

Gebelik Döneminde Oluşturulan Deneysel Hipotiroidinin Onuncu, On Beşinci Gestasyonel Gün ve Yenidoğandaki Fetal Beyin Dokusunda GFAP ve S100B Protein Ekspresyonuna Etkisi

The Effect of Experimentally Induced Maternal Hypothyroidism on Gfap and S100B Protein Expression in Fetal Brain Tissue on Tenth and Fifteenth Gestational Days and in Newborn Period

Dr. Emir DÖNDER,^a
Dr. Yusuf ÖZKAN,^{a,b}
Dr. Vedat GENÇER,^a
Dr. Gıyaseddin BAYDAŞ^c

^aİç Hastalıkları AD,
^bEndokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları BD,
^cFizyoloji AD,
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Elazığ

Geliş Tarihi/Received: 08.08.2008
Kabul Tarihi/Accepted: 03.02.2009

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Yusuf ÖZKAN
Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi,
İç Hastalıkları AD, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları BD, Elazığ,
TÜRKİYE/TURKEY
dryusufozkan@hotmail.com

ÖZET Amaç: Tiroid hormonları merkezi sinir sistemi gelişiminde çok önemlidir. Beyin gelişiminin kritik dönemlerinde tiroid hormonu yokluğu glial hücrelerin ve nöronların olgunlaşmasında gecikmeye neden olmaktadır. Maternal hipotiroidizmde psikomotor gelişme geriliği olduğu, çocukların zeka düzeylerinde belirgin bir gerilik olduğu bilinmektedir. Tiroid hormonları hem nöronal hem de glial öncü hücrelerin yaşamları, çoğalmaları ve farklılaşmalarının düzenlenmesinde önemli etkilere sahiptir. Yapılan araştırmalarda glial fibriller asidik protein (GFAP) ve S100B proteinin astrosit olgunlaşmasında önemli belirteçler olduğunu göstermiştir. Maternal hipotiroidizmin merkezi sinir sisteminin gelişmesine etkisini araştıran çok sayıda çalışma mevcuttur. Ancak maternal hipotiroidizmin glial proteinler üzerine etkisini araştıran çalışmalar çok azdır. Gebelik sırasında maternal tiroid hormonlarının glial proteinler üzerine etkisi tam olarak bilinmemektedir. Çalışmamızda, maternal hipotiroidinin fetüs beyininde 10., 15. gestasyonel gün ve yenidoğan döneminde glial fibriller asidik protein ve S100B protein ekspresyonu, dolayısıyla astrosit olgunlaşmasına yaptığı etkileri araştırmayı amaçladık. **Gereç ve Yöntemler:** Deneysel uygulama için; çalışmaya annesi deneysel olarak hipotiroidi (n: 15) ve annesi normal olan kontrol (n: 15) grubundan oluşturulmuş ratlar alındı. Her grup 10., 15. gestasyonel gün ve yenidoğan olmak üzere üç alt gruba ayrıldı. On ve 15 günlük fetüs beyinleri ile yenidoğan yavru beyinlerinde glial fibriller asidik protein ve S100B proteini Western Blot yöntemi ile çalışıldı. **Bulgular:** Çalışmamızda, kontrol gruplarına göre hipotiroidi grubunda, fetüs ve yavru beyin dokusunda, GFAP ve S100B protein oluşumunu belirgin olarak azalmış bulduk. **Sonuç:** Çalışmamızın sonuçları; maternal hipotiroidizmin, glial fibriller asidik protein ve S100B proteinlerinin ekspresyonunu değiştirdiğini ortaya koymaktadır. Bu değişiklik astrosit olgunlaşmasındaki geriliğin bir göstergesi olabilir.

Anahtar Kelimeler: Glial fibriller asidik protein; tiroid hormonları

ABSTRACT Objective: Thyroid hormone is very important in central nervous system development. Thyroid hormone deficiency in critical periods of central nervous system causes maturation delays in glial cells and neurons. It is well known that maternal hypothyroidism causes psychomotor and mental retardation in the offspring. Thyroid hormones have important functions in survival, division and differentiation of both neuronal and glial precursor cells. It was reported that S100B and glial fibrillar acidic protein (GFAP) were good markers showing astrocyte maturation. S100B and GFAP levels were found to be lower in astrocyte maturation defects. There are many trials on to the effect of maternal hypothyroidism on central nervous system development, but there are few on the effect of maternal hypothyroidism on glial proteins. The effect of maternal thyroid hormones on glial proteins is not known during pregnancy. We aimed to evaluate the effect of maternal hypothyroidism on glial fibrillar acidic protein and S100B protein expression, and consequently astrocyte maturation in fetal brain on 10, 15th gestational days and in newborn period. **Material and Methods:** Fifteen experimentally hypothyroid rats and 15 normal rats (control group) were included in this experimental study. Both groups were divided into three subgroups as 10, 15th gestational days and newborn. S100B and glial fibrillar acidic protein levels were studied in the brains of fetuses on 10th, 15th gestational days and in newborns by Western Blot method. **Results:** S100B protein and glial fibrillar acidic protein levels were found significantly lower in brain tissues of hypothyroid mothers' offsprings when compared to the control group. **Conclusions:** Our study showed that maternal hypothyroidism might cause changes in GFAP and S100B protein expression. These changes may indicate astrocyte maturation retardation.

Key Words: Glial fibrillary acidic protein; thyroid hormones

Tiroid hormonları (TH) merkezi sinir sistemi (MSS) gelişiminde çok önemli bir rol oynamaktadır.¹⁻⁴ Şiddetli TH eksikliği insanlarda kretenezim denen mental retardasyon ve nörolojik gelişim geriliği ile seyreden ciddi bir hastalığa yol açmaktadır.⁵ TH yokluğu beyin gelişiminin kritik dönemlerinde glial hücrelerin ve nöronların olgunlaşmasında gecikmeye, dentritik çıkıntıların anormal dağılımına, sinaptik dansitenin azalmasına, myelinizasyon defektine ve olfaktor, bulbus ve hipokampusda hücrelerin sayı olarak azalmasına neden olmaktadır.⁶ Hipotiroid beyinde serebellar granül hücrelerinin migrasyonunda gecikme, purkinje hücrelerinin lokalizasyonunda ve dallanmasında azalma ve serebral korteksin normal laminasyonunda değişiklikler meydana gelmektedir.^{2,7}

TH etkisini gen ekspresyonu yaparak gösterir. Etki ettiği reseptörler büyük bir gen ailesinin subgrubudur. Beyin genlerinin bir kısmının TH'leri ile düzenlendiği gösterilmiştir. Bunlar majör myelin proteinlerinin, sitoskeletal ve mitokondrial proteinlerin, nörotrofinlerin ve diğer reseptörlerin kodlanmasını içermektedir.^{3,8}

Glial fibriller asidik protein (GFAP) olgun astrositlerin major intermediyer filaman proteinidir. Astrosit farklılaşmasındaki anahtar olaylardan biri GFAP ekspresyonunun başlamasıdır.⁹ Olgunlaşmış astrositler başlangıçta vimentin salgılayan, olgun astrositler GFAP salgılayanlar.¹⁰ Bundan dolayı GFAP astrosit olgunlaşma belirteci olarak tanımlanmaktadır.¹¹ Nöronal-glial etkileşimde GFAP'ın rol oynadığı bildirilmiştir.⁹

S100 proteinlerinin, hücre-hücre iletişimi, hücrenin yapısı ve büyümesi, enerji metabolizması ve intrasellüler sinyal iletiminde rolleri olduğu bilinmektedir. Beyin gelişimi ve rejenerasyonunda da önemli bir role sahiptirler. Ayrıca, nöronal farklılaşma ve olgunlaşmada rol oynadıkları da belirtilmiştir. S100B proteini, nöronal çıkıntılarının büyümesini uyarır, gelişim süresince ve hasardan sonra nöronların hayatta kalmasını sağlar.¹² S100B proteini hem gelişim hem de sinir rejenerasyonu boyunca nörotropik bir faktör olarak

rol oynar.¹³ Ekstrasellüler S100B öğrenme ve hafızanın modülasyonu da ilişkili olduğu görülmüştür.¹⁴

Bu çalışmada gebelik döneminde oluşturulan hipotiroidinin, fetus beyinlerinde GFAP ve S100B proteinlerinin oluşumuna etkilerini 10., 15. gestasyonel gün ve yenidoğan döneminde araştırmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

DENEY HAYVANLARI

Bu çalışma için Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığı'ndan izin alındı ve çalışma yapılırken hayvan hakları korundu. Çalışmada ağırlıkları 210-250 gram arasında olan, 120-150 günlük toplam 30 adet erişkin albino Wistar cinsi dişi rat kullanıldı. Deney hayvanları yem fabrikasında özel olarak hazırlanan pelletler halindeki rat yemleriyle beslendi.

DeneySEL çalışmalara başlamadan önce, çıkabilecek aksaklıkların asgariye indirilmesi amacıyla ön çalışma yapıldı. Deney hayvanlarının bulunduğu ortamın sıcaklığı 22-25 °C arasında sabit tutuldu ve hayvanlar 12 saat ışık altında ve 12 saat karanlıkta takip edildi.

Çalışma için hipotiroidi oluşturulacak ve kontrol grubu olarak 30 adet dişi rat seçildi. Anne adayları ratlar, 15 gün boyunca vajinal smear¹⁵ ile takip edildi. Ovuluar siklusları belirlendi. Siklus bozukluğu göstermeyen ratların ovulasyon zamanları tespit edilerek çiftleştirildi. Vajinal smear'de sperm saptanan ratların gebe olabilecekleri varsayılarak çalışma başlatıldı.

Hipotiroidi oluşturmak için, annelerin gebeliğinin birinci gününden itibaren içme sularına 10 mg/kg/gün dozunda propylthiouracil (PTU; Sigma, P 3755) katıldı.¹⁶ Kontrol grubuna sadece rat yemi ve su verildi.

Gebeliğin birinci gününde ratlar iki gruba ayrıldı.

1- Kontrol grubu. Üç alt gruba ayrıldı:

a. Gebeliğin 10. gününde dekapite edilerek fetüsleri alınıp beyin dokuları ayrıldı ve derin dondurucuda saklandı.

b. Gebeliğin 15. gününde dekapite edilerek fetüsleri alınıp beyin dokuları ayrıldı ve derin dondurucuda saklandı.

c. Doğumdan hemen sonra yavru ratlar dekapite edilerek beyin dokuları ayrıldı ve derin dondurucuda saklandı.

2- Hipotiroidi grubu: Hipotiroidi gebeliğinin ilk gününden itibaren içme sularına 10 mg/kg/gün dozunda PTU (Sigma, P 3755) katılarak oluşturuldu. Hipotiroidik gebe ratlar da üç alt gruba ayrıldı:

Gebeliğin 10. gününde dekapite edilerek fetüslerin beyin dokuları alınıp derin dondurucuda saklandı.

Gebeliğin 15. gününde dekapite edilerek fetüslerin beyin dokuları alınıp derin dondurucuda saklandı.

Doğumdan hemen sonra yavru ratlar dekapite edilerek beyin dokuları ayrıldı ve derin dondurucuda saklandı.

Her anne ratın fetüslerinden dört tanesi alınıp her grup için 20 tane beyin elde edildi. Beyin dokuları ikişer ikişer birleştirilip (n= 10) homojenize edilerek çalışıldı. Ayrıca her anne ratın tiroid fonksiyon değerlerini ölçmek için serumları alındı ve derin dondurucuda saklandı.

Çalışmada, 10. ve 15. gün hipotiroidi ve kontrol gruplarında birer dişi ratta gebelik oluşmadı. Her bir grup için bir dişi rat daha seçildi ve bunlarda gebelik oluştu. Ratların gebelik dönemlerinde herhangi bir problem oluşmadı ve gebelikleri normal seyretti. Gebelik oluşan her rattan 10. ve 15. gün için dört tane fetüs, yenidoğan grubu için dört tane yavru rat seçildi. Her grup için toplam 20 tane fetüs ve 20 yavru ratta çalışma yapıldı.

Nöronal ve glial markerlerin analizi Western Blot yöntemiyle yapıldı.¹⁷⁻¹⁹

Tiroid hormonlarının ölçümü için Ependorf tüpleri içinde -60 °C'de bekletilen serumlar oda ısısında çözündürüldü. İmmulite 2000 marka ticari kitler kullanılarak immulite 2000 cihazında Chemiluminescence yöntemiyle her üç grubun tiroid fonksiyonlarını değerlendirmek için sT3, sT4, TT3 ve TT4 düzeyleri ölçüldü.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Gruplar arasındaki farklılıklar Mann Whitney U testi ile analiz edildi. p< 0.05 değeri anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

Hipotiroidi grubunun anne ratların tiroid fonksiyon testleri kontrol grubuna göre daha düşüktü ve

TABLO 1: Çalışma gruplarının tiroid hormon düzeyleri.

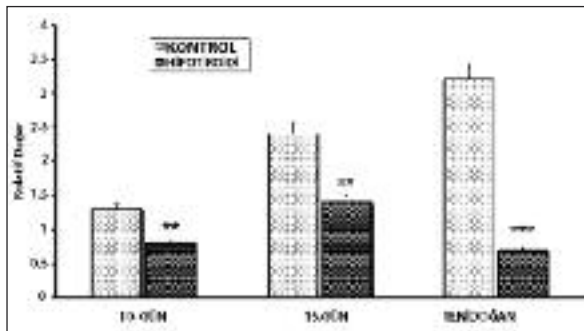
		Kontrol	Hipotroidi	Mann-Whitney U Test
		Ortalama ± std.sapma (min-Max)	Ortalama ± std.sapma (min-Max)	p
10. Gün	sT3	2.6 ± 0.49 (1.9-4.2)	0.94 ± 0.02 (0.6-1.1)	0.05
	sT4	2.03 ± 0.08 (1.1-2.4)	0.52 ± 0.09 (0.3-0.6)	0.001
	TT3	107,33 ± 10,88 (92-142)	52.93 ± 5.74 (45.6-72.1)	0.001
	TT4	3.34 ± 0.67 (2.9-6.7)	1.01 ± 0.06 (0.8-1.2)	0.001
15. Gün	sT3	3.42 ± 0.19 (2.1-4.4)	0.97 ± 0.01 (0.8-1.4)	0.01
	sT4	1.82 ± 0.13 (1.5-2.1)	0.66 ± 0.14 (0.5-0.7)	0.001
	TT3	95.5 ± 9.72 (85-116)	39.53 ± 6.27 (32.5-46.7)	0.001
	TT4	4,8 ± 0,26 (4.2-6.5)	0.95 ± 0.13 (0.78-1.0)	0.001
Yenidoğan	sT3	2.71 ± 0.58 (1.9-3.9)	1.53 ± 0.28 (0.9-1.7)	0.05
	sT4	3.17 ± 0.12 (3.4-6.3)	1.2 ± 0.14 (0.9-1.4)	0.001
	TT3	95.5 ± 8.72 (86-125)	50.87 ± 6.91 (46-58)	0.001
	TT4	4.8 ± 0.26 (4.4-8.1)	1.6 ± 0.13 (1.3-1.9)	0.001

Normal aralıklar; sT3:1.5-4.7 pg/ml, sT4:0.9-1.7 ng/ml, TT3:84-172 ng/dl, TT4:4.5-12.5 µg/dl.

sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 1).

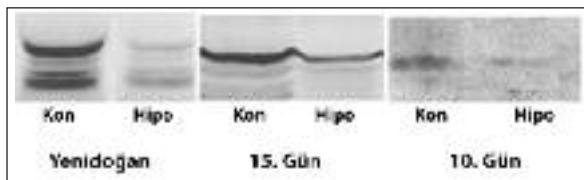
Gebeliğin 10., 15. günlerindeki fetüslerin ve yenidoğan ratların beyinlerinde GFAP ekspresyonunun kontrol grubuna göre azaldığı gözlemlendi. Hipotiroidi grubunda kontrol grubuna göre 10. günde %38 ($p < 0.01$), 15. günde %42 ($p < 0.01$), yenidoğan döneminde %78 ($p < 0.001$) oranında bir azalma tespit edildi ve bu azalma kontrol grubuna göre anlamlı idi (Şekil1). Hipotiroidik gruplarda GFAP moleküllerinin kontrol grubundan daha az oranda olduğu ve gebelik süresiyle paralel olarak azalmanın daha da belirginleştiği tespit edildi (Şekil 2).

On günlük fetüs beynindeki S100B protein ekspresyonu hem kontrol hem de hipotiroid grupta hiç görülmedi. S100B protein ekspresyonu 15. gestasyonel gün ve yenidoğan arasında karşılaştırıldığında, dönemler arasında fark vardı. Hipotiroidi grubunda kontrol grubuna göre 15. günde %29 ($p < 0.05$), yenidoğan döneminde %36 ($p < 0.05$) oranında bir azalma bulduk (Şekil 3). Hipotiroidik gruplarda S100B moleküllerinin GFAP molekülleri gibi kontrol grubundan daha az oranda olduğu ve gebelik süresiyle paralel ola-



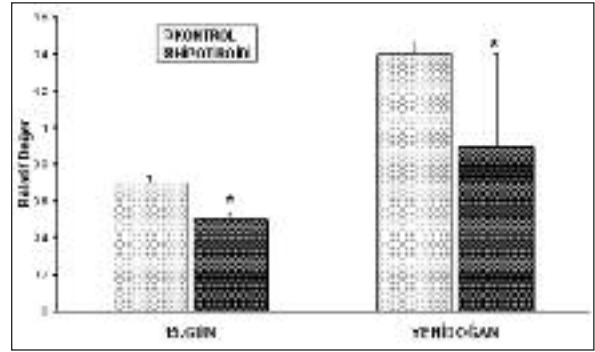
ŞEKİL 1: Beyin dokusundaki dönemsel GFAP değerleri.

** $p < 0.01$ ve *** $p < 0.001$ kontrol grubuna göre.



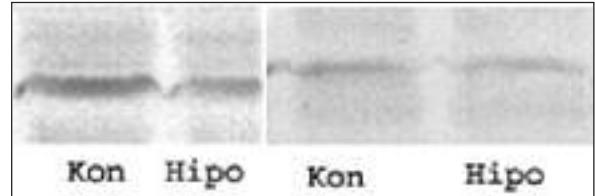
ŞEKİL 2: GFAP moleküllerinin Western Blot yöntemiyle analizi.

(Kon: Kontrol, Hipo: Hipotiroidi).



ŞEKİL 3: Beyin dokusundaki dönemsel S100B değerleri.

* $p < 0.05$ kontrol grubuna göre.



ŞEKİL 4: S100B moleküllerinin Western Blot yöntemi ile analizi.

(Kon: Kontrol, Hipo: Hipotiroidi).

rak azalmanın daha da belirginleştiği tespit edildi (Şekil 4).

TARTIŞMA

Normal beyin gelişimi için TH'nin önemi çok iyi bilinmektedir.¹⁻⁴ Hem insanlarda hem hayvanlarda MSS gelişiminin erken dönemlerinde TH'lerin eksikliği ciddi mental gerilik oluşturmaktadır. Fetal ve neonatal dönem boyunca TH eksikliği, nöronal olgunlaşma, nöronal çıkıntılarının gelişmesi, sinaps formasyonu, nöroglial hücre gelişmesi anormalliklerine neden olur ve sonrasında myelinizasyon bozular. Konjenital hipotiroidizmin beyinle ilgili sonuçları kretinizm olarak tanımlanır.^{1,20} Fetal hayatın erken dönemlerinde henüz fetüse ait TH sentezi başlamadığı için fetal beyin gelişimini maternal TH düzenlemektedir.²¹

TH nöronal ve glial öncü hücrelerin, yaşamlarının idamesi, çoğalmaları ve farklılaşmalarının düzenlenmesinde önemli etkilere sahiptir.²² Hipotiroidi beyin gelişimi sürecinde nöronal ve glial hücrelerde eksik olgunlaşma, sinaps yoğunluğunda azalma, myelin defisitleri ve özelleşmiş hücre sayısında azalmaya sebep olur.^{2,23}

GFAP olgun astrositlerin en önemli intermediyer flaman proteinidir. İnsan fetal beyinde en erken 9. gebelik haftasında oluşur.^{24,25} Astrosit olgunlaşması sürecinde önemli noktalardan birisi de GFAP sentezinin başlamasıdır. Olgunlaşmamış astrositler vimentin salgılamakta, olgunlaşmış astrositler GFAP salgılar. Bu yüzden GFAP astrosit olgunlaşma belirteci olarak kabul edilmektedir.¹¹ Fetal hayatın ilk dönemlerindeki hipotiroidizm serebellar astroglial hücre sayısını etkiler. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, TH astroglial gen oluşumunu^{6,26,27} ve radial glia olgunlaşmasını²⁸ etkilemektedir.

Sampson ve ark.²² maternal hipotiroidinin fetal beyin gelişimi üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Normal dişi ratlar ile parsiyel tiroidektomi yapılarak TH seviyesi %25'e kadar azaltılan hipotiroidik dişi ratlar, erkek ratlar ile çiftleştirilmiştir. Gebeliğin 16., 19. ve 21. gününde fetüs beyinde GFAP düzeyine bakmışlardır. Her iki grupta da gebeliğin 16. gününde GFAP tespit edilemezken, 19. günde eşit düzeyde GFAP olduğunu tespit etmişlerdir. Maternal hipotiroidi oluşturulan gruptaki ratların gebeliğin 21. gününde GFAP seviyelerinin normal gruptaki ratlara göre %44 daha az olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca gebeliğin 19 ve 21. günleri arasında normal grupta GFAP seviyesinde beş kat artış olurken maternal hipotiroidi oluşturulan grupta üç kat artış olduğunu tespit etmişlerdir. Artış oranındaki bu düşüklüğü astrosit farklılaşmasının gecikmesi ve fetal TH sentezinin başlamadığı dönemde maternal TH eksikliği nedeniyle total beyin ağırlığındaki azalma ile açıklamışlardır.²²

Bizim çalışmamızın sonuçları, Sampson ve ark.²² yaptıkları çalışmanın sonuçlarına benzerdi. Gebeliğin 10., 15. günlerinde ve yenidoğan döneminde sırasıyla kontrole göre TH seviyesi yaklaşık olarak %36, %28 ve %56'ya kadar düştü. GFAP seviyesi bu dönemlerde hipotiroidi grubunda kontrol grubuna göre 10. günde %38, 15. günde %42, yenidoğan dönemde %78 oranında azalma gözlemlendi. Görüldüğü üzere Sampson ve ark. yaptıkları çalışmada 16. günde GFAP tespit edemezken biz 10. günde dahi fetüs beyinde

GFAP tespit ettik. Bunda Sampson ve ark.²²'nin çiftleşme öncesi hipotiroidi oluşturması ve dolayısıyla hipotiroidik sürenin uzun olması etkili olabilir. Bizim çalışmamızda ise PTU uygulaması hemen gebeliğin başlangıç döneminde verilmesiyle hipotiroidik sürenin kısa olması, dolayısıyla beyin daha kısa süre hipotiroidide kalması etkili olmuş olabilir.

Martinez-Galan ve ark.²⁸ yalnızca gebeliğin 21. gününde ve hipokampusta GFAP seviyelerine bakmışlardır. Bizim çalışmamıza benzer olarak 21. günde hipotiroidiye GFAP seviyesindeki azalmanın eşlik ettiğini tespit ettiler. Bizim çalışmamızda gebeliğin daha erken dönemlerinde (10. ve 15. gün) de hipotiroidiye GFAP düşüklüğünün eşlik ettiğini gözledik. PTU ile oluşturulan hipotiroidi bu erken dönemlerden itibaren beyin gelişimini olumsuz etkileyerek GFAP ekspresyonunu azaltmaktadır.

Kalsiyum bağlayıcı bir protein olan S100 proteinlerinin moleküler seviyede çok çeşitli etkileri vardır. Bunlardan bazıları hücre büyümesi, hücre-hücre iletişimi, hücre yapısı, enerji metabolizması, kontraksiyon ve intraselüler sinyal iletimidir. Ayrıca beyin gelişimi ve rejenerasyonunda önemli görevleri vardır. S100B, nöronal çıkıntılarının büyümesini uyarır. Gelişim boyunca ve travmadan sonra nöronların hayatta kalmasını artırır.¹² Nörotropik faktör olarak S100B, MSS gelişimi ve sinir rejenerasyonu sürecini etkiler.¹³ Öğrenme ve hafıza görevlerinin yerine getirilmesinde de rol alır.¹⁴ Nörodejenerasyona neden olan pek çok hastalık BOS'taki S100 protein miktarının derecesiyle ilişkilendirilmiştir.^{29,30}

Literatürde S100 proteinin maternal hipotiroidide fetal beyin gelişimindeki yerini araştıran bir çalışmaya rastlamadık. Rende ve ark.³¹ hipotiroidik yetişkin ratların beyinlerinde S100 proteinin seviyesini ve dağılımını araştırmışlardır. Hipotiroidik ratların çözünmüş beyinlerinde S100 protein yoğunluğunu kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmış olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu bulgular çalışmamıza ters sonuçlar bildiriyor gibi görünmektedir. Ancak nörodejenerasyonun olduğu durumlarda S100 proteininin artmış olduğu za-

ten pek çok çalışmada gösterilmiştir.^{30,32} Maternal hipotiroidi oluşturduğumuz bu modelde PTU verilen grupta S100 proteininin az olarak tespit edilmesi toplam hücre kitlesindeki azlığa ve bu hücrelerin olgunlaşma ve farklılaşmasındaki gecikmeye bağlanabilir. Astrofit olgunlaşma belirteci olan GFAP'ın önce tespit edilmesi bu düşüncüyü desteklemektedir.

Clos ve ark.³³ TH durumunun rat serebellumunda astroglial hücrelerin gelişimi sürecinde S100 paternini araştırmışlardır. Ötiroidik grupta S100 paterninin astroglial hücre gelişimi ile uyumlu olduğunu gözlemişlerdir. TH eksikliği olan grupta astroglial gelişim sürecinde kontrol grubuna göre S100 protein konsantrasyonu ve miktarının azalmış olduğunu tespit etmişlerdir. Clos ve ark.³³ sonuçları ile bizim yaptığımız çalışmanın sonuçları benzerlik göstermektedir. Biz

çalışmamızda PTU verilerek maternal hipotiroidi oluşturulmuş grupta S100B protein ekspresyon miktarını kontrol grubuna göre daha düşük tespit ettik. Fetal hayatın 10. gününde her iki grupta da S100B proteinin tespit edilmemesi, ilerleyen dönemde kontrol grubuna göre daha az olarak tespit edilmesi S100B proteininin hipotiroididen etkilenmiş olduğunu göstermektedir. Bu durum hipotiroidizmin fetüste beyin olgunlaşmasında gecikmeye neden olabileceğini gösterir. GFAP'a benzer şekilde S100B proteinin azlığı astrofit ve dolayısıyla beyin olgunlaşmasının gecikmesine işaret edebilir.

Sonuç olarak, PTU verilerek oluşturulan maternal hipotiroidi fetal beyin dokusunda GFAP ve S100B protein ekspresyonunu azaltmaktadır. Bu değişiklik astrofit olgunlaşmasındaki geriliğin bir göstergesi olabilir.

KAYNAKLAR

- Porterfield SP, Hendrich CE. The role of thyroid hormones in prenatal and neonatal neurological development--current perspectives. *Endocr Rev* 1993;14(1):94-106.
- Dussault JH, Ruel J. Thyroid hormones and brain development. *Annu Rev Physiol* 1987; 49:321-34.
- Oppenheimer JH, Schwartz HL. Molecular basis of thyroid hormone-dependent brain development. *Endocr Rev* 1997;18(4):462-75.
- Chan S, Kilby MD. Thyroid hormone and central nervous system development. *J Endocrinol* 2000;165(1):1-8.
- DeLong GR. The effect of iodine deficiency on neuromuscular development. *IDD Newslett* 1990;6(1):1-9.
- Alvarez-Dolado M, Cuadrado A, Navarro-Yubero C, Sonderegger P, Furley AJ, Bernal J, et al. Regulation of the L1 cell adhesion molecule by thyroid hormone in the developing brain. *Mol Cell Neurosci* 2000;16(4):499-514.
- Bernal J, Nunez J. Thyroid hormones and brain development. *Eur J Endocrinol* 1995;133(4):390-8.
- Bernal J, Guadano A. Thyroid hormone and the development of the brain. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 1998;5(4):296-302.
- McCall MA, Gregg RG, Behringer RR, Brenner M, Delaney CL, Galbreath EJ, et al. Targeted deletion in astrocyte intermediate filament (Gfap) alters neuronal physiology. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996;93(13):6361-6.
- Dahl D. The vimentin-GFA protein transition in rat neuroglia cytoskeleton occurs at the time of myelination. *J Neurosci Res* 1981;6(6):741-8.
- Gomes FC, Paulin D, Moura Neto V. Glial fibrillary acidic protein (GFAP): modulation by growth factors and its implication in astrocyte differentiation. *Braz J Med Biol Res* 1999;32(5):619-31.
- Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol* 2001;33(7):637-68.
- Ahlemeyer B, Beier H, Semkova I, Schaper C, Krieglstein J. S-100beta protects cultured neurons against glutamate- and staurosporine-induced damage and is involved in the antiapoptotic action of the 5 HT(1A)-receptor agonist, Bay x 3702. *Brain Res* 2000;858(1): 121-8.
- Gromov LA, Syrovatskaya LP, Ovinova GV. Functional role of the neurospecific S-100 protein in the processes of memory. *Neurosci Behav Physiol* 1992;22(1):25-9.
- Linnemann D, Skarsfelt T. Regional changes in expression of NCAM, GFAP, and S100 in aging rat brain. *Neurobiol Aging* 1994;15(5):651-5.
- Emerson CH. Thyroid disease during and after pregnancy. In: Braverman LE, Utiger RD, eds. *The Thyroid*. 7th ed. Philadelphia: Lippincott Raven Press; 1996. p.1021-31.
- Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970;227(5259):680-5.
- Harlow E, Lane D. *Electrophoresis*. Antibodies. 1st ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1988. p.635-56.
- Burnette WN. "Western blotting": electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate--polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radiiodinated protein A. *Anal Biochem* 1981;112(2):195-203.
- König S, Moura Neto V. Thyroid hormone actions on neural cells. *Cell Mol Neurobiol* 2002;22(5-6):517-44.
- Evans IM, Pickard MR, Sinha AK, Leonard AJ, Sampson DC, Ekins RP. Influence of maternal hyperthyroidism in the rat on the expression of neuronal and astrocytic cytoskeletal proteins in fetal brain. *J Endocrinol* 2002;175(3):597-604.

22. Sampson D, Pickard MR, Sinha AK, Evans IM, Leonard AJ, Ekins RP. Maternal thyroid status regulates the expression of neuronal and astrocytic cytoskeletal proteins in the fetal brain. *J Endocrinol* 2000;167(3):439-45.
23. Jones SA, Jolson DM, Cuta KK, Mariash CN, Anderson GW. Triiodothyronine is a survival factor for developing oligodendrocytes. *Mol Cell Endocrinol* 2003;199(1-2):49-60.
24. Voronina AS, Preobrazhensky AA. Developmental expression of glial fibrillary acidic protein gene in human embryos. *Neurosci Lett* 1994;174(2):198-200.
25. Arnold SE, Trojanowski JQ. Human fetal hippocampal development: II. The neuronal cytoskeleton. *J Comp Neurol* 1996;367(2):293-307.
26. Alvarez-Dolado M, González-Sancho JM, Bernal J, Muñoz A. Developmental expression of the tenascin-C is altered by hypothyroidism in the rat brain. *Neuroscience* 1998;84(1):309-22.
27. Farwell AP, Dubord-Tomasetti SA. Thyroid hormone regulates the expression of laminin in the developing rat cerebellum. *Endocrinology* 1999;140(9):4221-7.
28. Martínez-Galán JR, Pedraza P, Santacana M, Escobar del Ray F, Morreale de Escobar G, Ruiz-Marcos A. Early effects of iodine deficiency on radial glial cells of the hippocampus of the rat fetus. A model of neurological cretinism. *J Clin Invest* 1997;99(11):2701-9.
29. Heizmann CW, Fritz G, Schäfer BW. S100 proteins: structure, functions and pathology. *Front Biosci* 2002;7:d1356-68.
30. Hårdemark HG, Ericsson N, Kotwica Z, Rundström G, Mendel-Hartvig I, Olsson Y, et al. S-100 protein and neuron-specific enolase in CSF after experimental traumatic or focal ischemic brain damage. *J Neurosurg* 1989;71(5 Pt 1):727-31.
31. Rende M, Zucco M, Cocchia D, Michetti F. S-100 protein in the brain of hypothyroid adult rats: an immunochemical and immunocytochemical study. *Brain Res* 1981;254(4):590-5.
32. Wiesmann M, Missler U, Hagenström H, Gottmann D. S-100 protein plasma levels after aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)* 1997;139(12):1155-60.
33. Clos J, Legrand C, Legrand J, Ghandour MS, Labourdette G, Vincendon G, et al. Effects of thyroid state and undernutrition on S100 protein and astroglia development in rat cerebellum. *Dev Neurosci* 1982;5(2-3):285-92.