

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



HASHİMOTO TİROİDİTİNDE
D VİTAMİNİ DÜZEYİ İLE OSTEOPROTEGERİN
VE RANKL İLİŞKİSİ

İÇ HASTALIKLARI
UZMANLIK TEZİ

Dr. Selver IŞIK

TEZ DANIŞMANI:
Prof. Dr. Deniz SUNA ERDİNÇLER

İSTANBUL -2014

İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Proje no: 27311

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitim sürem boyunca, bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım başta İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Teoman SOYSAL olmak üzere tüm değerli hocalarıma,

Tezimin her aşamasında desteğini ve bilgisini esirgemeyen değerli tez danışmanım Prof. Dr. Deniz SUNA ERDİNÇLER'e,

Tez konumu belirlememde ve hazırlamamda emeği, sabrı ve yardımı bulunan Doç. Dr. Alper DÖVENTAŞ'a,

Örneklerin saklanması, işlenmesi ve sonuçların elde edilmesinde yardımcı olan İstanbul Üniversitesi Cerraphaşa Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Murat BOLAYIRLI'ya,

Tezimi hazırlamamda yardımı bulunan Uzm. Dr. Hakan YAVUZER'e, tez istatistiğimin yapılmasında desteğini esirgemeyen Uzm. Dr. Mahir CENGİZ'e

Örneklerin toplanmasında emeği geçen Hemşire Kaniye BERBER başta olmak üzere tüm İç Hastalıkları Anabilim Dalı fedakar hemşirelerine,

Tezimin her aşamasında yardımı bulunan Uzm. Dr. Işıl ERDOĞAN'a,

Tüm yoğunluğuna rağmen birlikte çalışmaktan daima mutluluk ve gurur duyduğum sevgili asistan arkadaşlarım'a

Desteğini ve sevgisini esirgemeyen dostlarım Uzm. Dr. Hamide KARAGÖZ PİŞKİNPASA, Uzm. Dr. Evdin MURJIA, Uzm. Dr. Erol DEMİR, Dr. Ertuğrul EROL'a

Daima yanımda olan, sabrı ve emeği ile bugünlere gelmemi sağlayan canım annem ve babama, sevgili biricik kardeşime,

En içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLolar LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
KISALTMALAR.....	viii
ÖZET	x
ABSTRACT.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Tiroid Bezi ve Fonksiyonları	4
2.2. TİROİD HORMONUNUN ETKİLERİ.....	5
2.3. HASHİMOTO TİROİDİTİ.....	5
2.3.1. PREVELANS	6
2.3.2. ETYOPATOGENEZ	6
2.3.3. KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR	7
2.3.4. LABORATUAR	8
2.3.5. TEDAVİ.....	8
2.4.VİTAMİN D	9
2.4.1. Tanım ve Önemi	9
2.4.2. SENTEZ VE METABOLİZMA.....	10
2.4.3. D vitamini Etkisi.....	11

2.4.4. VİTAMİN D 'NİN FONKSİYONLARI	12
2.4.4.1.Kalsiyum metabolizması ile ilgili fonksiyonları.....	12
2.4.4.2.Kalsiyum metabolizması dışı fonksiyonları	12
2.4.5. VİTAMİN D EKSİKLİĞİ	17
2.4.6. VİTAMİN D EKSİKLİĞİ TANISI	18
2.4.7. D Vitamini Eksikliği Önleme ve Tedavisi.....	19
2.5. OSTEOPROTEGERİN.....	20
2.6. RANKL.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
3.1. Hasta Grubu	23
3.2. BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER.....	24
3.3. İSTATİKSEL YÖNTEM.....	24
4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA	29
6. KAYNAKLAR	35

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. 1,25 (OH) ₂ D VİTAMİNİN HEDEF HÜCRELERİ.....	13
Tablo 2. Grupların demografik ve biyokimyasal verileri	25
Tablo 3. Grupların 25-OH D vitamini, OPG, RANKL değerleri	26
Tablo 4. Hashimoto tiroiditi grubunun otoantikor durumuna göre karşılaştırılması.....	28

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. 25-OH D vitamini ile RANKL ilişkisi	26
Şekil 2. 25-OH D vitamini ile OPG ilişkisi	27
Şekil 3. OPG ile RANKL ilişkisi.....	27

KISALTMALAR

VDR	: Vitamin D Reseptörü
OPG	: Osteoprotegerin
RANK	: Reseptör aktivator nükleer kappa B
RANKL	: Reseptör aktivator nükleer kappa B Ligand
TNF	: Tümör nekroz faktörü
TNFR	: Tümör nekroz faktörü reseptörleri
HIV	: İnsan immünyetmezlik virüsü
TGF- β1	: Dönüştürücü büyüme faktörü- β 1
PTH	: Parathormon
IL	: İnterlökin
TPO	: Tiroit peroksidaz
Tg	: Tiroglobin
BAP	: Bilimsel Araştırmalar ve Projeler Birimi
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asid
ELİSA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
TSH	: Tiroid stimulan hormon
ALP	: Alkalen fosfataz
AST	: Aspartat aminotransferaz
ALT	: Alanin aminotransferaz
LDL	: Düşük dansiteli lipoprotein
HDL	: Yüksek dansiteli lipoprotein
TRH	: Tirotropin salgılatıcı hormon
T4	: Tiroksin
T3	: triiodotironin
MIT	: Monoiodotirozin
DIT	: Diiyodotirozin
TGB	: Tiroksin bağlayıcı protein
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
HDL	: Yüksek yoğunluklu lipoprotein
ATPaz	: Adenozin trifosfataz
HLA-DR	: İnsan lökosit antijeni- DR

CTLA-4	: Sitotoksik T lenfosit antijen-4
INF	: İnterferon
USG	: Ultrasonografi
D2	: Ergokalsiferol
D3	: Kolekalsiferol
1,25(OH)₂D	: 1,25-dihidroksi D
25(OH)D	: 25-hidroksivitamin D
NHANES III	: Üçüncü National Health and Nutrition Examination Survey
HPLC	: Yüksek performans-basınç sıvı kromatografisi
AIDS	: Edinsel İmmünyetmezlik Sendromu
VKI	: Vücut Kitle İndeksi
Tbc	: Tüberküloz
OCIF	: Osteoklast inhibe edici faktör
NF-KB	: Nuclear faktor kappa B
HLA- Sınıf 2	: İnsan lökosit antijeni- Sınıf 2

ÖZET

Amaç: 60 yaş üstü Hashimoto tiroiditi olan ve olmayan hastaların, D vitamini, OPG ve RANKL düzeyleri karşılaştırılarak Hashimoto tiroiditi ile vitamin D ve osteoklastojenik belirteçlerin ilişkisi araştırılmıştır.

Yöntem: Çalışmaya Mayıs- Ekim 2013 tarihleri arasında, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma ile Geriatri Bilim Dalları'na başvuran 49 Hashimoto tiroiditli ve 34 Hashimoto tiroiditi olmayan, toplam 83 kadın hasta dahil edildi. Hastaların 25- hidroksi D vitamini kemilüminesans yöntemi, OPG ve RANKL ise ELİSA yöntemi ile çalışıldı. Tiroid ultrason bulguları, TSH, serbest T4, kalsiyum, fosfor, PTH, albumin, Anti- TPO, Anti- TG değerleri hastaların dosyalarındaki son verilere göre kaydedildi.

Bulgular: Hashimoto Tiroiditi olanlarda 25-OH D vitamini düzeyi $19,5 \pm 15$ ng/ml , OPG düzeyi $3,8 \pm 3,4$ ng/ml ve RANKL düzeyi ise 378 ± 391 pg/ml bulundu. Kontrol grubunda bu düzeyler sırasıyla $23,8 \pm 19$ ng/ml, $3,7 \pm 3,5$ ng/ml ve 483 ± 411 pg/ml saptandı. Grupların 25-OH D vitamini, OPG ve RANKL düzeyleri arasında anlamlılık bulunmadı. Hashimoto tiroiditli grupta, D vitamini ile OPG ve RANKL arasında güçlü ilişki bulundu (sırasıyla $r = 0,963$, $p < 0,001$, $r = 0,945$, $p < 0,001$). OPG ile RANKL arasında anlamlı bir ilişki saptandı ($r = 0,953$, $p < 0,001$). Hashimoto tiroiditlilerin 42'sinde otoantikor pozitifliği bulunurken 7'sinde otoantikorlar negatifti. Antikor pozitifliği olan grupta, 25-OH D vitamini, OPG ve RANKL düzeyleri negatif gruba göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p = 0,04$, $p = 0,049$, $p = 0,036$).

Sonuç: Hashimoto tiroiditli grup ile kontrol grubu arasında 25-OH D vitamini, OPG ve RANKL düzeyi açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Hashimoto tiroiditli otoantikor pozitifliği olan grupta D vitamini, OPG ve RANKL anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Bu zıt yönlü ilişki, otoantikorların osteoklastojenez üzerine olan etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

ABSTRACT

Purpose: Patients over 60 years with and without Hashimoto thyroiditis were investigated for the comparison of vitamin D, OPG and RANKL levels; thus the relationship between Hashimoto thyroiditis, vitamin D and osteoclastogenic markers have been investigated.

Method: 83 female patients, 49 with and 34 without Hashimoto thyroiditis enrolled to the study who had admitted to Endocrinology and Geriatrics departments of Cerrahpaşa Medical Faculty between May-October 2013. 25-OH vitamin D levels of patients were investigated by chemiluminescence method, OPG and RANKL levels were measured by ELISA. Thyroid ultrasound findings, TSH, fT4, calcium, phosphorus, PTH, albumin, Anti-TPO and Anti-TG levels were recorded from patient files according to recent data.

Findings: In Hashimoto group 25-OH vitamin D level was $19,5 \pm 15$ ng/ml, OPG level was $3,8 \pm 3,4$ ng/ml and RANKL was 378 ± 391 pg/ml. In control group these values were $23,8 \pm 19$ ng/ml, $3,7 \pm 3,5$ ng/ml ve 483 ± 411 pg/ml respectively. There was no statistical significance in levels of 25-OH vitamin D, OPG and RANKL in both groups. In Hashimoto group significant correlation was found between vitamin D and OPG and RANKL ($r=0,963$, $p<0,001$, $r=0,945$, $p<0,001$ respectively). Significant relationship was found between OPG and RANKL ($r=0,953$, $p<0,001$). 42 of patients in Hashimoto group showed autoantibody positivity whereas 7 of them were negative. 25-OH vitamin D, OPG and RANKL levels found lower in antibody positive group then negative group and this was statistically significant ($p=0,04$, $p=0,049$, $p=0,036$).

Results: Between Hashimoto thyroiditis group and control group, there were no difference in 25-OH vitamin D, OPG and RANKL levels. Autoantibody positive Hashimoto thyroiditis group had lower 25-OH vitamin D, OPG and RANKL levels and this was statistically significant. This inverse correlation suggests that autoantibodies may have an effect on osteoclastogenesis.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya çapındaki en sık hipotiroidi nedeni hala iyot alım yetersizliğidir. Amerika Birleşik Devletleri ve iyodun yeterli olduğu bölgelerde primer hipotiroidinin en sık nedeni otoimmün (Hashimoto) tiroidittir. Kronik lenfositik tiroidit veya otoimmün tiroidit olarak da isimlendirilen bu hastalık en sık orta yaş grubunda olmak üzere her yaş grubunda görülebilir. Hashimoto Tiroiditinin yıllık insidansı her 1000 kadında 4, her 1000 erkekte 1 kadardır (1, 2).

Tiroid bezi bu hastalıkta lenfositler tarafından infiltre edilmekte, sonrasında hormon üretimi bozulacak kadar hasar meydana gelmektedir (3). D vitamininin immün sistem üzerindeki etkilerinden yola çıkarak, Hashimoto tiroiditi patogeneğinde D vitamininin rolü olabileceği öne sürülmüştür. Yapılan çalışmalarda D vitamini reseptör (VDR) polimorfizminin Hashimoto tiroiditi sıklığını arttırdığı bulunmuştur (4) .

D vitamini klasik vitaminlerden farklı olarak vücutta sentezlenmekte ve hormon olarak isimlendirilmektedir. Birçok çalışmada D vitamininin kalsiyum homeostazı ve kemik metabolizması üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Ancak, son yıllarda yapılan çalışmalar bize bu bilinen fonksiyonları dışında D vitamininin daha birçok fonksiyonu olduğunu göstermiştir. Bugün, otoimmün hastalıklar, inflamatuvar barsak hastalığı, romatoid artrit, multipl skleroz, diyabet, birçok kanser çeşidi ve kalp hastalıklarında D vitamininin eksikliğinin rolü olduğu bilinmektedir (5-8).

D vitamini reseptörlerinin (VDR) birçok dokuda keşfi bu çalışmaların yapılmasına öncülük etmiştir. D vitamini reseptörlerinin (VDR) aktif T ve B lenfositleri, aktif makrofajlar ve dendritik hücreler gibi özellikle antijen sunan hücreler başta olmak üzere hemen bütün immün sistem hücrelerinde tanımlanmış olması D vitamininin immün regülasyondaki rolüne dikkatleri çekmiştir. Yang ve arkadaşları 1993’de yüksek doz D vitamininin immunsupresif etkisinin olduğunu saptamışlardır. D vitamininin bu özelliği, otoimmün hastalıkların kontrolünde yeni kullanım olasılıkları olabileceğini düşündürmektedir (9, 10).

Kemik kütlesi, iskeletin bütünlüğünü ve hareket yeteneğini sağlamakta; kaslar için destek ve mineral iyonları için ise depo oluşturmaktadır. Kemik dokusu, eski dokunun osteoklastlar tarafından yıkılıp, yerine osteoblastlar tarafından yenisinin

oluşturulması ile yaşam boyu yenilenir. Bu yeniden yapılanma, kemik yapımı ve yıkımı ile hücreler arasındaki değişik bağlantılar tarafından sağlanır. Bundan dolayı, hücreler arası sinyal yollarının ve protein mediyatörlerinin yapısı önemlidir. Kemik rezorpsiyonu ve bu proteinler arasındaki bağlantıların anlaşılması, kemik yıkımının arttığı, kemik kütlesinin azaldığı ve kırık riskinin arttığı çeşitli kemik hastalıklarının tedavilerinde ve yeni terapötik ajanların belirlenmesinde yeni bir dönemi başlatabilir (11, 12).

Birbirinden bağımsız iki araştırma grubu tarafından 1997’de, kemik yıkımını engelleyen ve osteoprotegerin (OPG) olarak isimlendirilen yeni bir protein bulunmuştur (13, 14). Daha sonra bu konudaki çalışmalar hızlanarak, fizyolojik ve patolojik kemik rezorpsiyonunu kontrol eden iki farklı protein daha keşfedilmiştir. Bunlardan reseptör aktivatör nükleer kappa B (RANK), osteoklastlarda bulunan ve RANK ligand (RANKL) ile uyarılarak kemik yıkımına neden olan reseptördür (15-17).

OPG, başlangıçta 401 aminoasit olarak sentezlenen bir polipeptittir. 21 aminoasitlik propeptid kısmı ayrıldıktan sonra, 380 amino asitlik olgun protein oluşur. Hücre dışına 60 kDa’luk monomerik ve 120 kDa’luk disülfid bağı içeren homodimerik, çözünür bir glikoprotein olarak salgılanır. OPG, tümör nekroz faktörü reseptörleri (TNFR) süper ailesinin bir üyesi olup, TNFR süper ailesinin diğer reseptörlerinden farklı olarak transmembran ve sitoplazmik kısımlar içermez.

OPG, osteoblastlar dışında, kardiyovasküler sistem (Kalp, arter ve venler) dâhil, böbrek, karaciğer, dalak, beyin, akciğer ve kemik iliği gibi pek çok dokuda, hematopoetik ve immün hücreler tarafından sentezlenir. Salgılanması pek çok sitokin, peptid, hormon ve ilaç tarafından düzenlenir. Kemik iliği hücrelerinin sentezlediği OPG’nin yaşla azaldığı görülmüştür. Kemik yüzeyine uygulanan gerilme kuvveti ise, OPG mRNA sentezini arttırır. Bunlar senil osteoporoz ve immobilizasyona bağlı kemik kaybı durumunda OPG’nin önemli bir mediyatör olduğunu göstermektedir. Renal osteodistrofi, romatoid artrit, primer bilier siroz, Cushing, HIV hastaları ve kemik metastazı olan prostat kanserlerinde OPG seviyelerinde artma; litik kemik lezyonu olan multipl miyelom hastalarında ise OPG seviyelerinde azalma tespit edilmiştir (18, 19) .

Kemik kütlesi, osteoblast ve osteoklastların birlikte çalışması sonucu belirlenir. Normal ve patolojik durumlarda kemik rezorpsiyonunun anahtar mediyatörü olan

RANKL, TNF ligand ailesinin bir üyesidir. 40-45 kDa'luk membrana bağı hücrel ve 32 kDa'luk biyolojik olarak aktif, çözünür iki formdan oluşmuş, 317 aminoasitlik bir peptittir. Lenf nodları, timus ve akciğerde daha fazla olmak üzere, dalak ve kemik iliği gibi dokularda, osteoblastlarca sentezlenir. RANKL sentezi transkripsiyonel, translasyonel ve posttraslasyonel seviyelerde hormonlar (1,25-dihidroksivitamin D3 gibi), büyüme faktörleri, peptidler (TGF- β 1, fibroblast büyüme faktörü-2 ve PTH ilişkili protein gibi), sitokinler (IL-1 β , IL-6, IL-11 ve TNF α gibi) ve glukokortikoidler gibi pek çok faktör tarafından düzenlenir. Osteoblast/Stromal hücrelerde RANKL sentezlenmesi, osteoklast oluşumu ve aktivasyonunu uyaran pek çok faktör ile uyarılır (20-22).

Pek çok çalışmada OPG ve RANKL'ın immün sistemle ilişkisi gösterilmiştir. RANKL'ın RANK'a bağlanması dendritik hücrelerin canlılığını, immün sistemi uyarma kapasitesini ve apoptozun inhibisyonunu artırır (23-25). T hücrelerinin, T hücre içi sinyal yollarından, c-jun N-terminal aktivasyonunu sağlar ve uyarılmış T hücrelerinin fonksiyonunu kontrol eder. İmmün sistemde uyarılmış T hücrelerinden salgılanan RANKL ise, lenfosit farklılaşması ve lenf nodu organogenezi için gereklidir. Ayrıca RANKL, TNF gibi olgunlaşmamış öncüllerin dolaşıma salgılanmasını da uyarır (26, 27).

Günümüzde D vitamini ile ilgili çok sayıda çalışma mevcuttur. Vitamin D, kalsiyum, kemik homeostazı ve immün sistem üzerinde etkilidir. Hem T, hem de B lenfositleri ile aktif makrofajlar ve dentritik hücreler üzerinde vitamin D reseptörleri saptanmıştır. Vitamin D reseptör polimorfizminin, Hashimoto tiroiditinin sıklığını arttırdığı gösterilmiştir (4).

Osteoprotegerin, reseptör aktivatör nükleer kappa B ve reseptör aktivatör nükleer kappa B ligand'ın keşfi ve osteoklastojenezisteki rollerinin belirlenmesi, kemik biyolojisinin anlaşılmasına çok önemli katkılar sağlamıştır. Pek çok çalışmada OPG ve RANKL'ın immün sistemle ilişkisi gösterilmiştir. Bu çalışmada 60 yaş üstü Hashimoto tiroiditi olan ve olmayan hastaların, D vitamini, OPG ve RANKL düzeylerinin karşılaştırılarak, Hashimoto tiroiditi ile vitamin D ve osteoklastojenik belirteçlerin ilişkisi araştırılmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Tiroid Bezi ve Fonksiyonları

Tiroid bezi boyunda, trakeanın önünde, krikoid kıkırdak ve suprasternal çentik arasında yerleşmiştir. 12-20 gr boyutunda olup istmus ile birbirine bağlı olan iki lobdan oluşmaktadır.

Tiroid bezi birbiriyle ilişkili iki hormon olan tiroksin (T4) ve triiodotironini (T3) üretir. Bu hormonlar termojenik ve metabolik homeostazisin idamesine yardımcı olurlar ve gelişim süreci içinde hücre farklılaşmasında kritik rol oynarlar (27).

Tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) hipotalamustan salgılanır ve hipofizden salgılanan tiroid stimulan hormon (TSH) ile birlikte tiroid bezi fonksiyonlarının düzenlenmesinde ilk basamakları oluştururlar (28).

Tiroid hormon üretimi, tiroid bezine iyot alımı ve tiroid bezinin büyümesi TSH'nın tiroid bezi üzerindeki etkilerine bağlıdır. Tiroid hormon düzeylerindeki değişikliklere, hipofiz TSH salınımını azaltarak veya arttırarak cevap verir. TSH reseptörleri tiroid folikül hücre membranında bulunur (28).

Tiroid hormon sentezinde ilk basamak, tiroid hücre membranında bulunan “Na⁺/I⁻ simpoter protein aracılığıyla iyodun plazmadan aktif transportla tiroid hücre içine alınması ile gerçekleşir (29).

Sentezin ikinci basamağı iyodun okside olmasıdır. İyot düzeyi belirli bir seviyeye ulaşıncaya kadar oksitlenir Elementer iyot tirozin amino asidinin aromatik zincirine bağlanır. Organifikasyon denilen bu olayda tirozine bir iyodun bağlanmasıyla monoiyodotirozin (MIT), iki iyodun bağlanmasıyla diiyodotirozin (DIT) oluşur. MIT ve DIT hormonal olarak inaktiftir (29).

Sentezde son basamak eşleşmedir (Coupling). MIT ve DIT molekülü birleşerek triiyodotironini (T3), iki tane DIT molekülü birleşerek tiroksini (T4) oluşturur (29).

Normal durumlarda her gün 100 mcg T4 ve 5 mcg T3 doğrudan dolaşıma salınır. Dolaşımdaki tiroid hormonlarının % 99'u plazma proteinlerine bağlı olarak taşınır.

Karaciğerde sentezlenen tiroksin bağlayıcı protein(TGB) ana transport proteinidir, diğerleri tiroksin bağlayıcı prealbumin ve albümindir (30).

T3 'ün reseptöre bağlanma ve biyolojik aktivitesi T4'den 4-10 kat daha fazladır. Hedef dokularda bulunan T3'ün % 80'inden fazlası, 5 '-deiodinaz enzimlerinin etkileri ile T4'den elde edilir. Tiroid hormonlarının biyolojik aktivitesinin büyük kısmı T3'ün nükleer reseptörlerine bağlanması ve sonrasında gen dizilerinin ekspresyonunun düzenlenmesi ile oluşur (30).

T4 'ün yarı ömrü 1 hafta, T3'ün ise 1-3 gündür. Tiroid hormonlarının sentezi TSH uyarısı altında peroksidaz enzimlerine bağlıdır. Tiroid peroksidaz enzimleri foliküler hücrelerde iyodun oksidasyonu, organifikasyonu ve eşleşmesini katalizler. Peroksidaz enzim eksikliğinde ise hipotiroidi meydana gelir (31).

2.2. TİROİD HORMONUNUN ETKİLERİ

Fetal gelişimde tiroid hormonlarının beyin gelişimi ve iskeletin maturasyonunda kritik rolü vardır. Tiroid hormonları, nükleer reseptör süperfamilyasının üyeleri olan reseptörlere bağlanır. Tiroid hormon reseptörlerinin izoformları ($\alpha 1$, $\beta 1$ ve $\beta 2$) tiroid hormonuna yanıt veren genlerin, transkripsiyonel regülatur bölgesinde spesifik bir sekansına bağlanır.

Tiroid hormonu oksijen tüketimini ve termogenezi artırır. Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterolün yıkımını, LDL reseptörünün ekspresyonunu artırarak hızlandırır. T3, miyokard kontraktilitesi yanı sıra, miyozin ağır zincir ve sarkoplazmik retikulumdaki adenozin trifosfatazı (ATPaz) etkileyerek relaksasyonu artırır. Ayrıca kalp hızını, sinoatrial düğüm depolarizasyonu ve repolarizasyonunu değiştirerek artırır. Fizyolojik diğer tiroid hormon etkileri arasında mental uyanıklık, solunum için itici güç olma, gastrointestinal motilite ve kemik turnoverinin artırılması da sayılabilir (30).

2.3. HASHİMOTO TİROİDİTİ

Dünya çapındaki en sık hipotiroidi nedeni hala iyot alım yetersizliğidir. Amerika Birleşik Devletleri ve iyodun yeterli olduğu bölgelerde primer hipotiroidinin en sık nedeni otoimmün (Hashimoto) tiroidittir (29).

Otoimmün hipotiroidi, Hashimoto (Guatrojen tiroidit) veya hastalığın son döneminde görülen atrofik lenfositik tiroidit ile ilişkili olabilir. Bu süreçte tiroid fonksiyonlarının yavaş yavaş azalması sonucu, TSH artışı ile kompensasyon mekanizması devreye girmektedir. Subklinik hipotiroidi veya hafif hipotiroidi denen bu evrede, bazı hastalarda minimal semptom olabilir. T4 düzeyinin düştüğü ve TSH düzeyinin arttığı döneme ise klinik hipotiroidi veya aşikâr hipotiroidi evresi denir. Genellikle TSH 10 mU/L'nin üzerindedir ve semptomlar daha belirgindir (32).

2.3.1. PREVELANS

Hashimoto Tiroiditinin yıllık insidansı her 1000 kadında 4, her 1000 erkekte ise 1 kadardır. Ortalama tanı yaşı yaklaşık 60'tır ve yaşla birlikte aşikâr hipotiroidi prevelansı artmaktadır. Subklinik hipotiroidi kadınların % 6-8'inde, erkeklerin ise % 3'ünde bulunur (29).

2.3.2. ETYOPATOGENEZ

Pek çok otoimmün hastalıkta olduğu gibi, genetik (internal) ve çevresel (eksternal) faktörlerin etkileşimi, hastalığın ortaya çıkmasına zemin hazırlamaktadır. Ancak hastalığın oluşmasında, genetik komponentin daha ağır bastığı düşünülmektedir (33).

Beyaz ırkta HLA-DR (HLA-DR3, -DR4 , -DR5) polimorfizmi, otoimmün hipotiroidide en iyi gösterilen genetik risk faktörüdür. T hücre regülasyonunda görev alan CTLA-4 (Sitotoksik T lenfosit antijen-4) geni ve otoimmün hipotiroidi arasında da zayıf bir ilişki vardır. CTLA-4 geni, T hücre aracılı immün cevabı baskılayan ve immünolojik self toleransın devamında görev alan ko-stimulatör bir molekül kodlar. HLA-DR ve CTLA-4 polimorfizmi, Hashimoto tiroiditinde genetik yatkınlığın yaklaşık yarısından sorumludur. Tiroid otoimmünitesindeki kadın hâkimiyetinin, immün yanıtındaki seks steroidlerinin etkisine ve X kromozomu ile ilgili genetik faktörlere bağlı olabileceği düşünülmektedir (34).

Etyolojide kesin olarak tanımlanmış bir çevresel faktör yoktur. Yüksek iyot alımı immünolojik mekanizma veya direkt toksik etki ile otoimmün hipotiroidi riskini arttırabilir. Yapılan çalışmalarda yüksek iyotlu Tg moleküllerinin, düşük iyotlu olanlardan daha immünojen olduğu gösterilmiştir. Yüksek doz iyot alımı direkt olarak

makrofajları aktive etmekte, dendritik hücre olgunlaşmasını arttırmakta, B ve T lenfositlerini uyarmaktadır (35, 36).

Hashimoto tiroiditinde yüksek sıklığa sahip konjenital rubella enfeksiyonu dışında, etyolojide kanıtlanmış bir enfeksiyon yoktur.

Tiroid glandı, CD4⁺ ve CD8⁺ T lenfositleri ile infiltredir. Dolaşımda aktive olmuş T hücre sayısı artmıştır. Sonuç olarak perforin aracılı sitotoksiste ile tiroid hücre yıkımı oluşmaktadır. Hashimoto tiroiditinde germinal merkez formasyonu, oksofil metaplazisinin eşlik ettiği tiroid folliküllerinin atrofisi, kolloid yokluğu ve hafiften orta dereceye kadar fibrozis ile birlikte belirgin lenfositik infiltrasyon bulunmaktadır. Atrofik tiroiditte ise fibrozis daha yoğundur ve foliküler yapı tama yakın kaybolmuştur. Ayrıca tümör nekrozis faktör (TNF), interlökin-1 (IL-1) ve interferon (INF) gamma sitokinler, lokal T hücre üretimini, T hücrelerinin Fas reseptörlerinin Fas-L ligandı ile birleşerek tiroid hücrelerinin apoptozisini artırır. Bu sitokinler tiroid hücre fonksiyonlarını direkt olarak da bozabilmektedir. Tedavi amaçlı yüksek konsantrasyonda sitokinlerin (Özellikle INF- α) verilmesi, muhtemelen benzer bir mekanizma ile otoimmün tiroid hastalığı riskini artırır (29).

Tiroid peroksidaz ve tiroglobuline yönelik olan dolaşımdaki antitiroid antikorlar, hastalık için klinik yönden yararlı markerlardır. Histolojik olarak otoimmün tiroiditi bulunan hastaların % 10'unda dolaşımda antitiroid antikor görülmez. Antitiroid peroksidaz (Anti-TPO) ölçümü, antitiroglobulin (Anti-Tg) ölçümünden daha duyarlıdır. Anti-TPO düzeyi düşük olup, anti-Tg düzeyi yüksek olan otoimmün tiroid hastalığı sıklığı % 5 civarındadır. Otoimmün hipotiroidili hastaların % 20 kadarında, TSH-Reseptörüne karşı antikorlar vardır; ancak bunlar reseptörü stimüle etmezler. Aksine TSH'un bağlanmasını önlerler (37, 38).

2.3.3. KLİNİK BELİRTİ VE BULGULAR

Hashimoto tiroiditi genellikle sinsi bir başlangıç gösterir. Hastalar hipotiroididen ziyade guatr nedeniyle başvurur. Tiroid bezinin boyutu normal, diffüz olarak büyümüş ya da palpe edilemeyecek kadar atrofik olabilir. Fakat genellikle düzensiz ve sert kıvamdadır. Atrofik tiroiditli veya Hashimoto tiroiditinin son evresindeki hastalar hipotiroidi semptom ve belirtileri ile başvururlar. Hastaların %5'inden azında hipotiroidi gelişimi öncesi tirotoksikoz semptomları görülebilir (3).

Hipotiroidide cilt kurudur; terlemede azalma mevcuttur; epidermiste incelme ve kornea tabakasında hiperkeratoz vardır. Ciltteki artmış glikozaminoglikan içeriği su tutar; bu durum ciltte gode bırakmayan ödeme neden olur. Miksödem denilen bu tabloda ödematöz gözkapaklarıyla birlikte, şişmiş yüz ve gode bırakmayan pretibiyal ödem görülür. Ciltte karoten birikimine bağlı sarı renge çalan bir solukluk dikkat çeker. Saçlar kuru ve kırılıgandır; tırnak büyümesi yavaşlamıştır ve diffüz alopesiye ek olarak kaşların üçte birlik dış kısmında incelme görülebilir. Çocuklarda kilo alımına rağmen lineer büyümede gecikme, erken veya gecikmiş puberte ile prezente olabilir. Yetişkinlerde bradikardi, diastolik hipertansiyon ve hafif hipotermi görülebilir. Nörolojik muayenede yavaş, dizartrik konuşma ve derin tendon reflekslerinde yavaşlama tespit edilebilir (1, 39).

Hashimoto tiroiditi tanılı hastalarda ve ailelerinde de, diğer otoimmün hastalık prevalansı artmıştır. Addison hastalığı, tip 1 diyabetes mellitus, pernisiyöz anemi, romatoid artrit, myastenia gravis, multiple skleroz ve vitiligo, Hashimoto tiroiditinde daha sık görülmektedir (1).

2.3.4. LABORATUAR

Hipotiroidi tanısı laboratuvar verileri ile konulabilmektedir. Yüksek TSH, düşük T4 aşikâr hipotiroidi tanısı için esastır. Subklinik hipotiroidide ise sadece serum TSH düzeyi artmıştır. Nadiren tirotoksikoz tablosu ile hastalar gelebilir. Klinik belirti ve bulgular hipotiroidinin ciddiyetine ve süresine bağlıdır (40).

Hashimoto tiroiditinin immünolojik tanısı, anti TPO ve anti Tg antikorlarının serumda saptanması ile konur. Tiroid muayenesinde patolojik bulgu saptanmışsa USG ile değerlendirme önerilir. USG’de tiroid ekojenitesinde azalma, strüktüründe kabalaşma ve psödonodüller gözlenir. İnce iğne aspirasyon biyopsisi, rutin olarak tanıda gerekli değildir. Ancak antikor negatifliği olan hastalarda teşhiste yardımcı olur. Ayrıca nodülü olan hastalarda malignitenin ekarte edilmesi için gereklidir (41).

2.3.5. TEDAVİ

Kalıcı hastalığı olanlarda tiroid hormon replasman tedavisi hayat boyudur. Tedavide levotiroksin kullanılmalıdır. Ortalama yerine koyma dozu 1,6 µg/kg olmakla beraber, kişiden kişiye uygun dozlar değişkenlik göstermektedir. Tedaviye başlama

dozu, hastanın yaşı, hastalığın süresi, hastalığın ciddiyetine ve birlikte bulunan diğer hastalıklara bağlıdır. Kardiyovasküler riski yüksek olan kişilerde 12,5 µg/gün düşük dozda başlayıp, 4-6 haftalık dönemler ile doz ayarlaması yapılarak hedeflenen TSH düzeyine ulaşılmalıdır.

Levotiroksin replasman tedavisinde TSH hedefi:

- Risk taşımayan gençlerde 0,5-2,5 mIU/L,;

- Kardiyovasküler riski yüksek olan kişilerde, 65 yaş üzerinde, ileri osteoporozu olanlarda, atrial fibrilasyon varlığında ise 1-4 mIU/L'dir.

İleri yaşta TSH'nun arttığı, TSH üst sınırının 70-79 yaş için 6 mIU/L, > 80 yaş için 7,5 mIU/L olduğu hatırlanmalı ve replasman dozu ayarlanırken bu eşik değerler göz önüne alınmalıdır. Levotiroksin doz ayarlaması 6-8 haftalık periodlar ile 12,5-25 µg/kg'lık artışlar ile yapılmalıdır (42).

2.4.VİTAMİN D

2.4.1. Tanım ve Önemi

Vitamin D steroid yapıda bir hormondur. Vitaminler, vücut için esansiyel olup, vücutta üretilemeyen ve gıdalarla alınması gerekli maddelerdir. D vitamini klasik bir vitamin olmaktan çok, hormon olarak görev yapmaktadır. Çünkü D vitamini sentezi ultraviyole radyasyon ile deride gerçekleşmektedir. Üretilen bu ön madde, karaciğer ve böbrekte iki defa transformasyona uğrayarak, biyolojik aktif şekline dönüşmektedir. D vitaminin aktif şeklinin kimyasal yapısı steroid hormonları ile benzerlikler göstermektedir (43).

1919-1920'de ilk kez vitamin olarak sınıflandırılmıştır. Sir Edward Mellanby, köpekler üzerine yapmış olduğu bir çalışmada, diyetle alınan bir vitamin eksikliğinden dolayı riketsin ortaya çıktığını saptamıştır (44). 1923'de Goldblatt ve Soames, güneş ışığında vitamin D'nin üretildiğini ve bunun bir prekürsör vitamin olduğunu bulmuşlardır (45). Hess ve arkadaşları ise sığırcılara güneş ışığı verildiğinde riketsin önlendiğini görmüşlerdir (46). Windous ve arkadaşları Almanya'da yaptıkları bir araştırmada, ergosterolün ve derideki 7- dihidrokolekalsiferolün ultraviyole ışınları ile D₂ vitamin ve D₃ vitamene dönüştüğünü saptamışlardır (47).

Vitamin D, kalsiyum ve fosfor metabolizmasının düzenlenmesinde görev almaktadır. Kemik, barsak, böbrek ve paratiroid bezler üzerine etki ederek fizyolojik aktivitesini göstermektedir (7).

Yetersizliğinde, çocuklarda rikets, erişkinde ise osteomalazi ve osteoporoza yol açmaktadır (7).

Sağlıklı bir kemik gelişimi için D vitaminine ihtiyaç duyulmasının yanı sıra, otoimmün hastalıklarda, kardiyovasküler ve enfeksiyöz hastalıkların önlenmesinde D vitaminin rolü olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (8).

2.4.2. SENTEZ VE METABOLİZMA

1,25-dihidroksi D [$1,25(\text{OH})_2\text{D}$], kemik mineral-iyon metabolizmasında yer alan majör steroid hormondur. 7-dehidrokolesterolden deride ultraviyole ışığına yanıt olarak D vitamini oluşur. Bu üretimi, ultraviyole ışığının deriye penetrasyonunu önemli ölçüde bozan melanin ve yüksek koruma faktörlü güneş koruyucuları azaltmaktadır. Bitkisel kaynaklardan elde edilen D vitamini D_2 (Ergokalsiferol) formu, hayvansal kaynaklardan ise D_3 (Kolekalsiferol) formudur. İnsanlarda her iki formu da eşit biyolojik aktiviteye sahiptir. İster ince barsaktan emilsin, ister deride sentez edilsin, her iki şekilde de dolaşıma katılır ve karaciğerden sentez edilen vitamin-D bağlayıcı globüline bağlanır (48).

Vitamin D daha sonra karaciğerde hepatosit mitokondrial sitokrom ve mikrozomal sitokrom P450 benzeri enzimler ile 25-hidroksilasyona uğrar. Ortaya 25-hidroksivitamin D [$25(\text{OH})\text{D}$] çıkar ve bu metabolit, D vitaminin dolaşan ve depo edilen majör formudur. Bu madde “kalsidiol” olarak da bilinir. D vitaminin karaciğerde 25-hidroksilasyonu, ürün feedback mekanizması ile düzenlenir. Sıkı bir regülasyon söz konusu değildir. Normal serum konsantrasyonu 8-80 ng/ml arasında değişir. Serumdaki yarı ömrü 21 gündür. Kanda $25(\text{OH})\text{D}$ 'nin yaklaşık % 88'i D vitamini bağlayıcı globüline; % 0,03'ü serbest ve geri kalanı ise albümine bağlı olarak dolaşır (3, 48).

Matür hormon oluşumu için gereken son hidroksilasyon böbrekte oluşur. Böbrek proksimal tubüler hücrelerin membranında $25(\text{OH})\text{D}$ -1 α -hidroksilaz enzimi ile kalsidiol, ikinci kez hidroksilasyona uğrayarak; 1,25-dihidroksi vitamin D (Kalsitriol)

oluşur. Kalsitriol, kalsiyum ve fosfor homeostazından sorumlu, D vitaminin biyolojik olarak en aktif şeklidir (49).

Proksimal tubül hücrelerinde bulunan sitokrom P450 benzeri miks fonksiyonlu oksidaz ile sıkı bir şekilde 25 (OH)D-1 α -hidroksilaz yoluyla regüle edilir. 1 α -hidroksilazı, PTH stimule ederken; kalsiyum ve oluşan ürün [1,25(OH)₂D] baskılar. Bu enzimi sentezleyen CYP1 geni, 12q13 kromozomunda bulunur ve bu genin mutasyonları “vitamin D bağımlı raşitizm tip 1”den sorumludur. Östrojen, prolaktin ve büyüme hormonu 1,25(OH)₂D vitamini üretimini arttıran diğer faktörlerdir. İnsanda 1,25(OH)₂D vitamini günde 1 μ g kadar üretilir ve plazmada 40-60 pg/ml düzeyinde bulunur. Plazma yarılanma süresi 3-6 saattir (3, 48). 25(OH)D-1 α -hidroksilaz, ayrıca epidermal keratinositlerde de bulunur; ancak ürünün bu hormonun kandaki seviyesine katkıda bulunmadığı sanılmaktadır. 1 α -hidroksilaz, plasentanin trofoblastik tabakasında da bulunur. Sarkoidoz, tüberküloz ve berilyoziste olduğu gibi, lenfomalarda da üretilir. Bahsedilen bu durumlarda enzim aktivitesi interferon- α ve TNF ile indüklenebilir; ancak kalsiyum ve 1,25(OH)₂D ile regüle edilemez (50).

Vitamin D metabolitlerinin inaktivasyonu için major yolak, birçok dokuda bulunan bir enzim olan vitamin D-24 hidroksilaz ile ilave hidroksilasyon aşamasıdır. Bu enzimin major indükleyicisi 1,25(OH)₂D’dir. Böylelikle kalsitriol, kendi inaktivasyonunu sağlar ve bu sayede biyolojik etkilerini sınırlar. 1,25(OH)₂D vitamini polar metabolitleri safraya sekrete edilir ve enteropatik dolaşım ile reabsorbe edilir (48).

2.4.3. D vitamini Etkisi

1,25(OH)₂D etkisini, nükleer reseptör süperailisinin bir üyesi olan vitamin D reseptörüne (VDR) bağlanarak gösterir. Bu reseptör, tiroid hormonu reseptörleri, retinoid reseptörler ve peroksizom proliferatör–aktivatör reseptörlerin de dâhil olduğu bir alt aileye aittir. Bu alt ailenin diğer üyelerinin aksine, sadece VDR izoformu izole edilmiştir. VDR’lerinin hormon bağlayıcı kısmı, DNA bağlayıcı bölgesi ve N-terminal bölgesi bulunur. 12q13-14 kromozomunda lokalize olan insan VDR geni, 427 aminoasitten oluşan 50 kD’luk bir proteindir. VDR’leri barsak, kemik, böbrek, cilt, meme, hipofiz, paratiroid bez, pankreas beta hücreleri, gonadlar, beyin, iskelet kası, dolaşımdaki monositler ve aktive B ve T lenfositlerde de bulunmaktadır (48, 51). VDR, retinoid X reseptörü ile birlikte bir heterodimer olarak hedef DNA sekansına bağlanır ve

hedef gen ekspresyonunun indüksiyonu ile sonuçlanan koaktivatörler serisini harekete geçirir (48).

2.4.4. VİTAMİN D 'NİN FONKSİYONLARI

2.4.4.1.Kalsiyum metabolizması ile ilgili fonksiyonları

D vitamini, kalsiyumu normal değer aralığında tutmak için barsak, kemik ve böbrekler üzerine etki eder. İnce barsak lümeninden kan dolaşımına kalsiyum ve fosfor transportunu uyarmaktadır. 1,25(OH)₂D vitamini, ince barsakta bulunan bir kalsiyum bağlayıcı protein olan ve kalsiyumun enterositlerden aktif transportunda önemli bir rol oynadığına inanılan calbindin 9K'nın major indükleyicisidir (3).

Kemik rezorpsiyonunu arttırıcı etkisi PTH ile sinerjistikdir. Osteoblastlar ve stromal fibroblastlar üzerindeki spesifik reseptöre PTH ve 1,25(OH)₂D vitamini bağlanmaktadır. Osteoblast hücresinin yüzeyinde yer alan RANK (Receptor activator nucleus factor –Kb) ligandının üretimini uyarır. RANK ligandı immatür osteoklastların üzerinde bulunan RANK reseptörüne bağlanarak immatür osteoklast prekürsörlerinin matür osteoklastlara değişimini uyarmaktadır (48).

VDR, osteoblastlardaki bazı genlerin ekspresyonunu da düzenlemektedir. Hedef genler; 1,25(OH)₂D tarafından transkripsiyonel olarak baskılanan tip 1 kollajenin regüle ettiği, kemik matriks proteinleri, osteokalsin ve osteopontindir(50).

Vitamin D 'nin renal kalsiyum ve fosfor tutulumundaki rolü halen netleşmemiştir (48).

D vitamini eksikliğin klinik bulguları çocuklarda raşitizm olarak adlandırılırken; yetişkinde ise osteomalazi görülür. İskelet kasında da VDR saptanmıştır. Fibromiyalji şikâyetleri olan hastaların % 40-60'ında vitamin D eksikliği saptanmıştır (49).

2.4.4.2.Kalsiyum metabolizması dışı fonksiyonları

Son 25-30 yılda yapılan çalışmalarda, D vitaminin kemik metabolizması dışında da pek çok fonksiyonu olduğu saptanmıştır. Bugün, otoimmün hastalıklar, inflamatuvar barsak hastalığı, romatoid artrit, multipl skleroz, diyabet, birçok kanser çeşidi ve kalp hastalıklarında D vitaminin rolü olduğu bilinmektedir (5-8).

Başta enterosit, osteoblast ve distal renal tubuler hücre nükleusları olmak üzere, birçok dokuda VDR reseptörleri gösterilmiştir. Kanıtlanmış ve olası VDR reseptörlerinin bulunduğu hücreler tablo 1’de verilmiştir (52).

Tablo 1. 1,25 (OH)₂D VİTAMİNİN HEDEF HÜCRELERİ

Kanıtlanmış	Varsayılan
Enterositler	Adacık hücreleri, pankreas
Osteoblastlar	Mide, endokrin hücreleri
Distal renal tubulus	Hipofiz hücreleri
Paratiroid hücreler	Over hücreleri
Ciltteki keratinositler	Plasenta
Promiyelosit, monosit	Beyin
Lenfosit	Epididim
Kolon enterositleri	Gelişimdeki miyeloblast
Shell gland	Aortik endotelyal hücreler
Tavuk korioallantoid membran	Cilt fibroblastları

a. Kronik böbrek yetersizliği

VDR, paratiroid hücreler üzerinde antiproliferatif etki gösterir ve PTH geninin transkripsiyonunu baskılar. 1,25(OH)₂D vitaminin paratiroid bez üzerindeki bu etkileri, renal yetersizlik ile ilişkili hiperparatiroidinin önlenmesi ve tedavisine yönelik yaklaşımın temelini oluşturmaktadır (48).

b. Enfeksiyöz hastalıklar

Viral-gribal enfeksiyonların sıklığının, düşük serum D vitamini düzeyi ile arttığı bildirilmiştir (53). Raşitik çocuklarda, raşitik olmayanlara göre pnömoni gelişme riskinin 13 kat arttığı görülmüştür (54). Tüberküloz enfeksiyonlu hastalarda, D vitamini düzeyinin saptanamayacak kadar düşük olduğu ve düşük D vitamini düzeylerinin tüberküloz için predispozisyonel bir risk olabileceği bildirilmektedir (55).

c. Kanser

1,25(OH)₂D'nin keratinositler, meme kanseri hücreleri ve prostat kanseri hücreleri gibi bazı hücre tipleri üzerinde, antiproliferatif etkileri olduğu gözlemlenmiştir (56, 57).

d. Diyabet

Aktif B ve T lenfositleri, makrofajlar, dendritik hücreler gibi antijen sunan hücrelerde de D vitamini reseptörleri tanımlanmıştır. Bunun yanı sıra, bütün immün sistem ve pankreas hücrelerinde de bu reseptörler bulunmaktadır (10). Pankreas beta hücrelerinde bulunan kalbindin, D vitaminine bağlı kalsiyum bağlayıcı bir proteindir. Beta hücrelerini, sitokine bağlı hücre ölümünden koruduğu gösterilmiştir (58).

Hayvan modellerinde D vitamini eksikliğinin, pankreasın insülin sentez ve salınımını etkilediği gösterilmiştir (59). Pittas A. ve arkadaşları, 83779 yetişkin kadın üzerinde 20 yıllık takiple yaptıkları çalışmada, bunların 4843'ünde diyabet geliştiğini tespit etmişlerdir. Daha yüksek D vitamini ve Ca alan yetişkinlerde, tip2 diyabet gelişme riskinin, daha düşük değerlerde alanlara göre % 13 oranında daha az olduğunu bildirmişlerdir. D vitaminin hangi mekanizma ile diyabet gelişme riskini azalttığı netlik kazanmamıştır (60). Tip 2 diyabetes mellitus gelişimine VDR polimorfizminin neden olabileceği, öne sürülen diğer bir görüştür. Ogunkolade ve arkadaşlarının Bangladeş'de yaptığı bir çalışmada, VDR Tag 1 polimorfizminin, insülin salınımı ile ilişkili olduğu bulunmuştur (61).

e. Beyin gelişimi

D vitamini eksikliğinde korteks anomalileri, lateral ventriküllerin genişlemesi ve beyinde fazla hücre proliferasyonu gözlemlenmiştir. Annelerinde D vitamini eksikliği olan yavru farelerin beyinlerinde ciddi hasar geliştiği bildirilmiştir (62).

f. Kardiyovasküler hastalıklar

D vitamininin, vasküler muskuler kontraksiyonu ve histolojik olarak ventriküler kas hücreleri arasındaki boşluğu arttırdığı saptanmıştır. Daha yüksek D vitamini

değerlerine sahip hastalarda, daha az kardiyovasküler hastalıklara bağlı mortalite görüldüğü bildirilmiştir (63, 64).

Kuzey ülkelerinde daha yüksek oranlarda kardiyovasküler hastalığın saptanmasının, D vitamini düşüklüğü ile ilgili olabileceği öne sürülmektedir (65).

g. Psöriazis

D vitamininin, keratinositler ve fibroblastlarda proliferasyonu inhibe ettiği bilinmektedir. Mutant VDR'leri olan insan ve sıçanlarda alopesi görüldüğü bildirilmiştir. Fakat alopesinin D vitamini eksikliği ile ilişkili olmaması, bunun VDR reseptörünün hormondan bağımsız etkileriyle olduğu kanaatini kuvvetlendirmektedir (48).

D vitamini, keratinositlerdeki terminal differansiyasyonu indüklemektedir; böylelikle kontrolsüz deri çoğalmasının olduğu psoriaziste, kalsitriol analogu olan “calsipotriol” kullanımı FDA tarafından onaylanmıştır (48).

h. İmmun fonksiyonlar ve otoimmün hastalıklar

Mononükleer hücrelerde D vitamini reseptörlerinin keşfi ile immunregülasyon mekanizmasında D vitaminin rolü olabileceği saptanmıştır (67).

Monolages ve ark. tarafından lenfositlerde önemli miktarda VDR bulunduğu gösterilmiştir (68). Antijene özgü bağışıklık sisteminde T helper hücreleri, merkezi bir role sahiptir. Th1 ve Th2 olmak üzere iki alt grubu mevcuttur.

Th1 lenfositler hücresel bağışıklıkta esas göreve sahiptir; tümör ve hücre içi patojenlere karşı yanıtta rol alırlar. Th1 hücreler, İnterferon-gamma (INF- γ), İnterloklin-2 (IL-2) ve Tümör nekrozis faktör- α (TNF- α) sekrete ederler. Th1 hücrelerinin, vücudun kendi proteinlerine karşı yönelmesi ile otoimmün hastalıkların oluşumuna yol açtığı bilinmektedir. Th1 hücreleri aracılığıyla multipl skleroz, tip 1 diyabet ve inflamatuvar barsak hastalığı oluşmaktadır (69).

Th2 hücreleri ise antikor aracılı bağışıklıkta görev alırlar. İnterlöklin-4 (IL-4) ve IL-5 sekrete ederler. Bakteri ve parazit gibi ekstrasellüler patojenlere karşı gelişen yanıtta rol alırlar (69).

CD4⁺ T hücreler (T helper) VDR eksprese ederler. Ancak bu ekspresyon çok düşük miktarlardadır. T helper hücreler aktive olduktan sonra bu konsantrasyon 5 kat artar. D vitamini, Th1 hücrelerinin proliferasyonunu, INF- γ , IL-2 ve IL-5 üretimini azaltırken; Th2 hücrelerinde IL-4 üretimini artırır. D vitamininin otoimmün hastalıkları baskıladığı; bunu da IL-2'yi azaltıp, IL-4 sekresyonunu arttırarak sağladığı gösterilmiştir (70).

D vitamini, uyarılmış B lenfositlerdeki immünoglobulin salgılamasını da baskılamakta, promiyelositlerin proliferasyonunu engellemekte ve bu hücrelerin monositlere dönüşümüne neden olmaktadır (71).

Yang S. ve arkadaşları yüksek doz D vitamininin, immunsupresif etkisinin olduğunu saptamışlardır. Bu özelliği ile D vitamininin, birçok otoimmün hastalığın kontrolünde kullanılabileceği düşünülmektedir. Diyetle alınan D vitamini eksikliğinin, otoimmün hastalık sıklığı ve şiddetini arttırdığı bilinmektedir (52).

i. Hashimoto Tiroiditi

Hayvan modellerinde D vitamininin, otoimmün tiroidit gelişmesini etkili bir şekilde önlediği gösterilmiştir (72). Bunu, endokrin hücrelerde HLA sınıf II ekspresyonunu inhibe ederek sağladığı ileri sürülmüştür (73).

Tayvanda Lin ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada exon 2'de lokalize VDR- Fok 1 polimorfizminin, Hashimoto tiroiditi gelişme riskini arttırdığı saptanmıştır (4). Almanlarda, Pani MA ve arkadaşları tarafından intron 6 da lokalize vitamin D 1 α -hidroksilaz geninin C/T polimorfizminin, Hashimoto tiroiditi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (74).

Hırvatlarda yapılan bir çalışmada ise, VDR gen 3' bölgesini içeren haplotip varyantları ve allel dengesizliğinin, tiroidit patogenezinde rolü olabileceği gösterilmiştir (75).

Yoshiyuki ve arkadaşları, 130 Hashimoto tiroiditli kadın hastada yaptıkları bir çalışmada, VDR Fok I polimorfizminin Hashimoto tiroiditi ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (76).

Bozkurt ve arkadaşları tarafından, 360 Hashimoto tiroiditli hasta ve 180 sağlıklı gönüllü üzerinde yapılan bir diğer çalışmada tüm gruplarda 25-OH D vitamini düzeyi düşük olmakla birlikte Hashimoto tiroiditli hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük düzeyde saptanmıştır (81).

2.4.5. VİTAMİN D EKSİKLİĞİ

Üçüncü National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) sonuçlarına göre, prevelansı değişkenlik göstermekle birlikte, tüm ABD’nde vitamin D eksikliği yaygın olarak görülmektedir. Vitamin D eksikliği, klinik olarak deride vitamin üretimindeki yetersizlik, diyetteki yetersizlik, vitamin D kaybının artması, bozulmuş vitamin D aktivasyonu ya da vitamin D’nin biyolojik etkisindeki dirençten kaynaklanmaktadır (48).

Yaşlı ve evde bakımı yapılan hastalar eksiklik açısından en riskli gruplardır. Bu hastalarda hem deriden D vitamini sentezi, hem de ince barsaktan emilimin azalması söz konusudur. Yağların intestinal malabsorpsiyonu, özellikle terminal ileum hastalıklarında, enteropatik dolaşımın azalması sonucu D vitamini eksikliği gelişmektedir. Hepatik sitokrom P450 sitokrom oksidazı indükleyen barbitüratlar, fenitoin ve rifampisin gibi ilaçlar, vitamin D inaktivasyonunu artırmaktadır. 25-hidroksilasyon, ciddi karaciğer hastalığı ya da izoniyazid kullanımında ise azalmaktadır (48, 66).

Ağır renal disfonksiyonda 1 α - hidroksilasyon bozulmaktadır. Kreatinin klirensi <0,5 mL/sn (30 ml/dk) olan hastalarda, aktif D vitamini tedavisi düşünülmelidir.

Riketsin bir türü olan Psödo-D vitamini eksikliğinde, renal 1 α - hidroksilazda otozomal resesif geçişli bir mutasyon söz konusudur. Hayatın ilk yıllarında bulgu vermektedir. Etkilenen çocuklarda büyüme-gelişme geriliği, rikets ve hipokalsemik nöbetler görülmektedir. Ömür boyu 1 α -hidroksilasyon gerektirmeyen vitamin D metabolitleri ile tedavi şarttır. (49, 66).

Diğer bir otozomal resesif hastalık ise Vitamin D-dirençli rikets’dir. VDR mutasyonları nedeniyle oluşmaktadır. Bu hastalarda serum 1,25(OH)₂D seviyeleri, sekonder hiperparatiroidi ve inaktivasyonda azalma nedeniyle dramatik olarak yüksektir. İnaktivasyon için 24-hidroksilazın VDR ile indüksiyonu gereklidir (49).

Nedeni ne olursa olsun D vitamini eksikliği bulguları, büyük oranda azalmış kalsiyum absorpsiyonuna bağlıdır. Hafif-orta derecede D vitamini eksikliği asemptomatik seyrederken; uzun süreli eksiklik sekonder hiperparatiroidi, buna bağlı hipokalsemi, iskelet mineralizasyonunda bozulma, osteopeni ya da azalmış kemik mineral yoğunluğu ve proksimal miyopati ile sonuçlanır. Araya giren ek hastalıklar yoksa nadiren akut hipokalsemi semptomları görülmektedir. Vitamin D eksikliğinde paratiroid bezin fonksiyonunu bozan hipomagnezemi geliştiğinde ya da kemik rezorpsiyonunu bozan ilaçlar verildiğinde semptomatik akut bir hipokalsemi gelişebilir (48).

2.4.6. VİTAMİN D EKSİKLİĞİ TANISI

Sağlıklı bireylerde en spesifik tarama testi serum 25(OH)D seviyesidir. 25(OH)D'nin yarı ömrü 2-3 haftadır ve D vitamini rezervini yansıtmaktadır. Tanı ve tedavide 25(OH)D düzeyinin kullanılması önerilmektedir. Yüksek performans-basınç sıvı kromatografisi (HPLC), likit kromatografi, mass spektrografik metot ile ölçümler güvenilirdir. 1,25(OH)₂D, yarı ömrünün 4 saat gibi kısa ve kan konsantrasyonlarının çok düşük olması nedeniyle mevcut rezervi yansıtmaz. Ancak, kronik böbrek yetersizliği, kalıtsal fosfat kaybettiren hastalıklar, onkojenik osteomalazi, D vitamini dirençli raşitizm, granülomatoz hastalıklar 1,25(OH)₂D düzey ölçümünün tercih edilmesinin gerekli olduğu durumlardır (43, 77).

D vitamini eksikliği için rutin toplum taraması önerilmemektedir. Yüksek riskli hastalarda tarama yapılabilir (43, 78).

D vitamini yetersizliği riski yüksek olan durumlar:

- 1- Osteomalazi- Raşitizm
- 2- Osteoporoz
- 3- Kronik böbrek yetersizliği
- 4- Kronik karaciğer yetersizliği
- 5- Hiperparatiroidi
- 6- Yaşlılık ve bakım evinde yaşayanlar
- 7- Malabsorpsiyon Sendromları
- 8- İlaçlar (Antiepileptik, steroid, AIDS ilaçları, anti-TBC)
- 9- Koyu cilt rengine sahip olanlar

- 10- Gebelik ve uzun laktasyon dönemi
- 11- Düşme, dengesizlik öyküsü olanlar
- 12- Nontravmatik kırık hikâyesi
- 13- Obezler, VKI>30 kg/m²
- 14- Granülomatoz Hastalıklar (Sarkoidoz, tbc, histoplazmoz...)
- 15- Lenfoma v.b.

Serum 25(OH)D düzeylerine göre vitamin D durumu:

- >30 ng/ml: Yeterli
- 20-30 ng/ml: Vitamin D yetersizliği
- <20 ng/ml: Vitamin D eksikliği
- <10 ng/ml: Ciddi eksiklik olarak kabul edilmektedir (78).

2.4.7. D Vitamini Eksikliği Önleme ve Tedavisi

Türkiye'nin bulunduğu enlemde vitamin D sentezi Mayıs-kasım ayları arasında gerçekleşmektedir. Cilde direkt güneş ışığı teması sentez için gereklidir. 10:00- 15:00 saatleri arasında uygun güneş ışını açısı mevcuttur. Tül perde ve cam arkasından güneşlenilmemelidir; güneş koruyucu kremler sürülmemelidir. Uygun saatlerde vücudun % 70'inin 1 minimal eritem dozunda (Pembeleşme) güneş ışını teması 10000-25000 IU D vitamini sentezletebilir. Kol ve bacakların 0,5 eritem dozunda güneşlenmesi, yaklaşık 3000 IU D vitamini sentezine yol açmaktadır. Cilt rengi koyu olan kişilerde 45-60 dakikada minimal eritem dozuna ulaşılırken; cilt rengi açık olanlarda bu süre 15 dakika kadardır (78).

D vitamininin <30 ng/ml olması tedaviyi gerektirmektedir. Tedavide hedef 30-50 ng/ml seviyesinde tutmaktır. 25(OH)D düzeyi >88 ng/ml çıktığında hiperkalsiüri saptanmaktadır. 19-70 yaş arasında minimum günlük D vitamini ihtiyacı 600 IU; serum 25(OH)D düzeyini 30 ng/ml düzeyinde tutacak ihtiyaç ise 1500-2000 IU'dir. Tedavide kolekalsiferol (D₃) kullanımı tercih edilmelidir. Kronik karaciğer yetersizliğinde kalsidiol, kronik böbrek yetersizliğinde ise kalsitriol kullanılmalıdır. Günlük güvenli D vitamini limiti 4000 IU'dir.

D vitamini emilimi besinlerden etkilenmez. 25(OH)D düzeyi 20 ng/ml altında olan yetişkinlerde D vitamini yüklemesi yapılmalıdır. 8 hafta boyunca haftada bir kez 50000 IU vitamin D verildikten sonra günde 1500-2000 IU idame ile devam edilmelidir. Tedavi başladıktan 3-6 hafta sonra serum 25(OH)D düzeyi ölçülmelidir. 25(OH)D düzeyi 30'un altında olan yetişkinlerde D vitamini yüklemesine gerek yoktur. İdame doz (1500-2000 IU vitamin D) ile tedaviye başlanır. Verilen her 100 IU D vitamini serum 25(OH)D düzeyini 1 ng/ml arttırır. Obezlerde, vitamin D metabolizmasını hızlandıran ilaç kullananlarda yükleme ve idame dozu 2-3 kat fazla olmalıdır (77, 78).

D vitamini ile birlikte yeterli kalsiyum alımı sağlanmalıdır. 19-70 yaş arasında 1000 mg/gün, >70 yaş 1200 mg/gün verilmelidir (77, 78).

Tedaviye rağmen serum D vitamini seviyesi 30 ng/ml altında kalanlarda gastrointestinal emilim problemleri veya tedavi uyumsuzluğu düşünülmelidir. Günde 400-1000 intraveöz D vitamini ile idame tedavi yapılabilir (77, 78).

2.5. OSTEOPROTEGERİN

Kemik kütlesi, iskeletin bütünlüğünü ve hareket yeteneğini sağlamaktadır. Kaslar için destek ve mineral iyonları için de depo görevi görmektedir. Kemik dokusu, eski dokunun osteoklastlar tarafından yıkılıp, yerine osteoblastlar tarafından yenisinin oluşturulması ile yaşam boyu yenilenmesini sürdürmektedir. Bu yeniden yapılanma, kemik yapımı ve yıkımı ile hücreler arasındaki değişik bağlantılar tarafından sağlanır. Bundan dolayı, hücreler arası sinyal yollarının ve protein mediyatörlerin yapısının öğrenilmesi önem teşkil etmektedir.

Kemik rezorpsiyonu ve bu proteinler arasındaki bağlantıların anlaşılması, kemik yıkımının arttığı, kemik kütlesinin azaldığı ve kırık riskinin arttığı çeşitli kemik hastalıklarının tedavilerinde ve yeni terapötik ajanların belirlenmesinde yeni bir dönemi başlatabilir (11, 12).

Birbirinden bağımsız iki araştırma grubu tarafından 1997'de, kemik yıkımını engelleyen ve osteoprotegerin (OPG) olarak isimlendirilen yeni bir protein bulunmuştur (13, 14).

OPG, başlangıçta 401 amino asit olarak sentezlenen bir polipeptittir. 21 amino asitlik propeptid kısmı ayrıldıktan sonra, 380 amino asitlik olgun protein oluşur. Hücre dışına 60 kDa'luk monomerik ve 120kDa'luk disülfid bağı içeren homodimerik, çözünür bir glikoprotein olarak salgılanır. OPG, tümör nekroz faktörü reseptörleri (TNFR) süperaillesinin bir üyesi olup, TNFR süperaillesinin diğer reseptörlerinden farklı olarak transmembran ve sitoplazmik kısımlar içermez. Kemik remodeling prosesinde anahtar rol oynar. OPG, osteoblastlar dışında kalp, arter, venler gibi kardiyovasküler sistem elemanlarından, böbrek, karaciğer, dalak, beyin, akciğer ve kemik iliği gibi pek çok doku ve hematopoetik-immün hücreler tarafından sentezlenir. Salgılanması pek çok sitokin, peptid, hormon ve ilaç tarafından düzenlenir. Osteoklast inhibe edici faktör (OCIF) olarak da bilinen OPG, osteoklastogenezin terminal basamaklarını inhibe ederek, kemiği aşırı rezorpsiyondan korur. Osteoklast diferansiyasyonunu bloke eder, vasküler kalsifikasyonu engeller ve apoptozisi düzenler (17, 18).

Kemik iliği hücrelerinin sentezlediği OPG'nin yaşla azaldığı görülmüştür. Kemik yüzeyine uygulanan gerilme kuvveti ise OPG mRNA sentezini artırır. Bunlar, senil osteoporoz ve immobilizasyona bağlı kemik kaybı durumunda, OPG'nin önemli bir mediyatör olduğunu göstermektedir. Renal osteodistrofi, romatoid artrit, primer bilier siroz, Cushing, HIV hastaları ve kemik metastazı olan prostat kanserlerinde OPG seviyelerinde artma; litik kemik lezyonu olan multipl miyelom hastalarında ise OPG seviyelerinde azalma tespit edilmiştir (18, 19).

2.6. RANKL

Kemik kütlesi osteoblast ve osteoklastların birlikte çalışması ile belirlenir. Normal ve patolojik durumlarda kemik rezorpsiyonunun anahtar mediyatörü olan RANKL, TNF ligand ailesinin bir üyesidir. 40-45 kDa'luk membrana bağlı hücresel ve 32 kDa'luk biyolojik olarak aktif ve çözünür iki formdan oluşmuş, 317 amino asitlik bir peptittir. Lenf nodları, timus ve akciğerde daha fazla olmak üzere dalak ve kemik iliği gibi dokularda ve osteoblastlarda sentezlenir. RANKL sentezi transkripsiyonel, translasyonel ve posttraslasyonel seviyelerde 1,25-dihidroksivitamin D3 gibi hormonlar; TGF- β 1, fibroblast büyüme faktörü-2 ve PTH ilişkili protein gibi büyüme faktörleri ve peptidler; IL-1 β , IL-6, IL-11 ve TNF α gibi sitokinler ve glukokortikoidler gibi pek çok faktör tarafından düzenlenir. RANKL sentezlenmesi, osteoblast / stromal hücrelerde

matür osteoklast oluşumu ve aktivasyonunu uyaran pek çok faktör ile indüklenmektedir (15, 20, 21).

RANKL, immatür ve olgun osteoklastlar, aktive T ve dentritik hücrelerin yüzeyinde bulunan sinyal reseptörü RANK'a bağlanarak bu hücreleri uyarmaktadır. RANK'ın RANKL tarafından indüklenmesi, c-Jun, NF- κ B ve serin / treonin kinaz, Akt / protein kinaz B yollarını içeren hücre içi sinyal kaskadının aktivasyonunu sağladığı düşünülmektedir. Bu yolların uyarılması, öncül osteoklastların diferansiyasyonunu, aktive olmalarını ve canlılıklarını sürdürmelerini sağlar. RANKL'ın kemikteki esas görevi, osteoklast oluşumunu ve apoptozun inhibisyonunu sağlayarak; kemik kaybı ve rezorpsiyonunu arttırmaktır. RANKL için bir tuzak reseptörü olan OPG, RANKL'a bağlanarak osteoklastların diferansiyonu ve proliferasyonunda sinyal yolunun inhibitörü gibi davranır; RANKL / RANK etkileşimini yarışmalı olarak engeller; böylelikle RANKL'ın osteoklastojenik etkisini nötralize eder (80).

Pek çok çalışmada OPG ve RANKL'ın immün sistemle ilişkisi gösterilmiştir. RANKL'ın RANK'a bağlanması dendritik hücrelerin canlılığını, immün sistemi uyarma kapasitesini ve apoptozun inhibisyonunu artırır (22-24). T hücrelerinin hücre içi sinyal yollarından c-jun N-terminal aktivasyonunu sağlar ve uyarılmış T hücrelerinin fonksiyonunu kontrol eder. İmmün sistemde uyarılmış T hücrelerinden salgılanan RANKL ise, lenfosit farklılaşması ve lenf nodu organogenezi için gereklidir. Ayrıca RANKL, TNF gibi olgunlaşmamış öncüllerin dolaşıma salgılanmasını da uyarır (25,26).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta Grubu

Çalışma 01.05.2013-15.10.2013 tarihleri arasında, İstanbul Üniversitesi, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Endokrinoloji ve Metabolizma Bilim Dalı ve Geriatri Bilim Dalı'na başvuran hastalarda gerçekleştirildi. Bu çalışmaya, çalışmaya katılmayı kabul eden 49 Hashimoto tiroiditi hasta ile yaş ve cinsiyet uyumlu 34 Hashimoto tiroiditi olmayan, toplam 83 hasta dâhil edildi. Hastalara ait demografik ve tıbbi veriler, dosya taraması ile elde edildi.

A- Çalışmaya alınma kriterleri:

- 60 yaş üstü postmenopozal (En az 5 yıldır) kadınlar,
- Hashimoto tiroiditi tanısı konulup en az bir kez kontrole gelenler,
- Araştırmayı kabul ettiğine dair yazılı onayı bulunanlar.

B- Çalışmaya alınmama kriterleri:

- 60 yaş altı kadın ve erkekler,
- Renal veya karaciğer yetersizliği,
- Primer hiperparatiroidi,
- Kronik inflamatuvar hastalığı veya malabsorpsiyonu olanlar,
- Osteoporoz veya osteopeni tedavisi alanlar,
- D vitamini metabolizmasını etkileyen ilaç (Barbitürat, fenitoin, izoniazid, rifampisin, ketakonazol vd.) kullananlar,
- Malignite hastaları.

Hashimoto tiroiditi tanısı; anti TPO (Tiroit peroksidaz), anti Tg (Tiroglobulin) düzeyi, tiroit ultrasonografisi veya tiroit biyopsi sonucuna göre konuldu (1).

Serum 25(OH) Vitamin D düzeylerine göre vitamin D durumu:

>30 ng/ml yeterli

20-30 ng/ml vitamin D yetersizliği

<20 ng/ml vitamin D eksikliği

<10 ng/ml ciddi eksiklik olarak kabul edildi (43, 77).

Çalışma için İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı (Etik Kurul No: A-38). İstanbul Üniversitesi BAP Biriminden bütçe alındı (BAP proje No: 27311).

Çalışmaya alınan hastalarının demografik ve tıbbi verileri, dosya taramaları ile kayıt edildi. Hastaların ayrıntılı fizik muayeneleri yapıldı.

Hastaların çalışmaya dâhil edilmesinden önce, çalışmayla ilgili bilgilendirilmesi yapılarak; yazılı onayları alındı.

Hashimoto Tiroiditi tanılı hasta grubu kendi içerisinde otoankikor pozitifliği (Anti- TPO ve/veya Anti- Tg antikorlar pozitifliği) ve negatifliğine göre iki gruba ayrılarak tekrar incelendi. Anti- TPO için eşik değer 35 IU/ml, Anti- Tg için 40 IU/ml kabul edildi.

3.2. BİYOKİMYASAL ÖLÇÜMLER

Araştırmaya katılan tüm hastalara randevu verildi. 12 saat açlık sonrası sabah randevuya gelmeleri söylendi. Antekübital venden OPG, RANKL ve 25-hidroksi D vitamini ölçümleri için on mililitrelik venöz kan örneği, kuru tüplere alındı. 25-hidroksi D vitamini ölçümü için tüpler güneşten korunarak muhafaza edildi. Kan örnekleri santrifüj edildikten sonra ayrılan serum ve plazma numuneleri -20 C° de saklandı. 25-hidroksi D vitamini kemilüminesans yöntemi; OPG ve RANKL ise ELİSA yöntemi ile çalışıldı. Glukoz, TSH, Serbest T4, kalsiyum, fosfor, PTH, albümin, üre, kreatinin, Anti- TPO, Anti-TG, ALT, AST, ALP, LDL, HDL, Trigliserid değerleri, hastaların dosyalarından kaydedildi.

3.3. İSTATİKSEL YÖNTEM

Elde edilen sonuçların istatistiki analizi SPSS 20.0 programı ile yapılmıştır. Tüm istatiksel karşılaştırmalar eşleştirilmiş Student- t Testi veya eşleştirilmemiş t- testi kullanılarak yapıldı. Eşleştirilmemiş t- testi de non-parametrik Wilcoxon Testi ile doğrulandı. İstatiksel olarak 0,05' in altındaki p değeri anlamlı kabul edildi. Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma değerleri ile ifade edildi. Grupların karşılaştırmasında Pearson ve Spearman korelasyon analizleri kullanıldı.

4. BULGULAR

Çalışmaya 49'u Hashimoto Tiroiditi tanısı olan ve 34'ü kontrol grubu olmak üzere toplamda 83 kişi dahil edildi. Çalışmaya alınan hastaların demografik ve biyokimyasal verileri Tablo-2 de verildi.

Tüm hastaların yaş ortalaması $67\pm7,2$ idi. Hashimoto Tiroiditlilerde yaş ortalaması $64,8\pm5,2$, kontrol grubunda $71,6\pm8$ saptandı ($p<0,001$). Her iki grupta da normal aralıkta olan kalsiyum, fosfor, ALP değerleri arasında istatistiki anlamlılık saptanmadı.

PTH düzeyleri, Hashimoto Tiroiditi grubunda $54,6\pm21,7$, kontrol grubunda $66,7\pm23,3$ idi. Kontrol grubunda PTH düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulundu ($p=0,018$).

TSH düzeyleri, Hashimoto Tiroiditi grubunda $2,43\pm2,24$, kontrol grubunda $1,5\pm0,8$ idi ($p=0,018$). Hashimoto tiroiditli grupta Anti-TPO ortalaması 199 ± 272 , Anti-Tg ortalaması 240 ± 581 idi.

Tablo 2. Grupların demografik ve biyokimyasal verileri

Parametreler	Hashimoto Tiroiditi (n=49)	Kontrol (n=34)	P*
Ortalama Yaş (yıl)	$64,8\pm5,2$	$71,6\pm8$	$<0,001$
Kalsiyum (mg/dl)	$9,5\pm0,35$	$9,4\pm0,31$	0,492
Fosfor (mg/dl)	$3,6\pm0,44$	$3,6\pm0,48$	0,975
ALP (U/L)	$72,6\pm18,9$	$83,4\pm38,6$	0,084
PTH (pg/ml)	$54,6\pm21,7$	$66,7\pm23,3$	0,018
Albumin (gr/dl)	$4,2\pm0,28$	$4,0\pm0,26$	$<0,001$
Serbest T4 (ng/dl)	$1,3\pm0,25$	$1,1\pm0,15$	0,003
TSH (mIU/L)	$2,43\pm2,24$	$1,5\pm0,8$	0,018
Anti TPO (IU/ml)	199 ± 272	-	
Anti TG (IU/ml)	240 ± 581	-	

*Student- t testi.

25-OH D vitamini düzeyleri Hashimoto Tiroiditi olanlarda $19,5 \pm 15$ ng/ml, kontrol grubunda $23,8 \pm 19$ ng/ml olarak bulundu. Hashimoto Tiroiditi olanlarda OPG düzeyi $3,8 \pm 3,4$ ng/ml ve RANKL düzeyi ise 378 ± 391 pg/ml bulundu. Kontrol grubunda OPG düzeyi $3,7 \pm 3,5$ ng/ml ve RANKL düzeyi 483 ± 411 pg/ml saptandı. Grupların 25-OH D vitamini, OPG ve RANKL düzeyleri arasında anlamlılık bulunmadı. (Tablo 3)

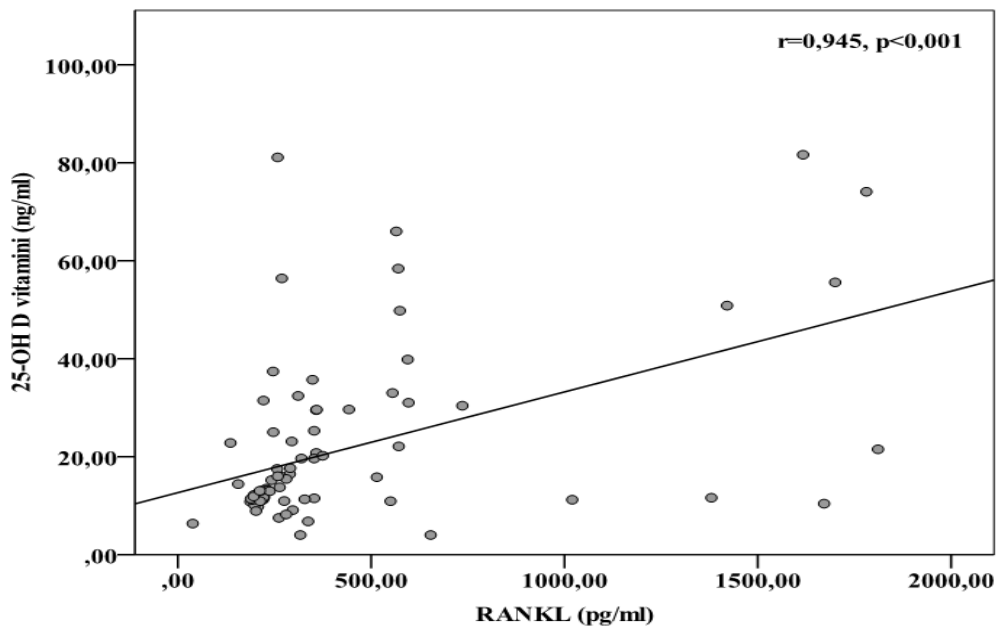
Tablo 3. Grupların 25-OH D vitamini, OPG, RANKL değerleri

	Hashimoto Tiroiditi (n=49)	Kontrol (n=34)	P*
25-OH D vitamini (ng/ml)	$19,5 \pm 15$	$23,8 \pm 19$	0,270
OPG (ng/ml)	$3,8 \pm 3,4$	$3,7 \pm 3,5$	0,888
RANKL (pg/ml)	378 ± 391	483 ± 411	0,245

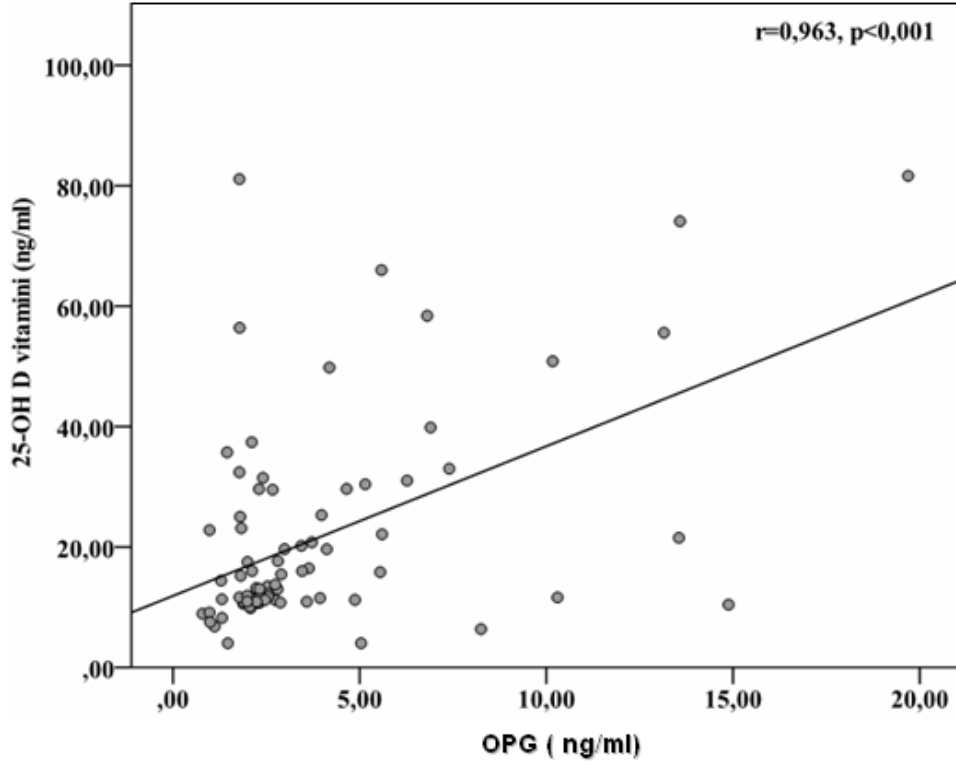
* Student- t testi.

Hashimoto grubunun korelasyon bulguları

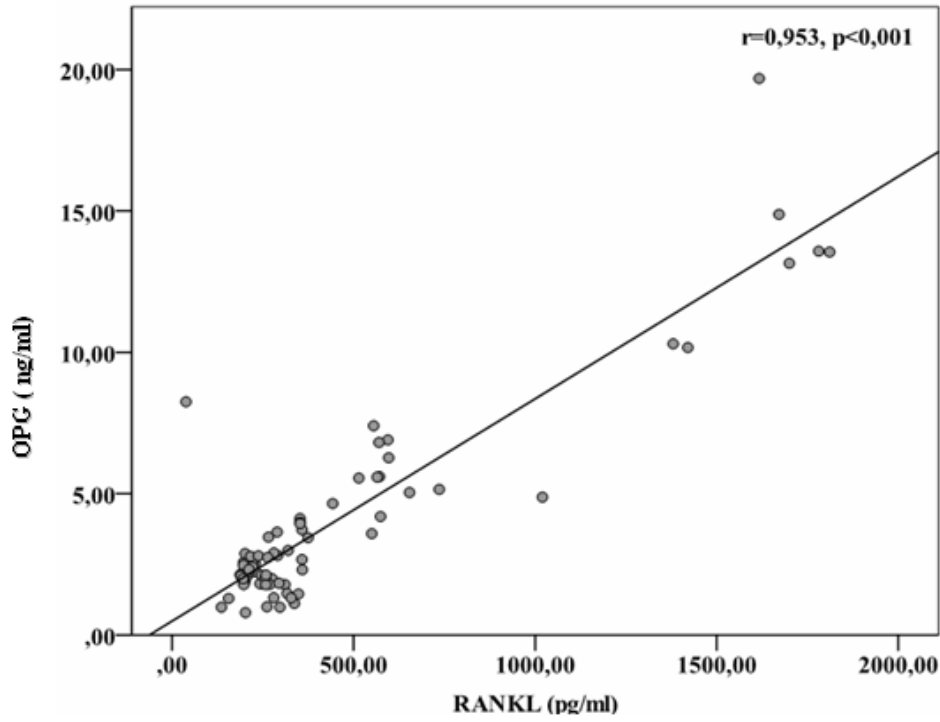
Hashimoto tiroiditli grupta, D vitamini ile OPG ve RANKL arasında aynı yönde güçlü ilişki bulundu (sırasıyla $r = 0,963$, $p < 0,001$, $r = 0,945$, $p < 0,001$). (Şekil 1,2) Ayrıca OPG ile RANKL arasında aynı yönde anlamlı bir ilişki saptandı ($r = 0,953$, $p < 0,001$). (Şekil 3)



Şekil 1. 25-OH D vitamini ile RANKL ilişkisi



Şekil 2. 25-OH D vitamini ile OPG ilişkisi



Şekil 3. OPG ile RANKL ilişkisi

Hashimoto tiroiditi hastalarının 42'sinde otoantikor pozitifliği (Anti TPO ve/veya Anti Tg pozitifliği) bulunurken 7'sinde otoantikorlar negatif saptandı. Hashimoto tiroiditi hastaları otoantikor varlığına göre iki grupta incelendiğinde, antikor pozitifliği olan grupta, 25-OH D vitamini, OPG ve RANKL düzeyleri diğer gruba göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p=0,04$, $p=0,049$, $p=0,036$) (Tablo 4).

Tablo 4. Hashimoto tiroiditi grubunun otoantikor durumuna göre karşılaştırılması

	Antikor pozitif (n=42)	Antikor negatif (n=7)	P*
25-OH D vitamini (ng/ml)	17,8±13	30±26	0,04
OPG (ng/ml)	3,4±2,5	6,5±6,4	0,049
RANKL (pg/ml)	336±335	631±611	0,036

* Eşleştirilmemiş t- testi, Wilcoxon doğrulama testi.

Hashimoto tiroidi tanılı 49 hastadan 17 tanesinde Anti- TPO negatif saptanırken 32 tanesinde Anti-TPO pozitif saptandı. Korelasyon analizinde, Anti-TPO yüksekliği ile 25-OH D vitamini arasında negatif yönde bir ilişki mevcuttu ($r= -0,359$, $p=0,11$).

5. TARTIŞMA

Pek çok otoimmün hastalıkta olduğu gibi, genetik (internal) ve çevresel (eksternal) faktörlerin etkileşimi, Hashimoto tiroditinin ortaya çıkmasına zemin hazırlamaktadır. Ancak hastalığın oluşmasında, genetik komponentin daha ağır bastığı düşünülmektedir (33).

Hayvan modellerinde D vitamininin, otoimmün tiroidit gelişmesini etkili bir şekilde önlediği gösterilmiştir (72). Bunu, endokrin hücrelerde HLA sınıf II ekspresyonunu inhibe ederek sağladığı ileri sürülmüştür (73). Mononükleer hücrelerde D vitamini reseptörlerinin keşfi ile immunregülasyon mekanizmasında D vitaminin rolü olabileceği saptanmıştır (67).

Tayvan’da Lin ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada 109 Hashimoto tiroiditli hasta ile 90 sağlıklı kontrol değerlendirilmiş; exon 2’de lokalize VDR- Fok 1 polimorfizminin, Hashimoto tiroiditi gelişme riskini arttırdığı saptanmıştır (4). Yine Yoshiyuki ve arkadaşları, 130 Hashimoto tiroiditli kadın hastada yaptıkları bir çalışmada, VDR Fok I polimorfizminin Hashimoto tiroiditi ile ilişkili olduğunu bulmuşlardır (76).

Almanya’da, Pani MA ve arkadaşlarının çalışmasında ise, intron 6’da lokalize vitamin D 1 α -hidroksilaz geni C/T polimorfizminin, Hashimoto tiroiditi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (74).

Stefanic M ve arkadaşlarının Hırvatlar’da yaptıkları bir çalışmada ise, 145 Hashimoto tiroiditli hasta grubu ile 145 yaş-cinsiyet-etnik köken uyumlu ötiroid kontrolü incelenmiş; VDR gen 3’ bölgesini içeren haplotip varyantları ve allel dengesizliğinin, tiroidit patogeneğinde rolü olabileceği gösterilmiştir (75).

Bu literatür bulguları doğrultusunda, Hashimoto tiroiditinde D vitamininin rolünü gösterebilmek amacıyla 25-OH D vitamini düzeyini araştırdık. Hashimoto tiroiditi olan ve olmayan her iki grubun da D vitamini ortalamaları (Sırasıyla 19,5 $\pm$ 15 ng/ml ve 23,8 $\pm$ 19 ng/ml; p= 0,27) düşük saptanmakla birlikte; istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Katılımcıların çok büyük bir kısmında D vitamini eksikliğinin olması, Türkiye’de hala D vitamini eksikliğinin ciddi bir halk sağlığı problemi olduğunu düşündürmektedir.

D vitamini düzeyini etkileyen çeşitli kişisel ve çevresel faktör mevcuttur. Bunlardan en önemlisi mevsimdir. Türkiye’nin bulunduğu enlemde vitamin D sentezi mayıs-kasım ayları arasında gerçekleşmektedir. Cilde direkt güneş ışığı teması sentez için gereklidir. 10:00- 15:00 saatleri arasında uygun güneş ışını açısı mevcuttur (60). Biz de bu doğrultuda hastalarımızın serum örneklerini mayıs– kasım aylarında aldık.

Giyim tarzı D vitamini düzeyini etkileyen kişisel faktörlerdendir. Giysiler, UV ışınları ile cilt arasında önemli bir bariyer oluştururlar. Güneşin bol olduğu Arap ülkelerinde yapılan yayınlarda, geleneksel giysilerin güneşten yararlanmayı etkileyerek D vitamini düzeyini azalttığı saptanmıştır (79). Çalışma grubumuzdaki katılımcıların büyük bir kısmı kapalıydı.

Bu da D vitaminin düşük bulunmasının diğer bir nedeni olabilir.

2013 Mayıs’ında başladığımız çalışmamız tamamlanmadan yayınlanan, benzer nitelikteki Bozkurt ve arkadaşlarının çalışmasında, 360 Hashimoto tiroditli hasta ve 180 sağlıklı gönüllüde 25-OH D vitamini düzeyi düşük bulunmuştur. Hashimoto tiroditli hastalarda kontrol grubuna göre daha düşük düzeyler olması dikkati çekmiş; 25-OH D vitamini eksikliğinin, hastalık süresi, tiroid volumü ve antikor düzeyi ile ilişkisini vurgulamışlardır (81). Bizim çalışmamızda bu ilişkinin gösterilememesini, çalışmamızın küçük bir katılımcı kitlesinde yapılmasına, 60 yaş üstü sınırlamasının olmasına ve Hashimoto olma sürelerinden bağımsız ilişkiyi belirlemek istememize bağladık.

VDR, osteoblastlardaki bazı genlerin ekspresyonunu da düzenlemektedir. Hedef genler; $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ve kalsitriol tarafından transkripsiyonel olarak baskılanan tip 1 kollajenin regüle ettiği, kemik matriks proteinleri, osteokalsin ve osteopontindir (50). D vitamini, kalsiyumu normal değer aralığında tutmak için barsak, kemik ve böbrekler üzerine etki eder. Kemik rezorpsiyonunu arttırıcı etkisi PTH ile sinerjistiktir. Osteoblastlar ve stromal fibroblastlar üzerindeki spesifik reseptöre PTH ve $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ vitamini ile bağlanmaktadır.

Osteoblast hücresinin yüzeyinde yer alan RANK (Receptor activator nucleus factor –Kb) ligandının üretimini uyarır. RANK ligandı immatür osteoklastların üzerinde bulunan RANK reseptörüne bağlanarak immatür osteoklast prekürsörlerinin matür osteoklastlara değişimini uyarmaktadır (48). Osteoklast inhibe edici faktör (OCIF) olarak da bilinen OPG, osteoklastogenezin terminal basamaklarını inhibe ederek, kemiği aşırı rezorpsiyondan korur. Osteoklast diferansiyasyonunu bloke eder, vasküler kalsifikasyonu engeller ve apoptozisi düzenler (17, 79).

RANKL'ın kemikteki esas görevi, osteoklast oluşumunu ve apoptozun inhibisyonunu sağlayarak; kemik kaybı ve rezorpsiyonunu arttırmaktır. RANKL için bir tuzak reseptörü olan OPG, RANKL'a bağlanarak osteoklastların diferansiyonu ve proliferasyonunda sinyal yolunun inhibitörü gibi davranır; RANKL / RANK etkileşimini yarışmalı olarak engeller; böylelikle RANKL'ın osteoklastojenik etkisini nötralize eder (80).

Kemik kütlesinin esas belirleyicinin OPG/ RANKL oranı olduğu düşünülmektedir. Osteoblastlar sentezledikleri RANKL miktarını değiştirebilirler ve RANKL sentezini indükleyen pek çok faktör osteoblastlarda OPG sentezini de düzenler. Genellikle RANKL seviyesindeki artma OPG seviyesindeki azalma ile birliktelik gösterdiği bilinmektedir (12-18, 79).

D vitaminin RANKL ve dolayısıyla OPG ile olan yakın ilişkisinden yola çıkarak otoimmün bir hastalık olan Hashimoto tiroiditinde D vitamini düzeyi ile OPG ve RANKL ilişkisini araştırdık.

Hashimoto Tiroiditi olanlarda OPG düzeyi $3,8 \pm 3,4$ ng/ml ve RANKL düzeyi ise 378 ± 391 pg/ml bulundu. Kontrol grubunda OPG düzeyi $3,7 \pm 3,5$ ng/ml ve RANKL düzeyi 483 ± 411 pg/ml saptandı. Grupların 25-OH D vitamini, OPG ve RANKL düzeyleri arasında istatistiki anlamlılık bulunmadı.

OPG ve RANKL sonuçlarının klinik değerlendirilmesinin metodolojik zorluklar ve birçok komorbiditeden etkilenmesi nedeniyle oldukça komplike olduğu; birçok benzer makalede vurgulanmıştır. Belirli ve uygulanabilir sabit bir ölçüm tekniği olmadığı için birbiriyle çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. OPG' nin monomerik /dimerik formları olması sebebiyle OPG konsantrasyonlarının karşılaştırılması imkansız gibi görülmektedir. Serbest OPG ölçümü ile, total formunun büyük bir kısmını oluşturan,

RANKL yada diğer ligandlara bağlı formları ölçülemeyeceği için yanlış sonuçlar elde edilebilir (86,87, 88).

Aynı durum RANKL için de geçerlidir. RANKL 'ın bağlı formu, serbest formundan daha fazladır. Ticari kitlerin çoğu serbest RANKL düzeyini ölçmektedir. Doku üretimini yansıtan total RANKL düzeyinin ölçümü daha akılcı görünmektedir. Çalışmamızda daha doğru düzeyleri yansıtması amacıyla, total RANKL ve bağlı monomerik OPG ölçümünü kullandık. Bu nedenle diğer çalışmalarla çelişen sonuçların metodolojik farklılıklara bağlı olabileceğini düşündük.

OPG/RANKL oranını azaltan glukokortikoidler, fibroblast büyüme faktörü-2, PTH, OPG sentezini inhibe edip ve RANKL sentezini artırır. IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-11, IL-17 ve TNF α gibi bazı sitokinlerin RANKL sentezini artırdığı, prostaglandin E2, pek çok mezenkimal transkripsiyon faktörü ve 1,25-dihidroksi vitamin D3 gibi pek çok faktörün kemik rezorpsiyonuna sebep olduğu saptanmıştır. OPG/RANKL oranını artıran östrojenin bu etkiyi osteoblastik hücrelerde OPG sentezini artırıp; RANKL sentezini inhibe ederek yapar. TGF- β , OPG sentezini artırarak antirezorptif etki gösterir (18-26).

Çin'de yapılan bir çalışmada Romatoid Artrit 1,25- Dihidroksi vitamin D3' ün, inflamasyonun indüklediği osteoklastojenezi azaltabileceği saptanmış; bunu, RANKL indüksiyonuna rağmen, OPG'yi daha fazla artırarak, OPG/RANKL oranını yükseltmesiyle yapabileceği belirtilmiştir (82).

MS hastalarındaki osteoporoza artmış RANKL seviyelerinin yol açabileceği ve RANKL seviyelerindeki yükselmenin ise bu hastalıktaki immün sistemin aktivasyonuna bağlı olabileceği sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada saptanan OPG seviyesindeki yükselmenin ise RANKL seviyelerindeki yükselmeye kompanse olarak gelişebileceği düşünülmüştür (84).

OPG/RANKL oranının çalışmalardaki önemi nedeniyle çalışmamızda, Hashimoto Tiroiditli grup ve kontrol grubunun OPG/ RANKL oranları değerlendirilmiş; ancak istatistiki anlamlı farklılık bulunmamıştır. Bu durumun, her iki gruptaki D vitamini düşüklüğüne bağlı olabileceği düşünüldü.

Pek çok çalışmada OPG ve RANKL'ın immün sistemle ilişkisi gösterilmiştir. RANKL'ın RANK'a bağlanması dendritik hücrelerin canlılığını, immün sistemi uyarma

kapasitesini ve apoptozun inhibisyonunu artırır (22-24). T hücrelerinin hücre içi sinyal yollarından c-jun N-terminal aktivasyonunu sağlar ve uyarılmış T hücrelerinin fonksiyonunu kontrol eder. İmmün sistemde uyarılmış T hücrelerinden salgılanan RANKL ise, lenfosit farklılaşması ve lenf nodu organogenezi için gereklidir. Ayrıca RANKL, TNF gibi olgunlaşmamış öncüllerin dolaşıma salgılanmasını da uyarır (25, 26).

Kemik yüzeyine uygulanan gerilme kuvveti ise OPG-mRNA sentezini artırmasına rağmen; kemik iliği hücrelerinin sentezlediği OPG'nin yaşla azaldığı görülmüştür. Senil osteoporoz ve immobilizasyona bağlı kemik kaybı durumunda, OPG'nin önemli bir mediyatör olduğu düşünülmektedir. Renal osteodistrofi, romatoid artrit, primer bilier siroz, Cushing, HIV hastaları ve kemik metastazı olan prostat kanserlerinde OPG seviyelerinde artma; litik kemik lezyonu olan multipl miyelom hastalarında ise OPG seviyelerinde azalma tespit edilmiştir (18, 19). Bu nedenlerle çalışmaya alınan hasta sayılarımız kısıtlı kalmıştır.

Çalışmamızda Hashimoto tiroiditi hastalarının 42'sinde otoantikor pozitifliği (Anti TPO ve/veya Anti Tg) bulunurken; 7'sinde otoantikorlar negatif saptandı. Hashimoto tiroiditi hastaları otoantikor varlığına göre iki grupta incelendiğinde, antikor pozitifliği olan grupta, 25-OH D vitamini, OPG ve RANKL düzeyleri diğer gruba göre anlamlı olarak düşük bulundu (Sırasıyla $p=0,04$, $p=0,049$, $p=0,036$). Hashimoto tiroiditi tanılı 49 hastadan 17 tanesinde Anti- TPO negatif saptanırken; 32 tanesinde Anti-TPO pozitif saptandı. Korelasyon analizinde, Anti-TPO yüksekliği ile D vitamini arasında zıt yönlü zayıf bir ilişki mevcuttu ($r= -0,359$, $p=0,11$). Ancak antikor düzeyi ile 25-OH D vitamini, OPG ve RANKL arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Antikor negatif grubunun sadece 7 hastadan oluşmasının, istatistiki açıdan anlamlı ilişki gösterilememesini açıklayabileceği düşünüldü. Bu bulgular artmış otoimmünitenin D vitamini, OPG ve RANKL düzeyleri üzerinde etkili olabileceğini destekler niteliktedir.

VDR'nin, osteoblastlardaki birçok genin ekspresyonunu düzenlediği bilinmektedir. Osteokalsin ve osteopontin bu hedef genler arasında yer almaktadır. 1,25 (OH)₂ D vitamini ve PTH, osteoklast farklılaşmasını ve osteoklast aktivitesini arttıran RANKL ekspresyonunu indüklemektedir. Buna karşın, 1,25 (OH)₂ D' nin aynı zamanda OPG sentezini kompensatuar olarak arttırarak aynı zamanda osteoklastojenezisi inhibe ettiği düşünülmektedir. Çalışmamızdaki sonuçlar da bunu

destekler niteliktedir. Örneklem grubunun sayısı arttırılarak daha anlamlı sonuçlar elde edilebilir.

Yaşla birlikte PTH düzeylerinin arttığı bilinmektedir. PTH düzeyi her iki grupta da normal aralıktaydı. Hashimoto tiroiditli grupta $54,6 \pm 21,7$ iken; kontrol grubunda $66,7 \pm 23,3$ olup anlamlı olarak daha yüksek saptanmıştır($p < 0,05$). Bu durum kontrol grubunun yaş ortalamasının daha yüksek olması ile açıklanabilir. (85).

Hashimoto tiroiditli grup ile kontrol grubu arasında 25-OH D vitamini, OPG ve RANKL düzeyi açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Hashimoto tiroiditli otoantikor pozitifliği olan grupta D vitamini , OPG ve RANKL anlamlı olarak düşük saptanmıştır. Bu zıt yönlü ilişki, otoantikorların osteoklastojenez üzerine olan etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Jackson IMD, Hennessey JV, Thyroiditis. In: Becker KL, editors. Principles and practice of endocrinology and metabolism. 1998 3rd edition. Philadelphia U.S. Lippincott Williams& Wilkins. S: 456-458.
2. Tunbridge WM, Vanderpump MP. Population screening for autoimmune thyroid disease. Endocrinol Metab Clin North Am 2000 Jun;29(2): 239- 253.
3. İlicin G, Unal S, Biberoğlu K, Akalın S, Suleymanlar G, İç Hastalıkları cilt 2. 2. Baskı Ankara: Güneş Kitapevi S:2217- 2219.
4. Lin WY, Wan L, Tsai CH, Chen RH, Lee CC, Tsai FC. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with risk of Hashimoto's thyroiditis in Chinese patients in Taiwan. J Clin Lab Anal 2006; 20: 109-12.
5. Hollick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancer and cardiovascular disease. Am J Clin Nutr 2004; 80 (Suppl 6): 1678- 88.
6. Ward LM. Vitamin D deficiency in the 21st century: a persistent problem among Canadian infants and mothers. CMAJ 2005; 172: 769-70.
7. Holick MF. The Vitamin D epidemic and its health consequences. J Nutr 2005; 135: 2739-48
8. Holick MF. Vitamin D: important for prevention of osteoporosis, cardiovascular heart disease, type 1 diabetes, autoimmune diseases, and some cancers. South Med J 2005; 98: 1024-7.
9. Mathieu C, Van Etten E, Decallonne B, Guilietti A, Gyseman C, Bouillon R et al. Vitamin D and 1,25 dihydroxyvitamin D3 as modulators in immun system. J Steroid Biochem Mol Biol 2004; 89-90: 449- 52.
10. Mathieu C. Adorini L. The coming age of 1,25 dihydroxyvitamin D3 analogs as immunomodulatory agents. Trends Mol Med 2002; 8: 174- 9.

11. Kostenuik PJ, Shalhoub V. Osteoprotegerin: A Physiological and Pharmacological Inhibitor of Bone Resorption. *Curr Pharm Des.* 2001; 7: 613-35.
12. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL and Osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther.* 2007; 9: 1
13. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell.* 1997 Apr 18;89(2):309-19.
14. Tsuda E, Goto M, Mochizuki SI, Yano K, Kobayashi F, Morinaga T, Higashio K. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997; 234: 137–42.
15. Lacey DL, Timms E, Tan H-L, Kelly MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy F, Capparelli C, Eli A, Qian YX, Kaufman S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J, Boyle WJ. Osteoprotegerin (OPG) ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998; 93: 165–176.
16. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S, Tomoyasu A, Yano K, Goto M, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Udagawa N, Takahashi N, Suda T. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/ osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998; 95: 3597–602.
17. Kurban S, Mehmetoğlu İ. Osteoprotegerin, RANK ve Rank Ligandı. *Türk Biyokimya Dergisi* 2007; 32 (4) : 178–184
18. Hofbauer LC. Osteoprotegerin ligand and osteoprotegerin: novel implications for osteoclast biology and bone metabolism. *Eur J Endocrinol.* 1999; 141: 195–210.
19. Schoppet M, Preissner KT, Hofbauer LC. RANK ligand and osteoprotegerin: paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002; 22: 549-53
20. Blair JM, Zheng Y, Dunstan CR. RANK ligand. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007; 39: 1077-81

21. Wada T, Nakashima T, Hiroshi N, Penninger JM. RANKLRANK signaling in osteoclastogenesis and bone disease. *Trends Mol Med*. 2006; 12: 17-25.
22. Anderson MA, Maraskovsky E, Billingsley WL, Dougall WC, Tometsko ME, Roux ER, Teepe MC, DuBose RF, Cosman D, Galibert L. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature*. 1997; 390: 175–9.
23. Josien R, Li HL, Ingulli E, Sarma S, Wong BR, Vologodskaia M, Steinman RM, Choi Y. TRANCE, a TNF family member, enhances the longevity and adjuvant properties of dendritic cells in vivo. *J Exp Med*. 2000; 191: 495–502.
24. Schoppet M, Henser S, Ruppert V, Stübiger T, Al-Fakhri N, Maisch B, Hofbauer LC. Osteoprotegerin expression in dendritic cells increases with maturation and is NF-kappaB-dependent *J Cell Biochem*. 2007; 100: 1430-9.
25. Wong BR, Rho J, Arron J, Robinson E, Orlinick J, Chao M, Kalachikov S, Cayani E, Bartlett 3rd FS, Frankel WN, Lee SY, Cho Y. TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-jun Nterminal kinase in T cells. *J Biol Chem*. 1997; 272: 25190–4
26. Wong BR, Josien R, Choi Y. TRANCE is a TNF family member that regulates dendritic cell and osteoclast function. *J Leukoc Biol*. 1999; 65: 715–24.
27. Degroot LJ et al: Thyroid gland (Part 10, Vol 2), in *Endocrinology*, 5th ed, LJ Degroot, JL Jameson (eds). Philadelphia, Elsevier Saunders, 2006
28. Masters PA, Simons RJ. Clinical use of sensitive assays of thyroid stimulating hormone. *J Gen Intern Med* 1996; 11: 115-27
29. Fauci AS, Loscalzo J. Tiroid bezi hastalıkları. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, editors. Çeviri editörü : Biberoglu K. Harrison İç Hastalıkları Prensipleri (17. Edisyon). İstanbul : Nobel Tıp Kitapevleri ; 2013; 335; 2224-2228
30. Goldman L, Ausiello D. Tiroid. In: Goldman L, Ausiello D, Arend PW, Armitage JO, Clemmmons DR, Drazen JM, Griggs RC, LaRusso N, Foster E, Newman J,

editors. Çeviri editörü: Ünal S. Cecil Medicine (23. Baskı). Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri 2011; 224; 1698-1699

31. Falk SA. Thyroid disease. New York, Raven Pres 1990; 27-35
32. Roberts CGP, Ladenson PW: Hypothyroidism. Lancet. 2004; 363: 793
33. Chistiakov DA. Immunogenetics of Hashimoto 's htyroiditis. J Autoimmune Dis 2005; 2: 1
34. Weetman AP: Cellular immun responses in autoimmune thyroid disease . Clin Endocrinol 2004; 61: 405
35. Rasooly L, Burek CL, Rose NR. Iodine-induced autoimmune thtyoiditis in NOD-H-2h4 mice. Clin Immunol Immunopahtol 1996; 81: 287-92
36. Ebner SA, Lueprasitsakul W, Alex S. Iodine content of rat thyroglobuline affects its autogenicity in inducing lympholytic thyroiditis in the BB/Wor rat. Autoimmunity 1992; 13: 209-214
37. Toubert M, Chevret S, Cassinat B, Schallagater M, Beresi J, Rain J. From guidelines to hospital practice reducing inappropriate ordering of thyroid hormone and antibody tests. Eur J Endocrinol 2000; 142: 605
38. Caturegli P, Kimura H, Rocchi R, et al: Autoimmune thyroid diseases. Curr Opin Rheumatol 2007; 19: 44-48
39. Weetman PA, Section B: Causes of hypothyroidism, chronic autoimmune thyroiditis, In: Lewis E.B, Robert D.U,eds, Werner's & Ingbar's, The Thyroid, Philadelphia,
40. Baskin HJ, Cobin RH, Duick DS, Gharib H, Guttler RB, Kaplan MM, Segal RL; American Association of Clinical Endocrinologists. American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the evaluation and treatment of hyperthyroidism and hypothyroidism. Endocr Pract 2002; 8: 457
41. Pederson OM, Aordal NP, Larssen TB, Varhaug JE, Myking O, Vik-Mo H. The value of ultrosonography in predicting autoimmune thyroid disease. Thyroid 2000; 10: 251- 9

42. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Tiroid Hastalıkları Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu 2012
43. Adams JS, Hewison M Update in vitamin D . J Clin Endocrinol Metab 2010; 95:471-8.
44. Hochberg Z. Requirements for vitamin D in an indoors culture. Highlights 2004; 12: 19- 23.
45. Goldblatt H, Soames KN. A study of rats on a normal diet irradiated daily by the mercury vapor quartz lamp or kept in darkness. Biochem J 1923; 17: 294- 7.
46. Hess AF, Unger IJ, Pappenheimer AM. Experimental rickets in rats. The prevention of rickets in rats by exposure to sunlight. J Biol Chem 1922: 77- 81.
47. Windaus A, Linsert O, Luttringhaus A, Weidlinch G. Über das krystallisierte Vitamin D2, LJ Ann Chem 1932; 492: 226.
48. Fauci AS, Loscalzo J. Kemik ve Mineral Metabolizması Bozuklukları. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, editors. Çeviri editörü : Biberoğlu K. Harrison İç Hastalıkları Prensipleri (17. Edisyon). İstanbul : Nobel Tıp Kitapevleri. 2013; 346; 2373-2376
49. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. J Clin Nutr 2004; 80: 1689- 96.
50. Kobayashi T et al: Minireview: Transcriptional regulation in development of bone. Endocrinology 2005; 146: 1012
51. Kayaalp O, Rasyonel tedavi yönden tıbbi farmakoloji. Feryal matbaacılık 2002.
52. DeLuca HF, Cantorna MT. Vitamin D: its role and uses in immunology. FASEB J 2001; 15: 2579- 85.
53. Norval M. The Effect of ultraviolet radiation on human viral infections. Photochem Photobiol 2006; 82: 1495- 504.

54. Najada AS, Habashneh MS, Khader M. The frequency of nutritional rickets among hospitalized infants and its relation to respiratory diseases. *J Trop Pediatr* 2004; 50: 364- 8.
55. Wejse C, Olesen R, Rabna P. Serum 25-hydroxyvitamin D in a West African population of tuberculosis patients and unmatched healthy controls. *Am J Clin Nutr* 2007; 86: 1376- 83.
56. Teitelbaum SL, Ross SP. Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nat Rev Genet* 2003; 4(8): 638-49
57. Holick MF. Vitamin D and Sunlight: Strategies for cancer prevention and other health benefits. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008 Jun 11.
58. Sooy K, Schermerhorn T, Noda M. Calbindin-D(28k) control (Ca²⁺)_v and insulin release. Evidence obtained from calbindin- D(28k) knockout mice beta cell lines. *J Biol Chem* 1999; 274: 34343- 9.
59. Norman AW, Frankel JB, Heldt AM, Grodsky GM. Vitamin D deficiency inhibits pancreatic secretion of insulin. *Science* 1980; 209: 823- 5.
60. Anastassios G, Pittas, Bess Dawson-Hughes, Tricia Li. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* 2006; 29: 650- 6.
61. Ogunkolade BW, Boucher BJ, Prah J. Vitamin D receptor(VDR) mRNA and VDR protein levels in relation to vitamin D status, insulin secretion capacity and VDR Genotype in Bangladeshia Asians. *Diabetes* 2002; 51: 2294- 300.
62. Eyles D, Brown J, Mackay-Sim A, McGrath J, Feron F. Vitamin D3 and brain development. *Neuroscience* 2003; 118: 641- 53.
63. Weishaar RE, Simpson RV. Vitamin D3 and cardiovascular function in rats. *J Clin Invest* 1987; 79: 1706– 12.
64. Ortlepp JR, Krantz C, Kimmel M. Additive effects of the chemokine receptor 2, vitamin D receptor, interleukin- 6 polymorphisms and cardiovascular risk factors on the prevalence of myocardial infarction in patients below 65 years. *Int J Cardiol* 2005; 105: 90- 5.

65. Zittermann A. Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. *Prog Biophys Mol Biol*. 2006; 92: 39- 48.
66. Holick MF: Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*. 2007; 357(3): 266.
67. Bhalla AK, Amento EP, Clemens TL. Specific high-affinity receptors for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in human peripheral blood mononuclear cells: presence in monocytes and induction in T lymphocytes following activation. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57:1308-10.
68. Manolagas, SC, Wernitz DA, Tsoukas CD, Proveddini DM, Vaughan JH. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ receptors in lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis. *J Lab Clin Med* 1986; 108: 595- 600.
69. Coffman RL, Varkila K, Scott P. Role of cytokines in the differentiation of CD4⁺T cell subsets in vivo. *Immunol Rev* 1991; 123: 189- 207.
70. Cantorna MT, Humpal-Winter J, DeLuca HF. In vivo upregulation of interleukin- 4 is One mechanism underlying the immunoregulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *Arch Biochem Biophys* 2000; 377: 135- 8.
71. Tanaka H, Abe E, Miyaura C. 1- α , 25- dihydroxycholecalciferol and a human myeloid leukaemia cell line (HL- 60). *Biochem J* 1982; 204: 713- 9.
72. Fournier C, Gepner P, Sadouk M. In vivo beneficial effects of cyclosporine A and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on the induction of experimental autoimmune thyroiditis. *Clin Immunol Immunopathol* 1990; 54: 53- 63.
73. Hahn HJ, Kuttler B, Mathieu C. 1,25- Dihydroxyvitamin D₃ reduced MHC antigen expression on pancreatic beta-cell in vitro. *Transplant Proc* 1997; 26: 2156- 7.
74. Pani MA, Regulla K, Segni M. Vitamin D 1 α -hydroxylase (CYP 1 α) polymorphism in Grave's disease, Hashimoto's thyroiditis and type 1 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol* 2002; 146: 777- 81.
75. Stefanic M, Papic S, Suver M. Association of vitamin D gene 3'- variants with Hashimoto's thyroiditis in the Croatian population. *Int J Immunogenet* 2008; 35: 125- 31.

76. Youshiyuki Ban, Matsuo Taniyama, Yoshio Ban. Vitamin D receptor gene polymorphism in Hashimoto's thyroiditis. *Thyroid* 2002; 11(6): 607- 608.
77. An Endocrine Society Clinical Practice Guideline evaluation ,treatment and prevention of vitamin D deficiency *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, July 2011, 96(7): 1911-30.
78. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Metabolik ve Kemik Hastalıkları Tanı ve Tedavi Kılavuzu. Osteoporoz ve Diğer Metabolik Kemik Hastalıkları Çalışma Grubu , D Vitamini, Mart 2012; 5: 19-22
79. Reid P, Holen I. Pathophysiological Roles of Osteoprotegerin(OPG). *Eur J Cell Biol.* 2009;88(1):1–17. 13.
80. Tenta R, Panagiotakos DB, Fragopoulou E, Nomikos T, Pitsavos C, Chrysohoou C, Antonopoulou S, Stefanadis C. Osteoprotegerin and nuclear factor-kappaB ligand are associated with leptin and adiponectin levels, in apparently healthy women. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2010; 10(2):174-179.
81. Bozkurt NC, Karbek B, Ucan B, Sahin M, Cakal E, Ozbek M, et al. The Association Between Severity of Vitamin D Deficiency and Hashimoto's Thyroiditis. *Endocr Pract.* Jan 21 2013;1-14.
82. Dawodu A, Absood G, Patel M, Agarwal M, Ezimokhai M, Abdulrazzaq Y, et al Biosocial factors affecting vitamin D status of women of childbearing age in the United Arab Emirates. *J Bios Sci* 1998; 30: 431- 7.
83. Hofbauer LC, Neubauer A, Heufelder AE. Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin: potential implications for the pathogenesis and treatment of malignant bone diseases. *Cancer.* 2001; 92: 460-70.
84. Kurban S, Akpınar Z, Mehmetoglu I. (2007) Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin levels in multiple sclerosis *Multiple Sclerosis.*
85. Finch NC, Syme HM, Elliott J. Parathyroid hormone concentration in geriatric cats with various degrees of renal function. *J Am Vet Med Assos.* 2012 Nov 15; 241(10): 1326-35

86. Anastasilakis A, Goulis D, Polyzos S, Gerou S, Pavlidou V, Koukolis G, et al. Acute changes in serum osteoprotegerin and receptor activator for nuclear factor-kappaB ligand levels in women with established osteoporosis treated with teriparatide. *European Journal of Endocrinology* 2008; 158:411-5.
87. Chen D, Sarikaya NA, Gunn H, Martin SW, Young JD. ELISA methodology for detection of modified osteoprotegerin in clinical studies. *Clinical Chemistry* 2001; 47:747-9.
88. Doventas A, Bolayirli IM, Incir S, et al. Interrelationships between obesity and bone markers in postmenopausal women with either obesity or osteoporosis. *European Geriatric Medicine* EGM-D-14-00078R1 (yayın aşamasında). <http://dx.doi.org/10.1016/j.eurger.2014.06.033>