



T.C.

BEZMİÂLEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ

**GRAVES OFTALMOPATİSİ İLE GALEKTİN-3, FİBRONEKTİN,  
TNF-ALFA DÜZEYLERİNİN İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr.Ayşe İrem YASİN

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ertuğrul TAŞAN

Bu araştırma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi Tarafından

Desteklenmiştir

İstanbul, 2016

T.C.  
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ HASTANESİ

**GRAVES OFTALMOPATİSİ İLE GALEKTİN-3, FİBRONEKTİN,  
TNF-ALFA DÜZEYLERİNİN İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr.Ayşe İrem YASİN

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ertuğrul TAŞAN

Bu araştırma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi Tarafından

Desteklenmiştir

İstanbul, Eylül 2016

Kurum : Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi

Programın seviyesi : Yüksek Lisans ( ) Doktora ( )

Anabilim Dalı : İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Tez Sahibi : Dr. Ayşe İrem YASİN

Tez Başlığı : Graves Oftalmopatisi İle Galektin-3, Fibronektin, Tnf-Alfa Düzeylerinin İlişkisi

**İmza**

**Jüri Bşk. (Danışman)** Prof. Dr. Ertuğrul TAŞAN

.....

Bezmialem Vakıf Üniversitesi

Üye .....

.....

Üye .....

.....

Bu tez, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıda belirtilen jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun ...../...../..... tarih ve ...../..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

## **BEYAN**

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

**Dr.Ayşe İrem YASİN**

**07.09.2016**

## İTHAF

*Bu tezi, bugün olduğum kişi olmamda en büyük payı olan rahmetli dedem Mehmet Saim Yüce'ye, başarının ve azmin önemini öğreten ve hep yanımda olan sevgili annem Ayla Ülgen Yasin'e, beni her zaman destekleyen babam Abdullah Yasin'e ve biricik kızım Neva'ya ithaf ediyorum...*

## TEŞEKKÜR

Bilgisi, tecrübesi , hayata olumlu bakışı ve gülyüzüyle asistanlık eğitimim boyunca yanımda olan, tez danışmanım, değerli hocam Prof.Dr.Ertuğrul TAŞAN'A çok teşekkür ederim.

Vizyonu, azmi, çalışkanlığıyla her zaman bize yol gösteren, kendisinden hekim-hasta ilişkisinin inceliklerini öğrendiğimiz, yakınlığını ve desteğini hep yanımda hissettiğimiz değerli rektör hocamız Prof.Dr.Rümeysa KAZANCIOĞLU'na , tecrübesi ve bilgisini bizimle paylaşan anabilim dalı başkanımız Prof.Dr.Hacı Mehmet TÜRK'e, daha verimli bir asistanlık süreci geçirmemiz için çaba gösteren Doç.Dr.Güven ÇETİN'e, gülyüzüyle pozitif enerji veren Prof.Dr. Mahmut GÜMÜŞ'e, hekimliği ve çalışmayı yeniden sevdiren, içimdeki potansiyeli açığa çıkarmam için her fırsatta beni teşvik eden, varlığıyla desteğini esirgemeyen Doç.Dr.Mesut ŞEKER'e, eğitim sürecim boyunca bilgi ve birikimlerinden faydalandığım tüm değerli hocalarıma ve uzmanlarıma teşekkür ederim.

Tezime katkılarını esirgemeyen Doç.Dr.Özcan KARAMAN'a , hayata ve hekimliğe dair tecrübelerini paylaşan ,tezimin oluşmasında katkıda bulunan Uzm.Dr.Muzaffer İLHAN'a, tezimde çok büyük emeği geçen, samimiyetini her an hissettiğim değerli hocam Prof.Dr.İlhan YAYLIM'a, tezime katkılarını unutmayacağım değerli diyabet hemşiremiz Özlem BURAN'a teşekkür ederim.

Asistanlık sürecini tüm zorlukları ve güzellikleriyle birlikte yaşadığımız tüm asistan arkadaşlarıma , ömür boyunca yanımda görmek istediğim değerli dostlarım Uzm.Dr.Seda TURGUT ,Dr.Tuba ÖZKAN, Dr. Rabia BAĞ SOYTAŞ ve Dr. Nidal ÇEVİRME'ye teşekkür ederim.

**Dr.Ayşe İrem YASİN**

## ÖZET

### GRAVES OFTALMOPATİSİ İLE GALEKTİN-3, FİBRONEKTİN, TNF-ALFA DÜZEYLERİNİN İLİŞKİSİ

**Amaç:** Graves Hastalığı (GH) primer olarak tiroid bezini etkileyen, tiroid hormonlarının fazla üretilmesine neden olan otoimmün bir hastalıktır. Hipertiroidizm hastaların genel durumunu etkileyen içerisinde taşikardi, kas güçsüzlüğü, uyku bozukluğu ve huzursuzluk gibi semptomların olduğu çeşitli problemlere yol açmaktadır. GH'larının çoğunda oftalmopati gelişmektedir (GO). GO orbitasının otoimmün inflamatuvar bir hastalığıdır. GO patogenezi orbital yağ dokusu ve konnektif dokunun immün hücreler tarafından infiltrasyonu, sitokinler gibi inflamatuvar mediatörlerin üretimi ve aşırı doku genişlemesi ile karakterizedir. Çalışmamızın amacı GO patogenezindeki bilgilerimize katkı sağlamak amacıyla Galektin-3, fibronektin ve TNF-alfa'nın GH ve GO ile olan ilişkisini tanımlamaktır.

**Gereç ve yöntem:** çalışma 130 katılımcıyla gerçekleştirildi: Bunlardan 32'si oftalmopatisi olan GH, 40'ı oftalmopatisi olmayan GH, 19'u GH dışındaki hipertiroidi hastası ve 39'u sağlıklı kontrolden oluşmaktaydı (toplamda 91 hipertiroidi hastası, 39 sağlıklı kontrol). Galektin-3, fibronektin ve TNF-alfa değerleri ELISA yöntemiyle belirlendi.

**Bulgular:** Hastaların ortanca yaşı 44'tü (18-80 aralığında). Hasta ve kontrol grupları arasında TNF-alfa ( $p=0.04$ ) ve Galektin-3 ( $p=0.02$ ) değerleri açısından anlamlı farklılık saptanırken fibronektin seviyeleri açısından farklılık saptanmadı. TNF-alfa seviyeleri hasta grubunda daha yüksekti. Tam tersine Galektin-3 değerleri kontrol grubunda hasta grubuna kıyasla daha yüksekti. TNF-alfa ve Galektin-3 değerleri oftalmopati varlığından etkilenmiyordu.

**Sonuç:** Çalışmamızda Galektin-3 ve TNF-alfa değerlerinin hipertiroidizmle ilişkili olduğu, fakat oftalmopati varlığının TNF-alfa, Galektin-3 ve fibronektinle ilişkili olmadığı gösterilmiştir. Bildiğimiz kadarıyla çalışmamız GO, GH ve galektin-3 ilişkisini değerlendiren ilk çalışmadır.

**Anahtar kelimeler:** Hipertiroidizm, Graves, Oftalmopati, Galektin-3, TNF-alfa, Fibronektin

## ABSTRACT

### THE RELATIONSHIP OF GRAVES OPHTHALMOPATHY WITH GALECTIN-3, FIBRONECTIN, TNF ALPHA

**Objective:** Graves Disease (GD) is an autoimmune disease which primarily affects the thyroid and causes the overproduction of thyroid hormones. Hyperthyroidism leads to various symptoms which significantly influence patients' overall well-being, including increased heartbeat, muscle weakness, disturbed sleep and irritability. Most of the GD patients develop ophthalmopathy (GO). GO is an autoimmune inflammatory disease of the orbit. The pathogenesis of GO is characterized by infiltration of the orbital adipose and connective tissue with immune cells, production of inflammatory mediators such as cytokines and excessive tissue expansion. The goal of our study was to identify the relationship of galectin-3, fibronectin and TNF-alpha with GD and GO to gain insight into the pathogenesis of GO.

**Materials and methods:** The study was conducted on 130 participants: 32 Graves with ophthalmopathy, 40 Graves without ophthalmopathy, 19 non-Graves hyperthyroid patients and 39 healthy controls (in total; 91 hyperthyroid patients as patient group, 39 healthy controls as control group). Galectin-3, fibronectin and TNF-alpha was measured by ELISA method.

**Results:** The median age of patients was 44 years (range 18 to 80). Among patients groups and healthy controls, there were significant differences in TNF-alpha ( $p = 0.04$ ), galectin-3 ( $p = 0.02$ ), but not in fibronectin ( $p = 0.579$ ). TNF-alpha levels were higher in the patient group compared to the control group. On the contrary, Galectin-3 levels were higher in the controls compared to the patient groups. TNF-alpha and Galectin-3 levels did not change in the presence of ophthalmopathy.

**Conclusions:** This study described a relationship of Galectin-3, TNF-alpha with hyperthyroidism, but the presence of ophthalmopathy was not associated with TNF-alpha, Galectin-3, and fibronectin. To the best of our knowledge, this study is the first study evaluating the relationship of GO, GD and Galectin-3 levels.

**Key words:** Hyperthyroidism, Graves, Ophthalmopathy, Galectin-3, TNF-alpha, Fibronectin



## İÇİNDEKİLER

İTHAF.....	V
TEŞEKKÜR .....	VI
ÖZET .....	VII
ABSTRACT .....	VIII
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	XI
TABLolar LİSTESİ.....	XII
1. GİRİŞ ve AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Hipertiroidizm.....	3
2.2. Graves Hastalığı.....	4
2.2.1. Epidemiyoloji .....	4
2.2.2. Etiyoloji.....	5
2.2.3. Klinik.....	10
2.2.4. Graves Oftalmopatisi.....	14
2.2.5. Hipertiroidizm tedavisi.....	20
3. GEREÇ ve YÖNTEM .....	23
3.1. Araştırma özellikleri .....	23
3.2. Yöntem.....	24
3.2.1. Fibronektin düzeylerinin ölçülmesi.....	24
3.2.2. Galektin-3 düzeylerinin ölçülmesi .....	25
3.2.3. TNF-alfa düzeylerinin ölçülmesi.....	26
4. BULGULAR.....	27
5. TARTIŞMA .....	33
6. SONUÇ.....	37
7. KAYNAKLAR.....	38

## **KISALTMALAR**

AIRE : Otoimmün regülatör geni

bFGF: Fibroblast büyüme faktörü

CTGF : Fibronektin ilişkili gen

CTLA : Sitotoksik T lenfosit ilişkili protein

Gal-3 : Galektin -3

GH :Graves Hastalığı

GM-CSF : Granülosit makrofaj koloni stimule edici faktör

GO: Graves Oftalmopatisi

HLA : İnsan lökosit antijeni

IFN :İnterferon

IGF-1 : İnsülin benzeri büyüme faktörü

MHC : Temel doku-uygunluğu bileşeni

NIS:Sodyum-İyot Simporter

TA : Toksik adenom

TMB : Tetrametilbenzidin

TMNG : Toksik Multinodüler Guatr

TNF : Tümör nekrozis faktör

TRAb: Tiroid reseptör antikoru

PDGF: Platelet Derived Growth Factor

VEGF : Vasküler endotelyal büyüme faktörü

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Gruplardaki TNF alfa düzeyleri .....	30
Şekil 2. Gruplardaki Galektin 3 düzeyleri .....	31
Şekil 3. Gruplardaki Fibronektin düzeyleri .....	31

## TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Hipertiroidi ve tirotoksikoz nedenleri .....	3
Tablo 2. GH'nın immünolojik etiolojisindeki muhtemel nedenler .....	7
Tablo 3. GH'da genetik etkiler .....	10
Tablo 4. American Thyroid Association göz tutulumu evrelendirmesi .....	18
Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri.....	28
Tablo 6. Hasta ve kontrol grubu, TNF alfa, Galektin-3 ve Fibronektin düzeyleri .....	29
Tablo 7. Hasta ve kontrol grubu, TNF alfa, Galektin-3 ve Fibronektin düzeyleri karşılaştırılması.....	29
Tablo 8. Hasta Grupları, TNF alfa, Galektin-3 ve Fibronektin düzeyleri karşılaştırılması.....	32

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

Hipertiroidizm tiroid bezinin gereğinden fazla çalışmasına bağlı olarak tiroid hormon sentezinin artmasını tanımlamaktadır. Hipertiroidizmin en sık nedeni olan Graves Hastalığı (GH); guatr, göz hastalığı (oftalmopati veya orbitopati) ve pretibial veya lokalize miksödem ile karakterize olan dermopatiye yol açabilen otoimmün bir hastalıktır. GH'nın en belirgin özelliği hipertiroidizm olup neredeyse hastaların hepsini etkilemektedir. Tiroid stimulan hormon reseptör antikollarının (TRAb) reseptörü aktive etmesi sonucunda tiroid hormon sentezinde artış ve tiroid bezinde büyüme meydana gelmektedir. Graves hastalığında serumda izlenen TRAb ve fizik muayenede saptanabilen orbitopati ve dermopati varlığı, hastalığı diğer hipertiroidizm nedenlerinden ayırmaktadır.

Orbitopati diye de isimlendirilen Graves oftalmopatisi (GO) yol açtığı komorbidite düzeyi ile hem hastaları hem de klinisyenleri zorlayan, görmeyi azaltan veya tehdit eden oküler bir hastalıktır. GO'da sıklıkla inflamasyon, fibrozis ve orbital dokularda genişlemenin neden olduğu göz kapağında retraksiyon, ödem, periorbital dokularda ve konjonktivada eritem, propitozis görülmektedir (1). Kadınları daha çok etkileyen GO insidansı yaklaşık olarak 16/100,000 bildirilmiştir ve GH'nın yaklaşık olarak %30-50'sinde aşikar oftalmopati gelişebildiği bildirilmiştir (2).

GH patogenezinde hem T hücreleri hem B hücrelerinden oluşan immün sistem suçlanmaktadır. Benzer patogenetik özellikleri taşıyan GO patogenezinde de benzer şekilde hücrel ve moleküler mekanizmalar, sigara kullanımı gibi çevresel faktörler suçlanmaktadır. Hücrel düzeyde özellikle orbital fibroblastlar üzerinde durulmaktadır. Orbital fibroblastlar çeşitli sitokinlere maruz kaldıklarında büyük miktarlarda hyaluronan ve içerisinde TNF-alfa gibi moleküllerin olduğu sitokin sekrete etmektedir (3), bazı fibroblastlar da tiroid reseptör ekspresyonu fazla olan olgun adipositlere farklılaşabilirler (4). Orbitada bu hücrel değişikliklerin sonucunda göz kasları ve orbital yağ dokusunda genişleme meydana gelmektedir. Bununla birlikte moleküler düzeyde bakıldığında GO hastalarının orbital dokularında tirotropin reseptör ekspresyonunun arttığı görülmektedir (5).

Galektinler adaptif ve immün yanıtta önemli rolleri olan glikan bağlayıcı proteinlerdir (6). İntegrin, laminin ve fibronektin gibi hücre adezyonunda görevli bazı molekülleri bağlama

özellikleri olan (7), hem hücre dışında hem hücre içinde bulunan multifonksiyonel molekülüdür (8). Üzerinde en sık durulan galektin çeşidi Galektin-3 olup neoplastik transformasyon, immün yanıt, adezif iletişim ve büyüme regülasyonu gibi alanlarla olan ilişkisi incelenmiştir (9). Galektinler ile GO arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışma şu ana kadar bulunmamaktadır ancak yakın zamanda yapılan bir çalışmada Gal-1 ve Gal-3'ün inflamasyonun önemli mediatörleri arasında yer aldığı bildirilmiş olup (10) Gal-3 serum düzeyinin IL-6 ve C reaktif protein ile korelasyon gösterdiği ifade edilmiştir (11). Patogenezinde inflamasyonun önemli bir yer tuttuğu GO'da galektinlerin de rol oynadığı düşünülebilir.

Fibronektin ekstraselüler matrikste yaygınca bulunan, doku organizasyonunu ve ekstraselüler matriks bileşimini düzenleyen bir proteindir. Yara iyileşmesi, embriyogenezis, pıhtılaşma (fibrojenik etki) ve hücre migrasyonu/adezyonunda görevli molekülüdür (12). GO patogenezinde fibrozisin olduğu fark edilmesinden sonra fibronektin üzerindeki ilgi artmış ve yapılan çalışmalarda orbital fibroblastların içerisinde fibronektinin de olduğu bazı fibrojenik etkili molekül ekspresyon seviyesinin arttığı bildirilmiştir (13).

GO'nun orbitanın inflamatuvar fibroproliferatif bir hastalığı olması orbital fibroblastların hastalığın patogenezindeki önemine işaret etmektedir. Platelet derived growth factor (PDGF) sistemiyle aktive olan orbital fibroblastlar proliferasyon göstererek, hyaluronan ve sitokin sekrete etmektedir. Orbita içindeki fibrositlerin insulin benzeri büyüme faktörü 1 reseptör (IGF-1R) ve tiroid stimulan hormon reseptörü (TSHR) ekspresyonunun yüksek seviyede olduğu bildirilmiştir. Buna ek olarak bu fibrositler TSH stimülasyonu neticesinde TNF-alfa ve IL-6 gibi sitokinler sekrete etmektedir (14). Yapılan çalışmalarda tiroid ilişkili oftalmopati hastalarında Th1 ve Th2 sitokin seviyesinin arttığı bildirilmiştir (15). Daha spesifik olarak aktif oftalmopatisi olan Graves hastalarında serum TNF-alfa seviyelerinin arttığı bildirilmiştir (16) , ancak bu ilişkinin gösterilemediği çalışmalar da mevcuttur.

Önemli düzeyde komorbiditeye neden olan GO tedavisinde karşılaşılan sınırlılıklar bu alanda birçok bilinmeyen etmenin olduğuna işaret etmektedir. Vaka kontrol dizaynındaki çalışmamızda hakkındaki verilerin oldukça sınırlı olduğu galektin 3, fibronektin ve TNF-alfa molekülünün hipertiroidi, GH ve GH'na bağlı oftalmopati ile olan ilişkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu şekilde GO etiyolojisinin daha iyi anlaşılması, yeni terapötik ajanların geliştirilmesine dolaylı olarak katkı sağlanması hedeflenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Hipertiroidizm

Hipertiroidizm; tiroid bezinden tiroid hormon yapımının artmasından kaynaklanan tiroid hormon fazlalığını ifade etmek için kullanılır, bununla birlikte tirotoksikoz; kaynağı ne olursa olsun tiroid hormon fazlalığını ifade eder (17). Subklinik hipertiroidizm TSH hormonunun baskılandığı (< 0,5 mIU/L) ancak T3 ve T4 hormonlarının normal olmasını ifade ederken aşikar hipertiroidizm baskılanmış TSH değerlerini ve yüksek T3 ve T4 değerlerini ifade eder.

Birleşik Devletler’de hipertiroidizm prevalansı yaklaşık olarak %1,2’dir (%0.5 aşikar, %0.7 subklinik hipertiroidizm) ve en sık nedenler arasında Graves Hastalığı (GH), Toksik Multinodüler Guatr (TMNG) ve Toksik Adenom (TA) yer almaktadır (18). Tablo 1’de hipertiroidi ve tirotoksikoz nedenleri özetlenmiştir.

**Tablo 1. Hipertiroidi ve tirotoksikoz nedenleri \***

<b>Hipertiroidi nedenleri</b>	Graves Hastalığı
	Toksik Multinodüler Guatr
	Otonom toksik nodül
	Koryonik hormon artışına bağlı nedenler • Trofoblastik hastalıklar (koryokarsinom, mol hidatiform) • Gestasyonel hipertiroidi
	İyoda bağlı hipertiroidi (jod basedow, amiodaron)
	Struma ovarii
	Metastatik fonksiyonel tiroid kanseri
<b>Non-otoimmün hipertiroidi:</b>	TSH salgılayan tümörler
	Tiroid hormon direncinin bazı formları
<b>Tirotoksikoz nedenleri:</b>	Tiroiditler
	Struma ovarii
	Ekzojen tiroid hormonu fazlalığı

\* Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMED), 2016, Tiroid hastalıkları Tanı ve Tedavi Kılavuzu

American Thyroid Association (ATA), American Association of Clinical Endocrinologists (AACE) ve Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği (TEMED) tarafından güncel hipertiroidizm tanı ve tedavi rehberleri yayınlanmaktadır (19).

2016 TEMED klavuzlarına göre hipertiroidi tanısında dikkat edilmesi gereken noktalar şu şekildedir;

- ✓ Hipertiroidi tanısı baskılı TSH, yüksek T3,T4 düzeyleri ile konulur.
- ✓ Hipertiroidi ayırıcı tanısında kuşku varsa Radyoaktif İyot Uptake (veya  $^{99m}\text{Tc}$  uptake) ölçülmelidir.
- ✓ Uptake yapılamadığı durumlarda tiroid sintigrafisi (zemin aktivitesi ile kıyaslanarak) kullanılabilir.
- ✓ Otoimmün tiroid hastalığı düşünüldüğünde anti-TPO ölçülmelidir.
- ✓ Tiroglobülin ölçümü faktisiyöz hipertiroidi ayırıcı tanısında önemlidir.
- ✓ Düşük/ölçülemez tiroglobülin düzeyleri dışarıdan fazla tiroid hormon alımına işaret eder (19).

## **2.2. Graves Hastalığı**

1786'da Caleb Perry günümüzde Graves hastalığı diye bilinen ilk tiroid hastalığını tanımlanmıştır ancak hastalık 1835'te İrlandalı Robert Graves'in adıyla anılmaktadır. 19. yüzyılın sonuna kadar tiroid hastalıklarının patogenezi aydınlatılamamıştır. Graves Hastalığı otoimmün bir bozukluk olup özellikle de iyot eksikliği olan bölgelerde hipertiroidinin en sık nedenidir.

### **2.2.1. Epidemiyoloji**

Prevelansı yaklaşık %0,5 olarak (20) bildirilen hastalığın insidansı 30/100,00 hesaplanmıştır (21; 22). Birleşik Krallık'ta yapılan Wickham Çalışmasında (23) GH insidansı 100-200/100.000 bildirilirken ülkemizde GH prevelans ve insidansı hakkındaki veriler



kısıtlıdır. Dünyanın farklı bölgelerinde tüm tirotoksikoz nedenlerinin %60-90'nını GH oluşturmaktadır. Çoğu otoimmün hastalıkta olduğu gibi Graves Hastalığı da kadınlarda daha sık görülmektedir. Kadınları erkeklere kıyasla 4-10 kat daha sık etkilemektedir, her yaşta görülebilmekle birlikte en sık 20-40 yaşları arasında görülmektedir, yetişkinlerde çocuklardan 12 kat daha sık izlenmektedir.

### **2.2.2. Etiyoloji**

GH, tiroid hücrelerinde TSHR bağlanarak onları aktive ederek tiroid hormon sentezini ve salınımını arttıran tiroid stimüle edici antikorların neden olduğu otoimmün bir hastalıktır. TSHR, G proteinine kenetli bir reseptör olup tiroid dokusu haricinde adipositlerde, fibroblastlarda, kemikte ve kalp gibi dokularda da eksprese edilmektedir (24). GH'da 3 farklı tip TSHR antikorları gösterilmiştir (stimüle edici, bloke edici, temizleyici).

GH olanların çoğunda TSHR antikorları bulunmaktadır. Diğer otoimmün hastalıklarda da olduğu gibi GH'da TSHR reaktif B hücreleri delesiyonundan sonra sağ kalarak proinflamatuvar sitokinleri indükleyerek T hücrelerine tiroid otoantijenleri şeklinde prezente olabilmektedir (25). Bu nedenle hem B hem de T hücreleri orbita, ciltte ve tiroid bezinde görülen kronik inflamatuvar değişikliklerde ve TSHR antikorlarının üretiminde büyük öneme sahiptir.

#### **2.2.2.1. TSH-Reseptör antikorları**

İlk defa 1958 yılında Adams ve Purves tarafından hayvanlarda dolaşımdaki bir faktörün tiroid hiperaktivitesine neden olduğu gösterilmiştir (26). Sonrasında bu materyalin insanlara verilmesi sonucunda tiroid hormonunda artışa yol açtığı anlaşılmıştır. Devam eden çalışmalarda aslında bu maddenin bir gama globulin olduğu ve tiroiddeki bir antijene karşı gelişen bir otoantikor olduğu anlaşılmıştır.

Son 30 yıl içerisinde TSHR antikorlarının en az üç farklı tipi olduğu gösterilmiştir. Tiroid stimüle edici antikorlar (TSAb veya TSI) TSH reseptörlerine bağlanarak reseptörün adenil siklaz ve fosfolipaz A2 fonksiyonlarını indükleyerek tiroid stimülasyonu yapmaktadır (27). Bu etki muhtemelen TSH tarafından yapılan etkiye benzerdir. Gösterilen diğer antikorlar ise reseptörle daha farklı bir ilişki içindedir. Tiroid stimülasyonunu bloke edici antikorlar

(TBAb) reseptörün farklı bir epitopuna bağlanarak TSH'nin reseptöre bağlanmasını engellemektedir (28). Üçüncü antikor ise tirotropin bağlayıcı immünoglobülinler şeklinde bilinmektedir, reseptöre bağlanma yetenekleri olmasına rağmen bloke edici veya stimüle edici özellikleri yoktur. Genellikle TRAb veya TBIII şeklinde isimlendirilmektedir. (29). Graves hastalarında bu üç antikor tipinden de farklı oranlarda bulunmaktadır.

#### **2.2.2.2. TSH Reseptörlerine karşı lenfosit reaktivitesi**

Graves hastalarının lenfositleri TSH-R'ye karşı reaktif olduğu gösterilmiştir (30). Başka bir çalışmada hastaların lenfositlerinin Tiroid peroksidazdaki (TPO) peptid sekanslarına ve TSH-R'e karşı reaksiyon gösterdikleri bildirilmiştir (31). GH'da tiroid dokusundan Tiroid stimüle edici hormon reseptörlerine spesifik T hücrelerinin geliştiği bildirilmiştir (32). TSH reseptörlerine karşı gelişen bu immünitinin inflamatuvar sitokinler aracılığıyla Graves oftalmopatisinin gelişimine neden olduğu düşünülmektedir. Crisp ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada Graves hastalarının orbital ve normal yağ dokusunda TSH-R immünoaktivitesinin olduğunu bildirmiştir. Orbital preadipositlerin %5'inde TSH-R reaktivitesi görülmüştür. Preadipositlerin adipositlere farklılaşmasını TSH stimülasyonu ile olmaktadır ve farklılaşma devam ettikçe oluşan adipositlerin daha çoğunda TSH-R reaktivitesi ve TSH stimülasyonu sonrasında siklik-AMP üretimi görülmektedir (33; 34). Haraguchi ve arkadaşları TSH'nin preadipositlerin farklılaşmasını inhibe ettiğini ve proliferasyonuna neden olduğunu göstermesi TSH-R'lerinin Graves hastalığında öneminin altını çizmektedir (35). TSH-R'lerine karşı gelişen immünite inflamatuvar bir sürecin sonunda orbital dokuda sitokin üretimine neden olmaktadır. Hiromatsu ve arkadaşları göz dokusundaki sitokin profilini incelemiş ve IFN $\gamma$ , TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$  ve IL-6 gibi Th1 sitokinlerinin göz kaslarında sık bulunduğunu, IL-4 ve IL-10'unun orbital yağ dokusundan sık bulunduğunu ifade etmiştir. Bu bulgular GH'da hem Th-1 hem de Th-2 aracılı immünite önemli rol oynadığına işaret etmektedir (36). Wakelkamp ve arkadaşlarının çalışmasında Graves oftalmopatisinde (GO) kontrol grubuna kıyasla sIL-2R, IL-6, sIL-6R, TNF $\alpha$  ve sCD30'un arttığını göstermeleri Th1 ve Th2 kaynaklı sitokinlerin hastalığın patogenezinde önemli rol oynadığını desteklemektedir (37). Ludgate ve arkadaşları farelere TSH-R eksprese eden bir plazmid enjeksiyonu sonrasında GH'ına ait bazı özellikler gözlemlemiştir, bu durum TSH-R'lerine karşı gelişen immünitinin GH'da temel etkileyici olduğunu desteklemektedir (38).

GH patogenezinde IGF-1'e bağlanan ve stimüle eden antikorlar da suçlanmıştır. GH olanların serumundan elde edilen IgG'nin (GH-IgG) orbital fibroblastlarda hyaluronan sentezini uyardığı bilinmektedir. GH-IgG'nin etkisi IGF-1 ile IGF-1 reseptörünü aracılığıyla da gerçekleştirilmektedir. Tiroid hastalığı olmayanlardan elde edilen kültürlerde GH-IgG veya IGF-1'e karşı yanıt alınamamıştır. Fibroblastlarda GH-IgG tarafından indüklenen hyaluronan üretimi IGF-1 reseptörü ve bu reseptörü aktive eden antikorların tiroid ilişkili oftalmopati patogenezinde önemli bir etken olduğunu desteklemektedir (39). Graves hastalarında B hücrelerinin fazla miktarda IGF-1-R ekspresyonu bu antikorların B hücrelerine kendi üretimlerini artırıcı etki yaptıklarına işaret etmektedir (40).

### 2.2.2.3. Graves Hastalığı Nedenleri

GH'ı tiroid bezine karşı gelişen otoimmünitenin neden olduğu bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Tablo 2'de GH'nın immünolojik etiolojisindeki muhtemel nedenler yer almaktadır.

**Tablo 2. GH'nın immünolojik etiolojisindeki muhtemel nedenler (41)**

Bazı otoreaktif T ve B hücrelerinin varlığı (negatif seleksiyon başarısızlığı)
Spesifik HLA, CTLA-4 ve bazı immün yanıt ilişkili genlerin kalıtımı
Tiroid hücre hasarıyla antijenlere yeniden maruz kalınması
Regülatuar T hücrelerinin azalması veya fonksiyonlarının kaybı
Uyumsuz HLA-DR ekspresyonu
Mutasyona uğramış T ve B hücre klonları
Poliklonal stimülasyonla T hücrelerinin aktivasyonu
Sitokinlerle tiroid bezinin stimülasyonu

Çevresel faktörlerin GH'na neden olduğu hakkında önemli miktarda veri bulunmaktadır. Radyasyon veya etanol enjeksiyonu ile antijenler serbestleşerek GH'na yol açmaktadır. Terapötik amaçlı kullanılan IL-1 alfa, IL-2, IFN alfa ve gama GH'na yol açabilmektedir. Sigara kullanımı da GH riskini 2 kat arttırmaktadır, obezitenin ise riski azalttığı bildirilmiştir (42).

Lenfositler kemik iliğinden gelişmekte, timustaki olgunlaşmaktadır, sonrasında seleksiyona uğramaktadır. Endojen HLA moleküllerini tanımayan lenfositler negatif seleksiyona uğramaktadır. Bu süreç sırasında timusta gelişen tüm lenfositlerin %95-98'i apoptozise uğrar. Timusta NIS, TSH-R, TPO ve Tg-RNA'ların bulunduğu gösterilmiştir (43). Bu veriler timusta pre-T lenfositlerin tiroid ilişkili epitoplara tanınması için eğitildiğini ve böylece bu tiroid ilişkili antijenlere karşı self-tolerans geliştiğine işaret etmektedir. Fetal timusta bu tiroid antijenlerinin ekspresyonu AIRE geninin kontrolü altındadır, bu genin olmayışı ise poli-otoimmün hastalıklarla sonuçlanmaktadır. Down sendromunda 3 AIRE gen kopyası olmasına rağmen timustaki tiroid antijen ekspresyonu azalmıştır ve bunun Down sendromunda otoimmünitenin artmasına yol açtığı düşünülmektedir (44). Gelişim sürecinde bazı lenfositler otolog antijenleri tanıma özelliğini kazanamayabilir ve negatif seleksiyondan kurtuldukları zaman dolaşımında varlığını sürdürebilir ve GH gibi otoimmünitenin rol oynadığı hastalıklara neden olabilir.

Ekzojen bir antijen TSH reseptörü, TPO veya TG gibi endojen antijenlere benzer aminoasit sekansına karşı immün yanıt gelişimine neden olabilir. Bu moleküler benzerlik yoluyla bir virus veya bakteri vücudun belirli bir komponentine karşı immün reaksiyona neden olabilir. Yaygın bir intestinal parazit olan *Yersinia Enterokolitika*'da bulunan bir proteinin moleküler benzerlik aracılığıyla TSH reseptörüne karşı reaksiyon gösteren antikoları indükleyebilmektedir (45). Aslında bu proteinler bakteride yaşamak için plazmidler tarafından kodlanmış proteinler olup plazmidde oluşturulan sekans (DALYGNVTS) TSHR'ündekine (198-DAFGGVYS-205) benzerdir (46). GH olan bireylerde *Yersinia* enfeksiyonu GH olmayanlardan daha yüksek bulunmuş olup bakteriye maruz kalmanın TSH reseptör antikolarını indüklediğini desteklemektedir (47). Otoimmün tiroid hastalığı gelişiminde suçlanan diğer bir çevresel faktör de gastrik mukozadaki *H. pylori*'dir. Yakın bir zamanda yapılan çalışmada otoimmün tiroid hastalıkları ile *H. pylori* enfeksiyonu arasında ilişki incelenmiş ve GH ile *H. Pylori* arasında ilişki gösterilirken Hashimoto hastalığı ile gösterilememiştir (48).

Tiroid bezine belirli hasarlardan sonra tiroid otoimmünitesi geliştiği bildirilmiştir. Hancock ve arkadaşları Hodgkin hastalığı nedeniyle boyun bölgesine radyasyon alanlarda GH, Hashimoto tiroiditi ve GO sıklığının arttığını bildirmiştir (49). Daha güncel bir yayında da GH'nın çevresel risk faktörleri arasında da radyasyon bildirilmiştir (50). Bununla birlikte

GO'inde orbital radyoterapi lokalize bir şekilde tek başına veya intravenöz glukokortikoid tedavisine ek olarak özel tekniklerle başarılı bir şekilde uygulanmaktadır (51). Çernobil felaketinden sonra da çocuklarda ve adölesanlarda tiroid otoimmünesinde artış gözlenmiştir (52). Toksik multinodüler guatr tedavisi için radyoaktif iyot kullanıldığında veya toksik tiroid nodülleri tedavisinde etanol enjeksiyonu kullanıldığında da GH izlenmiştir (53; 54). Başka bir çalışmada radyoaktif iyot tedavisinden sonra hastalarından küçük bir kısmında tiroid ilişkili oftalmopatinin kötüleştiği bildirilmiştir (55).

GH patogenezinde sitokinler üzerinde giderek artan bir ilgi bulunmaktadır. IFN-alfa, IL-2 ve GM-CSF'in tedavi amacıyla hastalara verilmesi otoimmünite kaynaklı tiroid hastalığını indüklemektedir (56). Bununla birlikte GH gibi otoimmün tiroid hastalıklarında IL-17, IL-22 ve IL-23R gibi proinflamatuvar sitokinleri eksprese eden hücreler kanda ve tiroid bezinde artmış seviyelerde bulunmaktadır (57). Kronik hepatit için verilen interferon- $\alpha$ , multipl skleroz için verilen interferon- $\beta$  tedavisi sırasında anti-tiroid otoimmünesinin ortaya çıktığı veya kötüleştiği bildirilmiştir (58).

GH insidansının belirli ailelerde ve monozigot ikizlerde artmış olması hastalığın ortaya çıkışında genetik etkinin önemine işaret etmektedir. Yapılan ikiz çalışmalarında GH gelişiminden %79 genetik faktörler sorumlu tutulurken geriye kalan risk çevresel etmenlere bağlanmıştır (59). GH ile ilişkilendirilen ilk genetik faktör Class I MHC ailesinden olan HLA-B8'dir (60). Antijen sunan hücrelerin yüzeyinden eksprese edilen bu genin kalıtımıyla GH riski artış göstermektedir. Sonraki çalışmalarda bu ilişki daha spesifik bir şekilde bir MHC Class II molekülü olan HLA-DR3 için gösterilmiştir (61). Bu genin kalıtımıyla GH riski 5,7 kata kadar artış göstermektedir. Başka bir çalışmada ise HLA-DQA\*0501'in GH ile riski yakından ve bağımsız bir şekilde ilişkili olduğu ifade edilmiştir (62). Transgenik fareler kullanılarak HLA-DR $\beta$ 1\*0301 geninin otoimmün tiroid hastalıklarda önemli rolü olduğu gösterilmiştir. DR3 eksprese eden transgenik farelerde tiroglobulin immünizasyonu sonrasında tiroidite yatkınlık görülmüştür (63). GH ile ilişkilendirilen bir diğer gen ise CTLA4'tür. Yapılan çalışmalarda CTLA geninde görülen polimorfizmlerin GH gelişimine yol açtığı bildirilmiştir (64). Daha yakın bir zamanda yapılan çalışmada CD40'ın C/C genotipi GH ile ilişkilendirilmiş ve GH riskini 1,6 kat arttırdığı gösterilmiştir (65). Tablo 3'te GH'da üzerinde durulan genetik etkiler özetlenmiştir.

**Tablo 3. GH’da genetik etkiler**

İkiz çalışmaları temel alındığında GH riskinin %79’unu genetik etkiler oluşturmaktadır.
Genetik faktörlerin yaklaşık %20’sinden HLA Class II antijenleri sorumludur.
CTLA-4 ilişkisi genetik ilişkinin yaklaşık %30’undan sorumludur.
CD-40 yeni gösterilmiş genetik bir etmen olup HLA ve CTLA-4’e benzer bir risk oranı oluşturur.
Lenfoid tirozin fosfotaz-PTPN22- de GH ile ilişkilendirilmiştir
Bunların yanında farklı popülasyonlarda GH ile ilişkili henüz gösterilememiş başka genler de vardır

GH ile belki de en net olarak ilişkilendirilen bir diğer faktör ise kadın cinsiyettir. Kadın cinsiyet GH riskini 10 kata kadar arttırmaktadır. Ancak bu bariz ilişkinin altında yatan mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Kadınlarda DR genlerinin promoter bölgesinde belirli reseptörlerin olduğu ve bunların östrojen reseptörlerine yanıt verdiği yönünde açıklamalar yapılmıştır.

GH ile ilişkilendirilen veya GH’na neden olan diğer faktörler içerisinde Regülatuar T hücre anormallikleri, Fetal Hücre Mikroşimerizm, travma, sempatik aktivite artışı, kilo kaybı ve iyodin maruziyeti yer almaktadır (41).

### **2.2.3. Klinik**

Hipertiroidizm kliniği altta yatan nedene bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Hipertiroidizmin en sık nedeni olan GH’da diğer hipertiroidi nedenlerinden farklı bulgular görülebilmektedir. Bu bulgular içerisinde “Graves Oftalmopatisi” ve “İnfiltratif Dermopati” (lokalize veya pretibial miksödem) yer almaktadır. Aşağıda hipertiroidinin yol açtığı klinik sorunlar organ seviyesinde özetlenmiştir.

### 2.2.3.1. Cilt

Artmış kan akımı nedeniyle cilt sıcak veya eritematözdür. Keratin tabakasının azalmasından dolayı cilt aynı zamanda yumuşaktır (66). Görülebilen diğer cilt değişiklikleri içerisinde şunlar yer almaktadır:

- Kalorijenez artışı nedeniyle terleme görülebilir, sıcak intoleransına neden olabilir.
- Tırnakların yumuşaması veya onikolizis (Plummer'ın tırnağı).
- Genellikle ciddi vakalarda görülen hiperpigmentasyon. Kortizol metabolizmasının hızlanması sonucu ACTH sekresyonunun artmasına bağlıdır (67).
- Kaşıntı
- Otoimmüniteyle ilişkili olan vitiligo, alopesi areata
- Saçlarda incelme
- İnflamatuar dermati. Sadece GH'da görülür.

İnflamatuar dermati (pretibial miksödem) GH'nın nadir görülen bir bulgusudur. GO'si olanların %15'inde GH olanların %5'inde görülür (68). Sadece pretibial bölgeye sınırlı olmayıp ayak bileği, ayağın dorsali, dirsekler, diz, boyun ve sırtta da yayılabilir. Klasik GH triadının üçüncü komponentini oluşturur. Pretibial miksödem Hashimoto tiroiditi olanlarda da nadiren görülebilir. Hipertiroidi ve GH tanısının erken dönemde koyulması ve tedavinin daha erken dönemlerde başlaması nedeniyle dermati insidansı azalma göstermektedir. Pretibial miksödem sitokinlerin etkisi altındaki fibroblastların ürettiği özellikle de hyalüronik asit yapısındaki glikozaminoglikanların dermiste birikmesi sonucunda görülmektedir (69). Pretibial miksödem görülen hastaların serumunda TSH-R antikor seviyesi pretibial miksödemi olmayanlara kıyasla daha yüksektir. Genellikle bilateral, asimetrik olup ciltte kalınlaşmayla karakterize olup bir veya birkaç iyi sınırlı papül veya nodül görülmektedir (70). Lezyonlar genellikle asemptomatiktir ancak bazen kaşıntılı ve ağrılı olabilir. En sık olarak diz altında görülmektedir. Yaklaşık 8 yıl boyunca takip edilen 178 hastanın değerlendirildiği retrospektif bir çalışmada (71):

- Non-pitting ödemin en sık dermati formu olduğu (%43)
- En sık tutulan bölgenin pretibial bölge olduğu (%99)
- Neredeyse tüm hastalarda aynı zamanda oftalmopati olduğu (%97) bildirilmiştir.

### **2.2.3.2. Kardiyovasküler**

Hipertiroidizm hastalarında periferik oksijen ihtiyacının ve kardiyak kontraktilitenin artması nedeniyle kardiyak output artışı mevcuttur. Kalp atışı artmış, nabız basıncı genişlemiş, periferik vasküler direnç azalmıştır. Sistolik hipertansiyon sık görülmektedir (72; 73).

Hastaların %10-20'sinde atriyal fibrilasyon görülmektedir. Hastaların yaşı arttıkça atriyal fibrilasyon riski artmaktadır. Subklinik hipertiroidi de bile atriyal ektopi ve atriyal fibrilasyon sıklığında artış mevcuttur (74).

Görülen diğer kardiyak sorunlar içerisinde mitral kapak prolapsusu, mitral kaçak, sol ventriküler kitle indeksinde artış yer almaktadır.

### **2.2.3.3. Metabolik/Endokrin**

Hipertiroidi hastalarında serum total ve HDL kolesterol değerleri düşük olma eğilimindedir, bu değerler tedaviden sonra artış göstermektedir.

Pankreatik beta hücrelerinin glukoz sensitivitesini artırarak insülin sekresyonunu arttırmaktadır ve tedavi edilmediğinde bozulmuş glukoz toleransına neden olmaktadır.

### **2.2.3.4. Solunum**

Hipertiroidi hastalarında dispne veya egzersiz dispnesi görülebilir. Altta yatan nedenler içerisinde şunlar yer almaktadır:

- Oksijen tüketimi ve karbondioksit üretimi artmıştır.
- Solunum kaslarının zayıflaması ve akciğer volümünün azalması (75)
- Büyük bir guatrın neden olduğu trakeal obstrüksiyon
- Hipertiroidizm altta yatan astımı alevlendirebilir
- Pulmoner arteryal basıncın artması (76)



### **2.2.3.5. Gastrointestinal**

Metabolizma hızının ve barsak motilitesinin artması nedeniyle kilo kaybı görülebilir. Aynı zamanda Graves hastalarında Çölyak Hastalığı sıklığı artmıştır (77). Bunun yanında kusma, karın ağrısı, guatr nedeniyle disfaji, karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma görülebilir.

### **2.2.3.6. Timus**

GH'da hiperplazi nedeniyle timik büyüme bildirilmiştir (78). Genellikle dispne gibi semptomların araştırılması sırasında insidental olarak saptanır. Genellikle GH dışındaki hipertiroidi nedenlerinde izlenmez. Eş zamanlı malignitelerin görüldüğü bildirildiği için görüntüleme yöntemleriyle takip edilmelidir. Tedavi ile birlikte gerileme göstermektedir.

### **2.2.3.7. Hematolojik**

Hipertiroidizmde kırmızı kan hücreleri artış göstermiştir fakat plazma volümü daha çok artış gösterdiği için normokromik, normositik bir anemi izlenmektedir (79). GH'da immün trombositopeni (ITP), pernisiyöz anemi gibi otoimmün hematolojik hastalıklara rastlanabilmektedir.

### **2.2.3.8. Genitoüriner**

İdrara çıkma ve noktüri sıklığında, primer polidipsi ve hiperkalsiüri nedeniyle artış görülmektedir. Kadınlarda serum seks hormonu bağlayıcı globulin (SHGB) konsantrasyonu artarak östradiol ve luteinize hormon seviyelerinde değişimlere yol açar ve oligomenore veya infertilite görülebilir.

### **2.2.3.9. Kemik**

Tiroid hormonu kemik resorpsiyonunu stimüle ederek trabeküler kemik hacminde azalma, kortikal kemik porozitesinde artışa yol açar (80). Kortikal kemik dansitesindeki kayıp trabeküler kemik kaybından daha belirgindir. Serum alkalin fosfataz ve osteokalsin

seviyesinde artış görülmektedir, bu bulgular kemik döngüsünün arttığına işaret etmektedir. Kemik resorpsiyonundaki artış serum kalsiyum konsantrasyonunda artışa yol açabilir, böylece paratiroid hormon baskılanır ve kalsidiolun kalsitriole konversiyonu azalır. Bu değişimler kalsiyum absorpsiyonunda bozulma ve idrar kalsiyum atılımında artışla sonuçlanır. En son görülen etki ise osteoporozdur.

GH'da metakarpal kemiklerde ve falankslarda periosteal yeni kemik oluşumu ve clubbing görülebilir. Bu hastalara genellikle oftalmopati ve dermopati eşlik eder (81).

#### **2.2.3.10. Nöropsikiyatrik bulgular**

Tirotoksikozu olan hastalarda psikoz, ajitasyon ve depresyon gibi davranış ve kişilik değişiklikleri gözlenebilir. Görülen diğer belirtiler içerisinde anksiyete, huzursuzluk, irritabilite ve emosyonel labilite yer almaktadır (82).

#### **2.2.4. Graves Oftalmopatisi**

GH ile ilişkili göz hastalıkları sıklıkla Graves Oftalmopatisi (GO) şeklinde tanımlanmaktadır. Ancak bu durum orbita ile ilişkili olduğu için Graves Orbitopatisi şeklinde de isimlendirilmektedir.

##### **2.2.4.1. Patogenez**

GO patogenezini son yıllarda daha net anlaşılmıştır. GO'da; hücresel proliferasyon, inflamasyon ve içerisinde başlıca hyaluronik asidin olduğu hidrofilik glikozaminoglikanların birikmesi nedeniyle ekstraoküler kaslar, retroorbital konnektif ve adipoz doku hacminde artış görülmektedir (1). Tiroid stimulan antikorlar ve TNF-alfa, interferon gama gibi T hücre kaynaklı sitokinler tarafından fibroblastlardan sekrete edilen glikozaminoglikan sekresyonunda artış görülmektedir. Glikozaminoglikan birikimi osmotik basıncı değiştirerek orbitada sıvı birikimi, kaslarda şişlik ve orbita basıncında artışa neden olmaktadır. Bu değişimler sonucunda göz küreleri dışarıya doğru çıkmakta, venöz drenaj bozulmakta ve ekstraoküler kas fonksiyonları etkilenmektedir.

Histolojik incelemede ekstraoküler kaslarda şişlik, kas liflerinde lenfosit infiltrasyonu ve fragmantasyon görülmekte olup bu bulgular GO patogenezinde T hücrelerinin önemli rol oynadığına işaret etmektedir. Bununla birlikte izlenen şu değişiklikler T hücrelerinin GO patogenezindeki önemini vurgulamaktadır:

- GO olan hastaların retroorbital dokularının in vitro çalışmalarında retroorbital doku fraksiyonları tarafından aktive edilen T hücreleri infiltratları görülmüştür.
- Retroorbital fibroblastlar interferon gama, TNF-alfa gibi Th1 tipindeki CD4+ T hücrelerinden sekrete edilen sitokinlere yanıt olarak glikozaminoglikan sekrete ederler.
- Retroorbital bölgeden elde edilen T hücrelerinin V bölgesi genotipleri sınırlıdır ve aynı genotipler tiroid dokusunda da görülmektedir (83; 84; 85; 86).

#### **Graves oftalmopati antijeni:**

GO'da T hücre aktivasyonunun; tiroid stimulan hormon (TSH) reseptör antijeni ile başlatıldığı düşünülmektedir. GO'lu hastaların orbital fibroblastlar, adipositler ve pre-adipositlerinde TSH reseptör mRNA ve proteini saptanmıştır ve normal bireylere göre TSH'a yanıt olarak daha fazla siklik adenosin monofosfat üretmekte, daha fazla TSH reseptör mRNA'sı ekspresyon etmektedir (87). Orbital dokularda ve adipositlerde TSH reseptörlerinin bu artmış ekspresyonu bu reseptörlerin oftalmopati patogenezinin sorumlu antijen olabileceğini akla getirmiştir (88). Ekstra-tiroidal TSHR ekspresyonunun hakkındaki kanıtların yaygın olmasına rağmen ekstra-orbital dokulardaki TSH reseptör ekspresyonunun diğer yerlerden daha fazla olduğu hakkındaki kanıtlar çelişkilidir (89). Bununla birlikte hasta olmayan bireylerin orbital dokularında küçük miktarlarda TSHR proteini bulunmaktadır (90). TSHR antijenlerinin belirli T hücrelerini direkt olarak aktive etmesine ek olarak lokal inflamatuvar hücrelerin neden olduğu diğer uyarıların da TSHR ekspresyonunu arttırdığı düşünülmektedir.

TSHR antikörlerinin GO patogenezindeki rolü olması tartışmasız bir şekilde kabul edilmektedir. Oftalmopati şiddeti ile serum TSHR antikör konsantrasyonu arasında bir ilişki olduğu gösterilmiş olup bu durum sadece T hücrelerinin değil aynı zamanda bu antikörlerin da fibroblastları ve adiposit TSHR'ni aktive ederek oftalmopatide rol aldığını göstermektedir (91).

Oftalmopati patogenezinde başka antikorlar da sorumlu tutulmuştur. İnsülin benzeri büyüme faktörü-1'in (IGF-1) ve buna karşı oluşan antikorların Graves hastalarında TSHR'lerin etkisini arttırdığı belirtilmektedir (92).

#### **2.2.4.2. GO risk faktörleri**

##### **Genetik**

Graves hipertiroidisinde gösterilen genetik yatkınlık GO için de eşit derecede geçerlidir. GH veya Hashimoto hastalığı için aile öyküsünün olması, diğer otoimmün hastalıkların varlığı GO sıklığını arttırmaktadır (93).

##### **Cinsiyet**

Hipertiroidizmde olduğu gibi GO de kadınlarda daha sıktır. Ancak oftalmopatisi olan erkeklerde takipler sırasında GO şiddeti daha yüksek olma eğilimindedir (94).

##### **Sigara kullanımı**

Sigara kullanımı GO için tartışmasız bir risk faktörüdür. Hollanda'da yapılan geniş kapsamlı bir çalışmada oftalmopati için OR (Odds Ratio) sigara kullananlarda kullanmayanlara kıyasla 7,7 bildirilmiştir ve bunun yanında sigara kullananlarda GO şiddeti de daha yüksek hesaplanmıştır (95). Sigara kullanımı orbitada konnektif doku artışıyla ilişkilendirilmiştir (96). Bu durumun sigaranın inflame göz üzerindeki direkt toksik etkisinden veya sigaranın meydana getirdiği immünolojik değişimlerden kaynaklandığı düşünülmektedir (97). Bunun yanında yapılan in vitro çalışmalarda sigara kullanımının glikozaminoglikan üretimini ve adipogenezisi doz bağımlı bir şekilde arttırdığı gösterilmiştir (98).

##### **Tedavi**

GH için verilen tedaviler oftalmopati için bir risk faktörü olabilir. Radyoaktif iyot tedavisi oftalmopati gelişimine veya oftalmopatinin kötüleşmesine neden olabilir.

##### **Tirotropin reseptör antikorları**

Yüksek titredeki tirotropin reseptör antikorlarının GH şiddetiyle korele olduğu uzun zamandır bilinmektedir. Bu antikorlar daha doğru ölçülmeye başladıkça hafif şiddette hastalığı

olanlarda bile bu antikorlarla oftalmopati varlığı açısından bağımsız bir korelasyon olduğu görülmüştür (99).

### **2.2.4.3.Epidemiyoloji**

GO insidansı kadınlarda 16/100,000 erkeklerde 2,9/100,000 bildirilmiştir. GH'larının %7,7-42'sinde GO geliştiği bildirilmiş olup Malezya, Çin ve Hindistan'da bu oran yaklaşık %40 hesaplanmıştır (2). Ancak görüntüleme ve tanı yöntemlerinin gelişmesiyle birlikte bilinenden daha çok hastanın oftalmopatisi olduğu anlaşılmıştır, oftalmopati için klinik olarak bulgusu olmayan 17 hastanın MRG ile görüntülenmesi sonrasında 12'sinde ekstraoküler kaslarda genişleme görülmüş olup bunların sekizinde patolojinin bilateral olduğu görülmüştür (100).

GO insidansı Birleşik Devletler'de 16 kadın, 3 erkek/100,00/yıl bildirilmiştir.

Benzer şekilde oftalmopatisi olan çoğu hastada (yaklaşık %90) tiroid hastalığı gösterilmiştir (101). Bazen oftalmopati Hashimoto tiroiditinde de görülmektedir, bu hastalarda tiroid rezervi yeterli olmamasına rağmen TSH reseptör antikorları saptanabilmektedir.

Genellikle oftalmopati ve hipertiroidizm başlangıcı arasında zamansal bir ilişki vardır. Hastaların %20'sinde oftalmopati hipertiroidizm başlangıcından önce görülmektedir, %40'ında eş zamanlı, yaklaşık %20'sinde ise tanıdan sonra 6 ay içerisinde görülmektedir (102).

### **2.2.4.3. Klinik**

GO'nin başlıca klinik özellikleri içerisinde propitozis ve periorbital ödem yer almaktadır. Bununla birlikte görülen major semptomlar içerisinde gözlerde irritasyon hissi, aşırı göz yaşı (bazen soğuk, rüzgar ve ışıkla tetiklenebilen), göz veya retroorbital bölgede ağrı, görme bulanıklığı, diplopi ve görme kaybı yer almaktadır.

Propitozis derecesi orbitanın derinliğine, retrooküler kaslardaki genişleme miktarına bağlıdır. Propitozis genellikle simetriktir, periorbital ödem tarafından maskelenebilir.

### **Fizik muayene**

Hipertiroidizmi olan çoğu hastada aşırı tiroid hormon sekresyonuna sekonder olarak göz kapakları retraktedir. Bununla birlikte GO'da karşılaşılan fizik muayene bulguları içerisinde şunlar yer almaktadır:

- Periorbital ödem, konjonktival ödem
- Göz kapaklarının kapanmamasına bağlı olarak gözde kuruluk ve ülserasyonlar
- Ekstraoküler göz kaslarında fonksiyon kaybı, buna bağlı olarak görme kaybı, çift görme
- Eksoftalmometre ile proptozezin derecesi belirlenebilir.

Oftalmopati semptom ve bulguları arasında genellikle bir korelasyon yoktur. Ancak fizik muayene bulgularına dikkat etmek prognozun ve tedavinin belirlenmesinde önemlidir.

#### 2.2.4.4.Oftalmopati şiddeti

Fizik muayene ile değerlendirilebilen oftalmopati daha objektif yöntemlerle de değerlendirilebilmekte ve evrelendirilebilmektedir. European Group of Graves' Orbitopathy (EUGOGO) grubu tarafından oluşturulan ve American Thyroid Association tarafından da kullanılan GH için göz tutulumu sınıflaması yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (103). Evrelendirme 0-VI arasında değişmektedir (Tablo 4). Bu evrelemeye maddelerin İngiliz alfabesindeki baş harfleri birleştirilerek oluşan “NO SPECS” evrelemesi de denilmektedir.

**Tablo 4. American Thyroid Association göz tutulumu evrelendirmesi**

Evre 0	Semptom ve bulgu yok
Evre I	Semptom yok sadece bulgu var (göz kapağında retraksiyon gibi)
Evre II	Yumuşak doku tutulumu
Evre III	Proptoze
Evre IV	Ekstraoküler kas tutulumu
Evre V	Korneal tutulum
Evre VI	Görme kaybı (optik sinir tutulumu)

Bu evrelendirme yönteminin orbital değişimlerin ileriye dönük objektif olarak değerlendirmesinde bazı sınırlılıkları olması nedeniyle aktivite skorları şeklinde hesaplamalar öne sürülmüştür. Bu skora sistemine “Spontan retrobulber ağrı, göz hareketleri sırasında ağrı, göz kapağında ödem, konjonktival enjeksiyon, kemozis, karunküllerin şişmesi ve göz kapağında eritem” kullanılmakta ve her birinin varlığında bir puan verilmektedir (104). Yakın

bir zamanda Dolman ve arkadaşları tarafından Vizyon, Enflamasyon, Strabismus ve Görünüm alanlarını değerlendiren ve VISA diye kısaltılan sınıflandırma yöntemi ileri sürülmüştür (105).

#### **2.2.4.5. Galektin-3 ve oftalmopati**

Galektinler adaptif ve immün yanıtta önemli rolleri olan glikan bağlayıcı proteinlerdir (6). Karbonhidrat bağlayıcı bölgelerindeki belirgin sekans homolojileri olan lektin ailesinin üyesidir. Bugüne kadar 14 galektin çeşidi bildirilmiştir. İntegrin, laminin ve fibronektin gibi hücre adezyonunda görevli bazı molekülleri bağlama özelliklerinin olması etkilerinin bir kısmına fibronektin gibi moleküllerin aracılık ettiğini göstermektedir (7). Hem hücre dışında hem hücre içinde bulunmaları multifonksiyonel olduklarına işaret etmektedir (8). Üzerinde en sık durulan galektin çeşidi Gal-3 olup neoplastik transformasyon, immün yanıt, adeziv iletişim ve büyüme regülasyonu gibi alanlarla olan ilişkisi incelenmiştir (9). Özellikle tiroidin malign lezyonlarında Gal-1 ve Gal-3 ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (106). Bu çalışmaların ışığında Gal-3 lezyonların malign olduğunun bir göstergesi olduğu düşünülüp cerrahi kararında yararlı olabileceği, malign transformasyonu gösterebileceği düşünülmüştür. Galektinlerin immün regülasyonda görevli olduğuna dair kanıtlar giderek artmaktadır. Otoimmün tiroid hastalıklarında Regülatuar T hücrelerinde fonksiyon bozukluğu, tolerojenik dendritik hücreler gibi immünregülasyon mekanizmalarında bozukluk olduğu bildirilmiştir (107). Galektinler ile GO arasındaki ilişkili inceleyen çalışma şu ana kadar bulunmamaktadır ancak yakın zamanda yapılan bir çalışmada Gal-1 ve Gal-3'ün inflamasyonun önemli mediatörleri arasında yer aldığı bildirilmiş olup (10) Gal-3 serum düzeyinin IL-6 ve C reaktif protein ile korelasyon gösterdiği ifade edilmiştir (11). Patogenezinde inflamasyonun önemli bir yer tuttuğu GO'da galektinlerin de rol oynadığı düşünülebilir. Ancak bu alandaki veriler oldukça kısıtlıdır. Çalışmamızda bu konuya ışık tutulmaya çalışılmıştır.

#### **2.2.4.6. Fibronektin ve oftalmopati**

Fibronektin ekstraselüler matrikste yaygınca bulunan, doku organizasyonunu ve ekstraselüler matriks bileşimini düzenleyen bir proteindir. Birçok glikoprotein bölgesi olan tekrarlı bir yapıya sahiptir, yara iyileşmesi, embriyogenesis, pıhtılaşma (fibrojenik etki) ve hücre

migrasyonu/adezyonunda görevli moleküllerdendir (12). Yakın bir zamanda yapılan çalışmada GO orbital fibroblastlarında içerisinde fibronektinin de olduğu bazı fibrojenik etkili molekül ekspresyon seviyesinin arttığı bildirilmiştir (13).

#### **2.2.4.7. TNF-alfa ve oftalmopati**

GO patogenezinde orbital fibroblastların önemli rolleri olduğu hakkındaki uzlaşma giderek artmaktadır. GO'nun orbitanın inflamatuvar fibroproliferatif bir hastalığı olması orbital fibroblastların hastalığın patogenezinde önemine işaret etmektedir. PDGF sistemiyle aktive olan orbital fibroblastlar proliferasyon göstererek, hyaluronan ve sitokin sekrete etmektedir. Orbita içindeki fibrositlerin IGF-1R ve TSHR ekspresyonunun yüksek seviyede olduğu bildirilmiştir. Buna ek olarak bu fibrositler TSH stimülasyonu neticesinde TNF-alfa ve IL-6 gibi sitokinler sekrete etmektedir (14).

IL-2, IFN-gama, TNF- alfa ve IL-12 gibi Th1 sitokinleri primer olarak hücrel immüniteye aracılık ederken IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 gibi Th2 sitokinleri primer olarak humoral immüniteye ve B hücrelerinin antikor üretimine aracılık etmektedir (108). Yapılan çalışmalarda tiroid ilişkili oftalmopati hastalarında bazı Th1 ve Th2 sitokin seviyesinin arttığı bildirilmiştir (15). Daha spesifik olarak aktif oftalmopatisi olan Graves hastalarında serum IFN-gama, TNF-alfa seviyelerinin arttığı bildirilmiştir, hatta bu yüksekliğin hastalık aktivitesiyle korele olduğu gösterilmiştir (16). Ancak GH, tiroid ilişkili oftalmopati ve kontrol grupları arasında IFN-gama ve TNF-alfa seviyelerinde farklılık olmadığını da gösteren çalışmalar mevcuttur (109; 110; 111).

#### **2.2.5. Hipertiroidizm tedavisi**

Graves hastalığının tedavisinde beta-blokerle semptomların kontrolü ve tiamid, radyoiodin ablasyonu ve cerrahi gibi yöntemlerle tiroid hormon sentezini azaltıcı yöntemler yer almaktadır (112). Hipertiroidizm tanısı koyulur koyulmaz çoğu hastada kontraendikasyon olmadığında ve hatta nedenin Graves hastalığı olduğunun gösterilmesinden bile önce beta-blokerlerle semptomlar kontrol altına alınmaya çalışılır. Beta-blokerler artmış beta-adrenerjik aktivitenin neden olduğu çarpıntı, taşikardi, tremor, anksiyete ve sıcak intoleransı gibi



hipertiroidizm semptomlarını azaltır (113). Bununla birlikte yorgunluk ve nefes darlığı gibi semptomların azalmasında da etkisinin olduğu gösterilmiştir (114).

Tiroid hormon sentezinin azaltılması için kullanılan yöntem ve medikasyonlar içerisinde tionamidler, radyoaktif iyot ve tiroidektomi yer almaktadır, üç tedavi de etkin olduğu için tedavinin seçimi hasta ile birlikte yapılmalıdır (115). Bununla birlikte tedavi seçimini etkileyen bazı bireysel faktörler de vardır. Hafif şiddette hipertiroidizmi olanlarda tionamid ve radyoaktif iyot iyi bir seçenek iken şiddetli hipertiroidizmde cerrahi daha iyi bir seçenek olabilir. Semptom şiddeti hafif olan hastalarda genellikle direkt radyoaktif iyot tedavisi tercih edilirken semptomları daha şiddetli olan hastalarda önce tionamidlerle ötiroidizm sağlanıp sonrasında radyoaktif iyot tedavisi uygulanmaktadır. Hipertiroidizm tedavisinde kullanılan yöntemleri karşılaştıran çok az sayıda randomize kontrollü çalışma bulunmaktadır. Üç tedavinin karşılaştırıldığı bir randomize çalışmada 6 hafta içerisinde serum tiroid hormon seviyesinin normale döndürmede üç tedavi de eşit derecede etkin bulunmuş, tedavi sonrasında ise hastaların %95'i tedavilerinden memnun olduğunu bildirmiştir (116).

Graves tedavisinde yeni bir ajan olan monoklonal antikor Rituksimabın periferik B hücrelerine etki ederek Graves hastalarında remisyonu sağladığı, TRAb seviyelerini azalttığı bildirilmiştir (117).

GH tercih edilen primer tionamid metimazoldür (17). Uzun etki süresi, günde tek doz kullanım kolaylığı ve hızlı etkinlik göstermesi, yan etki profilinin sınırlı olması nedeniyle yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Metimazolün potansiyel teratojenik yan etkileri nedeniyle hamileliğin ilk trimestrında ve metimazole karşı reaksiyon gelişenlerde propiltiyourasil tercih edilmektedir. Tionamid tedavisinin amacı 3-8 hafta içerisinde ötiroid durumun sağlanmasıdır. Bunun sonrasında radyoaktif iyot ve cerrahi ile uzun süreli ötiroid durum hedeflenmektedir. Metimazolün olmadığı bölgelerde veya ülkelerde karbimazol kullanılabilir. Metimazolün olmadığı bölgelerde veya ülkelerde karbimazol kullanılabilir.

Hipertiroidizmin kesin tedavisi için American Thyroid Association (ATA) ve American Association of Clinical Endocrinologists (AACE) tarafından radyoaktif iyot tedavisi önerilmektedir (17). 2011 yılında Birleşik Devletler'de yapılan bir araştırmaya göre tiroid uzmanlarının %60'ı hipertiroidizm tedavisinde radyoaktif iyotu tercih ettiklerini bildirmiştir (118). Tionamid grubu bir ilaç kullanıldığı süre boyunca ötiroidizm sağlarken radyoaktif iyot

ve cerrahide bu durum genellikle kalıcı olarak başarılmaktadır. Ancak radyoaktif iyot tedavisinin GO'ya neden olabileceği veya GO'yu arttırabileceği akılda tutulmalıdır.

Cerrahi tedavi tiroid uzmanlarının sadece %1'i tarafından seçilmektedir (118). Genellikle büyük veya obstrüktif guatrı, orta veya şiddetli oftalmopatisi olan hastalarda tercih edilmektedir. Malignite şüphesi olan nodüllerde de tercih edilmektedir ancak GH'da görülen nodüllerin çoğu benigndir.



### **3. GEREÇ ve YÖNTEM**

#### **3.1. Araştırma özellikleri**

Araştırmamız oftalmopatinin eşlik ettiği ve etmediği hipertiroidi veya Graves hastalarında galektin-3, fibronektin ve TNF-alfa düzeylerinin ölçülmesini ve bu seviyelerin kontrol grubuyla karşılaştırılmasını hedefleyen vaka-kontrol dizaynında bir çalışmadır.

Araştırma; Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran hastalardan, Mart 2014 ile Mayıs 2016 tarihleri arasında hipertiroidi tanısı alan 91 hastanın ve 39 sağlıklı kontrol grubunun katılımıyla gerçekleştirilmiştir. Hasta grubu; Grup-1 oftalmopati Graves, Grup-2 oftalmopatisiz Graves, Grup-3 Graves dışı hipertiroidi olmak üzere 3 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubundan oluşan Grup-4'te ise 39 sağlıklı gönüllü yer almıştır. Hastaların serum örnekleri Bezmialem Vakıf Üniversitesi Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı'nda alınıp İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü'nde çalışılmıştır. Çalışmamız bütün hastalardan ve sağlıklı gönüllülerden bilgilendirilmiş onam formu alınarak 2009 Helsinki Bildirgesi'ne göre gerçekleştirilmiştir.

Araştırma kayıt formunda; hastaya ait ad, soyad, cinsiyet, yaş, boy, kilo, iletişim bilgileri, dosya numarası gibi sosyodemografik verileri, hipertiroidi nedeni, tanı tarihi, oftalmopati varlığı ve derecesi, sigara ve alkol kullanımı, kullanılan ilaç ve dozları, özgeçmiş ve soygeçmiş gibi klinik bilgiler, hipertiroidi için almış olduğu tedaviler ve gal-3, fibronektin, TNF-alfa, CRP, ESR, WBC, TSH, fT3, fT4, Anti-TG, Anti-TPO, TRAb gibi laboratuvar sonuçları yer almaktaydı.

#### **Araştırmaya dahil edilme ve dışlanma kriterleri**

##### **Dahil edilme kriterleri;**

- 18-80 yaş arasında olmak
- Graves veya Graves dışı hipertiroidi tanısı konmuş olmak
- Çalışmaya katılmaya gönüllü olmak

##### **Dışlanma kriterleri;**

- Çalışmaya katılmaya gönüllü olmamak
- 18 yaşından küçük 80 yaşından büyük olmak

- Serum parametrelerini etkileyecek sistemik hastalığı bulunanlar (kronik ke hastalıkları, kollajen ve bağ dokusu hastalıkları, kronik inflamatuvar hastalıklar, malignite vb.)
- Serum parametrelerini etkileyecek ilaç kullanımı olanlar (antiinflamatuvar ilaçlar vb.)
- Son bir hafta içinde viral veya bakteriyel enfeksiyon geçirmiş olanlar

### **Verilerin analizi ve değerlendirilmesi**

Araştırmada elde edilen tüm veriler SPSS (IBM Statistical Package for Social Sciences, IBM Corporation, NY, USA) 21.0 programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler sayı, yüzde, ortalama ve standart sapma olarak özetlenmiştir. Normal dağılım gösterme durumuna göre belirlenen sayısal değişkenler iki grup arasında Bağımsız Gruplarda T testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Normal dağılım göstermeyen sayısal değişkenler iki grup arasında Mann Whitney U testi, üç ve daha fazla grup Kruskal Wallis Testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Çalışmadaki istatistiksel analizlerde p değeri 0.05'in altındaki karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Fibronektin düzeylerinin ölçülmesi**

Fibronektin düzeylerinin ölçümü için "Human Fibronectin Elisa Kit" yöntemi kullanılmıştır. Antikora bağlanmış bir enzimin aktivitesini kantitatif olarak ölçmek için kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntemde antikora karşı antijen, antijene karşı antikor aranır. Antikor için, Fibronektin kiti içerisindeki bilinen antijen Elisa Plate'e birleşik olarak bulunmaktadır. Elisa sisteminde bu antijen her hasta için kullanılmak üzere yapılan Plate çukurların yüzeyine kaplanmış şekildedir. İlk olarak standard solüsyonlar hazırlandı; standard solüsyonlar beş ayrı Ependorf tüp hazırlanarak dilüsyon yöntemiyle oluşturuldu. Her bir tüpe 120 ul "Standard Diluents" konularak en yüksek konsantrasyona sahip tüp içine 120 ul "Original Standard" eklendi ve karışımdan 120 ul bir sonraki tüpe aktarıldı. Bu işlem diğer tüplere de uygulanarak dilüsyon işlemi gerçekleştirildi. Standard solüsyon Fibronektin Antijeni ile Kaplanmış

Plate'de ilk kuyucuk boş bırakılarak blank kabul edildi. Sırasıyla standard solüsyonlar, düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru kuyulara 50 ul koyuldu. Antikor aranacak hasta serumları 40 ul olarak standard solüsyonlardan sonraki kuyucuklara eklendi. Hasta serumlarının kuyucuklara konulmasından sonra, 10 ul Biotin İşaretli Fibronektin Antikoru sadece örneklerin üzerine eklendi. Ardından 50 ul Streptavidin-HRP solüsyonu blank ve standartlar dahil olmak üzere bütün kuyucuklara eklendi. Plate'in üstü seal ile kapatılarak 1 saat boyunca 37 derecede inkübe edildi. 1 saatlik süre bitiminde, plate yıkama tamponu ile yıkandı. Her bir kuyucuğa 50 ul Chromogen A ve Chromogen B Solüsyonları eklendi ve 10-15 dakika boyunca tekrar inkübe edildi. Kuyucuktaki solüsyonların mavileştiği görülünce 50 ul Stop Solüsyonu koyularak reaksiyon durduruldu. Son aşamada, Elisa cihazı kullanılarak hastaların OD(absorbance) değerlerine göre fibronektin konsantrasyonları 1.52 ng/mL sensitivitede ölçüldü.

### **3.2.2. Galektin-3 düzeylerinin ölçülmesi**

Galektin-3 düzeyleri "Human Galectin-3 Elisa Kit" yöntemiyle değerlendirildi. İlk olarak kitin içerisindeki antijen kaplı plate 400 ul yıkama tamponu ile 2 kere yıkandı. Standard solüsyonlar yedi ayrı Ependorf tüp hazırlanarak dilüsyon yöntemiyle oluşturuldu. Her bir tüpe 225 ul Standard Diluents konuldu. Sonra, en yüksek konsantrasyona sahip olan tüp içine 225 ul Original Standard eklendi ve karışımdan 225 ul bir sonraki tüpe aktarıldı. Bu yöntem diğer tüplere de uygulanarak dilüsyon işlemi gerçekleştirildi. Fibronektin Antijeni ile Kaplanmış Plate'de ilk kuyucuk boş bırakılarak blank kabul edildi. Sırasıyla standard solüsyonlar, düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru kuyulara 50 ul koyuldu. Antikor aranacak hasta serumları 50 ul olarak standard solüsyonlardan sonraki kuyucuklara eklendi. Hasta serumlarının kuyucuklara konulmasından sonra, Biotin-Conjugate hazırlanarak 50 ul alındı ve bütün kuyucuklara eklendi. Plate'in üstü adeziv film ile kapatılarak, 2 saat boyunca oda sıcaklığında 400 rpm hızında mikroplate shakerda inkübasyona bırakıldı. Bu süre içerisinde Streptavidin-HRP ve yıkama tamponu hazırlandı. İnkübasyondan sonra kuyucuklar boşaltılarak 3 kere yıkama tamponu ile yıkandı. 100 ul Streptavidin-HRP solüsyonu blank ve standartlar dahil olmak üzere bütün kuyuklara eklendi. Plate'in üstü adeziv film ile kapatılarak, 1 saat mikroplate shaker üzerinde inkübasyona bırakıldı. 1 saatlik süre bitiminde, plate yıkama tamponu ile tekrar yıkandı. Her bir kuyucuga 100 ul TMB Substrate Solüsyonu

eklendi. Karanlık ortamda oda sıcaklığında 10 dakika boyunca inkübe edildi. Sonrasında 100 ul Stop Solüsyonu koyularak reaksiyon durduruldu. Son aşamada, Elisa cihazı kullanılarak hastaların OD(absorbance) değerlerine göre Galektin-3 konsantrasyonları 0.12 ng/mL sensitivitede ölçüldü.

### **3.2.3. TNF-alfa düzeylerinin ölçülmesi**

TNF-alfa düzeyleri “Human TNF-alfa ELISA KIT” yöntemiyle değerlendirildi. İlk olarak standard diluents ve standardlar hazırlandı. Standard solüsyonlar 6 ayrı Ependorf tüp hazırlanarak dilüsyon yöntemiyle oluşturuldu. 1 adet de standard kontrol solüsyonu hazırlandı. Her bir tüpe 200 ul Standard Diluents koyuldu. Sonra, en yüksek konsantrasyona sahip olan tüp içine 200 ul Original Standard eklendi ve karışımdan 200 ul bir sonraki tüpe aktarıldı. Bu yöntem diğer tüplere de uygulanarak dilüsyon işlemi gerçekleştirildi. TNF-alfa Antijeni ile Kaplanmış Plate’de ilk kuyucuk boş bırakıldı. Sırasıyla standard solüsyonlar, düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru kuyulara 100 ul miktarında koyuldu. Antikor aranacak hasta serumları 100 ul olarak standard solüsyonlardan sonraki kuyucuklara eklendi. Son kuyucuğa ise kontrol grubu koyuldu. Hasta serumlarının kuyucuklara konulmasından sonra, Biotin-Conjugate anti-TNF-alfa hazırlanarak 50 ul olacak şekilde bütün kuyucuklara eklendi. Plate’in üstü adezif film ile kapatılarak, 3 saat boyunca oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. Bu süre içerisinde kullanacağımız Streptavidin-HRP ve yıkama tamponu hazırlandı. İnkübasyondan sonra kuyucuklar boşaltılarak yıkama tamponu ile yıkandı. 100 ul Streptavidin-HRP solüsyonu blank ve standardlar dahil olmak üzere bütün kuyuklara eklendi. Plate’in üstü adezif film ile kapatılarak, 30 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakıldı. 1 saatlik süre bitiminde, plate yıkama tamponu ile yıkandı. Her bir kuyucuga 100 ul TMB Substrat Solüsyonu eklendi. Karanlık ortamda oda sıcaklığında 10-15 dakika boyunca inkübe edildi. Sonrasında 100 ul Stop Solüsyonu koyularak reaksiyon durduruldu. Son aşamada, Elisa cihazı kullanılarak hastaların OD (absorbance) değerlerine göre TNF-alfa konsantrasyonları 8 pg/mL sensitivitede ölçüldü.

## 4.BULGULAR

Çalışmamıza 91 hasta ve 39 kontrol grubu olmak üzere toplam 130 gönüllü alındı. Hasta grubu; Grup-1 oftalmopatili Graves, Grup-2 oftalmopatisiz Graves, Grup-3 Graves dışı hipertiroidi olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Grup-1’de 32, Grup-2’de 40, Grup-3’te 19 hasta ve Grup-4 kontrol grubunda bulunan 39 sağlıklı gönüllü vardı. Hasta grubundaki erkeklerin sayısı 35, kadınların sayısı 56 iken, kontrol grubunda 13 erkek, 26 kadın yer almaktaydı. Hasta grubunda median yaş 44 (aralık, 18-80) iken, kontrol grubunda 39 (aralık, 20-57) bulundu. FT4 ortalaması (N=9-19 pmol/L) hasta grubunda  $32,74 \pm 15,71$  pmol/L iken, kontrol grubunda  $13,51 \pm 1,44$  pmol/L saptandı. TSH ortalaması (N=0,35-4,94 uIU/mL) hasta grubunda  $0,09 \pm 0,011$  uIU/mL iken, kontrol grubunda  $13,51 \pm 1,44$  uIU/mL idi. TRAK ortalaması (N= <1.0 IU/L) hasta grubunda  $11,61 \pm 13,3$  IU/L iken, kontrol grubunda  $0,55 \pm 0,244$  IU/L saptandı. Anti TG ortalaması (N=0-4,11 IU/mL ) hasta grubunda  $163,0 \pm 39,2$  IU/mL iken kontrol grubunda  $8,33 \pm 11,42$  IU/mL bulundu. Anti TPO ortalaması (N=0-5,61 IU/mL ) hasta grubunda  $659 \pm 79,3$  IU/mL kontrol grubunda  $20,58 \pm 37,04$  IU/mL bulundu. Hasta ve kontrol grubunun özellikleri Tablo 5’ de gösterilmiştir.

<b>Tablo 5. Hasta ve kontrol grubunun demografik özellikleri</b>				
<b>Karakteristik</b>	<b>Hasta Grubu</b>		<b>Kontrol Grubu</b>	
	<b>(n=91)</b>	<b>Yüzde (%)</b>	<b>(n=39)</b>	<b>Yüzde (%)</b>
<b>Yaş (Yıl)</b> Median (aralık)	44 (18-80)		39 (20-57)	
<b>Cinsiyet</b>				
Erkek	35	37.3	13	33.3
Kadın	56	63.7	26	66.7
<b>FT4 (N=9-19 pmol/L)</b> Ortalama	32,74±15,71		13,51± 1,44	
<b>TSH(N=0,35-4,94 uIU/mL )</b> Ortalama	0,09± 0,011		1,4± 0,72	
<b>TRAK (N= &lt;1.0 IU/L)</b> Ortalama	11,61± 13,3		0,55± 0,24	
<b>ANTİ TG (N=0-4,11 IU/mL )</b>	163,0± 39,2		8,33 ± 11,42	
<b>ANTİ TPO (N=0-5,61 IU/mL )</b>	659± 79,3		20,58± 37,04	

Çalışma grubundaki hastalar hasta ve kontrol grubu olarak analiz edildiğinde, Tablo 6 'da görüldüğü gibi, hasta grubunda TNF ortalaması 69.4 pg/ml (N=25-800 pg/ml) iken kontrol grubunda 56.5 pg/ml saptandı. Gruplar arasındaki fark anlamlı değildi (p=0.07). Hasta grubunda galektin-3 (N=0,47-30 ng/ml) ortalaması 60 ng/ml iken kontrol grubunda 77 ng/ml saptandı. Gruplar arasındaki fark anlamlıydı (p=0.02). Fibronektin(N=2-600ng/ml) ise hasta grubunda 65 ng/ml, kontrol grubunda 67 ng/ml bulundu (p=0.7).



**Tablo 6. Hasta ve kontrol grubu, TNF alfa, Galektin-3 ve Fibronektin düzeyleri**

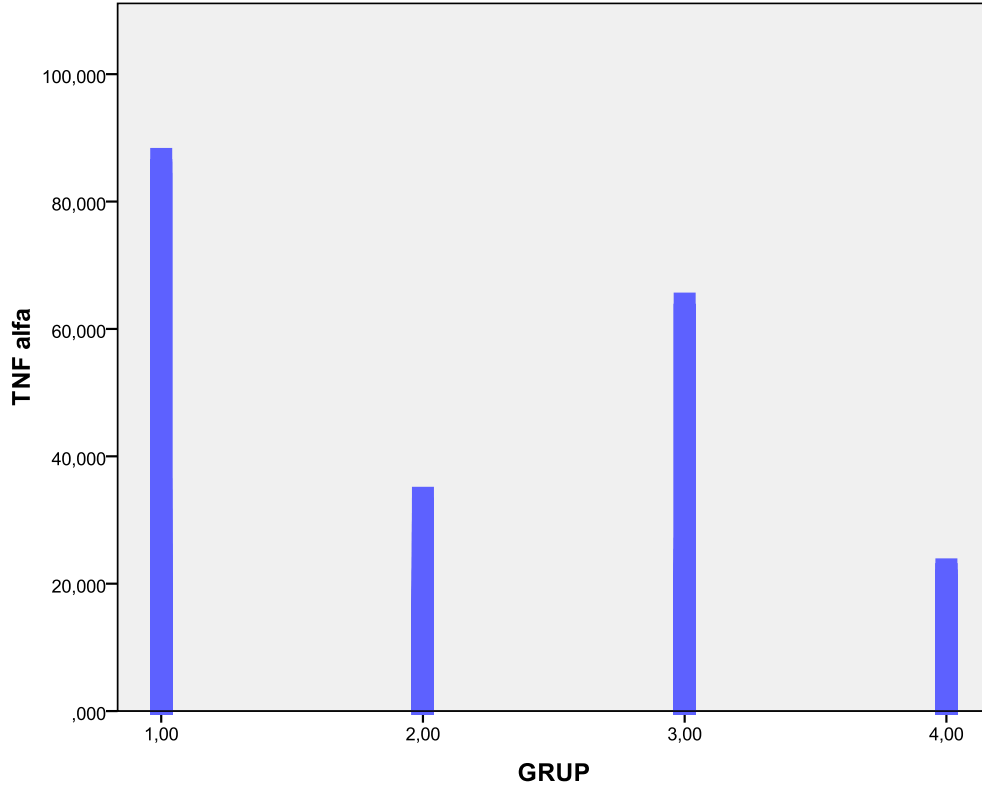
	HASTA GRUBU	KONTROL GRUBU	p
TNF alfa (pg/ml)	69.4	56.5	0.07
Galektin-3(ng/ml)	60	77	0.02
Fibronektin(ng/ml)	65	67	0.7

*TNF alfa (N=25-800 pg/ml), Galektin-3(N=0,47-30ng/ml), Fibronektin(N=2-600ng/ml)*

Tablo 7’de görüldüğü gibi, tüm hasta grupları ve kontrol grubu birlikte analiz edildiğinde, Grup-1 TNF alfa değerleri ortalaması  $21.7 \pm 17.5$  pg/ml, grup-2  $19.2 \pm 4.6$  pg/ml, grup-3  $19.8 \pm 11.17$  pg/ml idi. Grup-4 kontrol grubunda ise TNF alfa  $16.6 \pm 2.3$  pg/ml saptandı. Gruplardaki TNF düzeyleri Şekil 1’de gösterilmiştir.

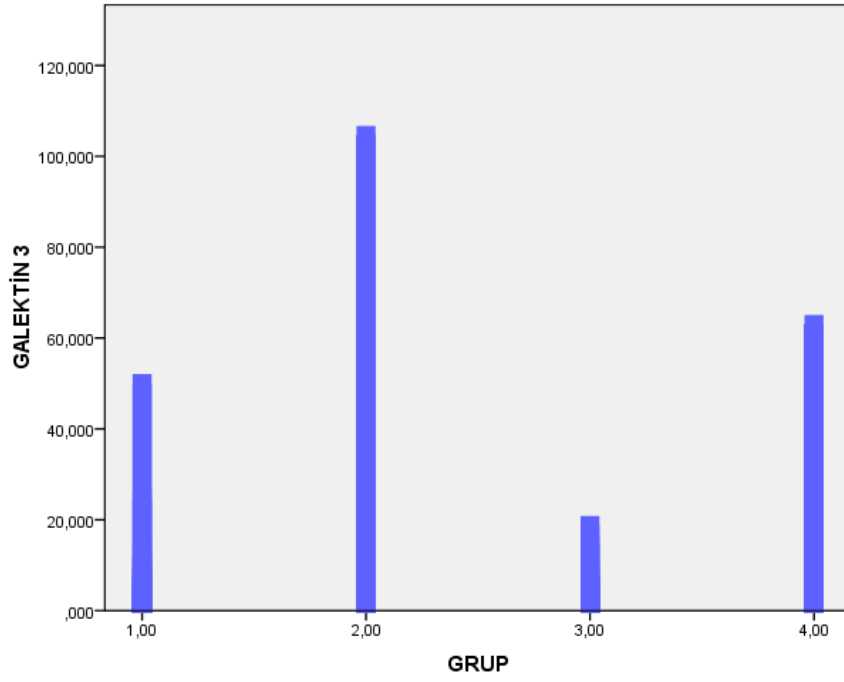
**Tablo 7. Hasta ve kontrol grubu, TNF alfa, Galektin-3 ve Fibronektin düzeyleri karşılaştırılması**

	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	GRUP 4	p
TNF alfa(pg/ml)	$21.7 \pm 17.5$	$19.2 \pm 4.6$	$19.8 \pm 11.17$	$16.6 \pm 2.3$	0.04
Galektin-3(ng/ml)	$5.2 \pm 9.5$	$8.8 \pm 17.9$	$4.5 \pm 4.9$	$6.8 \pm 10.2$	0.02
Fibronektin(ng/ml)	$192.4 \pm 178.4$	$188 \pm 225$	$205.6 \pm 194.4$	$472.3 \pm 547.2$	0.5



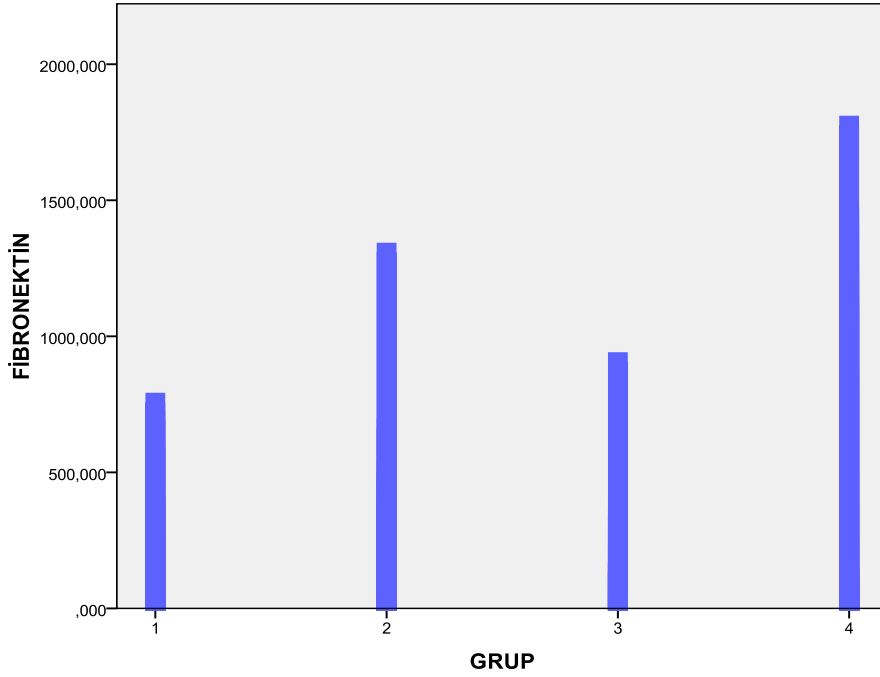
**Şekil 1. Graplardaki TNF alfa düzeyleri**

Galektin-3 değerleri (N=0,47-30ng/ml),; Grup-1'de  $5.2 \pm 9.5$  ng/ml; Grup-2'de  $8.8 \pm 17.9$  ng/ml; Grup-3'te  $4.5 \pm 4.9$  ng/ml; kontrol grubunda  $6.8 \pm 10.2$  ng/ml bulundu. Graplardaki Galektin-3 düzeyleri Şekil 2'de gösterilmiştir.



**Şekil 2. Gruplardaki Galektin 3 düzeyleri**

Fibronektin ortalaması;(N=2-600 ng/ml) grup-1’de  $192.4 \pm 178.4$  ng/ml; grup-2’de  $188 \pm 225$  ng/ml ;grup-3’te  $205.6 \pm 194.4$  ng/ml ; kontrol grubunda  $472.3 \pm 547.2$  ng/ml idi. Gruplardaki fibronektin düzeyleri Şekil 3’te gösterilmiştir.



**Şekil 3. Gruplardaki Fibronektin düzeyleri**

Tüm gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında hasta ve kontrol grubu TNF alfa değerleri hasta grubunda anlamlı yüksek saptanmıştır (p=0,04).Galektin-3 değeri kontrol grubunda yüksek bulunmuştur (p=0,02). Fibronektin değerleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır ( p= 0,579).

Tablo 8’de görüldüğü gibi, hasta grupları kendi içinde karşılaştırıldığında, fibronektin düzeyi dışında gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

**Tablo 8. Hasta Grupları, TNF alfa, Galektin-3 ve Fibronektin düzeyleri karşılaştırılması**

	GRUP 1	GRUP 2	GRUP 3	p
TNF alfa(pg/ml)	21.7 ± 17.5	19.2 ± 4.6	19.8 ± 11.17	0.11
Galektin-3(ng/ml)	5.2 ± 9.5	8.8 ± 17.9	4.5 ± 4.9	0.08
Fibronektin(ng/ml)	192.4 ± 178.4	188 ± 225	205.6 ± 194.4	0.03

## 5. TARTIŞMA

Hipertiroidinin en sık görülen nedeni olan GH, insidans ve prevalansının yüksek olması, neden olduğu problemler nedeniyle önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır. Anti-tiroid tedaviyle kontrol altında tutulmasına rağmen neden olduğu oftalmopati üzerindeki tedavi seçenekleri oldukça kısıtlıdır. Bu nedenle oftalmopati patogenezinin daha iyi aydınlatılması hastalık hakkındaki bilgilere katkı sağlayarak yeni terapötik ajanların gelişimine de hız kazandıracaktır. GH ve GO patogenezinde sitokinlerin önemli rol oynaması göz önüne alınarak, çalışmamızda galektin-3, fibronektin ve TNF-alfa ile GH - GO ilişkisi araştırılmıştır.

Hipertiroidi hastalarında TNF-alfa seviyeleri, sağlıklı kontrol grubunda ise galektin-3 seviyeleri yüksek bulunurken fibronektin düzeyinin farklı olmadığı görülmüştür. Oftalmopati açısından değerlendirildiğinde ise oftalmopati varlığının TNF-alfa, galektin-3 ve fibronektin seviyelerini etkilemediği anlaşılmıştır. Oftalmopati patogenezinde üzerinde daha sık durulmaya başlayan TNF-alfa, galektin-3 ve fibronektin hakkındaki literatür verileri çelişkilidir.

Shen ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada içerisinde TNF-alfa'nın da olduğu Th1 ve Th2 kökenli sitokinlerin oftalmopati ile olan ilişkisi değerlendirilmiştir. Bu çalışmada aktif oftalmopatisi olan hastalarda TNF-alfa düzeyi  $15.73 \pm 7.83$  pg/ml, inaktif oftalmopatisi olanlarda  $10.63 \pm 3.99$  pg/ml, kontrollerde ise  $7.43 \pm 1.08$  pg/ml bulunmuş, aktif oftalmopati hastalarında TNF-alfa seviyesi daha yüksek ( $p < 0.001$ ) bulunmuştur (16). 60 hastanın değerlendirildiği başka bir çalışmada da GO ile TNF-alfa ilişkisi doğrulanmıştır (119). Bulunan bu ilişki Th-1 sitokinlerin retroorbital fibroblastları stimüle ederek hyalüronik asit sentezini arttırmasına ve orbital otoantijen TSH reseptör ekresyonunu modüle edici etkisine dayandırılmıştır. Bununla birlikte orbital fibroblastlar tarafından TSH stimülasyonunun etkisiyle TNF-alfa sentezlendiği de öne sürülmüştür (14). Bu ilişki TNF-alfa sitokin ailesini etkileyen genetik bir polimorfizmin GO'ya yatkınlık oluşturduğu gösterilerek desteklenmiştir (120). TNF-alfa seviyesinin yükselmesi göz önüne alınarak bir anti-TNF ajanı olan infliksimabın oftalmopatide kullanılabileceği düşünülmüş ve başarılı sonuçlar alınmıştır (121). Çalışmamızda hipertiroidide TNF-alfa seviyelerinin yükseldiği bulunmuş ancak oftalmopatisi olan ve olmayan hipertiroidi hastalarında farklılık tespit edilememiştir. TNF-alfa ile oftalmopati ilişkisinin gösterilemediği çalışmalar olmasına rağmen (109; 110; 111)

daha çok çalışmada böyle bir ilişkinin gösterilmesi TNF-alfanın GO patogenezi üzerinde etkili olabileceğini düşündürmektedir. Pedro ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada anti-tiroid tedaviyle birlikte yüksek olan TNF-alfa değerlerinin azalarak kontrollerle aynı seviyeye geldiği gösterilmiştir. Çalışmamızda da benzer şekilde hastaların büyük bir kısmı antitiroid tedavi almaktaydı, bu nedenle TNF-alfa değerlerinin baskılandığı, oftalmopati hastalarda yüksek bulunmadığı düşünülebilir. Bu ilişkinin daha iyi gösterilebilmesi için tedavi öncesi ve sonrası TNF-alfa seviyelerini karşılaştıran bir çalışma yapılabilir. Bunun yanında Anti-TNF tedavilerin GO'da olumlu sonuçlar vermesi de bu ilişkiyi desteklemektedir.

Orbital fibroblastlar GO patogeneziinde major rol oynamaktadır. GO'nun erken dönem inflamatuvar sürecinde görevli olduğu gibi aynı zamanda sonraki doku remodelling sürecinde de etkilidir. Yapılan çalışmalarda oftalmopati hastalarında fibronektin ilişkili genlerde (CTGF) protein ekspresyonunun arttığı ve GO orbital fibroblastlarında içerisinde fibronektinin de olduğu bazı fibrojenik etkili molekül ekspresyon seviyesinin yükseldiği gösterilmiştir (13). Bu ilişkide CTGF over-ekspresyonuna neden olan faktör olarak oksidatif stres suçlanmıştır. Oksidatif stres sadece CTGF'yi stimüle etmemekte, aynı zamanda proinflamatuvar sitokinlerin de sentezini arttırmaktadır (122). Çalışmanın sonucunda CTGF veya oksidatif stresi engelleyebilecek terapötik seçeneklerin oftalmopati tedavisine uyarlanabileceği düşünülmüştür. Diğer taraftan bakıldığında GH ve GO patogenezinin multifaktöryel ve kompleks bir süreç olduğu, sadece inflamasyon ve oksidatif stresle açıklanamayacağı da düşünülebilir. Çalışmamızda fibronektin düzeyi ile oftalmopati ve hipertiroidi ilişkisi araştırılmış, kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır ancak gruplar arasında farklılık izlenmemiştir. Fibronektin seviyesi sistemik kan örneklerinden çalışılmıştır, doku veya gen seviyesinde değerlendirilmemiştir, fibronektin seviyesine etkisi olabilecek diğer faktörler dışlanamamıştır. Verilerin oldukça kısıtlı olduğu bu konuda yaptığımız çalışmamızın sonuçları sistemik kan örneklerinden ELISA yöntemiyle bakılan fibronektin düzeyinin oftalmopati süreciyle ilişkisi olmadığı, oftalmopati takibinde yararlı olamayacağı yönündeydi.

Neoplastik transformasyon, immün yanıt, adeziv iletişimler, inflamasyon ve büyüme regülasyonu gibi multifonksiyonel olduğu düşünülen galektinlerin C-reaktif protein ile korelasyon göstermesi GO gibi inflamasyonun ön planda olduğu hastalıklarla da ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (10). Şimdiye kadar galektin-3 ile GO arasındaki ilişkinin değerlendirildiği bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda bu amaçla Gal-3 ile GO ilişkisi

değerlendirilmiştir ancak beklenen aksine sağlıklı kontrol grubunda seviyesi yüksek bulunmuş olup, hipertiroidi hastalarında düşük bulunmuş ayrıca oftalmopati varlığından etkilenmediği saptanmıştır. Gal-3'ün fonksiyonları kompleks olarak nitelendirilebilir. İntraselüler formları hücreyi apoptozisten korurken, ekstraselüler formları ise adezyon görevleriyle apoptozise aracılık edebilir. Yakın bir zamanda hücre yüzeyinde bulunan reseptörlerdeki çapraz bağlı glikanlara bağlanarak Gal-3'ün sinyal iletiminde de etkili olduğu anlaşılmıştır, bunun yanında korneal epitelyal hücre migrasyonunda, VEGF ve bFGF aracılı anjiyojeneziste de görevli olduğu keşfedilmiştir (123; 124). Bir fare modelinde Gal-3 eksikliğinin metabolik bozukluklara ve endotel disfonksiyonuna neden olduğu gösterilmiştir (125). Bu çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda çalışmamızda ilk defa gösterilen hipertiroidide Gal-3 seviyelerinin azalması anlam kazanmaktadır. Her ne kadar inflamasyonun bir göstergesi olsa da sahip olduğu diğer kompleks fonksiyonlar nedeniyle hipertiroidide seviyeleri azalıyor olabilir.

Gal-3 hücre nükleusunda, stoplazmasında veya hücre yüzeyinde üretilebilmektedir, sistemik dolaşımında da bulunmaktadır. İnflamasyon ve fibrozis sürecinde belirli hastalık ve durumlarda Gal-3 seviyelerinin arttığı gösterilmiştir, bu hastalık ve durumlar içerisinde immün ve inflamatuvar yanıtlar, nörolojik dejenerasyon, otoimmün hastalıklar, aterosklerozis, kalp yetmezliği, diyabet, yara onanımı, enfeksiyon yanıtı, akciğer, böbrek ve karaciğer hastalıkları yer almaktadır (126). Bu veriler ışığında patogenezinde inflamasyon ve fibrozisin olduğu GO ile galektin seviyeleri arasında bir ilişki beklenmektedir. Çalışmamızda böyle bir ilişkinin gösterilememesinin nedeni galektinlerin oftalmopati sürecine özgü olmadığı, özellikle toplumumuzda insidansı sık olan kardiyovasküler olaylar ve metabolik sendrom gibi komorbid durumlardan etkilenmesi, multifonksiyonel özellikte bir molekül olması olabilir. Sitokin profilini etkilediği gösterilen anti-tiroid ilaçların yine galektin seviyelerini de etkilemesi de göz önünde bulundurulmalıdır (127). Kronik kalp yetmezliği olan hastalarda mortalite riskinin ve progresyonun izleminde kullanılan Gal-3 seviyelerini azaltan spironolakton gibi ilaçlar tedavide sık kullanılmaktadır (10). Elde ettiğimiz sonuçlar ışığında galektin-3 seviyesinin anti-tiroid tedavi alan oftalmopati hastalarının izleminde kullanışlı olmadığı düşünülebilir. Bununla birlikte yeni tanı almış hastalarda tedavi öncesi ve sonrası galektin düzeyleri ölçülerek aralarındaki ilişki daha net olarak görülebilir. Hipertiroidide galektin-3 seviyelerinin azalması, hipertiroidi ve neden olduğu oftalmopati tedavisinde

rekombinan Gal-3 kullanılabileceğine işaret etmektedir. Yapılacak olan çalışmalarla bu konuya ışık tutulabilir.

Çalışmamızın bazı sınırlılıkları vardı. Çalışmamızdaki hasta sayısı literatürde belirtilen örneklem sayısının üstünde olmasına karşın kısmen az olarak da nitelendirilebilir. İkincisi galektin, fibronektin ve TNF-alfa seviyeleri tedavi altındaki veya daha önce anti-tiroid tedavi görmüş hastalarda incelenmiştir. Tedavi seçeneklerinin sitokin seviyelerini değiştirdiği göz önüne alındığında bu durum sonuçlara etki etmiş olabilir; ancak tüm hasta grupları için geçerli olan bir sınırlılık olduğu için gruplar arasındaki karşılaştırmalara etkisi muhtemelen daha azdı. Yapılacak olan tedavi öncesi ve sonrası karşılaştırmaları içeren bir çalışmayla bu ilişkiler güçlendirilebilir. Çalışmamızın bir diğer kısıtlılığı ise bakılan moleküller sistemik dolaşımdan alınan kan örneklerinden incelenmiştir. Her ne kadar sistemik dolaşımda bulunuyor olsalar da, oftalmopati sürecinde orbital fibroblastlar tarafından üretilen moleküllerin oküler planda etkilerinin ön planda olması, oftalmopati ile bu moleküller arasındaki ilişkilerin maskelenmesine neden olmuş olabilir. Bununla birlikte çalışmamız bildiğimiz kadarıyla literatürde ilk defa hipertiroidi-oftalmopati ve galektin-3 ilişkisini inceleyen çalışmadır.



## 6. SONUÇ

Çalışmamızda galektin-3 ile oftalmopati ilişkisi ilk defa araştırılmış, beklenilenin aksine hipertiroidi veya GO hastalarında kontrol grubuna kıyasla düşük bulunmuştur. Hipertiroidi hastalarında Galektin-3 düzeylerinin düşük olması bu hastaların tedavisinde veya oftalmopatinin önlenmesinde galektin moleküllerinin veya bunları hedefleyen ajanların yeri olabileceğini düşündürmektedir. Fibronektin düzeylerinde hem hipertiroidi hastalarında hem de kontrollerde farklılık gözlenmezken TNF-alfa düzeyleri hipertiroidi hastalarında kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunarak daha önceki çalışmalar doğrulanmıştır. Bulgularımız galektin-3 ve TNF-alfa'nın GH ile ilişkili olduğu yönündeydi; ancak kullanılan anti-tiroid ilaçların etkisini değerlendiren, inflamasyon belirteçlerini hem sistemik dolaşımında hem de lokal olarak değerlendiren, daha büyük örneklem sayılı çalışmalarla bu ilişkiler daha net bir şekilde aydınlatılabilir. Üzerindeki ilginin her geçen gün arttığı galektinler sahip olduğu kompleks fonksiyonları nedeniyle kardiyovasküler hastalıklar, anjiyojenezis, yara iyileşmesi ve metastaz patogenezinin yanında hipertiroidi patogenezinde de önemli bir yer tuttuğu anlaşılmıştır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Bahn RS. Graves' ophthalmopathy. *N Engl J Med* 2010; 362:726.
2. Lazarus JH (2012) Epidemiology of Graves' orbitopathy, (GO) and relationship with thyroid disease. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 26:273–279.
3. Prabhakar BS, Bahn RS, Smith TJ. Current perspective on the pathogenesis of Graves' disease and ophthalmopathy. *Endocr Rev.* 2003;24:802–35.
4. Starkey KJ, Janezic A, Jones G, Jordan N, Baker G, Ludgate M. Adipose thyrotrophin receptor expression is elevated in Graves' and thyroid eye diseases ex vivo and indicates adipogenesis in progress in vivo. *J Mol Endocrinol.* 2003;30:369–80.
5. Bahn RS, Dutton CM, Natt N, Joba W, Spitzweg C, Heufelder AE. Thyrotrophin receptor expression in Graves' orbital adipose/connective tissues: potential autoantigen in Graves' ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83:998–1002.
6. Rabinovich GA, Toscano MA (2009) Turning 'sweet' on immunity: galectin-glycan interactions in immune tolerance and inflammation. *Nat Rev Immunol* 9: 338–352.
7. Viguiet M, Advedissian T, Delacour D, Poirier F, Deshayes F. Galectins in epithelial functions. *Tissue Barriers.* 2014;2:e29103.
8. Liu FT, Patterson RJ, Wang JL. Intracellular functions of galectins. *Biochim Biophys Acta* 2002;1572:263-73.
9. Danguy A, Camby I, Kiss R. Galectins and cancer. *Biochem Biophys Acta* 2002;1572:285-93).
10. Eliaz I. The Role of Galectin-3 as a Marker of Cancer and Inflammation in a Stage IV Ovarian Cancer Patient with Underlying Pro-Inflammatory Comorbidities. *Case Reports in Oncology.* 2013;6(2):343-349. doi:10.1159/000353574.
11. de Boer RA, van Veldhuisen DJ, Gansevoort RT, Muller Kobold AC, van Gilst WH, Hillege HL, Bakker SJ, van der Harst P. The fibrosis marker galectin-3 and outcome in the general population *J Intern Med.* 2012 Jul;272(1):55-64.

12. To WS, Midwood KS. Plasma and cellular fibronectin: distinct and independent functions during tissue repair. *Fibrogenesis & Tissue Repair*. 2011;4:21.
13. Tsai C-C, Wu S-B, Chang P-C, Wei Y-H. Alteration of Connective Tissue Growth Factor (CTGF) Expression in Orbital Fibroblasts from Patients with Graves' Ophthalmopathy. Soares P, ed. *PLoS ONE*. 2015;10(11):e0143514.
14. van Steensel L , Dik WA . The orbital fibroblast: a key player and target for therapy in graves' ophthalmopathy. *Orbit* 2010 ; 29 : 202 – 206.
15. Esfahanian F., Naimi E., Doroodgar F., Jadali Z. Th1/Th2 cytokines in patients with graves' disease with or without ophthalmopathy. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*. 2013;12(2):168–175.
16. Shen J, Li Z, Li W, et al. Th1, Th2, and Th17 Cytokine Involvement in Thyroid Associated Ophthalmopathy. *Disease Markers*. 2015;2015:609593.
17. Bahn, Burch, et al. Hyperthyroidism and Other Causes of Thyrotoxicosis: Management Guidelines of the American Thyroid Association and American Association of Clinical Endocrinologists *Thyroid* 21(6): 593-646, 2011.
18. Tamas Kelly, Lawrence Denmark, Daniel Z. Lieberman. 2016. Elevated levels of circulating thyroid hormone do not cause the medical sequelae of hyperthyroidism. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 71, 1-6.
19. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Tiroid hastalıkları tanı ve tedavi kılavuzu.2016. p.4
20. Brent, G. A. Clinical practice. Graves' disease. *N. Engl. J. Med.* 358, 2594–2605 (2008).
21. M. Abraham-Nordling, O. Topping, M. Lantz, B. Hallengren, H. Ohrling, G. Lundell, et al. Incidence of hyperthyroidism in Stockholm, Sweden, 2003–2005 *Eur J Endocrinol*, 158 (2008 Jun), pp. 823–827.
22. M. Lantz, M. Abraham-Nordling, J. Svensson, G. Wallin, B. Hallengren. Immigration and the incidence of Graves' thyrotoxicosis, thyrotoxic multinodular goiter and solitary toxic adenoma *Eur J Endocrinol*, 160 (2009 Feb), pp. 201–206.

23. Tunbridge WM, Evered DC, Hall R, et al. The spectrum of thyroid disease in a community: the Whickham survey. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1977 Dec. 7(6):481-9.
24. Morshed S. A., Davies T. F. Graves' Disease Mechanisms: The Role of Stimulating, Blocking, and Cleavage Region TSH Receptor Antibodies. *Horm Metab Res* 2015; 47: 727–734.
25. Bagriacik EU, Klein JR. The thyrotropin (thyroid-stimulating hormone) receptor is expressed on murine dendritic cells and on a subset of CD45RB<sup>high</sup> lymph node T cells: functional role for thyroid-stimulating hormone during immune activation . *J Immunol* 2000; 164: 6158–6165.
26. Adams DD: The presence of an abnormal thyroid-stimulating hormone in the serum of some thyrotoxic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 18:699, 1958.
27. Di Cerbo A, Di Paola R, Menzaghi C, Filippis VD, Tahara K, Corda D, et al. 1999 Graves' immunoglobulins activate phospholipase A2 by recognizing specific epitopes on thyrotropin receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 84:3283-3292.
28. Eckstein AK, Plicht M, Lax H, Neuhauser M, Mann K, Lederbogen S, Heckmann C, Esser J, Morgenthaler NG. Thyrotropin receptor autoantibodies are independent risk factors for Graves' ophthalmopathy and help to predict severity and outcome of the disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Sep;91(9):3464-70.
29. Endo K, Kasagi K, Konishi J, Ikekubo K, Okuno T, Takeda Y, Mori T, Torizuka K: Detection and properties of TSH-binding inhibitor immunoglobulins in patients with Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 46:734, 1978.
30. Mullins RJ, Cohen SBA, Webb LMC, Chernajovsky Y, Dayan CM, Londei M, Feldmann M: Identification of thyroid stimulating hormone receptor-specific T cells in Graves' disease thyroid using autoantigen-transfected Epstein-Barr virus-transformed B cell lines. *Clin Invest* 96:30-37, 1995.

31. Fisfalen M-E, Palmer EM, Van Seventer GA, Soltani K, Sawai Y, Kaplan E, Hidaka Y, Ober C, DeGroot, LJ. Thyrotropin-receptor and thyroid peroxidase-specific T cell clones and their cytokine profile in autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 82:3655-3663, 1997.
32. Mullins RJ, Cohen SBA, Webb LMC, Chernajovsky Y, Dayan CM, Londei M, Feldmann M. Identification of thyroid stimulating hormone receptor-specific T cells in Graves' disease thyroid using autoantigen-transfected Epstein-Barr virus-transformed B cell lines. *J Clin Invest* 96:30-37, 1995.
33. Crisp M, Starkey KJ, Lane C, Ham J, Ludgate M. Adipogenesis in thyroid eye disease. *Investigative Ophthalmol Visual Sci* 41:3249-3255, 2000.
34. Bell A, Gagnon A, Grunder L, Parikh SJ, Smith TJ, Sorisky A. F. Functional TSH receptor in human abdominal preadipocytes and orbital fibroblasts. *Amer J Physiol - Cell Physiol*. 279:C335-C340, 2000.
35. Haraguchi K, Shimura H, Kawaguchi A, Ikeda M, Endo T, Onaya T. Effects of thyrotropin on the proliferation and differentiation of cultured rat preadipocytes. *Thyroid* 9:613, 1999.
36. Hiromatsu Y, Yang D, Bednarczuk T, Miyake I, Nonaka K, Inoue Y. Cytokine profiles in eye muscle tissue and orbital fat tissue from patients with thyroid-associated ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 85:1194-1199, 2000.
37. Wakelkamp IM, Gerding MN, Van Der Meer JW, Prummel MF, Wiersinga WM. Both Th1- and Th2-derived cytokines in serum are elevated in Graves' ophthalmopathy. *Clin Exper Immunol* 121:453-457, 2000.
38. Ludgate M. Animal models of Graves' disease. *Europ J Endocrinol* 142:1-8, 2000.
39. Smith TJ, Hoa N. Immunoglobulins from patients with Graves' disease induce hyaluronan synthesis in their orbital fibroblasts through the self-antigen, insulin-like growth factor-I receptor. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004 Oct;89(10):5076-80.
40. Douglas RS, Naik V, Hwang CJ, Afifyan NF, Gianoukakis AG, Sand D, Kamat S, Smith TJ. *J Immunol*. 2008 Oct 15;181(8):5768-74.

41. DeGroot LJ. Graves' Disease and the Manifestations of Thyrotoxicosis. [Updated 2015 Jul 11]. In: De Groot LJ, Beck-Peccoz P, Chrousos G, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK285567/>.
42. Holm IA, Manson JE, Michels KB, Alexander EK, Willett WC, Utiger RD. Smoking and other lifestyle factors and the risk of Graves' hyperthyroidism. *Arch Intern Med*. 2005 Jul 25;165(14):1606-11.
43. Spitzweg C, Joba W, Heufelder AE. Expression of thyroid-related genes in human thymus. *Thyroid* 9:133, 1999.52.11.
44. Giménez-Barcons M, Casteràs A, Armengol Mdel P, Porta E, Correa PA, Marín A, Pujol-Borrell R, Colobran R. Autoimmune predisposition in Down syndrome may result from a partial central tolerance failure due to insufficient intrathymic expression of AIRE and . peripheral antigens. *J Immunol*. 2014 Oct 15;193(8):3872-9.
45. Wang Z, Zhang Q, Lu J, Jing F. Identification of outer membrane porin f protein of *Yersinia enterocolitica* recognized by antithyrotropin receptor antibodies in Graves' disease and determination of its epitope using mass spectrometry and bioinformatics tools. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010 Aug;95(8):4012-20.
46. Wenzel BE, Heesemann J, Wenzel KW, Scriba PC: Patients with autoimmune thyroid diseases have antibodies to plasmid encoded proteins of enteropathogenic *Yersinia*. *J Endocrinol Invest* 11:139-140, 1988.
47. Wolf MW, Misaki T, Bech K, Tvede M, Silva JE, Ingbar SH: Immunoglobulins of patients recovering from *Yersinia enterocolitica* infections exhibit Graves' disease-like activity in human thyroid membranes. *Thyroid* 1:315-320, 1991.
48. Bassi V, Marino G, Iengo A, Fattoruso O, Santinelli C. Autoimmune thyroid diseases and *Helicobacter pylori*: The correlation is present only in Graves's disease. *World Journal of Gastroenterology : WJG*. 2012;18(10):1093-1097.
49. Hancock SL, Cox RS, McDougall IR: Thyroid diseases after treatment of Hodgkin's disease. *N Engl J Med* 325:599, 1991.

50. Davies TF (2008) Infection and autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 93:674–676.
51. Ahn ES, Subramanian PS. Treatment modalities of thyroid related orbitopathy. *Indian Journal of Ophthalmology*. 2014;62(10):999-1002. doi:10.4103/0301-4738.145994.
52. Vermiglio F, Castagna MG, Volnova E, Lo Presti VP, Moleti M, Violi MA, et al. 1999 Post-Chernobyl increased prevalence of humoral thyroid autoimmunity in children and adolescents from a moderately iodine-deficient area in Russia. *Thyroid* 9:781.
53. Monzani F, Del Guerra P, Caraccio N, Casolaro A, Lippolis PV, Goletti O: Appearance of Graves' disease after percutaneous ethanol injection for the treatment of hyperfunctioning thyroid adenoma. *J Endocrinol Invest* 20:294-298, 1997.
54. Nygaard B, Helmer Knudsen J, Hegedus L, Vege Cand Scient A, Erik Molholm Hansen J: Thyrotropin receptor antibodies and Graves' disease, a side effect of 131-I treatment in patients with nontoxic goiter. *J Clin Endocrinol Metab* 82:2926-2930, 1997.
55. Bonnema SJ, Bennedbaek FN, Veje A, Marving J, Hegedus L. Propylthiouracil before 131I therapy of hyperthyroid diseases: effects on cure rate evaluated by randomised control trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:4439–4444.
56. Hoekman K, von Blomberg-Van Der Flier BME, Wagstaff J, Drexhage HA, Pinedo HM: Reversible thyroid dysfunction during treatment with GM-CSF. *Lancet* 338:541-542, 1991.
57. Coles AJ, Wing MG, Hale G, Waldmann H, Weetman AP, Compston DAS, Chatterjee VKK. Anti-lymphocyte monoclonal antibody treatment of multiple sclerosis suppresses disease activity but induces Graves' disease. *J Endocrinol Invest* 21:3, 1998.
58. Prummel, MF; Laurberg, P. Interferon- disease. *Thyroid* 13 547 2003.
59. Brix TH, Kyvik KO, Christensen K, Hegedus L. Evidence for a major role of heredity in Graves' disease: A population-based study of two Danish twin cohorts. *J Clin Endocrinol Metab* 86:930-934, 2001.
60. Grumet FC, Payne RO, Konishi J, Kriss JP: HL-A antigens as markers for disease susceptibility and autoimmunity in Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 39:1115, 1974.

61. Manglabruks A, Cox N, DeGroot LJ: Genetic factors in autoimmune thyroid disease analyzed by restriction fragment length polymorphisms of candidate genes. *J Clin Endocrinol Metab* 73:236-244, 1991.
62. Yanagawa T, Manglabruks A, DeGroot LJ. Strong association between HLA DQA1\*0501 and Graves' disease in a male Caucasian population. *J Clin Endocrinol Metab* 79:227-229, 1994.
63. Kong YC, Lomo LC, Motte RW, Giraldo AA, Baisch J, Strauss G, Hammerling GJ, David CS. HLA-DRB1 polymorphism determines susceptibility to autoimmune thyroiditis in transgenic mice: definitive association with HLA-DRB1\*0301 (DR3) gene. *J Exp Med* 184:1167-1172, 1996.
64. Kouki T, Sawai Y, Gardine C, Fisfalen M-E, Alegre M-L, DeGroot LJ. CTLA-4 gene polymorphism at position 49 in exon 1 reduces the inhibitory function of CTLA-4 and contributes to the pathogenesis of Graves' disease. *J Immunol* 165:6606-6611, 2000.
65. Kurylowicz A, Kula D, Ploski R, Skorka A, Jurecka-Lubieniecka B, Zebracka J, Steinhof-Radwanska K, Hasse-Lazar K, Hiromatsu Y, Jarzab B, Bednarczyk T. Association of CD40 Gene Polymorphism (C-1T) with Susceptibility and Phenotype of Graves' Disease. *Thyroid*.2005 Oct;15(10):1119-24.
66. Heymann WR. Cutaneous manifestations of thyroid disease. *J Am Acad Dermatol* 1992; 26:885.
67. Kirkeby K, Hangaard G, Lingjaerde P. The Pigmentation of Thyrotoxic Patients. *Acta Med Scand* 1963; 174:257.
68. Fatourehchi V. Thyroid dermopathy and acropachy. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2012; 26:553.
69. Doshi DN, Blyumin ML, Kimball AB. Cutaneous manifestations of thyroid disease. *Clin Dermatol* 2008; 26:283.
70. Ai J, Leonhardt JM, Heymann WR. Autoimmune thyroid diseases: etiology, pathogenesis, and dermatologic manifestations. *J Am Acad Dermatol* 2003; 48:641.



71. Schwartz KM, Fatourechí V, Ahmed DD, Pond GR. Dermopathy of Graves' disease (pretibial myxedema): long-term outcome. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:438.
72. Klein I, Ojamaa K. Thyroid hormone and the cardiovascular system: from theory to practice. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 78:1026.
73. Iglesias P, Acosta M, Sánchez R, et al. Ambulatory blood pressure monitoring in patients with hyperthyroidism before and after control of thyroid function. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 63:66.
74. Sawin CT, Geller A, Wolf PA, et al. Low serum thyrotropin concentrations as a risk factor for atrial fibrillation in older persons. *N Engl J Med* 1994; 331:1249.
75. Kahaly G, Hellermann J, Mohr-Kahaly S, Treese N. Impaired cardiopulmonary exercise capacity in patients with hyperthyroidism. *Chest* 1996; 109:57.
76. Mercé J, Ferrás S, Oltra C, et al. Cardiovascular abnormalities in hyperthyroidism: a prospective Doppler echocardiographic study. *Am J Med* 2005; 118:126.
77. Ch'ng CL, Biswas M, Benton A, et al. Prospective screening for coeliac disease in patients with Graves' hyperthyroidism using anti-gliadin and tissue transglutaminase antibodies. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005; 62:303.
78. Dalla Costa M, Mangano FA, Betterle C. Thymic hyperplasia in patients with Graves' disease. *J Endocrinol Invest* 2014; 37:1175.
79. Nightingale S, Vitek PJ, Himsworth RL. The haematology of hyperthyroidism. *Q J Med* 1978; 47:35.
80. Ross DS. Hyperthyroidism, thyroid hormone therapy, and bone. *Thyroid* 1994; 4:319.
81. Fatourechí V, Ahmed DD, Schwartz KM. Thyroid acropachy: report of 40 patients treated at a single institution in a 26-year period. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:5435.
82. Stern RA, Robinson B, Thorner AR, et al. A survey study of neuropsychiatric complaints in patients with Graves' disease. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 1996; 8:181.

83. Weetman AP, Cohen S, Gatter KC, et al. Immunohistochemical analysis of the retrobulbar tissues in Graves' ophthalmopathy. *Clin Exp Immunol* 1989; 75:222.
84. Wall JR, Salvi M, Bernard NF, et al. Thyroid-associated ophthalmopathy--a model for the association of organ-specific autoimmune disorders. *Immunol Today* 1991; 12:150.
85. Grubeck-Loebenstein B, Trieb K, Sztankay A, et al. Retrobulbar T cells from patients with Graves' ophthalmopathy are CD8+ and specifically recognize autologous fibroblasts. *J Clin Invest* 1994; 93:2738.
86. Heufelder AE, Herterich S, Ernst G, et al. Analysis of retroorbital T cell antigen receptor variable region gene usage in patients with Graves' ophthalmopathy. *Eur J Endocrinol* 1995; 132:266.
87. Valyasevi RW, Erickson DZ, Harteneck DA, et al. Differentiation of human orbital preadipocyte fibroblasts induces expression of functional thyrotropin receptor. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:2557.
88. Villanueva R, Inzerillo AM, Tomer Y, et al. Limited genetic susceptibility to severe Graves' ophthalmopathy: no role for CTLA-4 but evidence for an environmental etiology. *Thyroid* 2000; 10:791.
89. Davies T, Marians R, Latif R. The TSH receptor reveals itself. *J Clin Invest* 2002; 110:161.
90. Bahn RS. Understanding the immunology of Graves' ophthalmopathy. Is it an autoimmune disease? *Endocrinol Metab Clin North Am* 2000; 29:287.
91. Davies TF. The thyrotropin receptors spread themselves around. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79:1232.
92. Tsui S, Naik V, Hoa N, et al. Evidence for an association between thyroid-stimulating hormone and insulin-like growth factor 1 receptors: a tale of two antigens implicated in Graves' disease. *J Immunol* 2008; 181:4397.
93. Davies TF. Graves' disease: Pathogenesis. In: Werner & Ingbar's *The Thyroid*, 8th, Braverman LE, Utiger RD (Eds), Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia 2000. p.518.

94. Perros P, Crombie AL, Matthews JN, Kendall-Taylor P. Age and gender influence the severity of thyroid-associated ophthalmopathy: a study of 101 patients attending a combined thyroid-eye clinic. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1993; 38:367.
95. Prummel MF, Wiersinga WM. Smoking and risk of Graves' disease. *JAMA* 1993; 269:479.
96. Szucs-Farkas Z, Toth J, Kollar J, et al. Volume changes in intra- and extraorbital compartments in patients with Graves' ophthalmopathy: effect of smoking. *Thyroid* 2005; 15:146.
97. Costabel U, Bross KJ, Reuter C, et al. Alterations in immunoregulatory T-cell subsets in cigarette smokers. A phenotypic analysis of bronchoalveolar and blood lymphocytes. *Chest* 1986; 90:39.
98. Cawood TJ, Moriarty P, O'Farrelly C, O'Shea D. Smoking and thyroid-associated ophthalmopathy: A novel explanation of the biological link. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:59.
99. Eckstein AK, Plicht M, Lax H, et al. Thyrotropin receptor autoantibodies are independent risk factors for Graves' ophthalmopathy and help to predict severity and outcome of the disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:3464.
100. Villadolid MC, Yokoyama N, Izumi M, et al. Untreated Graves' disease patients without clinical ophthalmopathy demonstrate a high frequency of extraocular muscle (EOM) enlargement by magnetic resonance. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:2830.
101. Werner SC. Euthyroid patients with early eye signs of Graves' disease; their responses to L-triiodothyronine and thyrotropin. *Am J Med* 1955; 18:608.
102. Bartley GB, Fatourech V, Kadrmas EF, et al. Chronology of Graves' ophthalmopathy in an incidence cohort. *Am J Ophthalmol* 1996; 121:426.
103. Barrio-Barrio J, Sabater AL, Bonet-Farriol E, Velázquez-Villoria Á, Galofré JC. Graves' Ophthalmopathy: VISA versus EUGOGO Classification, Assessment, and Management. *Journal of Ophthalmology*. 2015;2015:249125.

104. Wartofsky L. Classification of eye changes of Graves' disease. *Thyroid* 1992; 3:235.
105. Dolman PJ, Rootman J. VISA Classification for Graves orbitopathy. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2006 Sep-Oct; 22(5):319-24.
106. Xu XC, El-Naggar AK, Lotan R. Differential expression of galectin-1 and galectin-3 in thyroid tumors. Potential diagnostic implications. *Am J Pathol* 1995;147:815-22.
107. Ruiz-Riol M, Barnils M P, Colobran Oriol R, Pla AS, Borrás Serres FE, Lucas-Martin A, et al. (2011) Analysis of the cumulative changes in Graves' disease thyroid glands points to IFN signature, plasmacytoid DCs and alternatively activated macrophages. as chronicity determining factors. *J Autoimmun* 36: 189–200.
108. Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Alternative Medicine Review*. 2003;8(3):223–246.
109. Yamamoto K., Itoh M., Okamura T., et al. Relative levels of the inflammatory cytokine TNF $\alpha$  and the soluble CD40 ligand profile in serum correlate with the thyrotoxic activity of Graves' disease. *Thyroid*. 2012;22(5):516–521.
110. Salvi M., Pedrazzoni M., Girasole G., et al. Serum concentrations of proinflammatory cytokines in Graves' disease: effect of treatment, thyroid function, ophthalmopathy and cigarette smoking. *European Journal of Endocrinology*. 2000;143(2):197–202.
111. Pedro A. B. B., Romaldini J. H., Takei K. Changes of serum cytokines in hyperthyroid graves' disease patients at diagnosis and during methimazole treatment. *NeuroImmunoModulation*. 2010;18(1):45–51.
112. Singer PA, Cooper DS, Levy EG, et al. Treatment guidelines for patients with hyperthyroidism and hypothyroidism. Standards of Care Committee, American Thyroid Association. *JAMA* 1995; 273:808.
113. Geffner DL, Hershman JM. Beta-adrenergic blockade for the treatment of hyperthyroidism. *Am J Med* 1992; 93:61.

114. Tagami T, Yambe Y, Tanaka T, et al. Short-term effects of  $\beta$ -adrenergic antagonists and methimazole in new-onset thyrotoxicosis caused by Graves' disease. *Intern Med* 2012; 51:2285.
115. Ross DS. Radioiodine therapy for hyperthyroidism. *N Engl J Med* 2011; 364:542.
116. Törring O, Tallstedt L, Wallin G, et al. Graves' hyperthyroidism: treatment with antithyroid drugs, surgery, or radioiodine--a prospective, randomized study. Thyroid Study Group. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:2986.
117. El Fassi D, Nielsen CH, Bonnema SJ, et al. B lymphocyte depletion with the monoclonal antibody rituximab in Graves' disease: a controlled pilot study. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:1769.
118. Burch HB, Burman KD, Cooper DS. A 2011 survey of clinical practice patterns in the management of Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97:4549.
119. Wakelkamp, I. M. M. J., Gerding, M. N., Van Der Meer, J.W. C., Prummel, M. F. and Wiersinga, W. M. (2000), Both Th1- and Th2-derived cytokines in serum are elevated in Graves' ophthalmopathy. *Clinical & Experimental Immunology*, 121: 453–457.
120. Khalilzadeh O., Noshad S., Armin Rashidi A., and Amirzargar A. Graves' Ophthalmopathy: A Review of Immunogenetics. *Current Genomics*, 2011, 12, 564-575.
121. Durrani, O. M.; Reuser, T. Q.; Murray, P. I. Infliximab: a novel treatment for sight-threatening thyroid associated ophthalmopathy. *Orbit*, 2005, 24, 117-119.
122. Smith TJ. Orbital fibroblasts exhibit a novel pattern of responses to proinflammatory cytokines: potential basis for the pathogenesis of thyroid-associated ophthalmopathy. *Thyroid* 2002; 12: 197–203. PMID: 11952039.
123. Saravanan C, Liu FT, Gipson IK, Panjwani N. Galectin-3 promotes lamellipodia formation in epithelial cells by interacting with complex N-glycans on alpha3beta1 integrin. *J Cell Sci*. 2009;122:3684–3693.

124. Partridge EA, Le Roy C, Di Guglielmo GM, Pawling J, Cheung P, Granovsky M, et al. Regulation of Cytokine Receptors by Golgi N-Glycan Processing and Endocytosis. *Science*. 2004;306:120–124.

125. Darrow AL, Shohet RV. Galectin-3 deficiency exacerbates hyperglycemia and the endothelial response to diabetes. *Cardiovascular Diabetology*. 2015;14:73. doi:10.1186/s12933-015-0230-3.

126. Yang RY, Rabinovich GA, Liu FT. Galectins: structure, function and therapeutic potential. *Expert Rev Mol Med*. 2008;10:e17.

127. M. Salvi, M. Pedrazzoni, G. Girasole, N. Giuliani, R. Minelli, J.R. Wall, E. Roti. Serum concentrations of proinflammatory cytokines in Graves' disease: effect of treatment, thyroid function, ophthalmopathy and cigarette smoking *Eur. J. Endocrinol*. 43 (2000), pp. 197–202.