor etmişlerdir [178]. Raiszadeh ve ark. da benzer şekilde, hipertiroidili olgularda azalmış PON-1 aktivitesi tespit etmişlerdir [179]. Literatürde, Sjögren sendromu, karışık bağ doku hastalığı, romatoid artrit, SLE gibi farklı otoimmün hastalıklarda da azalmış PON-1 aktiviteleri rapor edilmiştir [180-183]. Bu sonuçlara göre de, hem GO hem sigara, PON-1 seviyesini azaltan faktörler olarak görünmektedir. Ancak, serum PON-1 seviyelerinde 13 kata; aktivitesinde 40 kata varabilen bireysel farklılıklar olabilmektedir

[184]. Genetik polimorfizim ve yaş, cinsiyet, yaşam tarzı, farmasötik uygulamalar gibi çevresel faktörler PON-1 aktivitesini etkileyebilir [185].

GO'nun ortaya çıkması veya kötüleşmesi için üzerinde en çok çevresel risk faktörlerden birisi sigara kullanımıdır ve bu risk günlük içilen sigara adedi ile paralel artış gösterir [46, 55, 56]. Yaptığımız çalışmada da, sigara kullanan GO hastalarında, TOS ve OSİ değerleri, hem sigara kullanmayan GO'lu olgulara göre hem de sigara kullanan ve kullanmayan kontrol grubuna göre daha yüksek tespit edildi. In vivo ve in vitro çalışmalarda, GO'lu olgularda sigara kullanımının enflamatuar belirteçlerde artışa neden olarak bağ dokuve yağ dokuda yeniden yapılanmaya yol açtığı gösterilmiştir [61-63, 102]. Yine, GO patogenezinde rol aldığı düşünülen çeşitli moleküllerin düzeylerinin, orbital fibroblast kültür ortamlarına sigara özütü eklenmesi ile arttığı izlenmiştir [63-65].

GO'lu olgularda, sigara kullanımının tedaviye kötü cevap ile ilişkili olduğunu belirten yayınlar da mevcuttur [57-59]. Farklı klinik çalışmalar da, laboratuvar çalışmalarını destekler biçimde sigara kullanımının GO üzerindeki olumsuz etkilerini desteklemektedir [56, 66-69]. Çalışmamızda değerlendirdiğimiz anti-oksidan bir enzim olarak kabul edilen PON-1 ve sağlıklı mitokondriyal biyogenezis için gerekli bir protein olan MTFA düzeyleri sigara kullanan GO'lu bireylerde, sigara kullanmayan GO'lu bireyler ile sigara kullanan ve kullanmayan kontrol gruplarına göre daha düşük tespit edildi.

GO'lu olguların günlük kullandığı sigara sayısı ile değerlendirdiğimiz biyokimyasal parametreler arasında anlamlı bir korelasyon saptamadık. Bu durum, hasta sayımızın azlığı ile ilgili olabilir diye düşünmekteyiz.

Bu çalışmada, incelenen biyokimyasal parametrelerin GO'lu hastalarda klinik bulgularla olan ilişkisi de değerlendirilmiştir. GO'nun doğal seyri, progresif kötüleşmenin olduğu başlangıç aktif faz ve sonrasında onu takip eden hastalığın rezidüel morbidite bulguları ile karakterize durağan inaktif fazdan meydana gelir. Aktif faz, enflamasyon bulguları ile karakterizedir. OS'nin de enflamasyonun yaygınlığı ile korele olduğu bilinmektedir [186]. Hastalığın aktif enflamatuar fazında önerilen sistemik steroid tedavisinin hem enflamasyon hem de OS'yi azalttığını gösteren klinik çalışmalar mevcuttur [13, 87]. Akarsu ve ark., GO ve steroid tedavisinin (intravenöz vs. oral) serum MDA ve GSH üzerindeki etkisini değerlendirmişler ve serum MDA seviyelerinin her iki tedavi grubunda da, tedavi öncesine

göre anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir [87]. Tsai ve ark., maksimum sistemik streoid tedavisi alan aktif GO'lu hastalarda, oksidatif DNA hasar belirteci olan 8OHdG üriner seviyelerinde tedavi sonrasında anlamlı azalma olduğunu göstermişlerdir [13]. Bu bulgulara KAS ve hastalık ciddiyetinde (oftalmopati indeksi) azalma da eşlik etmiştir. Bednarek ve ark., kontrol grubuna göre yüksek periferel ROT düzeylerine sahip aktif infiltrative GO'lu olgularda, steroid tedavisi ile ROT düzeylerinin normalizasyonunu izlemişlerdir [87]. Biz de çalışmamızda, sigara kullanan aktif GO'lu olgularda serum TOS, OSİ değerlerini daha yüksek; serum PON-1 aktivitesi ve MTFA seviyelerini daha düşük tespit ettik. Bu bulgular ışığında, özellikle aktif GO'lu hastalardaki orbital ve/veya sistemik enflamasyonun ROT oluşumu tetiklediği, bunun ROT ilişkili OS'ye neden olduğu ve sigaranın bu olumsuz etkiyi arttırarak bazı mitokondriyal biyogenezis ilişkili parametreleri olumsuz etkilediği söylenebilir.

Mitokondriyal biyogenezis, bu çalışmada değerlendirdiğimiz ve diğer birçok proteinin senkronizasyon ile çalışmasına bağlıdır. Bu bulgular ışığında, OS'nin neden olduğu veya kendisinin OS'yi şiddetlendirdiği bir klinik tablo olan GO, mitokondriyal biyogenezisin önemli proteinlerini olumsuz etkilemektedir. Bu olguların, ayrıca sigaraya maruz kalması bu parametrelerde daha da olumsuz değişimlere neden olmaktadır. Sağlıklı bireylerde de, sigara kullanımı mitokondriyal fonksiyondan sorumlu molekülleri etkileyebilmektedir.

6. SONUÇ

Çalışmamızda, GO olan olgularda, iyi bilinen bir risk faktörü olan sigaranın etkisini, OS parametreleri ve mitokondriyal biyogenezisten sorumlu moleküller üzerinden değerlendirmeyi amaçladık. GO'lu ve sağlıklı bireyleri sigara kullanan ve kullanmayan olarak gruplandırdık.

OS ve buna karşı vücuttaki defans sistemini oluşturan anti-oksidan sistemi değerlendirmek için TAS, TOS ve OSİ değerlerine baktığımızda; TAS değerlerinin 4 grupta da istatistiksel olarak benzer olduğunu tespit ettik. TOS ve OSİ değerleri, sigara kullanan GO'lu bireylerde tüm gruplara göre daha yüksek tespit edildi. Sigara kullanmayan GO'lu bireylerde de TOS düzeyleri, sağlıklı bireylerden yüksek tespit edildi.

PGC-1 α düzeyleri, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber sigara kullanan GO'lu bireylerde en düşük seviyedeydi. Bu da, GO varlığı ve sigara kullanımının mitokondriyal fonksiyonlardan sorumlu bu proteini olumsuz etkilediğini düşündürülebilir.

Anti-oksidan rolü bilinen PON-1 enzimi, sigara kullanan GO'lu bireylerde en düşük; sigara kullanmayan sağlıklı bireylerde en yüksek düzeyde tespit edildi. İstatistiksel olarak anlamlı olan bu fark, etkilenmiş bir mitokondriyal defans sistemini akla getirebilir.

mtDNA'nın devamlılığı, paketlenmesi ve transkripsiyonunda esansiyel öneme sahip MTFA düzeyleri, sigara kullanan GO'lu bireylerde, diğer tüm gruplara göre, tespit edilen OS ile uyumlu olarak daha düşük tespit edildi.

Özetlemek gerekirse, GO etyolojisinde yer alan mekanizmalar; otoimmünite, kronik enflamasyon, OS'nin artması, antioksidan sistemin azalması olarak bilinmektedir. Mitokondri, ROT'ların hem önemli bir kaynağı hem de hedefi olarak kısır döngüye neden olarak GO'nun etyopatogenezinde yer alıyor olabilir ve sigara bu olumsuz etkilerin şiddetlenmesine neden olabilir. Bozulmuş mitokondriyal fonksiyon, nekrozis ve/veya apoptozis yolu ile sitotoksik etkilere neden olabilir.

Karmaşık OS tablosunda, hem sebep olan hem de etkilenen bir yapı olarak mitokondrinin biyogenezisinin araştırılması, mitokondrinin, bu tablodaki yerini bulmaya yardımcı olacak gibi görünmektedir.

Mitokondriyal yaşamı ve fonksiyonu destekleyen spesifik anti-oksidanlarla veya mtDNA'yı koruyan ve tamir eden moleküllerin, gen düzeyinde müdahale edilerek arttırılması ile tedavide yeni seçenekler geliştirilebilir. Ayrıca, belirlenen spesifik parametrelerin düzeylerine bakarak, hastalığın şiddetini ve prognozunu önceden tahmin edebilme imkanı olabilir. Sonuç olarak, bu çalışmanın, hem ciddi görme kaybının yaşanabildiği hem de kozmetik nedenlerle psikolojik rahatsızlıklara neden olabilen GO'lu hastalar için yeni bir umut ışığı olabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Burch HB, Wartofsky L. (1993). Graves' ophthalmopathy: current concepts regarding pathogenesis and management. *Endocrine Reviews* 14(6), 747-793.
2. Bahn RS. (2010). Graves' ophthalmopathy. *New England Journal of Medicine* 362(8), 726-738.
3. Dolman PJ. (2012). Evaluating Graves' orbitopathy. *Best Practice & Research: Clinical Endocrinology & Metabolism* 26(3), 229-248.
4. Kendall-Taylor P, Perros P. (1998). Clinical presentation of thyroid associated orbitopathy. *Thyroid* 8(5), 427-428.
5. Rootman J, Dolman PJ. (2003). Thyroid orbitopathy (Chapter 8). In: Rootman J, ed. *Disease of the Orbit. A Multidisciplinary Approach*. Hagerstown, MD: Lippincott Williams & Wilkins, 169-212.
6. Gerding MN, Terwee CB, Dekker FW, Koornneef L, Prummel MF, Wiersinga WM. (1997). Quality of life in patients with Graves' ophthalmopathy is markedly decreased: measurement by the medical outcomes study instrument. *Thyroid* 7(6), 885-889.
7. Ilaria Liguori, Gennaro Russo, Francesco Curcio, Giulia Bulli, Luisa Aran, David Della-Morte et al. (2018). Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging* 13:757–772.
8. Giulia Di Dalmazi, Jason Hirshberg, Daniel Lyle, Joudeh B. Freij, Patrizio Caturegli. (2016). Reactive oxygen species in organ-specific autoimmunity. *Autoimmunity Highlights* 7(1), 11.
9. Tsai CC, Cheng CY, Liu CY, Kao SC, Kau HC, Hsu WM et al. (2009). Oxidative stress in patients with Graves' ophthalmopathy: relationship between oxidative DNA damage and clinical evolution. *Eye (London, England)* 23(8), 1725-1730.
10. Tsai CC, Wu SB, Cheng CY, Kao SC, Kau HC, Chiou SH et al. (2010). Increased oxidative DNA damage, lipid peroxidation, and reactive oxygen species in cultured orbital fibroblasts from patients with Graves' ophthalmopathy: evidence that oxidative stress has a role in this disorder. *Eye (London, England)* 24(9), 1520-1525.
11. Tsai CC, Wu SB, Cheng CY, Kao SC, Kau HC, Lee SM et al. (2011). Increased response to oxidative stress challenge in Graves' ophthalmopathy orbital fibroblasts. *Molecular Vision* 17:2782-2788.
12. Konuk O, Hondur A, Akyurek N, Unal M. (2007). Apoptosis in orbital fibroadipose tissue and its association with clinical features in Graves' ophthalmopathy. *Ocular Immunology and Inflammation* 15(2), 105-111.
13. Tsai CC, Kao SC, Cheng CY, Kau HC, Hsu WM, Lee CF et al. (2007). Oxidative stress change by systemic corticosteroid treatment among patients having active graves ophthalmopathy. *Archives of Ophthalmology* 125(12), 1652-1656.

14. Yuksel N, Tanriverdi B, Ipteç B, Erel O. (2018). Thiol-disulfide homeostasis as an oxidative stress marker in patients with Graves' ophthalmopathy. *Orbit* 18:1-6.
15. Hondur A, Konuk O, Dincel AS, Bilgihan A, Unal M, Hasanreisoglu B. (2008). Oxidative stress and antioxidant activity in orbital fibroadipose tissue in Graves' ophthalmopathy. *Current Eye Research* 33(5), 421-427.
16. Bartalena L, Piantanida E. (2016). Cigarette smoking: number one enemy for Graves ophthalmopathy. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej* 126(10), 725-726.
17. Scarpulla RC (2006). Nuclear control of respiratory gene expression in mammalian cells. *Journal of Cellular Biochemistry* 97(4), 673-683.
18. Camps J, García-Heredia A, Hernández-Aguilera A, Joven J. (2016). Paraoxonases, mitochondrial dysfunction and non-communicable diseases. *Chemico-Biological Interactions* 259(Pt B), 382-387.
19. Bartalena L, Pinchera A, Marcocci C. (2000). Management of Graves' ophthalmopathy: reality and perspectives. *Endocrin Reviews* 21(2), 168-199.
20. Marcocci C, Leo M, Altea MA. (2012). Oxidative stress in Graves' disease. *European Thyroid Journal* 1(2), 80-87.
21. Zarković M. (2012). The role of oxidative stress on the pathogenesis of Graves' disease. *Journal of Thyroid Research* 2012:302537.
22. Venditti P, Di Meo S. (2006). Thyroid hormone-induced oxidative stress. *Cellular and Molecular Life Sciences* 63(4), 414-434.
23. Thornton J, Kelly SP, Harrison RA, Edwards R. (2007). Cigarette smoking and thyroid eye disease: a systematic review. *Eye (London, England)* 21(9), 1135-1145.
24. Marcocci C, Kahaly GJ, Krassas GE, Bartalena L, Prummel M, Stahl M et al.; European Group on Graves' Orbitopathy. (2011). Selenium and the course of mild Graves' orbitopathy. *New England Journal of Medicine* 364(20), 1920-1931.
25. Kimball LE, Kulinskaya E, Brown B, Johnston C, Farid NR. (2002). Does smoking increase relapse rates in Graves' disease? *Journal of Endocrinological Investigation* 25(2), 152-157.
26. Bartalena L, Marcocci C, Tanda ML, Manetti L, Dell'Unto E, Bartolomei MP et al. (1998). Cigarette smoking and treatment outcomes in Graves ophthalmopathy. *Annals of Internal Medicine* 129(8), 632-635.
27. Regensburg NI, Wiersinga WM, Berendschot TT, Saeed P, Mourits MP. (2011). Effect of smoking on orbital fat and muscle volume in Graves' orbitopathy. *Thyroid* 21(2), 177-181.
28. Wall JR, Lahooti H. (2010). Pathogenesis of thyroid eye disease--does autoimmunity against the TSH receptor explain all cases? *Endokrynologia Polska* 61(2), 222-227.

29. Wiersinga WM, Bartalena L. (2002). Epidemiology and prevention of Graves' ophthalmopathy. *Thyroid* 12(10), 855-860.
30. Bahn RS. (2015). Current Insights into the Pathogenesis of Graves' Ophthalmopathy. *Hormone and Metabolic Research* 47(10), 773-778.
31. Gopinath B, Wescombe L, Nguyen B, Wall JR. (2009). Can autoimmunity against calsequestrin explain the eye and eyelid muscle inflammation of thyroid eye disease? *Orbit* 28(4), 256-261.
32. Salvi M, Miller A, Wall JR. (1998). Human orbital tissue and thyroid membranes express a 64 kDa protein which is recognized by autoantibodies in the serum of patients with thyroid-associated ophthalmopathy. *FEBS Letters* 232(1), 135-139.
33. Dik WA, Virakul S, van Steensel L. (2016). Current perspectives on the role of orbital fibroblasts in the pathogenesis of Graves' ophthalmopathy. *Experimental Eye Research* 142:83-91.
34. Pappa A, Calder V, Ajjan R, Fells P, Ludgate M, Weetman AP et al. (1997). Analysis of extraocular muscle-infiltrating T cells in thyroid-associated ophthalmopathy (TAO). *Clinical & Experimental Immunology* 109(2), 362-369.
35. Eckstein AK, Quadbeck B, Tews S, Mann K, Krüger C, Mohr CH et al. (2004). Thyroid associated ophthalmopathy: evidence for CD4(+) gammadelta T cells; de novo differentiation of RFD7(+) macrophages, but not of RFD1(+) dendritic cells; and loss of gammadelta and alphabeta T cell receptor expression. *British Journal Ophthalmology* 88(6), 803-808.
36. Aniszewski JP, Valyasevi RW, Bahn RS. (2000). Relationship between disease duration and predominant orbital T cell subset in Graves' ophthalmopathy. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 85(2), 776-780.
37. Kumar S, Bahn RS. (2003). Relative overexpression of macrophage-derived cytokines in orbital adipose tissue from patients with graves' ophthalmopathy. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 88(9), 4246-4250.
38. Korducki JM, Loftus SJ, Bahn RS. (1992). Stimulation of glycosaminoglycan production in cultured human retroocular fibroblasts. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 33(6), 2037-2042.
39. Starkey KJ, Janezic A, Jones G, Jordan N, Baker G, Ludgate M. (2003). Adipose thyrotrophin receptor expression is elevated in Graves' and thyroid eye diseases ex vivo and indicates adipogenesis in progress in vivo. *Journal of Molecular Endocrinology* 30(3), 369-380.
40. Sorisky A, Pardasani D, Gagnon A, Smith TJ. (1996). Evidence of adipocyte differentiation in human orbital fibroblasts in primary culture. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 81(9), 3428-3431.

41. Smith TJ, Koumas L, Gagnon A, Bell A, Sempowski GD, Phipps RP et al. (2002). Orbital fibroblast heterogeneity may determine the clinical presentation of thyroid-associated ophthalmopathy *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 87(1), 385-392.
42. Douglas RS, Afifiyan NF, Hwang CJ, Chong K, Haider U, Richards P et al. (2010). Increased generation of fibrocytes in thyroid-associated ophthalmopathy. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 95(1), 430-438.
43. Peng S, Li C, Wang X, Liu X, Han C, Jin T et al. (2016). Increased Toll-Like Receptors Activity and TLR Ligands in Patients with Autoimmune Thyroid Diseases. *Frontiers in Immunology* 7:578.
44. Smith TJ. (2015). TSH-receptor-expressing fibrocytes and thyroid-associated ophthalmopathy. *Nature Reviews Endocrinology* 11(3), 171-181.
45. Marinò M, Latrofa F, Menconi F, Chiovato L, Vitti P. (2015). Role of genetic and non-genetic factors in the etiology of Graves' disease. *J Endocrinol Invest.*;38(3), 283-294.
46. Bartalena L. Prevention of Graves' ophthalmopathy. (2012). *Best Practice & Research: Clinical Endocrinology & Metabolism* 26(3), 371-379.
47. Bartalena L, Tanda ML, Piantanida E, Lai A. (2003). Oxidative stress and Graves' ophthalmopathy: in vitro studies and therapeutic implications. *Biofactors*;19(3-4), 155-163.
48. Heufelder AE, Wenzel BE, Bahn RS. (1992). Enhanced induction of a 72 kDa heat shock protein in cultured retroocular fibroblasts. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 33(2), 466-470.
49. Tsai CC, Wu SB, Kao SC, Kau HC, Lee FL, Wei YH. (2013). The protective effect of antioxidants on orbital fibroblasts from patients with Graves' ophthalmopathy in response to oxidative stress. *Molecular Vision* 19:927-934.
50. Burch HB, Lahiri S, Bahn RS, Barnes S. (1997). Superoxide radical production stimulates retroocular fibroblast proliferation in Graves' ophthalmopathy. *Experimental Eye Research* 65(2), 311-316.
51. Lu R, Wang P, Wartofsky L, Sutton BD, Zweier JL, Bahn RS et al. (1999). Oxygen free radicals in interleukin-1 β -induced glycosaminoglycan production by retro-ocular fibroblasts from normal subjects and Graves' ophthalmopathy patients. *Thyroid* 9(3), 297-303.
52. Choi W, Li Y, Ji YS, Yoon KC. (2018). Oxidative stress markers in tears of patients with Graves' orbitopathy and their correlation with clinical activity score. *BMC Ophthalmology* 18(1), 303.
53. Bednarek J, Wysocki H, Sowiński J. (2005). Oxidative stress peripheral parameters in Graves' disease: the effect of methimazole treatment in patients with and without infiltrative ophthalmopathy. *Clinical Biochemistry* 38(1), 13-18.

54. Yoon JS, Lee HJ, Chae MK, Lee SY, Lee EJ. (2013). Cigarette smoke extract-induced adipogenesis in Graves' orbital fibroblasts is inhibited by quercetin via reduction in oxidative stress. *Journal of Endocrinology* 216(2), 145-156.
55. Stan MN, Bahn RS. (2010). Risk factors for development or deterioration of Graves' ophthalmopathy. *Thyroid* 20(7), 777-783.
56. Pfeilschifter J, Ziegler R. (1996). Smoking and endocrine ophthalmopathy: impact of smoking severity and current vs lifetime cigarette consumption. *Clinical Endocrinology* (Oxford) 45(4), 477-481.
57. Xing L, Ye L, Zhu W, Shen L, Huang F, Jiao Q et al. (2015). Smoking was associated with poor response to intravenous steroids therapy in Graves' ophthalmopathy. *British Journal of Ophthalmology* 99(12), 1686-1691.
58. Eckstein A, Quadbeck B, Mueller G, Rettenmeier AW, Hoermann R, Mann K et al. (2003). Impact of smoking on the response to treatment of thyroid associated ophthalmopathy. *British Journal of Ophthalmology* 87(6), 773-776.
59. Prabhu RS, Liebman L, Wojno T, Hayek B, Hall WA, Crocker I. (2012). Clinical outcomes of radiotherapy as initial local therapy for Graves' ophthalmopathy and predictors of the need for post-radiotherapy decompressive surgery. *Radiation Oncology* 7:95.
60. Bartalena L, Wiersinga WM, Pinchera A. (2004). Graves' ophthalmopathy: state of the art and perspectives. *Journal of Endocrinological Investigation* 27(3), 295-301.
61. Cawood TJ, Moriarty P, O'Farrelly C, O'Shea D. (2007). Smoking and thyroid-associated ophthalmopathy: A novel explanation of the biological link. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 92(1), 59-64.
62. Planck T, Shahida B, Parikh H, Ström K, Åsman P, Brorson H et al. (2014). Smoking induces overexpression of immediate early genes in active Graves' ophthalmopathy. *Thyroid* 24(10), 1524-32.
63. Kau HC, Wu SB, Tsai CC, Liu CJ, Wei YH. (2016). Cigarette Smoke Extract-Induced Oxidative Stress and Fibrosis-Related Genes Expression in Orbital Fibroblasts from Patients with Graves' Ophthalmopathy. *Oxidative Medicine and Cell Longevity* 2016:4676289.
64. Mack WP, Stasior GO, Cao HJ, Stasior OG, Smith TJ. (1999). The effect of cigarette smoke constituents on the expression of HLA-DR in orbital fibroblasts derived from patients with Graves ophthalmopathy. *Ophthalmic Plastic & Reconstructive Surgery* 15(4), 260-271.
65. Görtz GE, Horstmann M, Aniol B, Reyes BD, Fandrey J, Eckstein A et al. (2016). Hypoxia-Dependent HIF-1 Activation Impacts on Tissue Remodeling in Graves' Ophthalmopathy-Implications for Smoking. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 101(12), 4834-4842.

66. Regensburg NI, Wiersinga WM, Berendschot TT, Saeed P, Mourits MP. (2011). Effect of smoking on orbital fat and muscle volume in Graves' orbitopathy. *Thyroid* 21(2), 177-181.
67. Czarnywojtek A, Komar-Rychlicka K, Zgorzalewicz-Stachowiak M, Sawicka-Gutaj N, Woliński K, Gut P et al. (2016). Efficacy and safety of radioiodine therapy for mild Graves ophthalmopathy depending on cigarette consumption: a 6-month follow-up. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej* 126(10), 746-753.
68. Lin TY, Li N, Yeh MW, Leung AM, Rootman DB. (2017). Prognostic indicators for the development of strabismus among patients with graves' ophthalmopathy. *Journal of Clinical and Translational Endocrinology* 9:38-40.
69. Lee JH, Lee SY, Yoon JS. (2010). Risk factors associated with the severity of thyroid-associated orbitopathy in Korean patients. *Korean Journal Ophthalmology* 24(5), 267-273.
70. Bartley GB, Fatourehchi V, Kadrmas EF, Jacobsen SJ, Ilstrup DM, Garrity JA et al. (1996). Clinical features of Graves' ophthalmopathy in an incidence cohort. *American Journal of Ophthalmology* 121(3), 284-290.
71. Melcescu E, Horton WB, Kim D, Vijayakumar V, Corbett JJ, Crowder KW et al. (2014). Graves orbitopathy: update on diagnosis and therapy. *Southern Medical Journal* 107(1), 34-43.
72. Wiersinga W, Prummel MF. (1995). Therapeutic controversies. Retrobulber radiation in Graves' ophthalmopathy. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 80(2), 345-347.
73. Mourits MP, Koornneef L, Wiersinga WM, Prummel MF, Berghout A, van der Gaag R. (1989). Clinical criteria for the assessment of disease activity in Graves' ophthalmopathy: a novel approach. *British Journal of Ophthalmology* 73(8), 639-644.
74. Mourits MP, Prummel MF, Wiersinga WM, Koornneef L. (1997). Clinical activity score as a guide in the management of patients with Graves' ophthalmopathy. *Clinical Endocrinology (Oxford)* 47(1), 9-14.
75. Pinchera A, Wiersinga W, Glinoe D, Kendall-Taylor P, Koornneef L, **Marcocci C** et al. (1992). Classification of eye changes of Graves' disease. *Thyroid*;2(3), 235-236.
76. Bartalena L, Baldeschi L, Dickinson AJ, Eckstein A, Kendall-Taylor P, Marcocci C et al. (2008). Consensus statement of the European group on Graves' orbitopathy (EUGOGO) on management of Graves' orbitopathy. *Thyroid* 18(3), 333-346.
77. European Group on Graves' Orbitopathy (EUGOGO), Wiersinga WM, Perros P, Kahaly GJ, Mourits MP, Baldeschi L et al. (2006). Clinical assessment of patients with Graves' orbitopathy: the European Group on Graves' Orbitopathy recommendations to generalists, specialists and clinical researchers. *European Journal of Endocrinology* 155(3), 387-389.

78. Marcocci C & Pinchera A. (2010). Thyroid treatment. In Wiersinga WM & Kahaly GJ (eds.). *Graves' orbitopathy. A multidisciplinary approach – Questions and answers*, 2nd, revision version. Basel: Karger:100-110.
79. Wiersinga WM. (1998). Preventing Graves' ophthalmopathy. *New England Journal of Medicine* 338(2), 121-122.
80. Perros P, Crombie AL, Kendall-Taylor P. (1995). Natural history of thyroid associated ophthalmopathy. *Clinical Endocrinology (Oxford)* 42(1), 45-50.
81. Marcocci C, Marinò M. (2012). Treatment of mild, moderate-to-severe and very severe Graves' orbitopathy. *Best Practice & Research: Clinical Endocrinology & Metabolism* 26(3), 325-337.
82. Kahaly GJ. (2010). Management of moderately severe Graves' orbitopathy. In Wiersinga WM & Kahaly GJ (eds.). *Graves' orbitopathy. A multidisciplinary approach – Questions and answers*. 2nd, revised version. Basel: Karger:120–158.
83. Marcocci C, Bartalena L, Tanda ML, Manetti L, Dell'Unto E, Rocchi R et al. (2001). Comparison of the effectiveness and tolerability of intravenous or oral glucocorticoids associated with orbital radiotherapy in the management of severe Graves' ophthalmopathy: results of a prospective, single-blind, randomized study. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 86(8), 3562-3567.
84. Kahaly GJ, Pitz S, Hommel G, Dittmar M. (2005). Randomized, single blind trial of intravenous versus oral steroid monotherapy in Graves' orbitopathy. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 90(9), 5234-5240.
85. Zang S, Ponto KA, Kahaly GJ. (2011). Clinical review: Intravenous glucocorticoids for Graves' orbitopathy: efficacy and morbidity. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 96(2), 320-332.
86. Bednarek J, Wysocki H, Sowiński J. (2004). Peripheral parameters of oxidative stress in patients with infiltrative Graves' ophthalmopathy treated with corticosteroids. *Immunology Letters* 93(2-3), 227-232.
87. Akarsu E, Buyukhatipoglu H, Aktaran S, Kurtul N. (2011). Effects of pulse methylprednisolone and oral methylprednisolone treatments on serum levels of oxidative stress markers in Graves' ophthalmopathy. *Clinical Endocrinology (Oxford)* 74(1), 118-24.
88. Wakelkamp IM, Tan H, Saeed P, Schlingemann RO, Verbraak FD, Blank LE et al. (2004). Orbital irradiation for Graves' ophthalmopathy: Is it safe? A long-term follow-up study. *Ophthalmology* 111(8), 1557-1562.
89. Bartalena L, Krassas GE, Wiersinga W, Marcocci C, Salvi M, Daumerie C et al.; European Group on Graves' Orbitopathy. (2012). Efficacy and safety of three different cumulative doses of intravenous methylprednisolone for moderate to severe and active Graves' orbitopathy. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 97(12), 4454-4463.

90. Kotwal A, Stan M. (2018). Current and Future Treatments for Graves' Disease and Graves' Ophthalmopathy. *Hormone and Metabolic Research* 50(12), 871-886.
91. Marcocci C, Kahaly GJ, Krassas GE, Bartalena L, Prummel M, Stahl M et al.; European Group on Graves' Orbitopathy. (2011). Selenium and the course of mild Graves' orbitopathy. *New England Journal of Medicine* 364(20), 1920-1931.
92. Dharmasena A. (2014). Selenium supplementation in thyroid associated ophthalmopathy: an update. *International Journal of Ophthalmology* 7(2), 365-375.
93. Rotondo Dottore G, Leo M, Casini G, Latrofa F, Cestari L, Sellari-Franceschini S et al. (2017). Antioxidant Actions of Selenium in Orbital Fibroblasts: A Basis for the Effects of Selenium in Graves' Orbitopathy. *Thyroid* 27(2), 271-278.
94. Heufelder AE, Wenzel BE, Bahn RS. (1992). Methimazole and propylthiouracil inhibit the oxygen free radical-induced expression of a 72 kilodalton heat shock protein in Graves' retroocular fibroblasts. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 74(4), 737-742.
95. Rotondo Dottore G, Ionni I, Menconi F, Casini G, Sellari-Franceschini S, Nardi M et al. (2018). Antioxidant effects of β -carotene, but not of retinol and vitamin E, in orbital fibroblasts from patients with Graves' orbitopathy (GO). *Journal of Endocrinological Investigation* 41(7), 815-820.
96. Bouzas EA, Karadimas P, Mastorakos G, Koutras DA. (2000). Antioxidant agents in the treatment of Graves' ophthalmopathy. *American Journal of Ophthalmology* 129(5), 618-622.
97. Campo GM, Avenoso A, Campo S, Angela D, Ferlazzo AM, Calatroni A. (2006). TNF- α , IFN- γ , and IL-1 β modulate hyaluronan synthase expression in human skin fibroblasts: synergistic effect by concomitant treatment with FeSO₄ plus ascorbate. *Molecular and Cellular Biochemistry* 292(1-2), 169-178.
98. Kim CY, Lee HJ, Chae MK, Byun JW, Lee EJ, Yoon JS. (2015). Therapeutic Effect of Resveratrol on Oxidative Stress in Graves' Orbitopathy Orbital Fibroblasts. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 56(11), 6352-6361.
99. Byun JW, Hwang S, Kang CW, Kim JH, Chae MK, Yoon JS et al. (2016). Therapeutic Effect of Protocatechuic Aldehyde in an In Vitro Model of Graves' Orbitopathy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 57(10), 4055-4062.
100. Rhiu S, Chae MK, Lee EJ, Lee JB, Yoon JS. (2014). Effect of tanshinone IIA in an in vitro model of Graves' orbitopathy. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 55(9), 5900-5910.
101. Rotondo Dottore G, Ionni I, Menconi F, Casini G, Sellari-Franceschini S, Nardi M et al. (2018). Action of three bioavailable antioxidants in orbital fibroblasts from patients with Graves' orbitopathy (GO), a new frontier for GO treatment? *Journal of Endocrinological Investigation* 41(2), 193-201.

102. Tsai CC, Wu SB, Chang PC, Wei YH. (2015). Alteration of Connective Tissue Growth Factor (CTGF) Expression in Orbital Fibroblasts from Patients with Graves' Ophthalmopathy. *PLoS One* 10(11), e0143514.
103. Wiersinga WM. (2013). Smoking and thyroid. *Clinical Endocrinology (Oxford)* 79(2), 145-151.
104. Leo M, Mautone T, Ionni I, Profilo MA, Sabini E, Menconi F et al. (2016). Variables affecting the long-term outcome of graves orbitopathy following high-dose intravenous glucocorticoid pulse therapy in patients not treated with orbital radiotherapy. *Endocrine Practice* 22(10), 1177-1186.
105. Thornton J, Kelly SP, Harrison RA, Edwards R. (2007). Cigarette smoking and thyroid eye disease: a systematic review. *Eye (London, England)* 21(9), 1135-1145.
106. Hofbauer LC, Mühlberg T, König A, Heufelder G, Schworm HD, Heufelder AE. (1997). Soluble interleukin-1 receptor antagonist serum levels in smokers and nonsmokers with Graves' ophthalmopathy undergoing orbital radiotherapy. *J Clin Endocrinol Metab.*;82(7), 2244-2247.
107. Tan GH, Dutton CM, Bahn RS. (1996). Interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist and soluble IL-1 receptor inhibit IL-1-induced glycosaminoglycan production in cultured human orbital fibroblasts from patients with Graves' ophthalmopathy. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 81(2), 449-452.
108. Stan MN, Salvi M. (2017). Management of endocrine disease: Rituximab therapy for Graves' orbitopathy – lessons from randomized control trials. *European Journal of Endocrinology* 176(2), R101-R109.
109. Vannucchi G, Covelli D, Campi I, Origo D, Currò N, Cirello V et al. (2013). The therapeutic outcome to intravenous steroid therapy for active Graves' orbitopathy is influenced by the time of response but not polymorphisms of the glucocorticoid receptor. *European Journal of Endocrinology* 170(1), 55-61.
110. Shen L, Huang F, Ye L, Zhu W, Zhang X, Wang S et al. (2015). Circulating microRNA predicts insensitivity to glucocorticoid therapy in Graves' ophthalmopathy. *Endocrine* 49(2), 445-456.
111. Handy DE, Loscalzo J. (2012). Redox regulation of mitochondrial function. *Antioxidants & Redox Signaling* 16(11), 1323-1367.
112. Acin-Perez R, Salazar E, Brosel S, Yang H, Schon EA, Manfredi G. (2009). Modulation of mitochondrial protein phosphorylation by soluble adenylyl cyclase ameliorates cytochrome oxidase defects. *EMBO Molecular Medicine* 1(8-9), 392-406.
113. Berlett BS, Stadtman ER. (1997). Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry* 272(33), 20313-20316.
114. Motor S, Ozturk S, Ozcan O, Gurpinar AB, Can Y, Yuksel R et al. (2014). Evaluation of total antioxidant status, total oxidant status and oxidative stress index in patients with alopecia areata. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine* 7(4), 1089-93.

115. Srivastava S, Singh D, Patel S, Singh MR. (2017). Role of enzymatic free radical scavengers in management of oxidative stress in autoimmune disorders. *International Journal of Biological Macromolecules* 101:502-517.
116. Verdin E, Hirschey MD, Finley LW, Haigis MC. (2010). Sirtuin regulation of mitochondria: energy production, apoptosis, and signaling. *Trends in Biochemical Sciences* 35(12), 669-675.
117. Wenz T. (2013). Regulation of mitochondrial biogenesis and PGC-1 α under cellular stress. *Mitochondrion* 13(2), 134-142.
118. Scarpulla RC. (2011). Metabolic control of mitochondrial biogenesis through the PGC-1 family regulatory network. *Biochimica et Biophysica Acta* 1813(7), 1269-1278.
119. Scarpulla RC, Vega RB, Kelly DP. (2012). Transcriptional integration of mitochondrial biogenesis. *Trends in Biochemical Sciences* 23(9), 459-466.
120. Wenz T. (2011). Mitochondria and PGC-1 α in Aging and Age-Associated Diseases. *Journal of Aging Research* 2011:810619.
121. Besseiche A, Riveline JP, Gautier JF, Bréant B, Blondeau B. (2015). Metabolic roles of PGC-1 α and its implications for type 2 diabetes. *Diabetes Metabolism* 41(5), 347-357.
122. Puigserver P, Wu Z, Park CW, Graves R, Wright M, Spiegelman BM. (1998). A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. *Cell* 92(6), 829-839.
123. Hatazawa Y, Senoo N, Tadaishi M, Ogawa Y, Ezaki O, Kamei Y et al. (2015). Metabolomic Analysis of the Skeletal Muscle of Mice Overexpressing PGC-1 α . *PLoS One* 10(6), e0129084.
124. Johri A, Chandra A, Flint Beal M. (2013). PGC-1 α , mitochondrial dysfunction, and Huntington's disease. *Free Radical Biology and Medicine* 62:37-46.
125. Campbell CT, Kolesar JE, Kaufman BA. (2012). Mitochondrial transcription factor A regulates mitochondrial transcription initiation, DNA packaging, and genome copy number. *Biochimica et Biophysica Acta* 1819(9-10), 921-929.
126. Uittenbogaard M, Chiaramello A. (2014). Mitochondrial biogenesis: a therapeutic target for neurodevelopmental disorders and neurodegenerative diseases. *Current Pharmaceutical Design* 20(35), 5574-5593.
127. Devarajan A, Shih D, Reddy ST. (2014). Inflammation, infection, cancer and all that...the role of paraoxonases. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 824:33-41.
128. Rajkovic MG, Rumora L, Barisic K. (2011). The paraoxonase 1, 2 and 3 in humans. *Biochem Med (Zagreb)*;21(2), 122-130.
129. Deakin SP, James RW. (2004). Genetic and environmental factors modulating serum concentrations and activities of the antioxidant enzyme paraoxonase-1. *Clinical Science (London)* 107(5), 435-447.

130. Costa LG, Vitalone A, Cole TB, Furlong CE. (2005). Modulation of paraoxonase (PON1) activity. *Biochemical Pharmacology* 69(4), 541-550.
131. Mackness M, Mackness B. (2015). Human paraoxonase-1 (PON1), Gene structure and expression, promiscuous activities and multiple physiological roles. *Gene* 567(1), 12-21.
132. Deakin S, Leviev I, Gomaraschi M, Calabresi L, Franceschini G, James RW. (2002). Enzymatically active paraoxonase-1 is located at the external membrane of producing cells and released by a high affinity, saturable, desorption mechanism. *Journal of Biological Chemistry* 277(6), 4301-4308.
133. Arenas M, Rodríguez E, Sahebkar A, Sabater S, Rizo D, Pallisé O et al. (2018). Paraoxonase-1 activity in patients with cancer: A systematic review and meta-analysis. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 127:6-14.
134. Juretić D, Motejlkova A, Kunović B, Rekić B, Flegar-Mestrić Z, Vujić L et al. (2006). Paraoxonase/arylesterase in serum of patients with type II diabetes mellitus. *Acta Pharmaceutica* 56(1), 59-68.
135. Kappelle PJ, Bijzet J, Hazenberg BP, Dullaart RP. (2011). Lower serum paraoxonase-1 activity is related to higher serum amyloid a levels in metabolic syndrome. *Archives of Medical Research* 42(3), 219-225.
136. Camps J, García-Heredia A, Rull A, Alonso-Villaverde C, Aragonès G, Beltrán-Debón R et al. (2012). PPARs in regulation of paraoxonases: control of oxidative stress and inflammation pathways. *PPAR Research* 2012:616371.
137. Ferretti G, Bacchetti T, Masciangelo S, Bicchiega V. (2010). HDL-paraoxonase and membrane lipid peroxidation: a comparison between healthy and obese subjects. *Obesity (Silver Spring)* 18(6), 1079-1084.
138. Willcox JK, Ash SL, Catignani GL. (2004). Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44(4), 275-295.
139. Prummel MF, Bakker A, Wiersinga WM, Baldeschi L, Mourits MP, Kendall-Taylor P et al. (2003). Multi-center study on the characteristics and treatment strategies of patients with Graves' orbitopathy: the first European Group on Graves' Orbitopathy experience. *European Journal of Endocrinology* 148(5), 491-495.
140. Erel O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry* 37:277-285.
141. Erel O. (2005). A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry* 38:1103-1111.
142. Yumru M, Savas HA, Kalenderoglu A, Bulut M, Celik H, Erel O. (2009). Oxidative imbalance in bipolar disorder subtypes: a comparative study. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry* 33(6), 1070-1074.

143. Bartalena L, Tanda ML. (2009). Clinical practice. Graves' ophthalmopathy. *New England Journal of Medicine* 360(10), 994-1001.
144. Karademirci M, Kutlu R, Kilinc I. (2018). Relationship between smoking and total antioxidant status, total oxidant status, oxidative stress index, vit C, vit E. *Clinical Respiratory Journal* 12(6), 2006-2012.
145. Zhan J, He J, Zhou Y, Wu M, Liu Y, Shang F et al. (2016). Crosstalk Between the Autophagy-Lysosome Pathway and the Ubiquitin-Proteasome Pathway in Retinal Pigment Epithelial Cells. *Current Molecular Medicine* 16(5), 487-495.
146. Rajapakse D, Curtis T, Chen M, Xu H. (2017). Zinc Protects Oxidative Stress-Induced RPE Death by Reducing Mitochondrial Damage and Preventing Lysosome Rupture. *Oxidative Medicine and Cell Longevity* 2017:6926485.
147. Want A, Gillespie SR, Wang Z, Gordon R, Iomini C, Ritch R et al. (2016). Autophagy and Mitochondrial Dysfunction in Tenon Fibroblasts from Exfoliation Glaucoma Patients. *PLoS One* 11(7), e0157404.
148. Coughlin L, Morrison RS, Horner PJ, Inman DM. (2015). Mitochondrial morphology differences and mitophagy deficit in murine glaucomatous optic nerve. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 56(3), 1437-1446.
149. Cheng KC, Huang HH, Hung CT, Chen CC, Wu WC, Suen JL et al. (2013). Proteomic analysis of the differences in orbital protein expression in thyroid orbitopathy. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 251(12), 2777-2787.
150. Jester JV, Brown DJ. (2012). Wakayama Symposium: Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR γ) and meibomian gland dysfunction. *Ocular Surface* 10(4), 224-229.
151. Das Y, Roose N, De Groef L, Fransen M, Moons L, Van Veldhoven PP et al. (2019). Differential distribution of peroxisomal proteins points to specific roles of peroxisomes in the murine retina. *Molecular and Cellular Biochemistry* (Epub).
152. Richter C, Park JW, Ames BN. (1988). Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85(17), 6465-6467.
153. Stevnsner T, Thorslund T, de Souza-Pinto NC, Bohr VA. (2002). Mitochondrial repair of 8-oxoguanine and changes with aging. *Experimental Gerontology* 37:1189-1196.
154. Khrapko K, Coller HA, Andre PC, Li XC, Hanekamp JS, Thilly WG. (1997). Mitochondrial mutational spectra in human cells and tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 94:13798-13803.
155. Kukat A, Trifunovic A. (2009). Somatic mtDNA mutations and aging--facts and fancies. *Experimental Gerontology* 44(1-2), 101-105.
156. Dimauro S, Davidzon G. (2005). Mitochondrial DNA and disease. *Annals of Medicine* 37(3), 222-232.

- 157.Schapira AH. (2007). Mitochondrial dysfunction in Parkinson's disease. *Cell Death and Differentiation* 14(7), 1261-1266.
- 158.Larsson NG. (2010). Somatic mitochondrial DNA mutations in mammalian aging. *Annual Review of Biochemistry* 79:683-706.
- 159.Chen L, Duvvuri B, Grigull J, Jamnik R, Wither JE, Wu GE. (2014). Experimental evidence that mutated-self peptides derived from mitochondrial DNA somatic mutations have the potential to trigger autoimmunity. *Human Immunology* 75(8), 873-879.
- 160.Da Sylva TR, Connor A, Mburu Y, Keystone E, Wu GE. (2005). Somatic mutations in the mitochondria of rheumatoid arthritis synoviocytes. *Arthritis Research & Therapy* 7(4), R844-851.
- 161.Lee HT, Lin CS, Lee CS, Tsai CY, Wei YH. (2014). Increased 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in plasma and decreased mRNA expression of human 8-oxoguanine DNA glycosylase 1, anti-oxidant enzymes, mitochondrial biogenesis-related proteins and glycolytic enzymes in leucocytes in patients with systemic lupus erythematosus. *Clinical & Experimental Immunology* 176(1), 66-77.
- 162.Lee HT, Lin CS, Chen WS, Liao HT, Tsai CY, Wei YH. (2012). Leukocyte mitochondrial DNA alteration in systemic lupus erythematosus and its relevance to the susceptibility to lupus nephritis. *International Journal of Molecular Sciences* 13(7), 8853-8868.
- 163.Weitzel JM, Iwen KA. (2011). Coordination of mitochondrial biogenesis by thyroid hormone. *Molecular and Cellular Endocrinology* 342(1-2), 1-7.
- 164.Cioffi F, Senese R, Lanni A, Goglia F. (2013). Thyroid hormones and mitochondria: with a brief look at derivatives and analogues. *Molecular and Cellular Endocrinology* 379(1-2), 51-61.
- 165.Wall JR, Stachura I, Kennerdell JH. (2006). Mitochondrial abnormalities in eye muscle fiber from three cases of thyroid-associated ophthalmopathy. *Thyroid* 16(11), 1181-1183.
- 166.Hosal BM, Swanson JK, Thompson CR, Kubota S, Gunji K, Kennerdell JS et al. (1999). Significance of serum antibodies reactive with flavoprotein subunit of succinate dehydrogenase in thyroid associated orbitopathy. *British Journal of Ophthalmology* 83(5), 605-608.
- 167.Gunji K, De Bellis A, Kubota S, Swanson J, Wengrowicz S, Cochran B et al. (1999) Serum antibodies against the flavoprotein subunit of succinate dehydrogenase are sensitive markers of eye muscle autoimmunity in patients with Graves' hyperthyroidism. *Clinical Endocrinology & Metabolism* 84(4), 1255-1262.
- 168.Liang H, Ward WF. (2006). PGC-1alpha: a key regulator of energy metabolism. *Advances in Physiology Education* 30(4), 145-151.

169. Medina-Gomez G, Gray S, Vidal-Puig A. (2007). Adipogenesis and lipotoxicity: role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARgamma) and PPAR gammacoactivator-1 (PGC-1). *Public Health Nutrition* 10:1132-1137.
170. St-Pierre J, Drori S, Uldry M, Silvaggi JM, Rhee J, Jäger S et al. (2006). Suppression of reactive oxygen species and neurodegeneration by the PGC-1 transcriptionalcoactivators. *Cell* 127(2), 397-408.
171. Kang D, Kim SH, Hamasaki N. (2007). Mitochondrial transcription factor A (TFAM), roles in maintenance of mtDNA and cellular functions. *Mitochondrion* 7(1-2), 39-44.
172. Hoffmann RF, Zarrintan S, Brandenburg SM, Kol A, de Bruin HG, Jafari S et al. (2013). Prolonged cigarette smoke exposure alters mitochondrial structure and function in air way epithelial cells. *Respiratory Research* 14:97.
173. Aravamudan B, Thompson M, Sieck GC, Vassallo R, Pabelick CM, Prakash YS. (2017). Functional Effects of Cigarette Smoke-Induced Changes in Airway Smooth Muscle Mitochondrial Morphology. *Journal of Cellular Physiology* 232(5), 1053-1068.
174. Pillar TM, Seitz HJ. (1997). Thyroid hormone and gene expression in the regulation of mitochondrial respiratory function. *European Journal of Ophthalmology* 136(3), 231-239.
175. Sterling K, Lazarus JH, Milch PO, Sakurada T, Brenner MA. (1978). Mitochondrial thyroid hormone receptor: localization and physiological significance. *Science* 201(4361), 1126-1129.
176. Siciliano G, Monzani F, Manca ML, Tessa A, Caraccio N, Tozzi G et al. (2002). Human mitochondrial transcription factor A reduction and mitochondrial dysfunction in Hashimoto's hypothyroid myopathy. *Molecular Medicine* 8(6), 326-333.
177. Garcia-Heredia A, Kensicki E, Mohny RP, Rull A, Triguero I, Marsillach J et al. (2013). Paraoxonase-1 deficiency is associated with severe liver steatosis in mice fed a high-fat high-cholesterol diet: a metabolomic approach. *Journal of Proteome Research* 12(4), 1946-1955.
178. Korkmaz H, Tabur S, Ozkaya M, Oguz E, Elboga U, Aksoy N et al. (2016). Paraoxonases and arylesterase levels in autoimmune thyroid diseases. *Redox Report* 21(5), 227-231.
179. Raiszadeh F, Solati M, Etemadi, Azizi F. (2004). Serum paraoxonase activity before and after treatment of thyrotoxicosis. *Clinical Endocrinology (Oxford)* 60(1), 75-80.
180. Baskol G, Demir H, Baskol M, Kilic E, Ates F, Kocer D et al. (2005). Assessment of paraoxonase 1 activity and malondialdehyde levels in patients with rheumatoid arthritis. *Clinical Biochemistry* 38(10), 951-955.
181. Bodolay E, Seres I, Szodoray P, Csipo I, Jakab Z, Vegh J et al. (2008). Evaluation of paraoxonase activity in patients with mixed connective tissue disease. *Journal of Rheumatology* 35(2), 237-243.

- 182.Szántó A, Harangi M, Seres I, Paragh, G, and Zeher M. (2010). Decreased human paraoxonase-1 activity in patients with Sjögren's syndrome. *International Immunology* 22(7), 605-609.
- 183.Delgado Alves J, Ames PR, Donohue S, Stanyer L, Nourooz-Zadeh J, Ravirajan C et al. (2002). Antibodies to high-density lipoprotein and beta2-glycoprotein I are inversely correlated with paraoxonase activity in systemic lupus erythematosus and primary antiphospholipid syndrome. *Arthritis and Rheumatism* 46(10), 2686-2694.
- 184.Draganov DI, La Du BN. (2004). Pharmacogenetics of paraoxonases: a brief review. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 369(1), 78-88.
- 185.Moya C, Manez, S. (2018). Paraoxonases: metabolic role and pharmacological projection. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 391(4), 349-359.
- 186.Koltuksuz, U, Uz E, Ozen, S, Aydinç, M, Karaman, A, Akyol, O. (2000). Plasma superoxide dismutase activity and malondialdehyde level correlate with the extent of acute appendicitis. *Pediatr Surgery International* 16(8), 559-561.

EKLER

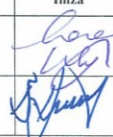
EK-1. Etik Kurul Raporu

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU	
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI
	GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
	AÇIK ADRES
	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara
	TELEFON
ETİK KURUL BİLGİLERİ	0312 202 69 58
	FAKS
	0312 202 46 73
ETİK KURUL BİLGİLERİ	E-POSTA
	tipetikkurul@gazi.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Graves Oftalmopati'de Sigara Kullanımının Mitokondriyal Biyogenezis İle Total Oksidan ve Anti-Oksidan Durum Üzerine Etkisi			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI /UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ	Tıbbi Biyokimya AD/ G.Ü.T.F.			
	DESTEKLEYİCİ (Varsa)				
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji koleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene tetkik tahlil ve tedavi işlemleri sırasında (önceden) elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar- Doktora tezi			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ	☐	ÇOK MERKEZLİ	☒	ULUSAL
				☒	ULUSLARARASI

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	01.02.2018	1	Türkçe ☒	İngilizce ☐ Diğer ☐
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU	01.02.2018	1	Türkçe ☒	İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ		☒		
	BIYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU		☐		
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	DİĞER		☐		

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 97	Toplantı tarihi: 12.02.2018
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve "bütçesi dışında" uygun bulunmuş olup, araştırma dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, G.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir. Etik Kurulun kararı, projenin bütçesi BAP tarafından kabul edildiği takdirde yürürlüğe girecek olup, BAP kararının Kurulumuza bildirilmesi gerekmektedir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU									
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu							
BAŞKANIN ÜNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. Canan ULUOĞLU							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza	
Prof. Dr. Canan ULUOĞLU BAŞKAN	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.Ü.T.F	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	E ☒ H ☐	E ☒ H ☐		
Prof. Dr. Birol DEMİREL BAŞKAN YARD.	Adli Tıp AD.	G.Ü.T.F	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	E ☒ H ☐	E ☒ H ☐		

EK-1. (devam) Etik Kurul Raporu

Prof. Dr. Gonca AKBULUT RAPORTÖR	Fizyoloji AD.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Bülent BOYACI ÜYE	Kardiyoloji AD.	G.Ü.T.F.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Öznur L.BOYUNAĞA ÜYE	Radyoloji AD.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Mustafa KAVUTÇU ÜYE	Tıbbi Biyokimya A.D	G.Ü.T.F.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etik AD.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Prof. Dr. Aslı KURUOĞLU ÜYE	Psikiyatri AD.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Doç. Dr. Hakan KAYIR ÜYE	Tıbbi Farmakoloji	COMMAT Ltd.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Mutlu DOĞAN ÜYE	İç Hast. AD. Tıbbi Onkoloji BD.	Ank.Numune Eğt. ve Araşt.Hast.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. N.Arda DEMİRKAN ÜYE	Genel Cerrahi AD.	A.Ü.T.F.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Doç. Dr. Anıl TAPISIZ ÜYE	Çocuk Sağlığı ve Hast.AD.Ç.Nör. BD.	G.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Pınar ÖZDEMİR ÜYE	Biyoistatistik AD.	H.Ü.T.F.	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Yrd. Doç. Dr. Mustafa GÖKSU ÜYE	Hukukçu	G.Ü. Hukuk Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Aysel ÖZER ÜYE	Sivil Temsilci	Emekli Öğr. Üyesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

* :Araştırma ile İlişki

** :Toplantıda Bulunma

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : YÜKSEL, Nilay
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 1982, Batman
 Medeni hali : Evli, 1 çocuk annesi
 Telefon : 0 (312) 291 25 25
 Faks : 0 (312) 291 25 25
 e-mail : ozturk.nilay@gmail.com



Eğitim Durumu

Derecesi	Okul/Program	Mezuniyet Yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Doktora	2014- Devam Ediyor
Tıpta Uzmanlık	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Cerrahi Tıp Bölümü/ Göz Hastalıkları Anabilim Dalı	2005-2010
Lisans	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi	1999-2005
Lise	Batman TED Koleji	1996-1999

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2018- Devam ediyor	Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Eğitim Görevlisi
2017- Devam ediyor	Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Doçent Dr.
2013-2017	Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Uzman Dr.
2011-2013	Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi	Uzman Dr.

Yabancı Dil

İngilizce

Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

- Özdek S, Yüksel N, Gürel G, Hasanreisoglu B (2011). **High- density silicone oil as an intraocular tamponade in complex retinal detachments**. Canadian Journal of Ophthalmology, 46(1), 51-55.

2. **Yüksel N, Bilgihan K, Hondur AM (2011). Herpetic keratitis after corneal collagen cross-linking with riboflavin and ultraviolet-A for progressive keratoconus.** International Ophthalmology, 31(6), 513-515.
3. **Yüksel N, Özdek S (2012). Retinal vasculitis associated with pyoderma gangrenosum: a case report.** Journal of Ophthalmic Inflammation and Infection, 2(4), 239- 241.
4. **Yüksel E, Özdek S, Yüksel N, Hasanreisoglu B (2013). Intravitreal bevacizumab treatment for refractory diabetic macular edema.** International Ophthalmology, 33(6), 659-663.
5. **Aktaş Z, Yüksel N, Kula S, Akman A, Hasanreisoglu B (2013). Childhood glaucoma as an ophthalmic manifestation of seckel syndrome.** Journal of Glaucoma, 22(4), 3-4.
6. **Yüksel N (2013). Evaluation of ocular surface disease associated with glaucoma patients.** European Ophthalmic Review, 7(2), 81-83.
7. **Aktaş Z, Yüksel N, Ceylan G, Polat F, Hasanreisoglu M, Hasanreisoglu B (2014). The effects of tamsulosin and alfuzosin on iris morphology: an ultrasound biomicroscopic comparison.** Cutaneous and Ocular Toxicology, 34 (1), 38-41.
8. **Bilgihan K, Yüksel E, Deniz NG, Yüksel N (2014). Can possible toxic effect of ultraviolet-A after corneal cross-linking be prevented? In vitro transmittance study of contact lenses at 370 nm wavelength.** Cutaneous and Ocular Toxicology, 34(4), 271-275.
9. **Yüksel N, Yüksel E, Özer MD (2014). Evaluation of anterior segment parameters using the Pentacam in hyperopic anisometropic amblyopic and normal eyes.** Journal of American Association for Pediatric Ophthalmology and Strabismus, 18(3), 248-250., Atif Sayısı: 1, Doi: 10.1016/j.jaapos.2014.01.013.
10. **Duru N, Ulusoy DM, Özköse A, Duru Z, Altinkaynak H, Yüksel N, Ataş M (2014). Diabetes mellitus and refractive changes: analysis of three cases and review of the Literature.** Research, 1.
11. **Yüksel N, Özdek Ş, Gürelık G, Hasanreisoglu B (2014). Intravitreal bevacizumab followed by ranibizumab for neovascular age related macular degeneration.** International Journal of Ophthalmology & Eye Science, 34-38.
12. **Yüksel N, Özer MD, Akçay E, Özen U, Uzun S (2014). Reduced central corneal thickness in patients with isotretinoin treatment.** Cutaneous and Ocular Toxicology, 34(4), 318-321.
13. **Yüksel E, Hasanreisoglu B, Yüksel N, Yilmaz G, Ercin U, Bilgihan A (2014). Comparison of acute effect of systemic versus intravitreal infliximab treatment in an experimental model of endotoxin-induced uveitis.** Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics, 30(1), 74-80.
14. **Yüksel N, Bilgihan K, Hondur AM, Yildiz B, Yüksel E (2014). Long term results of Epi-LASIK and LASEK for myopia.** Contact Lens and Anterior Eye, 37(3), 132-135.
15. **Yüksel E, Yüksel N, Akata F (2015). Comparison of two in situ corneal donation technique: morgue trephination or scleracorneal removal technique.** Acta Ophthalmologica, 93(7), 573-577.
16. **Yüksel N, Akçay E, Mutlu M, Duru N, Öztürk F (2015). The effect of breastfeeding on massage therapy in congenital nasolacrimal duct obstruction.** International Journal of Ophthalmology & Eye Science, 148-149.
17. **Yüksel N, Özer MD, Takmaz T, Özen U, Metin M, Akçay E (2015). Anterior segment morphologic changes related to alfa-1 adrenergic receptor antagonists use.** European Journal of Ophthalmology, 25(6), 512-515.

18. Özel Türkcü Ü, Yüksel N, Novruzlu Ş, Yalinbaş D, Bilgihan A, Bilgihan K (2016). **Protein oxidation levels after different corneal collagen cross-linking methods.** Cornea, 35(3), 388-391.
19. Yüksel N, Duru N, Uz E, Mutlu M, Altinkaynak H, Özen U, Türkyilmaz M, Çağil N (2016). **Evaluation of intraocular pressure by ocular response analyzer in patients undergoing hemodialysis.** Journal of Glaucoma, 25(4), 355- 358.
20. Akçay E, Yüksel N, Özen U (2016). **Revision external dacryocystorhinostomy results after a failed dacryocystorhinostomy surgery.** Ophthalmology and Therapy, 5(1):75-80.
21. Altinkaynak H, Duru N, Uysal BS, Erten Ş, Kürkçüoğlu PZ, Yüksel N, Duru Z (2016). **Choroidal thickness in patients with systemic lupus erythematosus analyzed by spectral-domain optical coherence tomography.** Ocular Immunology and Inflammation, 1-7.
22. Yüksel N, Özer MD, Takmaz T, Özen U, Metin M, Akçay E (2016). **Authors' reply to comments to: Anterior segment morphologic changes related to alpha-1 adrenergic receptor antagonists use.** European Journal of Ophthalmology, 26(3), 0-0.
23. Yüksel N, Özel Türkcü Ü, Yalinbaş D, Novruzlu Ş, Bilgihan A, Bilgihan K (2016). **Comparison of aqueous humor nitric oxide levels after different corneal collagen cross-linking methods.** Current Eye Research, 41(12):1539-1542.
24. Duru N, Altinkaynak H, Uysal BS, Duru Z, Can ME, Erten Ş, Yüksel N, Akçay E (2017). **Increased tear film osmolarity in systemic lupus erythematosus.** Seminars in Ophthalmology, 32(5):582-587.
25. Yüksel N, Akçay E, Kiliçarslan A, Özen U, Öztürk F (2016). **A surprise in the lacrimal sac.** Middle East African Journal of Ophthalmology; 23(3):268-70.
26. Yüksel N, Özcan ME (2017). **Evaluation of corneal biomechanical properties in patients with thyroid eye disease using ocular response analyzer.** Journal of Glaucoma, 26(2):e121.
27. Yüksel N, Tanriveri B, Iptec B, Erel O (2018). **Thiol-disulfide homeostasis as an oxidative stress marker in patients with Graves' ophthalmopathy.** Orbit. Dec 18:1-6.
28. Ayan B, Yuksel N, Carhan A, Gumuskaya Ocal B, Akcay E, Cagil N, Asik MD (2018). **Evaluation estrogen, progesteron and androgen receptor expressions in corneal epithelium in keratoconus.** Cont Lens Anterior Eye. Dec 8.
29. Yazici B, Yuksel N, Kologlu N (2018). **A case of diprosopus tetraophthalmos: Ocular findings and surgical treatment of exposure keratopathy.** Ophthalmic Plast Reconstr Surg. 34(6):e192-e193.
30. Kepez Yildiz B, Aktas Z, Yuksel N, Ozdemir HB, Cingirt M, Gulbahar O, Tuncay F, Hasanreisoglu M (2018). **Evaluation of renin and angiotensin II levels in pseudoexfoliation syndrome.** Arq Bras Oftalmol. 81(6):494-499.
31. Taslipinar Uzel AG, Uzel M, Yuksel N, Akcay E. **Contact Lens Compliance With Ophthalmologists and Other Health Professionals.** Eye Contact Lens. Nov;44 Suppl 2:S127-S130.
32. Yuksel N, Takmaz T, Ozel Kurkcü U, Ergin M, Altinkaynak H, Bilgihan A (2017). **Serum and Aqueous Humor Levels of Fetuin-A in Pseudoexfoliation Syndrome.** Curr Eye Res. 42(10):1378-1381.
33. Yuksel N, Mutlu M, Kilicarslan A, Akcay E (2018). **Conjunctival cytologic features in patients with unilateral primary acquired nasolacrimal duct obstruction.** Int Ophthalmol. 38(1):323-326.

34. Altinkaynak H, Kurkcuoglu PZ, Caglayan M, Yorgun Arikan M, Yuksel N, Kosekahya P, Koca C, Toklu Y (2018). **A novel marker in acute central serous chorioretinopathy: thiol/disulfide homeostasis.** Int Ophthalmol. 38(1):175-181.
35. Yuksel N, Yaman D. **Lotrafilcon B with hydraglyde moisture matrix or samfilcon A: Contralateral comparison study for comfort.** Taiwan Journal of Ophthalmology (Yayın Kabul Edildi Basım Aşamasında).
36. Yuksel N, Ozdas Eyidogan D, Pasaoglu OT, Pasaoglu H (2018). **Elevated monocyte to HDL ratio as a new in ammatory marker in patients with dry eye.** New Frontiers in Ophthalmology. Vol 4(6):1-3.

Ulusal Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler:

1. Akata F, Yüksel N (2010). **Oküler yüzey hastalıklarının tedavisinde eksimer laser: güncel uygulamalar.** Türkiye Klinikleri Oftalmoloji Dergisi, 3(3), 28-32.
2. Yüksel E, Özdek Ş, Yüksel N, Korkmaz Ş, Hasanreisoglu B (2010). **Panüveitli multifokal koroiditi taklit eden intraoküler lenfoma.** Türk Oftalmoloji Dergisi, 40, 46-50.
3. Yüksel E, Akata F, Yüksel N, Tufan HA, Dinç Mert B (2014). **İnsan kaynaklı doku yapıştırıcısı: in vitro antibakteriyel etkinliği ve antibiyotik geçirgenliği.** Türk Oftalmoloji Dergisi, 44(5), 347-350.
4. Yüksel N, Yüksel E (2014). **Korneal kollajen çapraz bağlama tedavisinin komplikasyonları: literatür taraması.** Tıp Araştırmaları Dergisi, 12(2), 97-102.
5. Yüksel N, Mutlu M, Akçay E, Bozdemir K, Yülek F (2016). **Doğumsal nazolakrimal kanal tıkanıklığında endonazal endoskopi eşliğinde ritleng yöntemi ile silikon entübasyon.** Medical Network Oftalmoloji, 23(1).
6. Özer MD, Yüksel N, Taşlipinar AG, Tanriverdi B, Altinkaynak H (2016). **Komplikasyonsuz katarakt cerrahisi sonrası ön segment parametrelerindeki değişikliklerin pentacam ile değerlendirilmesi.** Medical Network Oftalmoloji, 23(2).
7. Yüksel N, Kars ME, Akçay E (2017). **Göz kapağı yerleşimli apokrin hidrokistom.** Medical Network Oftalmoloji, 24(3).
8. Yüksel N, Mutlu M (2016). **Kuru Göz Hastalarında Nötrofil Lenfosit Oranının Oküler Yüzey Bulguları ile İlişkisi.** Medical Network Oftalmoloji, 23(4).
9. Yaman D, Yüksel N, Akçay E, Erel Ö, Yurt EF (2017). **Farklı Etiyolojilere Bağlı Kuru Göz Sendromlarında Plazma Tiol - Disülfid Dengesinin Değerlendirilmesi.** Medical Network Oftalmoloji, 24(2).
10. Yüksel N, Kars ME, Akçay E (2018). **Kuru göz sendromunun nadir bir nedeni: Lakrimal bez agenezisi.** Türkiye Klinikleri J Ophthalmol 27(2):161-4.
11. Yüksel Nilay, Uzel Güzin Ayşe, Akçay Emine (2017). **Travmatik kanalikül kesisi tamirlerimiz.** Genel Tıp Dergisi. 27(3):80-83.
12. Yüksel N, Ayan B, Altinkaynak H, Ergin M, Kürkçüoğlu P (2017). **Evaluation of Iron Metabolism Parameters in Age Related Macular Degeneration.** Retina-Vitreus 26(2).

Bilimsel Kuruluşlara Üyelikler

2005-

Türk Oftalmoloji Derneği

Ödüller

- Türk Oftalmoloji Derneği, 49. Ulusal Oftalmoloji Kongresi, En İyi Poster İkincilik Ödülü, Türk Oftalmoloji Derneği, 2015
- Türk Oftalmoloji Derneği, 49. Ulusal Oftalmoloji Kongresi, En İyi Araştırma İkincilik Ödülü,, Türk Oftalmoloji Derneği, 2015

Sertifika

1. International Council of Ophthalmology, The Advance Examination in Ophthalmology, İstanbul, Sertifika, 20.10. 2016 (Uluslararası)
2. International Council of Ophthalmology, The Clinical Sciences Examination in Ophthalmology, İstanbul, Sertifika, 24.04.2014 (Uluslararası).
3. International Council of Ophthalmology, The Optics and Refraction Examination in Ophthalmology, İstanbul, Sertifika, 18.04.2013 (Uluslararası).
4. International Council of Ophthalmology, The Basic Science Examination in Ophthalmology, İstanbul, Sertifika, 18.04.2013 (Uluslararası)

Kurs

1. IBM SPSS Statistics ile Uygulamalı Temel Biyoistatistik Kursu, Teorik ve Uygulamalı Temel Biyoistatistik Eğitim Programı, Ankara, Kurs, 28.02.2015 -07.03.2015 (Ulusal).
2. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, Bilimsel Araştırmalarda Deney Hayvanları Kullanımına Dair Eğitim Programı, Ankara, Kurs, 26.05.2014 -06.06.2014 (Ulusal)



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR....