

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

**HASHİMOTO TİROİDİTLİ HASTALARDA
SERUM CATHELİCİDİN DÜZEYİNİN
BELİRLENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. MERİÇ COŞKUN**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MEHMET AYHAN KARAKOÇ**

**ANKARA
EYLÜL 2018**

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

HASHİMOTO TİROİDİTLİ HASTALARDA
SERUM CATHELİCİDİN DÜZEYİNİN
BELİRLENMESİ

UZMANLIK TEZİ
Dr. MERİÇ COŞKUN

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. MEHMET AYHAN KARAKOÇ

Bu tez Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Eğitim Koordinasyon Derneği
tarafından desteklenmiştir

ANKARA
EYLÜL 2018

**Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı**

Adı ve Soyadı	MERİÇ COŞKUN
Baba Adı	MUSTAFA
Doğum Yeri/Tarihi	DENİZLİ/ 02,06,1987
Diploma Tarihi / Diploma No	05,07,2011/ 11-311-027
Mezun Olduğu Fakülte	HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
İhtisas Süresi	Yıl: 4 YIL
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: HASHİMOTO TİROİDİTLİ HASTALARDA SERUM
CATELİCİDİN (LL-37) DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ

JÜRİ KARARI:

ADAY TEZ AŞAMASINDA BAŞARILI BULUNMUŞTUR

TEZ SAVUNMA TARİHİ: 10.09.2018

JÜRİ ÜYELERİ

BAŞKAN

PROF. DR. MEHMET AYHAN KARAKOÇ

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Endokrinoloji Ve Metabolizma
Hastalıkları Anabilim Dalı

ÜYE

PROF. DR. MÜJDE AKTÜRK

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Endokrinoloji Ve Metabolizma
Hastalıkları Anabilim Dalı

ÜYE

DOÇ DR. CEYLA KONCA

DEĞERTEKİN

Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Endokrinoloji Ve Metabolizma
Hastalıkları Anabilim Dalı

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	II
TEŞEKKÜRLER.....	IV
KISALTMALAR	V
TABLolar DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VIII
ÖZET.....	IX
ABSTRACT	XI
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. TİROİD BEZİ.....	1
1.1.1.Tiroid hormon sentezi	2
1.1.2.Tiroid hormonlarının etkileri	3
1.2.OTOİMMÜN TİROİD HASTALIKLARI	4
1.3.HASHİMOTO TİROİDİTİ.....	6
1.3.1.Epidemiyoloji ve Etiyoloji	6
1.3.1.2.Çevresel faktörler	9
1.3.2.İmmünoloji.....	10
1.3.3.Patoloji	16
1.3.4.Klinik seyir.....	18
1.3.5.Laboratuvar	20
1.3.6.Tedavi.....	20
1.3.7.Hashimoto Tiroiditinin Diğer Hastalıklar İle Birlikteliği	21
1.4.ANTİMİKROBİYAL PEPTİTLER.....	23
1.5.CATHELİCİDİNLER.....	25
1.6.LL-37 (İNSAN CATHELİCİDİNİ).....	26

1.6.1. LL-37 etki mekanizmaları.....	28
1.6.2.LL-37 immün modölatör etkileri	30
1.6.3.LL-37 ile Vitamin D İlişkisi.....	33
1.6.4.LL-37'nin Hastalıklarla İlişkisi.....	35
2.AMAÇ	39
3.MATERYAL VE METOD	40
3.1. Çalışmaya alınma ve dışlanma kriterleri	41
3.2 Kullanılan gereç ve yöntem	42
3.2.1 Klinik veriler	42
3.2.2 Laboratuvar verileri.....	42
3.2.3 Kan örneklerinin eldesi, serum cathelicidin düzeyinin çalışılması.....	42
3.2.3 İstatiksel Yöntemler	43
4.BULGULAR	45
4.1 Demografik Özellikler ve Laboratuvar Bulguları.....	45
4.2 Serum LL-37 düzeyinin, HT varlığı ve tiroid otoantikörleri ile ilişkisi	47
4.3Korelasyon analizi	51
4.4 ROC analizi	52
4.4.1Hashimoto tiroiditli hastalarda LL-37'nin tanısal değeri.....	52
4.4.2Anti TG negatif Hashimoto Tiroiditli hastalarda LL-37 tanısal değeri .	53
5. TARTIŞMA.....	57
6.SONUÇ	63
7.REFERANSLAR.....	65

TEŞEKKÜR

Uzmanlık tezimin oluşumu ve tamamlanmasında bana yol gösteren, Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı öğretim üyesi sayın tez danışmanım Prof. Dr Mehmet Ayhan KARAKOÇ'a ve Uzm Dr. Aydın Tuncer SEL'e, veri toplama aşamasında büyük desteği olan Arş. Gör. Dr Ünsal ÖZEK'e, numunelerin saklanması ve biyokimyasal analizinin yapılmasını sağlayan Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç.Dr. Özlem GÜLBAHAR'a ve Arş.Gör. Dr. Tuba Saadet Deveci Bulut'a, çalışmanın istatistiksel analizlerini yapan Halk Sağlığı Anabilim Dalı Arş. Gör. Dr. Dilek YAPAR ve tüm çalışma arkadaşlarıma, her zaman yanımda ve destekçim olan **aileme ve eşime** teşekkür ederim.

Canım kızım Eda, canım oğlum Eymen; hayatımın geri kalanı gibi bu tez çalışması da size adanmıştır.

Dr. Meriç Coşkun

KISALTMALAR

25(OH) D3: 25 Hidroksi D Vitamini

AIRE: Otoimmün Düzenleyici Gen

AMP: Antimikrobiyal peptitler

ANCA: Anti Nötrofilik Sitoplazmik Antikor

Anti NIS: Sodyum İyot Karşılıklı Taşıyıcısına Karşı Gelişen Antikor

Anti TG: Tiroglobüline Karşı Antikor

Anti-TPO: Tiroid Peroksidaz'a karşı antikor

APD: Antimikrobial Peptit Veritabanı

APECED: Otoimmün Poliendokrinopati,Candidiyazis,Ektodermal Distrofi

CAMP: Katyonik Anti Mikrobiyal Peptit

CH: Crohn Hastalığı

CRP: C Reaktif Protein

CTLA4: Sitotoksik T Lenfosit Antijeni-4

ELİSA: Antijen antikor reaksiyonlarını gösterebilmek için enzim kullanılan tüm tekniklere ve tahlil yöntemleri

FMF: Ailevi Akdeniz Ateşi

GH: Graves Hastalığı

HLA: İnsan Lökosit Antijenleri

HT: Hashimoto Tiroiditi

IPEX sendromu: İmmün Disregülasyon, Poliendokrinopati, Enteropati, X'e Bağlı Geçen

LL-37: İnsan Cathelicidini

MHC. Majör Histokompatibilite Kompleksi

NIS: Sodyum /İyot Symporter

OTH: Otoimmün Tiroid Hastalıkları

PAB: pro-oksian,antioksidan denge

POEMS: Polinöropati, Organomegali, Endokrinopati, M Protein Varlığı ve Cilt Değişiklikleri

SLE: Sistemik lupus eritematozus

T3: Triiyodotironin

T4: Tetraiyodotironin

TBPA: Tiroksin Bağlayıcı Prealbümin (Transtretin)

Tfh: Folüküler Yardımcı (Helper) T Hücreler

TGB: Tiroksin Bağlayıcı Globülin

Th1: Yardımcı T Hücresi 1

Th17: Yardımcı T Hücresi 17

Th2: Yardımcı T Hücresi 2

TLR: Toll Benzeri Reseptör

Treg: Düzenleyici(Regülatuar) T Hücresi

TRH: Tirotropin Salgılatıcı Hormon

TSH: Tiroid Stimulan Hormon

ÜK: Ülseratif Kolit

VDR: *Vitamin D Reseptörü*

VDRE *Vitamin D Yanıt Elementi*

TABLÖLAR DİZİNİ

TABLO 1. TİROİD HORMON SENTEZ BASAMAKLARI	3
TABLO 2. HASHİMOTO TİROİDİTİ PATOGENEZİNDE YER ALAN ÇEVRESEL FAKTÖRLER .	9
TABLO 3. HASHİMOTO TİROİDİTİ KLİNİK TİPLENDİRMESİ VE ÖZELLİKLERİ	18
TABLO 4. LL-37 DÜZEYİNE ETKİ EDEN FAKTÖRLER	28
TABLO 5. KONTROL VE HT OLGULARININ CİNSİYET, YAŞ, BMI VERİLERİ	45
TABLO 6. KONTROL VE HT OLGULARININ TİROİD FONKSİYON TESTLERİ, TİROİD OTOANTİKORLARI VE 25 OH D3 DÜZEYLERİ	46
TABLO 7. KONTROL VE HT'Lİ OLGULARDA LL-37 DÜZEYİNİN KARŞILAŞTIRILMASI .	47
TABLO 8. ÖTİROİD VE SUBKLİNİK HİPOTİROİD HT OLGULARININ TİROİD OTOANTİKOR VE LL-37 SEVİYELERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI	49
TABLO 9. SERUM LL-37 DÜZEYİNİN, HT'Lİ OLGULARDA ANTİ TG VARLIĞI, ANTİ TPO VE VİTAMİN D DÜZEYİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI.....	50
TABLO 10. ANTİ TG NEGATİF HT'LİLER İLE KONTROL GRUBU ARASINDA LL-37 DÜZEYİNİN KARŞILAŞTIRILMASI	50
TABLO 11. HASHİMOTO TİROİDİTLİ HASTALARIN DEMOGRAFİK VERİLERİ VE LABORATUVAR VERİLERİ İLE LL-37 DÜZEYİ ARASINDAKİ İLİŞKİ	51
TABLO 12. ÇALIŞMAYA ALINAN TÜM OLGULARDA (N=88) LL-37 İÇİN AUC (AREA UNDER THE CURVE), %95 GÜVEN ARALIĞI VE P DEĞERİ	53
TABLO 13. ÇALIŞMAYA ALINAN TÜM OLGULARDA (N=88) LL-37'NİN HT TANISINI ÖNGÖRMEDE ROC ANALİZİ İLE ELDE EDİLEN SINIR DEĞERİN ÖZELLİKLERİ	53
TABLO 14. ANTİ TG NEGATİF OLGULARDA LL-37 İÇİN AUC (AREA UNDER THE CURVE), %95 GÜVEN ARALIĞI VE P DEĞERİ.....	54
TABLO 15. ANTİ TG NEGATİF OLGULARDA LL-37'NİN HT TANISINI ÖNGÖRMEDE ROC ANALİZİ İLE ELDE EDİLEN SINIR DEĞERİN ÖZELLİKLERİ	55
TABLO 16. ROC ANALİZİNDE BELİRLENEN SINIR LL-37 DEĞERİNE GÖRE HT RİSKİ BELİRLENMESİ	56

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL 1. TİROİD BEZİ.....	1
ŞEKİL 2. OTOİMMÜN TİROİD HASTALIKLARI OLUŞUMU	5
ŞEKİL 3. CD4+ T LENFOSİTLERİN FARKLILAŞMASI	10
ŞEKİL 4. CATHELİCİDİN MOLEKÜLÜ PEPTİT YAPISI.....	27
ŞEKİL 5. LL-37’NİN İMMÜN MODÜLATÖR VE ANTİ MİKROBİYAL ETKİLERİ.....	31
ŞEKİL 6. ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLEN TÜM OLGULARIN (N=88) LL-37 DEĞERLERİNE AİT ROC ANALİZİ EĞRİSİ	52
ŞEKİL 7. ANTİ TG NEGATİF 68 KİŞİNİN LL-37 DEĞERLERİNE AİT ROC ANALİZİ EĞRİSİ.....	54

ÖZET

Hashimoto tiroiditi (HT) tiroid hücre harabiyeti ile ilerleyen otoimmün tiroid hastalığıdır. İyot alımının yeterli olduğu ülkelerde hipotiroidinin en sık nedenidir. Genel toplumun %10'unda görülür. Kadınlarda daha sıktır. Genellikle artmış TSH düşük serbest T4 (sT4) ve yüksek antikor seviyeleri ile tanıılır. HT patogenezinde hücrel ve humoral immün sistemin iç içe geçmiş etkileri gösterilmiştir. HT diğer otoimmün hastalıklar ile birliktelik gösterebilmektedir.

Cathelicidinler antimikrobial ve immunstimulator peptit ailesinin önemli üyeleridir. LL-37; hCAMP 18 adında proprotein şeklinde sentezlenen insan cathelicidindir. LL-37'nin farklı yollar üzerinden antimikrobiyal ve immün modulator etkileri mevcuttur. LL-37'nin otoimmün hastalıklar, vaskülitler ve diğer inflamatuvar hastalıklardaki immün modulator rolü incelenmektedir. Literatürde Hashimoto tiroiditinde LL-37'nin rolü üzerine yapılan çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bölümünde 2018 yılı Ocak –Nisan ayları arasında Hashimoto Tiroiditli hastalar üzerinde yapıldı. Hashimoto tiroiditli hastalarda serum LL-37 düzeyinin belirlenmesi amaçlandı. Çalışmaya alınan hastaların ve sağlıklı kontrol grubu bireylerinin yaş, BMI, TSH, T3, T4, Anti TPO, Anti Tg, 25(OH)D₃ düzeyleri kaydedildi. Olgulardan kan örnekleri toplandı ve ELİSA yöntemi ile serum cathelicidin (LL-37) düzeyleri ölçüldü.

Çalışmaya alınan 40 sağlıklı kontrol, 48 Hashimoto tiroiditli hasta grupları arasında yaş, cinsiyet, BMI açısından fark saptanmadı. LL-37; kontrol grubuna

göre Hashimoto Tiroiditinde anlamlı yüksek bulundu ($p<0,001$). HT'li olgularda cinsiyet, yaş, hastalık yaşı, TSH, serbest T3, serbest T4 düzeyi, tedavi alan hastalarda kullanılan levotiroksin sodyum dozu, Anti Tg varlığı, Anti Tg titresi, Anti TPO titresi, 25OH D₃ düzeyi ile serum LL-37 düzeyi arasında anlamlı korelasyon ilişkisi saptanmadı. LL37'nin HT 'yi öngörmeye tanısallık değeri olduğu görüldü. ($p<0,001$). LL-37 için % 71 sensitivite ,%70 spesifite ile belirlenen 714pg/ml sınır değerine göre Hashimoto Tiroiditi tanısı koymadaki pozitif prediktif değeri %73,9, negatif prediktif değeri %66,7 olarak belirlendi. LL-37'nin anti TG negatif olgularda da HT'yi öngörmeye tanısallık değeri olduğu görüldü ($p=0,001$) ve % 68 sensitivite, %70 spesifite ile belirlenen 714pg/ml sınır değerine göre tanı koymadaki pozitif prediktif değeri %67,9 negatif prediktif değeri %70 olarak belirlendi. LL-37 değeri 714 pg/ml ve üzerinde olanlarda HT görülme sıklığı %73,9 olup, LL-37 değeri 714 pg/ml olan bir olgunun Hashimoto Tiroiditi olma riski yaklaşık 5,6 kat fazla saptandı. ($OR=5,66$; $p<0,001$).

LL-37 nin HT için tanısallık marker olarak kullanılmasında enfeksiyöz veya otoimmün inflamatuvar süreçlerin büyük bölümünde artış göstermesi sınırlayıcı olmaktadır. Bu sebeple LL-37 nin tek başına kullanılmasındansa HT için yüksek spesifite gösteren Anti TPO ile birlikte kullanılması uygundur. Bunun yanında hastalık yaşı, otoantikor düzeyleri ve diğer parametrelerden etkilenmemesi nedeniyle otoantikor negatif otoimmün tiroid hastalıkları gruplarında tanısallık bir marker olabileceği düşünülmüş olup daha büyük ve farklı otoimmün tiroid hastalıklarını da kapsayan gruplarda yapılacak başka çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelime ; Hashimoto Tiroiditi , antimikrobiyal peptid, cathelicidin, LL-37

ABSTRACT

Hashimoto thyroiditis (HT) is autoimmune thyroid disease progressing with thyroid cell damage. The most common cause of hypothyroidism in developed countries having sufficient iodine intake is HT. It occurs in 10% of the general population. It's more common in females. The disease is usually diagnosed with elevated TSH low free T4 and high antibody levels. Although the genetic and environmental factors influence the pathogenesis of the disease, the mechanism is not fully understood. HT may be associated with other autoimmune diseases.

The human cathelicidin (LL-37) is one of the most important members of the antimicrobial and immunostimulator family of peptides. It is synthesized as a proprotein called hCAMP 18 from the gene domain on the chromosome. LL-37 has antimicrobial and immunomodulatory effects on different pathways. The role of LL-37 in the immunomodulator role in autoimmune diseases, vasculitis and other inflammatory diseases has been researched. There is no literature on the role of LL-37 in HT

The study was carried out between January- April 2018 in the Department of Endocrinology and Metabolism Diseases of Gazi University Medical Faculty Hospital on HT patients. In this study, it was aimed to determine serum LL-37 level in patients with HT. Age, BMI, TSH, T3, T4, Anti TPO, Anti Tg, 25 (OH)D₃ levels were recorded in HT and healthy controls. Blood samples were collected from the cases and serum LL-37 levels were measured by ELISA method.

Forty healthy controls and 48 patients with HT were included in the study. There is no difference between the groups in terms of age, sex, and BMI.

LL-37 was found to be significantly higher in HT with autoimmune thyroid disease ($p < 0.001$). In patients with HT, no significant correlation was found between serum LL-37 level and sex, age, disease age, TSH, free T3, free T4 level, levothyroxine sodium doxia, anti TG titre, anti TPO titre, 25(OH)D₃ level.

LL-37 was found to be diagnostic value for prediction of HT ($p < 0.001$). The positive predictive value was 73.9% and the negative predictive value was 66.7% in HT according to the 714pg / ml limit value determined by 71% sensitivity and 70% specificity for LL-37, respectively. It was also found that LL-37 was diagnostic value in anti TG negative cases ($p = 0.001$) (Positive Predictive Value 67%, Negative Predictive Value 70%, when diagnosed according to 714pg / ml limit value determined by 68% sensitivity and 70% specificity). The incidence of HT was 73.9% in cases with a LL-37 value greater than 714 pg / mL. In a patient with a LL-37 value greater than 714 pg / ml, HT is thought to be about 5.6 times more likely. (OR = 5.66, $p < 0.001$)

The use of LL-37 as a diagnostic marker for HT is limited by the increased incidence of infectious or autoimmune inflammatory processes. Therefore, when LL-37 alone is used, it is appropriate to use it in combination with anti-TPO which has high specificity for HT. In addition, since it is not affected by disease age, autoantibody levels and other parameters, autoantibody is thought to be a diagnostic marker in autoimmune thyroid diseases group and there is a need for further studies in groups including bigger and different autoimmune thyroid diseases.

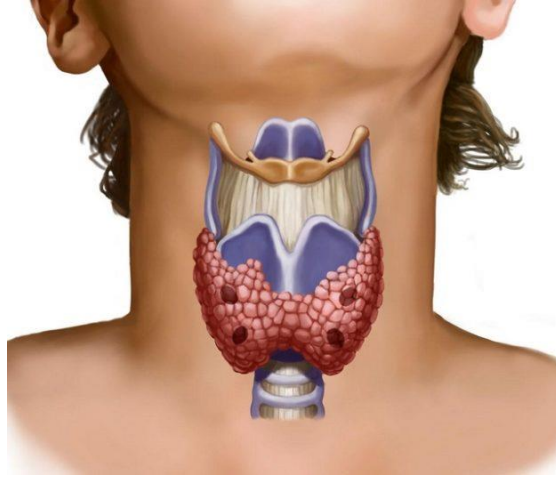
Keyword ; Hashimoto thyroiditis, antimicrobial peptide, cathelicidin, LL-37

1. GENEL BİLGİLER

1.1. TİROİD BEZİ

Vücudun endokrin hormon üretimi için özelleşmiş en büyük organıdır. Tiroid bezinin temel fonksiyonu yapılarında iyot bulunan triiyodotironin (T3) ve tetraiyodotironin (T4) isimli hormonların salgılanmasıdır. T4 prohormon özelliğindedir, T3 aktif hormon formudur. Hücreler T3 üzerinden yönlendirilir (1).

Tiroid bezi boyunda, trakeanın önünde, krikoid kıkırdak ile suprasternal çentik arasında yerleşmiştir. Tiroid, isthmus ile birbirine bağlı olan sağ ve sol lob ile piramidal lobdan oluşur (Şekil1).



Şekil 1. Tiroid Bezi

Tiroid bezi yaşamın 3. haftasında farinks tabanında 1. ve 2. brakial arkların arasında orta hat yapısı olarak gelişir. Buradan trakeanın önüne giderek yaklaşık 4x2x1cm boyutunda iki lateral lobu oluşturacak şekilde ikiye ayrılır. Tiroglossal kanal boyunca ektopik tiroid dokusuna rastlanabilir. Gestasyonun 29. gününden itibaren fetal tiroid folikül hücreleri tiroglobulin sentezler. İyodu konsantre etme ve T4 üretimi 11. haftada başlar. Erişkin tiroid bezi yaklaşık 15-20 gram ağırlığındadır. Tiroid bezi hacmini belirleyen temel unsur iyot durumudur (1).

Tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) hipotalamustan salgılanır ve hipofizden salgılanan tiroid stimulan hormon (TSH) ile birlikte tiroid bezi fonksiyonlarının düzenlenmesinde ilk basamakları oluştururlar. Tiroid hormon sentezi için ortamda yeterli miktarda iyot bulunması ve iyotun bez içine taşınması gerekmektedir. Tiroid bezi içine iyot girişi sodyum /iyot symporter (NIS) tarafından sağlanır (1).

1.1.1. Tiroid hormon sentezi

Tiroid hormonları dolaşımda serbest veya bağlı formda bulunur. Tiroksin bağlayıcı globülin (TGB), tiroksin bağlayıcı prealbümin (TBPA) (transtretin) ve albümin tiroid hormon taşınmasında görevli üç temel yapıdır. TGB hormonların yaklaşık %70'inin bağlandığı proteindir. T4'ün %0.04'ü, T3'ün %0.4'ü dolaşımda serbest halde bulunur. Tiroid bağlayıcı protein miktarlarındaki değişiklik total hormon miktarını etkiler. Tiroid bezi normal şartlarda günlük 100 nmol kadar T4, 5 nmol kadar T3, 5 nmol'den daha az etkisiz haldeki reverse T3 üretimini sağlar (1). Tiroid hormon sentez basamakları tabloda gösterilmiştir (Tablo1).

Tablo 1. Tiroid Hormon Sentez Basamakları

İyodun bazal membran yüzeyinden tiroid hücresi içine transportu (yakalama)
İyodun oksidasyonu ve tiroglobulin molekülündeki tirozil uçlarına bağlanması (organofiksasyon)
Tiroglobulin üzerinde iyodotirozin moleküllerinin T3 ve T4 iyodotironinleri oluşturmak için çiftler halinde bağlanması (eşleşme)
Tiroglobulin proteolizi sonrası serbest iyodotirozin ve iyodotironinlerin dolaşıma salıverilmesi
Tiroid hücresi içinde iyodotirozinlerin deiyodinasyonu, serbest kalan iyodun korunması ve tekrar kullanılması
T4'ün T3'e tiroid içinde deiyodinasyonu

1.1.2.Tiroid hormonlarının etkileri

- T3 nükleer reseptör proteinlerine bağlanarak transkripsiyon faktörü olarak birçok genin ekspresyonunu kontrol eder.
- Normal fetal veya çocuk büyüme ve gelişmesini sağlar
- Kalp hızı ve myokard kontraktilitesini düzenler
- Gastrointestinal motilite ve renal su klirensini etkiler
- Vücudun enerji tüketimini, ısı üretimini ve kilo durumunu ayarlar (1).

1.2.OTOİMMÜN TİROİD HASTALIKLARI

Otoimmün tiroid hastalıkları (OTH) organ spesifik otoimmün hastalık prototipindeki hastalıklardandır. Gösterilmiş genetik ve çevresel faktörler olmasına rağmen otoimmün patogeneze tamamen açıklanmamıştır. OTH'ler lenfositik infiltrasyon, otoreaktif tiroid antijenleri, serumda saptanan tiroid otoantikörlerinin varlığı ile karakterizedir. Genellikle kadınlarda görülür, hastaların aile hikayesi mevcuttur, diğer otoimmün hastalıklar ile birliktelik görülebilir (2).

Hashimoto Tiroiditi (HT) ve Graves Hastalığı (GH) 2 majör OTH'dir. HT genel olarak anti TPO ve anti Tg ile karakterize iken GH anti TSH reseptör antikoru (TRAB) ile karakterizedir. Buna rağmen sınırlı vakada HT'lilerde TRAB, GH'lilerde anti TPO ve anti Tg görülür (3).

OTH'ler kadınlarda daha yüksek oranda görülür. Gebelik sonrası oluşan postpartum tiroidit genellikle otoimmün hipotiroidizm olarak kendini gösterse de GH için de büyük risk oluşturur. Gebeliğin 1. trimestrinde maternal dolaşıma geçen fetüs hücreleri fetal mikrokimerizmin oluşmasına neden olur ve bunun OTH oluşumunda etkili olduğu düşünülmektedir. Fetal alloantijenlere karşı tolerans sağlayarak fetüsün rejeksiyonunu engelleyen maternal regülatuar T hücreleri (Treg) gebelik boyunca hastalığın ortaya çıkışına engel olur, doğum sonrası otoantikörler yükselişe geçer. Deneysel çalışmalarda erken embriyonik dönemde 2 X kromozomunun inaktivasyonunun hastalık sıklığını azalttığı gösterilmiştir (3).

Makrofaj ve dentritik hücre gibi özellikle Majör histokompatibilite kompleksi (MHC) sınıf II ‘ ye antijen sunan hücreler tiroid bezinde birikir ve lenfositlere spesifik tiroid antijenlerini sunar. Bu olay reaktif B ve T lenfositlerin proliferasyonuna ve aktivasyonuna yol açar. Th1, Th2, Th17 CD4+T lenfositlerdendir. HT Th1 aracılı hücre ilişkili immünite ve foliküler hücre apoptozu sonucunda ortaya çıkar. Humoral yanıttan sorumlu Th2 hücreleri, B hücre aktivasyonu ile antikor üretimine, tiroid dokusunun sitotoksik lenfositler ile infiltrasyonuna neden olur. Bu mekanizma GH’ nin oluşumunda rol almaktadır. Farklı çalışmalarda Th 17’nin HT ve GH oluşumunda etkin olduğu gösterilmiştir. Treg ise otoimmün hastalıklardan korunmada rol oynayan diğer bir CD4+ T hücre alt tipidir (2).

Şekil 2. Otoimmün Tiroid Hastalıkları Oluşumu



Çeşitli çalışmalar OTH'lerde tiroid dokusunda proinflamatuvar IL-1 α , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-14, TNF- α ve IFN- γ 'nın varlığı gösterilmiştir. Th1 ilişkili hücresel immün cevap IL-1 β , IL-12, IFN- γ , TNF- α sitokinlerini, Th2 ilişkili humoral immün cevap ise IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 sitokinlerini içerir. Th17'nin ürettiği sitokinler IL-17, IL-21, IL-22'dir (2).

1.3.HASHİMOTO TİROİDİTİ

1.3.1.Epidemiyoloji ve Etiyoloji

Otoimmün tiroid hastalıkları (OTH) organ spesifik otoagresif hastalık spektrumunun %30'unu oluşturur. HT tiroid hücre harabiyeti ile ilerleyen otoimmün tiroid hastalığıdır (4). İlk kez 1912 yılında Hakaru Hashimoto tarafından tanımlanmıştır. Hakaru Hashimoto tiroid bezinde gördüğü bu yeni hastalığı "Struma Lymphomatosa" olarak isimlendirmiştir (5). Hastalığın otoimmün alt yapısı 1950'lerde anlaşılmıştır (6). Kronik otoimmün tiroidit, kronik lenfositik tiroidit olarak da isimlendirilir. Dünyada hipotiroidinin en sık sebebi iyot yetersizliğidir. İyot yeterli gelişmiş ülkelerde hipotiroidinin en sık nedeni Hashimoto tiroiditidir (7). Genel toplumun %10'unda görülür (8). NHANES III isimli çok büyük çaplı epidemiyolojik çalışmada daha önceden tiroid hastalığı tanısı olmayan cinsiyet ve yaş ayırt edilmeyen bir grupta popülasyonun %18'inde tiroid antikor pozitifliği saptanmıştır. %11.3'ünde anti TPO, %10.4'ünde anti Tg pozitif saptanmıştır. Yaşla birlikte sıklığı artar ve kadınlarda erkelerden daha yüksek orandadır. 60 yaş üzeri kadınların %20'sinde tiroid antikor pozitifliği saptanmıştır (9). Tanı yaşı genellikle 30-50 yaş arasındadır. Kadın /erkek oranı

10-14/1'dir. İnsidansı kadınlarda yılda 1000'de 3-5, erkeklerde 1000'de 0.8 olarak hesaplanmıştır (7). Parite hastalık üzerinde etkin faktörlerdendir. Danimarka'da yapılan büyük çaplı bir çalışmada hamileliğin otoimmün tiroid hastalığı özellikle de HT'yi %11 oranında arttırdığı gözlenmiştir (6). Yaşla birlikte sıklığı artmakta olup, bu durum diğer otoagresif hastalıklar olan addison, tip 1 diyabet, lupus, romatoid artritten daha belirgindir (10).

Tiroid hücre harabiyeti hücre ve antikor bağımlıdır. Lenfositik hücre invazyonu, tiroid stromasında destrüksiyon, ilerleyici fibrozis, foliküler atrofi ve zamanla foliküler onkositik metaplazi görülür (10). Tiroid bezinin yıkımı sırasında oluşan pulsatil hormon salınımı hipertiroid ve normotiroid dönemler oluşmasına yol açsa da, hastalık daha sıklıkla artmış TSH düşük serbest T4(sT4) ile karakterize hipotiroidi ve yüksek antikor seviyeleri ile tanı alır (7). Bez harabiyeti sonucunda %1-2 klinik hipotiroidi, %10-15 subklinik hipotiroidi oluşur (10).

Danimarka'da yapılan ikiz çalışmalarında hastalık konkordansı monozigot ikizlerde %55, dizigotik ikizlerde %3 olarak hesaplanmıştır. Burdan yola çıkarak HT'nin %79 genetik kökenli, %21 cinsiyet ve çevresel faktörlerin etkisi ile ortaya çıktığı düşünülmektedir (7). Hastalık patogenezinde genetik ve çevresel faktörlerin etkisi gösterilse de mekanizma tam olarak açıklanamamıştır.

1.3.1.1Genetik faktörler

İnsan Lökosit Antijen (HLA) genleri

Otoimmün tiroid hastalıklarından sorumlu primer gen bölgesidir. Farklı çalışmalar ile etnik açıdan çeşitlilik gösteren HLA haplotipleri ile HT arasında

ilişki gösterilmiştir. HT’de tirositlerde HLA sınıf II moleküllerinin anormal ekspresyonu gösterilmiştir (9). Bazı HLA alt tiplerinin koruyucu özellikte olduğu bilinmektedir. HLA-B*46:01’in Çin halkında hastalık ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Japon halkında ise HLA-A*02:07 ve HLA-DRB4’ün HT’ye yatkınlık yarattığı, HLA-A*33:03, C*14:03, B*44:03, DRB1*13:02, DQB1*06:04’in ise koruyucu özellikte olduğu gösterilmiştir (4,11).

Sitotoksik T Lenfosit Antijen-4 (CTLA-4) Geni

Otoimmün tiroid hastalıklarından sorumlu ikincil gendir. Kromozom 2q33’de bulunur. CTLA T lenfositlerin yüzünde eksprese olur, T hücre reseptör aktivasyonu sonucunda, T lenfosit aktivasyonunun baskılanmasını sağlar.

CTLA-4 gen polimorfizmi CTLA-4’ün sayı veya fonksiyonel açıdan baskılanmasına yol açar. Bu T lenfositlerin aşırı ekspresyonuna ve otoimmün mekanizmanın ortaya çıkışına neden olur (9). Yapılan metaanalizlerde CTLA4’e ait tek gen polimorfizmi ile HT arasında ilişki saptanmıştır. PTPN22 ve CD40 gen polimorfizminin HT ile ilişkili olduğu düşünülse de Graves hastalığı ile ilişkili olduğu görülmüştür. (4,11,12,13)

Etkin diğer genler

Çalışmalar sonucunda IL-1 RN (*IL-1 reseptör antagonist gen*), IL17F, *GITR (Glucocorticoid-Induced Tumour Necrosis Factor Receptor)*, STAT3, SEPS1(selanoprotein s), MAGI3, ARID5B, *LPP*, *BACH2* genleri ile hastalık arasında ilişki saptanmıştır (4,13).

Kromozom 8q'daki tiroglobulin gen bölgesindeki tek gen polimorfizminin tiroglobulin çeşitliliği ve OTH oluşumu özellikle de HT ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (3,9).

1.3.1.2.Çevresel faktörler

HT patogeneğinde etkin olduğu bilinen çevresel faktörler Tablo3'de gösterilmiştir. Mekanizmaları tam olarak açıklanamasa da alkol ve sigara kullanımının koruyucu rol aldığı bilinmektedir (4,6,9).

Tablo 2.Hashimoto Tiroiditi patogeneğinde yer alan çevresel faktörler

Hijyen faktörü
İyot alımının fazlalığı
Selenyum eksikliği
Vitamin D eksikliği
İlaçlar (amiodoran,lityum, sitokinler özellikle interferon alpha, tirozin kinaz inhibitörleri,IL-2, alemtuzumab)
Enfeksiyonlar (özellikle HHV6, HCV, parvovirus, rubella, HSV, EBV, HTLV1, Toksoplazma gondii ve Yersinia enfeksiyonları)
Boyun bölgesine radyoterapi uygulanması
Nükleer reaktörlerden öldürücü olmayan dozda radyasyon yayılımı
Çevresel toksinler (3-methylcholanthrene, poliklorürlü bifeniller, petrokimyasal toksinler)

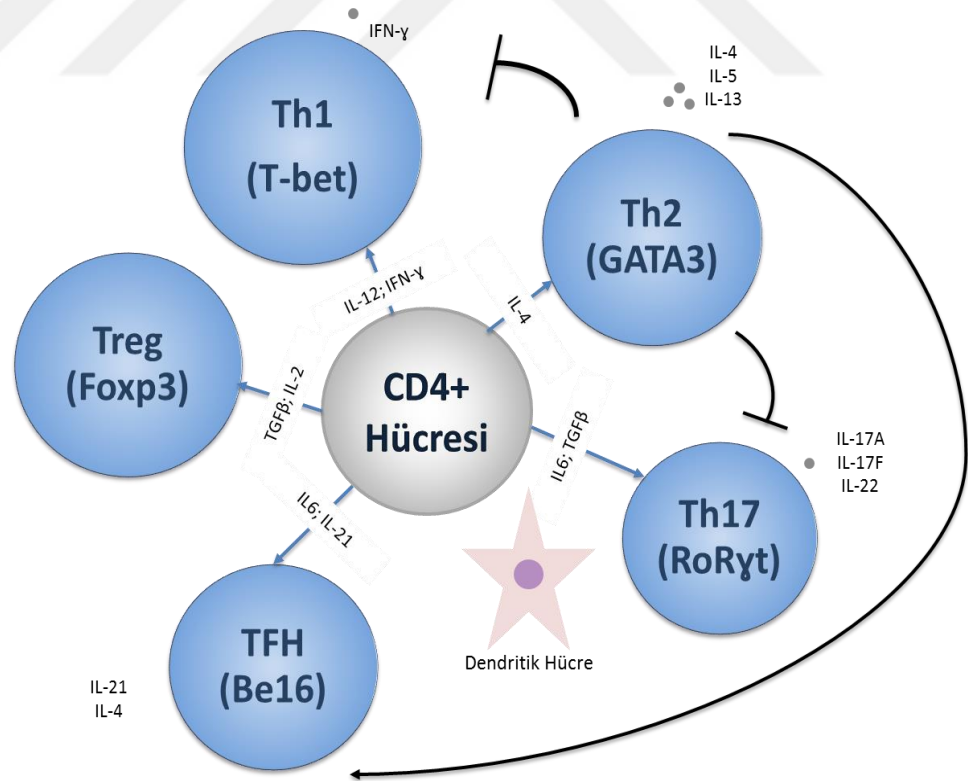
1.3.2.İmmünoloji

OTH patogenezinde hem hücresel hem humoral immün sistemin iç içe geçmiş etkileri gösterilmiştir (4).

1.3.2.1.T lenfositler

HT de CD4+ T lenfositlerin önemli rolü vardır. CD4+ T hücrelerin Th1,Th2, Th17, Treg ve Tfr olmak üzere farklı işlevleri olan alt tipleri vardır (Şekil 3) (14).

Aktive Th2 hücreleri anti tiroid antikor salınımından sorumlu B lenfositlerin ve plazma hücrelerinin üretiminden ve aktivasyonundan sorumludur.



Şekil 3. CD4+ T lenfositlerin farklılaşması

(“https://www.researchgate.net/figure/265648463_fig1_CD4-T-cell-differentiation-in-early-life-Defect-in-Th1-Th17-and-TFH-differentiation”den uyarlanmıştır.)

Th1'ler tiroid foliküllerinin direk yıkımından sorumlu olan, tiroid dokusuna direkt etki eden sitotoksik lenfositlerin ve makrofajların aktivasyonunu sağlamaktadır. HT'de hem Th1 hem Th2 hücelere ait immün yanıtın etkileri görülse de patogenezinin sorumlu dominant hücre grubu Th1 lenfositlerdir. Histopatolojik çalışmalarda HT'de T lenfositler hem tiroid parankiminde hem de lenfoid agregatlarda görülmektedir. CD4+ T lenfositler HT'lilerde intertisyumdan tiroid folikül hücelerine göç etmekte, intertisyum ise fibroblast ve fibrotik doku ile kaplanmaktadır. Hasarlı tiroid foliküllerinde piknotik çekirdekli, yoğun sitoplazmalı apoptatik tirositlere rastlanmaktadır (10).

Th17 lenfositler serumdaki CD4+ hücelerin %1'ini oluşturur. İntraselüler antijenlere karşı immün yanıtta görevlidir. Romatoid artrit, psöriyazis, multiple skleroz, inflamatuvar barsak hastalığı gibi otoimmün hastalıkların ve neoplazik gelişim, allerji, transplantasyon rejeksiyonu gibi durumların gelişiminde patolojik bir faktör olduğu gösterilmiştir. Ürettiği proinflamatuvar sitokinler arasında IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-9, IL-22 bulunur. Th17 hücelerinin diferansiasyonunda IL-6, TGF beta etkili rol oynar. HT'li hastaların sağlıklı kontrollere, tiroid kanseri ve nodüler guatr vakalarına göre serum IL 6 seviyelerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir. IL-17 seviyesi ile lokal inflamasyon, stromal fibrozis, tirosit atrofisi arasında pozitif ; hipotiroidi ile negatif ilişki saptanmıştır.

Bir çalışmada proinflamatuvar leptin seviyesi ile Th17 seviyesinin ilişkili olduğu gösterilmiştir (10). Th17 hücelerinden salınan IL-22'nin kronik

inflatuar sürecin oluşumunda rolü vardır. HT'de IL-22 seviyesi ile anti TPO titresini pozitif korelasyon gösterir (4,13).

Treg'ler düzenleyici T lenfositlerdir. CD4+ T lenfositlerin % 5-10'unu oluşturur. CD25 pozitif hücrelerdir. İnflatuar yanıtın düzenlenmesinde, otoagresif hastalıkların önlenmesinde, sitotoksik CD8+ lenfosit, NK hücreleri ve dentritik hücrelerin proliferasyonunu engellemede görevlidir. Deneysel çalışmalarda CD25+ Treg hücrelerinden arındırılmış farelerde birçok organ spesifik otoagresif hastalık ortaya çıkmıştır. Yeni tanı almış, tedavi edilmemiş HT'li hastalarda CD4+ CD25+ Treg hücrelerinin konsantrasyonu ile anti TPO titresini arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Fox P3 ve bu genden kodlanan scurf proteinini, CTLA4, STAT1, STAT3, GITR genleri CD4+, CD25+ lenfositler için transkripsiyon faktörü görevindedir. Olası problemler immün cevabın baskılanmasında sorumlu olan IL-10 ve TGF beta'nın üretilmesini engeller. Fox P3 ve CTLA4 genleri ile OTH arasındaki bağlantı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (10). HT patogeneizinin açıklanmasındaki olası bir başka mekanizma ise HT'li hücrelerin antiinflatuar özellikteki TGF-beta'ya olan duyarlılığının azalmasıdır (4).

Foliküler T helper lenfositler(Tfh); transkripsiyon faktörleri CXCR5 ve Bcl6 olduğu bilinen, üretimi IL-21 tarafından uyarılan yeni bulunmuş bir CD4+ lenfositir (14). Tfh'ler antijen spesifik B lenfositlerin proliferasyonuna, sitokin ve tiroid spesifik antikor salınımına neden olur. HT'li hastalarda Tfh düzeyi ile anti TPO arasında pozitif korelasyon vardır (4).

Treg hücrelerinin hasarlanması veya Tfh hücrelerinin artışının HT'nin oluşumuna neden olan başlatıcı olaylar olduğu düşünülmektedir (13).

IL-23, doğal bağışıklık sisteminin bir parçası olan IL-12 ailesinin bir elemanıdır, Th1 lenfositlerin proliferasyonunu sağlar. HT'li hastalarda IL-23 seviyesi yüksek bulunmuştur (4).

IL-14 ve IL-16 hem humoral hem hücrel bağışıklık sistemi için uyarıcı görevdedir. IL-14 ve IL-16 gen ekspresyonu HT'li hastalarda hasarlıdır. Bu sitokinlerin yüksekliğinin HT'ye özgü olmadığı OTH'nin hepsinde yüksek oldukları gösterilmiştir (4).

Apoptoz

Organizmanın homeostazı için gerekli programlı hücre ölümüdür. Apoptozdan genel olarak Fas/Fas Ligand birleşmesi sorumludur. Fas proliferasyonunun Th1 tarafından üretilen proinflamatuvar sitokinler ile stimülasyonu veya BCL-2, FAB1, FLIP, IAP gibi antiapoptatik moleküllerin kaybı apoptatik yolun aktive olmasını sağlar. HT aktif fazında proinflamatuvar sitokinlerin etkisi ile proapoptatik Fas proliferasyonunun arttığı, bcl-2 gibi antiapoptatik molekül proliferasyonunun azaldığı, buna bağlı olarak tiroisit kaybı ve folliküler hücre hasarına bağlı hipotiroidinin olduğu farklı çalışmalarda gösterilmiştir (10,15).

1.3.2.2.B lenfositler

İnvitro çalışmalarda HT'li hastaların tiroid dokusundan alınan B lenfositlerin anti tiroid antikor salınımına neden olduğu gösterilmiştir. (11) Bir başka çalışmada HT'li hastalarda plazma hücre sayısının arttığı, CD79+ B lenfositlerin tiroid harabiyetinde rolü olduğu saptanmıştır. Ig G+ HT'li hastalarda IgG, IgG4 miktarı ile anti TPO ve anti Tg titreleri arasında korelasyon olduğu izlenmiştir (10).

1.3.2.3.Antitiroid Antikorlar

Anti Tiroid Peroksidaz (Anti TPO)

Tiroid Peroksidaz (TPO), tiroid hormon sentezinde görevli tiroisit apikal membranında bulunan transmembran bir proteindir. İyot oksidasyonunun katalizörüdür. T3 ve T4 oluşumu için iyodotirozinlerin oluşumu ve kenetlenmesinde görevlidir (9).

Anti Tiroglobulin(anti Tg)

Tiroglobulin, tiroid folikülünde bulunan büyük glikoprotein yapılı bir moleküldür. Tiroid hormon sentezinde ve tiroid hormonlarının depolanmasında görevlidir.Tiroid peroksidaz ve tiroglobulin spesifik antikorlar Ig G sınıfı, yüksek afiniteli antikorlardır (9,11).

Anti Tiroid Peroksidaz (Anti TPO), Anti Tiroglobulin (Anti Tg) HT'de görülen majör tiroid otoantikorlarıdır. Tiroid antikorlarının etkileri 1990'lı yıllarda deneysel otoimmün tiroiditli farelerde gösterilmiştir. Tiroid otoantikorları uygun IgG subgrupuna bağlanıp, kompleman aktivasyonuna yol açar. Antikor

ilişkili kompleman bağımlı sitotoksite tiroisit hasarına yol açar (10). Tiroid antikorlarının tiroid bezindeki inflamasyon ve hastalık aktivasyonu ile ilişkili olduğu bilinmekle birlikte tiroid otoantikor titresini ile hipotiroidi derinliği arasında net bir ilişki yoktur (7). Yapılan bir çalışmada artmış anti TPO titresinin subklinik hipotiroididen klinik hipotiroidiye ilerleyişin belirteci olabileceği gösterilmiştir. Başka bir çalışmada artmış TSH seviyesi ile anti TPO arasında ilişki saptanmış, anti Tg ile ilişki saptanamamıştır (10).

Anti TPO HT'li hastaların %90'ına yakınında bulunur (9). Anti TPO'nun gebelik kaybı ve preterm eylem ile ilişkili olduğu, tiroid fonksiyon bozukluğu olmasa bile anti TPO varlığının gebelik kaybı riskini 3-5 kat arttırdığı gösterilmiştir (2). Tiroglobulin spesifik antikorlar HT için anti TPO'ya göre daha az spesifiktir ve HT li hastaları %60-80'inde görülür (9,16). GH'lerin %40-50'sinde, ötiroid genel popülasyonun ise %20 sinde görülür (3). Deneysel çalışmalarda tiroglobulin gen varyasyonunun antikor oluşumu ve tiroid otoimmünitesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (10).

Anti Pendrin

Pendrin; iyotun tiroisit apikal membranından transportunu, foliküler lümene girişini ve iyotun organofiksasyonunu kolaylaştırır. Pendrin genindeki varyasyon tiroid otoimmünitesi ile ilişkilidir. HT'lerin %97.5'inde GH'lerin %74'ünde anti pendrin antikorlara rastlanmıştır, sağlıklı kontrollerde anti-pendrin antikoruna rastlanmamıştır (3,17).

Sodyum iyot symporter antikorü (Anti NIS)

Sodyum iyot symporter proteini 80-90 kDa ağırlığında 13 adet transmembran segmenti olan tiroid follikülleri içine iyot taşınmasında görevli bir proteindir. Yapılan çalışmalarda IgG yapılı anti NIS antikorunun OTH'lerle ilişkisi saptanmış, Graves Hastalarının %85'inde HT'lilerin %15'inde gösterilmiştir (17,18).

1.3.3.Patoloji

Patolojik incelemede tiroid bezinin diffüz yaygın genişlemesi görülebilir. Tiroid bezi soluk ve sertleşmiştir. Kapsül ve piramidal lop genelde korunmuştur, bozulmamıştır (7). Diffüz lenfoplazmositik hücre infiltrasyonu, germinal merkezli lenfoid folliküller, değişken derecede fibrozis, parankimal atrofi, hurtle hücresi, askanazi hücresi veya oksifilik hücre olarak isimlendirilen eozinofilik sitoplazmalı, bol granüllü büyük folliküler hücreler içerir. Elektronmikroskopik incelemede; folliküler hücre membranlarında Tg ve IgG depozitleri görülür. Tiroid hücrelerinde B ve T lenfosit infiltrasyonu vardır. İnfiltrat T hücrelerinin büyük çoğunluğu alpha ve beta T hücre reseptörlerine sahiptir. İnterferon gama, IL-2, CD25 gibi Th1 ilişkili sitotokinler artmıştır. Tiroid hormon sentezinde bozulmayla sonuçlanan tiroid hücre kaybı, fas-fas ligand ilişkili apoptoz ya da T hücre ilişkili tiroisit hasarı ile açıklanabilir (5).

1.3.3.1.Histolojik Alt Tipleri

Fibröz varyant

HT'li hastaların % 10-13'ü bu alt tiptedir. Tiroid parankimi fibrozis dokusu ve kollajenöz stroma ile yok edilmiştir. Fibrozis bez sınırları dışına taşabilir, bu malignite olarak yanlış tanı almasına neden olabilir. Klinik olarak guatr, belirgin hipotiroidi ve artmış anti Tg antikor titresi ile kendini gösterir (5).

Fibröz atrofik varyant

Yoğun fibrozis dokusu, lenfoplazmositik infiltrasyon ve parankimal atrofi mevcuttur. Tiroid bezi 1-6 gr olacak kadar küçülmüştür. Klinik olarak genellikle miksödem koması ile kendinin gösterir. Atrofik varyantın %10 unda TSH blokan antikorlarına rastlanır (5).

Riedel tiroiditi

Bernhard Riedel tarafından ilk kez 1896 yılında 2 hasta üzerinde çok sert tiroid bezi ve trakeal bası semptomları ile tanımlanmıştır. Yıllar içinde Riedel tiroiditinin otoimmün tiroid hastalığı alt tipi olmaktan çok, sistemik bir hastalık olan multifokal fibrosklerozun bir parçası olduğu düşünülmüştür. Riedel tiroiditi tanısı için belli kriterler gereklidir.

- Tiroid bezinin bir kısmı ya da tamamını ilgilendiren fibroinflamatuvar süreç,
- Tiroid kapsülü dışına uzanan fibrotik uzantılar, dev hücre, onkosit, granülom veya lenfoid follikül içermeyen lenfositik hücre infiltrasyonu,
- Neoplazi yokluğu,
- Okluziv flebit için kanıt varlığı, bu kriterlerdendir (5).

Ig G4 ilişkili tiroidit

Ig G4 ilişkili hastalıklar doku ve serumda artmış Ig G4 ile ilişkili multisistemik organ tutulumu olan hastalıklardır. Ig G4 ilişkili tiroiditte lenfoplazmositik hücre infiltrasyonu, fibrozis, yüksek serum Ig G4 konsantrasyonu, tiroid dokusunda Ig G4 pozitif boyanma, subklinik hipotiroidiye hızlı klinik ilerleme, klasik HT'ye göre daha düşük kadın /erkek oranı görülür (5).

Hashimoto tiroiditi klinik takip açısından 6 ayrı sınıfta incelenmektedir. Tiplerin özellikleri Tablo3'de gösterilmiştir (16).

Tablo 3. Hashimoto tiroiditi klinik tiplendirmesi ve özellikleri

HT	Pik yaşı	K/E	Klinik	Sonografik bulgular	24st RAI uptake	Fibrozis
Klasik tip	40-60	12/1	Genellikle normal	Azalmış ekojenite	Değişken	Var
Fibröz tip	60-70	10/1	Hipotiroidi	Artmış ekojenite nodüler yapılanma	Azalmış	Ciddi
IgG4 ilişkili	40_50	3/1	Hipotiroidi	Azalmış ekojenite	Bilinmiyor	Var
Jüvenil tip	10-18	6/1	Normal / Subklinik hipotiroidi	Azalmış ekojenite	Çeşitli	Yok
Hashitoksikozis	40-60	5/1	Hipertiroidi	Azalmış ekojenite	Artmış	Yok
Post partum	20-40	-	Hipotiroidi/ Hipertiroidi	Azalmış ekojenite	Azalmış	Yok

1.3.4.Klinik seyir

Hashimoto tiroiditi sıklıkla ötiroid veya hafif hipotiroidizmi olan hastalarda guatr ile prezente olur. Hastalık ağrısızdır ve hasta sıklıkla guatr çok

büyümediği sürece farkına varmaz. Yaşlı hastalar ciddi hipotiroidizm ile küçük sert atrofik bir tiroid bezi ile karşımıza çıkabilir (19).

Büyük çoğunluğunda başlangıçta subklinik hipotiroidizm ve küçük guatr vardır. Subklinik hipotiroidizmin tedavi gerekliliği halen tartışmalıdır. Hipotiroidizmin hafif semptomları dışında artmış lipit seviyesi veya diğer aterosklerotik kalp hastalığı risk faktörlerinde artış saptanabilir.

HT'nin majör komplikasyonu progresif hipotiroidizmdir. Hipotiroidide cilt kurudur; terlemede azalma mevcuttur; epidermiste incelme ve kornea tabakasında hiperkeratoz vardır. Ciltteki artmış glikozaminoglikan içeriği su tutar; bu durum ciltte gode bırakmayan ödeme neden olur. Miksödem denilen bu tabloda ödematöz gözkapaklarıyla birlikte, şişmiş yüz ve gode bırakmayan pretibiyal ödem görülür. Ciltte karoten birikimine bağlı sarı renge çalan bir solukluk dikkat çeker. Saçlar kuru ve kırılındır; tırnak büyümesi yavaşlamıştır ve diffüz alopesiye ek olarak saçların üçte birlik dış kısmında incelme görülebilir. Çocuklarda kilo alımına rağmen lineer büyümede gecikme, erken veya gecikmiş puberte ile prezente olabilir. Yetişkinlerde bradikardi, diastolik hipertansiyon ve hafif hipotermi görülebilir. Nörolojik muayenede yavaş, dizartrik konuşma ve derin tendon reflekslerinde yavaşlama tespit edilebilir (1,19). Aşkar hipotiroidi tedavi edilmesse miksödem ve miksödem koması gelişir. Levotiroksin sodyum(LT4) tedavisi ile hipotiroidizm semptomları düzelir, guatr tamamen kaybolmaz fakat geriler (19).

Nadir olarak Hashimoto tiroiditli hastalarda tiroid bezi lenfoması gelişebilir. Mekanizma tam olarak bilinmese de HT tiroid lenfoması için kesin risk faktörüdür (19).

1.3.5.Laboratuvar

Hipotiroidi tanısı laboratuvar verileri ile konulabilmektedir. Yüksek TSH, düşük serbest T4 (sT4) aşıkâr hipotiroidi tanısı için esastır. Subklinik hipotiroidide ise sadece serum TSH düzeyi artmış, sT3 ve sT4 seviyeleri normaldir. Nadiren tirotoksikoz tablosu ile hastalar gelebilir. Klinik belirti ve bulgular hipotiroidinin ciddiyetine ve süresine bağlıdır (19).

Hashimoto tiroiditinin immünolojik tanısı, anti TPO ve anti Tg antikorlarının serumda saptanması ile konur. Tiroid muayenesinde patolojik bulgu saptanmışsa USG ile değerlendirme önerilir. USG’de tiroid ekojenitesinde azalma, strüktüründe kabalaşma ve psödonodüller gözlenir. İnce iğne aspirasyon biyopsisi, rutin olarak tanıda gerekli değildir. Ancak antikor negatifliği olan hastalarda teşhiste yardımcı olur. Hurtle hücreleri ile birlikte lenfositik infiltrasyon saptanır. Ayrıca nodülü olan hastalarda malignitenin ekarte edilmesi için gereklidir (20).

1.3.6.Tedavi

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

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

Levotiroksin replasman tedavisinde TSH hedefi:

- Risk taşımayan gençlerde 0,5-2,5 mIU/L,
- Kardiyovasküler riski yüksek olan kişilerde, 65 yaş üzerinde, ileri osteoporozu olanlarda, atrial fibrilasyon varlığında ise 1-4 mIU/L'dir.

İleri yaşta TSH'ın arttığı, TSH üst sınırının 70-79 yaş için 6 mIU/L, 80 yaş üstü için 7,5 mIU/L olduğu hatırlanmalı ve replasman dozu ayarlanırken bu eşik değerler göz önüne alınmalıdır. Levotiroksin doz ayarlaması 6-8 haftalık periodlar ile 12,5-25 µg/kg'lık artışlar ile yapılmalıdır (21).

1.3.7.Hashimoto Tiroiditinin Diğer Hastalıklar İle Birlikteliği

HT'lilerin %10-40' ında gastrik yakınmalara rastlanır. Otoimmün gastriti olanların %40'ında HT saptanmıştır. Kronik otoimmün gastrit parsiyel ya da komple parietal hücre hasarı, hidroklorik asit ve intrinsik faktör üretiminde defekt ile karakterizedir. Sonuçta hipoklorhidri, demir emilim eksikliği, pernisiyöz anemi, gastrik atrofi gözlenir (7).

Primer Sjögren Sendromu(SS) ile otomiimun tiroid hastalıkları benzer patolojik yollar üzerinden ilerleyen hastalıklardır. HLA B8 ve D3 haplotiplerinin varlığı overlapping şansını arttırır. Son yapılan çalışmalarda SS ile HT birlikteliği sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek bulunmuştur (22).

Romatoid artritli(RA) hastaların %12-37'sinde OTH antikorlarına rastlanmış olup, hastalık birlikteliği sıktır. RA'lıların %14 ünde HT görülür.

Skleroderma hastalarında anti Tg ve anti TPO anlamlı yüksek bulunmaktadır. Sklerodermada HLA DR15 haplotipini içeren grupta anti TPO yüksekliği daha yaygındır. Son yapılan çalışmlarda sklerodermalıların %38'inde OTH saptanmıştır. Farklı çalışmlalarda lupus, dermatomiyozit ve polimiyozit ile HT birlikteliği gösterilmiştir (22).

Çok nadir görülen hastalıklardan olan Poliendokrin Sendrom Tip 1, APECED (otoimmün poliendokrinopati, candidiyazis, ektodermal distrofi) otozomal resesif geçişli, çocukluk çağında görülen, AIRE gen defektine bağlı bir hastalıktır. Hipoparatiroidi, kandidiyazis, adisson hastalığı, otoimmün tiroidit birlikte görülür.

Poliendokrin Sendrom Tip 2 erişkinlerde görülen, multigenik bir sendromdur. Tip1 diyabet, addison hastalığı, primer ovaryan yetmezlik, otoimmün tiroid hastalıkları, hipoparatiroidi, adrenal yetmezlik, hipogonadizmin birlikte görüldüğü hastalık spektrumudur. Bu sendroma otoimmün alopesi, hepatit, vitiligo, pernisyöz anemi eşlik edebilir. IPEX ve POEMS sendromları otoimmün hipotiroidinin görüldüğü diğer durumlardır (23).

Tayvan'da yapılan NHIRD isimli kohort çalışmasında 1521 yeni tanı HT'li hasta non-HT grup ile karşılaştırıldığında HT'li grupta tiroid kanseri ve kolorektal kanser sıklığı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Tiroid kanseri riski tanı sonrası ilk üç yılda daha yüksektir (24).

1.4.ANTİMİKROBİYAL PEPTİTLER

Antimikrobiyal peptitler (AMP) patojen mikroorganizmalara karşı konak savunmasında önemli rolü olan omurgalı ve omurgasız birçok canlının doğal bağışıklık sisteminin elemanlarıdır (25,26,27). AMP'ler yapı, uzunluk, işlevsellik açısından çok heterojen bir grup olmasına rağmen genel olarak küçük (çoğunluğu 10-50 aminoasit), katyonik (genellikle +2-+9 yüklü) ve amfipatik (hidrofobisiteleri %30'un üstünde) yapıda aminoasit bileşenleridir. Kendilerine özgü gen bölgelerinde kodlanırlar, konakçı savunmasının gerektiği durumlarda genellikle pre-pro-peptit olarak sentezlenir, hücre içinde veya salgılandıktan sonra aktif formlarına dönüşmek üzere parçalanırlar (28,29).

İlk AMP 1922 yılında Alexander Fleming tarafından bulunan lizozimdir (26,30). Sürekli olarak güncellenen (<http://aps.unmc.edu/AP/main.php>) web sitesinden ulaşılabilen online Antimikrobial Peptit Veritabanı (The Antimicrobial Peptide Database) (APD) ilk kez 2004 yılında yayınlanmıştır (31). Güncel olan 2014 yılında yayınlanan APD3'tür (25). APD'de belirtilen AMP'lerden 220 tanesi memeli canlılarda, 1049 tanesi amfibi (amniyotik yumurtaya sahip olmayan soğukkanlı omurgalı canlılar) türlerinde, geri kalanı eklem bacaklılarda olmak üzere 2927 adet AMP bulunmaktadır (32). AMP'lerin tanımlandırılmasında önceleri yeni peptitlerin belirlenmesini sağlayan kromotografik yöntem kullanılmıştır. Peptit sekans motiflerinin tanınmasıyla birlikte genomik düzeyde bilgi veren biyoinformatik yaklaşım geliştirilmiştir (26).

Günümüzde insan konakçı savunmasında görevli olan 123 adet AMP tanımlanmıştır (32). Doğal bağışıklıkta önemli görevleri olan insan AMP'leri aminoasit sayıları 10 (neurokinin9) ile 149 (Reg IIIa) arasında değişen, net yükleri -3 (β -amyloid peptit) ile +20 (antimikrobial kemokin CXCL9) arasında değişim gösteren, hidrofobisiteleri %60'ın altında olan moleküllerdir (26).

AMP'lerin üç boyutlu yapıları manyetik rezonans spektroskopisi ya da X-ışını kristalografik yöntemleri ile belirlenmeye çalışılmaktadır. AMP'ler üç boyutlu yapılanmaları ile α , β , $\alpha\beta$, ve non- $\alpha\beta$ olarak dört ana gruba ayrılır (25,26,31).

İnsan AMP'leri ciltte keratinositlerde, göz, kulak, oral kavite epitel hücrelerinde, gözyaşında ve ter sıvısında, solunum sistemi, genitoüriner sistem, gastrointestinal sistem hücrelerinde, mononükleer hücrelerde izole edilmiştir. Sperm fertilizasyonundaki önemi gösterilmiştir (26,33).

Büyük AMP aileleri arasında; defensin, histadin, cathelicidin, dermicidin, hepcidin, immun sistem hücrelerinde bulunan antimikrobial kemokinler, nöroendokrin sistemden izole edilen antimikrobial nöropeptitler, beta amiloid peptitler, antimikrobial proteinler (aminoasit sayısı 100' den fazla) bulunmaktadır (26).

İnsan AMP'lerinin yapılan invivo ve invitro çalışmalarda çok çeşitli mekanizma ve yollar üzerinden bakteri, virüs, mantar ve parazitlere karşı antimikrobiyal etkileri (25,26,27,30) ve kanser hücrelerine karşı antikanser etkileri gösterilmiştir (34,35). AMP'ler antimikrobiyal etkilerini bakteri hücre

duvarının hedef alarak, bakteriyal iç membranları hedefleyerek, hücre zarını geçip hücre içi yapıları hedefleyerek, ortaya çıkarırlar (26).

AMP'lerin antimikrobiyal etkilerinin dışında kemotaksis, antijen nötralizasyonu, sitotoksite, sitokin salınımı ve sitokin aktivasyonu, proteaz inhibisyonu, antioksidasyon, antibiofilm etki, remodeling veya iyileşmesi gibi önemli immün modülatör etkileri vardır (25,26).

AMP'lerin üretimindeki denge çok önemlidir. İnsan AMP'lerin aşırı üretimi veya eksikliği çeşitli hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir. AMP'lerin konakçı savunmasındaki rolü, doğal bağışıklık üzerindeki etkileri, insanda görülen enfeksiyöz, inflamatuvar, otoimmün hastalıklarda ve kanser olgularındaki biyolojik yollar üzerindeki etkileri, hastalık türüne göre AMP'lerin seviye ve aktivitelerindeki değişimler güncel araştırma konularıdır (26,28,36).

AMP'lerin minimal inhibitör konsantrasyonu (MIC) invitro çalışmalarda fizyolojik konsantrasyonlarından daha yüksektir. Bu AMP'lerin invivo ortamdaki farklı yollar üzerindeki sinerjistik etkileri ile açıklanmaktadır (37).

1.5.CATHELİCİDİNLER

Cathelcidinler antimikrobial ve immünstimulator peptit ailesinin önemli üyeleridir (38). İlk kez 1989 yılında tespit edilmiş olup, insan konakçı savunma sistemindeki önemi hayvan modelleri üzerinde gösterilmiştir (26). Cathelcidinler genellikle insanlarda ve memeli hayvanlarda tespit edilmiştir (38,39). Hücre içerisinde pre-pro-protein olarak üretilirler. Sinyal peptiti, yüksek oranda yapısı korunmuş cathelin isimli N terminal bölgesi ve çeşitlilik gösteren, antimikrobiyal aktiviteden sorumlu olan C terminal bölgesi olmak üzere 3 kısımdan oluşmuştur

(27,29,38,39). Antimikrobiyal etkinliği olan son kısım 12-80 aminoasitten oluşan cathelacidin peptididir (38).

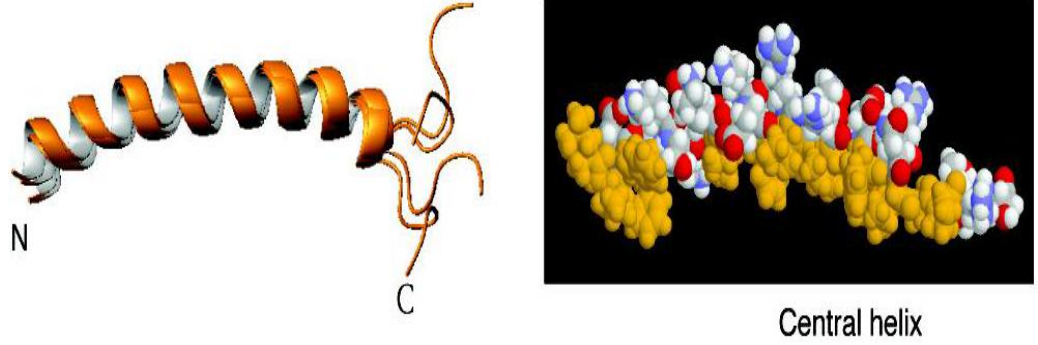
Yapılan alışmalar sonucunda 118 adet cathelacidin turevi antimikrobiyal peptit bulunmuştur. Bunlar α helikaller, prolinden zenginler, triptofandan zenginler, β tabaka ya da disulfid bağlılar ve diğer moleküller olarak sınıflandırılmıştır (38,40).

1.6.LL-37 (İNSAN CATHELİCİDİNİ)

LL-37; 3. Kromozom üzerinde bulunan CAMP (cationic antimicrobial peptit) gen bölgesinden 18 k DA ağırlığındaki hCAMP 18 adında proprotein şeklinde sentezlenir (29,38,33). İnsanda bir adet cathelacidin turevi bulunur. Toplam uzunluğu 170 aminoasit olan hCAMP18 nötrofillerin spesifik granüllerinde proteinaz3 ile, keratinositlerde kallikrein ailesinden olan serin proteaz, ile sinyal peptitinden ayrılan c terminali antimikrobiyal özelliği olan aktif peptit yapısına dönüşür (37).

LL37 ismi peptidin 37 aminoasitlik, başlangıç kısmında iki adet lösin aminoasiti bulunan **LLGDFFRKSKEKIGKEFKRIVQRIKDFLRNLPRTES** parçasından oluşması nedeniyle verilmiştir (27,33,38,40).

LL-37 düşük konsantrasyonlarda monomerik peptit yapısında olmasına rağmen yüksek konsantrasyonlarda klasik amfipatik α helikal oligomerik peptit yapısındadır. Bu dönüşüm hidrofobik yüzeyinin ortaya çıkmasını sağlar (38).



Şekil 4. Cathelicidin molekülü peptit yapısı

LL-37 öncelikle nötrofillerin sekonder granüllerinde sentezlenmekle birlikte; B ve T lenfositler, monositler, makrofajlar, mast hücreleri ve dentritik hücreler, keratinositler, solunum, intestinal ve üriner sistem epitel hücrelerinde üretilmektedir (29,33,36,37,38). Nötrofil granüllerinde LL-37'nin molar konsantrasyonu $40 \mu\text{M} - 630 \mu\text{g } 10^{-9}$ hücrede olarak belirlenmiştir (37).

İnsanda sadece bir tane cathelicidin peptiti bulunmasına rağmen seminal sıvıda bulunan ALL-38 ve ter sıvısında ve keratinositlerde bulunan KR-20, KS-30, RK-31, ve LL-23 peptitleri ile yüksek benzerlikler göstermektedir (37,38).

LL-37'nin gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı antibakterial, HSV ve HIV-1'e karşı antiviral, *C. albicans*'a karşı antifungal, *Entamoeba histolytica*, *Plasmodium falciparum*'a karşı antiparazitik, meme, over, akciğer ve mide kanserinde antikanser etkinliği, farklı yollar üzerinden apoptoz, yara iyileşmesi, sitotoksite, kemotaksis üzerindeki etkiliği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (26,37).

LL-37'nin ekspresyonunu, bakteriler ve bakteriyal lipopolisakkaritlerin uyarımı dışında çeşitli faktörler etkiler. Serum cathelicidin düzeyini değiştiren faktörler Tablo4'de gösterilmiştir (26,29,37).

Tablo 4. LL-37 düzeyine etki eden faktörler

Yaş ve cinsiyet (yenidoğan ve erişkin farelerde dağılım ve miktarının farklı olduğu görülmüştür)
UV ışınlar
TNF-alpha (keratinositlerde)
Vitamin D Reseptörü (VDRE) üzerinden aktif 1,25 vitamin D 3 (B lenfosit ve nötrofil öncülü hücrelerde, keratinositlerde)
Aktif 1,25 vitamin D3 'ün histon asetilasyonu ile direkt, CAMP promoter bölgesine etki ederek indirek
Butirat ve trichostatin A (histon deasetilaz inhibisyonu,ile) (kolonik ,gastrik ve hepatoseüler hücrelerde)
Laktoz, kısa zincirli yağ asitleri ve çinko (kolon epitel hücresi, makrofaj ve monositlerde)
Sistemik ve topikal kortikosteroidler

1.6.1. LL-37 etki mekanizmaları

LL-37 etkilerini hücre membranı, hücre içi proteinleri ve DNA üzerinden gösterir. Tüm bu etkilerin LL-37 nin amfipatik, alpha helikal yapısı ile ilişkili olduğu bir çok çalışmada gösterilmiştir (29,37,38).

Membran İle Etkileşimi

LL-37'nin antimikrobiyal etkilerini gösterebilmesi için patojenlerin hücre membranı ile etkileşime geçmesi ve hücre zarını geçerek hücre içi yapılara

ulaşabilmesi gerekir LL-37 nin hücre membranını geçebilmesini sağlayan 2 model tanımlanmıştır.

1. “*carpet*” model” (peptitlerin membranda paralel birikimi ve sonrasında miçel oluşumu)
2. “*toroidal-hole model,*” (*barrel stave model*) (İyonik kanal oluşturma) ile membran permeabilizasyonu sağlanır (29,37,38).

DNA Üzerinden Etki

LL-37 nin ekstraselüler *self DNA* fragmanlarına bağlanması bu fragmanların hücre içine girişini sağlar. Bunun sonucunda TLR9 uyarımı ile IFN alpha miktarını artırır. IFN alpha’nın artışı hücre içinde otoreaktif Th1 veya Th17 aktivasyonunu ve sonuçta IFN gama, IL-17 ve IL-22’nin artışına neden olur. Bu mekanizma psöriazis patogenezinde gösterilmiştir (38,37).

Benzer bir LL-37 –DNA bağlanmasının Kistik Fibroziste mikrobiyal enfeksiyon şiddetini arttırdığı gösterilmiştir (38).

LL-37’nin ortaya çıkarılan tüm bu karışık fonksiyonlarının ışığı altında Anti Mikrobiyal Peptit yerine Anti Mikrobiyal İmmunmodulator Peptit (AIMOP olarak adlandırılmalıdır (38).

Hücre İçi Proteinleri İle Etkileşimi

LL-37’nin hücre içi proteinlerle etkileşimi antimikrobiyal etkinliğinin yanında immün modulator etkilerinin ortaya çıkmasına yol açar. LL-37’nin etkinliği doz bağımlı olup, immün modulator etkilerini antimikrobiyal etkilerine göre daha düşük konsantrasyonlarda iken gerçekleştirir (36,41). LL-37’nin

immodulator etkileri hem proinflamator hem antiinflamator özellikler içerir (36).

1.6.2.LL-37 immün modulator etkileri

- *Toll Like Receptor* (TLR) yolu üzerinden,
- Tip 1 interferon yanıtını düzenleyerek,
- Mononükleer hücre maturasyonunu etkileyen sitokinlerin miktarını değiştirerek,
- Apoptozu regüle ederek yapar (36).

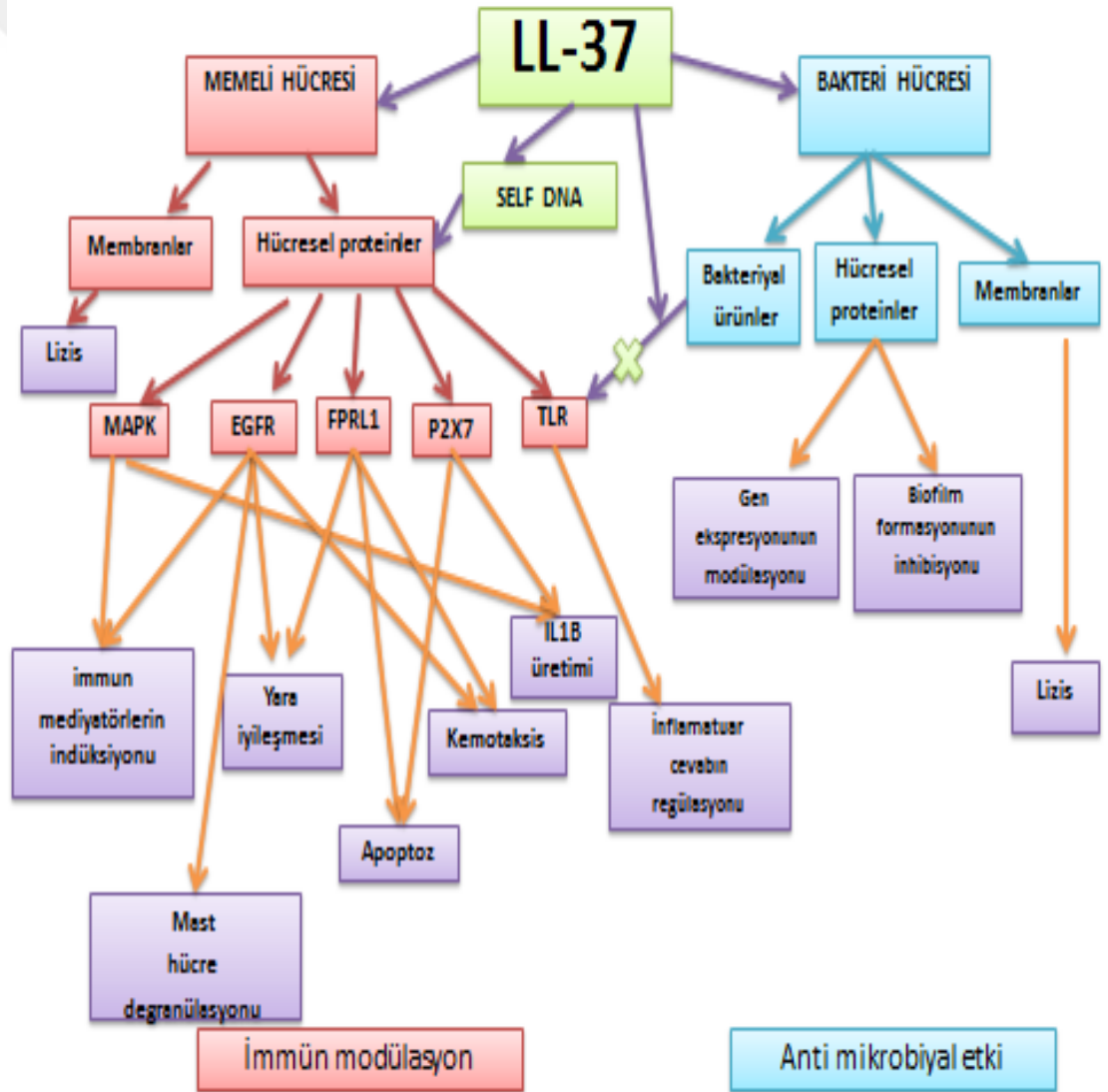
TLR sinyalizasyonundaki disregülasyon otoimmün hastalıkların patogenezinde yer almaktadır. (36)Direkt *Toll Like Reseptör* (TLR)9 aktivasyonu (37), TLR9 aktivasyonu ile proinflamator özellikteki TNF alpha, IL-1, IL6'nın artışı (38,41), TLR4 ve CD44 ilişkili sitokin salınımı inhibisyonu ile inflamasyonun baskılanması (37), enfekte bronş epitel hücrelerinde TLR3'ün stabilizasyonu ile viral enfeksiyona verilen yanıtın düzenlenmesi (36) LL-37'nin TLR sinyal yolları üzerinde gösterilebilmiş etkileridir.

TRAIL ilişkili apoptozun inhibisyonu LL-37'nin apoptoz üzerindeki etkilerinin gösterildiği mekanizmalardır. LL-37'nin hücre ölümü üzerindeki etkileri doz bağımlı olup, yüksek dozlarda hücre ölümüne sebep olmasına rağmen, düşük konsantrasyonda apoptozun engellenmesini sağlar (36).

Caspase 3 ve caspase 8 aktivasyonunun inhibisyonunu sağlar. COX2 miktarının artışı ile camptothecin ilişkili apoptozu regüle eder.

Proinflatuar IL-4, IL-12, TNF alpha ve IFNgama ya karşı antagonistik etki gösterir (36). Monosit, nötrofil ve CD4 + T lenfositler üzerinde direkt kemoatraktan etkisi vardır (40).

P2X7 reseptörü üzerinden ATP ve Ca²⁺ miktarını artırır. ATP bağımlı iyon kanallarının tetiklenmesi ile inflamasyonun düzenlenmesi ve apoptozun inhibisyonunu sağlar (33,42)(şekil 5).



Şekil 5. LL-37'nin immün modülatör ve anti mikrobiyal etkileri

G protein bağımlı Formyl-peptide receptor-like 1 (FPRL-1) ekspresyonu ile kemotaksisin, anjiyogenezis ve neovaskülerizasyonu düzenler (33,37,42).

Cathelicidinin monosit, nötrofil ve T lenfositler üzerinde kemotaktik etkileri gösterilmiştir, dentritik hücreler üzerinde ise etkileri yoktur (37).

IL-8(CXCL8) ve *monocyte-chemoattractant proteins 1-3 (MCP-1; MCP-3)* üretim ve salınımının artırılması ile mononükleer hücrelerin mikroorganizmalara karşı yanıtının düzenlenmesi sağlar (29,33,36,37).

Nötrofillerin direkt ve indirekt bakterisidal etkinliğinde önemli efektör görevleri olan Reaktif Oksijen Türlerinin (ROS) üretiminin düzenler (41).

Mast hücrelerinden histamin salınımının artırılması ile inflamasyon ve vasküler geçirgenliğin artırılmasında etki eder .

Lipopolisakkaritler ve lipoteikoik asite bağlanarak TNF alpha ve nitrik oksit gibi proinflamatuvar sitokin ve moleküllerin salınımını engelleyerek özellikle gram negatif sepsis ve septik şokta tedavi edici etkinliği vardır (37).

*Heparin-Binding Epidermal Growth Factors (HP-EGF)*2nin *Epidermal Growth Factors Receptor(EGFR)*'e bağlanması ve STAT1-STAT2 moleküllerinin aktivasyonu ile yara iyileşmesi ve reepitelizasyonun düzenlenmesini sağlar (33,36,37).

Mitogen-activated protein kinase (*MAPK*) ve *phosphoinositide 3-kinase (PI3K)* yollarının aktivasyonu ile yara iyileşmesini hızlandırır, düzenler (37).

Dermal fibroblastlara direk etki ile *Transforming Growth FactorB (TGF_B)* inhibisyonunun yarattığı antifibrinolitik etki veyara iyileşmesini düzenler (37).

Solunum yolu epitel hücrelerinde NF-kB sinyalizasyonu ile p65 ve p50 nin nükleer transkripsiyonunu arttırır (33).

LL-37 tümör dokusundaki mesengial kök hücrelerde immün modülatör ve proanjyogenik özellikteki IL6, IL10, MMP2, VEGF'in salınımını arttırır (33).

1.6.3.LL-37 ile Vitamin D İlişkisi

Vitamin D diyetle alınan veya UV ışınları ile ciltte sentezlenebilen yağda çözünür bir vitamindir. İnaktif olan D vitamini önce karaciğerde daha sonra böbrekte olmak üzere iki hidroksilasyon reaksiyonu sonrası aktif formuna döner ($1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$). Aktif vitamin D'nin üretimi vücuttaki kalsiyum, parathormon ve aktif vitamin D miktarı ile düzenlenir. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ vitamini etkilerini Vitamin D Reseptörü (VDR) ve Retinoid X Reseptörü üzerinden gösterirler.

Vitamin D'nin klasik görevleri arasında kalsiyum metabolizması, kemik metabolizması, özellikle kereratinositlerde olmakla birlikte hücre bölünmesi ve büyümesinin düzenlenmesi bulunmaktadır. VDR immun sistem dahil birçok dokuda tespit edilmiştir. Vitamin D' nin obezite, metobolik sendrom, diyabetes mellitus, çeşitli kanserler ve kardiyovasküler hastalıklardaki rolü bilinmektedir (43). T hücreleri de dahil olmak üzere immun sistemin tüm hücrelerinde VDR' nin tespit edilmesi vitamin D'yi önemli bir immün modülatör yapmaktadır. Vitamin D B ve T hücre proliferasyonunu engeller, proinflamatuvar Th 17, IL-17, IL-22, IL-1, IL-6, TNF alpha miktarını azaltır, antiinflamatuvar IL-10 miktarını arttırır.

Vitamin D eksikliği ya da defektinin multiple skleroz, sistemik lupus eritamatozus, romatoid artrit, otoimmün diyabet mellutis, inflamatuvar barsak

hastalığı gibi bir çok otoimmün hastalık patogenezinde rol aldığı gösterilmiştir (44,45,46).

İnsan myeloid hücreleri üzerinde yapılan deneysel bir çalışmada LL-37'nin üretiminden sorumlu olan CAMP geninin 1,25 (OH)₂D₃ ve türevlerinin etkisi altında transkripsiyonunun arttığı gösterilmiştir. Bu etki CAMP geni promoter bölgesindeki VDRE (*Vitamin D Response Element*)'nin VDR(*Vitamin D Reseptörü*)'ye bağlanması ile gerçekleşmektedir (47). 1,25(OH)₂D₃ insan keratinosit, nötrofil ve makrofajlarında antimikrobiyal peptit gen promotor bölgesindeki VDRE'nin aracılığı ile cathelicidin ve defensinin genlerinin transkripsiyonunu artırır (48).

Sağlıklı kontroller üzerinde yapılan bir başka çalışmada serum vitamin D düzeyi ile serum LL-37 düzeyi karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada vitamin D düzeyi 32 ng/ml'den az olan grupta vitamin D düzeyi ile LL-37 düzeyi arasında anlamlı ilişki bulunduğu görülmüştür (49).

Hemodiyaliz hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada hastaların serum LL-37 seviyeleri ölçülmüş ve serum LL-37 düzeyi düşük olan hastaların bir yıllık enfeksiyon ilişkili ölüm oranının daha yüksek olduğu görülmüştür. Hastalar arasında vitamin D düzeyi ile serum LL-37 düzeyi arasında düşük bir ilişki saptanmıştır (r:0.23, p: 0.53) (50).

Atopik dermatitli ve sağlıklı kontrollerin alındığı bir çalışmada 21 gün 4000 IU/ gün vitamin D replasmanı sonrası atopik dermatitli hasta grubunda serum cathelicidin seviyelerinde anlamlı artış olduğu gözlenmiştir (51).

Venöz bacak ülseri olan hastalar , pulmoner tüberkülozlu hastalar ve bronşiyolitisi obliteranslı hasta gruplarında yapılan farklı çalışmalarda serum 25(OH)D₃ düzeyi ile LL-37 arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (52,53,54,55)

1.6.4.LL-37'nin Hastalıklarla İlişkisi

LL-37'nin cilt, solunum sistemi, intestinal sistemi tutan otoimmün hastalıklarda, vaskülitler ve diğer inflamatuvar hastalıklardaki immün modülatör rolü invitro ve invivo ortamda yapılan çeşitli çalışmalarda incelenmiştir.

Atopik dermatitte düşük LL-37 seviyesinin bakteriyel ve viral cilt enfeksiyonlarına neden olduğu gösterilmiştir (37).

Psöriyazisde LL-37 üretimi fazladır. Psöriyazisde LL-37 kendi DNA fragmanları ile kompleks oluşturarak plazmositik dentritik hücrelerde TLR9 un aktivasyonuna ve IFN 1 in fazla üretimine neden olur. IFN 1 otoreaktif Th1 veya Th 17 hücrelerinin uyarımını ve sonuçta IFN gama, IL17, IL-21, IL22 nin aşırı üretimine yol açar. Bu sitokinler hasarlı hücrelerde LL-37'nin üretimini provake ederek, psoriyazisde inflamasyonun devamlılığına neden olmaktadır (29,36,37,56,57). Lande R. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre psöriyazisli hastalarda LL-37 psöriyatik T hücrelerin proliferasyonunu indükler. LL-37 etkisi altındaki T hücrelerinin miktarı hastalığın şiddeti ile pozitif korelasyon gösterir. LL-37 spesifik T hücreleri, belli HLA allelleri ile ilişkilidir(DR1, DR4,DR11). Psöriyazis patogenezinde hem CD4 hem CD8+ T hücrelerin varlığı bilinmesine rağmen bu çalışmada CD4+ hücreler daha fazla saptanmıştır. LL-37 spesifik T hücreleri perforin, granzim ve CXCL8 üretir. LL-37 spesifik T hücrelerden ve psöriyatik cilt hücrelerinden salınan IL-17, IL22, CLA, CCR6, CCR10 gibi

sitokinlerin miktarı remisyonunda azalır, IL-10 miktarı ise remisyon döneminde artar (56). Hwang Y. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada psöriyaziste hastalık aktivitesi ile serum LL-37 seviyesi ve ilişkili proinflamatuvar sitokin seviyelerinin arttığı fakat hastalık tipi ile (plak ve guttat psöriyazis) LL-37 arasında ilişki olmadığı gösterilmiştir (58).

Rosealı hastalarda hasarlı hücrelerde LL-37 ve anormal proteolitik parçalarının miktarının arttığı, bunun sonucu olarak aktivitesi artan dermal serin proteazların hastalıktaki inflamasyona neden olduğu gösterilmiştir (29).

Allerjik kontakt dermatitte dentritik hücreler ve makrofajlarda cathelicidin etkisi ile TLR4 ve CD44 ilişkili mediatör salınımının inhibe olduğu, TLR2 üzerinde inhibisyon gerçekleşmediği bunların sonucunda dentritik hücrelerin hücre zarı fonksiyonlarının değiştiği gözlenmiştir. (37).

Sistemik lupus eritamatozus (SLE) immun kompleks birikimi ve inflamasyon ilişkili organ hasarı ile giden heterojen bir hastalıktır. SLE patogenezinde tip 1 IFN yolağının etkileri bilinmektedir. LL-37 SLE’de TLR 9 aktivasyonu ile tip 1 IFN’nun artışına neden olur. Inflamazomlarda IL-1 VE IL-18 üretimini stimüle ederek inflamasyonun artışına katkı sağlar (36).

Sahebari M. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada SLEDAI indeksine göre SLE hastaları aktif ve inaktif olarak gruplandırılmış, ELİSA yöntemi ile serum LL-37 seviyeleri, pro-oksidan, antioksidan denge (PAB) ile hastalık ilişkisi araştırılmıştır. Serum LL-37 seviyeleri arasında hastalar ve sağlıklı kontroller arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Hastalık aktivasyonu ile serum LL-37 arasında negatif korelasyon olup, aktif lupuslularda LL-37 seviyesi daha düşüktür.

Aktif lupusta SLEDAI indeksi ile LL-37 arasında pozitif korelasyon LL-37 ile C3 seviyesi arasında negatif korelasyon vardır. Lupuslularda LL-37 ile PAB arasında pozitif korelasyon olup, PAB seviyesi sağlıklı kontrol ve hastalar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir (59).

Romatoid artritli hastalarda LL-37 seviyesi artar. LL-37'nin osteoblast apoptozu, periartiküler osteopeni, peridontal hastalıklar ile ilişkisi gösterilmiştir (36).

Ateroskleroz inflamatuvar bir hastalıktır. Aterosklerotik plak oluşumunda LL-37 artışının neden olduğu endotelial hücre aktivasyonu ve tip 1 IFN yolağının stimule ettiği inflamasyonun rolü olduğu gösterilmiştir (36).

Kistik fibrozisli fare modellerinde hücre içi LL-37 sentezinin arttırılmasının hücrenin enfeksiyonlar ile başedebilme yeteneğinin arttırdığı gösterilmiştir (29).

Behçet hastalığı genetik ve çevresel faktörler etkisinde ortaya çıkan, çoklu organ tutulumu ile giden, patogenezi tam olarak açıklanamamış inflamatuvar bir hastalıktır. Kahraman T. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada serum LL-37 seviyesinin aktif Behçet Hastalarında inaktif olanlara göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. LL-37 ile ilişkili olarak ekstraselüler vezikül (eksazom) ve bu veziküllerden salınan IL1 β , IFN α , IL-6 ve IL-10 miktarının arttığı gösterilmiştir. Bu sitokin artışının hastalıktaki inflamasyonu arttırdığı düşünülmektedir. Aynı çalışmada LL-37 ile inkübe edilen sağlıklı kontrol eksazomlarının sitokin salınımı ile yanıt verdiği görülmüştür (60).

Tufan A. ve arkadaşlarının Ailevi Akdeniz Ateşi (FMF) hastalarında yaptığı çalışmada AMP'lerin hastalık aktivitesi ve akut faz reaktanları ile korelasyon göstermemesine rağmen, FMF tanısı olan hastalarda sağlıklı kontrollere göre LL-37 ve defensin seviyesinin yüksek olduğu ve 6 aylık izlem periyodunda bu AMP seviyelerinin kolşisin tedavisinden ve atak dönemlerinden bağımsız olarak yüksek kaldığı görülmüştür (61).

İnflamatuvar barsak hastalıklarında AMP lerin etkileri üzerine yapılmış çalışmalar vardır. Crohn Hastalığı (CH) ve Ülseratif Kolitte (ÜK) LL-37 seviyeleri anlamlı yüksek bulunmuştur. Tran D. Ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CH ve UK olan hastalar 2 gruba ayrılmış, hastalık aktivite indeksleri, remisyon skorları ile serum LL-37 düzeyleri ve CRP arasındaki ilişki incelenmiştir. UK'de inflamatuvar belirteç olarak CRP veya LL-37'nin tek başına kullanılmasındansa birlikte kullanılmalarının Mayo Endoskopik Aktivite Skorlaması ile daha korele olduğu gösterilmiştir. Başlangıçta ciddi-ağır hastalığı olan CH'lerin 6-18 ay sonraki hastalık değerlendirilmesinde başlangıçta LL-37 seviyesi yüksek bulunanların prognozunun daha iyi olduğu, düşük LL-37 seviyesinin intestinal striktür ile ilişkili olduğu görülmüştür (62).

ANCA (*Anti Nötrofilik Sitoplazmik Antikor*) ilişkili vaskülitler , küçük-orta boy damarların tutulduğu nekrotizan inflamasyon ile ilerleyen çoklu organ tutulumları olan hastalıklardır. Yapılan çalışmalarda ANCA ilişkili vaskülitlerde serum LL-37 ve IFN düzeylerinin arttığı, LL-37 seviyesi ile hastalık aktivasyonu ve kresentrik glomerulonefrit varlığı arasında ilişki olduğu gösterilmiştir. (63,64,65)

2.AMAÇ

Literatürde Hashimoto tiroiditi ile serum cathelicidin düzeyi arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışmada Hashimoto tiroiditli hastalarda antimikrobial peptilerden olan cathelicidin ile hastalık ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmanın ilk hipotezi olarak HT'li hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre immün modülatör özellikteki LL-37'nin daha yüksek saptanması öngörülmüştür. İkincil olarak tiroid otoantikor düzeyinin artışı ile serum cathelicidin düzeyinin artışının pozitif korele olması beklenmektedir.

Çalışmada son olarak LL-37 düzeyi ile vitamin D arasındaki ilişkinin gözden geçirilmesi planlanmıştır.

3.MATERYAL VE METOD

Çalışma Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bölümünde 2018 yılı Ocak-Nisan ayları arasında çalışmayı kabul eden Hashimoto Tiroiditli hastalar üzerinde yapıldı. Çalışmaya yeni tanı almış veya takipli, levotiroksin sodyum tedavisi alan veya almayan , ötiroid, subklinik hipotiroid veya aşikar hipotiroid tüm hasta gruplarının alınması planlandı.

Çalışmaya başlamadan önce Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik kurulundan izin alındı. Çalışmayı kabul eden Hashimoto Tiroiditli hastaların rutin viziteler sırasında demografik verileri ve klinik özellikleri rutin formlara işlendi. Kontrol grubu olarak yaş ve cinsiyet eşlenik sağlıklı bireyler seçildi. Tüm bireyler çalışmanın amacı, uygulanacak testler ve kan örneğinin elde edilmesi, olası komplikasyonlar hakkında bilgilendirildi. Yazılı onamları alındı.

Hastaların Hashimoto tiroiditi tanısı anti TPO ve anti TG değerlerine, tiroid fonksiyon testlerine ve eski tiroid ultrasonografi kayıtlarına bakılarak teyit edildi. Çalışmaya alınan 48 Hashimoto tiroiditli hastadan ve 40 sağlıklı kontrol grubu bireylerinden bir defaya mahsus sarı kapaklı kan tüpüne 9 ml kan alınarak serum örnekleri toplandı. Çalışılncaya kadar -80°C’de saklandı.

3.1. Çalışmaya alınma ve dışlanma kriterleri

Çalışmaya alınma kriterleri

Gönüllüler İçin Araştırmaya Dahil Olma Kriterleri (İçleme Kriterleri)

1.Çalışmaya katılmayı kabul eden ve yazılı onam formu alınan 18-65 yaş aralığında sağlıklı gönüllüler

2.Çalışmaya katılmayı kabul eden veyazılı onam formu alınan Hashimoto tiroiditi tanı kriterlerini karşılayan levotiroksin sodyum kullanan ve kullanmayan, ötiroid, subkilink hipotiroid ve aşikar hipotiroid 18-65 yaş aralığında hasta gönüllüler

Gönüllüleri Dışlama Kriterleri:

1.Hasta gönüllülerden; otoimmün ve romatolojik hastalığı olanlar(psöriyazis, atopik dermatit, rosea, SLE; Sjögren sendromu, sistemik skleroz, romatoid artrit, FMF, ANCA ilişkili vaskülitler, gibi) malignitesi, akut veya kronik enfeksiyonu, immun yetmezliği, belirgin karaciğer ve böbrek fonksiyon bozukluğu, diyabet, HT dışı diğer tiroid hastalıkları, hipofizer hastalıklar gibi ek endokrinolojik hastalığı olanlar, gebeliği olanlar

2.Sağlıklı gönüllülerden tiroid hastalığı olanlar, akut veya kronik sistemik otoimmün, romatolojik, endokrinolojik hastalığı, malignitesi, akut veya kronik enfeksiyonu, immun yetmezliği, belirgin karaciğer ve böbrek fonksiyon bozukluğu olanlar, gebeliği olanlar

3.Çalışmayı kabul etmeme, bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu imzalamama

3.2 Kullanılan gereç ve yöntem

3.2.1 Klinik veriler

Çalışmaya başlamadan önce belirlenen standart protokole göre her hasta ile görüşüldü ve fizik muayeneleri yapıldı. Hastaların vücut kitle endeksi, hastalık geçmişi, ilaç kullanım öyküsü gibi klinik verileri ayrıntılı bir şekilde kaydedildi.

3.2.2 Laboratuvar verileri

Hastaların kontrolünde laboratuvar verileri hastane sisteminden kaydedildi. Kontrollerde TSH (0,38-5,33 mIU/mL, serbestT3 (2,6-4,37pg/ml), serbestT4 (0,61-1,12ng/dl), Anti TPO (0-9 IU/ml), Anti Tg (0-4 IU/ml), 25(OH) Vitamin D₃ (30-100 ug/l) düzeyleri kaydedildi.

3.2.3 Kan örneklerinin eldesi, serum cathelicidin düzeyinin çalışılması

Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubu bireylerden alınan kan örnekleri serum ayırıcı sarı kapaklı tüplere alındı. 2 saat oda sıcaklığında pıhtılaşma süresini bekletildi. Daha sonra 1000 ×g’de 15 dakika santrifüj edildi, santrifüj sonrası elde edilen serum örnekleri -80°C’de saklandı. Tüm numunelerin toplanmasından sonra test için serum numuneleri numune seyreltici (1:200) ile seyreltildi. Numuneler Cloud-Clone Corp. marka SEC419Hu kodlu Lot: L180109452 numaralı ‘Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Kit For Cathelicidin Antimicrobial Peptide (CAMP)’ ile çalışıldı. Çalışma için insan endojen cathelicidin antimikrobiyal peptit (CAMP)’ in serumda, plazmada, hücre kültüründe ve doku homojenatında tespitini sağlayan kit ve kantitatif sandviç enzim immünesey tekniği kullanıldı. Çalışmada kullanılacak mikro-tabak;

CAMP'a özgün antikorlar ile kaplandı. Standartlar ve numuneler kuyucuklara pipetlendi ve ortamda bulunan CAMP kuyucuklardaki sabitlenmiş antikorlar tarafından bağlandı. Bağlanmamış maddeler ortamdan uzaklaştırıldıktan sonra CAMP'a özgün biyotin eşleştirilmiş antikor, kuyucuklara eklendi. Yıkama yapıldıktan sonra avidin eşleştirilmiş yabanturpu peroksidaz (HRP) enzimi kuyucuklara eklendi. Ortamda herhangi bağlanmamış avidin-enzim reaktifi kalıntısını temizlemek adına yıkama yapıldı, ardından substrat çözeltisi kuyucuklara eklendi ve ilk basamaktaki antikor tarafından bağlanmış CAMP miktarı ile orantılı olacak şekilde renk değişimi izlendi. Renk oluşumu durduruldu ve rengin yoğunluğu ölçüldü. Tespit aralığı 125 pg/ml – 8000 pg/ml'di.

3.2.3 İstatiksel Yöntemler

Araştırma verilerinin istatistiksel analizleri için SPSS 22.0 (SPSS Inc, Chicago, ABD) istatistik paket programı kullanılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler; kısmında kategorik değişkenler sayı, yüzde verilerek, sürekli değişkenler ise normal dağılan veriler için ortalama $\pm$ standart sapma ve normal dağılmayan veriler için ortanca (en küçük- en büyük değer) ile sunulmuştur. Bağımsız gruplar arasında kategorik değişkenler için yapılan karşılaştırma analizinde Pearson ki-kare testi, Fisher Ki-kare testi ve Continuity Correction ki-kare testi kullanılmıştır. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk testleri) kullanılarak değerlendirilmiştir. Yapılan bu analiz sonucu bu çalışmadaki sürekli değişkenlerin normal dağılıma uymadığı saptanmıştır. Normal dağılıma uymayan verilerde yapılan ikili grup karşılaştırma analizlerinde Mann-Whitney U testi

kullanılmıştır. LL37'nin bazı demografik verilerle ve laboratuvar sonuçlarıyla ile ilişkisini incelemek için Spearman Rho korelasyon analizi kullanılmıştır.

ROC (Receiver Operating Characteristics) eğrisi analizi: LL-37 değerlerinin HT tanılı hastaları ayırt etmede iyi bir sınır değere (cut-off) sahip olup olmadığını belirlemek amacıyla ROC analizi yapılmıştır. Anlamlı bulunan sınır değerlerin sensitivite, spesifisite, pozitif prediktif ve negatif prediktif değerleri hesaplanmıştır.

Univariate binary logistic regresyon analizi; Tek değişkenli binary lojistik regresyon analizi ile LL-37'nin HT üzerine etkisi incelenmiştir.

Bu çalışmada p değerinin 0,05'in altında olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4.BULGULAR

4.1 Demografik Özellikler ve Laboratuvar Bulguları

Çalışmaya alınan olguların 40'ı (%45.4) kontrol, 48'i (%54.5) HT 'lidir. HT'li olguların 44'ü kadın, 4'ü erkek olup, K/E oranı 11/1 olarak bulunmuştur. Gruplar arasında cinsiyet, yaş ve BMI açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo5) .

Tablo 5. Kontrol ve HT olgularının cinsiyet, yaş, BMI verileri

Demografik veriler	Kontrol N:40(%45.4)	HT N: 48 (%54.5)	P
Cinsiyet N(%) Kadın Erkek	36 (%90) 4(%10)	44 (%91.7) 4 (%8.3)	1,000 ¹
Yaş Median (Min-Maks)	32,500 (19-56)	32,000(18-59)	0,913 ²
BMI Median (Min-Maks)	23,6(16,3-31)	23,8(18,5-40,5)	0,304 ²
BMI grup BMI<25 BMI≥25	23(%57,5) 17(%42,5)	27(%56,3) 21(%43,7)	1,000 ³
¹ fisher ki kare testi ² Mann whitney U testi ³ Continuity correction testi			

Kontrol grubunun TSH ortalama değeri 1,60 mIU/mL (0,75-3,70) , HT grubunun TSH ortalama değeri 3,31 mIU/mL (0,56-30,60) olup, HT grubunda TSH anlamlı yüksek bulunmuştur (p<**0,001**).

Kontrollerin Anti TG ortalama değeri 0,90 IU/ml (0,3-3,4) , anti TPO ortalama değeri 0,50 IU/ml'dir (0,1-5,3). HT 'lilerin Anti TG ortalama değeri 2,80

IU/ml (0,9-2262,0) , Anti TPO ortanca değeri 391,95 IU/ml (23,7-5222) olup HT grubunda Anti TG ($p < 0,001$) ve Anti TPO ($p < 0,001$) anlamlı yüksek bulunmuştur.

Kontrol ve HT grubunun sT3 ($p:0,289$) ve sT4 ($p:0,471$) değerleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Kontrol grubunda 25 (OH)D₃ düzeyi ortanca değeri 16,50 ug/l (10-52) , HT grubunda 14 ug/l (10-104) olup, 25 (OH)D₃ düzeyi HT grubunda anlamlı düşüktür ($p = 0,01$) (Tablo6)

Tablo 6. Kontrol ve HT olgularının tiroid fonksiyon testleri, tiroid otoantikörleri ve 25 OH D₃ düzeyleri

Laboratuvar verileri	Kontrol N:40(%45.4)	HT N: 48 (%54.5)	P
TSH (0,38-5,33mIU/mL) Median (Min-Maks)	1,60 (0,75-3,70)	3,31 (0,56-30,60)	$<0,001^2$
T4(0,61-1,12ng/dl) Median (Min-Maks)	0,86 (0,62-1,12)	0,90 (0,61-1,08)	0,471 ²
T3(2,6-4,37pg/ml) Median (Min-Maks)	3,33 (2,77-4,20)	3,26 (2,61-4,10)	0,289 ¹
Anti TG (0-4 IU/ml) Median (Min-Maks)	0,90 (0,3-3,4)	2,80 (0,9-2262,0)	$<0,001^2$
Anti TPO(0-9 IU/ml) Median (Min-Maks)	0,50 (0,1-5,3)	391,95 (23,7-5222,0)	$<0,001^2$
25 OH D₃ (30-100 ug/l) Median (Min-Maks)	16,50 (10-52)	14 (10-104)	$0,010^2$
¹ Continuity correction testi ² Mann whitney U testi			

4.2 Serum LL-37 düzeyinin, HT varlığı ve tiroid otoantikörleri ile ilişkisi

Çalışmadaki en düşük LL-37 düzeyi 292,77 pg/ml , en yüksek LL-37 düzeyi 1534,65 pg/ml olarak ölçülmüştür. **Serum LL-37 düzeyi ortanca değeri kontrol grubunda 577,08 pg/ml’dir (292,77-1474,43). HT grubunda serum LL-37 düzeyi 853,53 pg/ml (528,42-1534,65) olarak ölçülmüş olup, HT grubunda anlamlı yüksek bulunmuştur. ($p<0,001$) (Tablo 7) .**

Tablo 7. Kontrol ve HT’li olgularda LL-37 düzeyinin karşılaştırılması

N(%)		LL-37 pg/ml Median (Min-Maks)	P
Kontrol	40(% 45,4)	577,08 (292,77-1474,43)	<0,001 ¹
HT	48 (% 54,5)	853,53 (528,42-1534,65)	
¹ Mann whitney U testi			

Çalışmaya alınan Hashimoto tiroiditli hastaların %27’si (n:13) yeni tanı (son 1 yıl içinde tanı almış) , %73 ‘ü (n:35) takipli hastalardır. Hashimoto tiroiditli hastaların ortanca hastalık yaşı 3,5 yıldır (minimum:1 maksimum 20).

Çalışmada aşikar hipotiroid , subklinik veya aşikar hipertiroid hasta bulunmamaktadır. Çalışmaya alınan HT’li olguların tamamının T4 ve T3 değerleri normal aralıktadır. Hastalar TSH sınır değeri 4 kabul edilerek ötiroid ve subklinik hipotiroid olarak 2 gruba ayrılmıştır.

Hastaların 32 (%66,67)'sinin ötiroid, 16 (%33,33)'sının subklinik hipotiroid olduğu görülmüştür.

Çalışmadaki tüm HT'li hastaların %73'ünün(n:35) levotiroksin sodyum (LT4) tedavisi aldığı, %27 sinin (n:13) tedavi almadığı saptanmıştır.

Tedavi alanların %74'ü (n:26) ötiroid, %26'sı (n:9) subklinik hipotiroid olarak bulunmuştur. Ortanca levotiroksin sodyum dozu 75'dir (minimum 25, maksimum 200) .

Tedavi almayanların %46'sı (n:6) ötiroid, %54'ü (n:7) subklinik hipotiroid olarak bulunmuştur. Ötiroid ve subklinik hipotiroid HT'li gruplar arasında immünolojik belirteçlerin düzeyleri karşılaştırılmıştır. Ötiroid grubun ortanca anti TPO düzeyi 295,60 IU/ml (23,7-4976,0) , anti TG düzeyi 2,75 IU/ml (0,9-1356,6), LL-37 düzeyi 857,94 pg/ml (557,62-1534,65)'dir. Subklinik hipotiroid grubunun ortanca anti TPO düzeyi 462,90 IU/ml (79,6-5222,0), anti TG düzeyi 2,80 IU/ml (0,9-2262,0), LL-37 düzeyi 835,22 pg/ml (528,42-1362,97)'dir.

Ötiroid ve subklinik hipotiroid HT'li gruplar arasında anti TPO ($p=0,238$), anti TG ($p= 0,373$) ve LL-37 ($p=0,555$) değerleri arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmamıştır (Tablo 8).

Tablo 8. Ötiroid ve Subklinik Hipotiroid HT olgularının tiroid otoantikor ve LL-37 seviyelerinin karşılaştırılması

İmmünolojik Belirteç	TSH≤4 mIU/mL N:32(%66,67)	TSH>4 mIU/ML N:16(%33,33)	P
Anti TPO Median (Min-Maks)	295,60(23,7-4976,0)	462,90(79,6-5222,0)	0,238 ¹
Anti TG IU/ml Median (Min-Maks)	2,75(0,9-1356,6)	2,80(0,9-2262,0)	0,373 ¹
LL-37 Median (Min-Maks)	857,94(557,62-1534,65)	835,22(528,42-1362,97)	0,555 ¹
¹ Mann whitney u testi			

Çalışmaya alınan HT'li hastaların %58,33(n:28)' inde Anti TG negatif, %41,67(n:20)'inde Anti TG pozitif bulunmuştur. Hashimoto Tiroiditli hastalar Anti TG varlığına göre iki gruba ayrılıp gruplar arasında LL-37 düzeyleri karşılaştırılmış, anlamlı farklılık saptanmamıştır (p=0,250) (Tablo 9).

Hashimoto Tiroiditli hastalar istatistiksel olarak belirlenen ortalanca Anti TPO değerine göre (391,95 pg/ml) iki gruba ayrılmış ve LL-37 düzeyi incelenmiş, gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (P=0,091) (Tablo 9).

Hashimoto Tiroiditli hastalar 20ug/l sınır değer kabul edilerek 25 (OH) D₃ eksikliği olanlar ve olmayanlar olarak gruplandırıldığında iki grup arasında LL-37 düzeyleri arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir(p= 0,8) (tablo 9).

Tablo 9. Serum LL-37 düzeyinin, HT’li olgularda Anti Tg varlığı, anti TPO ve vitamin D düzeyi ile karşılaştırılması

	N(%)	LL-37 pg/ml Median (Min-Maks)	P
Anti TG negatif HT	28 (%58,33)	834,36 (528,42-1362,97)	0,250 ¹
Anti TG pozitif HT	20(%41,67)	857,94 (563,32-1534,65)	
Anti TPO≤391,95 IU/ml HT	24 (%50)	797,86 (528,42-1472,29)	0,091 ¹
Anti TPO>391,95 IU/ml HT	24(%50)	901,47 (528,42-1534,65)	
25OH D3<20 ug/l HT	38(%79)	830,84(528,42-1534,65)	0,800 ¹
25OH D3≥20 ug/l HT	10(%21)	861,46(612,51-1362,97)	
¹ Mann whitney U testi			

LL-37 düzeyi anti TG negatif Hashimoto Tiroiditlilerde kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p=0,001$) (Tablo 10) .

Tablo 10. Anti Tg negatif HT'liler ile kontrol grubu arasında LL-37 düzeyinin karşılaştırılması

Kontrol	40(%59)	577,08 (292,77-1474,43)	p<0,001¹
Anti TG negatif HT	28(%41)	834,36 (528,42-1362,97)	
¹ Mann whitney U testi			

4.3Korelasyon analizi

Hashimoto Tiroiditli grupta spearman's rho korelasyon testi ile LL-37 düzeyi ile demografik ve laboratuvar verileri arasındaki ilişki incelenmiş olup, LL-37 düzeyinin hastaların yaşı , hastalık yaşı, BMI, TSH, T4,T3, Anti TG,

Anti TPO, 25(OH)D₃ düzeyi ve LT4 tedavisi alan hastalarda tedavi dozu ile ilişkisi olmadığı görülmüştür (tablo11).

Tablo 11. Hashimoto Tiroiditli hastaların demografik verileri ve laboratuvar verileri ile LL-37 düzeyi arasındaki ilişki

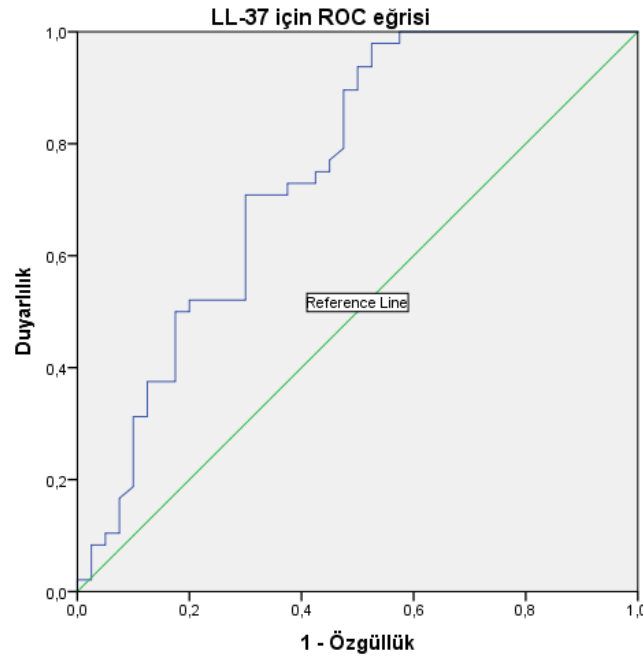
Demografik veriler ve Laboratuvar verileri	LL-37	
	Rho ¹	P ¹
Yaş	-0,043	0,774
Hastalık yaşı	-0,112	0,448
BMI	0,003	0,985
TSH	0,032	0,829
T4	0,160	0,276
T3	-0,001	0,997
Anti TG	0,177	0,228
Anti TPO	0,228	0,120
25 OH D ₃	0,249	0,088
LT4 tedavisi	0,105	0,476
¹ Spearman's Rho Korelasyon Testi		

4.4 ROC analizi

4.4.1 Hashimoto tiroiditli hastalarda LL-37'nin tanısal değeri

LL-37 değerinin HT tanılı hastaları ayırt etmede iyi bir sınır değeri (cut-off) olup olmadığını belirlemek amacıyla ROC analizi yapılmıştır. Elde edilen sonuca göre eğri altında kalan alanın (AUC) istatistiksel olarak anlamlı olduğu ($p < 0,001$) belirlenmiştir. **ROC analizi ile yapılan değerlendirme sonucunda LL-37'nin HT'yi öngörmeye tanısal değeri olduğu görülmüştür (AUC_{LL37} : 0,748; %95GA=0,642-0,85; $p<0,001$) (Şekil 6).**

Şekil 6. Çalışmaya dahil edilen tüm olguların ($n=88$) LL-37 değerlerine ait ROC analizi eğrisi



Bu değer için AUC (area under the curve), %95 güven aralığı ve P değeri ve sınır değerler Tablo 12'de sunulmuştur.

Tablo 12. Çalışmaya alınan tüm olgularda (n=88) LL-37 için AUC (area under the curve), %95 Güven Aralığı ve P değeri

	AUC	P değeri	%95 GA	
			Alt sınır	Üst sınır
LL-37	0,748	<0,001	0,642	0,855

ROC analizi sonucuna göre LL-37' nin HT'yi öngörmeye tanısal sınır değerinin yaklaşık 714pg/ml (714,144 pg/ml) (duyarlılık % 71 özgüllük %70) olarak belirlenmiştir (Tablo13).

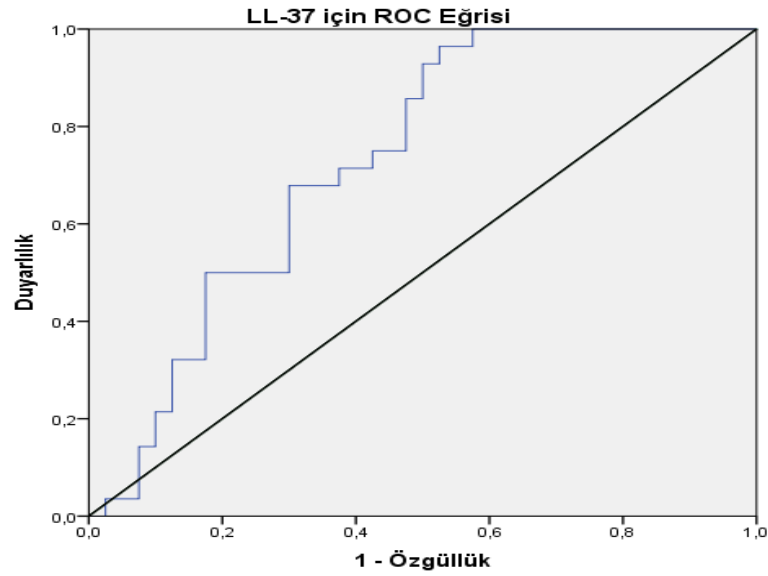
Tablo 13. Çalışmaya alınan tüm olgularda (n=88) LL-37' nin HT tanısını öngörmeye ROC analizi ile elde edilen sınır değerin özellikleri

Cut-off (Sınır değeri)	Sensitivite (Duyarlılık)(%)	Spesifisite (Özgüllük)(%)	Pozitif Prediktif Değer (%)	Negatif Prediktif Değer (%)
≥714 pg/ml	70,1	70	73,9	66,7

4.4.2Anti TG negatif Hashimoto Tiroiditli hastalarda LL-37 tanısal değeri

LL-37 değerinin Anti Tg negatif kişiler içerisinde HT tanılı hastaları ayırt etmede iyi bir sınır değeri (cut-off) olup olmadığını belirlemek amacıyla yapılan ROC analizi sonuca göre eğri altında kalan alanın(AUC) istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir (p = 0,001).

Şekil 7.Anti TG negatif 68 kişinin LL-37 değerlerine ait ROC analizi eğrisi



ROC analizi ile yapılan değerlendirme sonucunda LL-37'nin Anti Tg negatif kişiler içerisinde HT'yi öngörmede tanısal değeri olduğu görülmüştür. (AUC_{L37} : 0,731; %95GA=0,613-0,849; $p=0,001$) Bu değer için AUC (area under the curve), %95 güven aralığı ve P değerleri ve sınır değerler tablo 14'de sunulmuştur.

Tablo 14. Anti TG negatif olgularda LL-37 için AUC (area under the curve), %95 Güven Aralığı ve P değeri

	AUC	P değeri	%95 GA	
			Alt sınır	Üst sınır
LL-37	0,731	0,001	0,613	0,849

ROC analizi sonucuna göre anti TG negatif kişiler içerisinde LL-37'nin HT'yi öngörmeye tanısal sınır değeri 714pg/ml (duyarlılık % 68 özgüllük %70)olarak belirlenmiştir(Tablo 15).

Tablo 15. Anti TG negatif olgularda LL-37'nin HT tanısını öngörmeye ROC analizi ile elde edilen sınır değerin özellikleri

Cut-off (Sınır değerler)	Sensitivite (Duyarlılık)(%)	Spesifisite (Özgüllük)(%)	Pozitif Prediktif Değer(%)	Negatif Prediktif Değer(%)
≥714 pg/ml	68	70	67,9	70

ROC analizi ile elde edilen LL-37 sınır değeri kullanılarak çalışmaya dahil edilen tüm olgular (n: 88) yeniden gruplandırıldı. Bu gruplar incelendiğinde LL-37 değeri 714 pg/ml ve altında olanlarda (n:42) HT görülme sıklığı %33,3 (n:14) LL-37 değeri 714 pg/ml ve üzerinde olanların (n:46) HT görülme sıklığı %73,9 (n:34) saptandı.

LL-37 değeri 714 pg/ml ve üzerinde olan kişilerde LL-37 714 pg/ml'nin altında olanlara göre HT riskinin yaklaşık 5,6 kat fazla olduğu tespit edildi (OR=5,66; % 95 GA=2,26-14,20; p<0,001)(Tablo 16).

Tablo 16. ROC analizinde belirlenen sınır LL-37 değerine göre HT riski belirlenmesi

LL-37 grup N=88	HT N*	HT (%)	OR (%95 GA) **	P Değeri
<714 pg/ml	14/42	33,3	5,66 (2,26-14,20)	0,001
≥714 pg/ml	34/46	73,9		
* HTtanılı hasta sayısı/Tüm hastaların sayısı ** OR: Tahmini rölatif risk				

5. TARTIŞMA

Otoimmün tiroid hastalıkları spektrumunda olan Hashimoto Tiroiditinin literatürde tanı yaşı genellikle 30-50 yaş olarak belirtilmiştir. Kadın /erkek oranı 10-14: 1'dir (7). Bizim çalışmamızdaki hastalar 18-59 yaş aralığındadır. Çalışmamızdaki olguların kadın /erkek oranı 11:1 olup, literatür ile uyumlu bulunmuştur.

HT patogenezinde etkin olduğu bilinen çevresel faktörler arasında hijyen faktörü, iyot alımının fazlalığı, selenyum eksikliği, vitamin D eksikliği, ilaçlar, enfeksiyonlar, boyun bölgesine radyoterapi uygulanması, nükleer reaktörlerden öldürücü olmayan dozda radyasyon yayılımı, çevresel toksinlerin, petrokimyasal toksinlerin etkisi gösterilmiştir (4,6,9). Çalışmamızda literatür ile uyumlu olarak serum 25(OH) D₃ düzeyi HT'li grupta kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulunmuştur. Vitamin D eksikliği proinflamatuvar yolakların aktivasyonu, anti inflamatuvar yolakların baskılanmasına yol açarak HT gibi daha birçok otoimmün hastalığın (SLE, RA, MS) patogenezinde rol almaktadır (44).

Anti TPO HT'li hastaların %90'ına yakınında bulunur (9). Anti Tg'nin HT'lilerde görülme sıklığı daha düşük olup %60-80 civarındadır (9,16). Çalışmamızda Anti TPO pozitifliği %100 Anti TG pozitifliği %41,67 olarak saptanmıştır. Literatürde anti Tg pozitifliği ile hastalık yaşı arasında negatif ilişki olduğunu gösteren çalışmalar olup (66,67), çalışmamızda yeni tanı almış Hashimoto tiroiditli hasta sayısının az olmasının Anti Tg'nin pozitif saptanma olasılığını azalttığı düşünülmüştür.

Tiroid antikorlarının tiroid bezindeki inflamasyon ve hastalık aktivasyonu ile ilişkili olduğu bilinmekle birlikte tiroid otoantikör titresi ile hipotiroidi derinliği arasında net bir ilişki yoktur (7). Çalışmamızda da ötiroid ve subklinik hipotiroid hasta grupları arasında Anti TPO ve Anti Tg titreleri açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Çalışmamız Hashimoto Tiroiditi ile LL-37 düzeyinin ilişkisini inceleyen ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Çalışmamızda anti mikrobiyal ve immunmodulator özellikleri olduğu bilinen insan cathelicidini LL-37 Hashimoto tiroiditli grupta kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p<0,001$).

LL-37'nin immün modulator etkilerini antimikrobial etkilerine göre daha düşük konsantrasyonlarda iken gerçekleştirir (36,41). Çalışmada kullanılan LL-37 ELİSA kitinin tespit aralığı 125 pg/ml – 8000 pg/ml'dir. Hashimoto Tiroiditli grubun LL-37 değerleri en düşük 528,42 pg/ml , en yüksek 1534,65 pg/ml saptanmış olup ortanca değeri 853,53 pg/ml'dir. Bulunan ortanca değer kit aralığının ilk 1/3'ünde yer almaktadır. Literatürde psöriyazis, crohn hastalığı gibi otoimmün hastalıklarda serum LL-37 düzeyinin araştırıldığı çalışmalarda da LL-37 düzeyinin çalışılan kit referans aralığına göre ilk 1/3'de kaldığı görülmüştür (58,62).

Serum 25(OH) D₃ düzeyi ile serum LL-37 düzeyinin karşılaştırıldığı bir çalışmada 25(OH) D₃ düzeyi 32 ng /ml'den az olan grupta vitamin D düzeyi ile LL-37 düzeyi arasında anlamlı ilişki bulunduğu görülmüştür (49). Ancak yapılan bazı çalışmalarda LL-37 ile 25(OH) D₃ arasında ilişki saptanmamış olup (54,55);

bizim çalışmamızda da Hashimoto tiroiditli hastalarda LL-37 ile vitamin D düzeyi arasında korelasyon izlenmemiştir. Vitamin D eksikliği olan ve olmayan HT'li gruplar arasında da LL-37 düzeyleri arasında fark bulunmamıştır.

Literatürde ve bizim çalışmamızda da gösterildiği üzere tiroid otoantikör titresi ile tiroid hormon düzeyi arasında kanıtlanabilmiş net bir ilişki yoktur (7). Çalışmamızda araştırılan immün modülatör bir belirteç olan LL-37 de tiroid otoantikörleri ile benzer davranış sergilemiştir. Ötiroid ve subklinik hipotiroid HT'li hastalarda serum LL-37 düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır.

Literatürde yapılan rat çalışmalarında serum LL-37 düzeyini etkileyen faktörler arasında yaş, cinsiyet gösterilmesine rağmen (37), çalışmaya alınan HT'li olgularda LL-37 düzeyi ile yaş, hastalık yaşı, BMI, tiroid hormon durumu, tiroid otoantikörleri, tedavi dozu, vitamin D düzeyi arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır.

Literatürde endokrin hastalıklarda LL-37 düzeyi ile ilgili yapılan çalışma çok azdır. Meguro S. ve arkadaşlarının 135 adet Tip2 DM'li hastada yaptığı çalışmada hastaların LL-37 seviyeleri ile hs-CRP arasında anlamlı pozitif korelasyon, HDL kolesterol seviyeleri ile negatif anlamlı korelasyon saptanmıştır. LL-37 ile yaş, hastalık yılı, vitamin D düzeyi, HbA1c, serum kreatinini ve GFR, nefropati ve retinopati klinik evreleri arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır (68). Uruska A. ve arkadaşlarının tip 1 DM li hastalarda yaptığı çalışmada; çalışmaya alınan 62 olguda çoklu regresyon modeline göre cinsiyet, bel kalça oranı, serum total kolesterol seviyesi ve TSH'dan bağımsız olarak yüksek serum

LL-37 düzeyi mikroanjiyopatinin varlığı ile ilişkili bulunmuştur (69). Hashimoto tiroiditi ile ilgili çalışma yapılmamış olup sadece antimikrobial peptitlerin tiroid kanseri ve tedavisi üzerine etkilerini inceleyen deneysel çalışmalar bulunmaktadır. (70,71).

Literatürdeki bir çok çalışmada otoimmün hastalıkların patogenezinde rolü olduğu gösterilmiş inflamatuvar belirteçler ve sitokinlerin OTH üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Öncül ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada serum prokalsitonin seviyesi HT'li hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuş, prokalsitonin seviyeleri HT'li hastalarda Anti Tg ve Anti TPO ile anlamlı pozitif korelasyon göstermiştir (72). Th17 hücrelerinden salınan ve kronik inflamatuvar süreçte rolü olan IL-22 HT'de anti TPO titresini ile pozitif korelasyon göstermiştir (4,13). Yeni tanı almış, tedavi edilmemiş HT'li hastalarda CD4+ CD25+ Treg hücrelerinin konsantrasyonu ile anti TPO titresini arasında negatif korelasyon saptanmıştır (10). Çalışmamızda araştırılan LL-37 Hashimoto Tiroiditi ile yüksek ilişkili bulunmuştur($p<0.001$). Fakat literatürde bakılan bazı inflamatuvar belirteçler gibi tiroid otoantikorları ile korelasyon göstermemektedir. LL-37'nin yaş, cinsiyet, hastalık yılı, tiroid hormon durumu ve otoantikor titresinden bağımsız HT'nin tiroid bezinde yarattığı inflamasyon ile ilişkili olduğu düşünülmüştür. LL-37'nin tiroid otoimmünitesi ve inflamasyonu ile ilişkisini daha detaylı gösterebilmek için diğer bir otoimmün tiroid hastalığı olan Graves tiroiditinde ve otoimmün temelli olmayan diğer tiroiditlerde de yapılacak çalışmalara ihtiyaç vardır.

.Çalışmamıza Hashimoto Tiroiditliler ve kontrol grubu dahil edilerek yapılan analiz sonucunda LL-37'nin HT 'yi öngörmeye tanısai değeri olduğu görülmüş (**p<0,001**) . % 71 sensitivite ,%70 spesifite ile LL-37 için belirlenen sınır değere göre (714pg/ml) LL-37'nin Hashimoto Tiroiditi tanısı koymadaki pozitif prediktif değeri %73,9, negatif prediktif değeri %66,7 olarak hesaplanmıştır. Anti Tg negatif HT'liler ve kontrol grubu ele alınarak yapılan analiz sonucunda LL-37'nin anti Tg negatif olgularda da HT'yi öngörmeye tanısai değeri olduğu görülmüştür (**p=0,001**). Anti Tg negatif HT'lilerde de LL-37 için sınır değeri tüm grubun ele alındığı analizdeki ile aynı olup 714pg/ml olarak belirlenmiştir. Çalışmamızdaki Anti Tg negatif HT'li hasta grubunun %67,9'unda LL-37 düzeyi; HT için belirlenen tanısai değerin üzerindedir. Yine Anti Tg negatifliğinin hastalık yaşı ile arttığı düşünüldüğünde , hastalık yaşı ile ilişkisi bulunmayan LL-37'nin OTH tanısı koymada önemli olacağı düşünülmüştür.

Anti mikrobiyal peptit olan LL-37 nin otoimmün hastalıklar dışında akut ve kronik enfeksiyöz olaylarda da artışı bilinmektedir (26,37). Bu sebeple LL-37'nin Hashimoto Tiroiditi ile ilişkisinin incelendiği çalışmamızın dizaynında ek otoimmün hastalığı olan, endokrinolojik hastalığı olan, akut/kronik enfeksiyonu olan tüm vakalar çalışma dışında bırakılmıştır. Çalışmaya alınan tüm olgular 714 pg/ml değerine göre gruplandırıldığında LL-37 değeri 714 pg/ml ve üzerinde olanların %73,9'unda HT saptanmıştır. LL-37 değeri 714 pg/ml ve üzerinde olan kişilerde Hashimoto Tiroiditi riskinin yaklaşık 5,6 kat (en az 2,26 en fazla 14,20 kat) fazla olduğu tespit edilmiştir (**p<0,001**). LL-37 düzeyi 714pg/ml ve üzeri olan hastalarda HT görülme riski 5.6 kat artmış olarak hesaplanırsa da LL-

37'nin HT için tanısal marker olarak kullanılmasında enfeksiyöz veya otoimmün inflamatuvar süreçlerin büyük bölümünde artış göstermesi sınırlayıcı olmaktadır. Bu sebeple LL-37'nin tek başına kullanılmasındansa HT için yüksek spesifite gösteren anti TPO ile birlikte kullanılması yanında belki de otoantikör negatif OTH'lerin tanısında da faydalı bir marker olabileceği düşünülmüş olup bu amaçla farklı OTH gruplarını da kapsayan daha başka çalışmalara ihtiyaç vardır.



6.SONUÇ

Hashimoto Tiroiditli hastalarda serum LL-37 düzeyinin incelendiği çalışmamızda;

Hashimoto tiroiditli hastalarda kadın/erkek oranının 11/1 olduğu, %66,67'sinin ötiroid, %33,33'ünün subklinik hipotiroid olduğu görülmüştür. Çalışmamızda aşikar hipotiroidili ,subklinik hipertiroid ve aşikar hipertiroid hasta mevcut değildir.

HT'li olgularda kontrol grubuna göre serum vitamin D3 düzeyi anlamlı düşük saptanmıştır. Kontrol ve HT li olgular arasında cinsiyet, yaş, BMI açısından anlamlı fark saptanmamıştır.

Antimikrobial ve immunstimulator peptit ailesinin önemli bir üyesi olan insan katyonik anti mikrobiyal peptit ; insan cathelicidini; LL-37'nin otoimmün tiroid hastalığı olan Hashimoto Tiroiditli hastalarda anlamlı yüksek olduğu bulunmuştur (**p<0,001**).

Anti Tg negatif HT'lilerde LL-37 anlamlı yüksek bulunmuştur (**p<0,001**).

HT'li olgularda serum LL-37 düzeyi ile cinsiyet, yaş, hastalık yaşı, TSH, serbest T3, serbest T4 düzeyi, tedavi alan hastalarda kullanılan levotiroksin sodyum dozu, anti TG titresi , anti TPO titresi, 25(OH)D3 düzeyi arasında anlamlı korelasyon ilişkisi saptanmamıştır.

Tüm çalışma grubunda ROC analizi ile yapılan değerlendirme sonucunda LL-37'nin HT 'yi öngörmeye tanısal değeri olduğu görülmüştür (**AUC_{LL37}: 0,748; %95GA=0,642-0,855; p<0,001**).

Tüm olgular ele alındığında LL-37 için % 71 sensitivite ,%70 spesifite ile sınır değeri 714pg/ml olarak belirlenmiştir.

714 pg/ml sınır değerine göre LL-37'nin Hashimoto Tiroiditi tanısı koymadaki Pozitif Prediktif Değeri %73,9, Negatif Prediktif Değeri %66,7 olarak hesaplanmıştır.

ROC analizi ile yapılan değerlendirme sonucunda LL-37'nin anti TG negatif olgularda HT'yi öngörmeye tanısal değeri olduğu görülmüştür. (**AUC_{L37}: 0,731; %95GA=0,613-0,849; p=0,001**)

Anti TG negatif olgular ele alındığında LL-37 için % 68 sensitivite, %70 spesifite ile sınır değeri 714pg/ml olarak belirlenmiştir.

714 pg/ml cut-off değerine göre LL-37'nin Anti Tg negatif olgularda Hashimoto Tiroiditi tanısı koymadaki Pozitif Prediktif Değeri %67,9 Negatif Prediktif Değeri %70 olarak hesaplanmıştır.

LL-37 değeri 714 pg/ml ve üzerinde olanlarda HT görülme sıklığı %73,9 olarak saptanmıştır. LL-37 değeri 714 pg/ml ve üzerinde olan kişilerde Hashimoto Tiroiditi riskinin yaklaşık 5,6 kat fazla olduğu tespit edilmiştir. (**OR=5,66; % 95 GA=2,26-14,20; p<0,001**)

7.REFERANSLAR

1. Gürsoy A, Erdoğan MF. A'dan Z'ye klinik Tiroidoloji. 1st ed. istanbul; 2012.
2. Khan FA, Al-Jameil N, Khan MF, Al-Rashid M, Tabassum H. Thyroid dysfunction: an autoimmune aspect. *Int J Clin Exp Med*. 2015; 8(5): p. 6677-6681.
3. DONG YH, FU DG. Autoimmune thyroid disease: mechanism, genetics and current knowledge. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*. 2014;(18): p. 3611-3618.
4. Ajjan RA, Weetman AP. The Pathogenesis of Hashimoto's Thyroiditis: Further Developments in our Understanding. *Horm Metab Res*. 2015;(47): p. 702-710.
5. Hiromatsu Y, Satoh H, Amino N. Hashimoto's Thyroiditis: History and Future Outlook. *HORMONES*. 2013; 12(1): p. 12-18.
6. Weetman AP. The Immunopathogenesis of Chronic Autoimmune Thyroiditis One Century after Hashimoto. *Eur Thyroid J*. 2012;(1): p. 243-250.
7. Mincer DL, Jialal II. Thyroid, Hashimoto Thyroiditis [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459262/>].; 2017.
8. Michels AW, Eisenbarth GS. Immunologic Endocrine Disorders. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 125;(2): p. 226–S237.
9. Zaletel K, Gaberscek S. Hashimoto's Thyroiditis: From Genes to the Disease. *Current Genomics*. 2011;(12): p. 576-588.
10. Pyzik A, Grywalska E, BeataMatyjaszek-Matuszek , RoliNski J. Immune Disorders in Hashimoto's Thyroiditis: What Do We Know So Far? *Journal of Immunology Research*. 2015;(979167).
11. McLachlan SM, Rapoport B. Breaking Tolerance to Thyroid Antigens: Changing Concepts in Thyroid Autoimmunity. *Endocrine Reviews*. 2014; 35(1): p. 59-105.
12. Jacobson EM, Tomer Y. THE CD40, CTLA-4, THYROGLOBULIN, TSH RECEPTOR, AND PTPN22 GENE QUINTET AND ITS CONTRIBUTION TO THYROID AUTOIMMUNITY: BACK TO THE FUTURE. *J Autoimmun*. 2007;(2-3): p. 85-98.
13. Yoo WS, Chung HK. Recent Advances in Autoimmune Thyroid Diseases. *Endocrinol Metab*. 2016;(31): p. 379-385.

14. Crotty S. T follicular helper cell differentiation, function, and roles in disease. *Immunity*. 2014; 41(4): p. 529–542.
15. Wang SH, Baker JR. The Role of Apoptosis in Thyroid Autoimmunity. *THYROID*. 2007; 17(10).
16. Caturegli P, Remigis AD, Rose NR. Hashimoto thyroiditis: Clinical and diagnostic criteria. *Autoimmunity Reviews*. 2014;(13): p. 391-397.
17. B C. Thyroperoxidase, thyroglobulin, Na(+)/I(-) symporter, pendrin in thyroid autoimmunity. *Front Biosci (Landmark Ed)*. 2011;(16): p. 783-802.
18. chin hs. Rarity of anti- Na+/I- symporter (NIS) antibody with iodide uptake inhibiting activity in autoimmune thyroid diseases (AITD). *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85(10): p. 3937-3940.
19. Gardner DG, Shoback D. Greenspan Temel Ve Klinik Endokrinoloji. 9th ed.: mcgraw-hill; 2013.
20. Pedersen OM, Aardal NP, Larssen TB, Varhaug JE, Myking I, Vik-Mo H. The value of ultrasonography in predicting autoimmune thyroid disease. *Thyroid*. 2000; 10(3): p. 251-259.
21. Tiroid Hastalıkları Tanı Ve Tedavi Klavuzu. Türkiye Endokrin Ve Metabolizma Derneği; 2015.
22. Lazúrová I, Benhatchi K. Autoimmune thyroid diseases and nonorgan-specific autoimmunity. *POLSKIE ARCHIWUM MEDYCYN Y WEWNĘTRZNEJ*. 2012; 122(1): p. 55-59.
23. Wémeau JL, Proust-Lemoine E, Ryndak A, Vanhove L. Thyroid autoimmunity and polyglandular endocrine syndromes. *HORMONES*. 2013; 12(1): p. 39-45.
24. Chen YK, Lin CL, Cheng FF, FCS, Kao CH. Cancer risk in patients with Hashimoto's thyroiditis: a nationwide cohort study. *British Journal of Cancer*. 2013;(109): p. 2496–2501.
25. Wang G, Li X, Wang Z. APD3: The Antimicrobial Peptide Database As A Tool For Research And Education. *Nucleic Acids Research*. 2015 November 23;(44): p. 1087-1093.
26. Wang G. Human Antimicrobial Peptides and Proteins. *Pharmaceuticals*. 2014;(7): p. 545-594.
27. Smet KD, Contreras R. Human antimicrobial peptides: defensins, cathelicidins and histatins. *Biotechnology Letters*. 2005;(27): p. 1337-1347.

28. Hancock REW, Sahl HG. Antimicrobial and host-defense peptides as new anti-infective therapeutic strategies. *NATURE BIOTECHNOLOGY*. 2006; 24(12): p. 1551-1557.
29. Guaní-Guerra E, Santos-Mendoza T, Lugo-Reyes SO, Terán LM. Antimicrobial Peptides: General Overview And Clinical Implications In Human Health And Disease. *Clinical Immunology*. 2010;(135): p. 1-11.
30. Wang G. Improved Methods for Classification, Prediction and Design of Antimicrobial Peptides. *Methods Mol Biol*. 2015 September;(1268): p. 43-68.
31. Wang Z, Wang G. APD: the Antimicrobial Peptide Database. *Nucleic Acids Research*. 2004;(32): p. 590-592.
32. <http://aps.unmc.edu/AP/main.php>. The Antimicrobial Peptide Database (APD). 2017 Dec 14.
33. Silva FPD, Machado MCC. Antimicrobial peptides: Clinical relevance and therapeutic implications. *Peptides*. 2012; 36: p. 308-314.
34. Cheng WL, Wang CS, Huang YH, Liang Y, Lin PY, Hsueh C, et al. Overexpression of a secretory leukocyte protease inhibitor in human gastric cancer. *Int. J. Cancer*. 2008;(123): p. 1787–1796.
35. Weber G, Chamorro CI, Granath F, Liljegren A, Zreika S, Saidak Z, et al. Human antimicrobial protein hCAP18/LL-37 promotes a metastatic phenotype in breast cancer. *Breast Cancer Research*. 2009; 11(1).
36. Kahlenberg JM, Kaplan MJ. Little Peptide, Big Effects: The Role of LL-37 in Inflammation and Autoimmune Disease. *The Journal of Immunology*. 2013;(191): p. 4895-4901.
37. Lai Y, Gallo RL. AMPed up immunity: how antimicrobial peptides have multiple roles in immune defense. *Trends in Immunology*. 2008;(30): p. 131-141.
38. Burton MF, Steel PG. The chemistry and biology of LL-37. *The Royal Society of Chemistry*. 2009;(26): p. 1572-1584.
39. Zanetti M, Gennaro R, Romeo D. Cathelicidins: a novel protein family with a common proregion and a variable C-terminal antimicrobial domain. *FEBS Letters*. 1995;(374): p. 1-5.
40. Lehrer RI, Ganz T. Cathelicidins: a family of endogenous antimicrobial peptides. *Current Opinion in Hematology*. 2002;(9): p. 18-22.

41. Alalwani SM, Sierigk J, Herr C, Pinkenburg O, Gallo R, Vogelmeier C, et al. The antimicrobial peptide LL-37 modulates the inflammatory and host defense response of human neutrophils. *Eur J Immunol.* 2010; 40(4): p. 1118–1126.
42. Nagaoka I, Tamura H, Hirata M. An Antimicrobial Cathelicidin Peptide, Human CAP18/LL-37, Suppresses Neutrophil Apoptosis via the Activation of Formyl-Peptide Receptor-Like 1 and P2X7. *The Journal of Immunology.* 2006;(176): p. 3044-3052.
43. Bikle DD. Vitamin D Metabolism, Mechanism of Action, and Clinical Applications. *Chem Biol.* 2004; 21(3): p. 319-329.
44. Aranow C. Vitamin D and the Immune System. *J Investig Med.* 2011; 59(6): p. 881-886.
45. Prietl B, Treiber G, Pieber TR, Amrein K. Vitamin D and Immune Function. 2013. ;(5): p. 2502-25021.
46. Cantorna MT, Snyder L, Lin YD, Yang L. Vitamin D and 1,25(OH)₂D Regulation of T cells. 2015;(7): p. 3011-3021.
47. Gombart AF, Borregaard N, Koeffler HP. Human cathelicidin antimicrobial peptide (CAMP) gene is a direct target of the vitamin D receptor and is strongly up-regulated in myeloid cells by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *The FASEB Journal.* 2005;(19): p. 1067-1077.
48. Wang TT, Nestel FP, Bourdeau V, Nagai Y, Wang Q, Liao J, et al. Cutting Edge: 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Is a Direct Inducer of Antimicrobial Peptide Gene Expression. *The Journal of Immunology.* 2004;(173): p. 2909-2912.
49. Dixon BM, Barker T, McKinnon T, Cuomo J, Frei B, Borregaard N, et al. Positive correlation between circulating cathelicidin antimicrobial peptide (hCAP18/LL-37) and 25-hydroxyvitamin D levels in healthy adults. *BMC Research Notes.* 2012; 5(575).
50. Gombart AF, Bhan I, Borregaard N, Tamez H, Camargo CA, Koeffler HP, et al. Low Plasma Level of Cathelicidin Antimicrobial Peptide (hCAP18) Predicts Increased Infectious Disease Mortality in Patients Undergoing Hemodialysis. *Clinical Infectious Diseases.* 2009; 48(4): p. 418-424.
51. Hata TR, Kotol P, Jackson M, Nguyen M, Paik A, Udall D, et al. Administration of oral vitamin D induces cathelicidin production in atopic individuals. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 122(4): p. 829-831.
52. Krejner A, Litwiniuk M, Grzela T. LL-37 but Not 25-Hydroxy-Vitamin D Serum Level Correlates with Healing of Venous Leg Ulcers. *Arch. Immunol.*

Ther. Exp. (2017). 2017;(65): p. 455–461.

53. Linda L, Neeloffer M, Joyce S, Caroline S. Vitamin D, serum 25(OH)D, LL-37 and polymorphisms in a Canadian First Nation population with endemic tuberculosis. *International Journal of Circumpolar Health*. 2015;(74).
54. AH G, E C, Y G, ZS U, A K, E T, et al. Cathelicidin (LL-37) and human β 2-defensin levels of children with post-infectious bronchiolitis obliterans. *Clin Respir J*. 2017;(11(2)): p. 243-247.
55. Yamshchikov A, Kurbatova E, Kumar M, i HMB, Ziegler TR, Ray SM. Vitamin D status and antimicrobial peptide cathelicidin (LL-37) concentrations in patients with active pulmonary tuberculosis. *Am J Clin Nutr*. 2010;(92): p. 603–11.
56. Lande R, Botti E, Jandus C, Dojcinovic D, Fanelli G, Conrad C, et al. The antimicrobial peptide LL37 is a T-cell autoantigen in psoriasis. *Nature Communications*. 2014; 5(5621).
57. Frohm M, Agerberth B, Ahangari G, Ståhle-Bäckdahl M, Lidén S, Wigzell H, et al. The Expression of the Gene Coding for the Antibacterial Peptide LL-37 Is Induced in Human Keratinocytes during Inflammatory Disorders. *J. Biol. Chem*. 1997;(272): p. 15258-15263.
58. Hwang YJ, Jung HJ, Kim MJ, Roh NK, Jung JW, Lee YW, et al. Serum Levels of LL-37 and Inflammatory Cytokines in Plaque and Guttate Psoriasis. *Hindawi Mediators of Inflammation*. 2014;(268257).
59. Sahebari M, Roshandel G, Saadati N, Saghaei M, Abdolahi N, Rezaieyazdi Z. Cathelicidin (LL-37) and its correlation with pro-oxidant, antioxidant balance and disease activity in systemic lupus erythematosus: a cross-sectional human study. *Lupus*. 2017 26;; p. 975–982.
60. Kahraman T, Gucluler G, Simsek I, Yagci FC, Yildirim M, Ozen C. Circulating LL37 targets plasma extracellular vesicles to immune cells and intensifies Behçet's disease severity. *Journal of Extracellular Vesicles*. 2017; 6(1284449).
61. Tufan A, Mercan R, Pasaoglu OT, Pasaoglu H, Ozturk MA, Goker B, et al. Serum antimicrobial peptides in patients with familial Mediterranean fever. *Peptides*. 2014;(57): p. 17-19.
62. Tran DHN, Wang J, Ha C, Ho W, Mattai SA, Oikonomopoulos A, et al. Circulating cathelicidin levels correlate with mucosal disease activity in ulcerative colitis, risk of intestinal stricture in Crohn's disease, and clinical prognosis in inflammatory bowel disease. *BMC Gastroenterology*. 2017; 17(63).

63. Zhang Y, Shi W, Tang S, Li J, Yin S, Gao X, et al. The influence of cathelicidin LL37 in human anti-neutrophils cytoplasmic antibody (ANCA)-associated vasculitis. *Arthritis Research & Therapy*. 2013; 15(R161).
64. Gasim A. Cathelicidin antimicrobial peptide as a serologic marker and potential pathogenic factor in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Research & Therapy*. 2014; 16(105).
65. Luan Jj, Xing Gq. Pathogenesis of antimicrobial peptides LL-37 and CpG-ODN in ANCA associated vasculitis. *J Nephrol*. 2017;(30): p. 63-71.
66. Chen C-R HSBMHea. Antibodies to Thyroid Peroxidase Arise Spontaneously with Age in NOD.H-2h4 Mice and Appear after Thyroglobulin Antibodies. *Endocrinology*. 2010; 151(9)(4583-4593).
67. Allan Carlé PLNKHPLOLBRTJ,IBP. Thyroid peroxidase and thyroglobulin auto-antibodies in patients with newly diagnosed overt hypothyroidism. *Autoimmunity*. 2006;(39:6): p. 497-503.
68. Meguro S, Tomita M, Katsuk T, Kato K, Oh H, Ainai A, et al. Plasma Antimicrobial Peptide LL-37 Level Is Inversely Associated with HDL Cholesterol Level in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *International Journal of Endocrinology*. 2014.
69. Uruska A, Michalskaa A, Justyna O, Paulina S, Dawid L, Paweł U, et al. Is cathelicidin a novel marker of diabetic microangiopathy in patients with type 1 diabetes? *Clinical Biochemistry*. 2017; 18(50): p. 1110-1114.
70. ZHANG D, WAN L, ZHANG J, LIU C, SUN H. Effect of BMAP-28 on human thyroid cancer TT cells is mediated by inducing apoptosis. *ONCOLOGY LETTERS*. 2015;(10): p. 2620-2626.
71. Zhang T, Zhang H, He L, Wang Z, Wenwu Dong WS, Zhang P. Potential Use of 1-25-dihydroxyvitamin D in the Diagnosis and Treatment of Papillary Thyroid Cancer. *Med Sci Monit*. 2018; 24: p. 1614-1623.
72. Oncul A, Ates I, Arikan MF, Yilmaz N, Topcuoglu C, Yilmaz FM, et al. The relationship between procalcitonin and thyroid autoantibodies in patients with autoimmune thyroiditis. *JCLA*. 2017; 31(6): p. e22123.