



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI
Çocuk Endokrinolojisi Bilim Dalı**

**SANTRAL TİROİD HORMON DİRENCİ SAPTANAN
OLGULARDA TİROİD HORMON RESEPTÖR GEN
ANALİZİ VE PERİFERİK DİRENÇ EŞLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Dr. Rıza Taner BARAN

Antalya, 2011



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI
Çocuk Endokrinolojisi Bilim Dalı

**SANTRAL TİROİD HORMON DİRENCİ SAPTANAN
OLGULARDA TİROİD HORMON RESEPTÖR GEN
ANALİZİ VE PERİFERİK DİRENÇ EŞLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YAN DAL UZMANLIK TEZİ

Dr. Rıza Taner BARAN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sema AKÇURİN

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2011

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen tez danışmanı hocam Prof. Dr. Sema Akçurin'e, hocam Prof. Dr. İffet Bircan'a,

Pediyatrik Kardioloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Gayaz Akçurin'e, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Esra Manguoğlu'na, Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Sebahat Özdem'e, Pediyatrik Kardioloji Anabilim Dalı'ndan Uzman Dr. Murat Çiftel'e,

Ve aileme

yardımlarından dolayı teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	iii
Şekiller Dizini	v
Çizelgeler Dizini	vi
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Embriyoloji	3
2.2. Anatomi ve Histoloji	3
2.3. Tiroid Hormonu Biyosentezi	4
2.4. Tiroid Hormon Fonksiyonun Düzenlenmesi	5
2.5. Tiroid hormon reseptörleri	7
2.6. Tiroid Hormonunun Etkileri	8
2.6.a. Karbonhidrat metabolizması üzerine etkileri	9
2.6.b. Lipogenez ve lipoliz üzerine etkileri	9
2.6.c. Santral sinir sistemi etkileri	10
2.6.d. İskelet sistemi üzerine etkileri	11
2.6.e. Protein sentezi üzerine etkileri	11
2.6.f. Oksijen tüketimi üzerine etkileri	12
2.6.g. Kardiyovasküler sistem etkileri	12
2.7. Primer Hipotiroidi	13
2.7.a. Tiroid disgenezisi	13
2.7.b. Tiroid hormon üretim bozuklukları (Dishormonogenez)	13
2.8. Tiroid Hormon Direnci	13
2.8.1. Sınıflandırma	14
2.8.2. İnsidans	14
2.8.3. Moleküler patogenez	15
2.8.4. THD'de mutasyonlar	15
2.8.5. Klinik	16
2.8.6. Laboratuvar bulguları ve tanı	18
2.8.7. Tirotrop direncin değerlendirilmesi	18
2.8.8. Periferik direncin ölçülmesi	19
2.8.9. Ayırıcı tanı	20
2.8.10. Tedavi	21

3. OLGULAR VE YÖNTEM	23
3.1. Olgular	23
3.2. Periferal Kandan DNA Eldesi	24
3.2.1. Kullanılan solüsyonlar	24
3.2.2. DNA izolasyonu basamakları	25
3.2.3. DNA örneklerinin spektrofotometrik ölçümü	26
3.2.4. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi	26
3.2.5. Agaroz jel elektroforezi ve görüntüleme sistemi	29
3.2.6. PCR reaksiyonun sonunda amplikonların temizlenmesi	30
3.2.7. DNA dizi analizi reaksiyonu	30
3.2.8. DNA dizi analizi reaksiyonu sonunda amplikonların temizlenmesi	30
3.2.9. Örneklerin cihaza yüklenmesi ve analizi	30
3.3. Ekokardiyografi Kayıtları	30
3.4. Biyokimyasal Değerlendirme	31
3.5. İstatistiksel Analiz	32
4. BULGULAR	33
4.1. Doku Doppler ve M-mod EKO Sonuçları	37
4.1.a. M-mod ekokardiyografi sonuçları	37
4.1.b. Doppler ekokardiyografi sonuçları	38
4.2. Moleküler Genetik Analiz Sonuçları	38
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇLAR	47
7. ÖZET	49
8. ABSTRACT	50
9. KAYNAKLAR	51

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACE	Anjiotensin konverting enzim
ALP	Alkalen fosfataz
cAMP	Siklik adenozin monofosfat
CPK	Kreatin fosfokinaz
DBD	DNA bağlayıcı bölge
DIT	Diiyodotirozin
D-T4	Dekstrotiroksin
EKG	Elektrokardiyografi
EKO	Ekokardiyografi
FDH	Familyal disalbuminemik hipertiroksinemi
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
IGF-1	İnsulin benzeri büyüme faktörü
IVKZ	İzovolümetrik kontraksiyon zamanı
IVRZ	İzovolümetrik relaksasyon zamanı
IVS	İnterventriküler septum
LBD	Karboksiterminalinde ligand bağlayıcı bölge
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
L-T3	Levotriiodotironin
L-T4	Levotiroksin
MIT	Monoiyodotirozin
MPİ	Miyokardiyal performans indeksi
MR	Magnetik rezonans
NİS	Sodyum-iyodid transporter
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu

PTH	Paratiroid hormon
rT3	Reverse T3
RXR	Retinoik X reseptörü
SDS	Standart sapma skoru
SHBG	Seks hormon bağlayıcı globulin
sT3	Serbest T3
sT4	Serbest T4
T3	Triiodotironin
T4	Tirotksin
TBG	Tirotksin bağlayan globulin
THD	Tiroid hormon direnci
TR	Tiroid hormon reseptörü
TRα	Tiroid hormon α reseptörü
TRβ	Tiroid hormon β reseptörü
TRE	Tiroid Response Element
TRH	Tirotropin salgılatıcı hormon
TRIAC	3',5',3' –triiododroasetik asit
TSH	Tiroid stimulan hormon
TSH oma	TSH salgılayan hipofiz adenomu

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Tiroid hormonunun sentezi ve sekresyonu	5
2.2. Hipotalamus-hipofiz-tiroid eksen	7
3.1. TR β geninin eksonlarının NCBI Sequence Viewer programında görünümü	27
4.1. Olguların 10 günlük L-T3 tedavi önce ve sonrası biyokimyasal verileri	37
4.2. Dizi analizi sonuçları	40

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. TR β geninin PCR ile çoğaltılacak olan ekzonları, ilgili primerleri ve amplikon büyüklükleri	28
3.2. 5-12 numaralı ekzonların PCR reaksiyon içeriği	28
3.3. DNA dizileme reaksiyon içeriği	30
4.1. THD'lı hastaların genel özellikleri	34
4.2. Olguların THD tanı verileri	35
4.3. Olguların 10 günlük L-T3 tedavi önce ve sonrası biyokimyasal verileri	36
4.4. Hastaların genotip çizelgesi	39

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Tiroid hormon direnci (THD) çoğunlukla otozomal dominant olarak kalıtılan ve hedef dokuların [izole hipofizer veya jeneralize (hipofizer+periferik doku)] tiroid hormonlarına duyarlılığının değişen derecelerde azalmasına yol açan bir sendromdur. Yüksek tiroid hormon (TH) düzeylerine rağmen tiroid stimulan hormon (TSH)'un baskılanmamış oluşu karakteristiktir (1).

Tiroid hormon reseptör (TR) genlerinin görece ekspresyon ve dağılımları farklılık göstermektedir. Bu durumun bireyler arası periferik direnç derecesinde farklılık ya da aynı kişinin farklı dokularında değişken direnç yaratabileceği bilinmektedir. Hastanın metabolik durumu, izole hipofizer direnç varlığında hipertiroid iken, periferik direnç eşliğinde direncin şiddetine göre ötiroid veya hipotiroid olabilir. Hasta bazında bu tanımlar genellikle sanal ölçekte kalmakta ve bu ayrımı yapmak kolay olmamaktadır. İzole hipofizer direnç görümlü bir hastada periferik tutulum eşliği tedavi kararının en önemli belirleyicisidir. Özgün klinik bulguların olmaması, klinik hastalığın görünüm ve seyrinin değişken olması ve aynı kişide hipotiroidik ve hipertiroidik semptomların birarada bulunabilmesi bu kararı önemli ölçüde etkilemektedir (2).

Periferik TH direncinin değerlendirilmesinde olgu verilerinin sağlıklı kontrol verileri ile karşılaştırılması, hem yaş ve cins uyumlu standart değerlerin olmayışı, hem de normal değer aralıklarının çok geniş olması nedeniyle mümkün değildir. Bu nedenle bireylerarası farklılıktan çok, bireyiçi değişim, yani kişinin suprafizyolojik hormon düzeylerine verdiği doku yanıtı daha belirleyici olmaktadır (1,3,4).

Büyüme ve santral sinir sistemi maturasyonu, TH etkilerini çocukluk dönemi için önemli kılmaktadır. Bu yaş grubunda periferik TH etkilerinin hem somatik ve zihinsel gelişim yönünden, hem de metabolik (özellikle kardiyak) etkilenme açısından yakın izlemi şarttır (5-7). Tarama veya rastgele ölçüm sırasında TH ve TSH düzeyleri eşzamanlı yüksek bulunan çocuklarla, yeterli L-T4 tedavisi almalarına karşın TSH düzeyleri baskılanamayan ya da silik hipotiroidi kliniğinin devam ettiği düşünülen doğumsal hipotiroid olgular izlem ve tedavi açısından sıkıntı yaratan hasta gruplarını oluşturmaktadırlar.

Özgün bir tedavi seçeneğinin olmaması ve dokuların tümünde ötiroidizmin sağlanamaması bu olguların yönetimini güçleştirmekte ve hangi olguların tedavi alması gerektiği konusunda zorluk yaratmaktadır.

Bu çalışmada, tiroid hormon direnci profiline sahip olgularda kısa süreli L-T3 tedavisine belirli periferik etki ölçütlerinin değişimi değerlendirilerek klinikte yararlı olabilecek ölçüt/ölçütlerin saptanması ve biyokimyasal ve/veya klinik THD özelliklerini taşıyan olgularda en sık görülen genetik neden olan TR β mutasyonunun taranması planlanmıştır (1,3,8-11). Türk çocuklarında ilk kez yapılan bu çalışma ile TR β mutasyon sıklığının “araştırma grubunda” belirlenmesinin yanısıra, hipofizer TH direnci düşünülen ve klinik bulguların ayırdettirici olmadığı çocuk olgularda periferik direnç eşliğinin değerlendirilmesi ve izlem ve tedavi süreçlerinde yol gösterebilecek klinik/biyokimyasal bir ölçüt araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Tiroid bezi, tiroid hormonları salgılayarak organizmanın büyüme ve gelişmesi üzerine önemli etkiler gösterdiği gibi tüm doku ve sistemlerin metabolik fonksiyonlarını da düzenleyen bir endokrin organdır.

2.1. Embriyoloji

Embriyolojik tiroid dokusu, fertilizasyondan sonra 24. günde endodermden oluşan bir divertikülden kaynaklanır. Tiroid bezi, primitif farinks (median taslak) ve nöral krestin (lateral taslak) birleşmesiyle oluşur. Median tiroid divertikülü zamanla büyür ve içi boş bir tüp şeklinde aşağı doğru uzanarak tiroglossal kanalı oluşturur. Nöral krest (lateral taslak) dördüncü faringeal ceplerin uç kısımlarından gelişir ve kalsitonin salgılayan parafoliküler hücrelerin kaynağıdır (12).

2.2. Anatomi ve Histoloji

Tiroid; sağ, sol iki lob ve bunları birleştiren isthmustan oluşmaktadır. Mikroskopik olarak tiroid; 20-40 follikülden oluşan lobüllere bölünmüştür. Erişkin erkekte, tiroid bezinde yaklaşık olarak 3×10^6 follikül vardır. Folliküller sferik şekilli ve ortalama 30 μ çapındadırlar. Her bir follikülün, merkezinde epitelyal hücrelerden salınan kolloid bulunur ve folliküller küboidal epitel ile çevrilidir. Follikül hücreleri tiroid hormonlarının sentez, depolama ve sekresyonunu sağlar. Tiroid hormonu salınımı esnasında, follikül hücreleri lümene doğru yalancı ayaklar (pseudopod) uzatarak kolloidi çevreler ve absorbe ederler. Periferik tiroid hormonu gereksinimi azaldığında follikül lümenindeki kolloid miktarı artar. Tiroid bezi salgısı kendi içinde depolanan tek iç salgı bezidir. İnsanlarda tiroid folliküllerinin içinde organizmaya 3 ay yetecek kadar tiroid hormonu bulunur. Epitelyal hücrelerin fonksiyonu TSH tarafından kontrol edilir (12).

2.3. Tiroid Hormonu Biyosentezi

Tiroid bezi dolaşımdaki iyodu iyot pompası adı verilen aktif bir mekanizma ile yoğunlaştırır. Tiroid hormonlarının ana maddesi iyot ve tirozindir. İyot ince barsaklardan iyodür olarak emilip dolaşıma geçtikten sonra tiroid bezi tarafından

alınır. TSH, tiroid bezinde bulunan reseptörüne bağlandığında siklik adenozin monofosfat (cAMP) ve fosfolipaz C sistemi aktive olur. Sodyum-iyodid transporter (NIS) proteinleri bazal membranda bulunur ve plazmadaki iyoditi yakalayarak aktif taşıma ile hücre içine alırlar. Bu değişim sırasında 2 sodyum iyonu da hücre içine girer (13).

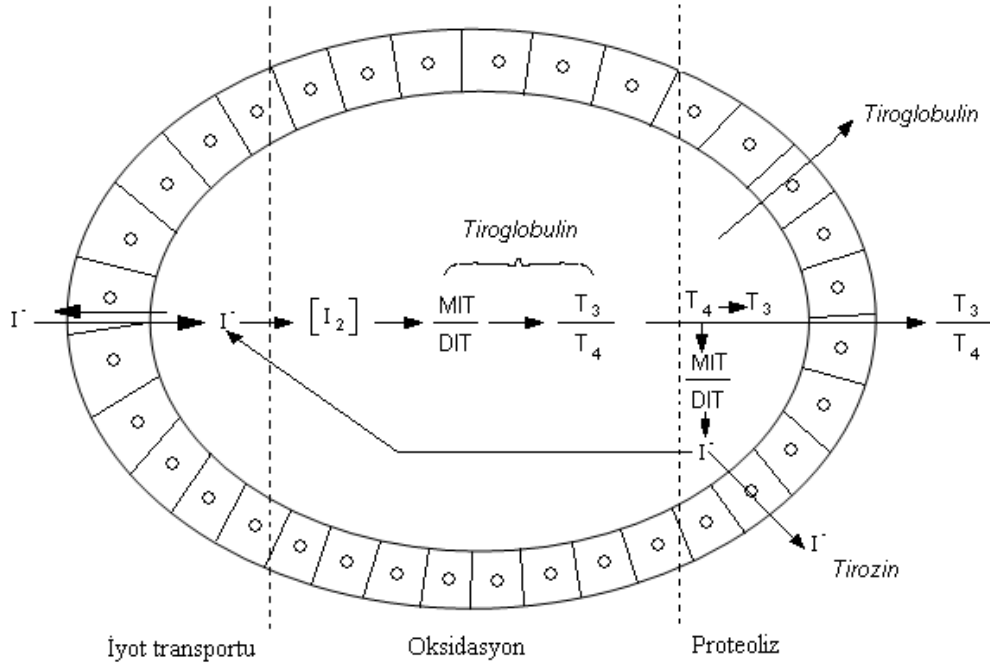
İyodür, hücre ile kolloid lümenin birleştiği yüzeyde peroksidaz etkisi ile okside olup serbestleşir. Bu reaksiyon için ortamda hidrojen peroksit bulunması gereklidir. Hidrojen peroksit tiroid dokusunda enzimatik reaksiyonlar ile yapılır. Okside olan iyodid, iyodine dönüştükten sonra tiroglobulin üzerinde bulunan tirozin molekülüne bağlanır. Bu aşama organifikasyon olarak adlandırılır. Peroksidaz her iki işlemi katalize eden enzimdir.

Tiroglobulin, tiroid bezinde en çok bulunan proteindir. Tiroid hormon sentezi ve depolanması için iskeleti oluşturur. Tek iyodin molekülünün tiroglobulin molekülü ile birleşmesi sonucu monoiyodotirozin (MIT) oluşurken, iki iyodin molekülünün eklenmesi ile diiyodotirozin (DIT) oluşmaktadır. Daha sonra MIT ve DIT moleküllerinin birleşmesi sonucu total T3 (T3), iki DIT molekülünün birleşmesi sonucu total T4 (T4) oluşur. Bu basamaklar birleşme veya “coupling” olarak adlandırılır (14).

Tiroid hormonlarını içeren tiroglobulin, follikül lümeninden geçerek kolloid içinde depolanır. Kolloid sürekli yenilenen bir yapıdır. İhtiyaç halinde TSH'nın uyarıcı etkisiyle bir miktar kolloid mikropinositoza uğrar ve tiroid hücresine geri absorbe edilir. Sitoplazmada bulunan lizozomlarla birleşerek fagolizozomları oluşturur. Fagolizozom içindeki tiroglobulin proteolize olarak T3, T4, DIT ve MIT'i serbestleştirir. T3 ve T4 sistemik dolaşıma geçerken, DIT ve MIT hücre içinde kalarak deiyodinaz enzimleri ile parçalanır. Serbest iyot, iyot havuzuna geri dönerek kolloid içinde depolanır. Kolloid içinde bulunan iyot havuzunun her gün %1 kadarı bu döngü içinde yenilenmektedir (15).

T4 hormonu günde 80-100 µg kadar salgılanır ve tiroid bezinin birincil ürünüdür. Plazma yarı ömrü 6-7 gündür. T4'ün %80'i periferde deiyodinasyona uğrar, %40'ı periferik dokularda 3-4 kat daha aktif olan T3'e, %40'ı reverse T3'e (rT3) dönüşür. Kalan %20'lik bölümü sülfat ve glukuronil parçacıklarının eklenmesiyle safraya atılarak metabolize olur. Günlük 30- 40 µg T3 üretilir ve yarı ömrü 30 saattir. T3 hormonunun %20'si tiroidden kaynaklanırken, %80'i T4'ün periferde

deiyodinasyonuylu oluşur. Hücreye kadar taşıyıcı proteinlerle gelen T4 ve T3 hormonları serbest kaldıktan sonra hücre içine geçerler. T4, 5' deiyonidaz enzimi (tip2) ile hücre içinde T3'e dönüşür. T3, nukleusa gider ve burada TH reseptörüne bağlanır. Böylece nukleusta başlayan gen transkripsiyon olayı protein sentezi ve hücresel fenotip değışiklikleri ile sonlanır (14).



Şekil 2.1. Tiroid hormonunun sentezi ve sekresyonu.

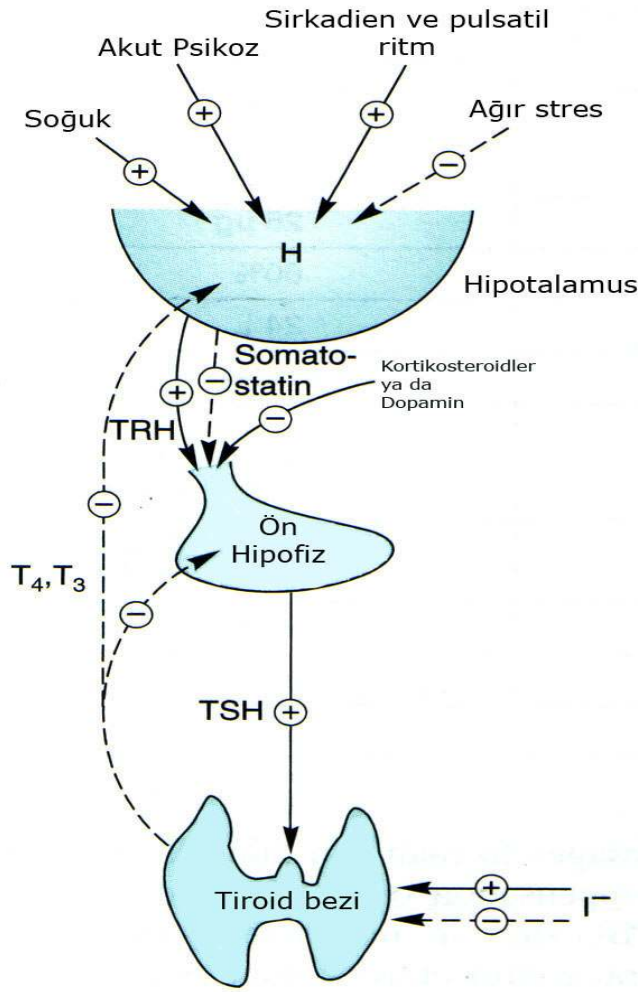
2.4. Tiroid Hormon Fonksiyonun Düzenlenmesi

Tiroid fonksiyonları hipotalamus-hipofiz-tiroid aksı ve tiroid içi otoregulasyon mekanizmaları ile ayarlanır. TSH, tiroidin yapısını ve fonksiyonunu ayarlayan başlıca düzenleyicidir. Tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) hipotalamusun supraoptik ve paraventricüler peptiderjik nöronlarında yapılan ön hipofizdeki tiotrop hücrelere etki ederek TSH salgılanmasını uyarır. TRH, TSH sentezini hem transkripsiyon, hem de translasyon düzeyinde artırır. TRH, TSH'nın sentezini ve glikolizasyonunu düzenler ve biyoaktif TSH oluşmasına katkıda bulunur. Tiroid hormonları, TRH ve TSH üzerinde negatif geri denetim oluşturur. TSH salgılanmasının ayarlanmasında TRH ve tiroid hormonları başlıca düzenleyici faktörlerdir. Aynı zamanda somatostatin, dopamin ve farmakolojik dozlarda glukokortikoidler TRH'ya TSH yanıtını etkiler (16).

TSH, ön hipofiz tirotrop hücrelerinden salgılanan bir glikoproteindir. TSH, G-proteini aracılı reseptör süperailisinin bir üyesi olan tirotropin reseptörüne bağlanır (6). TSH'ın reseptöre bağlanmasından sonra reseptör, G-protein kompleksi ile etkileşir. Etkileşim sonrası aktive olan G_{α} proteini adenilat siklaz yolunu uyarır ve cAMP oluşumuna yol açar. cAMP sırasıyla protein kinaz A ve diğer sinyal ileti moleküllerini aktive eder. Bu iletim sürecinin sonunda tiroid spesifik genlerin mesajcı RNA transkripsiyonu aktive olur (17,18).

TSH; iyodun taşınması, organifikasyonu, tiroglobulinin follikül lümenine ekzositozu, kolloidin endositozu, lizozom olgunlaşması ve tiroid hormon sekresyonu üzerine etkilidir ve uzun sürede tiroid hiperplazisi ve büyümesine yol açar. TSH salgılanması, tiroid hormonlarının baskılayıcı ve TRH'nın uyarıcı etkisi ile ayarlanır (16).

Tiroid fonksiyonlarının düzenlenmesinde tiroid bezine ait mekanizmalar (otoregülasyon) da önemli rol oynar. Tiroid bezinin organik iyot miktarı ile iyodun tiroide transportu arasında tersine bir ilişki vardır. Tiroid içindeki organik iyot miktarı artan iyot alımına bifazik yanıt verir. Başlangıçta artar, daha sonra azalır. İyot alımının artmasıyla organik iyot miktarındaki azalmaya Wolff-Chaikoff etkisi denir ve tiroid içinde yeterli inorganik iyot birikimine bağlıdır. Sağlıklı işleyen tiroid dokusu yüksek iyot miktarı ile karşılaştığında, bir süre sonra organik bağlanma ve iyodotironin yapımındaki inhibisyon kısmen düzelir. Farmakolojik dozlarda iyot kullanılmasının en önemli klinik etkisi hormon salgılanmasını azaltmasıdır. İyodun bu etkisinden ciddi tirotoksikozun tedavisinde faydalanılır (16).



Şekil 2.2. Hipotalamus-hipofiz-tiroid eksen.

2.5. Tiroid Hormon Reseptörleri (TR)

Tiroid hormonu, etkisini TR aracılığıyla gerçekleştirir. TR nükleer reseptör süperailinden ligand-uyarımli bir transkripsiyon faktörüdür. TR'ni kodlayan iki gen tanımlanmıştır: Bunlardan α geni 17. kromozomda (q21-q22) iken, β geni 3. kromozomda (p22-p24.1) yerleşmiştir. β reseptörünün $\beta 1$ ve $\beta 2$, α reseptörünün $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ olmak üzere ikişer izoformu vardır. TR $\alpha 2$ nonfonksiyone reseptördür; T3 bağlayamadığı için zayıf antagonistik etki gösterir. TR, subtipleri TR α ve TR β ile homodimer veya nükleer reseptör süperailinin diğeri üyeleri ile heterodimer yapılar oluşturarak fonksiyonel hale geçer. TR $\beta 2$ reseptörleri; hipofiz ve hipotalamus, TR $\beta 1$; karaciğer ve böbrek, TR $\alpha 1$ ise santral sinir sistemi, miyokard, iskelet kası ve kemikte en yüksek yoğunlukta bulunur (1,3,8).

Diğer nükleer hormon reseptörlerine benzer şekilde, tiroid hormon reseptörü 2 fonksiyonel bölge içerir. Karboksi terminalinde ligand bağlayıcı bölge (LBD) vardır ki, bu bölge sT3'ü bağlar. Amino terminalin üçte biri ise DNA bağlayıcı bölgedir (DBD). Bu iki bağlayıcı bölge arasında kalan bir "hinge" bölgesi vardır (1,3,8).

TR için ligand T3'tür. T3, TR üzerinden LBD'e, TR'de DBD aracılığıyla TRE'ye (Tiroid Response Element) bağlanır. TRE hekzamerik DNA sekanslarıdır. DNA'ya bağlanma daha çok retinoik X reseptörleri (RXR) ile heterodimerlerin oluşması şeklinde gerçekleşir. TRE pozitif ise TR'nin liganda bağlanmamış olduğu durumda gen transkripsiyonu baskılanır (represyon). Bağlı olduğu durumda ise gen transkripsiyonu aktive olur (stimulasyon). Represyon; ko-represörlerle, stimulasyon ise ko-represör kompleksinin ko-aktivatör kompleksi ile yer değiştirmesi sonucu gerçekleşir. TRE negatif ise, TR'nin liganda bağlanmamış olduğu durumda stimulasyon, bağlanmış olduğu durumda represyon gerçekleşir (1,3,8).

2.6. Tiroid Hormonunun Etkileri

Tiroid hormonlarının büyük kısmı bağlayıcı proteinlere bağlı olarak dolaşır. T4'ün %0.03'ü ve T3'ün %0.3'ü proteinlere bağlanmaz ve kanda serbest olarak bulunur. T4'ün %80'i tiroksin bağlayan globuline (TBG), %15'i T4 bağlayan prealbumine (transtiretin) ve %5'i albumine bağlanır. Apolipoprotein A1 ve B100 de T4'ün %3'ünü, T3'ün %6'sını taşır. T3'ün TBG'ye bağlanması T4'e göre 10-20 kat daha zayıftır. Bu T3'ün etkisinin daha hızlı başlaması ve çabuk ortadan kalkmasını açıklar. Metabolik durum, plazmadaki total hormon düzeylerinin yanısıra serbest hormon düzeyleriyle de korelasyon gösterir. Akut olarak bağlayıcı proteinlerdeki değişiklikler serbest T4 düzeyini değiştirir. Ancak kısa süre içinde yeni bir denge kurulur ve eğer hipotalamo-hipofizer eksen sağlam ise serbest T4 (sT4) düzeyi normal sınırlara ulaşır (16-18).

Taşıyıcı proteinlerle hedef dokulara ulaşan tiroid hormonları ilgili bağlayıcı proteinlere bağlanarak veya pasif difüzyon ile hücre içine girerler. Sitoplazmaya girdiklerinde hücre içi proteinlere bağlanır ve hücre içinde kalarak birkaç gün ile birkaç hafta içinde kullanılırlar. Sitoplazmada bulunan T4, T3'e deiyodinidazlar tarafından indirgenerek aktif forma dönüştürülür. Bu aşamadan sonra T3, hücre nükleusunda

bulunan TR'ne bağlanarak çeşitli protein tiplerini kodlayan bir çok genin transkripsiyonunu uyarır (3).

Tiroid hormonlarının büyüme ve gelişme üzerine kritik önemi bulunmaktadır. Karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasında etkili olan tiroid hormonları birçok enzim, hormon, vitamin ve mineralin üretiminde düzenleyici rol almaktadır. Bu etkiler özellikle daha etkin form olan T3'ün nükleer reseptörlerine bağlanması sonrasında gelişir (19).

2.6.a. Karbonhidrat metabolizması üzerine etkileri

Tiroid hormonları, fizyolojik dozda insülinin etkinliğini arttırarak ederek glukoz kullanımını ve karaciğerde glikojen sentezini sağlar. Yüksek dozlarda verildiklerinde ya da aşırı düzeyde salgılandıklarında ise glukagonun ve katekolaminlerin etkinliğini arttırarak, glukojenolizi ve glukoneojenezi uyarır ve hiperglisemi oluştururlar. İnsülinin yıkımı üzerine de etkilidirler. Hipotiroidizmde insülin yıkımı azalır insülin duyarlılığı artarken, hipertiroidizmde insüline duyarlılık genellikle azalır (20).

2.6.b. Lipogenez ve lipoliz üzerine etkileri

Tiroid hormonlarının biyolojik etkilerinin önemli göstergelerinden birisi lipoprotein metabolizmasında olan değişikliklerdir. Hipotiroidili hastalarda artmış düşük dansiteli lipoprotein (LDL), kolesterol ve apolipoprotein B düzeyleri gözlenir (21). Hiperkolesterolemik hastalarda TSH yüksekliği %12–13 arasında görülürken, normal popülasyonda bu oran %2,2'dir (22). Klinik hipotiroid olguların %95'inde kolesterol düzeylerinde artma saptanmıştır. İzole trigliserid düzeylerinde artış oranı %5 iken, trigliserid ve kolesterol düzeylerinin birlikte artışı %40-70 oranında görülmektedir. Bu hastalarda saptanan lipid profilindeki değişiklik öncelikle LDL reseptör düzeylerinde ve katabolizmasında azalmaya bağlanmaktadır (23). Tiroksin, kolesterolün karaciğerden atımı ve safra asitlerine dönüşümünü artırır. Primer hipotiroidide TSH değerleri 40 mU/L'yi aştığı zaman kolesterol değerlerinin %150 oranında arttığı bilinmektedir. Kolesterol değerlerinde tespit edilen bu yükselme daha çok LDL kolesterol artışı ile birliktedir. Hepatositlerin yüzeyindeki LDL reseptörlerinin sayısı plazma kolesterol düzeyinin önemli bir belirleyicisidir. Hipotiroidizmde hiperkolesteroleminin nedeni, LDL reseptör sayısının azalması ve LDL partiküllerinin dolaşımdan temizlenmemesidir (24). Althaus ve ark. (25) yaptığı

çalışmada yaş, cins ve vücut kitle indeksi kontrol grubu ile uyumlu 52 subklinik hipotiroid ve 18 klinik hipotiroid olguda HDL düzeylerinde azalma saptanmıştır. Bu çalışmanın yanısıra Caron ve arkadaşlarının (26) yaptığı çalışmada subklinik hipotiroid olgularda HDL düzeylerinin kontrol grubuna göre düşük olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada T4 tedavisi ile TSH düzeyleri normale döndükten sonra, HDL kolesterol düzeyinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir. Buna rağmen Meier C ve arkadaşlarının (27) 66 subklinik hipotiroid olguda yaptığı çalışmada, T4 tedavisinin HDL düzeylerine etkisi olmadığı gösterilmiştir. Hipotiroidide tiroksin tedavisinden sonra, HDL kolesterol düzeylerinde hafif derecede azalma olduğunu veya değişmediğini gösteren çalışmalar da vardır (27,28).

Hipotiroidili olgularda ayrıca şilomikron artıklarında artma, kolesterol transfer proteinlerinde azalma, ters kolesterol taşınmasında, hepatik lipaz aktivitesinde ve lipoprotein lipaz aktivitelerinde azalma olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (29). Tiroid hormonları lipogenez ve lipolizi uyarıcı etkiye sahiptir; kolesterol asetil transferaz, kolesterol ester hidrolaz, LDL reseptörü gibi kolesterol sentez ve metabolizmasında görevli moleküllerin düzenlenmesinde rol alırken karaciğerde malik asit, yağ asidi sentaz gibi lipojenezde rol alan enzimlerin yapımını artırırlar (30).

2.6.c. Santral sinir sistemi etkileri

Tiroid hormonları inutero ve yenidoğan döneminde santral sinir sistemi gelişimi için kritik öneme sahiptir. Fetal hayatta dendritik ve aksonal büyüme, sinaptogenez, nöronal migrasyon, miyelinizasyonda rol alırlar. Tiroid hormonu erken beyin gelişimi ve sonraki büyüme fonksiyonu için esansiyel bir hormondur. Tiroid hormonunun sinaptogenez, miyelizasyon, akson ve dendrit formasyonu, nöral migrasyon, nörogenezisde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Tiroid hormonu- TR kompleksi nörolojik gelişim için gerekli protein genleri üzerinde transkripsiyonel düzenleyeci konumundadır. Ayrıca bazı nörotransmitterlerin düzenlenmesinde de önemlidir. TR β 1 reseptörleri kaudat nükleusta, hipokampusta ve korteksde yoğun olarak bulunur. Ayrıca kohlea ve retinanın gelişimide TR β 1 reseptörü bağımlıdır. Ayrıca serebellum ve korpus kallozumda lokalize olurlar (20,31).

2.6.d. İskelet sistemi üzerine etkileri

Hipotiroid çocuklarda epifiz kıkırdaklarında geç kapanma ve boy kısalığı temel bulgulardandır. Tiroid hormonu doğrudan veya ikincil olarak paratiroid hormon (PTH), 1,25-(OH)₂ D vit ve kalsiyum değişimleri üzerinden kemik mineral gelişim ve metabolizmasında etkilidir. Nükleer yerleşimli TRα1 ve TRβ1 reseptörleri kemikte büyüme plağındaki kondrositlerde, kemik iliğı stromal hücrelerde, osteoblast ve osteoklastta bulunur (32,33).

Kemik dokusu yapımı ve yıkımında rol alan hücreler kondrositler, osteoblastlar ve osteoklastlardır. Tiroid hormonu, kondrosit gelişiminde doğrudan veya insulin benzeri büyüme faktörü (IGF-1) aracılığı ile etkilidir. Osteoklastlar üzerinde uyarıcı etkiye sahiptir. Bu etki dolaylı olarak osteoblastlar aracılığı ile gerçekleşirken, doğrudan osteoklastlarda c-fos mesajcı RNA artışını uyurarak da oluşabilir. Osteoblastlarda alkalen fosfataz (ALP), osteokalsin, osteoprotegerin, IGF-1, fibroblast büyüme faktörü (FGF) reseptör ve matriks metalloprotein yapımını uyarır. Bu aktiviteler vitamin D ve büyüme hormonu tarafından da kontrol edilir.

Hipotiroidide osteoklastik rezorbsiyon fazının 2 kat, osteoblastik kemik formasyon ve mineralizasyon fazının da 4 kat uzaması sonucu kemik yapım-yıkım süresi artar. ALP, osteokalsin düzeyleri azalır. Hipertiroidide ise rezorbsiyon süresi %60, formasyon süresi %30 kısalır, kemik yapım-yıkım süresi 200 günden daha kısadır. Tirotoksikoz durumunda serumda ALP, osteokalsin, osteoprotegerin, idrarda ise hidroksiprolin ve kollajen yıkım ürünleri artar (32,34).

2.6.e. Protein sentezi üzerine etkileri

Tiroid hormonları bazı proteinlerin sentezini arttırırken bazılarının sentezini azaltır. Protein sentezi üzerine etkileri, nöral ve somatik büyüme ve farklılaşmanın düzenlenmesinde önem taşır. Transferrin, anjiotensinojen, myelin proteini, kompleman, lipoproteinler, glukokinaz gibi bazı proteinlerin sentezini arttırırken, α-fetoprotein, α₂ makroglobulin öncüsü, TSH α subüniti, TSH β subüniti, TRH, T₃ nükleer reseptör β₂'yi içeren bazı proteinlerin sentezini de azaltıcı etkiye sahiptir. Hipertiroid bireylerde; yıkım yapımından fazla olduğundan negatif azot dengesi ve kas kitlesinde kayıp ortaya çıkar. Albüminlerin yapım ve yıkımı tiroid hormonları tarafından arttırılmaktadır. Tirotoksikozda yıkım biraz arttığından, hafif hipoalbüminemi görülebilir (16,35).

2.6.f. Oksijen tüketimi üzerine etkileri

Tiroid hormonları, bazal metabolik hız ve ısı üretimini arttırıcı etki gösterir. Hücre düzeyinde sodyum-potasyum adenozin trifosfataz (ATP) uyarısıyla adenozin trifosfat ve oksijen kullanımını arttırır. Bu etki doku T3 nükleer reseptör yoğunluğu ile ilişkilidir. Oksijen tüketiminin artmasıyla eritropoetin yapımı da artar (36).

2.6.g. Kardiyovasküler sistem etkileri

Tiroid hormonları, sistemik vasküler direnci azaltıp, kan volümünde artış sağlar. Kalpte pozitif inotropik ve kronotropik etki yaparak kardiyak atım hacmini arttırır. Kardiyak fonksiyonlarda etkili myozin ağır zincir gibi proteinlerin transkripsiyonunun düzenlenmesin de etkilidir. Ayrıca kalpte β adrenerjik reseptör yoğunluğu ve katekolaminlere duyarlılığın düzenlenmesinde rol oynarlar (37). T3 nükleer ya da ekstrasnükleer mekanizmalarla kalp fonksiyonları üzerine doğrudan ya da dolaylı etki yapar. Nükleer T3 etkileri hormonun miyositlerdeki spesifik nükleer reseptörler ile etkileşiminden kaynaklanmaktadır. Buna karşın, ekstrasnükleer T3 etkileri nükleer reseptörüne bağlanma ve protein sentezindeki artıştan bağımsızdır. Hücre membranından amino asitler, glukoz ve kalsiyum gibi iyonların transportu yoluyla etkilidir. T3 diyastolik gevşemeyi kısaltır. Hipertiroid hastalarda myokard gevşemesi daha hızlıken, hipotiroid hastaların diyastol süreleri uzamaktadır (38). Tiroid disfonksiyonu kan basıncını değiştirir; hipertiroidizmde atım hacmi arttığı için sistolik basınç artar. Tersine hipotiroidizmde diyastolik basınç artmaktadır (39). Sarkoplazmik retikulum miyofibrilleri çevreleyen veziküler bir yapıdır. Buradaki kalsiyum pompasını kodlayan gen T3'e duyarlıdır. Söz konusu genin regülatör bölgesinde 3 adet TRE tanımlanmıştır. Hipotiroidizmde görülen kardiyovasküler belirtiler; bradikardi, kontraktilite, ventriküler dolma ve atım hacminde azalma, diyastolik disfonksiyon ve dolaşım zamanının uzamasıdır (40). Hipotiroidizmde genellikle kardiyomegali eşliği vardır. Fakat kardiyak hipertrofi çok fazla değildir ve tiroid hormon düzeyi normale döndüğünde tamamen geri dönüşümlüdür (38,40). Hipotiroid hastaların çoğunda elektrokardiyogram (EKG)'da anormallik görülmektedir. Miyokardda elektrik dağılımı arttığı için bu hastalarda iskemik kalp hastalığı da varsa ventriküler aritmiler daha sık görülür. Hipotiroid hastalarda en sık karşılaşılan anomali sol ventrikül diyastol fonksiyonunda bozulmadır. Bu durumda miyokardiyal gevşeme zamanı azalmış ve erken ventriküler dolum bozulmuştur (40).

2.7. Primer Hipotiroidi

Primer hipotiroidinin en sık sebebi (%80-95) tiroide ait anatomik gelişim hatalarıdır. Tiroid hormon biyosentez bozuklukları (dishormonogenez) %10-11 sıklıkta görülür. Endemik kretenizm, annenin otoimmün tiroid hastalığı (anneden geçen TSH blokan antikorlar) veya ilaç kullanımı (antitiroid ilaçlar, amiodaron, iyot içeren kontrast madde) gibi maternal nedenler ve tiroid hormonuna periferik dirençte diğer primer hipotiroidi nedenleri arasındadır (1).

2.7.a. Tiroid Disgenezi

Tiroid bezinin embriyolojik gelişimindeki anomali agenezi, hipoplazi veya ektopik tiroid bezi ile sonuçlanabilir. Tiroid disgenezi kızlarda erkeklere göre daha fazla görülür (K/E: 2/1). Tiroid disgenezinin etiyolojisinde çoğu zaman sebep bilinmemekle birlikte, genetik ve çevresel faktörler suçlanmaktadır. Çoğunlukla sporadiktir. Olguların yaklaşık %2'si aileseldir ve bu hastaların TTF-1, TTF-2 ve PAX-8 homeobox genlerinde mutasyon saptanmıştır. Tiroid ultrasonografi ve sintigrafisi tanıda yardımcı testlerdir (8).

2.7.b. Tiroid hormon üretim bozuklukları (Dishormonogenez)

Kongenital hipotiroidinin ikinci sıklıktaki sebebi doğuştan tiroid hormon üretim bozukluklarıdır. Otozomal resesif geçiş ve genellikle tek gen defekti ile ilişkilidirler. Genellikle guvatra seyreder (8,15,41).

2.8. Tiroid Hormon Direnci

Tiroid hormon direnci (THD); tiroid hormonunun hücre zarından taşınması, hücreiçi tiroid hormon metabolizması ve hormon aktivasyonu, nükleer reseptöre bağlanma, ko-regülatörlerle etkileşim veya post-reseptör işlem basamaklarında hata sonucu gelişen tiroid hormonuna son organ yanıtsızlığı durumudur. Yüksek veya üst-normal tiroid hormon düzeylerine, yüksek veya uygunsuz normal bazal ve uyarılmış TSH düzeylerinin eşlik etmesi ile karakterizedir. TRH'a TSH yanıtı korunmuştur. Tiroid hormon reseptör genlerinin görece ekspresyon ve dağılımlarının farklı dokularda ve gelişimin farklı süreçlerinde değişkenlik gösterdiği ve bu durumun bireyler arası periferik direnç derecesinde farklılık ya da aynı kişinin farklı dokularında değişken direnç yaratabileceği bilinmektedir. Klinik tablo olgudan olguya

farklılık gösterebilmektedir. Bazı olgular ötiroid bazı olgular hipotiroid olabilecekleri gibi bazılarıda hipertiroidik bir tablo gösterebilirler. Hatta aynı kişide bir doku hipotiroidi bulguları gösterirken diğer doku hipertiroidi tablosu gösterebilir (1).

İlk hasta Refetoff ve arkadaşları tarafından sağırılık, ossifikasyon merkezlerinde noktalanma ve guvatri olan 6 yaşındaki kız hastada 1967 yılında tanımlanmıştır. Bu hastanın erkek kardeşinde de benzer bulgular tespit edilmiştir (42).

2.8.1. Sınıflandırma

Tiroid hormon direnci sendromları, klinik durumun değişkenliği nedeniyle jeneralize veya izole hipofizer direnç olarak tanımlanmaktadır. Ancak hasta bazında bu ayrım genellikle subjektif kalmakta ve objektif tanı kolay olmamaktadır. Ayrıca; değişik dokularda tiroid hormon etkisinin farklı yansıması THD'nin tanımlanan değişik formlarının farklı hastalıklar olmaktan çok tek bir hastalığın yelpazesi içinde yer alan durumlar olduğunu düşündürmektedir (8,9).

2.8.1.a. Tiroid hormonuna jeneralize direnç

Tiroid hormon direnci olgularının çoğunda bu form gözlenir. Klinik olarak olguların çoğu artmış tiroid hormonu sentezi nedeniyle ötiroiddir. Ancak farklı dokuların değişik derecelerde direnç göstermesine bağlı olarak klinik tablo hipotiroidi şeklinde olabilir yada hipotiroidik ve hipertiroidik bulgular bir arada gözlenebilir (3).

2.8.1.b. Tiroid hormonuna izole hipofizer direnç

Hastalar hipertiroidi tablosu gösterirler. Uygunsuz yüksek TSH sekresyonu T3 veT4'ün fazla yapımına neden olur. Genellikle bulgu ve semptom bazında hipofizer direnç ile jeneralize direnç ayrımı güçlük göstermektedir (9).

2.8.2. İnsidans

Tiroid hormon direnci sendromunun sıklığı 1/40.000 olarak bildirilmektedir (7). Bugüne kadar 372 aile ve binden fazla olgu tanımlanmıştır. Olguların %85'inde mutasyon TR β geninde saptanmışken, %15'inde “non-TR mutasyon” (tiroid hormonu “hücre taşınım” bozukluğu ve tiroid hormonu “metabolizma” bozukluğu) söz konusudur. Tutulum cinsiyet farkı göstermez (3,5).

2.8.3. Moleküler patogenezi

Tiroid hormon direnci otozomal dominant geçişli bir hastalıktır, sadece bir ailede otozomal resesif kalıtım gösterilmiştir. Olguların %90'ında, THD, tiroid hormon β reseptörünün (TR β) iki alelinden birindeki mutasyonun sonucu gerçekleşir (Heterozigot durum). Mutasyonu homozigot olarak taşıyan 2 olgu da bildirilmiştir (43-46). Kalan %10 olgu fenotipleri, mutasyon saptanan olgulardan farklılık göstermeyen, ancak TR β mutasyonu saptanmayan bireylerden oluşur (3). TR β mutasyonlarının %15-20'si sporadik mutasyondur (1).

2.8.4. THD'de mutasyonlar

Bu güne kadar incelenen tüm TR direnç olgularında moleküler defekt TR β genindedir ve tanımlanmış germ-line TR α mutasyonu yoktur. Mutasyonların çoğu TR β 'nin LBD'si içinde iki bölge (310-353. aminoasitler) şeklinde kümelenmiştir. Mutasyonların üçüncü kümesi son zamanlarda tanımlanmıştır (47). Bu bölge (234.ve 282 aminoasitler arası) LBD'nin proksimal ucuna ve "hinge" bölgesine denk düşmektedir (3,47). Yakın zamanlarda, daha önce saptanmış mutasyon bölgelerinden farklı bir bölgede yer alan (374. ve 383. aminoasitler arasında) 3 yeni mutasyon tanımlanmıştır. Bu bulgular dördüncü bir mutasyon bölgesi bulunabileceği şeklinde yorumlanmıştır (48). Mutasyonların yerinden bağımsız olarak, T3 bağlama afinitesi de değişik derecelerde bozulmuştur.

TR β reseptörünün LBD'inde mutasyon bulunan hastalarda T3'ün bu bölgeye çok az bağlanabilmesi sonucu transkripsiyon normal kişilerdeki gibi gerçekleşemez. Bunun yanı sıra, THD sendromunda mutant TR'nin fonksiyonunun bozulması dışında, normal alelin fonksiyonun etkilenmesi de söz konusudur. Mutant alelin normal alelin etkisini bloke etmesi "dominant negatif etki" olarak tanımlanır (1,8,49-51).

Bu iki homozigot olgunun dışında, THD'deki mutasyonlar tek bir alelde olmak üzere çoğunlukla tek bir aminoasit değişikliğine yol açan tek nükleotid substitüsyonlarıdır (8,47). 2000 yılına dek THD'de tanımlanan 36 mutasyonun her birinin birden fazla ailede görüldüğü bildirilmiştir (3).

TR β mutasyonu şimdiye kadar 343 aile saptanmış olup, 124 farklı mutasyon tanımlanmıştır (325 ailede tek nükleotid değişikliği, 18 ailede delesyon/insersiyon) (9,10,11).

Benzeyen mutasyonlar değişik ailelerde veya aynı ailede içinde bile değişken fenotiplere yol açabilirler (46). THD klinik özellikleri ile reseptör mutasyonunun niteliği veya lokalizasyonu arasında ilişki saptanmamıştır (3).

Hormon reseptör kompleksinde normal olarak bulunan kofaktörlerin ya da ko-aktivatör ve ko-represor kofaktörlerin varsayılan defekti azalmış hormon duyarlılığına sebep olabilir. Son çalışmalar, tiroid hormonunun non genomik mekanizmalar yoluyla sitozol seviyelerinde de etki gösterebildiklerine işaret etmektedir (52,53).

2.8.5. Klinik

THD'nin en tipik özelliği heterojen klinik tablodur. Olgular subklinik seyredebilecekleri gibi, ağır semptomlar da taşıyabilirler (9). Klinik bulgular, hipofizde ve periferik dokulardaki direnç derecesine göre değişkenlik gösterir (5).

1967'de Refetoff ve arkadaşlarının (42) bildirdikleri ilk THD'li olgular anne baba akrabalığı olan kardeş olgulardır. Bu hastalarda ortak saptanan bulgular, sağırılık, benekli epifizler, kısa boy, dismorfik yüz görünümü, skapulanın kanatlaşması, pektus karinatus ve guvatr olarak tanımlanmıştır. Kemik yaşları geri olan hastaların diş gelişimleri normal bulunmuş ve bu hastaların ötiroid oldukları belirtilmiştir.

THD'de klinik tablo kretenizmden tirotoksikoza kadar oldukça geniş bir yelpazede yer alabilir. Farklı bireylerde doku direnci çeşitli periferik dokuları etkileyebilir ve aynı bireyde bile periferik dokular farklı direnç dereceleri gösterebilir. Yani aynı hastada hem hipertiroidi, hem de hipotiroidi bulguları bir arada olabilir. Bu durum farklı dokularda tiroid reseptör izoformlarının dağılımındaki çeşitliliğe bağlanmaktadır. Bir diğer doku direnci derecesini belirleyen faktörün normal TR β aleline karşı, mutant olanın göreceli oranı olduğu düşünülmektedir. Daha önce bildirilen iki homozigot olgudan birinde taşikardi, ekzoftalmi, tiromegali ve kilo alamama gibi hipertiroidi bulgularının yanında, büyüme gelişme geriliği, kemik yaşı geriliği gibi hipotiroidi bulguları da bildirilmiştir (54).

Guvatr, taşikardi, kemik yaşı geriliği, boy kısalığı, emosyonel bozukluk, hiperkinetik davranış, öğrenme güçlüğü, mental retardasyon, sinirsel tip sağırılık görülebilen klinik bulgular arasındadır.

Guvatr, THD'de en sık görülen klinik bulgudur. Genellikle diffüzdür. İlginç olarak, etkilenmiş annelerin THD'li doğan çocuklardaki guvatr oranı %35 bulunmuşken, etkilenmemiş annelerin THD'li bebeklerinde %87 saptanmıştır. Bu

durum maternal hipertiroksinin guvatrojeneze karşı koruyucu olduđunu dűşűndűrebilir (5). THD’li hastada toksik multinodűler guvatr geliřimi sadece bir hastada bildirilmiřtir (55). TSH’nın artmıř biyolojik aktivitesi guvatra neden olabilir.

THD’de kardiyak tutulumun çocuklardan çok eriřkinlerde sűz konusu olduđu kabul edilmektedir. Yařları 3.5-13.7 arasında deđiřen THD’li çocuklarda sađlıklı kontrollere gűre, kalp hızının daha yűksek, sol atrium çapının daha geniř ve sol ventrikűl ejeksiyon fraksiyonunun daha kısa olduđu belirtilmiřtir (5,6). Diđer taraftan, farelerde TRβ mutasyonun kardiyak fonksiyon űzerine çok az etkisi olduđu bildirilmiřtir. Bu etkinin tiroid hormonuna hipertrofi řeklinde verilen normal cevabın azalması biçiminde olduđu belirtilmiřtir (56). Jeneralize THD’li olguların %75’inde çarpıntı ve tařikardi bildirilmiřtir (5). THD’li olguların yaklařık %30’unda myokard kontraktilesinde artma ve bűyűk oranda mitral valv prolapsusu ile birliktelik gűsteren bozulmuř diyastolik gevřeme saptanmıřtır (5).

Epifizde noktalanma ve skapulada kanatlařma ilk THD’li hastada gűze çarpan bir klinik bulgu iken, diđer olgularda bildirilmemiřtir (42). THD’li çocuklarda kemik yařı ve kronolojik yař arasındaki iliřki deđiřken gűrűnmektedir. Kemik yařı kronolojik yařa gűre geri veya ileri olabileceđi gibi, kronolojik yařa uygun da bulunabilir (5,9,57,58). Bűyűme geriliđi ve gecikmiř iskelet maturasyonu THD’li çocuklarda gűrűlen bulgulardır. Bununla beraber, final boy çođu zaman etkilenmez (57). Etkilenmiř yenidođanların űte biri dűřűk dođum ađırlıklıdır. THD’li çocukların űte birinin boylarına gűre zayıf oldukları belirtilmekte ise de, THD’li ocuklarla THD’li olmayan çocuklar arasında vűcut ađırlıđı açısından istatistiksel farklılık saptanmamıřtır (5).

Bazal metabolizma hızı THD’li çocuklarda deđiřkendir. Normal olabileceđi gibi yűksek de olabilir (5,9).

Dikkat eksikliđi-hiperaktivite sendromu ile THD arasında kuvvetli bir iliřki bulunmuřtur. THD’li çocuklarda dikkat eksikliđi-hiperaktivite sendromu %75 oranında gűrűlűrken, etkilenmemiř çocuklarda bu oran %15’dir (59). THD’li ocuklarda IQ skoru 16 puan geri bulunmasına rađmen belirgin zeka geriliđi (IQ<60) oldukça nadirdir. Bazı hastalar orta derecede űđrenme gűclűđű gűsterebilir (IQ< 85). Ancak THD’de IQ ile dikkat eksikliđi-hiperaktivite arasında bir korelasyon bulunmamıřtır (5). THD’de artikűlasyon problemleri ve sűzel performansda azalma bildirilmiřtir. Bu durumun reseptűr geninin 10. ekzonunda mutasyon bulunan olgularla

kiyaslandığında, 9. ekzonda mutasyon taşıyan olgularda daha sık görüldüğü bildirilmiştir (60).

TR β subuniti kohleada da yerleşim gösterir. Belirgin derecede işitme kaybı hastaların %21'inde bildirilmiştir. %50'sinde iletim tipi işitme kaybı görülür. İşitme kaybı ile birlikte olan veya olmayan kohlear disfonksiyon %50 oranında bulunur (61).

TR β 2 isoformunda delesyon olan farelerde M- cone fotoreseptörlerinin selektif kaybı ve renkli görmede anormallik saptanmıştır (58). Bununla birlikte monokromatik renkli görme sadece ressesif kalıtılan THD'li ve komplet TR β gen delesyonu olan kardeşlerde saptanmıştır (42).

Aşırı terleme, sıcağa tahammülsüzlük, diyare, uykusuzluk, ajitasyon, hipotoni ve nöbetler de THD'li çocuklarda gözlenen semptom ve bulgular olarak belirtilmiştir (3).

Ağır hasarlı alel sonucu gelişen THD nadir görülen bir durum olmasına rağmen, daha hafif defektler de söz konusu olabilir ve silik klinik-biyokimyasal tablo nedeniyle tanınamayan olgularda psikolojik ve özellikle çocuklarda büyüme ve santral sinir sistemi olgunlaşması gibi fizyolojik fonksiyonlar olumsuz etkilenebilir.

2.8.6. Laboratuvar bulguları ve tanı

Yüksek tiroid hormon düzeylerine baskılanmamış TSH eşliği THD tanı kriterlerindendir. TRH'ya TSH yanıtı yüksek TH düzeyleri ile uyumsuz normal veya abartılıdır (3).

Serum transtretin (T4 bağlayıcı prealbumin- TBPA) konsantrasyonları normaldir. T3/T4 oranı ötiroid durumda olan ve direnci bulunmayan bireylerinkinden hafifçe yüksektir (62,63).

Genellikle serum tiroglobulin (TG) düzeyleri de yüksektir (3). Tiroid iyot yakalaması artmış olabilir. Tiroid antikorları negatiftir (63).

2.8.7. Tirotrop direncin değerlendirilmesi

THD olgularında direncin değerlendirilmesinde kullanılan TRH testi (400 μ g/1.74 m², IV) Refetoff tarafından tiroid hormonu ve TSH kan örneklerinin artan dozlarda (50 μ g, 100 μ g, 200 μ g) üçer günlük L-T3 uygulaması sonrası 0,15,30,45,90,120,180,240 dakikalarda alınması şeklinde tanımlanmıştır (3,64).

Etkisinin hızlı başlaması ve aktivitesinin kısa sürmesinin yanısıra, vücut dokularına doğrudan etkisi nedeniyle hücresel transport ve metabolizma hatalarından etkilenmemesi L-T3'ün L-T4'e tercih nedenidir (3).

Sağlıklı bir kişiye suprafizyolojik dozlarda L-T3 verilmesi halinde TRH'ya TSH yanıtı baskılanır. THD'de bu yanıt gözlenmez. TH etkisine en duyarlı hücre tirotrop hücrelerdir (1,49).

2.8.8. Periferik direncin ölçülmesi

Hedef dokuların tiroid hormonuna direnç göstermesi durumunda T3 periferik dokularda beklenen metabolik cevapları oluşturmaz (62). Periferik doku direncinin ölçülmesinde direnç olgularının verilerini normal kontrollerle karşılaştırmak, yaş-cins uyumlu kontrol değerlerinin olmaması nedeniyle mümkün değildir. Bu nedenle kademeli arttırılarak verilen L-T3 dozundan sonra yapılan ölçümler ve bu ölçümlerin bazal değerleriyle karşılaştırılarak yorumlanması bireyin tiroid hormonunun periferik dokulardaki etkilerinin değerlendirilmesi açısından önem taşır (3,4).

Tiroid hormonlarının etkisiyle normalde serumda, kolesterol ve CPK düşer. Ferritin, seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG), anjiotensin konverting enzim (ACE) ve kemik döngüsü göstergeleri genellikle artar (3,64).

Tiroid hormon etkisinin periferik etkileri doku bazında aşağıdaki biçimde değerlendirilebilir:

- Hipofiz: TSH
- Genel: Bazal metabolizma hızı
- Karaciğer: SHBG, ferritin, kolesterol
- Kas: Kreatinin kinaz, bilek atım gevşeme zamanı
- Kemik: Boy, kemik mineral dansitesi, osteokalsin, alkalen fosfataz, tip 1 kollojen telopeptid, idrar pridinyum metabolitleri
- Kardiyak: Uykuda kalp hızı, sistolik zaman aralığı, diyastolik izovolemik gevşeme zamanı
- Hematolojik: Solubl interlökin 2 reseptörü
- Akciğer: ACE (1).

2.8.9. Ayırıcı tanı

Ayırıcı tanıda öncelikle serum tiroid hormonu bağlayıcı globulinler göz önünde bulundurulmalıdır (65,66). Bunlardan konjenital TBG fazlalığında serum T4, T3 ve rT3 düzeyleri yüksektir. Ancak TSH ve serbest tiroid hormon düzeyleri normaldir. TBG ölçümü yapılarak ayırıcı tanısı yapılabilir.

THD ayırıcı tanısında düşünülmesi gereken bir diğer taşıyıcı protein anormalliklerinden familyal disalbuminemi hipertiroksinemi (FDH) familyal ötroid hipertiroksineminin en sık görülen sebebidir (65,66). FDH, otozomal dominant kalıtılır. Patolojiden albumin genindeki mutasyon nedeniyle T4'e affinitesi artmış anormal bir albumin sorumludur.

Familyal ötroid hipertiroksinemide tiroksinin anormal prealbumine bağlanması artmıştır ve TT4 yüksek bulunur. TT3, sT3, sT4 düzeyleri normaldir (66).

TSH salgılayan adenomlar da (TSHoma) THD'nin ayırıcı tanısında düşünülmelidir (67). Serbest tiroid hormonları ve TSH yüksek saptanır. Genel olarak TSHoma sporadiktir ve sıklıkla birlikte prolaktin ve büyüme hormonunda salgılar. Serum α subünitesi TSH'ya göre fazla salgılanır. Bu nedenle yüksek α subünitesi düzeyi ve yüksek α /TSH saptanır. THD'de bu oran normaldir (67). L-T3 verilmesi sonrası serum TSH düzeyi azalmadığı gibi, TRH uyarısıyla da TSH artışı olmaz. Hipofiz magnetik rezonans görüntüleme (MR) incelemesi çoğu zaman anormaldir. Bu hastalar tirotoksikdir. MR, THD ve TSHoma ayırıcı tanısında küçük rastlantısal mikroadenomların gözden kaçması veya normal popülasyonda rastlanılan sessiz mikroadenomlar nedeniyle yol gösterici değildir (68).

1 yaşından önce kör olan çocuklarda normal TSH ile birlikte yüksek sT3 ve sT4 düzeyleri bulunabilir. Bu bireyler klinik olarak ötroiddir (69).

Tiroid hormonu membran transporter defektleri de THD benzeri tablo oluşturabilir. MCT8 T3 seçiciliği yüksek bir taşıyıcı proteindir. Hipofiz, hipotalamus, tiroid, plasenta, karaciğer ve böbrekte bulunur. MCT8 gen mutasyonu X-geçişli psikomotor retardasyon (Allan-Henderson-Dudley Sendromu) olarak bilinmektedir. Tip2 deiyodinidaz enzimi eksprese edemeyen nöronda T4 taşınma bozukluğu hücre içi T3 eksikliğine yol açar. Yüksek serum T3 ve düşük rT3 düzeyleri karakteristik özelliğidir. T4 hafif düşük olma eğilimindedir ve TSH normal veya hafif yüksek bulunabilir (70-73).

Tiroid hormonunun metabolizma defektleri de tiroid hormonuna duyarlılıkta azalmaya sebep olabilir. Bu durum, T4'ün T3'e dönüşmesinde gerekli olan çeşitli deiyodinidazların yapım ve yıkımındaki anormallikleri kapsar. Son zamanlarda deiyodinidaz ailesinden bir protein olan selenoproteinlerin sentezinin azalmasına neden olan bir bozukluk tanımlanmıştır. Bu hastalar düşük T3, yüksek T4 ve rT3 konsantrasyonları gösterirler (73).

2.8.10. Tedavi

Dokular arası direnç değişkenliği nedeniyle tedaviyle dokuların tümünde ötiroidizmin sağlanması mümkün değildir. Bu nedenle THD'de özgün bir tedavi seçeneği yoktur (74,75).

Metabolik açıdan normal olan olguların tedavi edilmesi gerekmez. Ancak periferik direncin bulunduğu olgularda gelişen hipotiroidi TH replasman tedavisiyle düzeltilmelidir. Bu hastaların TH düzeyleri, SHBG, kolesterol, ferritin, bazal metabolizma hızı, kemik dansitesi, ve üriner hidroksiprolin gibi tiroid hormon periferik etki ölçütleri yakın izlenmelidir (74-76).

THD ailelerinin yenidoğanların dikkatle izlenmesi gerekir. Yüksek TSH düzeyleri herhangi bir hastalığa veya nedene bağlanamayan, kilo alamama, sebebi belirlenemeyen nöbetler ve gelişme geriliği ile seyreden ve ailede somatik gelişme geriliği veya mental retardasyon hikayesi olan olgularda tiroid hormon tedavisi düşünülmelidir (74).

Yüksek TSH düzeylerinin saptandığı olgularda TSH düzeyinin normale dönmesi tedavinin yeterliliği açısından iyi bir kriterdir. Periferik direncin baskın olduğu olgularda ise tiroid hormonunun etkisinin değerlendirilmesini sağlayan periferik göstergelerin ölçümü ile tedavi yönlendirilebilir (74).

Hipertiroid olgularda antitiroid ilaçlar, kortikosteroidler, dopamin agonisti bromokriptin, somatostatin analogu oktreotid, L-T3 ve tiroid hormon analoglarıdır gibi değişik ajanların etkinliği pek çok çalışmada araştırılmıştır.

THD'de kullanılan tiroid hormon analogları 3',5',3' triiyododroasetik asit (TRIAC) ve dekstrotiroksin (D-T4)'dür (77-82). TRIAC, hipofizer sekresyonu, periferik dokularda tiromimetik etki olmadan bloke ettiği için THD'deki hipertiroidizmde tercih edilir. TRIAC, TR α 1 reseptörlerinden çok TR β reseptörlerine bağlanır; hipofiz ve hepatik tiromimetik etkileri baskındır. TRIAC tedavisi ile serum

TSH ve tiroid hormon seviyelerinde düşme, guvatr boyutlarında azalma ve hipermetabolik periferik dokularda tiroid hormon etkilerinde hafifleme gözlenen çalışmalar olduğu gibi, yararlı bulunmadığını bildiren de raporlar da mevcuttur (77-79).

Atenolol T4, T3 dönüşümünü etkilemeden taşikardi ve tremor semptomlarında oldukça etkilidir. Antianksiyete ilaçları, sinirlilik semptomlarını düzeltebilir. Dopaminerjik ilaçlar ve somatostatin analoglarının kullanımı yan etkileri ve yetersiz TSH supresyonu nedeniyle sınırlıdır (77).



3. OLGULAR VE YÖNTEM

3.1. Olgular

Mayıs 2009 ile Mayıs 2011 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Endokrinoloji BD Polikliniğine başvuran veya bu tarihler arasında takipte olan 3.29-12.8 yaşları arasında doğumsal primer hipotiroidi tanısı ile izlenen, tanı anında veya takip sırasında fizyolojik replasman dozunda levotiroksin tedavisi almakta iken en az 1 yıllık izlem sürecinde ortalama $sT4 \geq 1,44$ ng/dl olup, $TSH \geq 4,2$ uIU/ml bulunan, kronik ve sendromik bir hastalığı olmayan, konjenital kalp hastalığı bulunmayan ve Hashimoto tiroiditi tanısı dışlanmış 20 hasta (13 kız, 7 erkek) çalışmaya alındı. Bu kriterlere uyan ve çalışmaya katılmayı kabul eden olgulardan imzalı bilgilendirilmiş onam formu alındıktan sonra olguların tanı yaşları, antropometrik verileri, fizik muayene bulguları, guvatr eşliği, izlemdeki tiroid hormon düzeyleri, TRH testine TSH yanıtları ve ultrasonografik tiroid volümleri dosyalarından kaydedildi. Tiroid ultrasonografisinde tiroid bez volümünün yaşa göre < -2 SDS (standart sapma skoru) olması hipoplazi, $> +2$ SDS olması guvatr olarak kabul edildi. Değerlendirmede Kurtoğlu ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışma esas alındı (83).

Bu olgulardaki hipofizer tiroid hormon direncine periferik doku direnç eşliği araştırıldı. Bu amaçla tedavi almayan hastalar veya fizyolojik replasman dozunda L-T4 tedavisi almaktayken tedavisi tarafımızdan 2 ay kesilen olgularda tiroid hormonunun periferik etkilerini değerlendirmek amacıyla $sT3$, $sT4$, TSH, SHBG, kolesterol, alkalen fosfataz, osteokalsin, ACE ve CPK düzeyleri çalışıldı. M mod ve Doppler ekokardiyografi (EKO) ile kardiyak değerlendirme yapıldı. Daha sonra 10 gün boyunca $50 \mu\text{g}/\text{m}^2$ dozunda L-T3 verilerek aynı parametreler tekrarlandı ve istatistiksel olarak değerlendirildi. Artan dozlarda ardışık L-T3 verilmesi ve her bir periyotta biyokimyasal parametrelerin ve TRH'a TSH yanıtının ölçülmesi şeklinde yapılan standart uygulama ekonomik yetersizlik nedeniyle ve ayrıca çocuk hastalarda yıpratıcı bir süreç olma gerekçesiyle modifiye edildi ve suprafizyolojik doz, replasman dozunun 2.5 katı olacak biçimde ayarlandı.

TH reseptör mutasyon analizi için DNA örnekleri ayrıldı.

3.2. Periferal Kandan DNA Eldesi

Olguların genomik DNA'larının eldesinde, Miller ve arkadaşları (84) tarafından geliştirilen standart DNA eldesi yöntemi modifiye edilerek DNA eldesi için kullanılan çözeltiler ve yöntem basamakları aşağıdaki gibi uygulandı.

3.2.1. Kullanılan solüsyonlar

Lizis Tamponu

NH ₄ Cl ₂	(Sigma)	4.14 gr
KHCO ₃	(Sigma)	0.5 gr
0,5 M EDTA	(Sigma)	2 ml

Yukarıda belirtilen miktarlarda hazırlanan karışıma toplam hacim 500 ml olacak şekilde distile su eklenerek hazırlanan lizis tamponu otoklavda sterilize edildi ve +4°C'da saklandı.

WBL (White Blood Lysis) Tamponu

4M NaCl	(Sigma)	2.5 ml
0,5 M EDTA	(Sigma)	5 ml

Yukarıda belirtilen miktarlarda hazırlanan karışıma toplam hacim 100 ml olacak şekilde distile su eklenerek hazırlanan WBL tamponu otoklavda sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

0,5 M EDTA

EDTA	(Sigma)	18.612 gr
NaOH tableti	(Sigma)	10-15 adet

Yukarıda belirtilen miktarlarda hazırlanan karışıma toplam hacim 100 ml olacak şekilde distile su eklenerek hazırlanan çözeltinin pH'sı 8 olacak şekilde ayarlandı, otoklavda sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

9.5 M Amonyum Asetat

Amonyum Asetat	(Merck)	36,613 gr
----------------	---------	-----------

Yukarıda belirtilen miktarda amonyum asetat 50 ml distile suda çözüldü.

Otoklavda sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

%10 SDS (Sodyum Dodesil Sülfat) Çözeltisi

SDS (Merck) 1 gr

Yukarıda belirtilen miktarda SDS 10 ml distile suda çözüldükten sonraç filtreden (orange scientific) geçirilerek sterilize edildi ve oda sıcaklığında saklandı.

Proteinaz K (20 mg/ml)

Proteinaz K (AppliChem Proteinase K) 100 mg

Yukarıda belirtilen miktarda proteinaz K 5 ml steril distile suda çözüldü, -20°C’da saklandı.

4M NaCl

NaCl (sigma) 23,4 gr

Yukarıda belirtilen miktarda NaCl 100 ml steril distile suda çözüldükten sonra otoklavda sterilize edildi ve oda sıcaklığında saklandı.

%70’lik Alkol (C₂H₅OH)

Etil Alkol (Reidel) 70 ml

Distile su 30 ml

70 ml etil alkol, 30 ml distile su ile karıştırıldı ve +4°C’da saklandı.

3.2.2. DNA izolasyonu basamakları

K3EDTA’lı steril tüplere alınan 10 ml kan örneği alt üst edilerek homojenize edildikten sonra 50 ml’lik steril falkon tüplere aktarıldı. Üzerine 30 ml lizis tamponu ilave edilip vorteks ile karıştırıldı. Lizis tamponunun aktivitesini arttırmak amacı ile 15 dakika buzda bekletilen falkon tüpler bu süre sonunda +4°C’da, dakikada 2000 devirde (rpm–revolution per minute) 10 dakika santrifüj (Beckman Coulture–Allegra X–15) edildi. Santrifüj işlemi sonrası elde edilen dökelti atılıp çökelti elle vurularak homojenize edildi. Bu işlemin ardından tüpe 20 ml lizis tamponu eklendi. Vorteks ile karıştırılan falkon tüp tekrar +4°C sıcaklıkta, dakikada 2000 devir olacak şekilde 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonrası elde edilen dökelti atılıp çökelti elle vurularak homojenize edildi. Bu işlemin ardından çökelti üzerine 9,4 ml WBL tamponu, 50 ml Proteinaz K (20 mg/ml) ve %10’luk SDS çözeltileri eklendi. Tüp alt

üst edilerek yavaşça karıştırılıp, ağzı parafilm ile kapatıldıktan sonra 37°C’da bir gece inkübasyona bırakıldı.

İnkübasyon aşamasının ardından 30 dakika oda ısısında bekletilen falkon tüpe 3,7 ml 0.5M amonyum asetat eklendi. Beyazımsı bir renk oluşuncaya kadar elle vurularak iyice karıştırılması sağlandı. Oda ısısında, dakikada 5000 devir olacak şekilde 30 dakika santrifüj edildi. Santrifüj işlemi sonucu elde edilen dökelti steril bir falkon tüpe aktarıldı. Dökeltinin 2 katı miktarındaki %96’lık soğuk etil alkol, falkondaki dökelti üzerine yavaşça eklendi. Tüp yavaşça alt üst edilerek DNA’nın yoğunlaşması sağlandı. Mikropipet yardımı ile alınan DNA, içerisinde 500 µl %70’lik etil alkol bulunan ependorf tüpe aktarıldı. Tüp, oda ısısında dakikada 14000 devir olacak şekilde 10 dakika santrifüj edilerek DNA’nın yıkanması sağlandı. Santrifüj işlemi sonrası dökelti atıldı, çökelti 37°C’lık etüvde ağzı açık olarak kurutuldu. Bu işlemin ardından tüpe 500 µl steril distile su eklenerek DNA’nın çözünmesi sağlandı. Elde edilen genomik DNA örnekleri uzun süreli olarak –20 °C, kısa süreli olarak ise +4°C’da saklandı.

3.2.3. DNA örneklerinin spektrofotometrik ölçümü

İzole edilen DNA örneklerinin miktar ve saflık dereceleri spektrofotometre (Nanodrop 1000) ile belirlendi. Ölçüm için 1.5 µl genomik DNA spektrofotometreye yüklendi. Örneklerin 260 nm ve 280 nm dalga boylarında elde edilen ölçümlerinin oranı ile DNA’nın saflığı ve DNA’nın miktarı ng/l cinsinden belirlendi. Belirlenen değerlere göre DNA örnekleri 10 ng/l olacak şekilde sulandırıldı.

3.2.4. PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemi

PCR reaksiyonu, “Bio–Rad MyCycler™ Thermal Cycler” cihazında gerçekleştirildi. İşlem basamakları aşağıda belirtilen şekilde uygulandı.

3.2.4.a. PCR reaksiyonlarında tiroid hormon reseptör beta (TRβ) eksonlarının amplifikasyonu

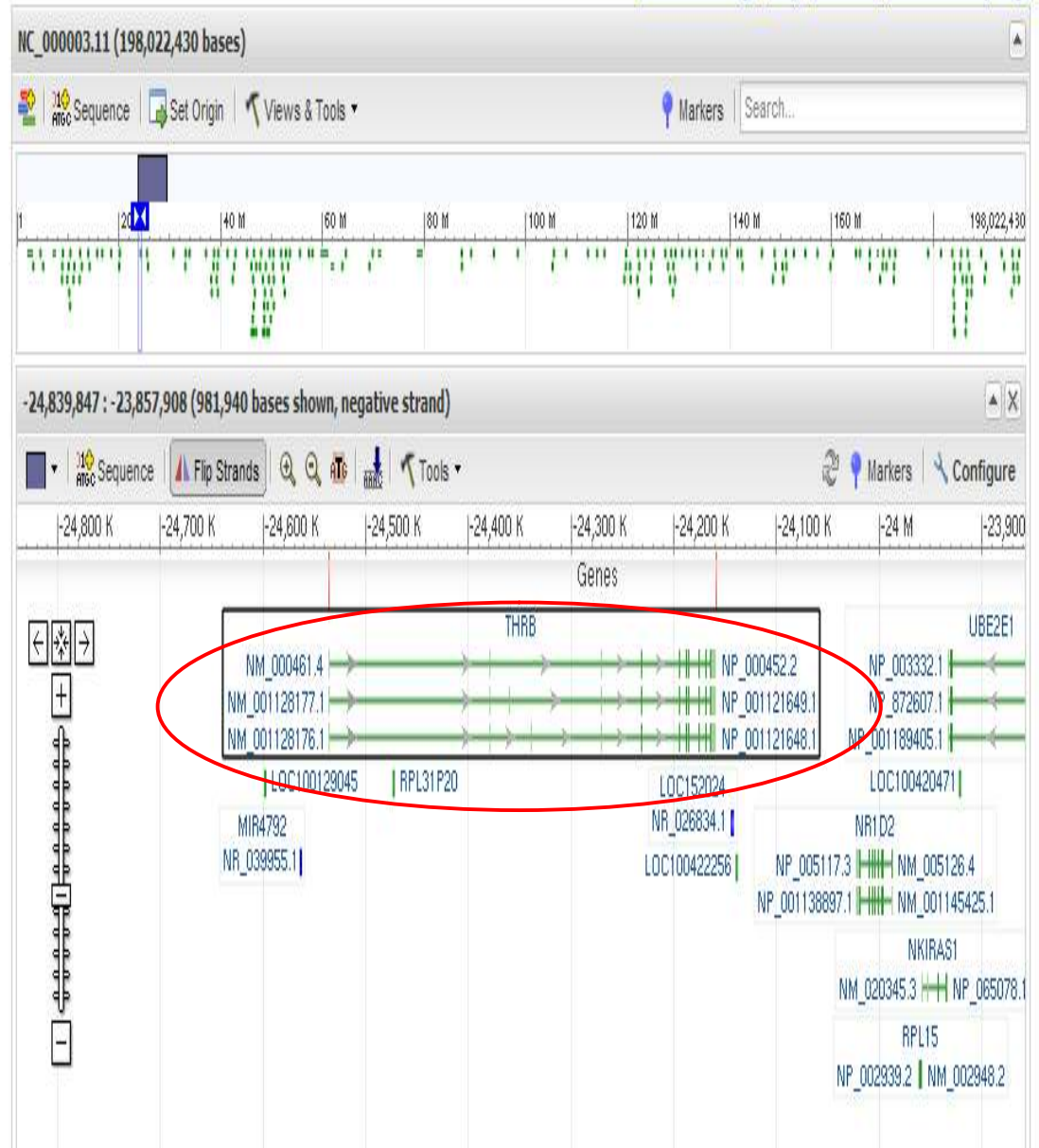
TRβ geninin tüm kodlayıcı eksonlarını amplifiye etmek için kullanılacak primer dizileri belirlendi. TRβ geninin eksonları NCBI Sequence Viewer programı ile şekil 3.1.’de gösterilmektedir.

Homo sapiens chromosome 3, GRCh37.p5 Primary Assembly

NCBI Reference Sequence: NC_000003.11

[GenBank](#) [FASTA](#)

[Link To This Page](#) [Help](#) [Feedback](#) [Printer-Friendly Page](#)



Şekil 3.1. TR β geninin eksonlarının NCBI Sequence Viewer programında görünümü.

Çizelge 3.1. TR β geninin PCR ile çoğaltılacak olan eksonları, ilgili primerleri ve amplikon büyüklükleri.

PCR Amplikonunun kapsadığı ekson	Primer Adı	Primer dizisi (5'>3' yönünde)	PCR Amplikonunun büyüklüğü (baz çifti)
5	5F	ACAGCAAATCTGTGAGCTGGTAGC	614
	5R	GTGTGCAATGGCTAAAGGATGGCT	
6	6F	TCCGACAGGCAACCCAAGTGC	692
	6R	CCCCAAGTGTCCCAGCACAACG	
7	7F	GGCATTCTGAAATCCTGGGCCTATGT	445
	7R	AGAGCACAACCAGACACCTGGA	
8	8F	GCGCTAGATGTTCTACTAGCCTCTT	729
	8R	AGTGTGCTAACAAGTACTAGCCTGC	
9	9F	AAGCTGGCCGGTCATGGGGA	589
	9R	TCCTAGCTTTGCAAGTTACTCAGCC	
10	10F	TGTGCATTTCAGAAGCAGGACCCA	783
	10R	TGTGGGCAAACCTGAGCACCT	
11	11F	ACCCCCAACTGAGGGGTTATTAGCA	721
	11R	CCCAGTCCACTGGCAAACCTGC	
12	12F	AGGAGGGAGGCATCACCTTTCACA	778
	12R	CCCCCACCACCTCCACAA	

3.2.4.b. PCR reaksiyonunun içeriği

Çizelge 3.1.de belirtilen primerler kullanılarak 5-12 numaralı eksonları çoğaltmak için kurulan PCR reaksiyonunun içeriği aşağıda verilmiştir.

Çizelge 3.2. 5-12 numaralı ekzonların PCR reaksiyon içeriği.

İçerik	μ l
10X Tampon	2.5
MgCl ₂ (25 mM)	2-3
dNTP Karışımı (10 mM)	0.5
İleri Primer (10 mM)	0.5
Geri Primer (10 mM)	0.5
Taq Polimeraz (5 u/l)	0.15
DNA (10 ng/l)	3
Distile su	Toplam hacim 25 μ l olacak şekilde ayarlandı

3.2.4.c. PCR programı

PCR cihazında amplifikasyon için 94°C’da 5 dakika başlangıç denatürasyonun ardından her bir döngüde denatürasyon için 94°C’da 45 saniye, birleşme için 55-60°C’da 45 saniye, uzama için 72°C’de 45 saniye olacak şekilde 35 döngü halinde programlandı. Son uzama ise 72°C’da 5 dakika olarak ayarlandı.

3.2.5. Agaroz jel elektroforezi ve görüntüleme sistemi

Amplifikasyonun gerçekleşip gerçekleşmediğini kontrol etmek için örnekler %2’lik jel elektroforezi ile yürütüldü.

3.2.5.a. Kullanılan solüsyonlar

1X TBE Tamponu

Tris–Baz ($C_4H_{11}NO_3$)	(Sigma)	21.68 gr
Borik Asit (H_3BO_3)	(Merck)	11 gr
EDTA	(Sigma)	1.48 gr

Yukarıda belirtilen miktarlarda hazırlanan karışıma toplam hacim 1000 ml olacak şekilde distile su eklenerek hazırlanan 1X TBE tamponu +4°C’da saklandı.

3.2.5.b. %2’lik agaroz jelin hazırlanması

Agaroz jeli hazırlamak üzere 2 gr agaroz (Generose), erlenmayerde 100 ml 1XTBE (Triz–Borat–EDTA) tamponunda çözüldü. 50–55°C’a gelene kadar soğutuldu. 0.5 µg/ml etidyum bromür (EtBr– Sigma) ilave edildi. Elektroforez kuvetine tarak yerleştirildikten sonra sıvı haldeki agaroz jel elektroforez kuvetine döküldü. Oda ısısında polimerleşen jel, taraklar çıkarıldıktan sonra örneği yüklemek üzere içerisinde 1X TBE bulunan elektroforez tankına yerleştirildi.

3.2.5.c. PCR ürünlerinin elektroforez işlemi

PCR ürünleri ile Promega marka 100 bp DNA Ladder (Kat.No. #G2101), renkli yükleme tamponu kullanılarak mikropipet yardımıyla kuyucuklara yüklendi. Elektroforez tankına bağlı güç kaynağı 120 volta ayarlanıp, örnekler jelde 20 dakika yürütüldü. Bu işlemlerin ardından jel, ultraviyole (UV) ışına veren transilluminatör (Syngene–Ingenius) yardımıyla incelendi. Transilluminatör cihazına bağlı olan monitörlü sistem kullanılarak fotoğraflar alındı.

3.2.6. PCR reaksiyonun sonunda ampliconların temizlenmesi

İstenen amplifikasyonların sağlandığı PCR ürünlerinden 5 µl alınıp, 2 µl Exosap ile karıştırıldı. Karışım, 37°C’da 30 dakika, 80°C’da 15 dakika inkübe edildi.

3.2.7. DNA dizi analizi reaksiyonu

Dizi analizi reaksiyonları, Çizelge 3.3’de belirtilen reaksiyon içeriği hazırlandıktan sonra “Applied Biosystems GeneAmp PCR System 9700” marka Thermal Cycler ile aşağıda belirtilen DNA dizileme programına göre gerçekleştirildi.

Çizelge 3.3. DNA dizileme reaksiyon içeriği.

İçerik	µl
Distile su	2 µl
5X Tampon	2 µl
Big Dye v.3.1	2 µl
Primer (3,2 M)	2 µl
Kalıp DNA	2 µl

3.2.7.a. DNA dizi analizi PCR programı

PCR cihazı her döngüde denatürasyon 96°C’da 10 saniye, birleşme 50°C’da 5 saniye, uzama 60°C’da 4 dakika olacak şekilde, 25 döngü olarak programlandı.

3.2.8. DNA dizi analizi reaksiyonu sonunda ampliconların temizlenmesi

Dizi analizi reaksiyonu ürünlerinin tümü sefadeksli kolondan geçirildi.

3.2.9. Örneklerin cihaza yüklenmesi ve analizi

İçerik, dizi analizi plate’ine aktarıldı. Örnekler ABI 3130 dizileme cihazına yüklendi. Cihazdan elde edilen ham veriler ABI Sequence Analysis v3.1 programında değerlendirildi.

3.3. Ekokardiyografi Kayıtları

Tüm hastalara standart iki boyutlu ve Doppler ekokardiyografik inceleme yapıldı. Sol ventrikül çapları iki boyutlu görüntüleme kılavuzluğunda M-mode ile ölçüldü. Sol ventrikül sistol ve diyastol sonu volümleri ve ejeksiyon fraksiyonları apikal iki ve dört boşluk görüntülerden ölçüldü. M-mod ve iki boyutlu

ekokardiyografik görüntüler ve renkli akım Doppler kayıtları 3.5 MHz probe kullanılarak GE 7 Vivid 7 Pro ekokardiyografi cihazı ile alındı. “Transmitral pulsed wave Doppler” hız kayıtları üç kardiyak siklus incelenerek yapıldı. E ve A hızları sırasıyla erken diyastolde ve atriyal kontraksiyondan sonra ulaşılan en yüksek değerler olarak tanımlandı. Doku Doppler kayıtları apikal uzun eksenle mitral kapak düzeyinde lateral ve medyal segmentler, septum orta segment, sol ventrikül lateral duvarı segmentlerinden; sağ ventrikülde triküspit kapak medyal ve lateral segment ve sağ ventrikül serbest duvar segmenti alınarak yapıldı. Her segment için E, A ve S dalgaları ölçüldü. İzovolumetrik kontraksiyon zamanı (IVKZ), izovolumetrik relaksasyon zamanı (IVRZ) ve miyokardiyal performans indeksi (MPI) hesaplandı.

3.4. Biyokimyasal Değerlendirme

Tedavi almayan veya fizyolojik dozda replasman L-T4 tedavisi almakta iken tedavisi 2 ay tarafımızdan kesilen tüm olgularda tedavi öncesi ve 10 gün L-T3 tedavisi sonrası sT3, sT4, TSH, SHBG, kolesterol, alkalen fosfataz, osteokalsin, ACE, CPK düzeyleri çalışıldı. Olguların kanları sabah 9⁰⁰-10⁰⁰ arasında alındı, serumları -20°C’da donduruldu ve eş zamanlı aynı araştırmacı tarafından çalışıldı.

N-Mid Osteokalsin, SHBG: serum örneklerinde Elektrokemilüminesans İmmünassay yöntemi kullanılarak Roche Modular Analytics E170 immunoassay analizöründe ölçüldü (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany).

ACE, FAPGG metodu kullanılarak 340 nm dalga boyunda kinetik kolorimetrik yöntemle ölçüldü (Ben srl Biochemical Enterprise Milano, Italy).

Serum alkalen fosfataz ve CPK düzeyleri, standartize kolorimetrik metod ile; total kolesterol, kolesterol esteraz ve kolesterol oksidaz enzimlerinin kullanıldığı enzimatik kolorimetrik metod ile Roche Cobas 8000 otoanalizöründe ölçüldü. (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim; Germany).

Serum sT3, sT4, TSH düzeyleri, Elektrokemilüminesans İmmünassay yöntemi kullanılarak ölçüldü (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim; Germany). sT3 düzeyi normal aralığı 1.8-4.6 pg/ml, sT4 düzeyi normal aralığı 0.93-1,7 ng/dl, TSH düzeyi normal aralığı 0,27-4.2 uIU/ml olarak alındı.

3.5. İstatistiksel Analiz

Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğunu araştırmak için Kolmogorov-Smirnov normallik testi uygulandı. Normal dağılıma uygunluk durumunda parametrik yöntem olan “iki eş arası farkın anlamlılık testi” uygulandı. Normal dağılımdan sapma gözlemlendiğinde ise parametrik olmayan yöntem olan Wilcoxon işaret testi kullanılmıştır. Veriler ortanca (min-maks) şeklinde gösterilmiştir. $P < 0.05$ düzeyi anlamlılık derecesi olarak kabul edilmiştir. Tüm analizler PASW (versiyon release 18.0.0) yazılımı ile gerçekleştirilmiştir.



4. BULGULAR

Jeneralize tiroid hormon direnci tanı kriterlerini taşıyan toplam 20 olgu çalışma kapsamında değerlendirildi. 20 olgunun %65'i kız (n=13), %35'i (n=7) erkekti. Çalışma sırasındaki ortalama yaşları 7.03 ± 2.72 yıl (ortanca 6.05 yıl, yaş aralığı 3.29-12.08 yıl) olan hastaların retrospektif olarak dosyaları incelendiğinde 20 olgunun 9'unda tanı aşamasında TRH uyarı testi yapıldığı ve 30. dakikadaki TSH pik ortalamasının 61.27 ± 32.92 $\mu\text{IU/ml}$ olduğu, olguların hiçbirinde guvatr saptanmadığı, tiroid bez volümlerinin 20 olgunun 7'sinde (%35) normal, 10'unda (%50) hipoplazik, 3 olguda ise (%15) agenezik olduğu görüldü. Biyokimyasal hipotiroidisi olan hastalar replasman dozunda L-T4 tedavisi alırken, 3 olgu tedavisiz olarak izlenmekteydi. Hiçbir olgu hipertiroidi belirti ve bulgularını taşımamaktaydı.

Yirmi olgunun THD olarak kabul edildikleri dönemde "ortalama izlem değerlerinin" ortalaması olarak sT3'lerinin 4.44 ± 1.14 pg/ml (4.51 pg/ml, 2.09-6.25 pg/ml); sT4'lerinin 1.72 ± 0.25 ng/dl (1.69 ng/dl, 1.45-2.38 ng/dl) ve TSH düzeylerinin 11.17 ± 8.54 $\mu\text{IU/ml}$, (9.17 $\mu\text{IU/ml}$, 4.25- 40.38 $\mu\text{IU/ml}$) olduğu gözlemlendi. Ortalama THD tanı yaşları 28.57 ± 2.37 ay, (20 ay, 4-90 ay), ortalama izlem süreleri 55.55 ± 3.5 ay (izlem aralığı 12.08-115.8 ay) idi.

Yirmi olgunun son kontrolde ortalama boy SDS'leri 0.38 ± 1.2 [0.57,(-2.1)-(+2.78)], ortalama takvim yaşı-kemik yaşı farkları (TY-KY) -1.34 ± 0.97 [0, (-2)-(+1.1)] bulundu. Her iki parametre arasında istatistiksel ilişki gözlenmedi.

Tedavi almayan veya fizyolojik dozda aldıkları L-T4 tedavileri 2 ay kesilen toplam 20 olgunun 10 günlük L-T3 uygulaması sonrası uykuda ve 10 dakika dinlenim ardından kalp tepe atımları sayılarak ortalamaları alındı. Tedavi öncesi (82.85 ± 6.91 atım/dk) ve sonrasında (83.1 ± 7.12 atım/dk) değerler arasında istatistiksel anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$). Çizelge 4.1'de hastaların genel özellikleri, 4.2'de olguların THD tanı verileri görülmektedir.

Çizelge 4.1. THD’li hastaların genel özellikleri.

Hasta no	Cinsiyet	Yaş (yıl)	Tiroid bezi durumu
1	Kız	9.47	Normal
2	Kız	5.92	Hipoplazi
3	Kız	4.75	Agenezi
4	Kız	12.8	Agenezi
5	Erkek	5.71	Normal
6	Kız	7.16	Hipoplazi
7	Kız	10.48	Hipoplazi
8	Erkek	5.42	Hipoplazi
9	Erkek	8.96	Hipoplazi
10	Erkek	8.41	Hipoplazi
11	Kız	4.5	Hipoplazi
12	Kız	10.65	Hipoplazi
13	Erkek	10.68	Normal
14	Kız	3.29	Hipoplazi
15	Kız	5.45	Normal
16	Erkek	3.64	Hipoplazi
17	Erkek	6.15	Normal
18	Kız	7.59	Normal
19	Kız	3.82	Normal
20	Kız	5.82	Agenezi
Ort±SD		7.03 ±2.72	

Çizelge 4.2. Olguların THD tanı verileri.

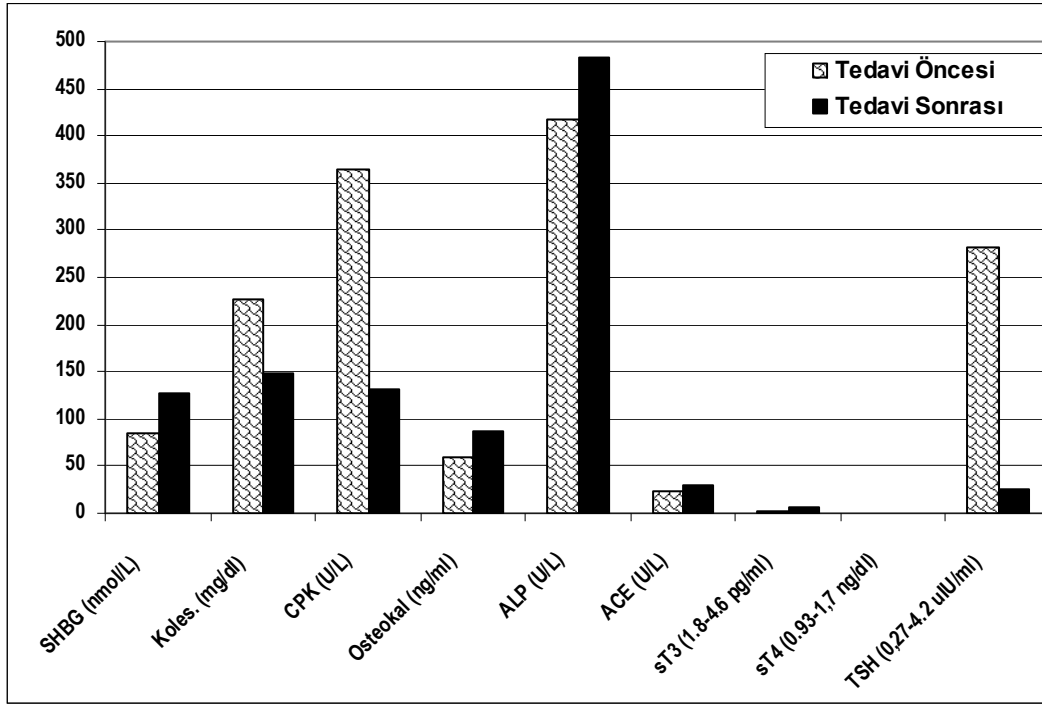
Hasta no	THD tanı yaşı (ay)	THD izlem süresi (ay)	sT3 (N:1.8-4.6 pg/ml)	sT4 (N:0.93-1,7 ng/dl)	TSH (N:0,27-4.2 µIU/ml)	TRH'ya TSH yanıtı (µIU/ml)
1	39.0	74.64	5.7	1.58	9.23	123.3
2	20.0	51.04	6.25	1.76	10.85	
3	20.0	37	4.53	1.73	6.17	100.0
4	12.0	141.6	3.8	1.72	10.46	64.0
5	4.0	64.5	4.86	1.61	12.8	
6	21.0	64.92	2.09	1.71	9.11	
7	39.0	86.76	4.75	1.64	7.27	56.72
8	23.0	42	4.5	1.47	5.18	
9	20.0	87.5	3.31	1.49	14.04	21.99
10	11.0	89.9	5.35	2.03	10.9	
11	19.0	35	4.49	1.57	5.15	
12	12.0	115.8	2.49	1.69	22.9	
13	90.0	38.1	5.85	2.38	4.53	34.0
14	19.0	20.4	3.55	1.7	10.26	29.49
15	48.0	17.4	4.79	2.33	4.25	123.3
16	26.0	17.6	3.92	1.54	21.06	
17	50.0	23.8	5.11	1.48	7.86	100.0
18	79	12.08	6.2	1.9	4.9	64.0
19	10.0	35.84	3.67	1.73	6.16	
20	5.0	64.84	3.66	1.45	40.38	
Ort±SD	28.57±2.37	55.55±3.5	4.44±1.14	1.72±0.25	11.17±8.54	61.27±32.92

Fizyolojik replasman dozunda L-T4 tedavisi almakta olan olguların tedavisi grup homojenitesinin sağlanması amacıyla çalışmadan 2 ay önce kesildi. sT3, sT4,TSH, SHBG, kolesterol, alkalen fosfataz, osteokalsin, ACE, CPK düzeyleri ölçüldü ve M-mod ve Doppler EKO tetkikleri yapıldı. Aynı tetkikler 10 gün boyunca 50 µg/m2 dozunda verilen L-T3 uygulamasından sonra tekrarlandı. Bu değerler istatistiksel olarak değerlendirildi. Olguların biyokimyasal değerleri Çizelge 4.3’de görülmektedir.

Çizelge 4.3. Olguların 10 günlük L-T3 tedavi önce ve sonrası biyokimyasal verileri.

	sT3 (pg/ml)		sT4 (ng/dl)		TSH (μ lU/ml)		SHBG (nmol/L)		T.Kolesterol (mg/dl)		CPK (U/L)		Osteokalsin (ng/ml)		ALP (U/L)		ACE (U/L)	
	T.Ö	T.S	T.Ö	T.S	T.Ö	T.S	T.Ö	T.S	T.Ö	T.S	T.Ö	T.S	T.Ö	T.S	T.Ö	T.S	T.Ö	T.S
1	4.7	6.41	1.4	0.54	6.94	0.06	62.64	97.14	237.0	185.0	359.0	155.0	37.17	62.66	163.0	493.0	11.6	28.9
2	5.09	6.91	1.98	0.85	6.17	0.04	43.88	59.37	272.0	168.0	427.0	218.0	47.49	117.5	600.0	638.0	17.1	30.72
3	1.05	2.8	0.17	0.17	669.1	198.7	99.26	176.3	166.0	152.0	122.0	73.0	47.66	69.05	489.21	491.61	23.3	19.6
4	0.47	4.47	0.07	0.05	465.2	22.64	72.91	161.9	300.0	139.0	373.0	320.0	64.16	105.9	489.21	527.58	20.5	18.0
5	4.05	5.17	1.39	0.48	15.09	0.13	46.93	110.5	208.0	125.0	272.0	128.0	76.14	125.0	207.0	582.0	17.4	34.7
6	1.08	6.25	0.25	0.13	990.92	4.05	110.6	131.9	120.0	107.0	148.0	81.0	54.26	59.5	443.0	455.0	26.8	27.6
7	2.74	6.75	0.6	0.25	168.5	0.94	85.62	145.5	140.0	99.0	106.0	57.0	94.0	104.5	438.85	429.26	37.2	45.1
8	5.22	5.6	1.44	1.22	7.22	4.4	9.3	36.16	289.0	151.0	634.0	215.0	29.71	58.0	143.0	435.0	8.2	24.8
9	2.69	4.75	1.05	0.42	85.83	0.41	101.0	107.0	153.0	177.0	78.0	60.0	78.43	64.08	747.0	664.0	20.3	12.72
10	0.41	1.25	0.06	0.05	576.3	126.4	21.09	54.37	449.0	255.0	1547.0	317.0	29.37	75.0	359.71	357.31	24.6	36.9
11	4.04	3.39	1.55	0.5	2.6	0.08	177.7	165.6	182.0	164.0	88.0	84.0	71.94	68.01	589.0	487.0	15.9	29.0
12	0.26	5.48	0.05	0.06	469.11	3.88	77.6	118.5	310.0	152.0	821.0	125.0	34.2	44.5	323.74	345.32	20.9	31.4
13	4.67	5.3	2.23	1.11	4.04	0.24	126.3	182.8	170.0	164.0	221.0	167.0	51.8	80.32	354.0	352.0	24.9	22.5
14	0.95	1.41	0.19	0.16	553.75	119.73	126.6	173.71	264.0	136.0	411.0	145.0	58.75	91.54	583.0	561.0	23.04	13.8
15	5.81	5.48	2.23	1.84	3.96	3.55	120.3	170.9	150.0	130.0	76.0	51.0	68.03	51.67	580.34	486.81	60.5	51.3
16	1.04	4.83	0.15	0.1	961.4	6.72	62.64	97.14	237.0	185.0	359.0	155.0	37.17	62.66	163.0	493.0	11.6	28.9
17	5.18	4.14	1.5	0.38	10.42	0.97	43.88	59.37	272.0	168.0	427.0	218.0	47.49	117.5	600.0	638.0	17.1	30.72
18	6.4	16.99	1.84	1.05	5.4516	1.9	99.26	176.3	166.0	152.0	122.0	73.0	47.66	69.05	489.21	491.61	23.3	19.6
19	4.55	4.53	1.55	0.17	22.4	10.05	72.91	161.9	300.0	139.0	373.0	320.0	64.16	105.9	489.21	527.58	20.5	18.0
20	0.34	4.1	0.07	1.44	618.6	8.9	46.93	110.5	208.0	125.0	272.0	128.0	76.14	125.0	207.0	582.0	17.4	34.7
Ort±S	2.93±	5.39±	0.98±	0.44±	281.5±	26.05±	85.3±	126.2±	227.2±	148.4±	364.4±	132.3±	59.9±	86.5±	417.9±	482.9±	23.5±	30.2±
D	2.1	3.15	0.8	0.46	345	54.8	42.7	47.3	96.8	35.9	381.7	82.1	20.4	26.8	177.9	125.4	13.6	11.1
Anlamlılık	p < 0.001		p < 0.001		p < 0.001		p < 0.001		p < 0.001		p < 0.001		p < 0.001		p > 0.05		p < 0.005	

TÖ: Tedavi öncesi, **TS:** Tedavi sonrası, **SHBG:** Seks hormonu bağlayıcı globulin, **T.Kolesterol:** Total kolesterol, **CPK:** Kreatin fosfokinaz, **ALP:** Alkalen fosfataz, **ACE:** Anjiotensin konverting enzim, **sT3:** serbest T3, **sT4:** serbest T4, **TSH:** Tiroid stimulan hormon



Şekil 4.1. Olguların 10 günlük L-T3 tedavi önce ve sonrası biyokimyasal verileri.

Olguların tedavisi 2 ay kesildikten sonra bakılan SHBG, osteokalsin, ACE düzeyleri, 10 gün L-T3 verildikten sonraki değerlerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış saptanmıştır ($p < 0.001$). Kolesterol ve CPK düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı azalma gözlenmiştir ($p < 0.001$). ALP düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p = 0.185$).

4.1. Doku Doppler ve M-mod Ekokardiyografi (EKO) Sonuçları

4.1.a. M-mod EKO sonuçları

Tüm olguların tedavi 2 ay kesildikten ve 10 gün L-T3 tedavisi aldıktan sonra iki boyutlu ekokardiyografide sistol ve diyastol sonu interventriküler septum kalınlığı (IVSs/d), sol ventrikül sistol ve diyastol sistol sonu çapı (SVÇs/d), sol ventrikül sistol ve diyastol sonu arka duvar kalınlığı (SVADs/d), sol ventrikül diastol sonu çap (LVIDd), sol ventrikül arka duvar kalınlığı (LVPWd), intraventriküler septum sistol sonu çap (IVSs), sol ventrikül sistol sonu çap (LVIDs), sol ventrikül sistolik posterior duvar kalınlığı (LVPWs), ejeksiyon fraksiyonu (EF) ve % kısalma fraksiyonu (KF),

Mitral E, A dalgaları ve mitral E/A oranı kaydedildi ve istatistiksel olarak karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

4.1.b. Doppler EKO sonuçları

Tüm olguların tedavi 2 ay kesildikten ve 10 gün L-T3 tedavisi aldıktan sonra Doppler EKO ile sol ventrikül, mitral lateral, mitral medial, interventriküler septum (IVS), triküspit medial, triküspit lateral ve sağ ventrikülden E, A, S dalga ölçümleri ile izovolümetrik kontraksiyon zamanı (IVKZ), izovolümetrik relaksasyon zamanı (IVRZ) ölçüldü. Miyokardiyal performans indeksi (MPI) hesaplandı. Bu değerler kaydedilip istatistiksel olarak karşılaştırıldı. İstatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$).

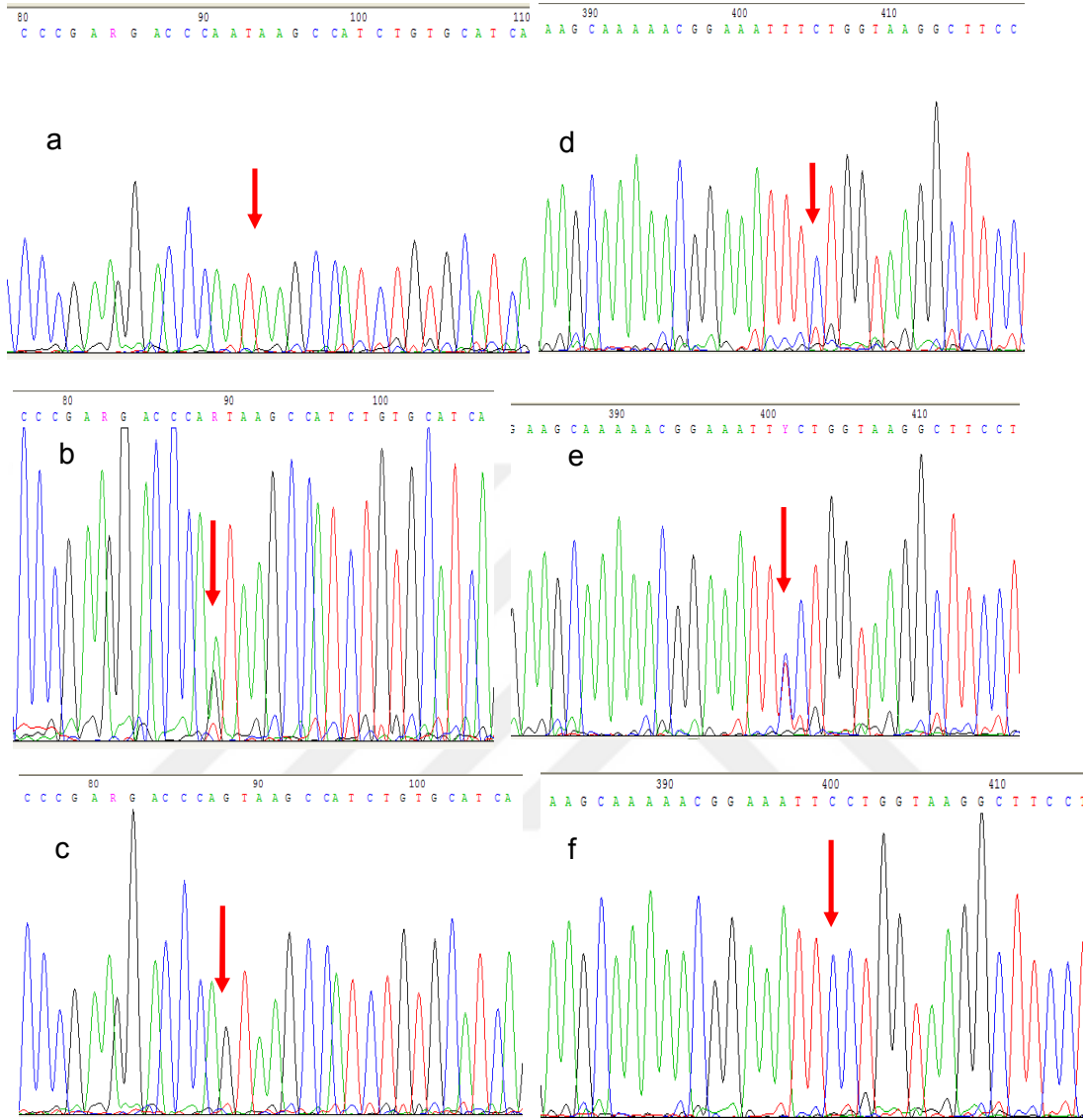
4.2. Moleküler Genetik Analiz Sonuçları

20 hastanın genomik DNA örneklerinin TR β genine ait 8 ekzonik bölgenin oligonükleotid dizileri ile amplifikasyonları yapıldı. Saptanan değişimler dizi analizi ile değerlendirilerek gen bankasındaki TR β referans dizi (NG_009159.1) ile karşılaştırıldı. Hastaların ikisinde (3 ve 6 nolu hastalar) tek nükleotid değişimlerinden biri olan rs3752874 homozigot olarak, dördünde ise (5,10,12,19 nolu hastalar) heterozigot olarak saptandı.

Intron 8 bölgesinde ise IVS8 -110 G>A değişimi iki hastada (3 ve 6 nolu hastalar) homozigot, 7 hastada (5,10,12,13,17,18,19 nolu hastalar) heterozigot olarak bulundu. Hastaların genotip çizelgesi Çizelge 4.4, dizi analizi sonuçları Şekil 4.2’de gösterilmektedir.

Çizelge 4.4. Hastaların genotip çizelgesi.

Hasta no	Genotip	
	Rs3752874 NG_009159.1: g.356319C>T NM_000461.4: c.735C>T NP_000452.2: p.Phe245Phe	NG_009159.1: g.356007G>A NM_000461.4: c.533-110 G>A
1	C/C	G/G
2	C/C	G/G
3	T/T	A/A
4	C/C	G/G
5	C/T	G/A
6	T/T	A/A
7	C/C	G/G
8	C/C	G/G
9	C/C	G/G
10	C/T	G/A
11	C/C	G/G
12	C/T	G/A
13	C/C	G/A
14	C/C	G/G
15	C/C	G/G
16	C/C	G/G
17	C/C	G/A
18	C/C	G/A
19	C/T	G/A
20	C/C	G/G



Şekil 4.2. Dizi analizi sonuçları: IVS8 -110 G>A değişimi için homozigot (a), heterozigot (b), normal (c) bireylere ait örnekler, rs3752874 polimorfizmi için homozigot (d), heterozigot (e), normal (f) bireye ait örnekler.

5. TARTIŞMA

THD tiroid hormonuna doku yanıtıslığı olarak tanımlanan kalıtsal bir sendromdur. Tanı için minimum kriter yüksek tiroid hormon düzeylerine rağmen baskılanamayan TSH varlığıdır. Olguların çoğu ötiroid olmakla birlikte, hafif hipotiroid veya tirotoksik de olabilirler. Dahası bu semptomlar aynı kişide bir arada bulunabilir. Ömetabolik veya hipotiroid olan hastalar generalize direnç olarak değerlendirilirken, belirgin hipermetabolik olanların izole hipofizer direnç olma olasılığı yüksektir. Bununla beraber izole hipofizer tiroid hormon direnci olarak tanımlanan bu olgularda TH periferik biyokimyasal parametrelerin periferik direnç eşliğine işaret etmesi ve generalize direnç olgularında saptanan benzer mutasyonlara sahip olduklarının gözlenmesi bu ayrımı zorlaştırmakta ve ayrımı patofizyolojik temelden çok, klinik bulgulara sınırlandırmaktadır (86,87).

TR α ve TR β izoformlarının doku dağılımı, farklı dokulardaki değişken direnç nedeniyle aynı hastada hipo ve hipertiroidi bulgularının yer aldığı mozaik bir tablo yaratabilir. En sık görülen bulgular guvatr, büyüme geriliği ve hipertiroid kardiyak semptomlardır.

THD olgularında guvatr eşliği %22-90 arasında verilmektedir. Çalışmamızdaki 20 olgudan tiroid disgenezisi (hipoplazi ve agenezi) bulunmayan 7 olguda (1,5,13,15,17,18,19 nolu hastalar) THD tanısı aldıkları dönemde ve izlemde guvatr saptanmadı. Bu durum fenotipik değişkenlikten kaynaklanacağı gibi, izlem süresinin guvatr oluşumu için yeterli olmamasına da bağlı olabilir.

THD'nde çocukluk döneminde boy kısalığı ve KY geriliği görece %18-25 ve %29-47 olarak belirtilmektedir (1,58). Hsds değerleri -2.1 ile +2.78 arasında bulunan olgularımızda TY-KY farkı da -2 ile +1.1 arasında değişmekteydi. Özellikle sT4 düzeyleri iyi izlem kriteri taşıyan konjenital hipotiroid hastalar da dahil olmak üzere, olgular boy SDS, TY-KY ve hedef boyları açısından irdelendiğinde bu parametreler arasında ve bu parametrelerle TSH-TH düzeyleri arasında ilişki saptanmadı. TR izotiplerinin doku dağılımı ve duyarlılığı ile ilişkili olan bu durum yine periferik direnç eşliğini değerlendirmenin ne ölçüde güç olduğuna ve bu verilerin olgu bazında bireyselleştirilerek tartışılması gerektiğine işaret etmektedir.

T3'ün diyastolik gevşemeyi kısaltıcı etkisi nedeniyle hipertiroidizmde kardiyak gevşeme süresi kısalırken, hipotiroid hastaların diyastol süresi uzamaktadır (38). Kardiyak tutulum daha çok erişkin THD olgularında beklenen bir bulgudur. Erken çocukluk çağında orta derecede taşikardi %33-75 oranında bildirilmektedir. 3.5-13.7 yaşları arasında THD'li çocuklarda sağlıklı kontrollere göre, kalp hızının daha yüksek, sol atrium çapının daha geniş ve sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunun daha kısa olduğu belirtilmiştir (5,6).

41 yetişkin ve 13 çocuk hastayı içeren geniş kapsamlı bir prospektif çalışmada, THD olguları 24 hipertiroid, 20 hipotiroid hasta ve 22 sağlıklı ötiroid kontrolle karşılaştırılmış ve mutasyon tipi ile kardiyovasküler bulgular arasında korelasyon gözlenmemiştir. Yaş uyumlu kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında THD'li çocuklarda kalp hızının belirgin yüksek, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunun düşük ve myokardiyum diyastolik gevşeme zamanının kısa olduğu görülmüştür. THD'li hastalarda kardiyak output, atım volümü ve sistolik aortik akış hızı belirgin düşük, diyastolik parametrelerden isovolemik relaksasyon ve yavaşlama zamanı kısa bulunmuştur. THD'de serum sT3 ile kalp hızı ve sT4 ile sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu arasında pozitif, sT3 ve sT4 ile isovolemik relaksasyon arasında negatif bir ilişki olduğu gözlenmiştir (6).

Çalışmamızda olguların ortalama kalp tepe atımları, suprafizyolojik L-T3 uygulaması öncesi ve sonrasında anlamlı farklılık göstermemiş, Doppler EKO ile verileri de anlamlı farklı bulunmamıştır. Bu durum olgularımızda kardiyak etkilenmenin olmadığı veya çocukluk yaş grubunda kardiyak tutulumun henüz ortaya çıkmadığı şeklinde yorumlanabilir.

Refetoff ve arkadaşlarının (9) tanımladığı bir ailede TR β mutasyonu taşıyan bireyin tiroid hormon düzeylerinin normal bulunması fenotipik değişkenliğin en çarpıcı örneğini oluşturmaktadır. Bu durumun açıklaması olarak mutant reseptörün yetersiz ekspresyonu veya tiroid hormon etkisinden sorumlu diğer kofaktörlerin sorumlu olabileceği gibi varsayımların yanı sıra, “subklinik hipotiroidi” eşliği de ileri sürülmektedir. Endojen tiroid hormon sentezinin korunduğu olgularda yüksek tiroid hormon düzeylerinin oluşturduğu periferik etkinin klinik olarak saptanması tanıya yol gösterici olabilir. Ancak çalışma grubumuzun %65'ini tiroid bezinde değişik şiddette anatomik defekt (3 agenezi, 10 hipoplazi) taşıyan hastalar oluşturduğu için, standart dozda tiroid hormon replasman tedavisi almakta olan bu çocuklarda bu olgudan

yararlanmak mümkün değildir ve bu durum THD tanısında ilave bir sorun oluşturmaktadır. Bu parametrelerin rastgele ölçümü normal değerlerin çok geniş aralıkta yer alması nedeniyle pratik değildir ve periferik hormon etkisinin değerlendirilmesinde suprafizyolojik L-T3 uygulama öncesi ve sonrası değerlerin karşılaştırılması daha sağlam bir ölçüt olarak kabul görmektedir. Bu nedenle olgularımızda periferik direnç eşliği veya şiddeti hakkında fikir sahibi olabilmek için suprafizyolojik dozda L-T3 ile 10 günlük tedavi uygulaması gerekmiştir. Artan dozlarda ardışık L-T3 verilmesi ve her bir periyotta biyokimyasal parametrelerin ve TRH'a TSH yanıtının ölçülmesi şeklinde yapılan standart uygulama ekonomik yetersizlik nedeniyle ve ayrıca çocuk hastalarda yıpratıcı bir süreç olma gerekçesiyle modifiye edilmiş ve suprafizyolojik doz, replasman dozunun 2.5 katı olacak biçimde ayarlanmıştır. THD'de normal yanıt körelmiş, kaybolmuş veya paradoks olabilir. Ancak teorik olarak normal yanıt da beklenebilir. Çünkü normal reseptörün yüksek hormon düzeylerinde artmış T3 saturasyonu direncin bir ölçüde kırılmasını sağlayabilir. Ayrıca mutant reseptörün normal reseptörün fonksiyonunu ne ölçüde inhibe ettiği de yanıtı belirleyen faktörlerdendir (1).

Bazal ve artan dozlarda verilen L-T3 tedavisi sonrası SHBG düzeylerinin araştırıldığı bir çalışmada (64), 10 jeneralize THD'li hasta ile 21 normal, 28 hipotiroid ve 20 hipertiroid olgu ile karşılaştırılmış ve jeneralize THD'i olan hastaların bazal ortalama SHBG düzeylerinin hipotiroid ve kontrol grubundan farklı olmadığı; ancak hipertiroidili hasta grubundan belirgin düşük olduğu saptanmıştır. 50 µg, 100 µg ve 200 µg artan dozlarda L-T3 uygulamasından sonra normal, hipotiroid ve hipertiroid hastalarda artış gözlenirken, jeneralize THD olan hastalarda paradoksal azalma olduğu görülmüştür.

Bir başka çalışmada (5), 104 THD'li olgu, kontrol grubuyla karşılaştırılmış ve serum kolesterol, ferritin ve SHBG düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır.

Refetoff ve Weiss (3), generalize THD'li 11 hastada 3 günlük artan dozlarda L-T3 uygulaması sırasında kolesterol ve CPK düzeylerinin 100 µg/gün L-T3 dozunda, kontrol grubuna göre anlamlı yüksek, SHBG düzeyinin ise anlamlı düşük olduğunu bildirmişlerdir.

THD'nde periferik TH etkilerini biyokimyasal ve fizyolojik ölçütler aracılığı ile değerlendirme yararlı olmakla birlikte, kesin biçimde yoruma izin vermemesi ve

dahası izole hipofizer TH direnci olarak görünen olgularla generalize direnç olgularının verilerinin örtüşmesi bu yöntemin kısıtlayıcı unsurlarıdır. Çalışma grubumuz tirotoksikoz bulguları olmaksızın yüksek serbest tiroid hormon düzeylerine eşlik eden yüksek veya uygunsuz normal TSH düzeyleri nedeniyle generalize tiroid hormon direnci olarak düşünülen hastalardan oluşmaktaydı. Çalışmada 10 günlük 50 µg/m2 L-T3 uygulamasının suprafizyolojik düzeylerde serum sT3 ortalaması oluşturduğu gözlemlendi. Ortalama TSH düzeylerinin tedavi öncesi değerlere göre azalma göstermekle birlikte, bütünüyle baskılanmamış olduğu görüldü. Normal bireylerde suprafizyolojik L-T3 uygulamasını takiben gözlenen TRH'a pik TSH yanıtı <0.1 µIU/ml düzeylerinde bulunurken, sadece 3 olguda (1, 2 ve 11 nolu hastalar) bazal TSH düzeylerinin <0.1 µIU/ml bulunması bazı hastalarda TSH baskılanma eşiğinin yüksek tedavi dozlarında aşağı çekilebileceğini düşündürmektedir.

Olgularımızda suprafizyolojik dozda L-T3 uygulamasını takiben TH periferik etki ölçütlerinin (SHBG- %57 ↑, osteokalsin- %44.9 ↑, ACE- %28.5 ↑, CPK- % 57 ↓, kolesterol- %25.2 ↓) beklenen yönde ve farklı oranlarda anlamlı ölçüde değişiklik göstermesi generalize tiroid hormon direnci (hipofizer + periferik direnç) olasılığını tümüyle dışlamamış, sadece yüksek doz L-T3 ile direncin bir ölçüde yenilebileceğine işaret etmiştir. THD olgularında TH periferik etki ölçütlerinin “standart tanı kriterleri” oluşturmaktan ve genotip-fenotip uyumundan uzak olduğu açıktır.

Olgularımızda TRβ geninin moleküler analizinde, iki farklı genomik değişim bulunmuştur. Bunlardan (p.Phe245Phe) değişimi, protein düzeyinde bir fark oluşturmamaktadır Sorensen HG ve ark. (85) 52 olgu ve 1116 sağlıklı bireyde yaptıkları çalışmada, bu polimorfizm ile tiroid hormon düzeyleri arasında bağlantı olmadığı gösterilmiştir. Bu nedenle, bu polimorfizm hastalıkla ilişkilendirilmemektedir. Diğer değişim ise 8. intron bölgesindedir (IVS8-110 G>A). Bu değişim ilk defa bu çalışmada saptanmıştır. İntron bölgesinde olması nedeni ile protein düzeyindeki etkisini öngörmek için ek çalışmalara gereksinim duyulmuştur.

Tüm nükleer hormon reseptörleri gibi tiroid hormon reseptörleri de L-T3'ü tanıyan ve DNA'nın bağlandığı bölge olmak üzere iki fonksiyonel bölge taşırlar. TR-DNA kompleksi, retinoid-X reseptörü (RXR) gibi TR yardımcı proteinler (TRAP) olarak bilinen proteinlerle stabilize edilmek zorundadır. Bu yapı da baskılayıcı (NCoR, SMRT, TRAC...) veya aktive edici (SRC-1, TIF2, p/CIP...) fonksiyonlara

sahip kofaktörlerle etkileşir (3). RXR γ (88) veya SRC-1 (89) genleri susturulmuş farelerde tipik THD tablosu oluştuğunun gözlenmesi, tiroid hormon direnci gelişiminden TR geni dışında başka genlerin de sorumlu olabileceğini göstermektedir. RXR-seçici retinoidlerin (reksinoid) antagonize edilmesi ile TSH subunit mRNA düzeylerinde in vivo ve in vitro olarak gözlenen artış da endojen reksinoidlerin TSH set-point oluşumunda etkisi olduğunu düşündürmektedir (90). Tip 2 deiyodinaz enzimi homozigot rs12885300 taşıyıcılarında TSH ayar noktasının değiştiği ve sT4'ün negatif geri denetim etkisinin zayıfladığı gösterilmiştir (91). Bu nedenle olgularımızda TR β gen analizinde mutasyon saptanmaması TR etki yolağındaki TR β geni dışındaki diğer genetik faktörlere ait olabilecek sorunları dışlayamamaktadır.

Öte yandan baskılanamayan TSH düzeylerinden hipotalamus-hipofiz-tiroid eksen düzenindeki fonksiyonel hatalar da sorumlu olabilir. Tiroid hormon geri denetim yönetimi midgestasyondan adolesan döneme uzanan ve TRH, TSH, TH salınım yolağı, hipofizer TRH reseptörü, hipotalamik ve hipofizer TH reseptörü, hipotalamik ve hipofizer deiyodinaz enzim sistemi, tiroid bezi TSH reseptörü ve tüm postreseptör yanıt işlemlerini kapsayan karmaşık bir olgulaşma sürecidir. Postnatal 2. haftadan sonra ortalama serbest T4 düzeylerinde önemli bir değişiklik olmaksızın serum TSH düzeylerinin azalmasını sağlayan, diğer bir deyişle TSH ayar noktasını (set-point) düzenleyen moleküler mekanizmalar açık değildir. Neonatal dönemde TSH ayar noktasında gözlenen belirgin sağa kayış (shift) periferik ve hipotalamik soğuk reseptörleri üzerinden gerçekleşen soğuk uyarı algısından kaynaklanır; artan TRH salınımı, tiroid hormon negatif geri denetim kontrol noktasını ayarlar. Isı dengesinin kurulması ile normale dönen TRH-TSH salınımı, geçici olarak sağa kayan TSH set-pointini normal yerine çeker. TSH salınımında görülen bu sağa kayış TR β mutasyonu nedeniyle THD olgularında daimidir. Ancak uygunsuz TSH salınımı gözlenen her olguda TR β mutasyonu gösterilememektedir. Set-pointin oluşumunda intrauterin süreçte yaşanan evre-özlü TH düzey değişimleri belirleyici olabilir. Stenberg ve arkadaşlarının (92) *Xenopus* metamorfozu üzerindeki çalışmalarında TSH negatif geri denetiminin kurulmasından önce TSH ve tiroid hormonlarının eş zamanlı artışı ile karakterize bir “pozitif geri denetim” döneminin (transformatif dönem) gerekliliğine dikkat çekilmektedirler. TSH artışına ikincil artan tiroid hormonları negatif geri denetim yanıtını tetikleyerek hipofizer TSH sekresyon ve salınımını baskılamak

yoluyla TSH set-pointinin oluşumunu sağlar. Çalışma grubumuzda anatomik tiroid gelişim hatası taşıyan 15 olguda iyi tedavi ölçütleri taşıdıkları halde baskılanamayan TSH düzeylerinden, geri denetim “geçiş” döneminin yetersiz intrauterin tiroid hormon sentezi nedeniyle başarılammaması sorumlu tutulabilir. Başka bir deyişle, doğumsal hipotiroid olgularda set-pointin doğru kurulabilmesi için gerekli evre-özlün TH düzeylerinin oluşturulamaması kalıcı sağ şift ile sonuçlanmış olabilir.



6. SONUÇLAR

1. Yüksek tiroid hormon değerlerine rağmen baskılanamayan TSH düzeyleri hipofiz düzeyinde geri denetim yetersizliğine açıkça işaret ederken, periferik etki yoksunluğunun değerlendirilmesi bu denli kolay olmamaktadır. Bu bakış açısı ile değerlendirildiklerinde, olguların somatik gelişimlerinin bireysel farklılıklar bulunmakla beraber yaş normali içinde kaldığı görülmüş, patolojik boyutta olmamakla birlikte kemik yaşlarının hafif geri olduğu gözlenmiştir. Bu durum olgu bazında tartışılacak olursa fiziksel gelişimlerinin ve büyüme hızlarının yeterli olmadığı düşünülen olgularda periferik direncin yenilmesine yönelik doz artımı veya tedavi değişikliği düşünülebilir.
2. Hastalarımızda THD olgularında sık rastlanan tiroid hiperplazisi saptanmamıştır. Periyodik olarak bu açıdan dikkatle izlenmeleri gerekir.
3. Yüksek tiroid hormon düzeylerine rağmen olgularda kardiyak etkilenme gözlenmemiştir. Bu durum doz artımı gerektiren olgularda klinik açıdan güvenlik sağlamakla birlikte, TR izotiplerinin değişken dağılımı ve duyarlılığı göz önünde bulundurularak olguların taşikardi ve olası kardiyak tutulum yönünden izlemleri şarttır.
4. Olgularımızda suprafizyolojik L-T3 konsantrasyonlarına değişik derecelerde periferik doku yanıtı gözlenmiştir. Bu durum tiroid hormon etki mekanizmalarında sorun olmadığına kesin kanıtı sayılamasa da, yüksek T3 düzeylerine yanıtın korunduğunun göstergesidir. Periferik direnç varlığından şüphe duyulan olgularda en yüksek yanıtın olduğu SHBG ve CPK parametreleri yol gösterici olabilir.
5. On günlük 50 µg/m² L-T3 modifiye uyarı testinin suprafizyolojik sT3 düzeyleri oluşturabildiği gözlenmiştir; gerekli görülen olgularda uzun ve zahmetli standart testin yerine uygulanabilir.
6. Olgularımızın TRβ gen analizinde saptanan iki değişimin direnç patogeneğinde rolü olmadığı düşünülmüştür. Bunlardan p.Phe245Phe polimorfizminin hastalıkla ilişkili olmadığı gösterilmiştir. Diğer değişikliğin (IVS8-110G>A) intron

bölgesinde yer alması patolojik etki olasılığını azaltmaktadır. Ancak kesin veri için ek çalışma gerekmektedir.

7. TR β gen mutasyonunun THD oluşumundaki bilinen katkısı % 90'dır. Olgu sayısı yetersiz olmakla birlikte çalışma grubumuz benzeri hastalarda TR β gen mutasyonunun sık olmadığı söylenebilir. Ancak bu durum tüm TH etki mekanizmalarının fonksiyonel olduğu anlamı taşımamaktadır. Hipotalamus-hipofiz-tiroid ekseninin ne kadar karmaşık ve çok bileşenli olduğu düşünülürse, bu sistemde rol oynayan moleküllerin de bu tabloya yol açabileceği teorik düzeyde ve bu yeni patogenetik mekanizmaları tanımlayan güncel raporlar temelinde rahatlıkla söylenebilir.
8. Doğumsal hipotiroid olgularda yeterli tedavi kriterleri taşımalarına rağmen gözlenen ısrarlı TSH yüksekliği dikkat çekicidir. Bu olgularda TH direncine neden olacak genetik bir hatanın eşbirlikteliği düşük olasılıktadır. Dolayısıyla klinik ve TSH yüksekliği dışında biyokimyasal olarak iyi tedavi kriteri taşıyan doğumsal hipotiroid hastalarda mevcut sorundan genetik bir anomali eşliğinden çok, hipotalamus-hipofiz-tiroid ekseninin intrauterin dönem olgunlaşma sürecindeki fonksiyonel bir hatanın (pozitif-negatif geri denetim geçiş döneminde yanlış ayarlanmış eşik değeri) sorumlu olduğu düşünülebilir.

7. ÖZET

Bu çalışmada, hipofizer tiroid hormon (TH) direnci düşünülen ve klinik bulguların ayırdettirici olmadığı çocuk olgularda periferik direnç eşliğinin değerlendirilmesi ve TR β mutasyon sıklığının “araştırma grubunda” belirlenmesi amaçlanmıştır.

Hipofizer TH direnci tanısı ile izlenen ve yeterli dozda L-T4 tedavisi almalarına rağmen izlem süreçlerinde TSH düzeyleri baskılanamayan, 13’ünde tiroid bezi disgenezisi bulunan 20 olgu (13 kız, ort yaş 7.03 $\pm$ 2.72 yıl,) çalışmaya alınmıştır. TH periferik etkileri, suprafizyolojik doz L-T3 uygulaması öncesi ve sonrası sT3, sT4, TSH, SHBG, total kolesterol, ALP, osteokalsin, ACE düzeyleri ve CPK, M-mod ve Doppler EKO tetkikleri ile değerlendirilmiş ve TH β reseptörü (TR β) gen analizleri yapılmıştır.

Olguların L-T3 öncesi ve sonrası biyokimyasal ölçütleri karşılaştırıldığında SHBG, osteokalsin, ACE düzeylerinde anlamlı artış, total kolesterol ve CPK düzeylerinde ise anlamlı ölçüde azalma olduğu gözlenmiştir (p<0.001). ALP ve kardiyak parametrelerde farklılık görülmemiştir.

TR β gen analizinde, olguların ikisinde homozigot, dördünde heterozigot rs3752874 ve iki hastada homozigot, 7 hastada heterozigot IVS8 -110 G>A değişimi saptanmıştır.

Olgularımızda suprafizyolojik L-T3 konsantrasyonlarına değişik derecelerde periferik doku yanıtının gözlenmesi, yüksek T3 düzeylerine yanıtın korunduğunun göstergesidir ve en yüksek yanıtın olduğu SHBG ve CPK değişimleri yol gösterici olabilir. TR β gen analizinde saptanan iki değişimin direnç patogenezinde rolü olmadığı düşünülmüştür. Olgu sayısı yetersiz olmakla birlikte çalışma grubumuz benzeri hastalarda, TR β gen mutasyonunun sık olmadığı söylenebilir. Ancak bu durum tüm TH etki mekanizmalarının fonksiyonel olduğu anlamını taşımamaktadır. Yeterli tedavi kriterleri taşımalarına rağmen TSH düzeyleri ısrarlı yüksek seyreden doğumsal hipotiroid olgularda genetik bir anomali eşliğinden çok, hipotalamus-hipofiz-tiroid ekseninin intrauterin dönem olgunlaşma sürecindeki fonksiyonel bir hatanın sorumlu olduğu düşünülebilir.

Anahtar kelimeler: Hipotiroidi. Tiroid hormon direnci.

8. ABSTRACT

Investigation of the concomitant peripheral resistance and thyroid hormone receptor gene analysis in cases with central thyroid hormone resistance

This trial was designed to assess the concomitant peripheral resistance in pediatric cases, who were considered to have pituitary thyroid hormone (TH) resistance and exhibited indistinguishable clinical results and determine the incidence of TR β mutation in the “investigational group”.

20 patients, including 13 cases with thyroid gland dysgenesis, monitored with the diagnosis of pituitary TH resistance, in whom TSH level could not be suppressed during monitoring despite an adequate dose of L-T₄ administered, were included in the trial (13 girls, mean age: 7.03 $\pm$ 2.72 years). TH peripheral effects were assessed before and after L-T₃ administration using sT₄, TSH, SHBG, total cholesterol, ALP, osteocalcin, ACE levels and CPK, M-mod and Doppler ECHO investigations and TH β receptor (TR β) gene analyses were performed.

The comparison of the pre-L-T₃ and post-L-T₃ biochemical measurements revealed a significant increase in SHBG, osteocalcin and ACE levels and a significant reduction in total cholesterol and CPK levels ($p < 0.001$). No difference was detected in ALP and cardiac parameters.

TR β gene analysis revealed homozygote and heterozygote rs3752874 changes in 2 and 4 patients respectively, and homozygote and heterozygote IVS8 -110 G>A changes in 2 and 7 patients, respectively.

Achievement of various degrees of peripheral tissue response to supraphysiological L-T₃ concentrations indicates that the response to high T₃ levels is maintained and the SHBG and CPK changes exhibiting the highest responses may be guiding. The two changes detected in the TR β gene analysis were considered not to be involved in the pathogenesis of resistance. While the number of cases is not adequate, we may suggest that TR β gene mutation is not frequent among patients similar to those in our investigational group. However, this doesn't mean that all the TH modes of action are functional. In patients with congenital hypothyroidism, who sustain high levels of TSH despite meeting adequate therapeutic criteria, the condition may be attributed to a functional defect in the intrauterine growth process of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis rather than a concomitant genetic abnormality.

Key words: Hypothyroidism. Thyroid hormone resistance.

9. KAYNAKLAR

1. DiLaura R, De Felice M. Resistance to Thyroid Hormone. In: Degroot LJ, Jameson JL, editors. Endocrinology. 5th ed. Philadelphia: Saunders 2006; 2227-37.
2. Akcurin S. Tiroid fonksiyonları bozuk olan çocuk. 14. Ulusal Pediatrik Endokrin ve Diabet Kongresi 4-10 Ekim 2010 Muğla; 81.
3. Weiss RE, Refetoff S. Resistance to thyroid hormone. Rev Endocr Metab Disord 2000; 1: 97-108.
4. Kaplan MM, Swartz SL, Larsen PR. Partial peripheral resistance to thyroid hormone. Am J Med 1981; 70: 1115-21.
5. Brucker-Davis F, Skarulis MC, Grace MB, Benichou J, Hauser P, Wiggs E, Weintraub BD. Genetic and clinical features of 42 kindreds with resistance to thyroid hormone. The National Institutes of Health Prospective Study. Ann Intern Med 1995; 123: 572-83.
6. Kahaly GJ, Matthews CH, Matthews CH, Mohr-Kahaly S, Richards CA, Chatterjee VKK. Cardiac involvement in thyroid hormone resistance. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87: 204-12.
7. Lafranchi SH, Synder DB, Setsser DE, Skeels MR, Singh N, Brent GA, Nelson JC. Follow-up of newborns with elevated screening T4 concentrations. J Pediatr 2003; 143: 285-7.
8. Fisher DA. Disorders of the thyroid in the newborn and infant. In: Sperling MA, editor. Pediatric Endocrinology. 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders 2002; 161-85.
9. Refetoff S, Weiss RE, Usala SJ. The syndromes of resistance to thyroid hormone. Endocr Rev 1993; 14: 348-99.
10. Ercan O. Thyroid hormone resistance. Pediatric Endocrine Reviews 2003;1(suppl 2): 191-8.
11. Chatterjee VK. Resistance to thyroid hormone. Horm Res 1997; 48 (suppl 4): 43-6

12. DiLaura R, De Felice M. Thyroid gland: Anatomy and development. In: Degroot LJ, Jameson JL, editors. *Endocrinology*. 5th ed. Philadelphia: Saunders 2006; 1785-9.
13. Eskandari S, Loo DD, Dai G, Levy O, Wright EM, Carrasco N. Thyroid Na⁺/I⁻ symporter. Mechanism, stoichiometry, and specificity. *J Biol Chem* 1997; 272 (43): 27230-8.
14. Leonard JL, Koehrle J. Intracellular pathways of iodothyronine metabolism. Braverman LE, Utiger RD (editors): *Werner and Ingbar's The Thyroid: A Fundamental and Clinical Text*, 8th ed. Lippincott Williams & Wilkins 2000; 136-73.
15. Brown RS, Huang S. The thyroid and its disorders. In: Brook CGD, Clayton PE, Brown RS, editors. *Clinical Pediatric Endocrinology*. 5th ed. Blackwell Publishing 2005; 218-53.
16. DiLaura R, De Felice M. Mechanism of thyroid hormone action. In: Degroot LJ, Jameson JL, editors. *Endocrinology*. 5th ed. Philadelphia: Saunders 2006; 1873-99.
17. Porcellini A, Fenzi G, Avvedimento EV: Mutations of thyrotropin gene. *C Mol Met* 1997; 75: 567-75.
18. Siegel RD, Lee SL. Toxic nodular goiter. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 1998; 27: 151-68.
19. Moreno M, Lange P, Lombardi A, Silvestri E, Lanni A, Goglia F. Metabolic Effects of Thyroid Hormone Derivates. *Thyroid* 2008; 18 (2): 239-53.
20. Yen PM. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiol Rev* 2001; 81(3): 1097-42.
21. Cappola AR, Ladenson PW. Hypothyroidism and atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 2438-44.
22. Bauer DC, Browner WS. Thyroid functions and serum lipids in older women: a population-based study. *Am J Med* 1998; 104: 546-51.
23. Kahaly GJ. Cardiovascular and Atherogenic Aspect of Subclinical Hypothyroidism. *Thyroid* 2000; 10: 665-79.

24. Valdemarsson S, Hannsson P, Hedner P. Relations between thyroid function, hepatic and lipoprotein lipase activities and plasma lipoprotein concentration. *Acta Endocrinol* 1983; 104: 50-60.
25. Althaus BU, Staub JJ, Ryff-De Leche A, Oberhansli A, Stahelin HB LDL/HDL-changes in subclinical hypothyroidism: possible risk factors for coronary heart disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1988; 28: 157-63.
26. Caron P, Calazel C, Parra HJ. Decreased HDL cholesterol in subclinical hypothyroidism: the effect of L-thyroxine therapy. *Clin Endocrinol* 1990; 33: 519-23.
27. Meier C, Staub JJ, Roth CB. TSH-controlled L-thyroxine therapy reduces cholesterol levels and clinical symptoms in subclinical hypothyroidism: a double blind, placebo-controlled trial (Basel Thyroid Study). *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 4860-6.
28. Packard CJ, Sheppard J, Lindsay GM. Thyroid replacement therapy and its influence on postheparin lipases and apoprotein-B metabolism in hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 76: 1209-16.
29. Weintraub M, Grosskopf I, Tronstanesky Y. Thyroxine replacement therapy enhances clearance of chylomicron remnants in patients with hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 2532-6.
30. Fommei E, Lervasi G. The role of thyroid hormone in blood pressure homeostasis: evidence from short-term hypothyroidism in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1996-2000.
31. Franchi S. Disorders of the thyroid gland. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, Stanton BF (eds). *Nelson Textbook of Pediatrics*. Philadelphia: WB Saunders Co 2007; 2316-39.
32. Daniel Baran. *Thyroid Hormone and the Skeleton. Osteoporosis*, 3rd ed; 2008: 1195-202.
33. Gogakos AI, Duncan Bassett JH, Williams GR. Thyroid and bone. *Arch Biochem Biophys* 2010; 503: 129-36.
34. Jones DD, May KE, Geraci SA. Subclinical thyroid disease. *Am J Med* 2010; 123 (6): 502-4.

35. Lin KH, Lee HY, Shih CH, Yen CC, Chen SL, Yang RC, et al. Plasma protein regulation by thyroid hormone. *J Endocrinol* 2003; 179 (3): 367-77.
36. Ribeiro MO. Effects of thyroid hormone analogs on lipid metabolism and thermogenesis. *Thyroid* 2008; 8(2): 197-203.
37. Izumo S, Mahdavi V. Thyroid hormone receptor alpha isoforms generated by alternative splicing differentially active myosin HC gene transcription. *Nature* 1998; 334 (6182): 539-42.
38. Danzi S, Klein I. Thyroid hormone regulates cardiac gene expression and cardiovascular disease. *Thyroid* 2002; 12: 467-72.
39. Mintz G, Pizzarello R, Klein I. Enhanced left ventricular diastolic function in hyperthyroidism: noninvasive assessment and response to treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 146-50.
40. Klein I, Ojamaa K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *N Engl J Med* 2001; 344: 501-9.
41. Fisher DA. Congenital Hypothyroidism. *Thyroid International* 2002; 3: 1-14.
42. Refetoff S, DeWind LT, DeGroot LJ. Familial syndrome combining deaf-mutism, stippled epiphyses, goiter and abnormally high PBI: possible target organ refractoriness to thyroid hormone. *J Clin Endocr* 1967; 27: 279-94.
43. Refetoff S, Dumitrescu AM. Syndromes of reduced sensitivity to thyroid hormone: genetic defects in hormone receptors, cell transporters and deiodination. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metabol* 2007; 21: 277-305.
44. Takeda K, Sakurai A, DeGroot LJ, Refetoff S. Five new families with resistance to thyroid hormone not caused by complete deletion of the protein coding region of the thyroid hormone receptor beta gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 74: 49-55.
45. Ono S, Swartz ID, Mueller OT, Root AW, Usala SJ, Bercu BB. Homozygosity for a dominant negative thyroid hormone receptor gene responsible for generalized resistance to thyroid hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 990-4.
46. Weiss RE, Hayashi Y, Nagaya T, Petty KJ, Murata Y, Tunca H, Seo H, Refetoff S. Dominant inheritance of resistance to thyroid hormone not linked to defects in

- the thyroid hormone receptor alpha or beta genes may be due to a defective cofactor. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 4196-203.
47. Collingwood TN, Wagner R, Matthews CH, Clifton-Bligh RJ, Gurnell M, Rajanayagam O, Agostini M, Fletterick RJ, Beck-Peccoz P, Reinhardt W, Binder G, Ranke MB, Hermus A, Hesch RD, Lazarus J, Newrick P, Parfitt V, Raggatt P, de Zegher F, Chatterjee VK. A role for helix 3 of the TRbeta ligand-binding domain in coactivator recruitment identified by characterization of a third cluster of mutations in resistance to thyroid hormone. *EMBO J* 1998;16: 4760-70.
 48. Clifton-Bligh RJ, de Zegher F, Wagner RL, Collingwood TN, Francois I, Van Helvoirt M, Fletterick RJ, Chatterjee VK. A novel TR beta mutation (R383H) in resistance to thyroid hormone syndrome predominantly impairs corepressor release and negative transcriptional regulation. *Mol Endocrinol* 1998; 12: 609-21.
 49. Usala SJ. Resistance to thyroid hormone in children. *Curr Opin Pediatr* 1994; 6: 468-75.
 50. Wu Y, Koenig RJ. Gene regulation by thyroid hormone. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11: 207-11.
 51. Nakano K, Matsushita A, Sasaki S, Misawa H, Nishiyama K, Kashiwabara Y, Nakamura H. Thyroid-hormone-dependent negative regulation of thyrotropin beta gene by thyroid hormone receptors: study with a new experimental system using CV1 cells. *Biochem J* 2004; 378: 549-57.
 52. Usala SJ, Tennyson GE, Bale AE, Lash RW, Gesundheit N, Wondisford FE, Accili D, Hauser P, Weintraub BD. A base mutation of the C-erbA beta thyroid hormone receptor in a kindred with generalized thyroid hormone resistance. Molecular heterogeneity in two other kindreds. *J Clin Invest* 1990; 85: 93-100.
 53. Bassett JH, Harvey CB, Williams GR. Mechanisms of thyroid hormone receptor-specific nuclear and extra nuclear actions. *Mol Cell Endocrinol* 2003; 213: 1-11.
 54. Ono S, Swartz ID, Mueller OT, Root AW, Usala SJ, Bercu BB. Homozygosity for a dominant negative thyroid hormone receptor gene responsible for generalized resistance to thyroid hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73: 990-4.
 55. Taniyama M, Ishikawa N, Momotani N, Ito K, Ban Y. Toxic multinodular goitre in a patient with generalized resistance to thyroid hormone who harbours the

- R429Q mutation in the thyroid hormone receptor beta gene. *Clin Endocrinol* 2001; 54: 121-4.
56. Ortega-Carvalho TM, Hashimoto K, Pazos-Moura CC, Geenen D, Cohen R, Lang RM, Wondisford FE. Thyroid hormone resistance in the heart: role of the thyroid hormone receptor beta isoform. *Endocrinology* 2004; 145(4): 1625-33.
 57. Weiss RE, Refetoff S. Effect of thyroid hormone on growth. Lessons from the syndrome of resistance to thyroid hormone. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1996; 25: 719-30.
 58. Ng L, Hurley JB, Dierks B, Srinivas M, Saltó C, Vennström B, Reh TA, Forrest D. A thyroid hormone receptor that is required for the development of green cone photoreceptors. *Nat Genet* 2001; 27: 94-8.
 59. Hauser P, Zametkin AJ, Martinez P, Vitiello B, Matochik JA, Mixson AJ, Weintraub BD. Attention deficit-hyperactivity disorder in people with generalized resistance to thyroid hormone. *N Engl J Med* 1993; 328: 997-1001.
 60. Mixson AJ, Parrilla R, Ransom SC, Wiggs EA, McClaskey JH, Hauser P, Weintraub BD. Correlations of language abnormalities with localization of mutations in the beta-thyroid hormone receptor in 13 kindreds with generalized resistance to thyroid hormone: identification of four new mutations. *J Clin Endocrinol* 1992; 75: 1039-45.
 61. Brucker-Davis F, Skarulis MC, Pikus A, Ishizawa D, Mastroianni MA, Koby M, Weintraub BD. Prevalence and mechanisms of hearing loss in patients with resistance to thyroid hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 2768-72.
 62. Jaffiol C, de Boisvilliers F, Baldet L, Torresani J. Thyroid hormone generalized resistance. *Horm Res* 1992; 38: 62-5.
 63. Agrawal NK, Goyal R, Rastogi A, Naik D, Singh SK. Thyroid hormone resistance. *Postgrad Med J* 2008; 84: 473-7.
 64. Sarne DH, Refetoff S, Rosenfield RL, Farriaux JP. Sex hormone-binding globulin in the diagnosis of peripheral tissue resistance to thyroid hormone: the value of changes after short term triiodothyronine administration. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66: 740-6.

65. Stockigt JR, Topliss DJ, Barlow JW, White EL, Hurley DM, Taft P. Familial euthyroid thyroxine excess: an appropriate response to abnormal thyroxine binding associated with albumin. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 53: 353-9.
66. Wada N, Chiba H, Shimizu C, Kijima H, Kubo M, Koike T. A novel missense mutation in codon 218 of the albumin gene in a distinct phenotype of familial dysalbuminemic hyperthyroxinemia in a Japanese kindred. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 3246-50.
67. Gershengorn MC, Weintraub BD. Thyrotropin-induced hyperthyroidism caused by selective pituitary resistance to thyroid hormone. A new syndrome of "inappropriate secretion of TSH". *J Clin Invest* 1975; 56: 633-42.
68. Burrow GN, Wortzman G, Rewcastle NB, Holgate RC, Kovacs K. Microadenomas of the pituitary and abnormal sellar tomograms in an unselected autopsy series. *N Engl J Med* 1981; 304: 156-8.
69. Bellastella A, Criscuolo T, Sinisi AA, Iorio S, Mazzuca A, Parlato F, Perrone L, Faggiano M. Plasma thyrotropin, thyroxine, triiodothyronine, free thyroxine, free triiodothyronine, and cortisol levels in blind prepubertal boys. *J Endocrinol Invest* 1988; 11: 171-4.
70. Allan W, Herndon C, Dudley F. Some examples of the inheritance of mental deficiency: apparently sex-linked idiocy and microcephaly. *Am J Ment Defic* 1944; 325-34.
71. Dumitrescu AM, Liao XH, Best TB. A novel syndrome combining thyroid and neurological abnormalities is associated with mutations in a monocarboxylate transporter gene. *Am J Hum Genet* 2004; 74: 168-75.
72. Friesema EC, Grueters A, Biebermann H. Association between mutations in a thyroid hormone transporter and severe X-linked psychomotor retardation. *Lancet* 2004; 364: 1435-7.
73. Dumitrescu AM, Liao XH, Abdullah MS. Mutations in SECISBP2 result in abnormal thyroid hormone metabolism. *Nat Genet* 2005; 37: 1247-52.
74. Weiss RE, Refetoff S. Treatment of resistance to thyroid hormone--primum non nocere. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 401-4.

75. Gurnell M, Rajanayagam O, Barbar I, Jones MK, Chatterjee VK. Reversible pituitary enlargement in the syndrome of resistance to thyroid hormone. *Thyroid* 1998; 8: 679-82.
76. Weiss RE, Stein MA, Refetoff S. Behavioral effects of liothyronine (L-T3) in children with attention deficit hyperactivity disorder in the presence and absence of resistance to thyroid hormone. *Thyroid* 1997; 7: 389-93.
77. Radetti G, Persani L, Molinaro G, Mannavola D, Cortelazzi D, Chatterjee VK, Beck-Peccoz P. Clinical and hormonal outcome after two years of triiodothyroacetic acid treatment in a child with thyroid hormone resistance. *Thyroid* 1997; 7: 775-8.
78. Kunitake JM, Hartman N, Henson LC, Lieberman J, Williams DE, Wong M, Hershman JM. 3,5,3'-triiodothyroacetic acid therapy for thyroid hormone resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69: 461-6.
79. Dulgeroff AJ, Geffner ME, Koyal SN, Wong M, Hershman JM. Bromocriptine and Triac therapy for hyperthyroidism due to pituitary resistance to thyroid hormone. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 1071-5.
80. Ueda S, Takamatsu J, Fukata S, Tanaka K, Shimizu N, Sakata S, Yamaji T, Kuma K, Ohsawa N. Differences in response of thyrotropin to 3,5,3'-triiodothyronine and 3,5,3'-triiodothyroacetic acid in patients with resistance to thyroid hormone. *Thyroid* 1996; 6: 563-70.
81. Pohlenz J, Knöbl D. Treatment of pituitary resistance to thyroid hormone (PRTH) in an 8-year-old boy. *Acta Paediatr* 1996; 85: 387-90.
82. Beck-Peccoz P, Forloni F, Cortelazzi D, Persani L, Papandreou MJ, Asteria C, Faglia G. Pituitary resistance to thyroid hormones. *Horm Res* 1992; 38: 66-72.
83. Kurtoglu S, Covut İE, Kendirci M, Uzum K, Durak AC, Kiris A. Normal thyroid volume of children in Turkey: Pilot study in Kayseri province. *IDD Newsletter* 1995; 11: 41-2.
84. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16: 1215.
85. Sorensen HG, Van der Deure WM, Hansen PS, Peeters RP, Breteler MM, Kyvik KO, Sorensen TI, Hegedüs L, Visser TJ. Identification and consequences of

- polymorphisms in the thyroid hormone receptor alpha and beta genes. *Thyroid* 2008; 18: 1087-94.
86. Beck-Peccoz P, Roncoroni R, Mariotti S, Medri G, Marcocci C, Brabant G, Forloni F, Pinchera A, Faglia G. Sex hormone-binding globulin measurement in patients with inappropriate secretion of thyrotropin (IST): evidence against selective pituitary thyroid hormone resistance in nonneoplastic IST. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71: 19-25.
 87. Beck-Peccoz P, Chatterjee VK. The variable clinical phenotype in thyroid hormone resistance syndrome. *Thyroid* 1994; 4: 225-32.
 88. Haugen BR, Brown NS, Brinkmeier ML, Camper SA, Greenlee L, Krezel W, Chambon. Retinoid X receptor gamma deficient mice have a biochemical phenotype consistent with mild thyroid hormone resistance (abstract). 8st Annual Meeting of The Endocrine Society, San Diego, CA 1999; 12-5.
 89. Weiss RE, Xu J, Ning G, Pohlenz J, O'Malley BW, Refetoff S. Mice deficient in the steroid receptor co-activator 1 (SRC-1) are resistant to thyroid hormone. *EMBO J* 1999; 18: 1900-4.
 90. Janssen JS, Sharma V, Pugazhenthir U, Sladek C, Wood WM, Haugen BR. A rexinoid antagonist increases the hypothalamic-pituitary-thyroid set point in mice and thyrotrope cells. *Mol Cell Endocrinol* 2011; 339: 1-6.
 91. Hoftijzer HC, Heemstra KA, Visser TJ, le Cessie S, Peeters RP, Corssmit EP, Smit JW. The Type 2 Deiodinase ORFa-Gly3Asp Polymorphism (rs12885300) Influences the Set Point of the Hypothalamus-Pituitary-Thyroid Axis in Patients Treated for Differentiated Thyroid Carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 1527-33.
 92. Sternberg RM, Thoemke KR, Korte JJ, Moen SM, Olson JM, Korte L, et al. Control of pituitary thyroid-stimulating hormone synthesis and secretion by thyroid hormones during *Xenopus* metamorphosis. *Gen Comp Endocrinol* 2011; 173: 428-37.