



**T.C.**  
**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**HASHİMOTO TİROİDİTİ OLAN HASTALARDA**  
**D VİTAMİNİ DÜZEYİ, IL-2, IL-4, IL-5, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$**   
**DÜZEYLERİ VE D VİTAMİNİ RESEPTÖR GEN**  
**POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**  
**DR. BEDİA GÜLERYÜZ**

**DANIŞMAN**  
**PROF. DR. H. FULYA AKIN**

**DENİZLİ - 2014**



**T.C.**  
**PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**TIP FAKÜLTESİ**  
**İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**HASHİMOTO TİROİDİTİ OLAN HASTALARDA**  
**D VİTAMİNİ DÜZEYİ, IL-2, IL-4, IL-5, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$**   
**DÜZEYLERİ VE D VİTAMİNİ RESEPTÖR GEN**  
**POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**  
**DR. BEDİA GÜLERYÜZ**

**DANIŞMAN**  
**PROF. DR. H. FULYA AKIN**

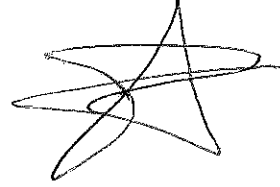
Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 29.05.2013 tarih ve 2012TPF6 nolu kararı ile desteklenmiştir.

**DENİZLİ - 2014**

## ONAY SAYFASI

Dr. H.FULYA AKIN danışmanlığında Dr.BEDİA GÜLERYÜZ tarafından yapılan “HASHİMOTO TİROİDİTİ OLAN HASTALARDA D VİTAMİNİ DÜZEYİ, IL-2, IL-4, IL-5, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  DÜZEYLERİ VE D VİTAMİNİ RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMİNİN ARAŞTIRILMASI ” başlıklı tez çalışması 02/09/2014 tarihinde yapılan tez savunma sınavı sonrası yapılan değerlendirme sonucu jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN Prof. Dr. H.Fulya AKIN



ÜYE Prof. Dr. Arzu YAREN



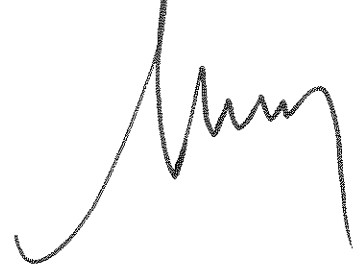
ÜYE Doç. Dr. Ben Kaleb Konepli



Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. 05/09/2014

Prof. Dr. Hasan Hoker

Pamukkale Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Dekanı



## TEŞEKKÜR

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakóltesi Hastanesi'ndeki uzmanlık eğitimim süresince, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, en başta değerli hocalarım Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakóltesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Ali Keskin'e, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. Fulya Akın'a, Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Sebahat Turgut'a ve bu sürede eğitimime katkıda bulunan diğer tüm hocalarıma,

Asistan arkadaşlarıma, sekreter arkadaşlarıma ve işimizi kolaylaştıran diğer bütün çalışma arkadaşlarıma,

Asistanlık eğitimim süresince yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen annem ve babamla tez yazma sürecimde çok emeği geçen ablama ve Metin abime,

Ve sabırla bana her türlü desteği sağlayan eşime

Teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI .....	II
TEŞEKKÜR .....	III
İÇİNDEKİLER .....	IV
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	VI
TABLolar DİZİNİ.....	VII
ÖZET .....	VIII
SUMMARY.....	IX
1. GİRİŞ ve AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. TİROİD BEZİ YAPISI ve FONKSİYONLARI.....	3
2.2. HASHIMOTO TİROİDİTİ.....	5
2.3. VİTAMİN D .....	8
2.4. VİTAMİN D RESEPTÖRÜ ve VDR GEN POLİMORFİZMİ .....	15
3. GEREÇ ve YÖNTEM .....	17
3.1. HASTALAR .....	17
3.2. LABORATUAR TESTLERİ.....	17
3.3. ELISA KİT PROTOKOLÜ .....	18
3.4. GENETİK ANALİZ .....	21
3.5. İSTATİSTİKSEL ÇALIŞMA .....	23
4. BULGULAR.....	25
5. TARTIŞMA.....	35
6. SONUÇLAR.....	40
KAYNAKLAR .....	41

## SİMGELER VE KISALTMALAR

ALP	: Alkalen fosfataz
Ca	: Kalsiyum
DBP	: D vitamini bağlayıcı protein
DIT	: Diiyodotirozin
EPO	: Eritropoietin
HOMA-IR	: Homeostasis model assessment
IL	: İnterlökin
İİAB	: İnce iğne aspirasyon biyopsisi
INF- $\gamma$	: İnterferon gama
MHC	: Majör histokompatibilite kompleksi
MIT	: Monoiyodotirozin
P	: Fosfor
PTH	: Paratiroid hormon
Tg	: Tiroglobulin
TGF- $\beta$	: Transforming growth factor beta
TNF- $\alpha$	: Tümör nekroze edici faktör alfa
TPO	: Tiroid peroksidaz
TRH	: Tirotropin salgılatıcı hormon
TSH	: Tiroid stimulan hormon
T3	: Triiodotironin
T4	: Tiroksin
VDR	: Vitamin D reseptörü
1,25(OH) <sub>2</sub> D	: 1,25 Dihidroksi D vitamini, Kalsitriol
25(OH)D	: 25 Hidroksi D vitamini, Kalsidiol

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1:Fok I Polimorfizminin PCR Analizi .....	22
Şekil 2: Taq I Polimorfizminin PCR Analizi .....	23

## TABLULAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 1.Çalışmaya alınan Hashimoto tiroiditi hastaları ile kontrol grubunun cinsiyet açısından karşılaştırılması .....	25
Tablo 2.–Hashimoto tiroiditli tüm hastalarla kontrol grubunun biyokimyasal, hormonal ve inflamatuvar parametrelerinin karşılaştırılması .....	28
Tablo 3.– Ötiroidi, subklinik hipotiroidi, aşikar hipotiroidi ve kontrol grubu arasında biyokimyasal, hormonal ve inflamatuvar parametrelerin karşılaştırılması.....	28
Tablo 4. Hashimoto tiroiditi olan hastaların biyokimyasal, hormonal parametreler ve inflamatuvar markerlarının korelasyon analizi .....	29
Tablo 5. Kontrol grubunda biyokimyasal, hormonal parametreler ve inflamatuvar markerların korelasyon analizi .....	31
Tablo 6: Gruplar arasında FOK I ve TAQ-I polimorfizmi genotip dağılımı .....	32
Tablo 7. Hashimoto tiroiditi olan grupta FokI gen polimorfizm dağılımının biyokimyasal, hormonal ve inflamatuvar parametrelere göre istatistiksel analizi..	33
Tablo 8. Hashimoto tiroiditi olan grupta Taq I gen polimorfizm dağılımının biyokimyasal, hormonal ve inflamatuvar parametrelere göre istatistiksel analizi ..	34



## ÖZET

**Hashimoto tiroiditi olan hastalarda D vitamini düzeyi, IL-2, IL-4, IL-5, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  düzeyleri ve d vitamini reseptör gen polimorfizminin araştırılması**

Dr. Bedia GÜLERYÜZ

Hashimoto tiroiditi sık görülen otoimmün bir hastalıktır. D vitamini önemli bir immünsistem regülatörüdür. D vitamininin birçok otoimmün hastalığın gelişimini önlediği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. VDR gen polimorfizminin Hashimoto tiroiditi riskini artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Biz bu çalışmada Hashimoto tiroiditi ile 25(OH)D düzeyi, IL-2, IL-4, IL-5, TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  düzeyleri ve VDR FokI ve Taq I gen polimorfizminin ilişkisini araştırdık

Araştırmamıza Pamukkale Üniversitesi Endokrinoloji kliniğine başvuran 50 ötiroidi, 50 subklinik hipotiroidi, 39 aşikar hipotiroidili Hashimoto tiroiditi hastasıyla 50 sağlıklı kontrol dâhil edildi. Biyokimyasal ve hormonal değerlendirmeler yapıldı. DNA izolasyonu için kan örneği alındı ve DNA izolasyonu ve PCR çalışıldı. Elisa kitleri ile inflamatuvar marker analizi yapıldı.

Hashimoto tiroiditi olan grupta ortalama 25 (OH)D düzeyi  $14,88 \pm 8,23$  ng/ml ve kontrol grubunda ortalama  $15,52 \pm 1,34$  ng/ml tespit edildi. Gruplar arasında D vitamini düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ( $p=0.977$ ). Hashimoto tiroiditinde IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  düzeyleri anlamlı olarak yüksek tespit edilirken IL-5 düzeyinde gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu. VDR Fok I genotip dağılımında Hashimoto tiroiditli grupla kontrol grubu arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark izlenmedi, Taq I genotip dağılımında anlamlı farklılık tespit edildi.

Hashimoto tiroiditi olan hastalarda sağlıklı kontrollere göre D vitamini düzeyleri açısından farklılık yoktur. Hashimoto tiroiditli hastalarda IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  düzeyleri sağlıklı popülasyona göre yüksektir. VDR Taq I gen polimorfizmiyle Hashimoto tiroiditi arasında ilişki mevcuttur. Bu konuda daha büyük hasta gruplarıyla yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Hashimoto tiroiditi, D vitamini, Taq I, Fok I, IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$

## SUMMARY

### Vitamin D Levels, IL-2, IL-4, IL-5, IFN- $\gamma$ and TNF- $\alpha$ Levels And Vitamin D Receptor Gene Polymorphism in Patients With Hashimoto's Thyroiditis

Dr. Bedia GÜLERYÜZ

Hashimoto's thyroiditis is a common autoimmune disease. Vitamin D is an important regulator of immune system. It has been shown in several studies that vitamin D prevents the development of lots of autoimmune diseases. There are some studies that prove VDR gene polymorphism increases the risk of Hashimoto's thyroiditis. In this study, we investigated the association between Hashimoto's thyroiditis and level of 25(OH)D, IL-2, IL-4, IL-5, TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  and VDR Fok I and Taq I gene polymorphism.

We investigate 50 euthyroid, 50 subclinical hipothyroid, 39 overt hypothyroid patients and 50 healthy control that were collected from Endocrinology Clinic of Pamukkale University.

We evaluated biochemical and hormonal parameters. Blood samples were collected for DNA isolation and PCR was studied. Inflammatory marker analysis was performed with Elisa kits.

Mean 25 (OH)D levels were  $14,88 \pm 8,23$  ng/ml in Hashimoto's thyroiditis and  $15,52 \pm 1,34$  ng/ml in healthy controls. There were no statically significant differences between the groups in terms of vitamin D levels ( $p=0,977$ ). Although IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  were significantly high in Hashimoto's thyroiditis patients, there were no significant differences between the groups at IL-5 levels. There were significant differences between the groups about the genotype of Taq I but no differences about Fok I genotype.

There are no differences in terms of vitamin D levels between Hashimoto's thyroiditis and healthy controls. IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  levels are higher in Hashimoto's thyroiditis patients compared with healthy population. There is relationship between VDR Taq I gene polymorphism and Hashimoto's thyroiditis. Further studies with larger patients groups are required about this subject.

Keywords: Hashimoto's Thyroiditis, vitamin D, Taq I, Fok I, IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Hashimoto tiroiditi tiroid bezinin lenfositlerce infiltrasyonu sonucu gelişen ve tiroid hormon bozukluğu ile sonuçlanan toplumda en sık rastlanan otoimmün tiroidittir (1).

Hashimoto tiroiditinde supressor T hücrelerindeki genetik defekt sonucunda hücrel immünitinin bozulması söz konusudur. Bu defekt sonucu supressor T lenfositleri, yardımcı T lenfositlerini suprese edemez. Aktive olmuş yardımcı T lenfositleri B lenfositlerini stimüle ederek IFN- $\gamma$  gibi birçok sitokin salgılatır. Bu sitokinler tirositlerden MHC-II yüzey antijenlerinin oluşmasını sağlar. Bu da aktive olmuş CD4+,CD8+ T lenfositlerin B lenfositlerin, plazma hücrelerinin ve makrofajların tiroid bezinde inflamatuvar yanıt başlatmalarına neden olur (2). Sonuçta lenfositlerce tiroid bezinin infiltrasyonu orada hasar oluşmakta, böylece tiroid hormon üretimi bozulmaktadır (1).

D vitamini vücutta sentezlenen ve hormon olarak pek çok yaşamsal olayda önemli görevleri olan bir vitamindir. Önemli bir immünsistem regülatörüdür. Aktif formu olan 1,25 (OH) $_2$  D3ün birçok otoimmün hastalığın gelişimini engellediği görülmüştür (3). Yapılan çalışmalar göstermiştir ki birçok otoimmün hastalık, inflamatuvar bağırsak hastalığı, multipl skleroz, birçok kanser ve kalp hastalıklarının oluşmasında D vitamini eksikliği önemli rol oynar (4,5).

Vitamin D reseptörleri T lenfosit ve makrofajlarda anlamlı konsantrasyonlarda izlenir.Th1 hücreleri IFN gama, IL-2 ve TNF alfa sekrete eder.Th2 hücreleri IL-4 ve IL-5 sekrete eder. İkisi de güçlü antikör aracılı immünitide önemlidir. Otoimmün hastalıklarda Th1 hücreleri kendi proteinlerine karşı yönelir ve patolojik sonuçlar doğar.

Yapılan çalışmalarda D vitamininin T helper 2 hücrelerini uyararak antiinflamatuvar sitokinleri (IL-4, IL-5, IL-10, TGF  $\beta$ ) artırdığı, Th1 ve Th17 hücrelerini inhibe ederek proinflamatuvar sitokinlerin (IL-2, IL-3, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) üretimini azalttığı gösterilmiştir (3,6,7,8,9). Yapılan çalışmalarda vitamin D reseptör gen polimorfizminin Hashimoto sıklığını artırdığı gösterilmiştir (10).

Bu çalışmada bu hastalarda D vitamini düzeyi, IL-2, IL-4, IL-5, IFN-γ, TNF-α düzeyleri ve D vitamini reseptör gen polimorfizmi araştırılmıştır. Vitamin D eksikliği, reseptör gen polimorfizmi, IL-2, IL-4, IL-5, IFN-γ, TNF-α düzeylerinin Hashimoto tiroiditi ile ilişkisi belirlenmesi amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. TİROİD BEZİ YAPISI ve FONKSİYONLARI

Tiroid bezi insan vücudundaki en büyük endokrin organdır. Başlıca fonksiyonu tiroid hormonlarının salgılanmasıdır.

Tiroid bezinin embriyolojik gelişimi 3.haftada başlar. Fetal tiroid dokusu gebeliğin yaklaşık 10.haftasında iyodu konsantre ve organifiye etme yeteneği kazanır ve tiroksin üretmeye başlar.

Tiroid bezi birbirine istmus ile bağlı olan iki lobdan oluşur, larinks ve trakeanın kıkırdak dokularının ön ve yan kısımlarına gevşek bir bağ dokusu ile bağlıdır. Tiroid bezinin ağırlığı yaklaşık 10-20 gramdır. Her bir lobun uzunluğu 2.5-4 cm, genişliği 1.5-2 cm ve kalınlığı 1-1.5 cm'dir (1).

Tiroid bezi fonksiyonlarının ilk basamakları hipotalamustan salgılanan tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) ile hipofizden pulsatil olarak salgılanan ve diüurnal varyasyon gösteren tiroid stimulan hormon (TSH) tarafından düzenlenir (11).

Tiroid hormonlarının sentezi ve sekresyonunda ilk aşama plazmada bulunan iyodun tiroid hücreleri tarafından aktif transportla alınmasıdır. Bu olay tiroid hücre membranında bulunan "Na/I symporter" adlı proteinle gerçekleştirilir.

İkinci aşamada iyot hücre içerisinde tiroid peroksidaz aracılığı ile okside olur. Belli bir seviyeye ulaşınca elementer iyot, tirozin aminoasidinin aromatik zincirine bağlanır. Organifikasyon denen bu olay sonucu tirozine bir iyodun bağlanmasıyla monoiyodotirozin (MIT), iki iyodun bağlanmasıyla diiyodotirozin (DIT) adı verilen ve hormonal olarak inaktif olan moleküller oluşur (12).

Son aşama MIT ve DIT molekülünün birleşerek triiyodotirozini (T3), 2 tane DIT molekülünün birleşerek tiroksini (T4) oluşturduğu eşleşme (coupling) aşamasıdır (12).

Dolaşımdaki T4'ün tamamı ve T3'ün %20'si tiroid bezinde üretilir. T3'ün büyük kısmı ise karaciğer, böbrek gibi dokularda T4'ün 5'deyodinaz enzimi aracılığıyla deiyodinasyonu sonucu ortaya çıkar

T3'ün tiroid hormon reseptörlerine afinitesi T4'ten 4-10 kat fazladır. Tiroid hormonlarının biyolojik aktivitesinin büyük kısmı T3'ün hücrel etkileri sonucu oluşur (1).

T3 ve T4 sentezi TSH uyarısı altında peroksidaz enzimlerine bağlıdır. Bunlar foliküler hücrelerde iyodun oksidasyonu, organifikasyonu ve eşleşmesini katalizler (13).

#### **Tiroid Hormonlarının Genel Etkileri:**

**Kalorijenik etkiler:** Tiroid hormonları oksijen tüketimi ve ısı üretimini artırır. Bu etkinin Na-K ATPaz enziminin stimülasyonu ile olduğu düşünülmektedir. Beyin, dalak ve testis dışında kalorijenik etki görülür.

**Kardiyovasküler etkiler:** Kalpte pozitif inotrop ve kronotrop etki gösterirler. Hipertiroidide kalbin kontraktilesi ve debisi artar, kardiyak hipertrofi gelişir. Atriyal fibrilasyon riski artar. Hipotiroidide ise tam tersi söz konusudur. (1,14)

**Pulmoner etkiler:** Solunum merkezinde hipoksi ve hiperkapniye normal cevabın sürdürülmesini sağlarlar.

**Gastrointestinal etkiler:** Gastrointestinal fonksiyonel hastalıkların tiroidi etkilemesi gibi, tiroid fonksiyonları da gastrointestinal sistemin tüm kısımlarını etkiler. Gastrointestinal sistemde motiliteyi artırır; hipertiroidide ishal, hipotiroidide konstipasyon oluşur. Bu etkiyi hem direk, hem de katekolaminler aracılığıyla indirek olarak yaparlar. Hipotiroidide intestinal psödoobstrüksiyon görülebilir.

**Hematopoetik etkiler:** Tiroid hormonları kemik iliğinde eritropoetik aktiviteyi ve serum eritropoietin (EPO) düzeyini artırır. Ayrıca 2-3 difosfogliserat miktarını artırarak dokulara oksijenin verilmesini de kolaylaştırır. Bu yüzden hipertiroidide kemik iliğinde artmış aktivite nedeniyle eritrositoz izlenirken hipotiroidide anemi siktir (1,15).

**Sempatik sinir sistemi üzerine olan etkiler:** Tiroid hormonları  $\beta$  adrenerjik reseptör sayısını artırır ve katekolaminlerin postreseptör etkilerini şiddetlendirirler. Hipertiroidide katekolaminlere duyarlılık belirgin şekilde artar (1).

**Nöromuskuler etkiler:** Tiroid hormonları sinir sisteminin normal gelişimi ve fonksiyonu için gereklidir. Fetal dönemde tiroid hormon yetersizliği mental retardasyona yol açar. Erişkinlerde hipertiroidi hiperaktiviteye, hipotiroidi ise hareketlerde yavaşlamaya neden olur. Tiroid hormonları yapısal proteinlerin sentezini artırır ancak hipertiroidide protein turnoveri artar ve kas dokusunda kayıp meydana gelir (1).

**Kemik metabolizmasına olan etkiler:** Normal iskelet gelişimi için tiroid hormonları gereklidir. Tiroid hormonları kemik turnoverini artırır. Uzun süreli hipertiroidilerde osteopeni, hafif hiperkalsemi ve hiperkalsüri olur. Hipotiroidide büyüme geriliği görülürken hipertiroidide kemik kütlelerinde azalma, kemik yaşında ilerleme ve osteoporotik kırık riskinde artış olur (1,16).

**Karbonhidrat ve lipit metabolizması üzerine olan etkiler:** Tiroid hormonları hepatic glukoneogenez, glikojenolizis ve intestinal glukoz emilimini artırır. Kolesterol sentezi ve degradasyonu artar, lipolizde de artış olur (1).

## 2.2. HASHIMOTO TİROİDİTİ

Hashimoto tiroiditi ilk kez 1912 yılında Hashimoto tarafından tanımlanan tiroid bezinin lenfositlerce infiltrasyonu sonucu gelişen ve tiroid hormon bozukluğu ile sonuçlanan toplumda en sık rastlanan otoimmün tiroidittir (1).

Etyolojisinde genetik ve çevresel faktörler rol oynamaktadır. Ancak genetik komponent bu hastalığın oluşmasında daha ağır basmaktadır (17). Hastaların ailesinde genellikle Hashimoto hastalığı, guatr, hipotiroidi veya Graves hastalığı öyküsü bulunmaktadır. Kardeşlerde hastalığın tekrarlama riski normale göre 20 kat yüksektir. Monozigotik ikizlerde %30-60 birliktelik olur. Çevresel faktörler olarak yüksek iyot alımı, selenyum eksikliği, sigara, metaller ve kronik hepatit C gibi enfeksiyonların rolü olduğu düşünülmektedir. Toplumda görülme sıklığı %2'dir. Kadınlarda erkeklere göre daha sık görülmekte olup olguların %95'ini

kadınlar oluşturmaktadır. En sık orta yaş grubunda görülür, 40-65 yaşlarda görülme sıklığı artar (18,19).

Hashimoto tiroiditinde supressor T hücrelerindeki genetik defekt sonucunda hücrel immünitenin bozulması söz konusudur. Bu defekt sonucu supressor T lenfositleri, yardımcı T lenfositlerini suprese edemez. Aktive olmuş yardımcı T lenfositleri B lenfositlerini stimüle ederek IFN- $\gamma$  gibi birçok sitokin salgılatır. Bu sitokinler tirositlerden MHC-II yüzey antijenlerinin oluşmasını sağlar. Bu da aktive olmuş CD4+,CD8+ T lenfositlerin B lenfositlerin, plazma hücrelerinin ve makrofajların tiroid bezinde inflamatuvar yanıt başlatmalarına neden olur ( 2).

Hashimoto tiroiditinde en sık bulgu tiroid bezi büyümesidir. Hastaların %75'inde ötiroid guatr vardır. Hastalar doktora boyunda şişlik ve rahatsızlık hissi yakınmasıyla başvurabilir ya da başka bir nedenle yapılan muayenede guatr saptanması sonrası tanı konabilir. Genellikle tiroid bezi büyümesi asemptomatik olmasına rağmen nadiren bazı hastalarda tiroidde ağrı ve hassasiyet olabilir ve cerrahi gerektirebilir (20).Tiroid bezi genelde diffüz olarak büyümüştür, orta sertlikte ve lastik kıvamındadır. Kliniğe ilk başvuran hastaların %20'sinde hipotiroidi semptom ve bulguları mevcuttur ya da yıllar içinde gelişir. Hashimoto tiroiditi lenfoma gelişimi için bir risk faktörüdür. Asimetrik bez büyümesi, ağrı, ses kısıklığı, lenf nodu gelişimi tiroid lenfomasını akla getirmelidir (1).

Hashimoto tiroiditinde spontan regresyon olabileceği yönünde kanıtlar vardır. Bir çalışmada yaklaşık %20 hastada tiroid hormon replasmanı alırken spontan iyileşme sağlanmıştır. Bu durum yüksek titredeki TSHab'lerin zaman içinde normale dönmesiyle açıklanmaktadır (21).

Hashimoto tiroiditi olan hastalarda ve bunların yakınlarında diğer otoimmün hastalık prevalansı artmıştır. Addison hastalığı, tipl diabetes mellitus, alopesi areata, hipoparatiroidi, immün trombositopeni, çölyak hastalığı, dermatitis herpetiformis, pernisiyöz anemi, prematür over yetmezliği, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus, sjögren sendromu, myastenia gravis, multipl skleroz ve vitiligo Hashimoto tiroiditi olan hastalarda daha sık görülmektedir (22,23).

Hashimoto tiroiditinin immünolojik teşhisi çeşitli yöntemlerle serumda anti tiroid peroksidaz (antiTPO) ve anti tiroglobulin (anti Tg) antikorlarının saptanması



ile konulur. Anti tiroid peroksidaz (Anti TPO) antikor en yardımcı laboratuvar testtir. Anti-TPO hastaların %95inde, Anti-Tg ise %80inde pozitiftir. Ancak antitiroid antikorlar düşük titrelerde diğer tiroid hastalıklarında ve hatta normal kişilerde de bulunabilir. İnce iğne aspirasyon biyopsisi rutin olarak tanıda gerekli değildir. Ancak antikor negatif olan hastalarda teşhiste yardımcı olur. Ayrıca tek nodülü olan hastalarda malignitenin ekarte edilmesi için gereklidir (24). Biyopsi yapılırsa lenfositler, makrofajlar, kolloidden fakir zeminde Hurthle hücre değişiklikleri gösteren epitel hücreleri izlenir. USG' de Hashimoto tiroiditinde tiroid ekojenitesinde azalma ve psödonodüller gözlenir (25).

Kliniğe ilk başvuruda hastaların %20sinde hipotiroidi semptom ve bulguları mevcuttur. Laboratuvar, hastalığın evresine göre değişiklik gösterir. İleri evrelerde atrofiye giden tiroid gland yetersizliğinin belirti ve bulguları oluşur. Tiroid fonksiyonlarının kademeli kaybı söz konusudur. Tiroid yetersizliği ilerledikçe TSH yükselmesini takiben önce serum T4, sonra serum T3 düzeylerinde azalma olur ve bezin RAIU azalır. Subklinik hipotiroididen aşikar hipotiroidiye geçiş yılda %3-5 oranında görülür (26,27).

Hipotiroidisi olanlarda klinikte şu semptom ve bulgular görülebilir:

- Halsizlik, yorgunluk
- Kilo alma
- Kabızlık
- Kuru ve kaba cilt, saçlarda dökülme
- Üşüme, ekstremitelerde soğukluk
- Yüz, el ve ayaklarda ödem
- Seste kabalaşma
- Menoraji, oligomenore, amenore
- Libidoda azalma
- Kramp, paresteziler
- Hafızada zayıflama

- Karpal tünel sendromu

Hashimoto tiroiditi olan hastalarda tirotoksikoz izlenebilir. Glandın otoimmün hasarlanmasına bağlı geçici bir durumdur. Ancak bazen tiroid hormonlarının aşıı salınması ile spontan oluşan hipertiroidi periyotları görülebilir. Bu durum Hashitoksikoz olarak adlandırılır, tirotoksikoz nks etme eğilimindedir ve kalıcı hipotiroidi ile sonuçlanır (28).

Hashimoto tiroiditinin, nontoksik nodüler guatr, Graves hastalığı ve tiroid maligniteleri ile ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Özellikle tiroid bezinde ani büyüme ve ağrı varlığında tümör ayırıcı tanıda dőnlmelidir (1).

Birçok hastada hastalık asemptomatik ve guatr küçük olduğundan tedaviye gerek yoktur. Hipotiroidi gelişme riski açısından düzenli aralıklarla takip yeterlidir. Ancak büyük guatr ve TSH yüksekliği ile hipotiroidi varlığında tiroid hormon tedavisi gereklidir. L-tiroksin dozu serum TSH düzeyini düşük normal tutacak Şekilde ayarlanmalıdır. Tedavisi fizyolojik dozda (0,1-0,15 mg/gün) levotiroksin uygulamasıdır. Yaşlı hastalarda ve koroner arter hastalığı olanlarda başlangıç dozu daha düşük olmalıdır.(0,0125-0.025 mg/gün).İhtiyaca göre ilaç dozu tedrici olarak artırılabilir. Tedavi altında büyüyen guatr, ağrı ve bası semptomları nadiren görülebilir ve cerrahi tedavi gerekebilir (1).

### 2.3. VİTAMİN D

Vitaminler vücutta üretilmeyen ve gıdalarla alınması zorunlu maddelerdir. En önemli vitaminlerden biri de D vitamini dir. Ancak D vitamini vücutta sentezlenen ve hormon olarak pek çok yaşamsal olayda önemli görevleri olan bir vitamindir. D vitamini güneş iőınlarının etkisiyle ciltte sentezlenir. Yeterli güneş iőıėına maruz kalındığında ek D vitamini alınmasına veya gıdalara D vitamini eklenmesine gerek yoktur (1,12).

Hormon olarak iőlev gören aktif D vitamini yani 1,25-dihidroksikolekalsiferol metabolik kontrol altında sentezlenir. Ciltte ultraviyole iőınların etkisiyle sentezlendikten sonra karaciğerde mitokondri ve mikrozomlarda sitokrom P450 enzimleri ile 25-hidroksilasyona uğrar. Bu metabolit dolaşımdaki majör vitamin D

formudur. Dolaşımında 25(OH)Dnin %88i vitamin D bağlayıcı proteine bağlıdır.%0.03ü serbest haldedir ve geri kalanı albümine bağlıdır. Sonrasında 25(OH)D böbrekte 1 $\alpha$ -hidroksilasyona uğrar. Kan ile hedef dokularına taşınıp kalsiyum dengesini düzenler (12).

Vitamin D önemli bir immünsistem regülatörüdür. Aktif formu olan 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>ün birçok otoimmün hastalığın gelişimini engellediği görülmüştür (3).

D vitamini aktif metabolitleri biyolojik etkilerini, hedef hücrelerde sitoplazma ve nükleus içinde bulunan Vitamin D Reseptörleri (VDR) aracılığıyla göstermektedir. VDR'leri bağırsak, kemik, böbrek dışında cilt, meme, hipofiz, paratiroid bezi, pankreas beta hücreleri, gonadlar, beyin, iskelet kası, dolaşımdaki monositler ve aktive T ve B lenfositlerde de bulunmaktadır. Bunlar aynı zamanda 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> üreten yerlerdir (12).

D vitamininin optimal sağlık için gerekli olduğu bilinmektedir, birçok hastalığın gelişmesini engellemekte olduğu veya bulguların hafiflemesine neden olduğu bildirilmektedir. Bunlardan otoimmün hastalıklar, inflamatuvar bağırsak hastalığı, romatoid artrit, multipl skleroz, diyabet, birçok kanser çeşidi, kalp hastalıkları, osteoporoz, enfeksiyöz hastalıklar gibi birçok hastalıkta etkili olduğu yapılan çalışmalarla bildirilmektedir (4, 6, 29-32).

Vitamin D reseptörleri T lenfosit ve makrofajlarda anlamlı konsantrasyonlarda izlenir. Th1 hücreleri IFN gama, IL-2 ve TNF alfa sekrete eder. Th2 hücreleri IL-4 ve IL-5 sekrete eder. İkisi de güçlü antikor aracılı immünitede önemlidir. Otoimmün hastalıklarda Th1 hücreleri kendi proteinlerine karşı yönelir ve patolojik sonuçlar doğar. Yapılan çalışmalarda D vitamininin T helper 2 hücrelerini uyararak antiinflamatuvar sitokinleri (IL-4, IL-5, IL-10, TGF  $\beta$ ) artırdığı, Th1 ve Th17 hücrelerini inhibe ederek proinflamatuvar sitokinlerin (IL-2, IL-3, IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ ) üretimini azalttığı gösterilmiştir (3,6,7,9,33). Yapılan çalışmalarda vitamin D reseptör gen polimorfizminin Hashimoto sıklığını artırdığı gösterilmiştir (10).

1,25(OH)<sub>2</sub> D vitamini, D vitaminin en aktif formu olup hayvan modellerinde otoimmün tiroidit gelişmesini etkili bir şekilde önlediği (34) ve endokrin hücrelerde HLA class II ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (35).

Vitamin D eksikliği tüm dünyada 1 milyardan fazla insanı etkilediği bilinen önemli bir sağlık problemidir. D vitamini eksikliği prevalansı tüm dünyada artmaktadır (36). Serum 25(OH) D düzeyleri >30 ng/ml ise yeterli, 20-30 ng/ml ise vitamin D yetmezliği, <20 ng/ml ise vitamin D eksikliği ve <10 ise ciddi vitamin D eksikliği olarak tanımlanır (37).

Gelişmiş ülkelerde hipokalsemi ve/veya hipofosfatemiyle karakterize ve çocuklarda rikets, erişkinlerde osteomalaziyle seyreden ciddi vitamin D eksikliği sık değildir. Ancak osteoporozla, artmış düşme riski ve kırıklarla ilişkili subklinik D vitamini eksikliği buralarda da görülür. Vitamin D depoları yaş arttıkça ve özellikle kış aylarında azalır (38, 39).

Vitamin D eksikliğinin sebepleri deride azalmış yapım, diyetle alım azlığı, vitamin D kaybının artması, vitamin D etkilerinin bozulması veya 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>n</sub>in biyolojik etkilerine rezistans olabilir. Örneğin yaşlı ve yatalak hastalar vitamin D eksikliği için risk altındadır. Bu hem güneş ışığına maruziyetin azalması sebebiyle yapım azalmasına bağlı hem de yaşa bağlı vitamin D'nin intestinal absorpsiyonunun azalmasına bağlıdır (12).

#### Vitamin D eksikliğinin nedenleri

##### Eksik alım:

- Kutanöz üretimin azalması veya bozulması(güneşe maruziyet azlığı, güneş koruyucu kremler, yaşlanma, kutuplara yakın bölgelerde yaşamak, koyu cilt)
- Diyetle yetersiz alım
- Malabsorpsiyon

##### Artmış kayıp:

- Artmış metabolizma(barbitüratlar, fenitoin ve rifampin gibi ilaçların sitokrom p450 enzimini indüklemesine bağlı)
- Bozulmuş enterohepatik sirkülasyon
- Nefrotik sendrom

##### Bozulmuş 25-hidroksilasyon

- Karaciğer hastalığı
- İsoniazid

#### Bozulmuş 1 $\alpha$ -hidroksilasyon

- Hipoparatiroidizm
- Renal yetmezlik
- Ketokonazol
- 1 $\alpha$ -hidroksilaz mutasyonu
- Onkojenik osteomalazi
- Xe bağlı hipofosfatemik rikets

#### Hedef organlarda direnç

- Vitamin D reseptör direnci
- Fenitoin (40-43).

D vitamini eksikliğinde görülen semptomlar eksikliğin ciddiyeti ve süresine bağlı olarak değişir. Genel olarak asemptomatik olmakla birlikte en sık semptom halsizlik ve genel vücut ağrısıdır.

Hafif ve orta D vitamini eksikliği olan hastaların(25(OH)D 15-20 ng/ml arası) büyük çoğunluğu asemptomatiktir. Bu hastalarda serum kalsiyum, fosfor ve alkalin fosfataz seviyeleri genel olarak normal aralıklardadır. %40'ında serum PTH seviyeleri artmış izlenebilir. Uzamış veya ciddi ( 25 (OH) D 10 ng/ml altı) D vitamini eksikliği durumunda hastalarda azalmış intestinal absorpsiyona sekonder kalsiyum ve fosfor eksikliği ve buna bağlı uyuşma ve tetaniler izlenebilir. Bunların %50'sinde sekonder PTH yükselmesi olabilir. Düşük vitamin D ve buna sekonder yükselmiş PTH seviyeleri olan hastalarda DXA ile gösterilebilen akselere kemik kütle kaybı ve fraktür için artmış risk söz konusudur. Uzun süreli ve derin D vitamini eksikliğinde osteomalazi, osteoporoz, kemik ve kas ağrıları ile kas güçsüzlüğü ve dengesizlik gözlenebilir (44-46).

D vitamini eksikliğini göstermek için serum 25(OH) D düzeylerine bakılır. Yarı ömrü 2-3 hafta olup D vitamini düzeyini ve rezervini yansıtır.1,25(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>ün

D vitamini eksikliğinde önerilmeme sebebi, yarı ömrünün 4 saat gibi kısa bir süre olması ve kan konsantrasyonunun çok düşük olmasıdır. Ancak bazı durumlarda 1,25(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> düzeyine bakılması önerilir. Bunlar kronik böbrek yetmezliği, D vitamini dirençli raşitizm, kalıtsal fosfat kaybettiren hastalıklar, onkojenik osteomalazi ve granüloamatöz hastalıklardır.

D vitamini eksikliği için tarama önerilmemekle birlikte bazı hasta gruplarında yüksek risk nedeniyle düzeyin bakılması önerilir. Bunlar:

- Osteoporoz
- Kronik karaciğer veya böbrek hastalığı
- Raşitizm veya osteomalazi
- Obezite
- Cilt rengi koyu kişiler
- İlaç kullanımı(antiepileptik, glukokortikoid)
- Hiperparatiroidi
- Nontravmatik kırık öyküsü
- Granüloamatöz hastalık öyküsü
- Malabsorbsiyonu olan hastalar
- Nefrotik sendrom
- Lenfoma
- Yaşlılar, yatalak hastalar ve özellikle bakım evinde yaşayanlar

Kemik ve kas sağlığı için gereken minimum günlük D vitamini ihtiyacı 19-70 yaş arasında 600 IU, serum 25(OH)D düzeyini 30 ng/ml düzeyinde tutacak D vitamini ihtiyacı ise 1500-2000 IU'dir. 70 yaş üstünde 800 IU, 65 yaş üzerindekielerde de düşmeleri önlemek için 800 IU/ gün gereklidir. Günlük ihtiyacın karşılanması gıda ve güneş yanında D vitamini takviyesi gerektirir.

Günlük gerekli D vitamini limiti 4000 IU'dir. Alınan her 100 IU D vitamini serum 25(OH)D düzeyini 1 ng/ml artırır. D vitamini emilimi besinlerden etkilenmez.

Kronik karaciğer hastalarında tedavide alfa-kalsidiol, kronik böbrek yetmeliği olan hastalarda ise kalsitriol kullanılmalıdır. Kalsitriolün yarıömrü 6 saattir ve hiperkalsemi riski yüksek olduğundan serum kalsiyum düzeyi takibi önerilir.

D vitamini ile birlikte yeterli kalsiyum alımı sağlanmalıdır. (19-70 yaş arasında 1000ng/gün, >70 yaşta 1200 ng/gün)

Tedavide hedef serum 25(OH)D düzeyini 30-50 ng/ml arasında tutmaktır. 25 (OH) D düzeyi <20 ng/ml olan yetişkinlerde D vitamini yüklemesi yapılmalıdır. Yükleme olarak 8 hafta boyunca haftada bir 50000 IU D vitamini verildikten sonra günde 1500-2000 IU idame ile devam edilmelidir.

Tedaviye başlandıktan sonra 3-6 hafta sonra serum 25(OH)D düzeyi ölçülmelidir. Eğer hedef düzeye ulaşılmamışsa ek doz verilebilir (47-49).

#### *D Vitamininin Kalsiyum Metabolizması Üzerine Etkileri*

D vitamini kalsiyum seviyelerini normal aralıkta tutmak için gereklidir. Vitamin D ince bağırsaktan spesifik kalsiyum kanallarının ekspresyonunu artırarak Ca absorpsiyonunu artırır. Kemikte preosteoklastların osteoklastlara differansiasyonunu indükler ve kemikten Ca ve P uzaklaştırır (50-51).

#### *Vitamin D ve Otoimmün Hastalıklar:*

Vitamin D önceleri sadece kalsiyum, fosfor dengesi ve kemik metabolizması üzerinde etkili olarak bilinirken, son yıllarda yapılan çalışmalar sonucu immün sistem hücrelerinde VDR gösterilmesi ile vitamin D'nin immünite üzerindeki etkileri araştırılmaya başlanmış ve doğal bir immünmodülatör olduğu gösterilmiştir. Birçok epidemiyolojik ve genetik çalışma vitamin D'nin Tip 1 DM, romatoid artrit, multipl skleroz, kalp hastalıkları, birçok kanser türü gibi pek çok hastalığın patogeneğinde önemli rolü olduğunu göstermiştir. Azalmış D vitamini seviyesi ile artmış otoimmün hastalık riski arasındaki ilişki pek çok çalışmada bildirilmektedir (4,30,31,52-55).

D vitamini T hücre aracılı yanıtta önemli rol üstlenmektedir. CD4 + T hücrelerin aktivitesini ve differansiasyonunu düzenler, TH1/TH2 dengesini sağlar. Katelisidin ve defensin gibi endojen antibiyotiklerin transkripsiyonunu artırır (3,6,56).

D vitamini otoimmün hastalıkların gelişimini antijen prezentasyonunu inhibe edip, Th0 hücrelerin Th1 hücrelere dönüşümünü azaltıp, son hücrelerden sitokin üretimini azaltarak önlediği gösterilmiştir (3).

D vitamini reseptörleri pankreas beta hücrelerinde de tanımlanmıştır. Beta hücrelerinde bulunan ve kalsiyum bağlayıcı bir protein olan kalbindin ekspresyonunun beta hücrelerini sitokinlere bağlı hücre ölümünden koruduğu gösterilmiştir (57-59). Yaşamın erken evrelerindeki vitamin D eksikliğinin Tip 1 DM ile ilişkili olduğunu gösteren çok sayıda kanıt mevcuttur (60). Gebelere vitamin D replasmanı verildiğinde adacık hücre antikorlarında %63 azalma olduğu (61) ve yenidoğan döneminde D vitamini replasmanı ile beta hücrelerinin otoimmüniteye karşı korunduğu da yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (61,62).

D vitamininin MS riskini azalttığı, yüksek D vitamini düzeyi olanlarda MS atak ve relapsının azaldığı yine birçok çalışmada gösterilmiştir (63,64).

İnflamatuar bağırsak hastalıkları ve D vitamininin ilişkisini belirlemek için yapılan hayvan çalışmalarında D vitamini ve yüksek kalsiyum diyeti alanlarda inflammatuar bağırsak hastalığı gelişiminin engellendiği gösterilmiştir (6)

Romatoid artritli hastalarda D vitamininin proinflammatuar sitokinlerin üretimini önemli ölçüde azaltarak iyileşmeye katkı sağladığı gösterilmiştir (58). Başka bir çalışmada da yüksek doz D vitamini analogu verilen hastaların %89unda romatoid artrit semptomlarında iyileşme, %45inde ise tam remisyon sağlanmıştır (65).

#### *Vitamin D ve Kanser:*

D vitamininin başta meme, prostat, kolon, deri ve pankreas kanseri olmak üzere birçok kanser türünde koruyucu etkisi olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (32).

#### *Vitamin D ve Kardiyovasküler Hastalıklar:*

Vitamin D eksikliği ile kardiyovasküler hastalıklar ve risk faktörlerinin ilişkisi pek çok çalışmada gösterilmiştir (66,67). Hayvan deneylerinde aktif D vitamininin kardiyomiyositlerin relaksasyonunu hızlandırdığı ve kalbin diyastolik fonksiyonlarını iyileştirdiği gösterilmiştir (68). D vitamini eksikliğinin kalsiyum dengesinde bozulma



ve sekonder hiperparatiroidizme yol açması sebebiyle de kardiyovasküler etkisi bulunmaktadır. PTH kan basıncını artırır, ani kardiyak ölüme neden olabilir (69)

Vitamin D eksikliği ayrıca kardiyovasküler risk faktörleri olan hipertansiyon, obezite, hiperlipidemi, insülin direnci ve Tip 2 DM ile de ilişkili bulunmuştur (70-72).

#### **2.4. VİTAMİN D RESEPTÖRÜ ve VDR GEN POLİMORFİZMİ**

Vitamin D reseptörleri T lenfosit ve makrofajlarda anlamlı konsantrasyonlarda izlenir. Th1 hücreleri IFN  $\gamma$ , IL-2 ve TNF  $\alpha$  sekrete eder. Th2 hücreleri IL-4 ve IL-5 sekrete ederler. Vitamin D direk olarak Th1lerin sitokin salınımını inhibe eder ve Th2lerin sitokinlerinin üretimini artırır(73).

VDR geni 12q-14'te haritalanmıştır ve 75 kb uzunluğundadır. 11 ekzondan oluşan genin 1A, 1B, 1C ekzonları 5'UTR bölgesini kodlar ve VDR transkriptlerinde polimorfik olarak bulunur. Diğer 8 ekzon yapısal gen ürünü olan proteini kodlamaktadır (74-76).

VDR proteini nükleer hormon reseptör ailesinin bir üyesidir. Ligand ve DNA bağlayıcı bölgeler içerir. Ligand bağlayıcı bölgesi ile vitamin D'ye, DNA bağlayıcı bölgesi ile hedef gende bulunan vitamin D cevap elemanına bağlanır. Bunun gerçekleşebilmesi için VDR proteininin retinoik asit X reseptörü ile kompleks oluşturması gerekir. Retinoik asit X reseptörü transkripsiyon başlangıç faktörlerinin biraraya toplanmasını sağlar. VDR proteininin paratiroid hücrelerde, pankreas adacık hücrelerinde, hematopoietik hücrelerde, keratinositlerde, üreme organları ve immün sistem üzerinde etkileri olduğu gösterilmiştir (77).

VDRler T lenfositlerde yüksek konsantrasyonlarda bulunur, aktive T lenfositlerin önemli miktarda VDR içerdiği saptanmıştır (78,79).

En yüksek konsantrasyon olgunlaşmamış timositlerde ve olgunlaşmamış sitotoksik T lenfositlerindedir. CD4+ T lenfositler nispeten daha az olmakla birlikte yine de anlamlı oranda VDR taşır (6).

Vitamin D reseptör gen polimorfizmi ve vitamin D düzeyi Tip 1 DM, MS, inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi çeşitli otoimmün hastalıklarla ilişkili bulunmuştur (80).

VDR geninde 30dan fazla polimorfizm bulunmuştur. En yaygın 4 polimorfizmin otoimmün hastalıklarla ilişkisi çalışılmıştır. Bunlar Fok 1(ekzon 2), Bsm 1(intron 8), Apa 1(intron 8) ve Taq 1(ekzon 9) (81,82).

Almanya'da yapılan bir çalışmada intron 6 da lokalize vit D 1 $\alpha$ -hidroksilaz geninin C/T polimorfizminin Hashimoto tiroiditi ile ilişkili olduğu görülmüştür (83).Yine Tayvan'da yapılan çalışmada exon 2'deki C/C homozigot VDR Fok I gen polimorfizmi olanlarda Hashimoto tiroiditi gelişme riskinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (10).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. HASTALAR

Bu çalışmaya Nisan 2013-Nisan 2014 tarihleri arasında Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi İç hastalıkları ve Endokrinoloji polikliniklerine başvuran ve çalışmaya alınmayı kabul eden 139 Hashimoto tiroiditi olan hasta ve 50 sağlıklı kişi olmak üzere 189 kişi alındı.

Çalışmaya 18-55 yaş arası olan ve yazılı onam veren kişiler dahil edildi. Şu özellikteki kişiler çalışmaya alınmadı:

- DM olan hastalar
- Kronik karaciğer ve böbrek hastalığı olanlar
- Primer hiperparatiroidisi olanlar
- Kronik inflamatuvar hastalığı olanlar
- Kalsiyum ve vitamin D preparatı kullananlar
- Antidepresan veya antipsikotik ilaç kullananlar

Hastalara Hashimoto tiroiditi tanısı anti-TPO, anti-TG düzeylerine bakılarak veya tiroid İİAB sonuçları ile konuldu. TSH değerleri ve sT4 değerleri normal aralıkta olanla ötiroid grup, TSH değerleri yüksek ve sT4 değerleri normal olanla subklinik hipotiroidi ve TSH düzeyi yüksek ve sT4 değeri düşük olanlar aşikar hipotiroidi olarak değerlendirildi. Bu şekilde gruplama sonrası 50 subklinik, 50 ötiroid, 39 aşikar hipotiroidisi olan hasta ile 50 sağlıklı kişi değerlendirmeye alındı. Aşikar hipotiroidisi olan 11 kişi yukarıda belirtilen sebeplerden bir veya birkaçı sebebiyle çalışmaya dahil edilemedi.

#### 3.2. LABORATUAR TESTLERİ

Biyokimyasal parametreler için hastalar 12 saat açlık süresi sonrası kan örneği vermek için çağrıldı. Hastaların glukoz, insülin, sT3 (triyodotironin), sT4 (tiroksin), TSH (tiroid stimulan hormon), anti TPO (anti tiroid peroksidaz antikor), anti TG

(anti tiroglobulin antikoru), 25-OH vitamin D, PTH (parathormon), düzeltilmiş kalsiyum, ALP (alkalen fosfataz), fosfor düzeyleri kaydedildi. İnsülin direncinin saptanmasında "homeostasis model assessment (HOMA-IR)" skoru [açlık insülin konsantrasyonu (mIU/L) x glukoz (mmol/L)/22.5] ] formülü kullanıldı (84). Cut-off değeri olarak 2,7 alındı. Bu değerin üstü insülin direnci olarak değerlendirildi.

### 3.3. ELISA KIT PROTOKOLÜ

#### İnsan IFN- $\gamma$ ELISA Kit protokolü

**İnsan IFN- $\gamma$  standart solüsyonu:** Çalışmaya başlamadan önce stok stantardan (10,000 pg/ml) 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml, 15.6 pg/ml, 7,8 pg/ml standartlar hazırlandı.

1. 96 kuyulu plate içindeki kuyucuklara 1000pg/ml, 500pg/ml, 250pg/ml, 125pg/ml, 62.5pg/ml, 31.2pg/ml, 15.6pg/ml, 7,8 pg/ml insan IFN- $\gamma$  standart solüsyonları 100  $\mu$ l koyuldu. Kontrol kuyusuna 100  $\mu$ l diluent buffer eklendi. Diğer boş kuyulara 100  $\mu$ l örneklerden sırasıyla konuldu.
2. Plate örtüldü ve 37 ° C 'de 90 dakika inkübe edildi.
3. İçerik atılarak ve kağıt havlu ile kurulandı.
4. Her kuyuya biotinlenmiş anti-insan IFN- $\gamma$  antikoru 100  $\mu$ l eklendi ve 60 dakika, 37 °C sıcaklıkta inkübe edildi.
5. 0.01 M PBS ile plate 3 kez yıkandı. Her yıkamada 1 dakika boyunca yıkama tampon solüsyonunun kuyularda kalmasına izin verildi. Yıkama sonrası tampon solüsyon atıldı ve plate kurulandı.
6. Her kuyuya hazırlanmış ABC çalışma çözeltisinden 0,1 ml ilave edildi ve 30 dakika süre ile 37 ° C'de inkübe edildi.
7. 0.01 M PBS ile plate 5 kez yıkandı. Her yıkamada 1 dakika boyunca yıkama tampon solüsyonunun kuyularda kalmasına izin verildi. Yıkama sonrası tampon solüsyon atıldı ve plate kurulandı.
8. Her kuyuya hazır TMB solüsyondan 90  $\mu$ l eklendi ve karanlıkta 20-25 dakika süreyle 37 °C inkübe edildi.

9. Her kuyunun içine TMB stop çözeltisinden 100 µl eklendi. Renk değişimi gözlemlendi.
10. ELISA okuyucuda 450 nm de plate okundu. Hesaplama için linear standart eğri çizilerek her bir örneğin insan IFN-γ konsantrasyonu hesaplandı.

### **İnsan IL-2 ELISA Kit protokolü**

**İnsan IL-2 standart solüsyonu:** Çalışmaya başlamadan önce stok standarttan (10,000 pg/ml) 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml, 15.6 pg/ml, 7,8 pg/ml standartlar hazırlandı.

1. 96 kuyulu plate içindeki kuyucuklara 1000pg/ml, 500pg/ml, 250pg/ml, 125pg/ml, 62.5pg/ml, 31.2pg/ml, 15.6pg/ml, 7,8 pg/ml insan IL-2 standart solüsyonları 100 µl koyuldu. Kontrol kuyusuna 100 µl diluent buffer eklendi. Diğer boş kuyulara 100 µl örneklerden sırasıyla konuldu.
2. Plate örtüldü ve 37 ° C 'de 90 dk inkübe edildi.
3. İçerik atılarak ve kağıt havlu ile kurulandı.
4. Her kuyuya biotinlenmiş anti-insan IL-2 antikoru 100 µl eklendi ve 60 dk, 37 °C sıcaklıkta inkübe edildi.
5. 0.01 M PBS ile plate 3 kez yıkandı. Her yıkamada 1 dakika boyunca yıkama tampon solüsyonunun kuyularda kalmasına izin verildi. Yıkama sonrası tampon solüsyon atıldı ve plate kurulandı.
6. Her kuyuya hazırlanmış ABC çalışma çözeltisinden 0,1 ml ilave edildi ve 30 dakika süre ile 37 ° C'de inkübe edildi.
7. 0.01 M PBS ile plate 5 kez yıkandı. Her yıkamada 1 dakikaboyunca yıkama tampon solüsyonunun kuyularda kalmasına izin verildi. Yıkama sonrası tampon solüsyon atıldı ve plate kurulandı.
8. Her kuyuya hazır TMB solüsyondan 90 µl eklendi ve karanlıkta 20-25 dakika süreyle 37 °C inkübe edildi.
9. Her kuyunun içine TMB stop çözeltisinden 100 µl eklendi. Renk değişimi gözlemlendi.

10. ELISA okuyucuda 450 nm de plate okundu. Hesaplama için linear standart eğri çizilerek her bir örneğin insan IL-2 konsantrasyonu hesaplandı.

Aynı işlem IL-4 için IL-4 standart solüsyonu ile ve IL-5 için IL-5 solüsyonu ile yapıldı ve değerler hesaplandı.

### **İnsan TNF $\alpha$ ELISA Kit protokolü**

**İnsan TNF $\alpha$  standart solüsyonu:** Çalışmaya başlamadan önce stok standarttan (10,000 pg/ml) 1000 pg/ml, 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62.5 pg/ml, 31.2 pg/ml, 15.6 pg/ml, 7,8 pg/ml standartlar hazırlandı.

1. 96 kuyulu plate içindeki kuyucuklara 1000pg/ml, 500pg/ml, 250pg/ml, 125pg/ml, 62.5pg/ml, 31.2pg/ml, 15.6pg/ml, 7,8 pg/ml insan TNF $\alpha$  standart solüsyonları 100  $\mu$ l koyuldu. Kontrol kuyusuna 100  $\mu$ l diluent buffer eklendi. Diğer boş kuyulara 100  $\mu$ l örneklerden sırasıyla konuldu.
2. Plate örtüldü ve 37 ° C 'de 90 dk inkübe edildi.
3. İçerik atılarak ve kağıt havlu ile kurulandı.
4. Her kuyuya biotinlenmiş anti-insan TNF $\alpha$  antikoru 100  $\mu$ l eklendi ve 60 dk, 37 °C sıcaklıkta inkübe edildi.
5. 0.01 M PBS ile plate 3 kez yıkandı. Her yıkamada 1 dk. boyunca yıkama tampon solüsyonunun kuyularda kalmasına izin verildi. Yıkama sonrası tampon solüsyon atıldı ve plate kurulandı.
6. Her kuyuya hazırlanmış ABC çalışma çözeltisinden 0,1 ml ilave edildi ve 30 dakika süre ile 37 ° C'de inkübe edildi.
7. 0.01 M PBS ile plate 5 kez yıkandı. Her yıkamada 1 dk. boyunca yıkama tampon solüsyonunun kuyularda kalmasına izin verildi. Yıkama sonrası tampon solüsyon atıldı ve plate kurulandı.
8. Her kuyuya hazır TMB solüsyondan 90  $\mu$ l eklendi ve karanlıkta 20-25 dakika süreyle 37 °C inkübe edildi.
9. Her kuyunun içine TMB stop çözeltisinden 100  $\mu$ l eklendi. Renk değişimi gözlemlendi.

10. ELISA okuyucuda 450 nm de plate okundu. Hesaplama için linear standart eğri çizilerek her bir örneğin insan TNF $\alpha$  konsantrasyonu hesaplandı.

### 3.4. GENETİK ANALİZ

DNA izolasyonu için gerekli periferik kan örneği 2 ml'lik EDTA'lı tüplere alındı ve bu kan örneklerinden DNA izolasyonu ve PCR işlemleri yapıldı.

#### *DNA İzolasyonu:*

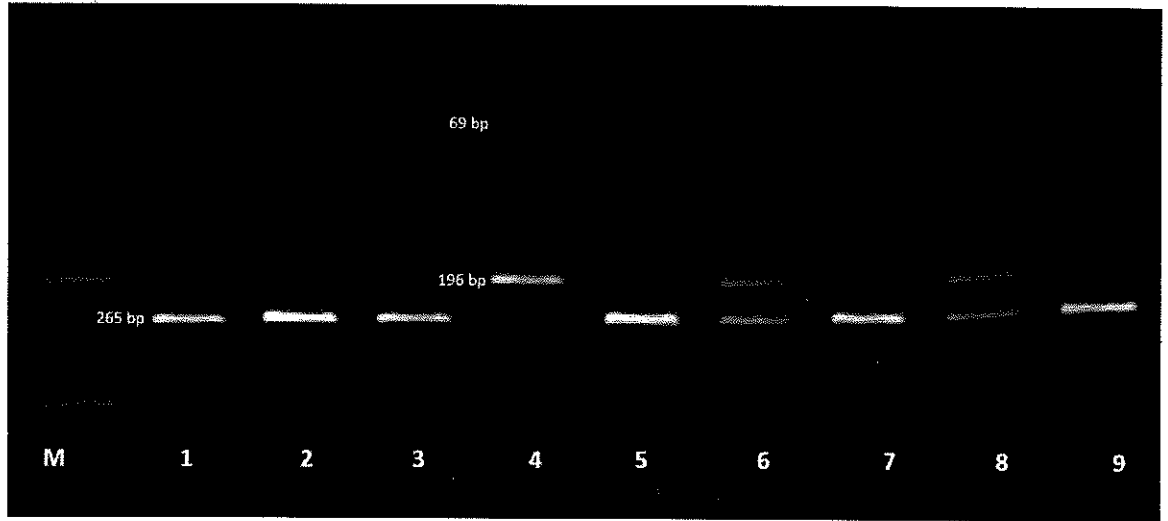
DNA izolasyonu klasik Fenol-Kloroform ekstraksiyon yöntemi ile yapılmıştır. DNA izolasyonu için örnekler üzerine 10 ml. soğuk lizat (NH<sub>4</sub>Cl, KHCO<sub>3</sub>, EDTA) ilave edilerek santrifüj edildi. Elde edilen pellete 500 ml STE (NaCl, Tris, EDTA) tamponu, 1,25  $\mu$ l proteinaz K, 100  $\mu$ l SDS (Sodyum dedosil sülfat) ilave edilerek, 37 °C de bir gün boyunca inkübe edildi. İnkübasyondan sonra karışımın üzerine eşit miktarda fenol koyularak karıştırıldı ve santrifüj edildi. Protein oluşumu fazla olduğunda ise fenol fazı tekrar edildi. Daha sonra Kloroform-İzoamil Alkol (24:1, 500:20  $\mu$ l.) karışımından geçirilip santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant 1000  $\mu$ l % 100'lük soğuk etil alkol ve % 40'lik 100  $\mu$ l Amonyum asetat ilave edilerek alkol çöktürmesi yapıldı. Çöken DNA'lar üzerine % 70'lik 1 ml Soğuk etanol ilave edilerek pellet yıkandı. Etüvde kurutularak alkol uzaklaştırıldı ve elde edilen DNA, 250  $\mu$ l steril distile suda çözdürüldü. Elde edilen ürünler % 0,7'lik jel elektroforezde görüntülendi.

#### *D vitamin reseptörü genotiplenmesi:*

PCR (Polymerase chain reaction) ve RFLP (restriction fragment length polymorphism) yöntemleri kullanılarak hedef bölgeler çalışıldı.

Elde edilen genomik DNA'lardan PCR işlemi, FokI bölgesini tanımlayan uygun primerler sırasıyla; forward primer (5' AGC TGG CCCTGG CAC TGA CTC TGC TCT'), reverse primer (5' ATG GAA ACA CCTTGC TTC TTC TCC CTC 3') kullanılarak yapıldı (85) Reaksiyon karışımına periferik lökositlerden elde edilen 0,5 ng/ $\mu$ L genomik DNA örneği konuldu. Ayrıca karışım 0,5 nmol/L forward primer, 0,5 nmol/L reverse primer, 0,2 mmol/L dNTP, 1,5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 10x PCR buffer, 0,025 units/ $\mu$ L taq DNA polimeraz içermektedir. Toplam PCR volümü 50  $\mu$ L olarak

çalışıldı. Karışımlar termalsaykilda PCR işlemine tabi tutuldu. Termalsaykıl PCR koşulları sırasıyla; denaturasyon işlemi 94 °C'de 5 dk, sonra 94 °C'de 30 sn, enaling 60 °C'de 30 sn., ekstansiyon 72 °C'de 30 dk toplam 35 döngü, 72 °C 2 dk. bekleme basamaklarını içermektedir. Örnekler analiz edilinceye kadar 4 °C'de bekletildi. Daha sonra örnekler % 1'luk agaroz jele yüklenerek elektroforez yapıldı ve UV görüntüleme sisteminde oluşan bantlar görüntülenerek değerlendirildi. Marker olarak 50 bp çiftlik marker kullanıldı. ve daha sonra PCR ürünleri 37 °C'de FokI restriksiyon enzimi ile 4 saat 37 °C'de enzim kesimi işlemine tabi tutuldu. Bu enzim kesimi ürünleri ethiyum bromür içeren % 3'lik agoroz jelde elektroforez yapıldı. UV görüntüleme sisteminde jeller görüntülenerek gözlenen bantlar değerlendirildi ve genotipleme yapıldı Allel isimlendirmesi şu şekilde değerlendirildi: 265 bp FF, 265-196-69 bp Ff, 196-69 bp ff (Şekil 1).

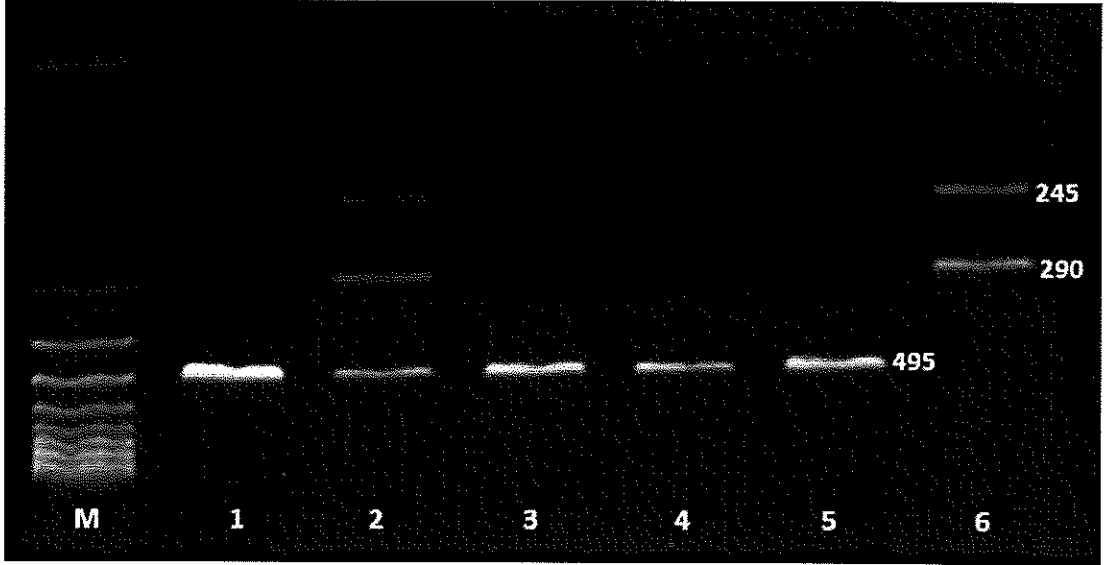


Şekil 1:Fok I Polimorfizminin PCR Analizi: M (Marker 50 bp çifti), FF (1,2,3,5,7,9), Ff (6,8), ff (4).

Genomik DNA'lardan PCR işlemi, TaqI bölgesini tanımlayan uygun primerler sırasıyla; forward primer (5' CAG AGC ATGGAC AGG GAG CAA T 3'), reverse primer (5' GCA ACT CCT CATGGC TGA GGT C CTC 3') kullanılarak yapıldı (85). Reaksiyon karışımına periferel lökositlerden elde edilen 0,5 ng/µL genomik DNA örneği konuldu. Ayrıca karışım 0,5 nmol/L forward primer, 0,5 nmol/L reverse primer, 0,2 mmol/L dNTP, 1,5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 10x PCR buffer, 0,025 units/µL taq DNA polimeraz içermektedir. Toplam PCR volümü 50 µL olarak çalışıldı. Karışımlar termalsaykilda PCR işlemine tabi tutuldu. Termalsaykıl PCR koşulları



sırasıyla; denaturasyon işlemi 94 °C'de 3 dk, sonra 94 °C'de 1 dk, enaling 63 °C'de 1 dk., ekstansiyon 72 °C'de 2 dk toplam 35 döngü, 72 °C 4 dk. bekleme basamaklarını içermektedir. Örnekler analiz edilinceye kadar 4 °C'de bekletildi. Daha sonra örnekler % 1'luk agaroz jele yüklenerek elektroforez yapıldı ve UV görüntüleme sisteminde oluşan bantlar görüntülenerek değerlendirildi. Marker olarak 100 bp çiftlik marker kullanıldı. ve daha sonra PCR ürünleri 37 °C'de Taq I restriksiyon enzimi ile 4 saat 37 °C'de enzim kesimi işlemine tabi tutuldu. Bu enzim kesimi ürünleri ethiyum bromür içeren % 3'lik agoroz jelde elektroforez yapıldı. UV görüntüleme sisteminde jeller görüntülenerek gözlenen bantlar değerlendirildi ve genotipleme yapıldı Allel isimlendirmesi şu şekilde değerlendirildi: 495 bp TT, 495-290-245 bp Tt, 290-245 bp tt .



Şekil 2: Taq I Polimorfizminin PCR Analizi: M (Marker 100 bp çifti), FF (1,3,4,5), Ff (2), ff (6).

### 3.5. İSTATİSTİKSEL ÇALIŞMA

Bu çalışmada veri analizi SPSS 17.0 paket programı (Statistical Package for Social Sciences version 17.0) kullanılarak yapılmıştır. Veriler değerlendirilirken tanımlayıcı istatistikler yapılmıştır. Gruplar arasında isimsel değişkenler arasındaki farklılıkların analizinde ki-kare testi kullanılmıştır. İkili bağımsız gruplar arası kıyaslamada normal dağılıma uymayan klinik ve biyokimyasal sayısal değişkenlerin

karşılaştırılması için Mann Whitney U, normal dağılıma uyanlarda t testi, üç ve üzeri bağımsız gruplar arası karşılaştırmada normal dağılıma uymayan sayısal değişkenlerin kıyaslanmasında Kruskal Wallis testi, normal dağılıma uyanlarda ise varyans analizi yapılmıştır. Korelasyonun saptanması için Spearman korelasyon analizi kullanılmıştır. İstatistiksel önemlilik için p değeri 0,05' ten küçük olduğunda anlamlı kabul edilmiştir. Üç ve üzeri gruplar arası kıyaslamada anlamlı çıkan farkın hangi gruptan kaynaklandığını belirlemek için yapılan ikili alt grup analizlerinde Bonferroni düzeltmesi yapılmış olup, p değeri 0,0083' ten küçük olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Çalışmamız ötiroid, subklinik ve aşikar Hashimoto tiroiditli hastalar ve 50 sağlıklı kontrol grubundan oluşan toplam 189 kişiyle yapıldı. Kontrol grubu 50 (%26,4), ötiroid Hashimoto tiroiditi grubu 50 (%26,4), subklinik hipotiroidi grubu 50 (%26,4) ve aşikar hipotiroidi grubu 39 (20,6) bireyden oluşmaktaydı.

Çalışmaya alınan kontrol grubu 45 kadın, 5 erkek hastadan; ötiroidi grubu 47 kadın, 3 erkek hastadan; subklinik hipotiroidi grubu 46 kadın, 4 erkek hastadan ve aşikar hipotiroidi grubu 33 kadın,6 erkek hastadan oluşmaktadır. Tablo 1’de görüleceği gibi cinsiyetler yönünden kontrol grubu ve Hashimoto tiroiditi grubu arasında anlamlı fark izlenmemiştir.(p=0,489)

Tablo 1.Çalışmaya alınan Hashimoto tiroiditi hastaları ile kontrol grubunun cinsiyet açısından karşılaştırılması.

Cinsiyet	Gruplar	
	Hashimoto Tiroiditi (n=139)	Sağlıklı Kontrol (n=50)
Erkek		
Sayı (%)	13 (9,4)	5 (10)
Kadın		
Sayı (%)	126 (90,6)	45 (90)

P=0,489

Hashimoto tiroiditli tüm hastalarla kontrol grubunun biyokimyasal, hormonal ve inflamatuvar parametrelerinin karşılaştırılması Tablo 2’de ve ötiroidi, subklinik hipotiroidi, aşikar hipotiroidi ve kontrol grubu arasında biyokimyasal, hormonal ve inflamatuvar parametrelerin karşılaştırılması Tablo 3’te verilmiştir

Tablo 3’te görüldüğü gibi çalışmamızda ötiroidi grubunun yaş ortalaması 39,7±10,9, subklinik hipotiroidi grubunun yaş ortalaması 37,22±9,49, aşikar hipotiroidi grubunun yaş ortalaması 40,72±10,95 ve kontrol grubunun yaş ortalaması 35,02±10,96 olarak tespit edildi. Tüm Hashimoto tiroiditli hastaların yaş ortalaması

(39.02 ± 9.88) kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek tespit edildi(p=0,019)(tablo2). Kontrol grubu-subklinik hipotiroidi, ötiroidi- subklinik hipotiroidi, ötiroidi-aşikar hipotiroidi ve subklinik hipotiroidi –aşikar hipotiroidi arasında anlamlı farklılık izlenmedi(tablo 3).

Tablo 2’de görüleceği gibi glukoz düzeyleri kontrol grubunda ortalama 91 mg/dl, tüm Hashimoto tiroiditi hastalarının olduğu grupta ortalama 95 mg/dl olarak tespit edildi. Hashimoto tiroiditi grubunda istatistiksel olarak anlamlı yüksek izlendi(p=0,036).

İnsülin düzeyleri açısından Hashimoto tiroiditli grup ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi. İnsülin direncinin bir göstergesi olan HOMA-IR indeksinde Hashimoto tiroiditi grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık izlenmedi(tablo 2). Kontrol grubunda 2,49, ötiroidi grubunda 2,67, subklinik hipotiroidi grubunda 2,48, aşikar hipotiroidi grubunda 2,54 olarak tespit edildi (tablo3).

Çalışmamızda 25(OH) D düzeyleri >30 ng/ml ise yeterli, 20-30 ng/ml ise vitamin D yetmezliği, <20 ng/ml ise vitamin D eksikliği ve <10 ise ciddi vitamin D eksikliği olarak değerlendirildi (37).

Çalışmaya alınan 189 hastanın 147sinde (%78) 25(OH)D eksikliği, 25inde (%13) 25(OH)D yetersizliği tespit edildi.17 kişide (%9) 25(OH)D düzeyi normaldi. Eksiklik saptanan 147 hastanın 45inde (%23) 25(OH)D ciddi eksiklik düzeyindeydi. Hashimoto tiroiditi grubunda da kontrol grubunda da 25(OH)D eksikliği %78 olarak saptandı.

Tablo 2 ve tablo 3’te görüleceği gibi 25 (OH) D, PTH, Ca ve ALP düzeyleri açısından Hashimoto tiroiditli grup ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık tespit edilmedi. Ancak ALP düzeyleri açısından ötiroid grup-kontrol grubu, aşikar hipotiroidi-kontrol grubu ve subklinik hipotiroidi -aşikar hipotiroidi grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlendi(sırasıyla p=0,012, p=0,002, p=0,013).

P düzeyleri Hashimoto tiroiditi grubunda ortalama 3,44±0,53 mg/dl ve kontrol grubunda ortalama 3,20±0,06 mg/dl olarak tespit edildi. Hashimoto tiroiditli grupta istatistiksel olarak anlamlı yüksek izlendi(p=0,011).

IL-2 düzeyleri açısından Hashimoto tiroiditi olan grupla kontrol grubu arasında anlamlı farklılık izlendi( $p=0,005$ ). IL-2 düzeyleri tüm Hashimoto tiroiditi grubunda ortalama 60 pg/ml ve kontrol grubunda ortalama 45 pg/ml olarak tespit edildi(tablo 2). En yüksek IL-2 ortalaması 69 pg/ml olarak aşikar hipotiroidi grubunda izlendi. Ötiroid grup- kontrol grubu, aşikar hipotiroidi- kontrol grubu, ötiroidi -subklinik hipotiroidi ve subklinik hipotiroidi -aşikar hipotiroidi grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık izlenirken, subklinik hipotiroidi- kontrol grubu ve ötiroid grup-aşikar hipotiroidi grupları arasında anlamlı farklılık izlenmedi(tablo 3).

IL-4 düzeyleri karşılaştırıldığında Hashimoto tiroiditli grupta kontrol grubuna göre anlamlı yüksek değerler tespit edildi( $p=0,016$ ). Hashimoto tiroiditi hastalarında IL-4 düzeyi anlamlı olarak yüksek izlendi. Hashimoto tiroiditi grubunda IL-4 düzeyleri ortalama 27 pg/ml ve kontrol grubunda ortalama 20 pg/ml olarak tespit edildi(tablo 2). IL-4 düzeyi en yüksek aşikar hipotiroidi grubunda 39 pg/ml olarak ve subklinik hipotiroidi grubunda 27 pg/ml olarak tespit edildi. Ötiroid grup-kontrol grubu ve subklinik hipotiroidi -aşikar hipotiroidi arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi(tablo 3).

IL-5 düzeyleri karşılaştırıldığında tüm Hashimoto tiroiditi grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmezken, aşikar hipotiroidide kontrol grubuna göre, subklinik hipotiroidi grubunda ötiroidi grubuna göre ve subklinik hipotiroidi grubunda aşikar hipotiroidi grubuna göre anlamlı yüksek izlendi(sırasıyla  $p=0,007$ ,  $p=0,012$ ,  $p<0,001$ ).

TNF  $\alpha$  düzeyleri Hashimoto tiroiditi grubunda sağlıklı kontrollere istatistiksel olarak anlamlı yüksek izlendi ( $p=0,001$ ). Ötiroid grup-subklinik hipotiroidi ve subklinik hipotiroidi -aşikar hipotiroidi arasında anlamlı farklılık izlenmezken en anlamlı fark aşikar hipotiroidi-kontrol grubu arasındaydı. Aşikar hipotiroidi grubunda TNF  $\alpha$  düzeyleri ortalama  $57,20\pm 22,74$  iken, kontrol grubunda  $39,11\pm 8,63$  olarak tespit edildi( $p=0,001$ )

Tablo 2'de görüleceği gibi IFN  $\gamma$  düzeylerinde tüm Hashimoto tiroiditi grubu ve kontrol grubu arasında anlamlı farklılık izlendi( $p<0,001$ )

Tablo 2.–Hashimoto tiroiditli tüm hastalarla kontrol grubunun biyokimyasal, hormonal ve inflamatuvar parametrelerinin karşılaştırılması.

	Hashimoto tiroiditi	Sağlıklı kontrol	p
Yaş (yıl)	39.02 ± 9.88	35.02 ± 10.96	<b>0.019*</b>
Glukoz (mg/dl)	95.38 ± 9.88	91.78 ± 1.01	<b>0.036*</b>
İnsülin (µIU/ml)	10.79 ± 5.80	11.21 ± 1.15	0.730
HOMA-IR	2.60 ± 1.72	2.49 ± 0.26	0.415
25(OH)D	14.88 ± 8.23	15.52 ± 1.34	0.977
PTH (pg/ml)	58.94 ± 23.32	54.40 ± 3.10	0.305
Ca (mg/dl)	8.98 ± 0.40	8.95 ± 0.04	0.557
P (mg/dl)	3.44 ± 0.53	3.20 ± 0.06	<b>0.011*</b>
ALP (IU/L)	70.35 ± 24.95	69.92 ± 2.67	0.930
IL-2 (pg/ml)	60.14 ± 30.87	45.79 ± 3.75	<b>0.005*</b>
IL-4 (pg/ml)	27.39 ± 39.95	20.54 ± 1.81	<b>0.016*</b>
IL-5 (pg/ml)	16.22 ± 34.02	15.62 ± 1.93	0.211
TNF α (pg/ml)	41.92 ± 85.09	39.11 ± 8.63	<b>0.001*</b>
IFN γ (pg/ml)	46.05 ± 40.49	47.89 ± 1.23	<b>&lt;0.001*</b>

\*p<0,05

Tablo 3.– Ötiroidi, subklinik hipotiroidi, aşikar hipotiroidi ve kontrol grubu arasında biyokimyasal, hormonal ve inflamatuvar parametrelerin karşılaştırılması.

	Ötiroid HT	Subklinik HT	Aşikar HT	Sağlıklı kontrol	p
Yaş(yıl)	39,7 ± 10,9	37,22 ± 9,49	40,72 ± 10,95	35,02 ± 10,96	<b>0,053*</b>
Glukoz(mg/dl)	96,02 ± 1,47	96,08 ± 1,36	92,84 ± 1,51	91,78 ± 1,01	<b>0,044*</b>
İnsülin (µIU/ml)	10,41 ± 0,82	10,52 ± 0,64	11,27 ± 1,15	11,21 ± 1,15	0,948
HOMA-IR	2,67 ± 0,29	2,48 ± 0,17	2,54 ± 0,26	2,49 ± 0,26	0,794
25(OH)D	15,85 ± 1,15	13,50 ± 1,12	15,59 ± 1,31	15,52 ± 1,34	0,355
PTH (pg/ml)	56,64 ± 3,16	59,95 ± 3,13	59,43 ± 4,14	54,40 ± 3,10	0,674
Ca (mg/dl)	9,02 ± 0,05	8,96 ± 0,05	8,96 ± 0,06	8,95 ± 0,04	0,912
P(mg/dl)	3,51 ± 0,06	3,26 ± 0,07	3,59 ± 0,08	3,20 ± 0,06	<b>&lt;0,001*</b>
ALP (IU/L)	73,38 ± 3,27	67,10 ± 2,88	70,10 ± 2,98	69,92 ± 2,67	0,501
IL-2 (pg/ml)	67,28 ± 3,97	47,35 ± 5,15	69,79 ± 3,01	45,79 ± 3,75	<b>&lt;0,001*</b>
IL-4 (pg/ml)	17,78 ± 1,73	27,80 ± 2,58	39,04 ± 11,62	20,54 ± 1,81	<b>&lt;0,001*</b>
IL-5(pg/ml)	12,99 ± 0,59	18,84 ± 7,76	16,80 ± 1,82	15,62 ± 1,93	<b>0,001*</b>
TNF α (pg/ml)	23,25 ± 2,31	49,06 ± 9,96	57,20 ± 22,74	39,11 ± 8,63	<b>0,001*</b>
IFN γ (pg/ml)	44,02 ± 9,39	52,92 ± 2,85	39,34 ± 1,47	47,89 ± 1,23	<b>&lt;0,001*</b>

\*p<0,05

Tablo 4'te görüleceği gibi sT4 düzeyi ile IL-4 arasında p değeri 0,002 ve negatif zayıf korelasyon izlendi. sT4 ile IL-5 arasında p değeri 0,037 ve çok zayıf negatif korelasyon tespit edildi. sT4 ile TNF  $\alpha$  arasında p değeri 0,041 ve çok zayıf negatif korelasyon izlendi. TSH düzeyi ile IL-4, TNF  $\alpha$  ve IFN  $\gamma$  arasında zayıf pozitif korelasyon izlendi. 25(OH)D ile TNF  $\alpha$  arasında çok zayıf negatif korelasyon izlendi. ALP ve IFN  $\gamma$  arasında çok zayıf negatif korelasyon izlendi.

Hashimoto tiroiditi grubunda 25(OH)D ile PTH arasında çok zayıf negatif korelasyon tespit edildi. Kontrol grubunda 25(OH)D ile TSH ve PTH düzeyleri arasında zayıf negatif korelasyon tespit edildi.

Tablo 4. Hashimoto tiroiditi olan hastaların biyokimyasal, hormonal parametreler ve inflamatuvar markerlarının korelasyon analizi.

	IL-2		IL-4		IL-5		TNF $\alpha$		IFN- $\gamma$	
	R	P	R	P	R	P	R	P	R	P
Yaş (yıl)	,092	,292	,044	,613	,164	,058	-,036	,682	-,032	,713
Glukoz (mg/dl)	-,042	,631	,048	,578	,134	,122	-,032	,712	-,068	,437
İnsülin ( $\mu$ IU/ml)	-,029	,738	,001	,994	,007	,933	,073	,402	-,031	,720
HOMA-IR	-,045	,603	-,024	,783	,072	,409	,034	,694	-,096	,272
sT3 (pg/ml)	-,100	,250	-,059	,498	-,028	,747	-,022	,798	,140	,106
sT4 (ng/dl)	-,116	,183	-,266	,002	-,180	,037	-,177	,041	-,109	,209
TSH ( $\mu$ IU/ml)	-,002	,979	,365	,000	,083	,341	,234	,006	,314	,000
25(OH)D	-,044	,616	,020	,815	,094	,278	-,170	,049	-,030	,734
PTH (pg/ml)	,133	,124	,111	,201	-,021	,811	-,076	,386	-,070	,419
Ca (mg/dl)	-,012	,886	-,042	,630	-,057	,512	-,018	,832	-,002	,983
P (mg/dl)	,032	,714	-,050	,564	-,012	,888	,017	,844	,029	,742
ALP (IU/L)	-,020	,822	-,079	,363	,044	,612	-,104	,231	-,169	,051

Hashimoto tiroiditi grubunda yaş ve glukoz arasında orta, yaşla ALP, PTH ve Ca arasında zayıf pozitif, yaşla sT3 arasında zayıf negatif korelasyon tespit edildi. PTH ile ALP, insülin ve HOMA-IR arasında çok zayıf pozitif korelasyon tespit edildi. IL-4 ile sT4 arasında zayıf negatif, IL-4 ile TSH arasında zayıf pozitif korelasyon tespit edildi. Glukoz ile P arasında zayıf negatif, HOMA-IR ile P arasında çok zayıf negatif korelasyon tespit edildi. TSH ile TNF  $\alpha$ , IL-4 ve IFN  $\gamma$  arasında zayıf pozitif; sT4 ile IL-4 arasında zayıf, sT4 ile TNF  $\alpha$  ve IL-5 arasında çok zayıf negatif korelasyon tespit edildi. IL-2 ile IFN  $\gamma$  arasında zayıf negatif, IL-2 ile IL-5 arasında zayıf pozitif korelasyon tespit edildi. IL-4 ve IFN  $\gamma$  arasında zayıf pozitif korelasyon izlendi.

Kontrol grubunun biyokimyasal parametre ve inflamatuvar marker analizi yapıldığında ise 25(OH)D ile IL-4 arasında zayıf negatif korelasyon ve Ca ile IL-4 arasında zayıf negatif korelasyon tespit edildi.

Kontrol grubunda yaşla glukoz arasında orta, yaşla PTH arasında zayıf pozitif korelasyon tespit edildi. Yaşla Ca düzeyleri arasında zayıf negatif korelasyon tespit edildi. sT3 ile PTH arasında orta negatif, TSH ile 25(OH)D arasında zayıf negatif korelasyon tespit edildi. TSH ve P arasında zayıf pozitif korelasyon tespit edildi. IL-4 ile IL-5 arasında zayıf pozitif, IL-4 ile TNF  $\alpha$  arasında zayıf negatif, IL-5 ile TNF  $\alpha$  arasında orta negatif ve IFN  $\gamma$  ile TNF  $\alpha$  arasında zayıf pozitif korelasyon tespit edildi.



Tablo 5. Kontrol grubunda biyokimyasal, hormonal parametreler ve inflamatuvar markerların korelasyon analizi.

	IL-2		IL-4		IL-5		TNF $\alpha$		IFN- $\gamma$	
	R	P	R	P	R	P	R	P	R	P
Yaş (yıl)	-,015	,916	,024	,867	,129	,372	,111	,444	,007	,962
Glukoz (mg/dl)	-,194	,177	,034	,813	-,055	,704	,098	,500	-,076	,600
İnsülin ( $\mu$ IU/ml)	,040	,784	,149	,302	-,058	,688	-,110	,446	-,070	,631
HOMA-IR	,012	,934	,142	,324	-,097	,503	-,077	,597	-,074	,610
sT3 (pg/ml)	,0131	,366	,223	,120	-,060	,680	-,167	,247	-,136	,346
sT4(ng/dl)	,158	,273	,107	,460	-,049	,733	-,052	,718	-,016	,913
TSH ( $\mu$ IU/ml)	,024	,869	,148	,304	,198	,169	-,117	,418	-,073	,614
25(OH)D	,234	,102	-,283	,047	-,247	,084	-,049	,737	,018	,901
PTH(pg/ml)	-,019	,895	,124	,391	,084	,560	,049	,738	,132	,361
Ca(mg/dl)	,001	,997	-,273	,056	-,216	,132	-,117	,420	,031	,830
P(mg/dl)	,080	,583	-,059	,683	-,098	,499	,123	,394	-,049	,737
ALP(IU/L)	-,052	,722	,113	,434	,128	,374	-,088	,546	,051	,726

FOK-1 genotip dağılımı analizinde ötiroid Hashimoto tiroiditli grubun %49unda FF genotipi (n=24), %36.7sinde Ff genotipi (n=18) ve %14.3ünde ff genotipi (n=7) tespit edildi. Subklinik hipotiroidili Hashimoto tiroiditli grubun %46.9unda FF genotipi (n=23), %38.8inde Ff genotipi (n=19) ve %14.3ünde ff genotipi (n=7) tespit edildi. Aşıkır hipotiroidisi olan Hashimotolu hasta grubunun %36.8inde FF genotipi(n=14), %52.6sında Ff genotipi (n=20) ve %10.5inde ff genotipi (n=4) olarak tespit edildi. Kontrol grubunun %58inde FF genotipi (n=29), %32sinde Ff genotipi (n=16), %10unda ff genotipi (n=5) tespit edildi. Ötiroid, subklinik hipotiroidi ve kontrol grubunda FOK I genotipi dağılımında FF genotipi en yüksek oranda izlenirken, aşıkır hipotiroidi grubunda Ff genotipi en yüksek oranda tespit edildi. Tüm Hashimoto tiroiditi hastalarının olduğu grup ile kontrol grubu karşılaştırıldığında FOK-1 genotipleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık

izlenmedi ( $p=0,282$ ) (tablo 6). Ötiroid grup, subklinik hipotiroidili grup, aşikar hipotiroidili grup ve kontrol grubu karşılaştırıldığında da yine istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi ( $p=0,527$ ).

TAQ-1 genotip dağılımı analizinde kontrol grubunun %34ünde TT genotipi ( $n=17$ ), %38inde Tt genotipi ( $n=19$ ) ve %28inde tt genotipi ( $n=14$ ) tespit edildi. Ötiroid Hashimoto tiroiditli grubun %46.9unda TT genotipi ( $n=23$ ), %32.7sinde Tt genotipi ( $n=16$ ) ve %20.4ünde tt genotipi ( $n=10$ ) tespit edildi. Subklinik hipotiroidili Hashimoto tiroiditli grubun %55.1inde TT genotipi ( $n=27$ ), %38.8inde Tt genotipi ( $n=19$ ) ve %6.1inde tt genotipi ( $n=3$ ) tespit edildi. Aşikar hipotiroidisi olan Hashimotolu hasta grubunun %31.6sında TT genotipi, %55.3ünde Tt genotipi ( $n=21$ ) ve %13.2sinde tt genotipi ( $n=5$ ) olarak tespit edildi. Ötiroid grupta ve subklinik hipotiroidili grupta TT genotipi, aşikar hipotiroidi grubu ve kontrol grubunda Tt genotipi en yüksek oranda tespit edildi. Tüm Hashimoto tiroiditi olan hasta grubu ile kontrol grubu TAQ-1 genotipleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak sınırdan anlamlı farklılık izlendi ( $p=0,053$ ) (tablo 6). Ötiroid grup, subklinik hipotiroidili grup, aşikar hipotiroidili grup ve kontrol grubu ayrı ayrı karşılaştırıldığında yine istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlendi ( $p=0,025$ )

**Tablo 6:** Gruplar arasında FOK I ve TAQ-I polimorfizmi genotip dağılımı.

	Ötiroid Hashimoto Tiroiditi n (%)	Supklinik Hashimoto Tiroiditi n (%)	Aşikar Hashimoto Tiroiditi n (%)	Kontrol n (%)
<b>FOK-I</b>				
FF	24 (49)	23 (46.9)	14 (36.8)	29 (58)
Ff	18 (36.7)	19 (38.8)	20 (52.6)	16 (32)
ff	7 (14.3)	7 (14.3)	4 (10.5)	5 (10)
			$\chi^2= 2,531$ df=2 $p=0.282$	
<b>TAQ-I</b>				
TT	23 (46.9)	27 (55.1)	12 (31.6)	17 (34)
Tt	16 (32.7)	19 (38.8)	21 (53.3)	19 (38)
tt	10 (20.4)	3 (6.1)	5 (13.2)	28 (14)
			$\chi^2=5,880$ df=2 $p=0.053$	

FOK-1 analizinde FF, Ff ve ff genotipine sahip Hashimoto tiroiditli hastalarda yaş, glukoz, insülin, HOMA-IR, sT3,sT4, TSH, 25(OH)D, PTH, Ca, P, ALP, IL-2, IL-4, IL-5, TNF  $\alpha$  ve IFN  $\gamma$  düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

Tablo 7. Hashimoto tiroiditi olan grupta FokI gen polimorfizm dağılımının biyokimyasal, hormonal ve inflamatuvar parametrelere göre istatistiksel analizi.

	FF n=61	Ff n=57	Ff n=18	P
Yaş (yıl)	38,55 $\pm$ 11,08	39,43 $\pm$ 10,35	38,70 $\pm$ 9,68	0,817
Glukoz(mg/dl)	95,37 $\pm$ 10,63	94,76 $\pm$ 9,44	96,58 $\pm$ 8,51	0,789
İnsülin( $\mu$ IU/L)	11,03 $\pm$ 5,13	10,20 $\pm$ 6,54	11,81 $\pm$ 5,88	0,141
HOMA-IR	2,57 $\pm$ 1,39	2,55 $\pm$ 2,12	2,81 $\pm$ 1,53	0,303
sT3(pg/ml)	2,86 $\pm$ 0,51	2,77 $\pm$ 0,56	2,93 $\pm$ 0,36	0,361
sT4(ng/dl)	1,08 $\pm$ 0,23	1,05 $\pm$ 0,30	1,10 $\pm$ 0,24	0,696
TSH( $\mu$ IU/ml)	10,41 $\pm$ 17,08	26,65 $\pm$ 85,95	6,51 $\pm$ 7,44	0,499
25(OH)D	14,49 $\pm$ 8,57	15,16 $\pm$ 7,47	15,04 $\pm$ 9,43	0,512
PTH(pg/ml)	61,51 $\pm$ 26,30	57,43 $\pm$ 22,33	54,35 $\pm$ 12,28	0,713
Kalsiyum(mg/dl)	8,96 $\pm$ 0,42	9,03 $\pm$ 0,40	8,97 $\pm$ 0,34	0,606
Fosfor(mg/dl)	3,37 $\pm$ 0,47	3,49 $\pm$ 0,93	3,50 $\pm$ 0,42	0,381
ALP(IU/L)	70,98 $\pm$ 24,43	70,49 $\pm$ 18,66	66,11 $\pm$ 16,11	0,822
IL-2	60,82 $\pm$ 35,01	61,65 $\pm$ 25,44	57,22 $\pm$ 33,36	0,790
IL-4	32,44 $\pm$ 57,38	23,63 $\pm$ 17,69	22,62 $\pm$ 9,24	0,740
IL-5	20,94 $\pm$ 50,73	12,84 $\pm$ 5,94	11,58 $\pm$ 4,96	0,512
TNF $\alpha$	37,79 $\pm$ 52,28	42,42 $\pm$ 115,0	49,60 $\pm$ 66,92	0,600
IFN $\gamma$	43,37 $\pm$ 18,57	51,76 $\pm$ 59,79	38,74 $\pm$ 9,11	0,593

TAQ-1 analizinde TT, Tt, tt genotipine sahip Hashimoto tiroiditli hastalarda sadece IFN-  $\gamma$  açısından istatistiksel anlamlı farklılık izlendi (p=0,034).tt genotipinde olan hastalarda IFN-  $\gamma$  düzeyi anlamlı olarak düşük saptandı.

Tablo 8. Hashimoto tiroiditi olan grupta Taq I gen polimorfizm dağılımının biyokimyasal, hormonal ve inflamatuvar parametrelere göre istatistiksel analizi.

	TT n=62	Tt n=56	tt n=18	P
Yaş (yıl)	39,81 ± 10,38	40,09 ± 9,49	32,66 ± 12,29	0,033
Glukoz(mg/dl)	95,6 ± 10,09	94,94 ± 9,58	95,16 ± 10,23	0,779
İnstülin( $\mu$ IU/L)	10,34 ± 6,57	10,96 ± 5,27	11,70 ± 4,92	0,166
HOMA-IR	2,63 ± 2,19	2,53 ± 1,28	2,67 ± 1,21	0,344
sT3(pg/ml)	2,81 ± 0,40	2,87 ± 0,55	2,78 ± 0,726	0,653
sT4(ng/dl)	1,12 ± 0,25	1,02 ± 0,28	1,06 ± 0,24	0,200
TSH( $\mu$ IU/ml)	10,24 ± 17,19	13,93 ± 21,53	46,54 ± 146,7	0,187
25(OH)D	15,39 ± 8,28	14,25 ± 7,92	14,80 ± 8,97	0,852
PTH(pg/ml)	56,19 ± 19,43	62,13 ± 26,18	58,22 ± 25,90	0,850
Kalsiyum(mg/dl)	9,04 ± 0,44	8,99 ± 0,35	8,84 ± 0,36	0,353
Fosfor(mg/dl)	3,37 ± 0,48	3,46 ± 0,60	3,59 ± 0,51	0,436
ALP(IU/L)	70,61 ± 21,37	69,13 ± 19,14	71,55 ± 26,33	0,932
IL-2	56,02 ± 27,59	62,19 ± 28,45	71,91 ± 44,33	0,468
IL-4	25,94 ± 22,06	30,93 ± 58,25	22,37 ± 17,99	0,208
IL-5	19,98 ± 50,41	13,43 ± 6,54	12,66 ± 3,80	0,957
TNF $\alpha$	333,08 ± 37,79	56,12 ± 127,03	24,82 ± 11,80	0,859
IFN $\gamma$	47,30 ± 23,26	48,47 ± 59,12	36,53 ± 10,31	<b>0,034*</b>

\*:p<0,05

## 5. TARTIŞMA

Vitamin D eksikliği tüm dünyada 1 milyardan fazla insanı etkilediği bilinen önemli bir sağlık problemidir. D vitamini eksikliği prevalansı tüm dünyada artmaktadır (12,40). 2005-2006 yılları arasında yapılan National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) çalışmasında 20 yaş ve üstü erişkinlerde 25(OH)D düzeyi <20 ng/ml olanların oranı %41,6 olarak bulunmuştur (38,40,86).

Türkiye’de 25(OH)D düzeyi ile Hashimoto tiroiditi arasında ilişkiyi ve Hashimotolu hastalarda VDR gen polimorfizmini belirlemek için yapılan çalışmalar mevcuttur. Ancak bizim çalışmamız hem D vitamini düzeyi ile Hashimoto tiroiditi arasında ilişkiyi hem de VDR gen polimorfizmini birlikte araştıran ilk çalışmadır. Ayrıca bizim bilgimize göre literatürde daha önce IL-2, IL-4, IL-5, TNF $\alpha$  ve IFN  $\gamma$  düzeyini de beraberinde araştıran bir çalışma bulunmadığından bizim çalışmamız bu konuda ilk olma özelliğini taşımaktadır.

Hashimoto tiroiditi olan grupta ortalama 25 (OH)D düzeyi 14, 88  $\pm$ 8,23 ng/ml ve kontrol grubunda ortalama 15,52 $\pm$ 1,34 ng/ml olup gruplar arasında D vitamini düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık izlenmedi.(p=0.977) Ötiroidi grubunda 15,85 $\pm$ 1,15, subklinik hipotiroidi grubunda 13,5 $\pm$ 1,12 ve aşikar hipotiroidi grubunda 15,59 $\pm$ 1,31 olarak bulundu. Katılımcıların %78inde D vitamini eksikliği, %13ünde D vitamini yetersizliği tespit edilirken %9unda D vitamini düzeyi normal saptandı. Bu düşük düzeyler ülkemizde D vitamini eksikliğinin ciddi boyutlarda olduğunu göstermektedir. TURDEP-2 çalışmasında Türkiye’de vitamin D eksikliği prevalansı %93 olarak bulunmuştur (87). 2006 yılında Erkal ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Türkiye’de toplumun %78inden fazlasında serum 25(OH)D düzeyinin 25 ng/ml’den düşük olduğu gösterilmiştir. Bu da bizim çalışmamızla uyumlu bir sonuç olarak değerlendirilebilir (88).

Tamer ve arkadaşlarının 161 Hashimoto tiroiditli hasta ve 162 sağlıklı kontrolle yaptığı çalışmada Hashimoto tiroiditli hastalarda vitamin D eksikliği prevalansı (%92) sağlıklı kontrollere göre (%63) anlamlı yüksek saptanmıştır(p<0,001). Hashimoto tiroiditli grupta 25(OH)D düzeyi ortalama 16,3  $\pm$ 10 ng/ml, sağlıklı kontrollerde 29,6  $\pm$ 25,5 saptanmıştır (89). Bu çalışmada kontrol

grubunun 25(OH)D düzeyi ortalaması bizim çalışmamızdan çok daha yüksek çıkmıştır. Bu da bizim kontrol grubunun büyük bir kısmının örneklerini Aralık-Şubat ayları arasında toplamamızdan kaynaklanıyor olabilir.

Bozkurt ve arkadaşları 180 tiroid hormon replasmanı alan ve ötiroid olan Hashimoto tiroiditli, 180 ötiroid yeni tanı Hashimoto tiroiditli hasta ve 180 sağlıklı kontrolün dahil edildiği çalışma yapmışlar, en düşük vitamin D düzeyini tiroid replasmanı alan ötiroid grupta  $11,4 \pm 5,2$  olarak bulmuşlardır. Aynı çalışmada Hashimoto tiroiditli hastaların %94,4 ünde 25(OH)D düzeyleri 25 ng/ml'den düşük saptanmış ve hastaların %42,8inde ciddi vitamin D eksikliği (<10ng/ml) tespit edilmiştir (90). Bizim çalışmamızda Hashimoto tiroiditli hastalarda 25 ng/ml'den düşük 25(OH)D düzeyleri %84, ciddi vitamin D eksikliği %23 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmayla karşılaştırılınca bizim çalışmamızda <25 ng/ml düzeyinde ve ciddi D vitamini eksikliği daha az oranda görülmüştür. Bu örnek alınan popülasyonun giyim tarzı ve yaşam tarzı farklılıklarından kaynaklanıyor olabilir.

Dünyanın farklı ülkelerinde D vitamini düzeyi açısından farklı oranlar görülmektedir.

Kivity ve arkadaşları İsrail'de yaptıkları ve 50 otoimmün tiroidit hastasının, 42 nonotoimmün tiroid hastasının ve 98 sağlıklı kontrolün katıldığı çalışmada otoimmün tiroiditli hastalarda D vitamini eksikliği (<10 ng/ml) prevalansını %79 olarak tespit etmiş ve sağlıklı popülasyona göre (%52) istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulmuşlardır.( $p < 0,05$ ) (91). Bizim çalışmamızda <10 ng/ml D vitamini düzeyi olan Hashimotolu hastaların ve sağlıklı kontrol grubunun oranı sırasıyla %24 ve %23 saptanmış olup istatistiksel açıdan farklılık izlenmemiştir ( $p > 0,05$ ).

Düşük D vitamini düzeyi ile insülin direnci ve Tip 2 DM gelişimi arasında ilişkiyi gösteren çalışmalar mevcuttur (92). Vitamin D ile tip 2 DM, metabolik sendrom, obezite, hipertansiyon ve ateroskleroz gibi hastalıkların ilişkisinin , vitamin D'nin insülin rezistansı, insülin sekresyonu ve inflamatuvar süreçler üzerindeki etkisine bağlı olduğu çeşitli çalışmalarda rapor edilmiştir (93,94).

Vitamin D eksikliğinin kalsiyum absorpsiyonunda azalmayla neden olduğu sekonder hiperparatiroidizm nedeniyle insülin sekresyonunda azalmaya ve periferik insülin direncinde artışa neden olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (95).

Bizim çalışmamızda glukoz düzeyleri Hashimoto tiroiditi grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı yükseklik saptandı( $p=0.036$ ). Ancak insülin düzeyleri ve HOMA-IR indeksinde gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık yoktu.

HOMA-IR ile 25(OH)D arasında yapılan korelasyon analizinde de anlamlı farklılık tespit edilmedi. Hem Hashimoto tiroiditi olanlarda hem de kontrol grubunda insülin direnci açısından farklılık olmaması 25(OH)D düzeyi sonuçlarını etkilememesi açısından çalışmayı güçlendirici bir özelliktir.

Th1 hücreleri IFN  $\gamma$ , IL-2 ve TNF  $\alpha$  sekrete eder.Th2 hücreleri IL-4 ve IL-5 sekrete ederler. Yapılan bazı çalışmalarda vitamin D'nin direk olarak Th1'lerin sitokin salınımını inhibe ettiği ve Th2'lerin sitokinlerinin üretimini artırdığı gösterilmiştir(75). Yine bazı çalışmalar 25(OH)D nin otoimmün hastalıkların oluşumunu IL-2, IL-5,TNF  $\alpha$  ve IFN  $\gamma$ 'yı Th1 hücreleri suprese ederek azaltıp, IL-4 ve TGF $\beta$  gibi sitokinleri de Th2 hücreleri uyarak engellediğini göstermiştir (41).

Otoimmün bir hastalık olan Hashimoto hastalığında sitokinlerin düzeyi ve 25(OH)D eksikliğinin etkisini belirlemek için IL-2, IL-4, IL-5, TNF  $\alpha$  ve IFN  $\gamma$  çalıştık. IL-2, IL-4,TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  Hashimoto tiroiditi olan hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanırken, IL-5 düzeyi açısından anlamlı farklılık saptanmadı. IL-2 ötiroid grupta  $67,28\pm3,97$ , subklinik hipotiroidi grubunda  $47,35\pm5,15$ , aşikar hipotiroidi grubunda  $69,79\pm3,01$ ve kontrol grubunda  $45,79\pm3,75$  saptandı.IL-4 ötiroid grupta  $17,78\pm1,73$ , subklinik hipotiroidi grubunda  $27,80\pm2,58$ , aşikar hipotiroidi grubunda  $39,04\pm11,62$  ve kontrol grubunda  $20,54\pm1,81$  saptandı. TNF $\alpha$  ötiroid grupta  $23,25\pm2,31$ , subklinik hipotiroidi grubunda  $49,06\pm9,96$ , aşikar hipotiroidi grubunda  $57,20\pm22,74$  ve kontrol grubunda  $39,11\pm8,63$  saptandı. IFN  $\gamma$  ötiroid grupta  $44,02\pm9,39$ , subklinik hipotiroidi grubunda  $52,92\pm2,85$ , aşikar hipotiroidi grubunda  $39,34\pm1,47$  ve kontrol grubunda  $47,89\pm1,23$  saptandı. 25(OH)D ile bu sitokinler arasında yapılan korelasyon analizinde de anlamlı bulgu saptanmadı. Çalışmamızda hem Hashimoto tiroiditi olan grupta hem kontrol grubunda 25(OH)D düzeyi düşük olduğu halde sadece Hashimoto tiroiditli grupta inflamatuvar parameterlerin yüksek saptanmış olması D vitamini eksikliğinin Hashimoto patogenezinde sitokinler üzerinden etkili olmadığını düşündürmektedir.

Vitamin D reseptörleri T lenfosit ve makrofajlarda anlamlı konsantrasyonlarda izlenir. Vitamin D reseptör gen polimorfizmi ve vitamin D düzeyi Tip 1 DM, MS, inflamatuvar bağırsak hastalıkları gibi çeşitli otoimmün hastalıklarla ilişkili bulunmuştur (80).

VDR geninde 30'dan fazla polimorfizm bulunmuştur. En yaygın 4 polimorfizmin otoimmün hastalıklarla ilişkisi çalışılmıştır. Bunlar Fok I(ekzon 2), Bsm I(intron 8), Apa I(intron 8) ve Taq I(ekzon 9) (81,82). Biz de çalışmamızda Fok I ile Taq I genotip polimorfizmine baktık.

Türkiye'de VDR genotip dağılımını incelemek için yapılan bir çalışmada Fok I geninin FF genotipi %55, Ff genotipi %36 ve ff genotipi %9 olarak, Taq I geninin TT genotipi %35, Tt genotipi %49 ve tt genotipi %16 olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda FF genotipi %49, Ff genotipi %39, ff genotipi %12, TT genotipi %42, Tt genotipi %40, tt genotipi %17 bulunmuştur. Bu da Türkiye geneli ile uyumludur (96).

Çalışmamızda FOK-1 genotip dağılımı analizinde ötiroid Hashimoto tiroiditli grubun %49unda FF genotipi (n=24), %36.7sinde Ff genotipi (n=18) ve %14.3ünde ff genotipi (n=7) tespit edildi. Subklinik hipotiroidili Hashimoto tiroiditli grubun %46.9unda FF genotipi (n=23), %38.8inde Ff genotipi (n=19) ve %14.3ünde ff genotipi (n=7) tespit edildi. Aşikar hipotiroidisi olan Hashimotolu hasta grubunun %36.8inde FF genotipi(n=14), %52.6sında Ff genotipi (n=20) ve %10.5inde ff genotipi (n=4) olarak tespit edildi. Kontrol grubunun %58inde FF genotipi (n=29), %32sinde Ff genotipi (n=16), %10unda ff genotipi (n=5) tespit edildi. Aşikar hipotiroidide Ff genotipi en yüksek oranda izlenirken ötiroid, subklinik hipotiroidi grubu ve kontrol grubunda FF genotipi en yüksek oranda izlendi.

Yazıcı ve arkadaşlarının yaptığı 111 Hashimoto tiroiditli ve 159 sağlıklı kontrolden oluşan çalışmada Bsm I ve Apa I genotip dağılımı açısından gruplar arasında farklılık izlenmezken, Taq I TT genotipi ile Fok I FF genotipinin Hashimoto tiroiditi için artmış riskle ilişkili olduğu gösterilmiştir.(97)

Çalışmamızda ötiroid, subklinik, aşikar hipotiroidi grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında Fok I genotip dağılımında gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmezken Taq I genotip dağılımında istatistiksel olarak anlamlı farklılık



izlendi( $p=0.025$ ). Tüm Hashimoto tiroiditli hasta grubu ve sağlıklı kontroller karşılaştırıldığında ise FokI genotipi dağılımında yine bir farklılık yokken TaqI geninin genotip dağılımında sınırlı anlamlılık tespit edildi( $p=0.053$ )

Ramoz ve arkadaşları otoimmün tiroid hastalıklarında VDR BsmI ve Taq I polimorfizmi çalışmış ve bizim çalışmamızdan farklı olarak bu genlerdeki polimorfizmin otoimmün tiroid hastalıkları gelişimini etkilemediğini göstermişlerdir (98).

Feng ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise BsmI ve TaqI ile otoimmün tiroid hastalığı gelişimi arasında anlamlı ilişki bulunurken, Fok I ve Apa I ile anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Bu da Taq I ve Fok I açısından bizim çalışmamızla uyumludur (99).

Lin ve arkadaşları Çin'de yaptıkları çalışmada 109 Hashimoto tiroiditli hastada VDR polimorfizmi araştırmış, ekzon 2'de yer alan VDR Fok I polimorfizminin homozigot C/C(FF) formunu taşıyan Çinlilerde Hashimoto tiroiditi gelişme riskinin daha yüksek olduğu sonucuna varmışlardır (10). FF genotipi Hashimotolu hastalarda %36,7, kontrol grubunda %23,3 olarak tespit edilmiştir.  $p=0,0458$ . Bizim çalışmamızda FOK I FF genotipi Hashimoto tiroiditli hastalarda %44,9 kontrol grubunda %58 olarak bu çalışmadan farklı saptandı. Hem Hashimoto tiroiditli grup hem kontrol grubu en sık FF genotipine sahipti ve gruplar arasında istatistiksel açıdan anlamlı farklılık izlenmedi ( $p=0,282$ ).

Taq I için yapılan korelasyon analizinde TT, Tt, tt genotipine sahip Hashimoto tiroiditli hastalarda sadece IFN-  $\gamma$  açısından istatistiksel anlamlı farklılık izlendi( $p=0.034$ ). tt genotipinde olan hastalarda IFN-  $\gamma$  düzeyi anlamlı olarak düşük saptandı. Bu ilişki daha büyük hasta popülasyonlarında çalışılırsa anlamlı sonuçlar çıkabilir.

## 6. SONUÇLAR

Hashimoto tiroiditi olan hastalarda vitamin D düzeyi, IL-2, IL-4, IL-5, TNF  $\alpha$  ve IFN  $\gamma$  düzeyleri ile VDR gen polimorfizmini araştırmak için yapılan bu çalışmanın sonuçlarına göre:

- Hashimoto tiroiditi olan hastalarda sağlıklı kontrollere göre D vitamini düzeyleri açısından farklılık yoktur.
- Hashimoto tiroiditli hastalarda IL-2, IL-4, TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  düzeyleri sağlıklı popülasyona göre yüksektir.
- VDR Taq I gen polimorfizmiyle Hashimoto tiroiditi arasında ilişki mevcuttur ancak Fok I gen polimorfizmiyle ilişki bulunmamaktadır
- Bu konuda daha büyük hasta gruplarıyla yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır

## KAYNAKLAR

- 1) İlicin G, Unal S, Biberoglu K, Akalin S, Suleymanlar G, İc Hastalıkları Cilt 2 3. Baskı, Ankara Gunes Kitabevi ISBN 978-975-277-419-3. S:2019-2021
- 2) Volpe R. Autoimmune thyroiditis. In: Braverman LE, Utiger RD, editors. Werner and Ingbar's the thyroid, 5th ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1991: S. 921.
- 3) Cantorna, M.T., et al., Vitamin D status, 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>, and the immune system. *Am J Clin Nutr*, 2004. 80(6 Suppl): p. 1717S-20S.
- 4) Holick, M.F., Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr*, 2004. 80(6 Suppl): p. 1678S-88S.
- 5) Ward, L.M., Vitamin D deficiency in the 21st century: a persistent problem among Canadian infants and mothers. *CMAJ*, 2005. 172(6): p. 769-70.
- 6) Deluca, H.F. and M.T. Cantorna, Vitamin D: its role and uses in immunology. *FASEB J*, 2001. 15(14): p. 2579-85.
- 7) Bischoff-Ferrari, H.A., Optimal serum 25-hydroxyvitamin D levels for multiple health outcomes. *Adv Exp Med Biol*, 2008. 624: p. 55-71.
- 8) Van Etten, E. and C. Mathieu, Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>: basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2005. 97(1-2): p. 93-101.
- 9) Chen, S., et al., Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on human B cell differentiation. *J Immunol*, 2007. 179(3): p. 1634-47.
- 10) Lin, W.Y., et al., Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with risk of Hashimoto's thyroiditis in Chinese patients in Taiwan. *J Clin Lab Anal*, 2006. 20(3): p. 109-12.
- 11) Masters, P.A. and R.J. Simons, Clinical use of sensitive assays for thyroid-stimulating hormone. *J Gen Intern Med*, 1996. 11(2): p. 115-27.

- 12) Jameson JL, Weetman AP. Tiroid bezi hastalıkları. In: Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, LongoDL, Jameson JL, editors. Çeviri editörü: Sağlıkler Y. Harrison Dç Hastalıkları Prensipleri (15. Edisyon). istanbul: Nobel Matbaacılık; 2004. S.2060-2075
- 13 Falk, S.A., Thyroid disease : endocrinology, surgery, nuclear medicine, and radiotherapy. 1990, New York: Raven Press. xxv, 644 p.
- 14) Fazio, S., et al., Effects of thyroid hormone on the cardiovascular system. Recent Prog Horm Res, 2004. 59: p. 31-50.
- 15) Poliklinika Vizim, Beograd. Anemia in hypothyroidism. Med Pregl 1999; 52:136- 40.
- 16) Galliford, T.M., et al., Effects of thyroid status on bone metabolism: a primary role for thyroid stimulating hormone or thyroid hormone? Minerva Endocrinol, 2005. 30(4): p. 237-46.
- 17) Tomer, Y., et al., Mapping the major susceptibility loci for familial Graves' and Hashimoto's diseases: evidence for genetic heterogeneity and gene interactions. J Clin Endocrinol Metab, 1999.84(12): p. 4656-64.
- 18) Wang, C. and L.M. Crapo, The epidemiology of thyroid disease and implications for screening. Endocrinol Metab Clin North Am, 1997. 26(1): p. 189-218.
- 19) Tunbridge, W.M. and M.P. Vanderpump, Population screening for autoimmune thyroid disease. Endocrinol Metab Clin North Am, 2000. 29(2): p. 239-53, v.
- 20) Zimmerman, R.S., et al., Hashimoto's thyroiditis. An uncommon cause of painful thyroid unresponsive to corticosteroid therapy. Ann Intern Med, 1986. 104(3): p. 355-7.
- 21) Takasu, N., et al., Test for recovery from hypothyroidism during thyroxine therapy in Hashimoto's thyroiditis. Lancet, 1990. 336(8723): p. 1084-6.

- 22) Jackson IMD, Hennessey JV, Thyroiditis. In: Becker KL, editors. Principles and practice of endocrinology and metabolism. Third edition. Lippincott Williams & Wilkins. S. 456-458.
- 23) Chistiakov, D.A., Immunogenetics of Hashimoto's thyroiditis. *J Autoimmune Dis*, 2005. 2(1): p. 1.
- 24) Pedersen, O.M., et al., The value of ultrasonography in predicting autoimmune thyroid disease. *Thyroid*, 2000. 10(3): p. 251-9.
- 25) Lorini, R., et al., Hashimoto's Thyroiditis. *Pediatr Endocrinol Rev*, 2003. 1 Suppl 2: p. 205-11; discussion 211.
- 26) Vanderpump, M.P., et al., The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Wickham Survey. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1995. 43(1): p. 55-68.
- 27) Huber, G., et al., Prospective study of the spontaneous course of subclinical hypothyroidism: prognostic value of thyrotropin, thyroid reserve, and thyroid antibodies. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002. 87(7): p. 3221-6.
- 28) Fatourech, V., W.M. McConahey, and L.B. Woolner, Hyperthyroidism associated with histologic Hashimoto's thyroiditis. *Mayo Clin Proc*, 1971. 46(10): p. 682-9.
- 29) Holick, M.F., The vitamin D epidemic and its health consequences. *J Nutr*, 2005. 135(11): p. 2739S-48S.
- 30) DeLuca, H.F., Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*, 2004. 80(6 Suppl): p. 1689S-96S.
- 31) Hypponen, E., et al., Intake of vitamin D and risk of type 1 diabetes: a birth-cohort study. *Lancet*, 2001. 358(9292): p. 1500-3.
- 32) Holick, M.F., Vitamin D and sunlight: strategies for cancer prevention and other health benefits. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2008. 3(5): p. 1548-54.

- 33) Veldman, C.M., M.T. Cantorna, and H.F. DeLuca, Expression of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) receptor in the immune system. *Arch Biochem Biophys*, 2000. 374(2): p. 334-8.
- 34) Cantorna, M.T., Vitamin D and its role in immunology: multiple sclerosis, and inflammatory bowel disease. *Prog Biophys Mol Biol*, 2006. 92(1): p. 60-4.
- 35) Merlino, L.A., et al., Vitamin D intake is inversely associated with rheumatoid arthritis: results from the Iowa Women's Health Study. *Arthritis Rheum*, 2004. 50(1): p. 72-7.
- 36) Vieth, R., What is the optimal vitamin D status for health? *Prog Biophys Mol Biol*, 2006. 92(1): p. 26-32.
- 37) Holick, M.F., Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. *Ann Epidemiol*, 2009. 19(2): p. 73-8.
- 38) Forrest, K.Y. and W.L. Stuhldreher, Prevalence and correlates of vitamin D deficiency in US adults. *Nutr Res*, 2011. 31(1): p. 48-54.
- 39) Lowe, K.E., A.C. Maiyar, and A.W. Norman, Vitamin D-mediated gene expression. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 1992. 2(1): p. 65-109.
- 40) Yetley, E.A., Assessing the vitamin D status of the US population. *Am J Clin Nutr*, 2008. 88(2): p. 558S-564S.
- 41) Looker, A.C., et al., Serum 25-hydroxyvitamin D status of the US population: 1988-1994 compared with 2000-2004. *Am J Clin Nutr*, 2008. 88(6): p. 1519-27.
- 42) Thomas, M.K., et al., Hypovitaminosis D in medical inpatients. *N Engl J Med*, 1998. 338(12): p. 777-83.
- 43) Gallagher, J.C., et al., Effects of vitamin D supplementation in older African American women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013. 98(3): p. 1137-46.
- 44) Valcour, A., et al., Effects of age and serum 25-OH-vitamin D on serum parathyroid hormone levels. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012. 97(11): p. 3989-95.

- 45) Garg, M.K., et al., The relationship between serum 25-hydroxy vitamin D, parathormone and bone mineral density in Indian population. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2014. 80(1): p. 41-6.
- 46) LeBoff, M.S., et al., Occult vitamin D deficiency in postmenopausal US women with acute hip fracture. *JAMA*, 1999. 281(16): p. 1505-11.
- 47) Adams, J.S. and M. Hewison, Update in vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010. 95(2): p. 471-8.
- 48) Heaney, R.P., et al., Vitamin D(3) is more potent than vitamin D(2) in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011. 96(3): p. E447-52.
- 49) 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.
- 50) Holick, M.F., Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest*, 2006. 116(8): p. 2062-72.
- 51) Holick, M.F., Vitamin D deficiency. *N Engl J Med*, 2007. 357(3): p. 266-81.
- 52) Holick, M.F., Vitamin D: important for prevention of osteoporosis, cardiovascular heart disease, type 1 diabetes, autoimmune diseases, and some cancers. *South Med J*, 2005. 98(10): p. 1024-7.
- 53) Samuel, S. and M.D. Sitrin, Vitamin D's role in cell proliferation and differentiation. *Nutr Rev*, 2008. 66(10 Suppl 2): p. S116-24.
- 54) Agmon-Levin, N., et al., Vitamin D in systemic and organ-specific autoimmune diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2013. 45(2): p. 256-66.
- 55) Van Belle, T.L., C. Gysemans, and C. Mathieu, Vitamin D in autoimmune, infectious and allergic diseases: a vital player? *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2011. 25(4): p. 617-32.

- 56) Baeke, F., et al., Human T lymphocytes are direct targets of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in the immune system. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2010. 121(1-2): p. 221-7.
- 57) Mathieu, C., et al., Vitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> as modulators in the immune system. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2004. 89-90(1-5): p. 449-52.
- 58) Mathieu, C. and L. Adorini, The coming of age of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> analogs as immunomodulatory agents. *Trends Mol Med*, 2002. 8(4): p. 174-9.
- 59) Sooy, K., et al., Calbindin-D(28k) controls [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> and insulin release. Evidence obtained from calbindin-d(28k) knockout mice and beta cell lines. *J Biol Chem*, 1999. 274(48): p. 34343-9.
- 60) Schwalfenberg, G.K., Solar radiation and vitamin D: mitigating environmental factors in autoimmune disease. *J Environ Public Health*, 2012. 2012: p. 619381.
- 61) Lucas, R.M., et al., Future health implications of prenatal and early-life vitamin D status. *Nutr Rev*, 2008. 66(12): p. 710-20.
- 62) Knip, M. and H.K. Akerblom, Early nutrition and later diabetes risk. *Adv Exp Med Biol*, 2005. 569: p. 142-50.
- 63) Munger, K.L., et al., Vitamin D intake and incidence of multiple sclerosis. *Neurology*, 2004. 62(1): p. 60-5.
- 64) Runia, T.F., et al., Lower serum vitamin D levels are associated with a higher relapse risk in multiple sclerosis. *Neurology*, 2012. 79(3): p. 261-6.
- 65) Andjelkovic, Z., et al., Disease modifying and immunomodulatory effects of high dose 1 alpha (OH) D<sub>3</sub> in rheumatoid arthritis patients. *Clin Exp Rheumatol*, 1999. 17(4): p. 453-6.
- 66) Burgaz, A., et al., Blood 25-hydroxyvitamin D concentration and hypertension: a meta-analysis. *J Hypertens*, 2011. 29(4): p. 636-45.



- 67) Wang, L., et al., Circulating 25-hydroxy-vitamin D and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 2012. 5(6): p. 819-29.
- 68) Green, J.J., et al., Calcitriol modulation of cardiac contractile performance via protein kinase C. *J Mol Cell Cardiol*, 2006. 41(2): p. 350-9.
- 69) Pilz S, Tomaschitz A, Drechsler C et al. Vitamin D deficiency and heart disease. *Kidney International Supplements* 2011;1:111-115.
- 70) Kunutsor, S.K., T.A. Apekey, and M. Steur, Vitamin D and risk of future hypertension: meta-analysis of 283,537 participants. *Eur J Epidemiol*, 2013. 28(3): p. 205-21.
- 71) Earthman, C.P., et al., The link between obesity and low circulating 25-hydroxyvitamin D concentrations: considerations and implications. *Int J Obes (Lond)*, 2012. 36(3): p. 387-96.
- 72) Parikh, S.J., et al., The relationship between obesity and serum 1,25-dihydroxy vitamin D concentrations in healthy adults. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004. 89(3): p. 1196-9.
- 73) Baeke, F., et al., Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol*, 2010. 10(4): p. 482-96.
- 74) Morrison, N.A., et al., Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature*, 1994. 367(6460): p. 284-7.
- 75) Audi, L., M. Garcia-Ramirez, and A. Carrascosa, Genetic determinants of bone mass. *Horm Res*, 1999. 51(3): p. 105-23.
- 76) Sosa, M., et al., The distribution of two different vitamin D receptor polymorphisms (BsmI and start codon) in primary hyperparathyroidism. *J Intern Med*, 2000. 247(1): p. 124-30.

- 77) DeLuca, H.F. and C. Zierold, Mechanisms and functions of vitamin D. *Nutr Rev*, 1998. 56(2 Pt 2): p. S4-10; discussion S 54-75.
- 78) Provvedini, D.M., et al., 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptors in human leukocytes. *Science*, 1983. 221(4616): p. 1181-3.
- 79) Manolagas, S.C., D.M. Provvedini, and C.D. Tsoukas, Interactions of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and the immune system. *Mol Cell Endocrinol*, 1985. 43(2-3): p. 113-22.
- 80) Ponsonby, A.L., et al., Variation in associations between allelic variants of the vitamin D receptor gene and onset of type 1 diabetes mellitus by ambient winter ultraviolet radiation levels: a meta-regression analysis. *Am J Epidemiol*, 2008. 168(4): p. 358-65.
- 81) Simmons, J.D., et al., Vitamin D receptor gene polymorphism: association with Crohn's disease susceptibility. *Gut*, 2000. 47(2): p. 211-4.
- 82) Hitchon, C.A., et al., Vitamin D receptor polymorphism rs2228570 (Fok1) is associated with rheumatoid arthritis in North American natives. *J Rheumatol*, 2012. 39(9): p. 1792-7.
- 83) Pani, M.A., et al., Vitamin D 1 $\alpha$ -hydroxylase (CYP1 $\alpha$ ) polymorphism in Graves' disease, Hashimoto's thyroiditis and type 1 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol*, 2002. 146(6): p. 777-81.
- 84) Matthews, D.R., et al., Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*, 1985. 28(7): p. 412-9.
- 85) Abd-Allah, S.H., et al., Vitamin D status and vitamin D receptor gene polymorphisms and susceptibility to type 1 diabetes in Egyptian children. *Gene*, 2014. 536(2): p. 430-4.

- 86) Hypponen, E. and C. Power, Hypovitaminosis D in British adults at age 45 y: nationwide cohort study of dietary and lifestyle predictors. *Am J Clin Nutr*, 2007. 85(3): p. 860-8.
- 87) Satman, I., et al., Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol*, 2013. 28(2): p. 169-80.
- 88) Erkal, M.Z., et al., High prevalence of vitamin D deficiency, secondary hyperparathyroidism and generalized bone pain in Turkish immigrants in Germany: identification of risk factors. *Osteoporos Int*, 2006. 17(8): p. 1133-40.
- 89) Tamer, G., et al., Relative vitamin D insufficiency in Hashimoto's thyroiditis. *Thyroid*, 2011. 21(8): p. 891-6.
- 90) Bozkurt, N.C., et al., The association between severity of vitamin D deficiency and Hashimoto's thyroiditis. *Endocr Pract*, 2013. 19(3): p. 479-84.
- 91) Kivity, S., et al., Vitamin D and autoimmune thyroid diseases. *Cell Mol Immunol*, 2011. 8(3): p. 243-7.
- 92) Avenell, A., et al., Vitamin D supplementation and type 2 diabetes: a substudy of a randomised placebo-controlled trial in older people (RECORD trial, ISRCTN 51647438). *Age Ageing*, 2009. 38(5): p. 606-9.
- 93) Ford, E.S., et al., Associations between concentrations of vitamin D and concentrations of insulin, glucose, and HbA1c among adolescents in the United States. *Diabetes Care*, 2011. 34(3): p. 646-8.
- 94) Ford, E.S., et al., Concentrations of serum vitamin D and the metabolic syndrome among U.S. adults. *Diabetes Care*, 2005. 28(5): p. 1228-30.
- 95) Procopio, M. and G. Borretta, Derangement of glucose metabolism in hyperparathyroidism. *J Endocrinol Invest*, 2003. 26(11): p. 1136-42.

96) Dayangac D, Ozaydın E, Gerceker F, Coskun T, Yurter H the vitamin D receptor (VDR) gene polymorphism analysis of healthy turkish population Turk Biyokim.2002;27:1

97) Yazici, D., et al., Vitamin D receptor gene ApaI, TaqI, Fok and BsmI polymorphisms in a group of Turkish patients with Hashimoto's thyroiditis. *MinervaEndocrinol*, 2013. 38(2): p. 195-201.

98) Ramos-Lopez, E., et al., Vitamin D receptor polymorphisms are associated with Graves' disease in German and Polish but not in Serbian patients. *Thyroid*, 2005. 15(10): p. 1125-30.

99) Feng, M., et al., Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and risk of autoimmune thyroid diseases: a meta-analysis. *Endocrine*, 2013. 43(2): p. 318-26.