



**T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**TİROİD DİSGENEZİSİNE BAĞLI KONJENİTAL
HİPOTİROİDİLİ ÇOCUKLARDA PAX-8, TTF-1 VE
TTF-2 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ali Seçkin Yalçın

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mehmet Keskin**

Mayıs-2011

**T.C.
GAZIANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**TİROİD DİSGENEZİSİNE BAĞLI KONJENİTAL
HİPOTİROİDİLİ ÇOCUKLARDA PAX-8, TTF-1 VE
TTF-2 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ROLÜ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Ali Seçkin Yalçın

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Mehmet Keskin**

I. ÖNSÖZ

Hekimlik meslek hayatımda önemli bir adım olan uzmanlık eğitimimi almamdaki katkısı, tez aşamasında verdiği bilgi, fikir ve destekleri için, danışman hocam Sayın Doç. Dr. Mehmet Keskin'e,

Tezimin hazırlanma sürecinde yardımlarını esirgemeyen Uzm. Dr. Yılmaz Kör'e,
Aldığım uzmanlık eğitimim boyunca, gece gündüz demeden bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan tüm değerli hocalarıma,

Bu zorlu eğitim süresi boyunca, iyi günde ve kötü günde yanımda olan bütün asistan arkadaşlarıma,

Genetik çalışmalarda desteklerini esirgemeyen Yard. Doç. Dr. Serdar Öztuzcu'ya

Tezimin istatistiksel analiz hazırlığında desteklerini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Seval Kul'a,

Yaşadığım tüm zorluklarda yanımda olan sevgili eşim Esra Yalçın'a

Tüm hayatım boyunca yanımda olan aileme, anneme ve babama,

Teşekkür ve Şükranlarımı Sunarım...

Dr. Ali Seçkin Yalçın

Gaziantep – 2011

II. İÇİNDEKİLER

I. ÖNSÖZ.....	I
II. İÇİNDEKİLER.....	II
III. ÖZET.....	V
IV. ABSTRACT.....	VI
V. KISALTMALAR	VII
VI. TABLO LİSTESİ	VIII
VII. ŞEKİL LİSTESİ.....	IX
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Embriyolojik Gelişim	3
2.1.1. Tiroidin Embriyolojik Gelişimi	4
2.2. Fonksiyonel Gelişim	4
2.3. Tiroidin Anatomisi	6
2.4. Tiroidin Histolojisi	7
2.5. Yenidoğanda Tiroid Fonksiyonları	9
2.6. Etiyoloji	10
2.6.1. Primer Hipotiroidi	10
2.6.1.1. Tiroid Disgenезisi	10
2.6.1.2. Tiroid Hormon Üretim ve Etkinliğindeki Bozukluklar	12
2.6.1.2.1. Tiroid Hormon Direnci	13
2.6.1.3. Hipotalamik – Hipofizer Hipotiroidi	13
2.6.1.4. Geçici Hipotiroidi	14
2.7. Konjenital Hipotiroidide Klinik Yaklaşım	17
2.8. Konjenital Hipotiroidide Tanısal Yaklaşım	19
2.9. Yenidoğan Doğumsal Hipotiroidi Tarama Testleri	21
2.10. Tarama Testi Sonuçlarını Yorumlama	23
2.10.1. Düşük T4 ve Yüksek TSH Değerleri	23
2.10.2. Normal T4 ve Yüksek TSH Değerleri	23
2.10.3. Düşük T4 ve Normal TSH Değerleri	23

2.10.4. Düşük T4 ve Gecikmiş TSH Yüksekliği	23
2.11. Konjenital Hipotiroidide Tedavi ve Uzun Dönem Prognoz	24
2.12. Konjenital Hipotiroidide İzlem	26
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	29
3.1. Grupların Oluşturulması ve Kan Örneklerinin Elde Edilmesi.....	29
3.1.1 Kan Örneklerinin Toplanması	29
3.2. Gereçler	29
3.2.1. Kimyasal Maddeler	30
3.2.2. Çözeltiler	30
3.3. DNA Eldesi	31
3.4 Polimeraz Zincir Reaksiyonu	31
3.4.1 PCR Yönteminde Kullanılan Primerler	32
3.4.2 PCR Karışımının Hazırlanması ve PCR Şartlarının Primerlere Göre Optimizasyonu	32
3.5. Elektroforez	34
3.6. SSCP Yöntemi	34
3.6.1 SSCP'nin Yapılışı	35
3.6.1.1. Camların Hazırlanması	35
3.6.1.2. Jelin Hazırlanması	35
3.6.1.3. Örneklerin Hazırlanması	36
3.6.1.4. Örneklerin Yüklenmesi	36
3.6.1.5. Örneklerin Görüntülenmesi	36
3.7. DNA Dizi Analizi	36
3.7.1 PCR Amplifikasyonu	37
3.7.2 Eksosap ile Pürüfikasyon	37
3.7.3 DNA Dizileme Protokolü	37
3.7.4 PCR Reaksiyon Aşaması	37
3.7.5 -DNA Dizi Analizi 'Cycle Sequencing' Ürünlerinin SEPHADEX G-50 ile Temizlenmesi	38
3.7.6. DNA Dizi Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi.....	38
3.8. İstatistiksel Analiz	39
4. BULGULAR	41

5.TARTIŞMA.....	53
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	61
7. KAYNAKLAR	65

III. ÖZET

TİROİD DİSGENEZİSİNE BAĞLI KONJENİTAL HİPOTİROİDİLİ ÇOCUKLARDA PAX-8, TTF-1 VE TTF-2 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ROLÜ

Dr. Ali Seçkin Yalçın

Uzmanlık Tezi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mehmet Keskin

Mayıs-2011, 82 Sayfa

Amaç: Tiroid disgenezisine bağlı konjenital hipotroidi tanısı almış çocuklarda PAX-8, TTF-1 ve TTF-2 gen polimorfizmlerinin rolünün olup olmadığının araştırılması hedeflenmektedir. Çalışılan polimorfizmlerin bir fonksiyonu olup olmadığının belirlenmesi hastalığın tanı, tedavi ve patogeneziyle ilgili araştırma ve uygulamalara yeni açılımlar sağlayabilecek ve konjenital hipotroidinin önlenmesi ve yeni tedavi hedeflerinin belirlenebilmesi ile ilgili önemli bilgiler verecektir.

Materyal ve Metod: Bu çalışma 100 hasta, 100 kontrol grubu olmak üzere toplam 200 çocuk ile yapıldı. Tüm hastaların tanı yaşı, cinsiyet, TSH düzeyi, sT4 düzeyi, tiroglobülin düzeyi, ultrasonografi bulguları kaydedildi. Hasta ve kontrol grubundan alınan kanlardan öncelikle DNA eldesi yapıldı. TTF1 (rs3739914), TTF1 (2054238), TTF2 (rs998532) ve PAX8 (rs80049915) gen bölgelerinin PCR yöntemiyle çoğaltılması işlemi yapıldı. DNA dizileme işleminin ardından her gen bölgesi için SNP (single nucleotide polymorphism) değişimi olan diziler tespit edilmiştir.

Sonuçlar: TTF1 (rs3739914) gen bölgesinde 100 hasta ve 100 kontrol grubunda polimorfizm saptanmadı. TTF1 (2054238 C/T) gen bölgesinde 76 hastada polimorfizm saptanmadı, 24 hastada CT heterozigot mutasyonu saptandı. Kontrol grubunun 80'inde polimorfizm saptanmadı, 20'sinde CT heterozigot mutasyonu saptandı. TTF1 (2054238 C/T) gen polimorfizminin hastalık için bir risk faktörü olmadığı görüldü (odds=0,766[0,387-1,518], p=0,445). TTF-2 (rs998532) gen bölgesinde 94 hastada polimorfizm saptanmadı, dört hastada GA heterozigot mutasyonu saptandı, iki hastada GG homozigot mutasyonu saptandı. Kontrol grubunda 96 hastada polimorfizm saptanmadı, dört hastada GA heterozigot mutasyon saptandı. TTF-2 (rs998532) gen polimorfizminin hastalık için bir risk faktörü olmadığı görüldü (odds=0,707[0,189-2,641], p=0,606). PAX8 (rs80049915) gen bölgesinde 100 hasta ve 100 kontrol grubunda polimorfizm saptanmadı.

Yorum: Tiroid disgenezisine bağlı konjenital hipotroidili çocuklarda PAX-8, TTF-1 ve TTF-2'nin sık görülen SNP gösteren bölgelerinde hastalıkla ilişkili polimorfizm saptanmadı.

Anahtar Kelimeler: Çocuk, Disgenezis, Genotip, Konjenital hipotroidi.

IV. ABSTRACT

THE ROLE OF PAX-8, TTF-1 AND TTF-2 GENE POLYMORPHISMS IN CHILDREN WITH CONGENITAL HYPOTHYROIDISM DUE TO THYROID DYSGENESIS

Dr. Ali Seçkin Yalçın

Residency Thesis, Department of Pediatrics

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet Keskin

May-2011, 82 Pages

Objective: We aimed to investigate whether there is any relation between congenital hypothyroidism due to thyroid dysgenesis and PAX-8, TTF-1, TTF-2 gene polymorphisms in children. Investigations of functions of polymorphisms in these genes can provide valuable information for further studies about diagnosis, treatment, pathogenesis of congenital hypothyroidism, and may give new ideas about preventing this disease.

Patients and Methods: 200 children were included to this study. A hundred of 200 children were suffering from congenital hypothyroidism and the remainder was healthy. Age of diagnosis, gender, TSH level, free T4 level, thyroglobulin level and ultrasonographic findings of all patients were recorded. Firstly DNA extraction was done from blood samples of all children. TTF1 (rs3739914), TTF1 (2054238), TTF2 (rs998532), and PAX8 (rs80049915) gene regions were proliferated by PCR method. Sequences which have single nucleotide polymorphism (SNP) have determined for each gene region after lining up procedure for DNA.

Results: No polymorphism was found on TTF1 (rs3739914) gene region in neither congenital hypothyroidism group nor healthy group. Polymorphism was found on gene region of TTF1 (2054238 C/T) in 76 children with congenital hypothyroidism and also CT heterozygote mutation was in 24 patients of the same group. No polymorphism was found in 80 children of healthy group but CT heterozygote mutation was detected in 20 ones of the same group. It was found that gene polymorphism of TTF1 (2054238 C/T) is not a risk factor for this disease (odds=0,766[0,387-1,518], p=0,445). No polymorphism was detected on TTF-2 (rs998532) gene region in 94 children of congenital hypothyroidism group; GA heterozygote mutation in 4 children and GG homozygote mutation in 2 children was detected in the same group. No polymorphism were detected in 96 children of healthy group, GA heterozygote mutation was detected in 4 children of the same group. It was found that TTF2 (rs998532) gene polymorphisms are not a risk factors for this disease (odds=0,707[0,189-2,641], p=0,606). No polymorphism is detected in on PAX8 (rs80049915) gene region in neither congenital hypothyroidism group nor healthy group.

Conclusion: No polymorphism on the mostly seen regions of PAX-8, TTF-1, and TTF-2 genes which shows SNP was found in children with congenital hypothyroidism due to thyroid dysgenesis.

Keywords: Child, Dysgenesis, Genotype, Congenital hypothyroidism

V. KISALTMALAR

Simge	Açıklama
KH	Konjenital hipotiroidi
TRH	Tirotropin salgılatıcı hormon
TSH	Tiroid stimulan hormon
GH	Büyüme hormon
ACTH	Adrenokortikotropin salgılatıcı hormon
FSH	Folikül stimüle edici hormon
LH	Lüteinize edici hormon
USG	Ultrasonografi
ST4	Serbest T4
ST3	Serbest T3
T4	Total T4
T3	Total T3
TG	Tiroglobulin
TTF-1	Tiroid transkripsiyon faktör 1
TTF-2	Tiroid transkripsiyon faktör 2
PAX8	Parid box gene 8
SNP	Tek nükleotit polimorfizm
MDI	Monodeiyodinaz
MIT	Monoiyodo tirozin
DIT	Diiyodo tirozin
TSHR	Tiroid stimulan hormon reseptörü
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
IgG	İmmünglobülin G
Tc 99	Teknesyum 99
EDTA	Etilen diamin tetra asetik asit
DNA	Deoksiribonükleik asit
Rpm	Dakika devir sayısı
SSCP	Single Strand Conformation Polymorphism

VI. TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Yenidoğanda Tiroid Fonksiyonları	10
Tablo 2. PAX8 Mutasyonları	11
Tablo 3. TTF1 Mutasyonları	12
Tablo 4: Konjenital Hipotiroidi Sebeplerinin Dağılımı ve Neonatal Dönemdeki Yaklaşık Görülme Sıklıkları	16
Tablo 5: Tiroid Hormon Üretim ve Etkinliğinde Bozukluğa Yol Açan Doğuştan Anomaliler	17
Tablo 6: Yenidoğanda Klinik Bulguların Sıklığı	18
Tablo 7: Doğumsal Hipotiroidili Hastaların Takibi.....	28
Tablo 8: TTF1, TTF2 ve PAX8 Genlerine Ait Primerler ve Bu Primerlere Ait Ürün Büyüklükleri ve Yapışma Sıcaklıkları	32
Tablo 9. TTF1 Bölgesine Ait PCR İçeriği ve Miktarları.....	32
Tablo 10. TTF1 Bölgesi PCR Döngü Şartları	33
Tablo 11. TTF2 Bölgesine Ait PCR İçeriği ve Miktarları.....	33
Tablo 12. TTF2 Bölgesi PCR Döngü Şartları.....	33
Tablo 13. PAX8 Bölgesine Ait PCR İçeriği ve Miktarları.....	34
Tablo 14. PAX8 Bölgesi PCR Döngü Şartları.....	34
Tablo 15: Kontrol ve Hasta Grubunda Saptanan Gen Polimorfizmleri Arasındaki İlişki	48

VII. ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Hipotalomohipofizer Tiroid Aksı	3
Şekil 2: Gebelik Süresince Fetusta Tiroid Hormon, TSH, ve TBG Düzeyleri.....	5
Şekil 3: Tiroid Bezinin Anatomik Lokalizasyonu.....	7
Şekil 4: Tiroid Bezinin Histolojik Görünümü.....	8
Şekil 5: TTF1 Gen Bölgesinde (2054238 C/T) CT Genotipi Dizininin Gösterilmesi.....	38
Şekil 6: TTF-2 Gen Bölgesinde (rs998532) GA Genotipi	39
Şekil 7: PAX8 Gen Bölgesinde (rs80049915) AA Genotipi	39
Şekil 8: Cinsiyetin Hasta Ve Kontrol Grubuna Göre Dağılımı.....	41
Şekil 9: Hasta Grubunda Cinsiyete Göre Başvuru yaşı	42
Şekil 10: Hasta sayılarına göre TSH dağılımı.....	43
Şekil 11: Hasta sayılarına göre ST4 dağılımı	43
Şekil 12: Hasta Sayılarına Göre TSH ile ST4 Dağılımı Arasındaki İlişki.....	44
Şekil 13: Cinsiyete Göre TSH Düzeyleri	44
Şekil 14: ST4 Düzeylerinin Cinsiyete Göre Dağılımı.....	45
Şekil 15: USG Bulguları	45
Şekil 16: USG Bulguları ile TSH Düzeyleri Arasındaki İlişki.....	46
Şekil 17: USG Bulguları ile ST4 Düzeyleri Arasındaki İlişki.....	46
Şekil 18: Cinsiyet ile USG Bulguları Arasındaki İlişki.....	47
Şekil 19: TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi ile TSH düzeyleri arasındaki ilişki	48
Şekil 20: TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi ile TSH düzeyleri arasındaki ilişki.....	49
Şekil 21: TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi ile ST4 düzeyleri arasındaki ilişki.....	49
Şekil 22: TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi ile ST4 düzeyleri arasındaki ilişki	50
Şekil 23: TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi ile cinsiyet arasındaki ilişki.....	51
Şekil 24: TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi ile cinsiyet arasındaki ilişki.....	51

Şekil 25: TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi ile tiroid USG bulguları arasındaki ilişki.....	52
Şekil 26: TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi ile tiroid USG bulguları arasındaki ilişki.....	52

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Konjenital hipotiroidi, yenidoğan bebeklerde tiroid hormon yetersizliği ile karakterize klinik bir durumdur. Bu hastalığın önemi, toplumlarda sık rastlanması ve önlenebilir zeka geriliğinin en sık görülen nedeni olmasıdır; ayrıca tedavisi etkin, kolay ve ucuzdur (1).

Tiroid disgenezileri, konjenital hipotiroidizmli olguların % 80-85'ini oluşturmakta olup, çoğu sporadiktir (2). Disgenezi etyolojisinde genetik faktörlerin de rol oynadığı saptanmıştır. Özellikle tiroid transkripsiyon faktörü-1 (TTF-1), tiroid transkripsiyon faktörü-2 (TTF-2) ve paired box gene 8 (PAX-8) mutasyonu olan olgularda tiroid disgenezileri tarif edilmiştir. Ancak bu olguların sporadik olgulara oranı düşüktür (3). Tiroidin gelişmesi, büyümesi ve boyunda normal pozisyona yerleşmesinden çeşitli genler sorumludur. Bu genlerin kodladığı transkripsiyon faktörlerinin bir kısmı tiroide spesifik olmadığı halde bir kısmı tiroid bezinin gelişiminde rol oynar. En az üç 'homebox' geni tiroid bezinin gelişimini programlamada özel görev alır. Foliküler hücre fonksiyonları, normal tiroglobulin, tiroid peroksidaz ve TSH reseptör aktiviteleri için bu üç genin fonksiyonuna gerek duyulur. Bu genlerin kodladığı transkripsiyon faktörleri TTF-1, TTF-2 ve PAX-8'dir. Bu faktörlerden her biri değişik hücre gruplarında eksprese olur. TTF-1 tiroid, akciğer ve beyinde; TTF-2 tiroid, akciğer, böbrek, hipofizde; PAX-8 ise tiroid ve böbrekte eksprese olur. Farelerde yapılan çalışmalar tiroidin morfogenezinde rol oynayan genler hakkında detaylı bilgiler vermektedir. TTF-1, TTF-2 ve PAX-8 gen fonksiyonları durdurulmuş farelerde, tiroid tomurcuğunun oluştuğu ancak farinks tabanından normal yerleşimine inmediği gösterilmiştir. Sadece TTF-1 ve PAX-8 gen fonksiyonu durdurulmuş farelerde ise tiroid tomurcuğunun gelişerek migrasyona başladığı ancak erken dönemde regresyona uğradığı saptanmıştır. Bu bulgularla TTF-2 geninin tiroid migrasyonunda önemli rol oynadığı sonucuna varılmıştır (4). TTF-1 geni kromozom 14q12-13.3 lokalizasyonunda yer alır. TTF-1 gen fonksiyonu durdurulmuş farelerde ağır akciğer hipoplazisi ve solunum yetmezliğine bağlı ölü doğumlar, tiroid ve hipofiz bezi aplazisi ve ağır nörolojik defektler gösterilmiştir. Heterozigot TTF-1 gen

mutasyonu olan insanlarda konjenital hipotiroidi ve ağır respiratuar distres sendromu tanımlanmıştır (5,6). Ayrıca son yıllarda gen delesyonu, 'mis-sense' veya 'frameshift' mutasyonu gösterilmiş hastalarda çeşitli tiroid bozuklukları, koreoatetoz, mental retardasyon ve pulmoner komplikasyonlar bildirilmiştir. TTF-2 geni kromozom 9q22 lokalizasyonunda yer alır. TTF-2 gen fonksiyonları durdurulmuş farelerin ağır ayrık damağı olduğu ve doğduktan sonra 48 saat içinde öldüğü rapor edilmiştir. Bu farelerde tiroid bezi normal yerleşiminde bulunamamıştır. Homozigot TTF-2 gen mutasyonu tanımlanan iki kardeşte ise tiroid disgenezis, yarık damak ve koanal atrezi gösterilmiştir (7). PAX-8 geni kromozom 2q12-14 lokalizasyonunda yer alır. PAX-8 gen fonksiyonu durdurulmuş farelerde tiroid hipoplazisi ve renal anomaliler tanımlanmıştır. Bugüne kadar insanlarda homozigot PAX-8 gen mutasyonu gösterilmemiştir. Ancak heterozigot olan üç hastada farelerdekine benzer tiroid hipoplazisi ve renal agenezi bildirilmiştir (8,9). PAX-8 gen mutasyonu sonucu tiroid foliküler yapının tamamen kaybolduğı, sadece kalsitonin salgılayan parafoliküler hücrelerin korunduğı tespit edilmiştir. Bu bilgiler ışığında PAX-8 geninin parafoliküler hücre gelişimi üzerinde etkisinin olmadığı, TTF-1 ve TTF-2 genlerinin ise hem foliküler hem de parafoliküler hücrelerin gelişiminde sorumlu olduğu gösterilmiştir (10).

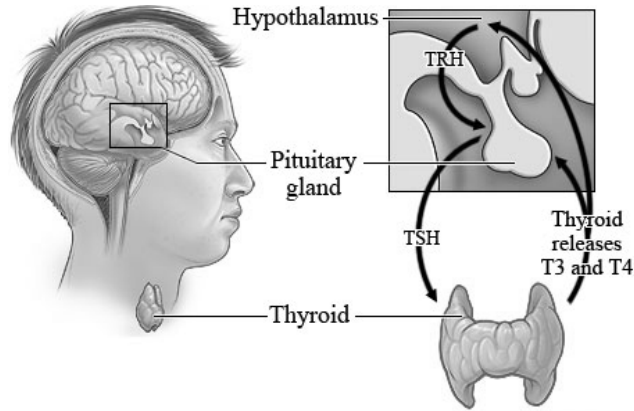
Bu çalışmanın amacı; tiroid disgenezisine bağlı konjenital hipotiroidili çocuklarda PAX-8, TTF-1 ve TTF-2 gen polimorfizmlerinin rolünün açıklığa kavuşturulmasıdır.

2.GENEL BİLGİLER

Tiroid ve hastalıkları ile ilgili ilk bilgiler asırlar öncesine dayanır. M.Ö. 400-M.S. 500 tarihleri arasında And dağlarında Tumaco kültürüne ait guatrlı hipotiroid cüce heykellerinin bu konunun ilk örneklerini oluşturduğu belirlenmiştir (11). 1600'lü yılların başlarında anatomistler insanlarda tiroid bezini tanımlamışlar ve bu bezdeki büyümenin boyun önünde şişliğe neden olduğunu fark etmişlerdir. Bununla beraber bu bezi, istmustan oluşan şekli bir kelebeği veya "H" harfini anımsatmasına rağmen tiroid Yunanca kalkan anlamına gelen "thyreos" kelimesinden türemiştir. Bu ismin verilmesi kendi şeklinden ziyade kalkana benzeyen tiroid kıkırdağına olan komşuluğu nedeni ile olduğu belirtilmektedir.

2.1. Embriyolojik Gelişim

Tiroid bezinin fonksiyonu üç farklı hücre topluluğunun normal gelişimine bağlıdır. Bu gelişim tiroid bezinde follikül hücrelerin, hipofizde tiroid stimulan hormon (TSH) salgılayan tiotrop hücrelerin ve hipotalamusta tirotropin salgılatıcı hormon (TRH) salgılayan nörosekretuvar hücrelerin farklılaşma ve maturasyonunu kapsar. Başlangıçta birbirinden bağımsız gelişen bu üç hücre topluluğunun entegre sisteme dönüşümü gebeliğin ilk haftasından yenidoğan dönemine kadar uzanan uzun bir süreçte gerçekleşir. Hipotalomohipofizer tiroid aksı Şekil 1'de görülmektedir.



Şekil 1. Hipotalomohipofizer tiroid aksı

2.1.1. Tiroidin Embriyolojik Gelişimi

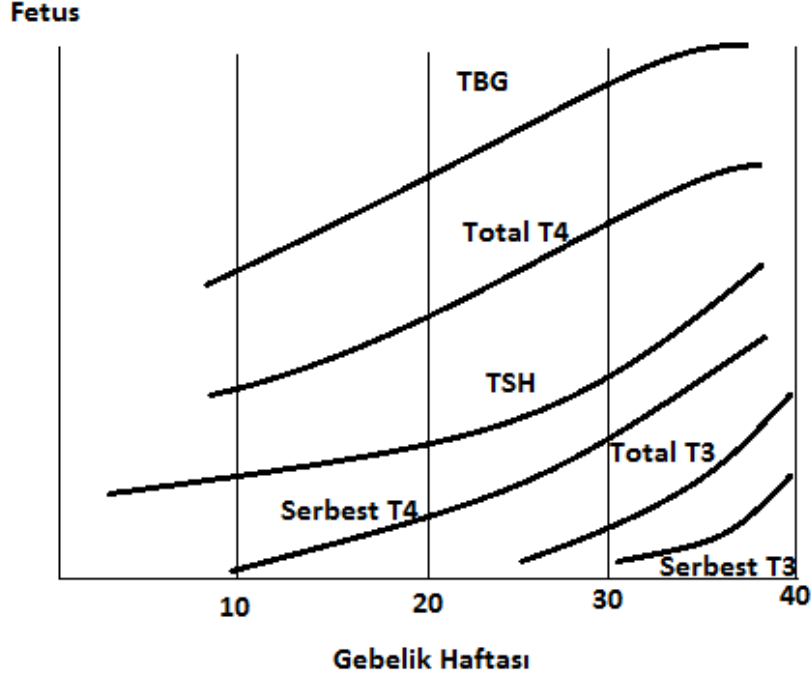
Kökeni farklı iki komponentten (santral, lateral) gelişen tiroid, fekdasyondan yaklaşık bir ay sonra, embriyo yaklaşık 3.5-4.0 mm uzunlukta iken belirir (12,13). Gebeliğin 16-17. günlerinde yutak tabanının epitelinde önce bir kalınlaşma olur, bunu bir divertikulum oluşumu izler. Tiroidin santral komponentini oluşturan bu divertikül gelişimin ilerlemesi ile kaudal yönde ilerleyerek hamileliğin yedinci haftasında trakea ve tiroid kıkırdağının ön yüzünde nihai lokalizasyonuna yerleşir ve 8-9. haftaya kadar istmus ve lateral loblardan oluşan (kalkan şeklinde) görünümünü kazanır (14,15). Lateral komponentler santral komponent ile hemen hemen aynı zamanda embriyonun 4-5. farengeal poşlarının “ultimobrankial” kısımlarından gelişir. Bu komponentin tiroid dokusuna katkısı % 10-15’dir. Bu dokudan köken alan C hücreleri (parafoliküler hücreler) santral komponent ile 6-7. haftalarda birleşir. Bununla beraber ultimobrankial dokudan follikül hücrelerinin de gelişebileceği ileri sürülmektedir (15). Tiroid orjininden normal lokalizasyonuna ilerlerken arkasında tiroglossal kanal olarak bilinen epitelyum hücrelerinden oluşan bir kalıntı bırakır. Tiroglossal kanal gebeliğin 7-8. haftalarına kadar kaybolur. Tiroid orjinini aldığı bölge, dilin 2/3 ön ve 1/3 arka kısmının birleşmesinde küçük bir çöküntü (foromen caecum) halinde kalırken kanalın en alt bölümündeki hücrelerin farklılaşması ise piramidal lobu oluşturur.

2.2. Fonksiyonel Gelişim

İnsan fetusunda TRH sekresyonunun ontogenezi ve fonksiyonu tüm yönüyle açıklık kazanmamıştır. Gebelikte maternal TRH plasentayı geçer. Ancak fetusta TSH salınımını uyararak için yeterli değildir. Gebeliğin erken dönemlerinde fetus pankreasında, ortalarında ise hipotalamusta immunoaktif TRH’nın ölçülebilir düzeyde bulunduğu ve gebeliğin son üç ayında serum TRH düzeyinde belirgin artış olduğu bildirilmektedir. İnsan fetusunda gebeliğin son haftalarında hipotalamus dışı dokulardan üretilen TRH’nın katkısı ve fetal kanda TRH katabolizmasını etkileyen enzim sisteminin yetersizliği nedeniyle serum TRH düzeyi yüksek bulunur (16).

Fetusta hipofizin TSH sentez ve sekresyonu gebeliğin 10-13. haftasında ortaya çıkar. Bu haftalardan itibaren hipotalamusun maturasyonu TRH salınımında artma gebeliğin 18-20. haftaları arasında serum TSH düzeyinde yükselmeye neden olur. Bundan sonraki süreçte fetusta TSH düzeyi, annenin TSH düzeyinden yüksek

değerlerde doğuma değin devam eder (12,13). Fetusta serum TSH düzeyi 12. haftada 4 mU/L'den, doğum öncesi yaklaşık 8-10 mU/L'ye yükselir (13,14). Gebelik süresince fetusta tiroid hormon, TSH, ve TBG düzeylerinin değişimi Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2. Gebelik süresince fetusta tiroid hormon, TSH, ve TBG düzeyleri

Fetusta tiroid bezi fonksiyona gebeliğin 10-11. haftasında başlar. Bezin fonksiyonel maturasyonunun tamamlanması ise gebelik süresince devam eder. Tiroid hücreleri tiroglobulin sentez kapasitesini fetal yaşamın 4-5. haftasında kazanır (13). İyodid tutulumu (iodide uptake) ve tiroksin sentezi ise 10-11. haftalarda başlar. Bununla beraber tiroid hormon biyosentezi 18-20. haftaya kadar sınırlıdır. Bu haftalarda follikül hücrelerinde iyodid tutulumu yükselir ve serum T4 düzeyi artmaya başlar. Gerek total T4, gerekse sT4 düzeylerindeki bu yükseliş gebeliğin son haftalarına kadar devam eder (13,16). Oniki haftalık fetusta serum T4 düzeyi 2 µg/dL iken gebeliğin son haftalarında 10 µg/dL'ye ulaşır. Tiroksin düzeyindeki bu artıştan karaciğerde tiroksin bağlayıcı globulin (TBG) üretimi, tiroide T4 sentezinde yükselme, TSH'nın hem sentezinde hem de tiroidin TSH'ya olan duyarlılığında artma sorumlu tutulmaktadır. Serbest T4 düzeyi ise 12. haftada yaklaşık 0.1 ng/dL iken doğuma yakın haftalarda 1.5 ng/dL'ye yükselir.

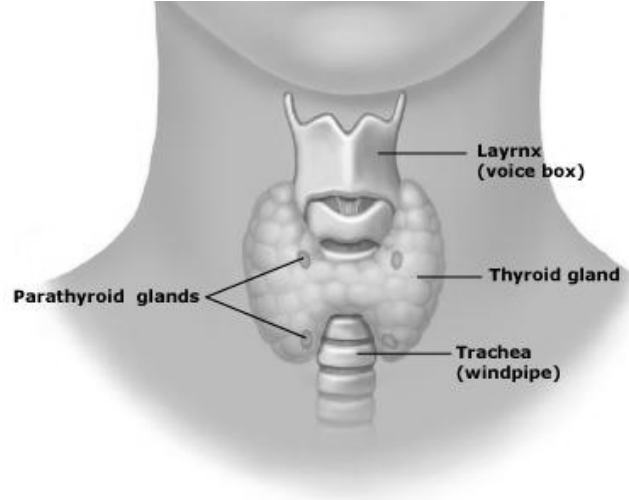
Fetusta serum T3 düzeyi 30. haftaya kadar düşüktür ve 12. haftada 6 ng/dL iken doğuma yakın 45-50 ng/dL'ye yükselir (14,16). Bu durum fetusta periferik dokuda T4'ün T3'e dönüşümünün sınırlı olması ve serum T3 kaynağının tiroide bağımlı bulunması ile açıklanmaktadır. İnsan fetusunda Tiroid hormon metabolizması özgün olup erişkinden kalite ve kantite yönünden farklılık gösterir. Fetusda vücut kitle indeksinin her birimine düşen T4 üretim ve yıkım hızı erişkinden 10 kat fazladır. Tiroksin metabolizmasındaki enzimatik yollar da erişkinden farklılık gösterir. Fetusta tip I iyodotironin monodeiyodinaz (MDI-I) düzeyi düşüktür ve fetusun dokularında T4'ün T3'e dönüşümü göreceli olarak düşük olur. Tip II MDI (MDI-II) enzimi ise gelişimi tiroid hormonuna bağımlı dokularda lokal olarak hücre içinde T4'ün T3'e dönüşümünü sağlayarak gerekli T3 kaynağını oluşturur. Hipotiroid fetusta MDI-I aktivitesi azalır, MDI-II aktivitesi ise artar. Böylece hipotiroid fetus T4'ü karaciğerden beyine yönlendirerek beyin ve hipofizde hücre içi T3'ün kaynağını yükseltir. Buna karşın tip III MDI (MDI-III) aktivitesi plasenta, özellikle fetusun karaciğer ve böbreğinde yüksek düzeyde bulunur. Bu enzim T4'ün inaktif 3, 3', 5' -triiodo-L thyronin (reverse T3- rT3), T3'ün T2'ye dönüşümünü katalize eder (13,16).

Fetusta tiroid hormonlarının sekresyonu kısaca özetlenecek olursa, hipotalamustan TRH sekresyonunda yükselme, folikül hücresinin TSH'ya duyarlılığının artması ve tirotrop hücrelerin tiroid hormonlarına duyarlılığının artması arasındaki dengenin oluşumu ile sağlanır. Fetusta hipotalamus-hipofiz-tiroid aksının maturasyonu komplekstir. Bununla beraber TSH/ sT4 oranının kademeli azalması ile karakterizedir. Bu oranın gebeliğin ortalarında 15, zamanında doğan bebekte 4.7, erişkinde ise 0.97 bulunması bu aksın kademeli maturasyonunun göstergesi olarak ileri sürülmektedir (16).

2.3. Tiroidin Anatomisi

Tiroid bezi (glandula thyroidea) kahverengimsi-kırmızı renkli, damar bakımından çok zengin bir iç salgı bezidir. Trakeanın hemen önünde yer alır ve trakeayı kısmen çevreler. İstmus ile birleşen iki lobdan oluşur. Nadiren istmus bulunmayabilir. Sıklıkla orta hattın hemen sol yanında istmustan hyoid kemiğe doğru uzanan bir lob (lobus piramidalis) mevcuttur. İstmus 1.2–2 cm uzunluğunda, 2 cm genişliğinde, trakeanın ön yüzünde birinci ve ikinci halkaları arasında yer alır. Her iki lobun tepesi

tiroid kıkırdağının üst sınırına, tabanı 4. veya 5. trekea halkaları hizasına kadar uzanır. Lateral loblar 3–4 cm uzunluğunda olup kalınlığı ve genişliği 2–2.5 cm dir. Oniki haftalık fetusta tiroid ağırlığı 80 mg, yenidoğanda bir gram, erişkinde 15-20 gramdır. Tiroid bezinin anatomik lokalizasyonu Şekil 3’te gösterilmiştir.



Şekil 3. Tiroid bezinin anatomik lokalizasyonu

Tiroid bezi “capsula fibrosa” adı verilen bağ dokusu ile sarılıdır. Bu kapsül bezin parankimasına uzantılar göndererek bezi loblara ve lobüllere ayırır. Bu kapsülün dışında bulunan “fascia cervicalis profunda”nın “lamina pretrakealis”i krikoid ve tiroid kıkırdağının “linea obliqua”sına tutunarak sonlanır. Bu nedenle tiroid yutma işlemi sırasında larinks ile birlikte hareket eder. Fibröz kapsül ile lamina pretrakealis arasında paratiroid bezler yer alır (17).

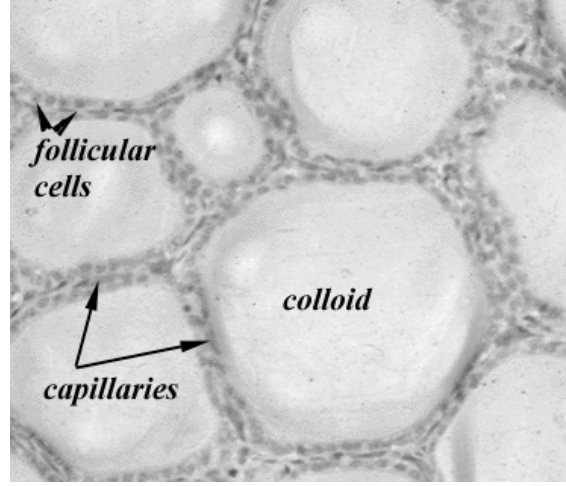
2.4. Tiroidin Histolojisi

Tiroid parankim dokusu stroma içine yerleşmiş embriyolojik kökeni farklı 3 tip epitelyum hücre topluluğundan oluşur. Bu hücreler;

1.Folikül hücresi: Tiroid hormon biyosentezinden sorumlu olup hücrelerin en büyük yüzdesini oluşturur.

2.Parafoliküler C hücreleri: Kalsitonin sentez ve salınımından sorumludur. Follikül epitelyum hücreleri arasında veya tiroid interstisyumunda lokalize olup bu hücrelerin follikül hücresinden farklı, follikül lümenine sınırı olmaması ve mitokondri yönünden zengin olmasıdır.

3.Ultimobrankial cisim artıklarından oluşan, görevini yitirmiş epitelyum hücreleridir. Tiroid bezinin histolojik görünümü Şekil 4'te gösterilmiştir.



Şekil 4. Tiroid bezinin histolojik görünümü

Tiroidin fonksiyonel ünitesi folliküldür. Follikül, kolloid (jelatinimsi bir madde) içeren lümeni tek tabaka kuboid epitelle çevrili küresel bir yapıdır. Yapısal olarak tiroid bezi tek bir arter ile beslenen 20–40 follikül içeren lobüllerden oluşur. Follikül hücreleri TSH uyarımına bağlı olarak skuamöz (yassı) veya kolumnar (prizmatik) görünüm kazanabilir. Aynı bezde kolumnar epitelle döşenmiş folliküllerin yanında, kuboid veya yassı epitelle sarılmış içi koloid dolu büyük folliküllerde yer alır. Folliküllerin çapları değişken olup ortalama 200 μm 'dir. Bu değişkenliklere rağmen folliküllerin genel ortalamasında epitelyum hücreleri yassı ise tiroid hipoaktif kabul edilir. Buna karşın tiroide uyarıcı ilaç verildiğinde follikül epitelyum hücrelerinin yüksekliğinde belirgin artış (kolumnar) gözlenir. Bu değişiklikler, hücrelerin aktivitelerinin işareti olup folliküllerin büyümesi ve kolloid miktarında azalma ile birlikte gerçekleşir (18).

Işık mikroskopunda, follikül hücreleri nötrofilik bir stoplazma, hücrenin kaidesinde yerleşmiş bir nükleus, Periodic-acid-schiff (+) vakuoller (fagozomlar) içerir (17).

Elektron mikroskop ile tiroidin incelenmesinde, follikül hücrelerinin apikal yüzeyinde çok sayıda lümene doğru uzanan ince, mikrovillüsler bulunur. Apikal veya subapikal stoplazma içinde çok sayıda veziküller mevcuttur. Küçük egzositotik veziküller (15-200 nm) yeni sentezlenen tiroglobülinleri içerir. Bu veziküller apikal

plazma membranına yapışarak tiroglobulinin follikül lümenine geçişini sağlar ve iyodinasyon işlemi burada gerçekleşir. Büyük veziküllere (500 – 4000 nm) kolloid damlacıklar adı da verilir ve iyot içeren tiroglobulinden oluşur. Hücre stoplazması mikrozomlardan zengin, yaygın bir endoplazmik retikulum içerir. Bu endoplazmik retikulumda tiroglobulin öncülleri yer alır. Follikül hücresinin apikal yüzeyinde veya yüzeye yakın bir yerinde iyodinasyon, egzozitoz ve kolloid rezorbsiyonu adı verilen hormon sekresyonunun başlangıç fazı ortaya çıkar (13,17).

Tiroid, salgısı kendi içinde çok fazla miktarda depolanan tek iç salgı bezidir. İnsanlarda folliküllerin içinde organizmaya üç ay yetecek kadar hormon bulunur.

2.5. Yenidoğanda Tiroid Fonksiyonları

Umbilikal arter kanında serum T4 düzeyi 10.8 µg/dL (6.6-15 µg/dL), serum sT4 düzeyi 1.7 ng/dL (2-4.5 ng/dL), serum T3 düzeyi 50 ng/dL (14-86 ng/dL) olup rT3, T3 sulfat düzeyleri yüksek bulunur. Serum TBG düzeyi yüksek olmakla birlikte anne TBG düzeyinden düşük değerdedir (13,19).

Doğumu izleyen ilk saatler içinde tiroid fizyolojisinde önemli değişiklikler ortaya çıkar. Doğumdan sonra ilk 30 dakika içerisinde serum TSH düzeyi 60-70 mU/L'ye kadar yükselir (2). TSH'nın pik değerine ulaşmasını takiben ilk 24 saat içinde hızlı bir düşme görülür ve genellikle bu süre sonunda 20 mU/L'nin altındadır. TSH değeri 48 saat sonunda stabil bir değer kazanarak dördüncü günde 1.3–16 mU/L arasında değişir. TSH'daki bu dramatik salınımın nedeni açıklık kazanmamıştır. Her ne kadar bu yükselmeden doğum sonrası çevre ısısının düşüklüğü sorumlu tutulmuşsa da bu konuda yeterli kanıt yoktur. Buna karşın anensefalik yenidoğanlarda TSH'da böyle bir artış saptanmamıştır. Ayrıca TRH düzeyi de ilk 24 saat yüksek bulunmuştur. Bu bağlamda TSH dramatik salınımından ısı farkının yanı sıra TRH düzeyindeki yükseklik de sorumlu olabilir (20).

Serum T4 ve sT3 düzeylerinde ilk 24 saat içinde yükselme (serum T4 düzeyinde % 50 artış) izlenir. Bu artış hipertiroid sınırlara kadar uzanabilir. Bundan sonra her iki fraksiyonda da ilk hafta süresince kademeli azalma görülür. Serum T4 düzeyinin 1-3. günlerde 16.5 µg/dL (11-22 µg/dL), 1-4. haftalarda ortalama 12.7 µg/dL (8.2-17.2 µg/dL) bulunduğu bildirilmiştir (2,19).

Serum T3 düzeyinde doğumdan sonra ilk 24 saat içinde umbilikal arter değerlerine göre 3-4 kat artış izlenir. Bunu izleyen birkaç gün içinde T3 düzeyinde artış devam eder. Serum T3 düzeyi 1-3. günlerde 220 ng/dl (110-330 ng/dl), 1-4. haftalarda ise ortalama 170 ng/dl (117-263 ng/dl) bulunur. T3 düzeyindeki bu artışta dramatik yükselen TSH'nın yanı sıra tiroid dışı dokularda MDI-I veya MDI-II etkisi ile T4'ün T3'e dönüşümündeki artışın ana faktör olduğu düşünülmektedir. Bunun yanı sıra kahverengi yağ dokusunda MDI-II'nin adrenerjik uyarılmasının serum T3 düzeyindeki artışa katkısı olabileceği de ileri sürülmektedir (13,19).

Serum rT3, doğumdan sonra ilk 24 saat süresince yüksek bulunur. Bundan sonra beşinci güne kadar normal değerlerine düşer. Onuncu gün ve sonrasında T4, T3 düzeyleri önceki günlere göre daha düşük bulunmasına rağmen halen erişkin değerlerinden daha yüksektir. Serum T3 düzeyi yaşamın ilk yılında daha sonraki yıllardan hafif derecede daha yüksek bulunur (13). Yenidoğanda tiroid fonksiyonları Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Yenidoğanda tiroid fonksiyonları

Dönem	T3 (ng/dl)	RT3 (ng/dl)	T4 (mikrog/dl)	TSH Mu/L	TBG mg/dl	Tg (ng/ml)
Kord kanı	50 (14-86)	224 (100-501)	10.8 (6.6-15)	10 (1-20)	3 (0.8-5.2)	24 (2-54)
1-3 gün	420 (100-700)	165 (49-281)	16.5 (11-21.5)	12 (1-20)	3 (0.8-5.2)	45 (1-110)
4-7 gün Preterm Term	95(10-178) 186(36-316)	137(60-210) 146(34-258)	7.3(1-13.4) 14.1(8.1-20.9)	10.2(1-20) 5.6(1-10)	2.1(1.1-3.1) 2.8(0.6-5)	106(6-230) 42(2-106)
1-4 hafta	225 (105-345)	90 (26-290)	12.7 (8.2-17.2)	2.3 (0.5-6.5)	2.8 (0.6-5)	55 (9-101)
1-12 ay	175 (105-245)	4 (11-129)	11.1 (5.9-16.3)	2.3 (0.5-6.5)	2.6 (1.6-3.6)	26 (5-45)

2.6. Etyoloji

2.6.1. Primer Hipotiroidi

2.6.1.1. Tiroid Disgenezi:

Çoğu vakada bozukluk kalıcıdır ve tiroid bezinin embriyolojik gelişimindeki bir anormallikten (agenezi, hipoplazi, ektopi) kaynaklanır. Tiroid disgenezi kızlarda erkeklere göre daha fazla görülür (K/E:2/1). Siyah ırkta daha az (1:32000), Hispanic

bebeklerde daha sıktır (1:2000). Tiroid disgenezisinin etiyojisinde genetik ve çevresel faktörler etkili olmakla birlikte vakaların çoğunda sebep bilinmemektedir. Bu vakaların yaklaşık %2'si aileseldir ve bu hastaların TTF-1, TTF-2 ve PAX-8 homeobox genlerinde mutasyon saptanmıştır (16,21). Ancak bu genlerdeki anormallikler tiroid disgenezisli hastaların ancak çok küçük bir kısmında saptanabilmektedir. Örneğin İtalya'da yapılan bir çalışmada 76 KH'li hastanın hiçbirisinde TTF1 geninde germline mutasyon saptanamamıştır (21,22). Serum T3 düzeyi normal veya normale yakın iken T4 düzeyi düşük ise öncelikle disgenezi düşünölmeli ve tiroid sintigrafisi yapılmalıdır. Tiroid agenezilerinde serumda TG saptanamaması tanıda değerlidir (16). Bulunan PAX8 ve TTF1 mutasyonları Tablo 2 ve 3'de gösterilmiştir.

Tablo 2. PAX8 mutasyonları

PAX8:genetik mutasyon	Vakaların sayısı	Tiroid fenotipi	Tiroid Fonk.	Referans
R31H	1	Hipoplazi	CH	Macchia ve arkadaşları (1998)
L62R	3 ^b	Ciddi hipoplazi Hipoplazi Orta hipoplazi	CH OH OH	Macchia ve arkadaşları (1998)
R108X	1	Hipoplazi	OH	Macchia ve arkadaşları (1998)
C57Y	2 ^b	Hipoplazi Hipoplazi	OH CH	Vilain ve arkadaşları (2001)
Q40P	2 ^b	Hipoplazi Normal büyüklük	OH CH	Congdon ve arkadaşları (2001)
R31C	2 ^b	Ciddi hipoplazi Atiroz	OH Yok	Komatsu ve arkadaşları (2001)
S54G	3 ^b	Normal büyüklük Normal büyüklük(2)	OH CH	Meeus ve arkadaşları (2004)
c.989-992delACCC	3 ^b	Normal büyüklük(2) Hipoplazi	OH CH	Meeus ve arkadaşları (2004)
S48F		Yok(3 hasta) Normal büyüklük Normal büyüklük(2) Atiroz	OH Yok CH CH	Grasberger ve arkadaşları (2005)
R52P	3 ^b	Hipoplazi(3)	OH	Al Taji ve arkadaşları (2007)

OH: orta hipotiroidizm, CH: ciddi hipotiroidizm, b: aynı ailenin bireyleri

Tablo 3. TTF1 mutasyonları

TTF1: mutasyonu	Vaka sayısı	Tiroid fenotipi	Solunum yolu distres	Nörolojik bozukluk	Tiroid fonks.	Referans
Tüm gen delesyonu	1	Normal	Evet	Evet	OH	Devriendt ve ark. (1998)
Tüm gen delesyonu	2 ^b	Normal Agenezi	Evet Evet	Evet Evet	OH CH	Iwatani ve ark. (2000)
Tüm gen delesyonu	1	Hipoplazi	Evet	Evet	OH	Krude ve ark. (2002)
G2626T	1	Hipoplazi	Evet	Evet	OH	Krude ve ark. (2002)
2595insGG	1	Normal	Hayır	Evet	OH	Krude ve ark. (2002)
C2519A	1	Hipoplazi	Hayır	Evet	CH	Krude ve ark. (2002)
C1302A	1	Agenezi	Evet	Evet	CH	Krude ve ark. (2002)
255insG	1	Normal boyut	Evet	Evet	OH	Pohlenz ve ark.(2002)
G713T	1	Agenezi	Hayır	Evet	CH	Breedveld ve ark. (2002)
IVS2-2A>G	2 ^b	Normal Normal	Evet Evet	Evet Evet	OH OH	Doyle ve ark. (2004)
825delC	4 ^b	Normal Normal	Hayır Hayır	Hayır Evet	OH CH	Moya ve ark. (2006)
P157RfxX1 96	1	Normal	Evet	Evet	OH	Nagasaki ve ark. (2008)
S145X	3 ^b	Normal Normal	Evet Evet	Evet Evet	OH OH	Ferrara ve ark. (2008)
I207F	1	Normal	Evet	Evt	OH	Maquet ve ark. (2009)

2.6.1.2. Tiroid Hormon Üretim ve Etkinliğindeki Bozukluklar

Disgeneziden sonra KH'li vakaların büyük bir kısmından doğuştan tiroid hormon üretim ve etkinliğindeki bozukluğa bağlı gelişen azalmış T4 sentezi sorumludur. Defektin yerine göre guatrlı veya guatrsız olabilir veya çocuk büyüdükçe yıllar içinde guatr gelişebilir. Organifikasyon defektine sensorinöral işitme kaybının eşlik etmesi Pendred sendromu olarak bilinir. 7. kromozom üzerine lokalize Pendrin genindeki defekt ile karakterizedir (16,23,24). Sporadik bir durum olan tiroid disgenezisinden farklı olarak doğuştan tiroid hormon üretim ve etkinliğindeki bozukluklar otozomal resesif geçişlidirler ve genellikle tek gen defekti ile ilişkilidirler.

2.6.1.2.1. Tiroid Hormon Direnci

Tiroid hormon direnci tiroid hormonunun etkinliğinin bozulduğu hastalıklar grubundandır. Tiroid hormon direnci hipofizer, periferik veya kombine olabilir (25,26). Hipofizer tiroid hormon direncinde hipofizde TSH supresyonu yetersizdir. TSH düzeyi normal/yüksek, tiroid hormon düzeyleri yüksektir. Hastalar genellikle hipermetabolik durumdadırlar. Periferik tiroid hormon direncinde ise son organlarda tiroid hormon cevapsızlığı vardır, hastalarda hipotiroidi bulguları vardır. Kombine tiroid hormon direnci ise en sık görülen formdur. Mevcut defekt TSH artışı ile kompanse edildiği için çoğu olgu ömetabolik durumdadır. Farklı doku cevapları nedeniyle nadiren hipometabolik durum da olabilir.

Tiroid hormon direncinin en karakteristik bulgusu yüksek sT4 ve sT3 düzeylerine rağmen TSH düzeyinin baskılanmamış olmasıdır. Klinik spektrum çok geniştir, kretenoidden tirotoksikoza kadar her türlü tabloda karşımıza çıkabilir. Guatr, dikkat eksikliği–hiperaktivite, işitme kaybı, taşikardi, somatik gelişme geriliği, veya tersine boyun hedef boy persantilinden uzun olması ve ileri/normal/geri kemik yaşı ile karşımıza çıkabilir. Ayırıcı tanıda tiroksin bağlayıcı globulin fazlalığı ve TSH salgılayan adenom düşünülmelidir (25).

Ötiroid ve ömetabolik ise tedavi gerekli değildir. Yüksek TSH varsa TSH konsantrasyonunun normale getirilmesi tedavi için bir kriterdir. Hasta hipertiroid ise antitiroidler, kortikosteroidler, dopamin agonisti, somatostatin analogları, L-T3 ve tiroid hormon analogları (L-T3 analogu TRIAC) tercih edilir (25,27).

2.6.1.3. Hipotalamik–Hipofizer Hipotiroidi

Yenidoğan tarama programlarının çoğu TSH bazlı oldukları için santral hipotiroidiyi tanımazlar (16,28). Gerçekte santral hipotiroidililer olguların çok az bir kısmını oluştururlar ve bu olguların kliniği primer hipotiroididen farklıdır. Özellikle klinik bulguları siliktir ve mental retardasyon belirgin değildir. TSH yetmezliği izole veya diğer hipofizer hormon eksiklikleriyle beraber olabilir. Ailesel izole TSH eksikliğinde T4 ve TSH düşükken diğer hipofizer hormon düzeyleri normaldir. TRH'a TSH yanıtı ve Tc 99m sintigrafisinde tiroid bezinde tutulum yoktur. İzole TRH yetmezliği de düşük/normal T4 ve düşük/normal TSH düzeylerine yol açabilir. Birinci kromozom üzerinde TSH β subunitinde, TRH geninde ve TRH reseptör geninde

mutasyonlar tanımlanmıştır. Bir çalışmada izole santral hipotiroidili bir hastada TSH β subunitinde yeni bir otozomal resesif mutasyon saptanmıştır (29). Otozomal resesif kalımlı santral konjenital hipotiroidili birkaç aile de bildirilmiştir. PIT-1 (PRL, BH, TSH), PROP-1 (BH, ACTH, TSH, FSH, LH), HESX-1 (septooptik displazi) ve LHX-3 (panhipopituitarizm) gen mutasyonlarında da kombine hipofizer yetmezlik tabloları ortaya çıkar (16,21,23,24,28).

Bunların dışında hipotalamus veya hipofizin doğuştan gelişim defektleri (anensefali, holoprozonsefali, aplazi, hipoplazi) veya fonksiyon yetmezlikleri şeklinde kombine hipofizer yetmezlik tablosu görülebilir. Kombine hipofizer yetmezlik klinikte karşımıza hipotiroidi bulguları yanında mikropenis, inmemiş testis, yarı damak-dudak, hipoglisemi, hiponatremi, kolestaz ile çıkabilir.

2.6.1.4. Geçici Hipotiroidi

Ülkemizde ve dünyada yenidoğan tarama testleri kullanımı arttıkça geçici hipotiroidi kavramı ile daha fazla karşılaşmaktayız. Tiroid ultrasonografisi veya sintigrafisi ile ektopik veya aplastik tiroid bezi saptandığında bunun kalıcı hipotiroidi olduğu aşikârdır. Ancak normal bez ve hipotiroidi birlikteliğinde geçici hipotiroidi ile dishormonoetik tip kalıcı hipotiroidi ayırt edilemez ve genellikle tedavi başlanıp 2-3 yıllık izlem sonrası tanıya karar verilir (30). Taramalarda KH tanısı alan olguların yaklaşık %10'unun geçici olduğu saptanmıştır. Hipotalamik hipofizer aksın immatüritesine bağlı olarak geçici hipotiroidi daha çok prematürelde karşımıza çıkmakla birlikte sağlıklı term infantlarda da görülebilir.

En sık intrauterin maternal antitiroid ilaçlara maruziyet, anneden geçen TSH reseptör bloke edici antikolar, heterozigot tiroid oksidaz-2 yetmezliği, TSH reseptör mutasyonları, endemik iyot yetmezliği veya perinatal aşırı iyota maruziyet (povidin iyot ile göbek bakımı, iyot içeren kontrast madde kullanımı) ve annenin kullandığı ilaçlar (amiodoron, mukolitikler, antiastmatik) nedeniyle geçici hipotiroidi tablosu ortaya çıkabilir (28,31,32). Özellikle postnatal iyoda maruziyet sonrası oluşan geçici hipotiroidi hayatın ilk günlerinde ortaya çıkmayacağı için postnatal 3-5. günlerde yapılan taramalarda saptanamayabilir (31,33). Niu ve ark. (34) tiroid peroksidaz mutasyonlarının yenidoğanın geçici hipotiroidi gelişimine katkıda bulunduğunu öne sürmüşlerdir. Sonuçta yenidoğanın geçici hipotiroidilerinin patogenezi

multifaktöryeldir. Genetik olarak duyarlı bireylerde immatür hipofiz tiroid aksı üzerine ekstrauterin adaptasyon stresinin ve iyot eksikliği, perinatal iyot maruziyeti ve/veya guatrojenlerle karşılaşma gibi çeşitli çevresel etkenlerin kombinasyonu ile gelişebilir (34).

Anneden TSH reseptör bloke edici antikorların transplasental geçişi daha nadir sebeplerden olmasına rağmen (1:180000) özellikle annede otoimmün tiroid hastalığı hikayesi veya daha önceden antikorlardan etkilenmiş bebek doğum öyküsü varsa ön planda düşünülmelidir. Yenidoğanda IgG'nin yarı ömrü yaklaşık 3-4 haftadır ve bu antikorlar ortalama 2-6 ayda serumda ölçülemeyecek düzeylere düşerler (28).

Sağlam ve ark. (33) Bursa'da yaptıkları bir çalışmada endemik iyot yetersizliği olan bölgelerde konjenital hipotiroidili hastaların mental yönden yakından izlenmesi ve geçici hipotiroidili hastaların tanınarak gereksiz aşırı tedavinin önüne geçilmesi gerektiğini vurgulamışlardır.

Yang ve ark. (35) yaptıkları bir çalışmada geçici hipotiroidili hastaların başlangıçtaki yüksek TSH düzeylerinin düşük doz tedavi ile bir ayda normale döndüğü gösterilmiştir. Ayrıca bu hastalarda 2-3 yaşlarında tedavi kesildikten sonra bir yıllık izlemde fizik ve mental gelişimlerinin sağlıklı çocuklarla benzer olduğu saptanmıştır. Yenidoğan döneminde konjenital hipotiroidi tanısıyla tedavi başlanan olguların 2-3 yaşlarında tedavi kesildikten sonra bakılan tiroid fonksiyonları, fizik ve mental gelişimleri normal ise geçici hipotiroidi olarak değerlendirilir ve tedavinin sürdürülmesine gerek yoktur (36). Silva ve ark. (37) başlangıç TSH düzeylerinin hastalığın seyrinin kalıcı mı geçici mi olduğu ile ilişkisi olmadığını savunmaktadırlar. Konjenital hipotiroidi sebeplerinin dağılımı ve neonatal dönemdeki yaklaşık görülme sıklıkları ve tiroid hormon üretim ve etkinliğinde bozukluğa yol açan doğuştan anomaliler Tablo 4 ve 5'de gösterilmiştir.

Tablo 4. Konjenital hipotiroidi sebeplerinin dağılımı ve neonatal dönemdeki yaklaşık görülme sıklıkları

Defektin Tipi	Görülme Yüzdesi	Prevelans	Sebepler
A- Primer Hipotiroidizm 1- Tiroid Disgenezi - Agenezi - Hipogenezi - Ektopi	% 75	1:4000	<%3 vaka TTF1, TTF2, PAX8 gen mutasyonları
2-Tiroid hormon üretim ve etkinliğindeki bozukluklar - TSH yanıtınlığı - İyot yakalama defekti - Oksidasyon, organifikasyon, kenetlenme defektleri - Pendred sendromu, - Tiroglobulin sentez, glikozilasyon ve transport defektleri - İyodotirozindeiyodinaz yetmezliği - Tiroid hormon direnci	%10	1:40000	Tablo 2’de belirtilmiştir
B- Hipotalamik – Pituitier Hipotiroidizm - Hipotalamik - Pituitier anomali (Aplazi, hipoplazi, displazi) - Kombine pituitier yetmezlik - İzole TSH yetmezliği	%5	1:100000	SHH, SIX-3, ZIC-2 veya HESX-1 homeobox gen mutasyonları Pit-1, Prop-1 gen mutasyonları TSHβ gen mutasyonu
C- Geçici Hipotiroidizm (İlaçlar, maternal inhibitör antikorlar, iyot eksikliği, prenatal, perinatal iyot yüklenmesi, idiopatik)	%10	1:40000	Anneden geçen TSH reseptör bloke edici antikorlar Antitiroid ilaçlar Amiodaron Organik iyot bileşikleri Diğerleri

Tablo 5. Tiroid hormon üretim ve etkinliğinde bozukluğa yol açan doğuştan anomaliler

Defekt	Prevelans	Kalıtım	KH	Guatr	Diğerleri	Moleküler Defekt
TSH Cevapsızlığı	Nadir	OR	Evet	Hayır	TSH'a RAIU, T4 veya Tiroglobulin yanıtı yok	İnaktive edici TSH reseptör gen mutasyonu
İyot transport defekti	Nadir	OR	Evet	Evet	Tükürük ve mide sekresyonlarında da iyot konsantrasyonu yetersizdir	(NIS) Sodyum/iyot simporter gen mutasyonu
Organifikasyon defektleri	1:40.000	OR	Evet	Evet	Pozitif perchlorate deşarj testi	Tiroid peroksidaz (TPO) gen mutasyonu H ₂ O ₂ oluşumunda defekt
Pendred Sendromu	1:50.000	OR	Değişken	Evet	İşitme kaybı Pozitif perchlorate deşarj testi	Pendrin gen mutasyonu
Tiroglobulin Defektleri	1:40.000	OR	Evet	Evet	Tiroglobulin düşüklüğü ve TSH'a Tiroglobulin cevapsızlığı	Tiroglobulin gen mutasyonu, Sialiltransferaz yetmezliği nedeniyle defektif tiroglobulin
İyodotirozin Deiyodinaz Yetmezliği	Nadir	OR	Evet	Evet	Erken, hızlı RAIU ve hızla salınım. Serumda MIT ve DIT artışı. İdrarla aşırı iyot kaybı	İyodotirozin deiyodinaz gen mutasyonu
Tiroid Hormon Direnci	1:100.000	OD veya Sporadik	Değişken	Evet	Generalize direnç: TSH N veya ↑ Periferik Direnç: TSH ↑ Pituiter direnç: TSH ↑, hasta hipertiroid	Tiroid hormon nuclear reseptör β gen mutasyonu %90 Kofaktör defekti %10

OR = Otozomal resesif, KH = Konjenital hipotiroidi; RAIU = radioiodine uptake; Tg = thyroglobulin; MIT = monoiyodotirozin; DIT = diiyodotirozin

2.7. Konjenital Hipotiroidide Klinik Yaklaşım

Yenidoğan doğumsal hipotiroidili hastalar genellikle doğumda klinik olarak normaldirler (38). Bunun nedeni plasentadan geçen ve yenidoğanda normalin 1/3'ü kadar düzeyini sağlayan annenin T4 hormonu olabilir (39). Düşük T4 düzeyleri ile

birlikte olan TSH yüksekliği doğumsal hipotiroidi tanısını koyabilir (38). Tarama testlerinden önce Türkiye’de yapılan bir çalışmada doğumsal hipotiroidili hastaların %26’sının büyüme geriliği, %21’inin konuşma bozukluğu, %18’inin yürüme gecikmesi ile doktora başvurdukları, muayenede ise %72’sinde hipotoni, %66’sında kabızlık, %64’ünde kretenik yüz ve %64’ünde makroglossi bulunduğu gösterilmiştir (40). Doğum ağırlıkları ve doğum boyları normal sınırlardadır. Beyindeki miksödem nedeniyle baş çevresi hafif artmış olarak bulunabilir. Glukuronid konjugasyonundaki gecikme nedeniyle uzamış sarılık en erken bulgu olabilir. Dilin büyümesi nedeniyle apne, horlama ve burun tıkanıklığı gibi solunum sorunları ortaya çıkabilir. Etkilenen bebekler az ağlarlar, sesleri kalındır, çok uyurlar, beslenmeleri azalmıştır. Klasik tedaviye cevap vermeyen kabızlık bulunabilir. Karın distandü görünümde ve genellikle göbek fitiği mevcuttur. Vücut ısısı hafif hipotermiktir. Genital bölgelerde ve ekstremitelerde ödem olabilir. Nabız genellikle yavaştır, kalpte üfürüm ve büyüme, asemptomatik perikardiyal effüzyon bulunabilir. Makrositer anemi sıklıkla bulunur. İlerleyen yaş ile birlikte gelişim duraklar. Ön ve arka fontaneller geniş şekilde açıktır. Gözler birbirinden uzak ve burun kökü basıktır. Dil geniştir ve açık ağzın içinden dışarıya çıkmıştır. Diş çıkartma gecikir. Boyun kısa ve kalın, ekstremiteler kısadır. Eller geniş ve parmaklar kısadır. Skleraların beyaz kalıp derinin ikterik olduğu durum olan karotenemi görülebilir. Saçlar kırılğan, seyrek ve kalındır. Ergenlikte cinsiyet olgunlaşması gecikir ya da hiç başlamaz (38). Bir çalışmada doğumsal hipotiroidi tanısı almış bebeklerin daha fazla ani bebek ölümü sendromu riski taşıdıkları, nörolojik hasar ile birlikte kardiyopulmoner fonksiyonlarda azalma ve yutma mekanizmasında bozulmanın ölüm sebebi olabileceği belirtilmiştir (41). Yenidoğanda klinik bulguların sıklığı Tablo 6’da gösterilmiştir.

Tablo 6. Yenidoğanda klinik bulguların sıklığı

Bulgular	Sıklık(%)
Uzamış sarılık	64.5
Hipotoni	41.9
Ödemli ve kaba yüz	41.9
Dil büyüklüğü	35.5
Umblikal herni	32.3
Cilt kuruluğu	29
Guatr	25.8
Kabızlık	22.6
Livedo retikularis	6.5

2.8. Konjenital Hipotiroidide Tanısal Yaklaşım

Klinik bulgu ve belirtiler KH'nin erken tanısında genellikle çok yararlı değildir. Yenidoğan döneminde sadece %5 vakada klinik olarak KH tanısı koymak mümkündür (23). En sık görülen KH bulguları genellikle letarji, beslenme güçlüğü, inaktivite, kaba cilt, kabızlık, uzamış sarılık (>7 gün), kaba sesli ağlama, karın distansiyonu, karın fitiği, büyük arka fontanel ve tiroid bezi büyümesidir (16,24,42).

Klinik olarak şüphelenilen veya tarama testi sonucu pozitif saptanan hastalarda KH tanısını doğrulamak için serum T4, TSH düzeyleri ölçülür. T4 düzeyi düşük, TSH 40 mU/L'nin üzerinde ise hasta KH tanısı alır. Yaşamın ilk iki haftası içinde TSH 40 mU/L'nin altında ve T4 emniyetli üst 1/3 sınırın içinde ise hasta en kısa sürede tekrar değerlendirilir ve yeniden ölçüm yapılır. Özellikle iyot eksikliği olan bölgelerde TSH yüksekliğinin daha belirgin olduğu ve daha uzun sürede düşeceği akılda tutulmalıdır. İzlemede 2-12. haftalar arasındaki çocuklarda TSH üst sınırı 9,1 mU/L kabul edilir (28,16). Kesin KH tanısı almış bebeklerin %75'inde TT4 6.5 µg/dl altında, %90'ında TSH 50 mU/L üzerinde bulunmuştur. %20 olguda TT4 düzeyi 6.5-13 µg/dl arasında, TSH 30 mU/L altında bulunmuştur. Olguların %3-5'inde ise TT4 6.5-13 µg/dl arasında, TSH 9-30 mU/L arasında saptanmış ve geç TSH yükselmesi gözlenmiştir (16,23,28). Son yıllarda gelişen immünoassay metodlar sayesinde sT4 ölçümü yavaş yavaş TT4'ün yerini almaktadır. Serum T3 ve rT3 düzeylerinin klinikte yararı sınırlıdır (16,23).

Klinik ve laboratuvar olarak KH düşünülen olgularda ileri görüntüleme tekniklerinden yararlanır. Konjenital hipotiroidili bebeklerde tiroid bezi görüntülenmesinde USG genellikle ilk tercih olmasına rağmen 1990'da De Bruyn ve ark. (36) tiroid ultrasonografisinin KH tanısında yararının sınırlı olduğunu savunmuşlardır. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda KH'li bebeklerde tiroid bezinin görüntülenmesinde tiroid USG yeniden önem kazanmıştır (43,44). Özellikle renkli doppler USG'nin klasik USG'ye göre daha üstün olduğu belirtilmiştir (45). Nonfonksiyone ve sintigrafide görüntülenemeyen tiroid dokusunun gösterilmesinde ve tiroid bezinin volüm ve morfoloji anomalilerinde tiroid USG tercih edilmelidir (46). Sonuçta hangi tip USG kullanılırsa kullanılsın bu işlemin tecrübeli ellerde yapılmasının doğru tanı açısından çok önemli olduğu unutulmamalıdır.

Sintigrafi KH'de tiroid bezinin görüntülenmesinde altın standarttır. Özellikle ektopik tiroid dokusunun saptanmasında sintigrafi USG'ye göre daha üstündür. Perry ve ark.(46) yaptıkları bir çalışmada ektopik tiroid dokusunun saptanmasında tiroid sintigrafisinin sensitivitesini % 91.7 olarak bulmuştur. Tiroid sintigrafisinde bez yok, USG'de görüntü var ise maternal TSH bloke edici antikolar, TSH reseptör defekti, iyot yakalama defekti veya tiroksin kullanımı düşünülmelidir. Ultrasonografide bez yerinde değil, sintigrafide tutulum varsa ektopik tiroiddir. Eğer USG'de bez yerinde görüntülenip, sintigrafide de yeterli tutulum olmasına rağmen hasta hipotiroidik ise organifikasyon defektleri, herediter T4 sentez defekti, antitiroid ilaç kullanımı ve tiroglobulin sentez defekti düşünülmelidir (16,23,24,46). Tiroglobulin düzeyi agenezi, hipoplazi ve tiroglobulin sentez defektinde düşük, ektopide hafif yüksek, dishormonogenezde çok yüksek bulunmaktadır (16,23). Tiroid sintigrafisi çekilirken hem sodyum teknesyum perteknetat ^{99m}Tc , hem de iyot ^{123}I kullanılabilir. ^{123}I , görüntü taranmasında ve uptake'de daha doğru sonuç vermesi nedeniyle ilk tercihtir. Ancak tüm hastanelerde acil şartlarda kolayca uygulanamaz, zahmetli ve pahalıdır. ^{99m}Tc ise tüm hastanelerde kolayca uygulanabilmesi, zahmetsiz ve ucuz olması nedeniyle tercih edilmektedir (28). Ancak Schoen ve ark. (47) ^{123}I sintigrafisinin daha emniyetli olduğunu, ^{99m}Tc sintigrafisinin ise normal lokalizasyonunda veya agenezik tiroid dokularında yararlı olduğunu, ektopik tiroid vakalarında ^{123}I 'e göre hata payının yüksek olduğunu vurgulamışlardır.

Bazı çalışmalarda KH'de sintigrafi çekmenin tedaviye katkısı olmadığı, tedaviyi geciktirdiği ve hastanın radyasyona maruz kaldığını göstermiştir. Ancak sintigrafi sonucunda kesin tanı belirlenerek optimal tedavi dozu, tedavinin süresi ayarlanıp, aileye de hastalığın geçici/kalıcı olduğu ve süreç hakkında aydınlatıcı bilgiler verilebilir. Ayrıca bir çocuğun sintigrafide aldığı radyasyon miktarı akciğer grafisinde alınandan üç kat daha düşük, kıtalararası bir uçuşta alınan radyasyon miktarına eşdeğerdir (47).

Konjenital hipotiroidili bebeklerde intrauterin etkilenme olup olmadığını belirlemenin en iyi yolu kemik maturasyonunun değerlendirilmesidir. Yenidoğanlarda kemik maturasyonu diz grafisi ile değerlendirilir. Diz grafisinde maturasyonda gecikme prenatal başlangıcı gösterir ve genellikle kötü prognoz göstergesidir (48,49). Konjenital hipotiroidi tanısı konulduğunda ağır tiroid disfonksiyonu mevcutsa ($\text{T4} < 2 \mu\text{g/dl}$), kemik yaşı geri ve distal femoral epifiz alanı $< 0,05 \text{ cm}^2$ ise erken tiroksin replasmanına

rağmen entellektüel yeteneklerde kayıp gelişebilir ve erken başlangıçlı ağır intrauterin hipotiroidizmin kanıtıdır (30).

Düşük T4 ve düşük/normal TSH düzeyleri saptandığında santral hipotiroidi akla getirilmelidir. TBG düşüklüğü ve prematürite de benzer laboratuvar bulgularıyla karşımıza geldiği için santral hipotiroidi tanısı primer hipotiroidiye göre daha zordur. Santral hipotiroidi düşünülen olgularda TRH'a TSH yanıtı bakılmalı ve bozuksa diğer hipofiz fonksiyonları açısından değerlendirilmelidir (23,24,30).

2.9.Yenidoğan Doğumsal Hipotiroidi Tarama Testleri

Kuzey Amerika'da tarama testi olarak T4 düzeylerinin ölçümü kullanılmaktadır. Bu ülkelerde T4 düşük geldiği zaman TSH kontrolü alınır. Bu teknik primer hipotiroidi hastalarının, tiroksin bağlayıcı globülini düşük olanların, hipotalamik veya hipofizer hipotiroidilerin, TSH seviyesinde gecikmiş yükselmesi olanların tanı almasını sağlamaktadır. Avrupa'da ve Japonya'da tarama testi olarak TSH düzeyleri ölçülmektedir. Bu tarama programı ile primer hipotiroidi, subklinik hipotiroidi tanısı konulabilir, ancak gecikmiş TSH yükseklikleri, düşük tiroksin bağlayıcı globülini olan hastalar ve hipotalamik ve hipofizer nedenlere bağlı hipotiroidilerin tanısı gecikir (38). Bir çalışmada 93000 hastanın tarandığı, 2 doğumsal hipotiroidili hastanın tarama testi olarak sadece TSH'nın kullanılması nedeniyle tanı alamadığı, bu hastalara sadece T4 düzeyi ölçülerek tanı konabileceği bildirilmiştir. Bir başka çalışmada ise 93000 yenidoğanın tarandığı, tarama testinde sadece T4 bakıldığında bir hastanın tanı alamadığı, bu hastanın TSH bakılması ile tanı alabildiği bildirilmiştir (50). Yenidoğanların iyot eksikliğine daha yüksek TSH ile cevap vermesi nedeniyle taramalarda iyot eksikliği olan bölgelerde tarama testi olarak TSH kullanılması önerilmiştir(51). Ülkemizde de yenidoğan tarama programında TSH düzeyi bakılmaktadır.

Tarama için önerilen en uygun zaman doğumdan sonraki dördüncü gün civarındadır (28). TSH bazlı olarak uygulanan yenidoğan taraması için kan örneği ideal olarak doğumdan sonraki 3-5'inci günlerde alınmalıdır. İlk 24 saatten erken taburcu edilen hastalardan da tekrar örnek alınmalıdır. Pretermelerde, ağır hasta ve kan verilmiş bebeklerde yanlış negatif sonuçlar olabileceği için 7. günden sonra ikinci tarama testi yapılması önerilir. Ağır hasta bebeklerde ve kan değişimi yapılan hastalarda yanlış

negatif değerler saptanmaktadır. Bu yüzden kan değişimi yapılmadan önce tarama için örnekler alınmalıdır (52). Amerika Birleşik Devletleri'nde bazı tarama programlarında iki hafta ara ile iki örnek alınmaktadır. İki hafta sonra yapılan ikinci test ile yakalanan doğumsal hipotiroidi sıklığı da 1/30000 olarak bildirilmiştir (53,54). Amerika ve Avrupa lkelerinde bu testler için filtre kağıtları geliştirilmiştir. Ülkemizde yenidoğan doğumsal hipotiroidi taraması için filtre kağıdına örnek alınması uygulanmasına 2007 yılında geçilmiştir. Testin doğru sonuç verebilmesi için filtre kağıdına kan örneğinin kapiller kandan halkayı dolduracak kadar tek damla şeklinde alınması gerekmektedir. Filtre kağıdı oda sıcaklığında kurutulmalıdır. Isıdan ve nemden korunmalıdır. Örneğin alındığı halkanın üzerine temas edilmemelidir. Kurallara uyulmayan durumlarda yanlış negatif değerler ortaya çıkabilmektedir (28).

Doğumsal hipotiroidi vakalarının % 60'ında doğumda kemik gelişiminin geriliği radyolojik olarak saptanabilir. Bu, hipotiroidi kliniğinin fetal dönemde başladığını göstermektedir. Radyolojik olarak distal femur epifizi yoktur veya yaş ilerledikçe kemik yaşı geriliği ortaya çıkar. Kafatası röntgen grafilelerinde fontaneler ve sütürler geniş olarak gözlenir (38).

Radyonüklit alışmalar hastalığın sebebini aydınlatmada yardımcı olabilir ancak bu çalışmaların uygulanması amacıyla tedavi geciktirilmemelidir. Sintigrafik tarama ile tiroid dokusu gösterilemiyor ancak ultrasonografi ile gösterilebiliyorsa TSH reseptörü (TSH-R) hatası, iyot taşıma hatası veya maternal TRB-Antikoru olabileceği düşünülebilir (39). Hipotiroidili hastada sintigrafinin normal çıkması tiroid dokusuna normal şekilde iyot alımının olduğu, ancak T4'n yapılamadığı anlamına gelir (28). Bazı araştırıcılara göre gereksiz radyasyon maruziyetinin önlenmesi amacıyla ilk planda ultrasonografi yapılması önerilmektedir (55,56). Ancak radyonüklit çalışmalarla tespit edilebilecek ektopik tiroid bezi dokusu ultrasonografi ile atlanabilir. Bununla birlikte yakın zamanda yapılan çalışmalarda renkli Doppler ultrasonografinin ektopik tiroid dokusu tanısında daha iyi sonuçlar verdiği gösterilmiştir (45).

2.10. Tarama Testi Sonuçlarını Yorumlama

2.10.1. Düşük T4 ve Yüksek TSH Değerleri

T4 değeri düşmüş ve TSH değeri >40 mU/l şeklinde yükselmiş her bebek doğumsal hipotiroidi olarak kabul edilir. Mümkün olan en kısa zamanda L-T4 tedavisi başlanmalıdır. TSH değerleri 10-40 mU/l olan bebeklerin tarama testi tekrarlanmalıdır. Doğumsal hipotiroidi hastalarının %10'unda başlangıç TSH değeri 20-40 mU/l olarak bulunmuştur (28). Bir çalışmada TSH'nın 5-20 mU/l olduğu 43 hastaya TRH testi yapılmış ve yedisine hipotiroidi tanısı konulmuştur (57).

2.10.2. Normal T4 ve Yüksek TSH Değerleri

Etyoloji olasılıkla heterojendir ve geçici veya kalıcı bir tiroid bozukluğu olabilir (32,58). Hipotalamus-hipofiz yolağının gecikmiş olgunlaşması sebep olabilir. Down sendromlu hastalarda sık görülmektedir. Hormon replasmanının başlanması tartışmalıdır (28). Birçok araştırmacı iki haftadan sonra 10 mU/l düzeyinin üzerindeki TSH değerlerini anormal olarak kabul eder (16).

2.10.3. Düşük T4 ve Normal TSH Değerleri

Yenidoğan bebeklerin %3-5'inde görülebilir. Sebebi hipotalamik olgunlaşma gecikmesi olabilir. TBG eksikliğinde (1/5000), santral hipotiroidide (1/50000), primer hipotiroidi ve gecikmiş TSH yüksekliğinde (1/100000) görülebilir (28). İzole TRH eksikliğinde, TSH, TRH ve TRH reseptör geninde mutasyonlarda, zor doğum ve anokside aynı laboratuvar bulguları saptanır (32,59,60). Bu bebeklerin takibi için belirlenmiş standart bir yaklaşım yoktur. Bu hastaların L-T4 ile tedavi edilmesinin yararlılığı tartışmalıdır (61,62).

2.10.4. Düşük T4 ve Gecikmiş TSH Yüksekliği

Daha çok düşük doğum ağırlıklı term bebeklerde ve ağır hastalığı olan bebeklerde görülür. Sıklığı 1/100000'dir. Gecikmiş TSH yüksekliğinde başlangıçta T4 değerleri nadir de olsa normal olarak bulunabilir. Düşük doğum ağırlıklı doğumsal hipotiroidili bebeklerin %5-10'u, tarama testinde ne bakılırsa bakılsın normal hormon düzeyi göstermektedir (28). Bir çalışmada 3854 yenidoğanın tarandığı, düşük doğum ağırlıklı ve ilk haftada normal TSH sonucu gelen 19 bebeğin dört hafta sonra

tekrarlanan TSH ile hipotiroidi tanısı aldığı bildirilmiştir (63). Monozigot ikizlerin de fetüsler arası kan aktarımı sonucu yanlış negatif çıkabilecek tarama sonuçlarını dışlamak amacıyla ikinci haftada tekrar taranması gerektiği bildirilmiştir (64). Düşük doğum ağırlıklı bebeklerin, yenidoğan yoğun bakım ünitesinde yatan ağır hastaların ikinci kez tarama programına dahil edilmesi görüşü ağırlık kazanmıştır (65).

2.11. Konjenital Hipotiroidide Tedavi ve Uzun Dönem Prognoz

Tiroid hormonları santral sinir sisteminin büyüme ve gelişimi için çok önemlidir. Bu nedenle tüm KH'li çocuklarda tanı konar konmaz derhal tiroid hormon replasmanına başlanmalıdır. Özellikle ağır hipotiroidili çocuklarda motor ve mental gelişim tedavinin başlama zamanına ve yeterliliğine bağlıdır. Ağır KH demek için, tanıda plazma T4 düzeyinin 5 µgr/dl'nin altında olması, gecikmiş kemik maturasyonu ve etyolojik neden (agenezi, ektopi, dishormonogenez vb) gibi faktörlerden yararlanılmaktadır.

Eskiden KH, bulgularının kliniğe geç yansması nedeniyle tanı ve tedavi gecikmesi sonucu hastalarda ağır mental retardasyona yol açmaktaydı. Ancak son yıllarda KH taramalarının tüm dünyada yaygınlaşmasıyla hayatın ilk 1-2 haftasında tedavi edilmeleri sonucu artık ağır mental retardasyon sık görülmemekle birlikte etkilenen çocuklarda hafif entellektüel bozulma, nörokognitif ve davranış bozuklukları ortaya çıkabilmektedir (48,66,67). Her hastadaki etkilenme düzeyinin farklı olması tiroid hormon yetmezliğinin ağırlığına ve başlama zamanına bağlıdır (43,48).

Tedavideki amaç T4 düzeyini 2 haftada, TSH düzeyini yaklaşık 1 ayda normal düzeye indirmektir. İzlemede TSH'ı normal aralıkta, T4 düzeyini de normal aralığın üst sınırında tutan doz optimal dozdur. TSH düzeyini en kısa sürede normale getirmek önemlidir. Tedavide doz çocuğun klinik yanıtına ve T4, TSH düzeylerine göre ayarlanmalıdır (28,48).

Tedavide tek seçenek oral sodyum L- tiroksin tabletleridir. T3 biyolojik olarak daha aktif olmasına rağmen, tiroid hormonları dolaşımdan T4 olarak alınıp lokal monodeiyodinasyon ile T3'e çevirildiği için T3 veya T3+T4 kombinasyon tedavilerine gerek yoktur (28,48). Tabletler ezilip birkaç mililitre anne sütü, formül mama veya su ile mümkünse beslenmeden bir saat önce bebeğe verilmelidir. Tiroid hormon emilimini bozabileceği için soya sütü, demir ve kalsiyum preparatlarıyla birlikte kullanımı önerilmez (23,28,48).

En uygun tedavi başlangıç dozu için çeşitli görüşler vardır. Campos ve ark.(68), düşük ve yüksek başlangıç dozuyla tedavi edilen iki grup arasında 5 yıllık izlem sonunda motor mental gelişimsel skorları arasında fark bulamamışlardır. Üstelik uzun dönem izlem çalışmaları, başlangıçta yüksek doz tiroid hormonu verilen çocuklarda ileride artmış anksiyete, sosyal çekingenlik ve kötü konsantrasyon gibi davranış problemleri gelişebildiğini göstermiştir (69,70). Salerno ve ark.(71) ise 10 µgr/kg/gün'den daha yüksek başlangıç dozunun tiroid hormon düzeylerini hızla normale döndürmek için gerekli olduğunu ve ileri dönemde düşük dozlara göre motor mental gelişimde daha başarılı sonuçlara ulaşıldığını vurgulamışlardır.

Amerikan Pediatri Akademisi de başlangıçta 10-15 µgr/kg/gün L-tiroksin tedavisini önermektedir (28). Bu doz aralığı emniyetli, efektif ve ağır KH'li çocukların düzenli tedavi ile ileride tam entellektüel potansiyel kazanmalarını sağlayabilecek dozdur (72). Bir başka çalışmada postnatal 13. günden önce ve 9.5 µgr/kg/gün'den yüksek dozda tedavi başlanan çocuklarda motor mental gelişimin normal popülasyondaki çocuklar kadar iyi olduğu vurgulanmıştır (73). Yine başka bir çalışmada, özellikle ağır KH'li yenidoğanlarda (tedavi öncesi T4<3µgr/dl), 12-15 µgr/kg/gün dozunda tedavi ile hedef T4 değerine 3 gün içinde ulaşılabileceği ve bu zaman diliminin en iyi kognitif sonucun sağlanmasında önemli olduğu belirtilmiştir (74).

Tiroid hormonları normal beyin gelişimi için çok önemlidir. Nörogenezis, nöronal migrasyon, akson ve dentrit formasyonu, myelinizasyon ve sinaptogenezisi içeren birçok nörobiyolojik süreçte major görevlidir. Tiroid hormon ihtiyaçları beyin bölgelerine ve zamanlamaya göre farklılık göstermektedir. Duyulara ilişkin nöral substratlar, tiroid hormon bağımlı oldukları için konjenital hipotiroidili çocuklar görme ve işitme problemleri açısından risk altındadırlar. Tiroid hormonları nörotransmisyon da görevli oldukları için hormon dengesizliklerinde dikkat ve hafıza test performanslarında etkilenme gelişebilir (48).

Son yıllarda tarama testleri ile erken tanı ve tedavi sağlanıp mental retardasyon önlenmiş bile halen motor ve görme yeteneklerinde hafif defisitler oluşabilmekte, hafıza ve dikkat bozuklukları görülebilmektedir (69,75). Okulda öğrenme problemleri saptanabilmektedir (76,77). Asıl problemi işitme bozukluğu olan çocuklarda okuma güçlüğü görülebilmektedir (78). Konjenital hipotiroidili çocuklarda ileri yaşlarda

konsantrasyon yeteneklerindeki bozukluğa bağılı davranış bozuklukları da ortaya çıkabilir (79).

Yenidoğanlarda düzenli tiroid tarama testleri başlamadan önce ortalama IQ düzeyleri 76 idi ve % 40'ı özel eğitime gerek duyuyorlardı (80). Erken ve uygun dozda tedavi olsa bile gebelikte annede de hipotiroidi varsa yine ileride IQ problemleri yaşanabilir (28,67). Lubsen ve ark.(81) 7 çalışmayı içeren bir meta analizde KH'li 670 çocuk ile 570 kontrol grubunu karşılaştırmışlar ve ağır KH'li çocuklarda kontrol grubuna göre ortalama 6.3 IQ puan düşüklüğü saptamışlardır. İlk 2 hafta içinde tedaviye başlanan çocuklarda IQ düzeylerinde belirgin iyileşme olduğunun saptanması, KH'nin santral sinir sistemine verdiği hasarın tedaviye erken başlanması ile kompanse edilebildiğini göstermektedir (49,80). Uygun tedavi altındaki KH'li hastalar ile sınıf arkadaşları ve kardeşlerinden oluşan kontrol grubu ile zeka, okul başarısı ve nöropsikolojik testler açısından karşılaştırıldığında oldukça az farklılıklar saptanmıştır (70,82).

Sonuç olarak, son yıllarda yapılan çalışmalar göstermiştir ki, erken ve yüksek doz tedavi ile KH'li çocuklar ile kontrol grubu çocuklar arasındaki motor, mental gelişim farkı ortadan kalkmaktadır ve KH'de erken ve yüksek doz tiroksin tedavisi gereklidir (83).

Tiroid hormonlarının büyüme ve fiziksel gelişme üzerine etkisi en çok ikinci dekatta belirgindir. Çocukluk çağında ve adölesan döneminde gecikmiş veya yetersiz tedavi alan hastalarda erişkin boy kısa kalabilmektedir (84,85). Gecikmiş tedavi nedeniyle büyüme geriliği ile başvuran hipotiroidili çocuklarda, L-T4 tedavisi sonrası hızla büyüme atağı görülmekte ancak bu atak bazen hedef boyuna ulaşmasına yetmemektedir. Genellikle bu çocukların final boyları puberte öncesinde tedavisiz geçirdikleri hipotiroidik dönem ile ters orantılıdır (85,86).

2.12. Konjenital Hipotiroidide İzlem

KH'li hastanın tedavi başladıktan sonra büyüme, gelişme ve T4 ve TSH düzeyleri açısından yakından izlenmesi gereklidir. Serum T4 ve TSH düzeyleri;

- a) Tedavi başlangıcından 2-4 hafta sonra,
- b) 6 aya kadar 1-2 ayda bir,
- c) 6 ay-3 yaş arası 3-4 ayda bir,

- d) 3 yaş- büyüme tamamlanıncaya kadar 6-12 ayda bir,
e) Tedaviye uyum sorunu varsa veya doz değişikliği yapıldıysa 4 hafta sonra tekrar değerlendirilmelidir (28).

Serum TSH ve T4 düzeylerine göre doz titrasyonu yapılmalıdır. Bazen aileler tedaviye uyumsuzluk gösterirler ve kontrole yakın ilaçlarını düzgün kullanıp gelirler. Bu hastalarda tT4, sT4 normalken TSH düzeyleri yüksek çıkabilir. Buna benzer bir durum bazen intrauterin KH gelişmesi nedeniyle ortaya çıkan hipotalamo hipofizer baskılanmaya bağlı da oluşabilir. Bu durumlara dikkat etmeden doz arttırılırsa fontanelerin erken kapanması, kraniosinosis, ishal, taşikardi, uykusuzluk, huzursuzluk gibi bulgularla karakterize iatrojenik hipertiroidizme neden olunabilir (28,48). Konjenital hipotiroidide tedavi süresinin belirlenmesinde kalıcı veya geçici hipotiroidi ayırımı önemlidir. Tiroid agenezisi veya ektopik tiroidi olan olgular genellikle kalıcıdır ve ömür boyu tedavi almak zorundadırlar. Sintigrafi ve USG’de tiroid bezi yerinde olan ve izlemde TSH yükseklikleri gözlenmeyen hastaların geçici KH olma ihtimalleri vardır. Bu olgularda üç yaşına kadar düzenli tedaviye devam edildikten sonra bir ay boyunca tedavi kesilmesi denir. Bir ayın sonunda sT4 ve TSH değerleri ölçülür, eğer TSH yükselme eğiliminde ise bu kalıcı bir KH’dir ve tedavi tekrar başlanır. Eğer sonuçlar yaşına uygun referans değerleri içinde seyrediyorsa hasta geçici KH’dir. Bu hastalar takipten çıkarılmamalı, tiroid fonksiyon testleri ve somatik gelişimleri aralıklı olarak kontrol edilmelidir (83). Alternatif olarak ilaç dozu % 50 azaltılarak bir ay sonra TSH ölçülmesi de önerilmektedir. TSH 20 mU/l’nin üzerine çıkarsa kalıcı olduğuna karar verilir ve tekrar tam dozdan tedaviye devam edilir. Eğer yükselme yok ise ilaç tamamen kesilip bir ay sonra tekrar tiroid fonksiyon testleri değerlendirilir ve yukarıda önerilen şekilde izleme devam edilir. Doğumsal hipotiroidili hastaların takibi Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 7. Doğumsal hipotiroidili hastaların takibi

Başlangıç işlemleri	-Detaylı hikaye ve muayene -Pediatrik endokrinoloğa danışma -sT4 ve TSH'nin yeniden alınarak doğrulanması
Tedavi	L-T4: 10-15 µg/kg dozunda ağız yoluyla tek seferde
Labaratuvar takibi	<u>sT4 ve TSH tekrarı:</u> -Tedavinin başlangıcından 2-4 hafta sonra -İlk 6 ayda 1-2 ayda 1 kez -3 yaşından gelişimin tamamlanmasına kadar 6-12 ayda bir
Tedavinin hedefi	TSH'nin normal seviyede ve sT4 ve T4'ü normal aralığın üst üçüncü yarısında tutmak
Kalıcı hipotiroidinin düşünülmesi gerektiği durumlar	-Başlangıçta çekilen sintigrafide tiroidin ektopik veya aplazik olması -Yeterli dozda tedaviye rağmen TSH'da yükselme olmaması

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Grupların Oluşturulması ve Kan Örneklerinin Elde Edilmesi

Bu çalışma, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Endokrinoloji ve Metabolizma Polikliniği'nde yapıldı. Çalışmaya disgeneziye bağlı konjenital hipotiroidi tanısıyla takip ve tedavi edilen 100 hasta, kontrol grubunda ise, bilinen ciddi veya kronik hastalığı, genetik bir hastalığı veya şüphesi olmayan, birinci derece yakınlarında tiroid ile ilgili bir hastalığı olmayan Sağlam Çocuk Polikliniği, Çocuk Acil Polikliniğine başvuran 100 çocuk alındı. Çalışma için yerel (Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi) etik kurulu oluru alındı (Etik Kurul No: 7/2010-40). Hasta ve kontrol grubundaki çocukların ebeveynlerine yapılacak olan çalışma hakkında bilgi verilerek, çalışmaya katılmak isteyen ebeveynlerden onay alındı. Hastalar, hastane kayıtlarından telefon numaraları bulunup polikliniğe çağrılarak veya poliklinik kontrollerinde değerlendirilerek çalışmaya dahil edildi. Hastaların dosyalarından cinsiyet, tanı yaşı, tanı anındaki TSH, sT4 ve tiroglobülin düzeyleri, USG bulguları kaydedildi.

3.1.1. Kan Örneklerinin Toplanması

Bu çalışma; 100 hasta ve 100 kontrol grubu olmak üzere toplam 200 çocuk ile yapıldı. Hasta ve sağlıklı bireylerden, DNA elde etmek için kullanılmak üzere EDTA'lı tüplere beş ml kan alındı. EDTA'lı tüplere alınan kanlar DNA izolasyonu için kullanılmak üzere -20 °C'deki derin dondurucuda saklandı.

3.2. Gereçler

Mikropipet (Ependorf, Hamburg, Almanya), manyetik karıştırıcı (Velp Scientifica, İtalya), vorteks (Velp Scientifica, İtalya), inkübatör (Uniequip, Martinsried, Almanya), düşük basınçlı kurutucu (El Yapımı), mikrosantrifüj (Ependorf, Hamburg, Almanya), güç kaynağı (Bio Rad, Kalifornia, Amerika), mikrodalga fırın (Arçelik, İstanbul, Türkiye), derin dondurucu (Bosch, Almanya), elektroforez tankı (EC, apparatus, New York, Amerika), hassas terazi (Shimadzu, Japonya), otoklav (Nüve,

Ankara), rotor (Selecta, İspanya), görüntüleme cihazı (Vilber Lourmat, Torcy), PCR aleti (MJ research, Boston, Amerika), Santrifüj (Ependorf, Hamburg, Almanya), biyolojik emniyet kabini (Bilser, İstanbul, Türkiye) kullanıldı.

3.2.1. Kimyasal Maddeler

NaCl (Merck, Darmstadt, Almanya), KCl (Merck, Darmstadt, Almanya), Na₂HPO₄ (Merck, Darmstadt, Almanya), Üre (Merck, Darmstadt, Almanya), Proteinaz K (Sigma, St Louis, Amerika), sodyum dodesil sülfat (SDS) (Sigma, St Louis, Amerika), Etil alkol (Tekel, İstanbul, Türkiye), mono bazik sodyum fosfat (NaHPO₄) (Merck, Darmstadt, Almanya), Tris-HCl (Merck, Darmstadt, Almanya), Kloroform (Merck, Darmstadt, Almanya), Akrilamid (Sigma, St Louis Amerika; Applichem, Darmstadt, Almanya), Agaroz (Prona, Madrid, İspanya), Bisakrilamid (Sigma, St Louis Amerika; Applichem, Darmstadt, Almanya), EDTA (Merck, Darmstadt, Almanya), Amonyum persülfat (Sigma, St Louis Amerika), Asetik Asit (Carlo Erba, Nord, İtalya), Formaldehit (Sigma, St Louis Amerika), Sigma cote (Sigma, St Louis, Amerika), Borik asit (Carlo Erba, Nord, İtalya), dNTP (Fermentas, Vilnius, Litvanya), Taq DNA polimeraz (Fermentas, Vilnius, Litvanya), Binding Silane (Promega, Mannheim, Almanya), MgCl₂ (Fermentas, Vilnius, Litvanya), TEMED (Sigma, St Louis, Amerika), Bromofenol Mavis (Merck, Darmstadt, Almanya), 10x Amonyum sülfatlı PCR Tamponu (Fermentas, Vilnius, Litvanya), Na₂CO₃ (Merck, Darmstadt, Almanya), Sodyum tiyosülfat (Merck, Darmstadt, Almanya), MgCl₂ (Fermentas, Vilnius, Litvanya), Ksilen Siyanol (Sigma, St Louis, Amerika) kullanıldı.

3.2.2. Çözeltiler

10X TBE (108 g tris, 55 g borik asit, 8,3 EDTA), parçalama çözeltisi (300 mM NaCl, 10 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl), üreli parçalama çözeltisi (4,2 g üre, 10 mL su, 1 mL parçalama çözeltisi), 49:1 %50'lik akrilamid çözeltisi (49g akrilamid, 1 g bisakrilamid, 50 ml saf su), SSCP yükleme tamponu (8 mL formamid, 2 mL saf su, 0,025 g bromofenol mavis, 0,0025 g ksilen siyanol), gümüş nitrat çözeltisi (2 g gümüş nitrat, 2,5 mL %37'lik formaldehit, 2 litre saf su), sodyum karbonat çözeltisi (60 g sodyum karbonat, 420 µL 10 mg/mL sodyum tiyosülfat, 2 L saf su) kullanıldı.

3.3. DNA Eldesi

1. gün

EDTA'lı tüpler içerisinde -20 °C'de bulunan kan örnekleri çıkartılarak oda sıcaklığına gelinceye kadar bekletildi. Kan örnekleri oda sıcaklığına geldikten sonra 15 ml'lik santrifüj tüplerine alınarak tüplerin üzerine örneklerin hacmi kadar saf su eklendi. Tüpler iyice altüst edildikten sonra 4000 devir/dakika'da 20 dakika santrifüj edildi. Tüplerin üst fazları pipetle çekilerek atıldı ve üzerine tekrar su eklendi. Bu işlem üç defa tekrar edildi. Üçüncü santrifüjün ardından, atılan sıvı kısmın yerine her bir tüpe 3 mL üreli parçalama çözeltilisi eklenerek çözünmesi için tüpler 15 dk karıştırıldı. Ardından 400 µL %20'lik SDS ve 100 µL 10mg/mL proteinaz K eklenerek 37 °C'de bir gece için inkübasyona bırakıldı.

2.gün

İnkübasyondan çıkarılan örneklere 2 mL 5M NaCl eklendi ve 10-15 dakika altüst edildi. Ardından, üzerlerine 8 mL kloroform konularak 4000 devir/dakika'da 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda oluşan 3 kısımdan üstteki kısım temiz bir tüpe alınarak, üzerine hacmi kadar soğuk %96'lık etil alkol eklendi. Alkol ilavesi ile çöken DNA'lar pipet ucu ile 1,5 mL'lik santrifüj tüpüne alınarak üzerlerine 1000 µL %70'lik etil alkol eklendi. Tüpler 13000 devir/dakika'da 10 dakika santrifüj edilerek DNA'ların tüpün dibine yapışması sağlandı. Bu işlem 3 kez tekrar edildi. En son santrifüj işleminden sonra alkol dikkatli bir şekilde döküldü. Tüplerin dibine yapışması sağlanan DNA'lar vakumlu kurutucuda yarım saat bekletildi ve üzerlerine gerekli miktarlarda steril distile su eklendi. Birkaç gün +4°C' de bekletilerek çözünmesi sağlanan DNA'lar saklanmak üzere -20°C' lik derin dondurucuya kaldırıldı.

3.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Bu çalışmada DNA analizi için tercih edilen PCR (Polymerase Chain Reaction) tekniği, ilgilenilen bir gen bölgesinin in vitro şartlarda çoğaltılmasına dayanan, pratikliği ve güvenilirliği ile günümüzde moleküler biyolojik çalışmalarda en çok kullanılan tekniklerden birisidir. TTF1 (rs3739914), TTF2 (rs998532) ve PAX8 (rs80049915) gen bölgelerinin PCR yöntemiyle çoğaltılması işlemi Corbett Research CG1-96 (Australia) model PCR cihazı ile yapıldı.

3.4.1 PCR Yönteminde Kullanılan Primerler

Bu çalışmada kullanılan primerler PriemerPrime5 programı kullanılarak tasarlandı. Kullanılan PCR primerleri ve özellikleri Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8. TTF1, TTF2 ve PAX8 genlerine ait primerler ve bu primerlere ait ürün büyüklükleri ve yapışma sıcaklıkları

Primer Adı	Primer Dizisi	Ürün Büyüklüğü	PCR yapışma sıcaklığı (°C)
1 TTF1Fw	5' TGT GAT CCT TCA GGG TAT G 3'	350	55
2 TTF1Rw	5' ATC GCA AGC AGG CAG AG 3'		
3 TTF2Fw	5' GGA AAA GAA GGC TGA TAA 3'	270	51
4 TTF22Rw	5' TGA GAA GAT GCA GAT GGT 3'		
5 PAX8Fw	5' TGC CCT GAG CCC ATT GAT 3'	250	61
6 PAX8 Rw	5' AGC AGC GGA CCC CGA AAG 3'		

3.4.2 PCR Karışımının Hazırlanması ve PCR Şartlarının Primerlere Göre Optimizasyonu

Bu çalışmada kullanılan primerler öncelikle uygun çalışma şartlarını belirlemek için gradient PCR yapılarak PCR şartları optimize edildi. Daha sonra hasta ve kontrol örnekleri primer çiftleri ile çoğaltıldı. Çoğaltılan gen bölgelerine ait PCR içerikleri ve miktarları Tablo 9-14’te verilmiştir.

Tablo 9. TTF1 bölgesine ait PCR içeriği ve miktarları

PCR İçeriği	Miktar (µl)
ddH ₂ O	16
10X PCR Tamponu	2,5
MgCl ₂	2,5
dNTP	2,5
Primer Fw	0,25 (50 pm)
Primer Rw	0,25 (50 pm)
Taq DNA Polimeraz	0,1
Kalıp DNA	0,9 (50 ng)

Tablo 10. TTF1 bölgesi PCR döngü şartları

94 °C	4 dakika	
95 °C	45 saniye	30 döngü
55 °C	30 saniye	
72 °C	30 saniye	
72 °C	5 dakika	

Tablo 11. TTF2 bölgesine ait PCR içeriği ve miktarları

PCR İçeriği	Miktar (µl)
ddH2O	16,1
10X PCR Tamponu	2,5
MgCl ₂	2,5
dNTP	2,5
Primer Fw	0,2 (50 pm)
Primer Rw	0,2 (50 pm)
Taq DNA Polimeraz	0,1
Kalıp DNA	0,9 (50 ng)

Tablo 12. TTF2 bölgesi PCR döngü şartları

94 °C	3 dakika	
95 °C	45 saniye	30 döngü
55 °C	30 saniye	
72 °C	30 saniye	
72 °C	5 dakika	

Tablo 13. PAX8 bölgesine ait PCR içeriği ve miktarları

PCR İçeriği	Miktar (µl)
ddH ₂ O	16
10X PCR Tamponu	2,5
MgCl ₂	2,5
dNTP	2,5
Primer Fw	0,25 (50 pm)
Primer Rw	0,25 (50 pm)
Taq DNA Polimeraz	0,1
Kalıp DNA	0,9 (50 ng)

Tablo 14. PAX8 Bölgesi PCR Döngü Şartları

94 °C	3 dakika	
94 °C	45 saniye	30 döngü
55 °C	30 saniye	
72 °C	30 saniye	
72 °C	5 dakika	

3.5. Elektroforez

Elektroforez, yüklü moleküllerin doğrusal elektrik akımı yardımı ile birbirinden ayrılması için kullanılan bir fiziksel ayırım metodudur. Bu tez çalışmasında PCR işlemi sonrasında agaroz jel elektroforezi ile çoğaltılan gen bölgeleri görüntülenerek yöntemin çalışıp çalışmadığı kontrol edilmiştir. Daha sonra ise SSCP yöntemi kullanılmıştır.

3.6. SSCP Yöntemi

SSCP, DNA üzerindeki farklılıkları tespit amacıyla geliştirilen yöntemler içerisinde çok çaba ve kimyasal gerektirmemesiyle ve pratik oluşuyla en çok kullanılan yöntemlerden biridir. Nokta mutasyonları, ekleme/çıkarma tipi mutasyonlar, yeniden düzenlenme tipi mutasyonlar gibi durumların tespiti için çok uygundur. Bunun yanında, tek tek bir baz çiftinde olan değişiklikleri (SNP: tek nükleotid polimorfizm) bile SSCP ile yakalamak mümkündür.

Yöntem denatüre edilerek tek sarmal haline getirilen DNA parçacıklarının denatüre edici kimyasal içermeyen poliakrilamid jelde yürütülmesi esasına dayanmaktadır. Nükleotit diziliminden kaynaklanan ikincil yapının kendi üzerine

katlanarak molekül ağırlığından bağımsız, dizilime özel bir şekilde elektromanyetik alanda hareket etmesi SSCP'nin diğer metotlardan farkını oluşturmaktadır. SSCP kıyasa dayalı bir metottur. Bu nedenle sağlıklı analiz yapabilmek için örnek sayısı mümkün olduğunca fazla tutulmalıdır. SSCP jelinde varyasyon/mutasyon içeren yapılar jel görüntüsünde örnek başına iki, üç veya dört tane bant verebilirler. İki bant ve kıyaslanan örneklerden farklı konumda bant yerleşimi farklı dizilime; üç bant mozaik yapıya; dört bant ise her iki sarmalda da farklı dizilime işaret etmektedir.

Bu yöntemin en büyük avantajı hızlı bir şekilde çok sayıda örneğin taranabilmesine imkan vermesidir. Ancak SSCP kullanılarak %100 oranında mutasyon/varyasyon tespit etmek mümkün değildir. Bunun sebebi dış etkenlerden çok fazla etkilenmesidir. Jele yüklenen örnek büyüklüğünün belli bir aralıkta olması gereği de bu yöntem kullanılarak yapılan araştırmaları sınırlayan diğer bir faktördür. Genellikle SSCP'de en sağlıklı sonuca ulaştıracak ürün büyüklüğü 150-400 bp aralığıdır.

3.6.1 SSCP'nin Yapılışı

3.6.1.1. Camların Hazırlanması

Kullanılacak olan U şekilli ve dikdörtgen şekilli her iki cam da ilk önce %70'lik ardından da %96'lık etil alkol ile iyice temizlendi. Jelin bağlanması istenen U cama 1000 µL jel bağlama çözeltisi (3 µL gamma-metakriloksipropiltrimetoksi silane, 5 µL asetik asit, 1000 µL % 96'lık etil alkol) hava bırakmayan peçete ile dikkatlice yayıldı ve 10 dakika kuruması için beklendi. Dikdörtgen cama ise 650 µL kayganlaştırıcı çözelti (sigmacote) hava bırakmayan peçete ile yayıldı ve 10 dakika kuruması için beklendi. Yanlara aralık çubukları üste ve alta da ters olarak birer tarak yerleştirildikten sonra camlar birbiri üzerine kapatılıp mandalla birbirine tutturuldu.

3.6.1.2. Jelin Hazırlanması

Jel karışımı, 250 mL'lik beher içerisine 49:1 akrilamid: bisakrilamid oranında hazırlandı. Jel karışımı, 14 mL %50'lik stok akrilamid çözeltisi, 6 mL 10X TBE ve 80 mL saf su şeklinde hazırlandı ve iyice çözünmesi sağlandı. Manyetik karıştırıcı üzerine alınan karışıma burada 450 µL %10 APS ve 45 µL TEMED eklendi. 4-5 saniye karışması beklendikten sonra beher yardımıyla yavaşça ve hava kabarcığı bırakmamaya

özen göstererek iki cam arasına döküldü ve köpek balığı dişli tarak ters olarak jelin üst kısmına yerleştirildi. Jelin donması için en az 45 dakika beklendi.

3.6.1.3. Örneklerin Hazırlanması

Örnekler, 0,2 mL lik tüplere 20 µL'lik toplam hacmin 6 µL'si PCR ürünü ve 14 µL'si SSCP tamponu olacak şekilde hazırlandı. Hazırlanan örnekler 95,5°C'de üç dakika denatürasyonun hemen ardından buz üzerine alındı ve buz üzerinde en az beş dakika bekletildi.

3.6.1.4. Örneklerin Yüklenmesi

Jel dolduktan sonra alttaki ve üstteki taraklar ile mandallar çıkarıldı. Camlar U cam arkada kalacak şekilde ve elektroforez tankında sızmaya meydan vermeyecek şekilde yerleştirildi. Tankın üst ve alt kısımlarına 1X TBE dolduruldu. İki cam arasındaki jel artıkları temizlendikten sonra köpek balığı dişli tarak bu sefer düz olarak yerleştirildi. Güç kaynağı ile bağlantılar yapılarak 450 Volt'ta 30 dakika boş olarak pH dengesinin sağlanması amacıyla ön yürütme yapıldı. Ön yürütmenin ardından, hazırlanan örnekler kuyucuklara 3'er µL hacimde yüklendi ve 430 Volt'ta +15°C'de 16,5 saat yürütüldü.

3.6.1.5. Örneklerin Görüntülenmesi

Yürütmenin ardından tanktan alınan camlar birbirinden ayrıldı. Üzerinde jel olan U cam, çalkalayıcı % 10'luk iki litre asit ile 15 dakika bekletildi. Ardından 10 dakika iki litre asetik asit içinde 15 dakika bekletildi. Ardından, 10 dakika iki litre saf su içinde bekletildi. Gümüş nitrat çözeltisi içerisinde 45 dakika bekletildikten sonra soğuk sodyum karbonat çözeltisi içine alındı. Bantların görünmesiyle zemin kararmadan hemen önce tekrar %10'luk asetik asit çözeltisine alınarak bantların sabitlenmesi sağlandı. Beş dakika bekletildikten sonra saf suya alınarak ortamdan fazla asetik asitin uzaklaştırılması sağlandı. Bunun ardından cam kurumaya bırakıldı. Kurumanın ardından jelin görüntüsü 1200 dpi tarayıcı kullanılarak bilgisayara aktarıldı.

3.7. DNA Dizi Analizi

SSCP sonuçlarında elde edilen farklı bantlardan birer örnek seçilerek DNA dizi analizi yapıldı. Bu yöntemle SNP olan dizide hangi bazların değiştiği tespit edildi.

3.7.1 PCR Amplifikasyonu

SSCP analizi için kullanılan PCR ürünleri DNA dizi analizi içinde kullanılmıştır. DNA dizileme analizi yapılacak olan PCR örnekleri belirlendikten sonra eksosap ile pürifikasyon yapılmıştır.

3.7.2 Eksosap ile Pürifikasyon

Eksosap ile pürifikasyon için üretici firmanın önerdiği aşağıdaki protokol miktarları hazırlanmıştır.

PCR ürünü : 5 µl

Exosap : 2 µl

Bu karışım hazırlandıktan sonra 37 °C 30 dk ve 80 °C 15 dk olmak üzere thermal cycler programı çalıştırıldı.

3.7.3 DNA Dizileme Protokolü

Örnek sayısına göre aşağıdaki tablo kullanılarak hesaplamalar yapılır

Big Dye Cycle Sequencing V3.1 Kit	:2 µl
5x Sequencing Buffer	:2 µl
Forward veya Reverse Primer	:2 µl
PCR ürünü	:2 µl
Su	:2 µl
	+ <u> </u>
	10 µl

3.7.4 PCR Reaksiyon Aşaması

Yukarıda hazırlanan karışımlar için aşağıdaki thermal cycler programı kullanıldı.

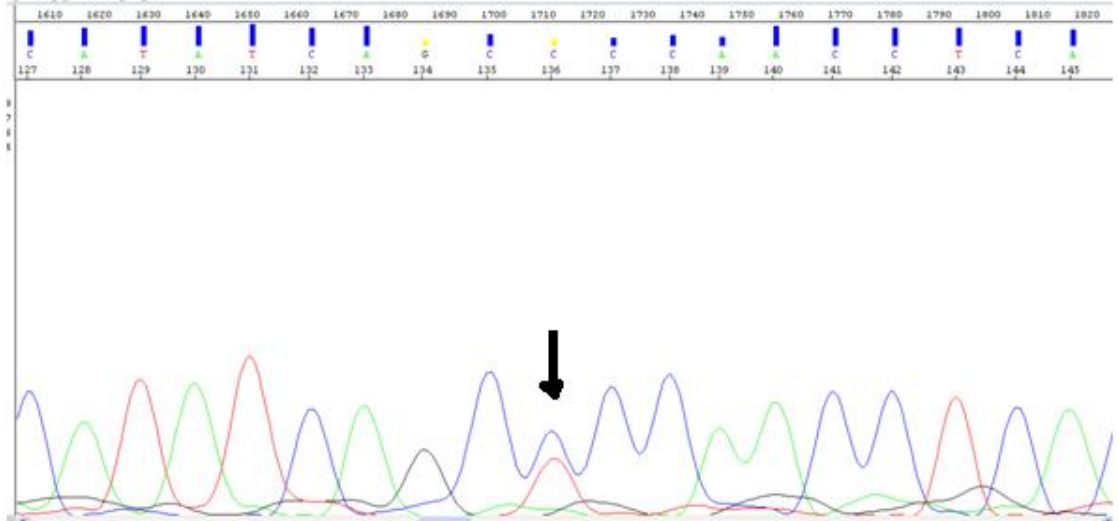
Aktivasyon	96 °C	1 dk.	
	96 °C	10 sn.	} 25 döngü
Amplifikasyon	50 °C	5 sn.	
	60 °C	4 dk.	
Bekleme	+4 °C	∞	

3.7.5 -DNA Dizi Analizi 'Cycle Sequencing' Ürünlerinin SEPHADEX G-50 ile Temizlenmesi

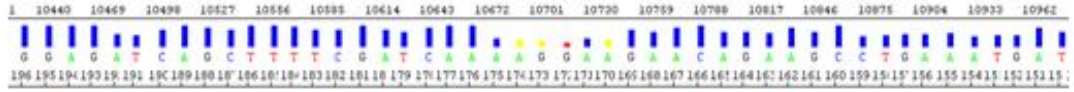
- 1- 1 gr Sephadex 14 ml. Distile suda çözülür ve 30 dakika ara ara çalkalanarak oda ısısında bekletildi
- 2- Sephadex kolonlarının içerisine 600 µl dağıtıldı
- 3- 2000 g (4600 rpm)' de 2 dk. santrifüj edildi.
- 4- Santrifüj sonrası Sephadexli kolonlar başka bir tüpe aktarıldı.
- 5- 10 µl Cycle Squencing ürünü Sephadex Üzerine (kolona temas etmeden) bırakıldı.
- 6- 2000 g (4600 rpm)' de 2 dk. santrifüj edildi.
- 7- Alttaki tüpe aktarılmış olan ürün, dizileme için uygun olan üründür.
- 8- Yüklenen ürün miktarı 10 µl den az ise üzeri distile su ile 15 µl ye tamamlanarak cihaza yüklendi.

3.7.6. DNA Dizi Analizi Sonuçlarının Değerlendirilmesi

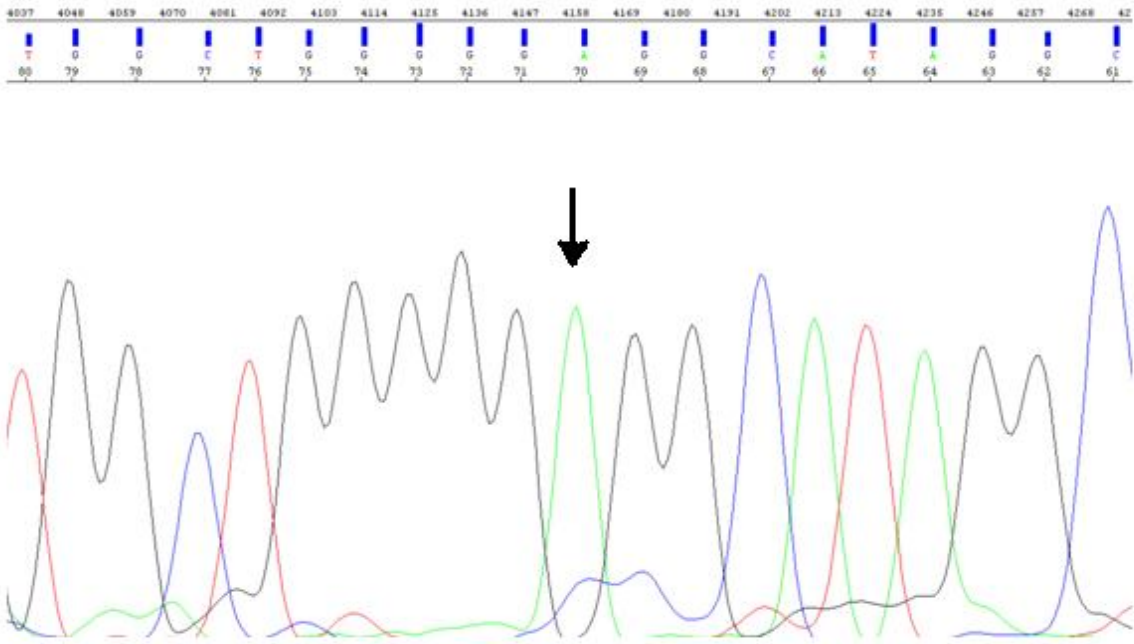
DNA dizileme işleminin ardından her gen bölgesi için SNP değişimi olan diziler tespit edildi.



Şekil 5: TTF1 gen bölgesinde (2054238 C>T) CT genotipi dizinin gösterilmesi



Şekil 6: TTF-2 gen bölgesinde (rs998532) GA genotipi



Şekil 7: PAX8 gen bölgesinde (rs80049915) AA genotipi

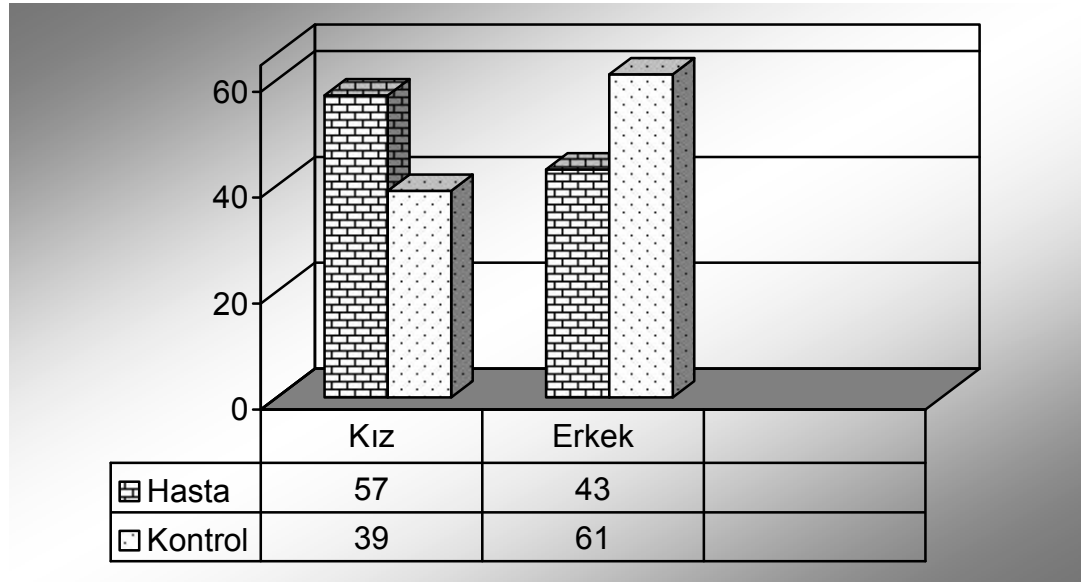
3.8. İstatistiksel Analiz

Çalışmada ortaya çıkan veriler SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) for windows 11,5 paket programına yüklendi. Kategorik iki değişken

arasındaki ilişkinin belirlenmesinde Ki-Kare analizi, Odds oranlarının tahmininde Binary Lojistik Regresyon analizleri kullanıldı. Ayrıca normal dağılıma uygun olmayan değişkenlerin gruplara göre farklılıkları Kruskal Wallis analizi ve Dunn Çoklu Karşılaştırma testleri ile belirlendi. Tanıtıcı istatistik olarak kategorik değişkenler için frekans ve yüzde diğer değişkenler için ortalama-standart sapma değerleri verildi. $P < 0,05$ anlamlı kabul edildi.

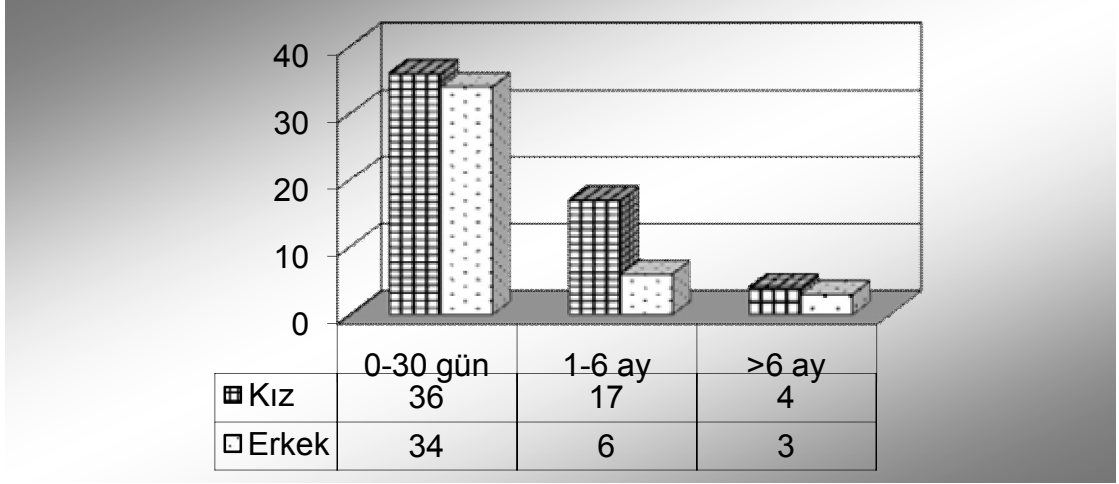
4. BULGULAR

Konjenital hipotiroidi tanısı alan 100 hasta ve 100 sağlıklı kontrol grubu toplam 200 çocuk değerlendirildiğinde hasta grubunun 57'si (% 57) kız, 43'ü (% 43) erkekti. Kontrol grubunun 39'u (% 39) kız, 61'i (% 61) erkekti. Şekil 8'de cinsiyetin hasta ve kontrol grubuna göre dağılımı gösterilmiştir.



Şekil 8. Cinsiyetin hasta ve kontrol grubuna göre dağılımı

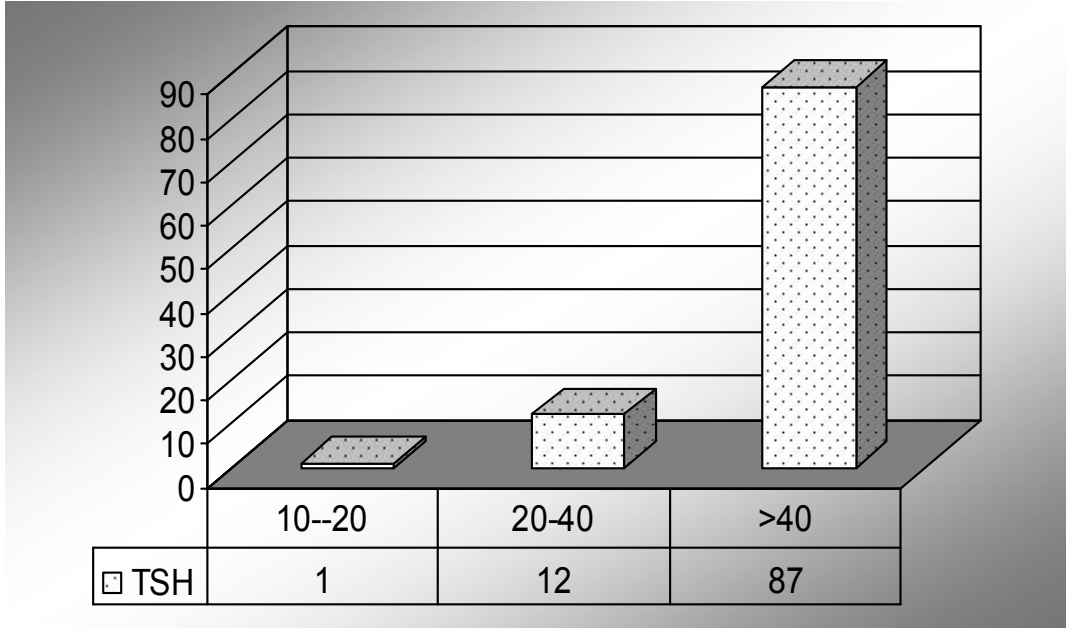
Hastalar 0-30 gün, 1-6 ay, 6 ay ve üzeri olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Hasta grubunda 0-30 gün aralığında 70 (% 70) olgu olup bunların 36'sı (% 51.4) kız, 34'ü (% 48.6) erkek, 1-6 ay aralığında 23 (% 23) olgu olup bunların 17'si (% 73.9) kız, 6'sı (% 26.1) erkek, 6 ay üzerinde ise 7 (% 7) olgu yer alırken bunların 4'ü (% 57.1) kız, 3'ü (% 42.9) erkekti. Hasta grubunda cinsiyete göre başvuru yaşı Şekil 9'da gösterilmiştir.



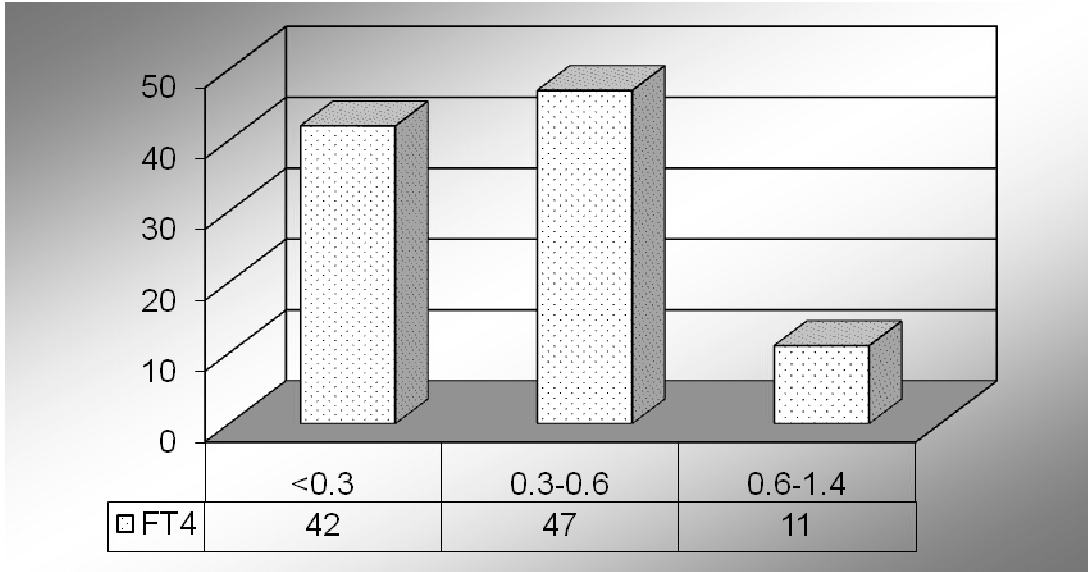
Şekil 9. Hasta grubunda cinsiyete göre başvuru yaşı

Hastaların başvuru anındaki serum TSH düzeyleri; 1 hastanın 10-20 mIU/L (% 1), 12 hastanın 20-40 mIU/L (% 12), 87 hastanın >40 mIU/L (% 40) olarak saptandı. Başvuru anı sT4 düzeyleri; 42 hastanın <0.3 ng/dl (% 42), 47 hastanın 0.3-0.6 ng/dl (% 47) arasında, 11 hastanın 0.6-1.4 (% 11) arasında saptandı. sT4 düzeyi <0.3 ng/dl olan bir hastada TSH düzeyi 20-40 mIU/L arasında, 41 hastada >40 mIU/L üzerinde, sT4 düzeyi 0.3-0.6 ng/dl arasında olan bir hastada TSH düzeyi 10-20 mIU/L arasında, 10 hastada 20-40 mIU/L arasında, 36 hastada >40 mIU/L üzerinde, sT4 düzeyi 0.6-1.4 ng/dl arasında olan bir hastada TSH düzeyi 20-40 mIU/L arasında, 10 hastada >40 mIU/L üzerinde saptandı. Tiroid stimulan hormon düzeyi ile sT4 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı (p=0.035). Hasta sayılarına göre TSH, sT4 dağılımı, TSH ile sT4 dağılımı arasındaki ilişki Şekil 10, 11 ve 12’de gösterilmiştir.

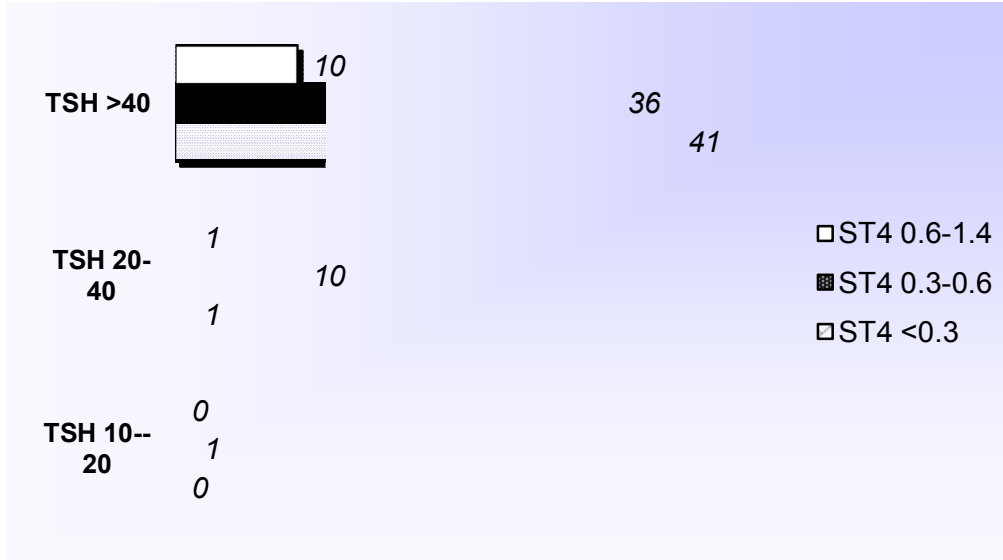
Başvuru anında agenezi saptanan 42 hastanın 34’ünde tiroglobülin düzeyine bakıldı ve tiroglobülin düzeyi ortalaması 14 mg/L’, 56 hipoplazi hastasının 47’sine tiroglobülin düzeyi bakıldı ve tiroglobülin düzeyi ortalaması 44 mg/L, ektopi saptanan iki hastadada tiroglobülin düzeyine bakıldı ve tiroglobülin düzeyi ortalama 280 mg/L olarak saptandı.



Şekil 10. Hasta sayılarına göre TSH dağılımı

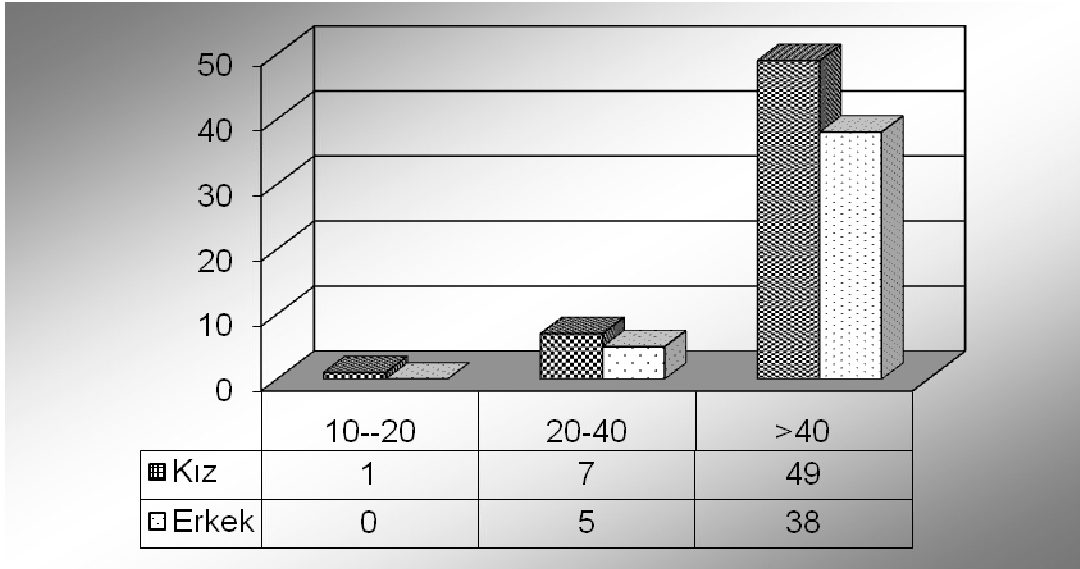


Şekil 11. Hasta sayılarına göre sT4 dağılımı



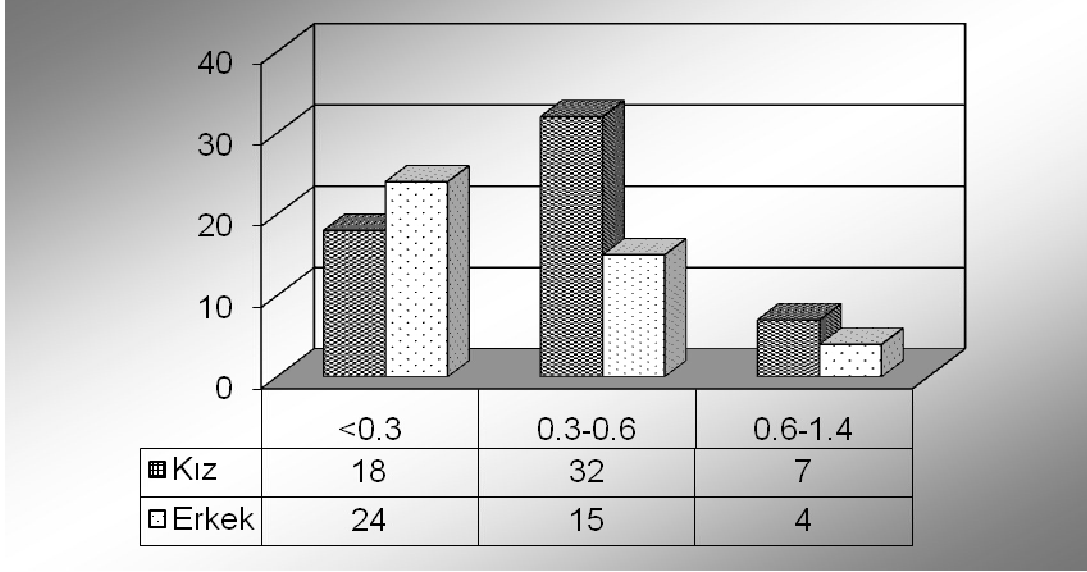
Şekil 12. Hasta sayılarına göre TSH ile sT4 dağılımı arasındaki ilişki

Kız hastaların 1'inde TSH düzeyi 10-20 mIU/L arasında, 7'sinde 20-40 mIU/L arasında, 49'unda >40 mIU/L üzerinde saptandı. Erkek hastaların beşinde TSH düzeyi 20-40 mIU/L arasında, 38'inde >40 mIU/L üzerinde saptandı (p=0.56). Cinsiyete göre TSH düzeyleri Şekil 13'de gösterilmiştir.



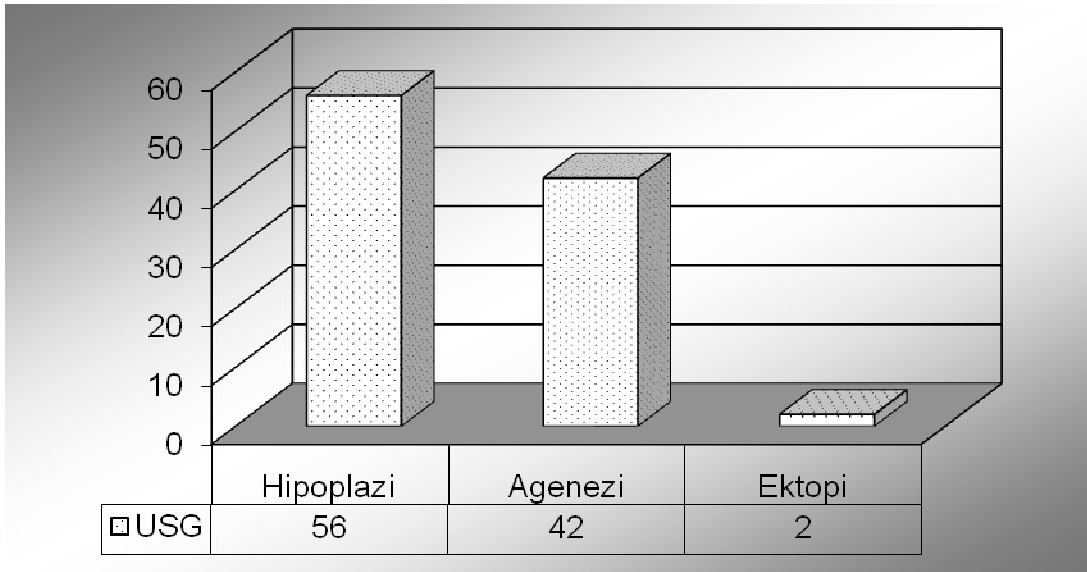
Şekil 13. Cinsiyete göre TSH düzeyleri

Kız hastaların 18'inde sT4 düzeyi 0.3 ng/dl'nin altında, 32'sinde 0.3-0.6 ng/dl arasında, 7'sinde 0.6-1.4 ng/dl arasında saptandı. Erkek hastaların 24'ünde sT4 düzeyi 0.3 ng/dl'nin altında, 15'inde 0.3-0.6 ng/dl arasında, 4'ünde 0.6-1.4 ng/dl arasında saptandı (p=0.05). ST4 düzeyleri ile cinsiyet arasındaki ilişki Şekil 14 'de gösterilmiştir.



Şekil 14. ST4 düzeyleri ile cinsiyet arasındaki ilişki

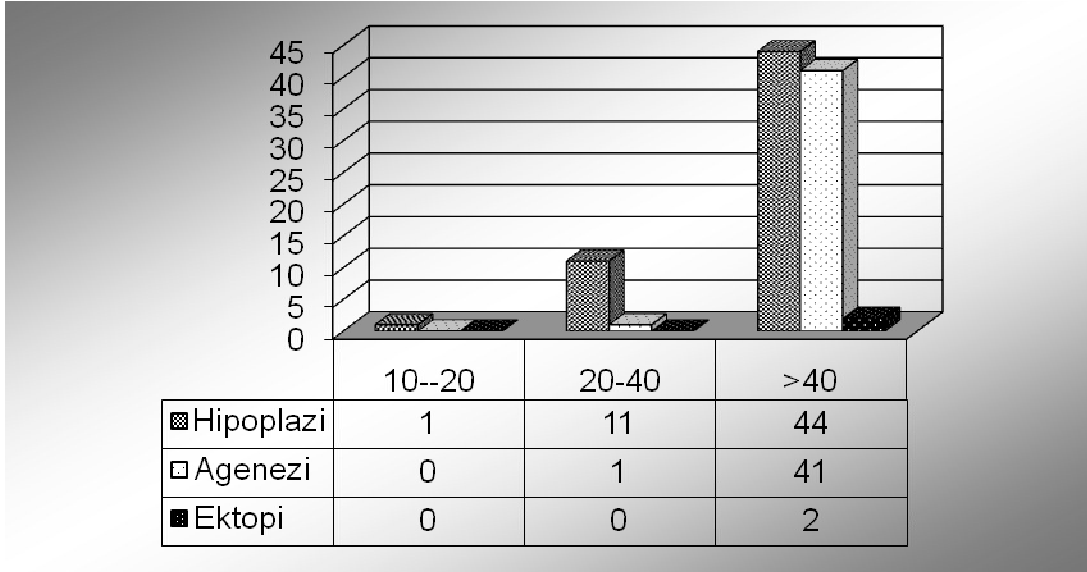
Ultrasonografi bulgularında 56 hastada (% 56) hipoplazi, 42 hastada agenezi (% 42), 2 hastada (% 2) ektopi saptandı. Tiroid ultrasonografi bulguları Şekil 15'te gösterilmiştir.



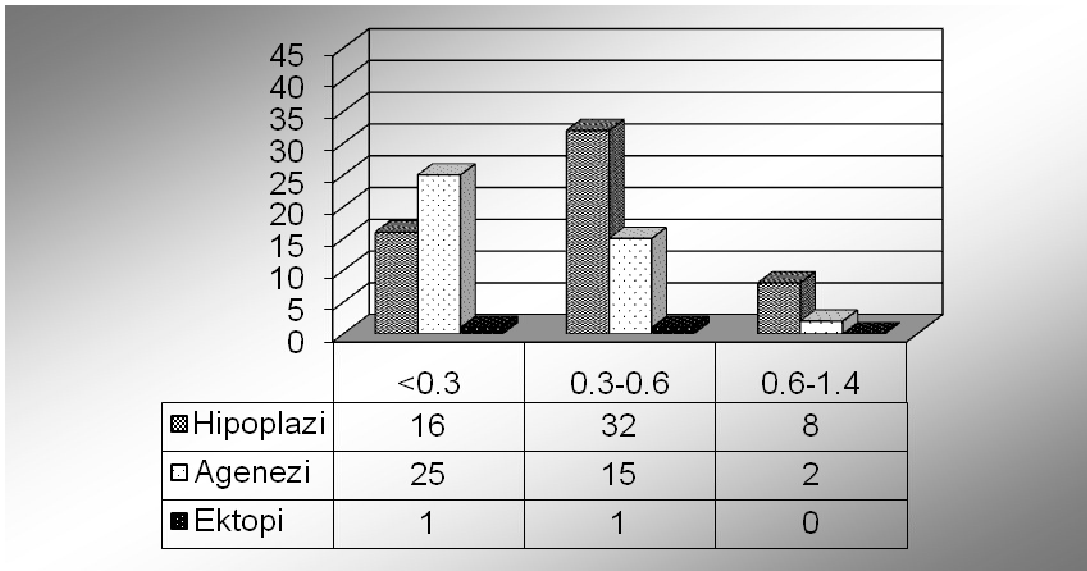
Şekil 15. Ultrasonografi bulguları

Ultrasonografi bulgularına göre hipoplazi saptanan bir hastada TSH düzeyi 10-20 mIU/L arasında, 11 hastada 20-40 mIU/L arasında ve 44 hastada TSH düzeyi >40 mIU/L üzerinde, agenezi saptanan bir hastada TSH düzeyi 20-40 mIU/L arasında, 41 hastada > 40 mIU/L, ektopi saptanan iki hastada TSH düzeyi >40 mIU/L saptandı. Ultrasonografi ile TSH arasında anlamlı ilişki vardı (p=0.044). Hipoplazi saptanan 16

hastada sT4 düzeyi <0.3 ng/dl, 32 hastada 0.3-0.6 ng/dl arasında, sekiz hastada 0.6-1.4 ng/dl arasında, agenezi saptanan 25 hastada <0.3 ng/dl, 15 hastada 0.3-0.6 ng/dl arasında, iki hastada 0.6-1.4 ng/dl arasında, ektopi saptanan bir hastada sT4 düzeyi <0.3 ng/dl, bir hastada 0.6-1.4 ng/dl arasında saptandı. USG ile sT4 arasında anlamlı ilişki vardı (p=0.009). Ultrasonografi bulguları ile TSH, sT4 düzeyleri arasındaki ilişki Şekil 16 ve 17’de gösterilmiştir.



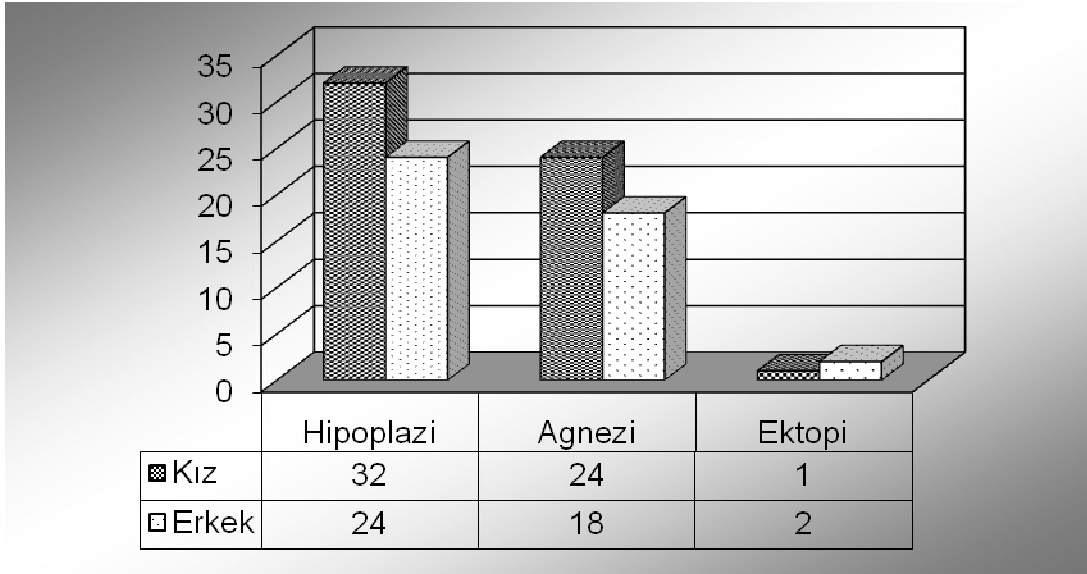
Şekil 16. Tiroid ultrasonografi bulguları ile TSH düzeyleri arasındaki ilişki



Şekil 17. Tiroid ultrasonografi bulguları ile sT4 düzeyleri arasındaki ilişki

Kız hastaların 32’sinde hipoplazi, 24’ünde agenezi, birinde ektopi, erkek

hastaların 24'ünde hipoplazi, 18'inde agnezi, ikisinde ektopi saptandı (p=0.980). Cinsiyet ile tiroid ultrasonografi bulguları arasındaki ilişki Şekil 18'de gösterilmiştir.



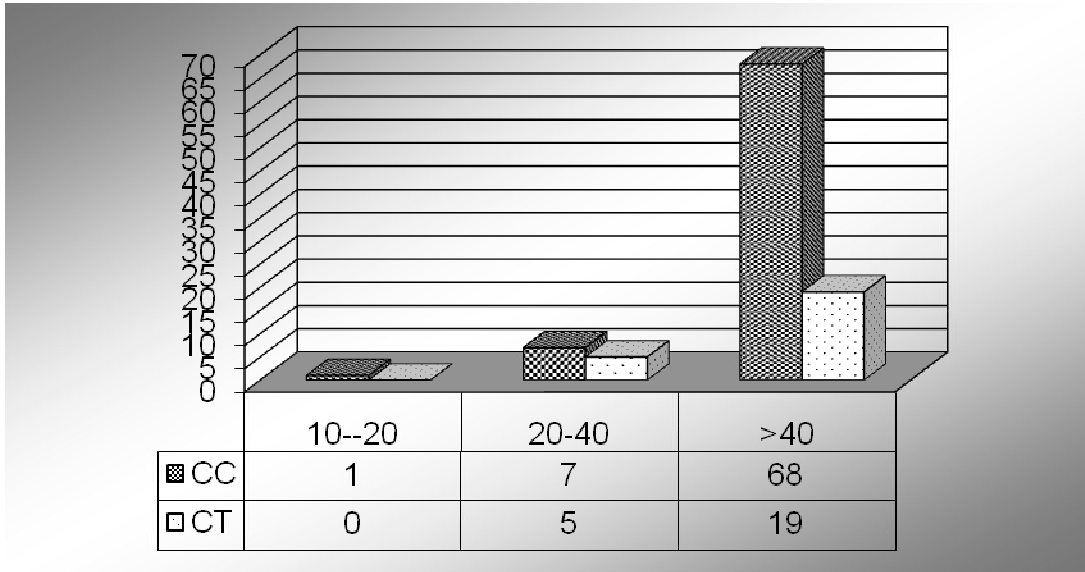
Şekil 18. Cinsiyet ile tiroid ultrasonografi bulguları arasındaki ilişki

TTF-1 geni rs3739914 C/T polimorfizmi 100 disgenetik konjenital hipotiroidili hastada ve 100 sağlam kişinin hiçbirinde saptanmadı. TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmine 76 hastada rastlanmadı (CC), 24 hastada CT heterozigot mutasyonu saptandı. TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi kontrol grubunda 80 kişide saptanmadı (CC), 20 kişide CT heterozigot mutasyonu saptandı. TTF1 2054238 C/T gen polimorfizminin hastalık için bir risk faktörü olmadığı görüldü (odds=0.766 (0.387-1.518), p=0.445). TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi dört hastada GA heterozigot mutasyonu saptanırken iki hastada GG homozigot mutasyonu saptandı. TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi kontrol grubunda dört hastada GA heterozigot mutasyon saptandı. TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizminin hastalık için bir risk faktörü olmadığı görüldü (odds=0,707[0,189-2,641], p=0,606). PAX8 geni rs80049915 A/G polimorfizmi 100 hasta ve 100 kontrol grubunda saptanmadı. Kontrol ve hasta grubu ile saptanan gen polimorfizmleri arasındaki ilişki Tablo 15'te gösterilmiştir.

Tablo 15. Kontrol ve Hasta Grubu ile Saptanan Gen Polimorfizmleri Arasındaki İlişki

	TTF1 rs3739914	TTF1 2054238		TTF2 rs998532			PAX8 rs80049915
	TT	CC	CT	AA	GA	GG	AA
Hasta	100	76	24	94	4	2	100
Kontrol	100	80	20	96	4	0	100

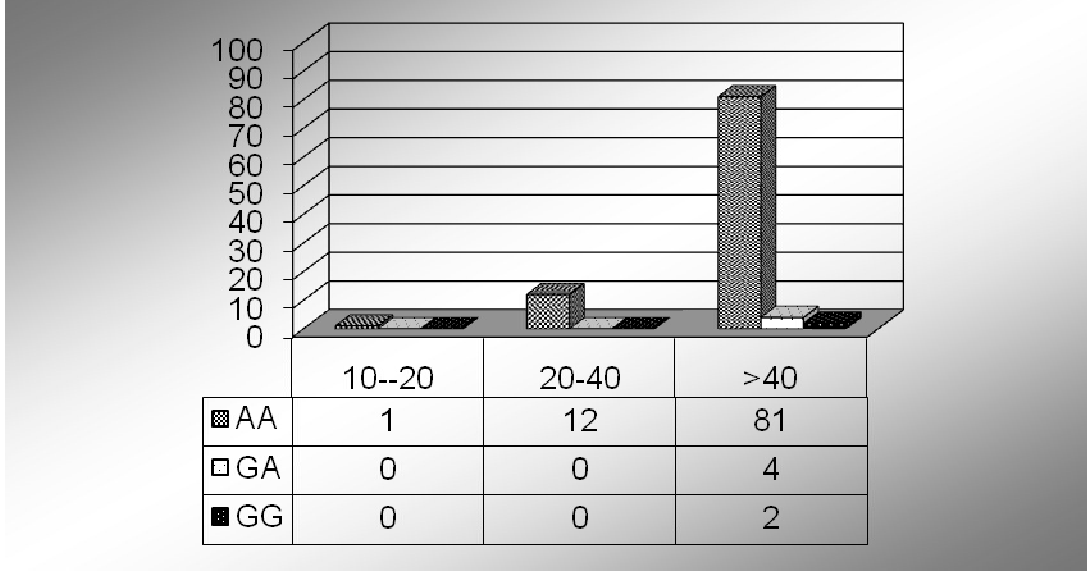
TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi saptanmayan bir hastanın TSH düzeyi 10-20 mIU/L arasında, yedi hastada 20-40 mIU/L arasında, 68 hastada >40 mIU/L idi. TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi saptanan beş hastada 20-40 mIU/L arasında, 19 hastada >40 mIU/L saptandı. (p=0.274). TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi ile TSH düzeyleri arasındaki ilişki Şekil 19’da gösterilmiştir.



Şekil 19. TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi ile TSH düzeyleri arasındaki ilişki

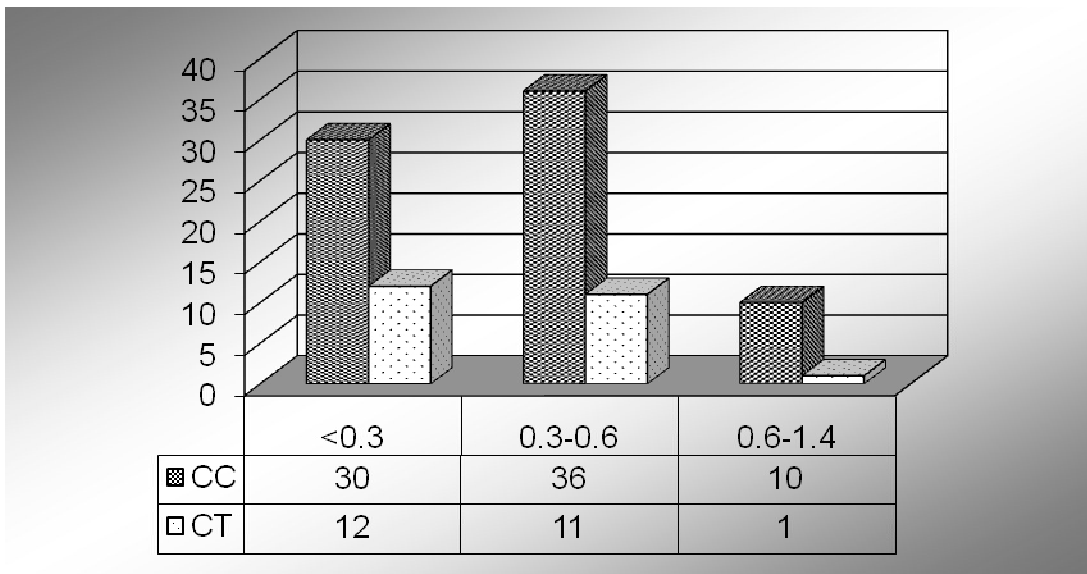
TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi saptanmayan bir hastada TSH düzeyi 10-20 mIU/L arasında, 12 hastada 20-40 mIU/L arasında, 81 hastada >40 mIU/L olarak saptandı. GA heterozigot mutasyon saptanan dört hastada TSH düzeyi >40 mIU/L idi. GG homozigot mutasyon saptanan iki hastanın TSH düzeyi >40 mIU/L idi (p=0.786).

TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi ile TSH düzeyleri arasındaki ilişki Şekil 20’de gösterilmiştir.



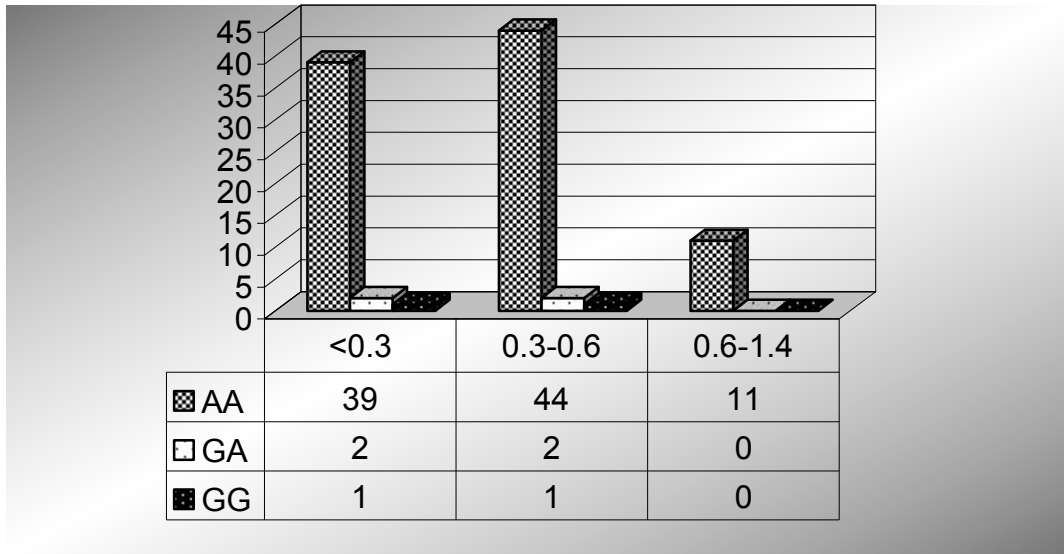
Şekil 20. TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi ile TSH düzeyleri arasındaki ilişki

TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi saptanmayan 30 hastanın sT4 düzeyi <0.3 ng/dl altında, 36 hastada 0.3-0.6 ng/dl arasında, 10 hastada 0.6-1.4 ng/dl arasında saptandı. CT heterozigot mutasyon saptanan 12 hastanın sT4 düzeyi <0.3 ng/dl altında, 11 hastada 0.3-0.6 ng/dl arasında, bir hastada 0.6-1.4 ng/dl arasında saptandı (p=0.400). TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi ile sT4 düzeyleri arasındaki ilişki Şekil 21’de gösterilmiştir.



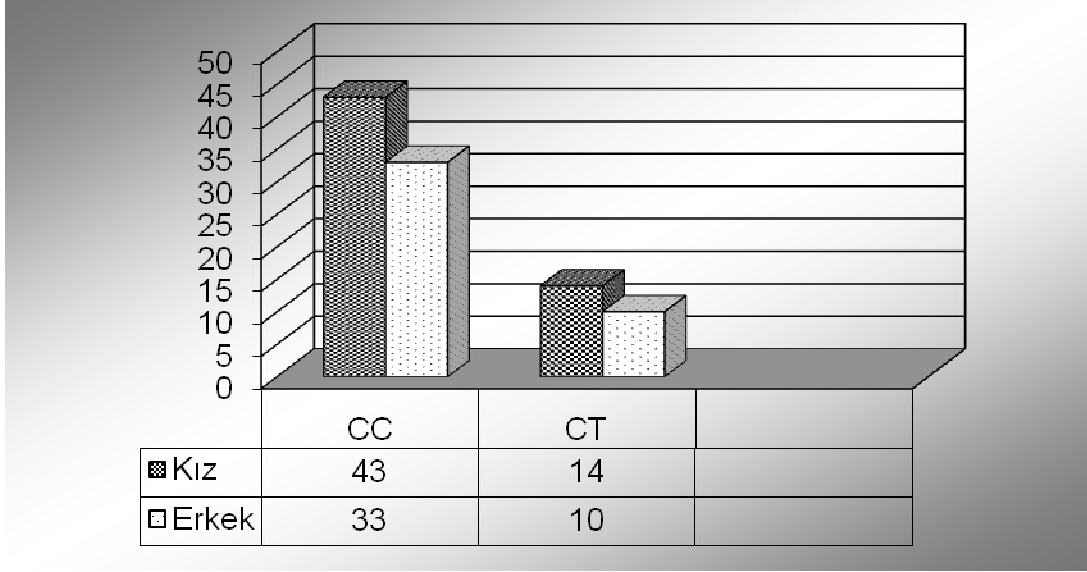
Şekil 21. TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi ile sT4 düzeyleri arasındaki ilişki

TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi saptanmayan 39 hastanın sT4 düzeyi <0.3 ng/dl altında, 44 hastada 0.3-0.6 ng/dl arasında, 11 hastada 0.6-1.4 ng/dl arasında saptandı. GA heterozigot mutasyon saptanan iki hastada sT4 düzeyi <0.3 ng/dl altında, iki hastada sT4 düzeyi 0.3-0.6 ng/dl arasında, GG homozigot mutasyon saptanan bir hastada sT4 düzeyi <0.3 ng/dl altında, bir hastada 0.3-0.6 ng/dl arasında saptandı (p=0.833). TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi ile sT4 düzeyleri arasındaki ilişki Şekil 22’de gösterilmiştir.



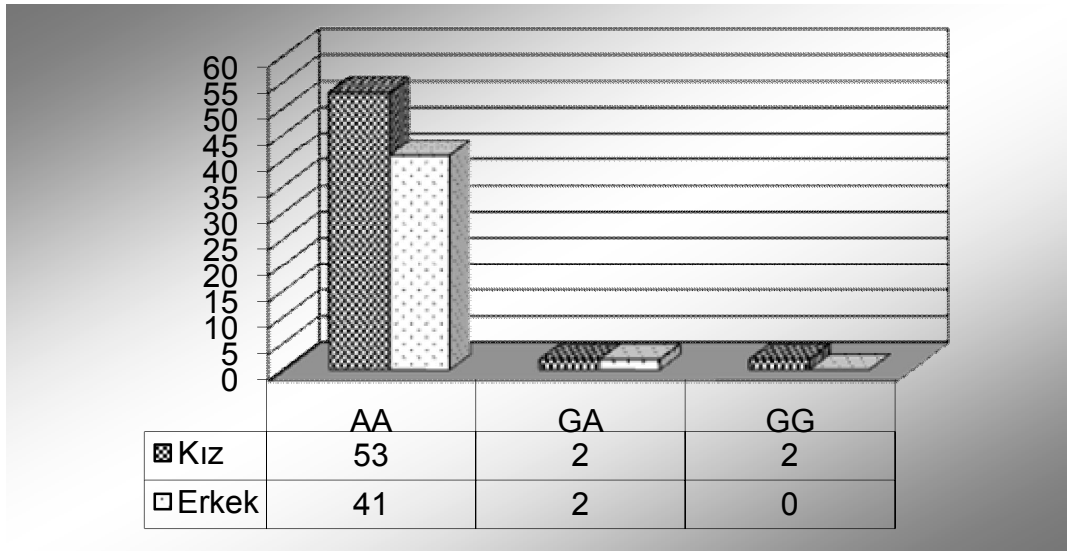
Şekil 22. TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi ile sT4 düzeyleri arasındaki ilişki

TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi saptanmayan 43 hasta kız, 33 hasta erkek, CT heterozigot mutasyon saptanan 14 hasta kız, 10 hasta erkek idi (p=0.880). TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi ile cinsiyet arasındaki ilişki Şekil 23’te gösterilmiştir.



Şekil 23. TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi ile cinsiyet arasındaki ilişki

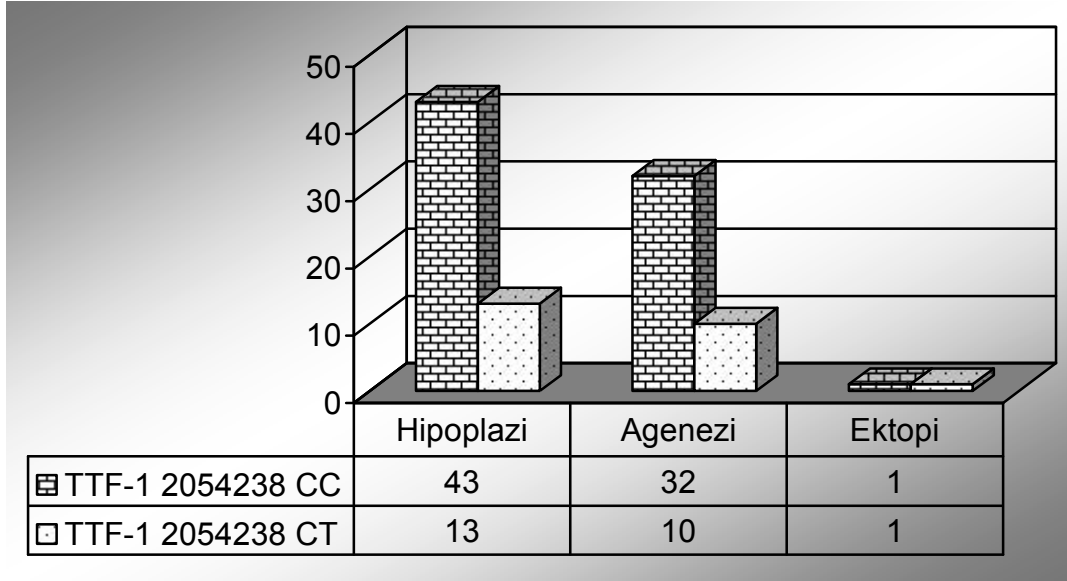
TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi saptanmayan 53 hasta kız, 41 hasta erkek, GA heterozigot mutasyon saptanan iki hasta kız, iki hasta erkek, GG homozigot mutasyon saptanan iki hasta kız idi ($p=0.449$). TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi ile cinsiyet arasındaki ilişki Şekil 24’te gösterilmiştir.



Şekil 24: TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi ile cinsiyet arasındaki ilişki

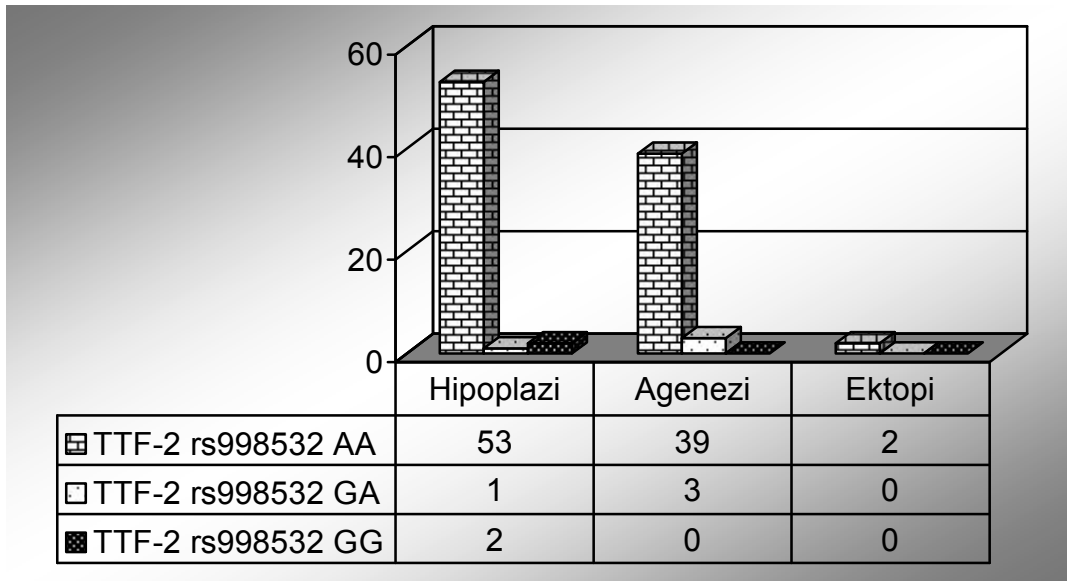
TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi saptanmayan 43 hastada hipoplazi, 32 hastada agenezi, bir hastada ektopi mevcuttu. TTF1 geni 2054238 CT heterozigot polimorfizmi saptanan 13 hastada hipoplazi, 10 hastada agenezi, bir hastada ektopi

vardı. TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi ile tiroid USG bulguları arasındaki ilişki Şekil 25’te gösterilmiştir.



Şekil 25: TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi ile tiroid USG bulguları arasındaki ilişki

TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi saptanmayan 53 hastada hipoplazi, 39 hastada agenezi, iki hastada ektopi, GA heterozigot mutasyon saptanan bir hastada hipoplazi, üç hastada agenezi, GG homozigot mutasyon saptanan iki hastada hipoplazi saptandı. TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi ile tiroid USG bulguları arasındaki ilişki Şekil 26’da gösterilmiştir.



Şekil 26. TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi ile tiroid USG bulguları arasındaki ilişki

5. TARTIŞMA

Konjenital hipotiroidi, tiroid bezinin gelişimsel hatalarından veya tiroid hormon biyosentezinde doğuştan gelen bozukluklardan kaynaklanan tiroid hormon yetersizliği ile karakterize klinik durumdur. Yenidoğan döneminde en sık karşılaşılan endokrinolojik sorundur. Tanısı ve tedavisi geciktiğinde mental retardasyon, kötü motor koordinasyon, ataksi, spastik dipleji, muskuler hipotoni, strabismus, öğrenme bozuklukları ve dikkat eksikliği gibi nörolojik sekeller ortaya çıkabildiği için erken tanı ve tedavisi çok önemli bir hastalıktır (16,23,24).

Yeterli dozda tedaviye rağmen bazı kaynaklarda zeka geriliğinin az derecede de olsa sebat ettiğinin tespit edilmesi, yenidoğanda olduğu kadar fetüsün de beyin gelişimi için tiroid hormonlarına ihtiyaç duyduğunun göstergesidir (87). Doğumsal hipotiroidinin sıklığının güvenilir bir şekilde belirlenmesi, bölgesel ve küçük çaplı katılımlı taramalarla mümkün değildir. Bütün yenidoğanların katılımının sağlandığı doğumsal hipotiroidi taramasının politika halinde uygulamaya geçirilmesi bütün ülkeler için bir hedef olmalıdır. Doğumsal hipotiroidinin sıklığının doğru ve güvenilir bir şekilde tespiti ancak bu ülkelerde yeterli zaman dilimleri içinde mümkün olabilecektir.

Yenidoğan döneminde yürütülen tarama programları hastalığın erken tanısını kolaylaştırmakla birlikte hekimin sorumluluğunu azaltmış değildir. Hastalığın kesin tanısı, erken ve yeterli tedavisi hastayı izleyen hekimin sorumluluğudur. Taramanın olmadığı ve normal çocuk kontrollerinin ve takiplerinin yaygınlaşmadığı ülkelerde polikliniklere doğumsal hipotiroidi komplikasyonları nedeniyle ortaya çıkan şikayetler ile başvuran hastaların geniş çaplı tetkik masrafları, uzun dönem tedavi masrafları ve kalıcı ve geriye dönüşümsüz zeka geriliği nedeniyle iş gücü kaybının yol açtığı masraflar göz önüne alındığında doğumsal hipotiroidi taramasının maliyet etkinliği daha iyi anlaşılabilir. Taramanın rutin halinde yürütüldüğü toplumlarda sıklığın bilinmesi, erken tanı ve tedavi olanağı ile komplikasyonların önüne geçilmesi, tanıda geç kalınan olguların izlem ve tedavi maliyetine göre daha az masraflı ve faydalı olduğu güncel bilgiler ile uyumludur.

Konjenital hipotiroidi insidansı dünya genelinde 1:3000-4000 canlı doğum vakasının birinde görülmektedir (24,28,88). Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi'nin yaptığı tarama çalışmalarında 1:2700 olarak bulmuşlardır (40). Sağlam ve ark.(33), Bursa bölgesinde 1995 ve 2004 yılları arasında doğan 11770 yenidoğanda yapılan taramada geçici hipotiroidi sıklığını 1/840 ve kalıcı doğumsal hipotiroidinin sıklığını 1/2354 olarak bulmuşlardır. Bu taramada kapiller kandan alınan örneklerden filtre kağıdı ile TSH bakılmıştır. Ancak taramaya dahil edilen yenidoğanların bu bölge için belirtilen zaman aralığında doğan tüm yenidoğanların %5.3 ile %7'si arasında olduğu, doğumsal hipotiroidinin sıklığının daha iyi tespiti için daha geniş çalışmalara ihtiyaç duyulduğu ve bu çalışmalara bölgede doğan tüm yenidoğanların dahil edilmesi gerektiği belirtilmiştir.

Yordam ve ark.(89) Ankara bölgesinde 1991 ve 1992 yılları arasında doğan 30097 yenidoğan ile yaptığı taramada kapiller kandan filtre kağıdı ile TSH bakılmış ve doğumsal hipotiroidi sıklığının 1/2736 olduğu tespit edilmiştir.

Şimşek ve ark.(90) Batı Karadeniz bölgesinde yaptıkları taramada kapiller kan ile filtre kağıdından TSH bakılmış, kalıcı doğumsal hipotiroidi sıklığı 1/2326 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada bölgede hafif orta iyot eksikliği saptanmıştır.

Bu çalışmalarda görüldüğü gibi ülkemizde doğumsal hipotiroidi sıklığı tahmin edilen değerlerden daha yüksek oranlarda gibi görünmektedir. Yüksek rakamların bulunması ülkemizde sorunun önemini ortaya koymaktadır.

Bizim çalışmamızda konjenital hipotiroidili 57 kız (% 57), 43 erkek (% 43) hasta mevcuttu. Kız / erkek oranı: 1.33 idi. Kurinczuk ve ark.(91) kız:erkek oranını 2.5:1 olarak bulmuşlardır. Başka çalışmalar da kız:erkek oranını 2.5:1 olarak vermektedir (36,73,92). Bu oran, Unachak ve ark.(93) 2:1, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi (94) 1.34, Yordam ve ark. (40) 1.1, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi (95) bu oranı 1.3 olarak bulmuşlardır. Bizim bulgumuz bu bulgularla diğer çalışmalar uygunluk sağlamaktadır. Eugster ve ark.(83) kız:erkek oranını 0.8 oranında bulmuşlardır. Bizim bulgumuzla çelişmektedir. Ülkemizde ailelerin kız çocuklarını daha az doktora götürmesi bu oranı etkileyebilir.

Hanukoglu ve ark.(96) dishormonogenetik gruba göre disgenetik grupta kız oranının daha fazla olduğunu bulmuşlardır($p<0.001$). Bizim çalışmamızda disgenetik konjenital hipotiroidi hastalarında kız çocuklarla erkek çocuklar arasında istatistiksel

olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bunun sebebi dishormonogenezisli hastaların bu çalışmaya dahil edilmemesidir.

Bizim çalışmamızda konjenital hipotiroidili hastaların ortalama tanı yaşları 28.8 ± 28.2 gün idi. Tanı yaşını Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi 49.22 ± 49.17 ay (40), Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi 44.31 ay (94), Şimşek ve ark.(90) hastalarda ortalama tanı yaşını 23 ± 14 gün olarak bulmuşlardır. Unachak ve ark. (93) hastaların çoğunluğunun ilk 3 ay ile 1 yaş üzerinde tanı aldıklarını bulmuşlardır (Sırasıyla % 27, % 62.5). Ege Üniversitesi Tıp Fakültesinde 354 ± 544 gün idi (95). Bizim çalışmamızda hastaların % 70'i 0-30 gün arasında polikliniğimize başvurmuş. 2010 yılında 9 Eylül Üniversitesinde yapılan çalışmada bu oran % 55, Kurtoğlu ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları çalışmada bu oran % 41.3 olarak bulmuşlardır. Aradaki bu fark yenidoğan tarama programının gerekliliğini göstermektedir.

Konjenital hipotiroidi hastaları iki gruba ayrılabilir; doğuştan genellikle, glandın (guatr) genişlemesiyle ilişkilendirilen ve vakaların % 15'ini kapsayan tiroid hormonu biyosentezi bozuklukları (dishormonogenezis) bulunanlar ile vakaların % 85'ini oluşturan tiroid gelişimine bağlı bozuklukları bulunanlar (disembriyogenezisi veya disgenezi) (97,98). Dishormonogenez ve guatrlı konjenital hipotiroidizmin nedeni, tiroglobülin (TG) (99), tiroperoksidaz (TPO) (100,101), sodyum/iyot simporteri (NIS) (102), pendrin (PDS) (103), DUOX-2 (104) ve DEHAL1 (105) gibi tiroid hormonu sentezinden sorumlu proteinlere özgü gen kodlamalarından birindeki mutasyonlardır. Bu vakalar, klasik Mendelyen resesif geçişini gösterir. Homozigot TSH reseptörü (TSHR) mutasyonları hipoplastik glandlı konjenital hipotiroidizme yol açarken (106) yerinde ve normal büyüklükte tiroidli konjenital hipotiroidizm, heterozigot fonksiyon kaybı TSH reseptörünün heterozigot fonksiyon kaybı mutasyonlarına bağlı olarak ortaya çıkabilir (107,108).

Çalışmaya aldığımız 100 hastanın tamamına USG yaptık. Tiroid USG'sinin disgenezisi saptamada çok doğru bir metod olduğunu Kreisner ve ark.(55) yaptıkları çalışmada vurgulamışlar. Bizim bulgularımızda disgenetik vakaların etyolojik değerlendirilmesinde hipoplazi % 56 oranında, agenezi % 42 oranında, ektopi % 2 oranında saptandı. Ayrıca çalışmamızda ultrasonografi ile agenezi saptadığımız tüm

hastalara ektojik tiroid glandı için sintigrafi yaptık. De felice ve arkadaşları agenezi % 35-40, hipoplazi % 5, ektoji % 30-45 olarak saptamışlar (88). Unachak ve ark konjenital hipotiroidinin etyolojik değerlendirmesinde en sık tiroid disgenezisini bulmuşlar(% 80.9). Başka bir çalışmada konjenital hipotiroidinin etyolojik değerlendirilmesinde % 43 oranında agenezi, % 33 oranında ektojik tiroid, % 20 oranında tiroid hipoplazisi saptamışlardır (17). Ülkemizde Kurtoğlu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada bizim çalışmamıza benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmada hipoplazi % 50, agenezi % 10, ektoji % 4 saptanmış. Bu bulgular konjenital hipotiroidi etyolojisinde çevresel ve genetik farklılıkların önemli olduğunu göstermektedir.

Hanukoglu ve ark.(96) tarama TSH değerlerini agenezik grupta diğer gruplara göre daha yüksek bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda da tarama TSH değeri agenezik grupta diğer gruplara göre daha yüksek bulundu. Hanukoglu ve ark.(96) T4 değerini agenezik grupta diğer gruplara göre daha düşük bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda da T4 değeri atiroitik grupta diğer gruplara göre daha düşük bulunmuştur. Hastaların % 87'sinde TSH >40, % 12'sinde 20-40 ve % 1'inde 10-20 arasında saptandı. Yenidoğan tarama programının konjenital hipotiroidi hastalarını saptamada etkili bir yöntem olduğunu desteklemektedir. Yine hastalarda TSH ile sT4 arasındaki negatif korelasyon yenidoğan tarama programının konjenital hipotiroidili hastaları saptamadaki duyarlılığını göstermektedir.

Tiroid disgenezisinin patogenezi büyük oranda bilinmemektedir (88). Tiroid disgenezisli konjenital hipotiroidizm vakalarının çoğu, sporadik bir hastalık şeklinde oluşur.; ancak, toplanan kanıtlar genetik faktörlerin tiroid disgenezisinin patogenezinde rol oynadığını göstermektedir. Genetik faktörlerin katkısının, dışı prevalansının agenezi için olmamakla birlikte ektoji için önemli olduğu (109) ve farklı etnik gruplarda farklı tiroid disgenezisi oluşumlarına yol açtığı gözlemiyle desteklenmektedir (110-112). Bizim çalışmamızdaki toplam 2 ektojik glanda sahip hastanın biri kız diğeri erkekti. Biz çalışmamızda agenezi ve hipoplazi vakalarının kız cinsiyette daha fazla olduğunu gördük. Konjenital hipotiroidi insidansının çok yakın akraba evliliklerinin bulunduğu toplumlarda daha yüksek olduğu belirtilmiş (113) ve Castanet ve arkadaşları tarafından yapılan ulusal bir araştırma tiroid disgenezisli hastaların yaklaşık % 2'sinin disgenetik glanddan etkilenen bir akrabasının bulunduğunu göstermiştir (114). Bunun yanı sıra tiroid disgenezisli hastaların birinci dereceden akrabalarındaki orta dereceli tiroid

anormallikleride rapor edilmiştir (115). Bizim hastalarımızda anne ve babaları arasında birinci dereceden akrabalık oranın % 17 olduğunu gördük.

PAX8 geni, memeli PAX familyasının, tiroid hücresinin gelişiminde önemli rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür (116). PAX8 (farelerde Pax8 ve insanlarda PAX8 olarak anılır) her iki türde de kromozom 2'de yer alır (116,117). PAX8 geni insan kromozomu 2q12-q14'e karşılık gelir (21,117,118). Erken embriyonik günlerde tiroid gelişiminde kilit fonksiyonları icra eder ve bunun ifadesi gelişimin tüm aşamaları sırasında ve yetişkinlik döneminde tiroid foliküler hücrelerinde sürdürülür (88,119). PAX8 sadece tiroid hücre farklılaşmasının başlangıcında değil, aynı zamanda tiroid hücresi proliferasyonu için gerekli olan farklılaşma durumunun sürdürülmesinde de temel bir rol oynar(120). Fare modelleri, PAX8'in tiroid organogenezindeki ve tiroid hücresi farklılaşmasındaki hayati rolünü göstermede aracı olmuştur (119). Bu çalışmalarla farelerdeki PAX8'in tiroid prekürsör hücrelerinin yaşamı için gerekli olduğunu ve aynı zamanda tiroid gelişiminin ve fonksiyonel değişimin kontrolünde özel bir rolü olduğunu ortaya koymaktadır.

PAX8 mutasyonları için sistematik olarak taranmış en geniş tiroid disgenezisi kohortları, mutasyon oranının çok düşük olduğunu göstermiştir (8,121-125). Sporadik ve familial tiroid disgenezili vakalarda PAX8 geninde bugüne kadar en az 10 inaktivasyon mutasyonu belirlenmiştir. Macchia ve arkadaşları tarafından araştırılan 145 konjenital hipotiroidi ve tiroid disgenezisli'li iki çocuğun ve bir ailenin üç üyesinin PAX8 geninin kodlama bölgesinde fonksiyon kaybı mutasyonları (R31H, L62R ve R108X) barındırdığı saptanmıştır. İki çocuk vakanın PAX8 mutasyonları (R31H ve R108X) hipotiroidizmin çeşitli dereceleri ile ilişkilendirilen hipoplazi göstermiş; ilginç bir şekilde, TG seviyelerinin tiroid foliküler organizasyonda bir bozukluk olduğunu gösterecek şekilde yüksek olduğu belirlenmiştir. L62R PAX8 mutasyonunun etkilediği üç bireyli ailenin tamamında hipoplazik tiroid fenotipi mevcuttu ve vakalar hipotiroidizm bulgularını bir vakada ciddi, iki vakada da orta düzeyde göstermekteydi (121). PAX8'in fonksiyon kaybı mutasyonlarına bağlı konjenital tiroid hipoplazisinin otozomal dominant transmisyonu, konjenital hipotiroidi ve tiroid hipoplazisinden etkilenen bir anne ve bir kızda tarif edilmiştir (122). Konjenital hipotiroidi ve hipoplazisi olan bir hastada PAX8'deki Q40P'de heterozigot 119A-C mutasyonunun bulunduğu görülmüştür (123). Aynı heterozigot PAX8 mutasyonu, hastanın normal

büyükte tiroid glandı ve orta derecede otoimmün hipotiroidizmi bulunan annesinde saptanmıştır. Meeus ve arkadaşları, normal büyüklükte tiroide sahip familial konjenital hipotiroidi vakasında (baba ve iki çocuğu) yeni bir heterozigot mutasyon rapor etmişlerdir. Etkilenen kardeşlerden birinde unilateral böbrek agenezisi görülmüş (126). Mutasyonda, proteinin 54. pozisyonundaki serini (S54G mutasyonu) glisin ile değişmiştir. Konjenital hipotiroidi ve tiroid hipoplazili bir denekte, PAX8 heterozigot kaybı (c.989 992delACCC) belirlenmiştir(124). Bu mutasyon bugüne kadar saptanmış tek mutasyondur. Son yıllarda PAX8'in TG aktivasyonu üzerinde TTF1 ile etkileşimi gösterilmiştir (125). Grasberger ve arkadaşları bir ailede ciddi veya orta derecede hipotiroidizmi olan tiroid glandı üç bireyde normal büyüklükte dört bireyde agenezik olan toplam yedi bireyde PAX8 mutasyonu belirlemiştir. Mutasyon fenilalanine (S48F) ait bir invaryant serin rezidüsünün yerini almaktadır (125). Tonacchera ve ark. (107) ektopik tiroid glandı olan ve hipotiroidizmi bulunan bir kız çocuğunda yeni bir PAX8 dizisi varyantı (PAX8-T225M) belirlenmiştir. Bu vakanın babası ve kız kardeşinde de aynı PAX8 varyantı bulunuyordu ve bunlar normal büyüklükte tiroid glandlı ötiroid hastalardı. Bu çalışmadan sonra konjenital hipotiroidili ve tiroid disgenezili (agenezi ve hipoplazi) altmış hastalık pediatri hasta grubunda, aynı ender dizi varyantı (PAX8-T225M) ile üç yeni PAX8 varyantı (G336S, L233L ve A439A) belirlenmiştir.

Bizim çalışmamızda 100 tiroid disgenezili konjenital hipotiroidi hasta ve 100 sağlam kontrol grubunda PAX8 rs80049915 A/G polimorfizmi araştırıldı ancak herhangi bir polimorfizme rastlanmadı.

TTF1 (tiroid transkripsiyon faktörü-1); tiroid, akciğer ve beynin bazı bölgelerinin belirli gen ifadesini aktive eder (127,128). Embriyonik gelişimin ve farklılaşmanın kontrolünde kilit rol oynarlar (129). TTF1 proteini farelerde (Titf-1) ve insanlarda (TTF1) tek bir gen tarafından kodlanır. Faredeki Titf-1 kromozom 12'de yer alırken, insan TTF1'i kromozom 14q13'te bulunur. Çalışmalar TTF1'in akciğerdeki varlığında göstermiştir (130,131). TTF1 bir çok önemli tiroid spesifik ve akciğer spesifik genin ekspresyonlarını kontrol eder. TTF1; tiroide TG (132), TPO (100,101,133-135), TSHR (136,137) ve NIS genlerinin (138) ekspresyonunu kontrol eder. TTF1, akciğerde ise SP-A (süfaktan protein) (139,140), SP-B (141,142), SP-C (143,144), CCSP (clara sekretuar proteini) (145,146) ve ABCA3 (ATP bağlayıcı-kaset transportörü A3) (147) genlerinin ekspresyonu için gereklidir. Farelerdeki Titf-1

ekspresyonu, doğumdan sonra tiroid, akciğer ve beyin (ventral ön beyin) gelişiminin en erken aşamalarında oluşur ve yetişkin organizmalarda akciğer epitelyumunda, posterior pituiterde ve beynin sınırlı alanlarında (periventriküler bölgeler ile bazı hipotalamik çekirdekler) bulunarak bu organların gelişim ve farklılaşmasında önemli bir rol oynadığını düşündürür (130,148,149). TTF1'in konjenital hipotiroidi etyolojisindeki rolünün başlangıç kanıtı, Ttf-1 geninin homolog rekombinasyonla bozulduğu bir fare modeli çalışmasından gelmektedir (150). Tiroid disgenezisi ile ilişkili büyük bir konjenital hipotiroidi hastaları grubu, üç farklı raporda incelenmiş (151-153) ve TTF1 kodlama bölgesinde hiçbir mutasyona rastlanmamıştır. Bu çalışmalar TTF1 mutasyonlarının tiroid disgenezisinin muhtemel bir nedeni olmadığını veya TTF1 homozigot fonksiyon kaybı mutasyonlarının TTF1'in akciğer ve beyin gelişimindeki elzem rolü dikkate alındığında yaşamla uyumlu olmadığını düşündürmektedir. Daha sonra heterozigot mutasyonlarla yapılan bir çok çalışmada, çeşitli konjenital hipotiroidi, solunum yolu distressi ve nörolojik bozukluklarla ilişkilendirilen heterozigot mutasyonlar rapor edilmiştir. Normal büyüklükte tiroid glandına sahip bir çocuk (14q13-21) (6) ile bir kardeşinde normal büyüklükte, bir kardeşinde de agenezik tiroid glandına sahip iki kardeşinde (14q12-13.3) (5) TTF1 loküsünü kapsayan bir heterozigot delesyonu belirlenmiştir. Hastalarda hipotoni, neonatal dönemde açıklanamayan solunum yolu distressi ve tiroid disgenezisinin açıkça görülmediği kompanse konjenital hipotiroidi görülmüştür. Bu bulgular heterozigot TTF1 gen mutasyonlarının tiroidi, akciğeri ve beyni etkileyen karmaşık bir sendromda rol oynadığını düşündürmüştür. Bir diğer raporda (154), hipotoni ve pulmoner sorunları bulunan konjenital hipotiroidili beş hastada heterozigot fonksiyon kaybı mutasyonları bulunmuştur: bir komple gen delesyonu, bir yanlış anlam mutasyonu (G2626T) ve üç anlamsız mutasyon (2595insGG, C2519A ve C1302A). Doyle ve ark. (155), kompanse konjenital hipotiroidi, neonatal solunum yolu distressi, disartri ve gelişme geriliği görülen aynı ailenin iki bireyinde TTF1'de yeni bir heterozigot buldular (IVS2-2A>G) (155). Konjenital hipotiroidi ve normotopik tiroid glandı ile koreatetoz bulunan ancak solunum yolu distressi olmayan iki kız kardeşte, TTF1 geninin bir ailesinde tek bir delesyon (825delC) bulunmuştur (156). Nagasaki ve arkadaşları yakın zamanda orta dereceli hipotiroidizm bulguları ve normal büyüklükte tiroid glandı bulunan bir KH çocuğunda belirlenen yeni bir heterozigot delesyon/insersiyon mutasyonunu (c.470 479delinsGCG)

rapor etmişler. Hasta, süt çocukluğu döneminde alt solunum yolu enfeksiyonundan ve ileri bir yaşta da koreoatetozdan şikayet etmektedir (157). Yakın zamanlarda, TTF1 genindeki heterozigot mutasyondan (I207F) ötürü neonatal solunum yolu distressi ve orta derecede hipotiroidizmi bulunan bir hasta rapor edilmiştir (158). Carre ve arkadaşları, KH, solunum yolu distressi ve kore ile karakterize edilen beyin-akciğer-tiroid sendromundan sorumlu beş yeni TTF1 mutasyonu bulmuştur (üç yeni anlamsız heterozigot mutasyonu: L176V, P202L, Q210P; bir splay alan mutasyonu: 376-2A→G ve 14q13'te bir TTF-1 delesyonu) (159).

Bizim çalışmamızda TTF-1 geni rs3739914 C/T polimorfizmine 100 disgenetik konjenital hipotiroidili hastada ve 100 sağlam kişide saptanmadı. TTF1 (2054238 C/T) gen bölgesinde hasta grubundan yirmi dört kişide, kontrol grubundan 20 kişide CT heterozigot mutasyonu saptadık. TTF1 (2054238 C/T) gen polimorfizminin hastalık için bir risk faktörü olmadığı görüldü.

TTF-2 geni kromozom 9q22 lokalizasyonunda yer alır. TTF-2 gen fonksiyonları durdurulmuş farelerin ağır ayırık damağı olduğu ve doğduktan sonra 48 saat içinde öldüğü rapor edilmiştir. Bu farelerde tiroid bezi normal yerleşiminde bulunamamıştır. Homozigot TTF-2 gen mutasyonu tanımlanan iki kardeşle ise tiroid disgenesis, yarık damak ve koanal atrezi gösterilmiştir (160).

Bizim çalışmamızda hasta grubundan 4 kişide, kontrol grubundan 4 kişide TTF-2 (rs998532) GA heterozigot mutasyonu saptadık. 2 hastada kontrol grubunda saptamadığımız GG homozigot mutasyon saptadık. Bu iki hasta hipoplazik olup iki hastanın da cinsiyeti kızdı.

Son yıllarda; tiroid disgenезisinde genetik faktörlerin de rolü olduğu bildirilmekte ve az sayıda çalışmalar mevcuttur. Genetik alanında gelişmelerle beraber bu çalışmaların artması beklenmektedir. Bizim çalışmamız; ülkemizde bu alanda gerçekleştirilen ilk çalışma olup sonraki çalışmalar için öncü olacaktır.

6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışma, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Endokrinoloji ve Metabolizma Polikliniği'nde yapıldı. Çalışmaya disgeneziye bağlı konjenital hipotiroidi tanısıyla takip ve tedavi edilen 100 hasta, kontrol grubunda ise, bilinen ciddi veya kronik hastalığı, genetik bir hastalığı veya şüphesi olmayan, birinci derece yakınlarında tiroid ile ilgili bir hastalığı olmayan Sağlam Çocuk Polikliniği, Çocuk Acil Polikliniğine başvuran 100 çocuk alındı.

1. Konjenital hipotiroidi tanısı alan 100 hasta ve 100 sağlıklı kontrol grubu toplam 200 çocuk değerlendirildiğinde hasta grubunun 57'si (% 57) kız, 43'ü (% 43) erkekti. Kontrol grubunun 39'u (% 39) kız, 61'i (% 61) erkekti. Hasta ve kontrol grubunun cinsiyet dağılımı benzerdi($p>0.05$).

2. Hastalar 0-30 gün, 1-6 ay, 6 ay ve üzeri olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Hasta grubunda 0-30 gün aralığında 70 (% 70) olgu olup bunların 36'sı (% 51.4) kız, 34'ü (% 48.6) erkek, 1-6 ay aralığında 23 (% 23) olgu olup bunların 17'si (% 73.9) kız, 6'sı (% 26.1) erkek, 6 ay üzerinde ise 7 (% 7) olgu yer alırken bunların 4'ü (% 57.1) kız, 3'ü (% 42.9)erkekti. Hasta ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyeti benzerdi($p>0.05$).

3. Hastaların başvuru anındaki serum TSH düzeyleri; 1 hastanın 10-20 mIU/L (% 1), 12 hastanın 20-40 mIU/L (% 12), 87 hastanın >40 mIU/L (% 40) olarak saptandı. Başvuru anı sT4 düzeyleri; 42 hastanın <0.3 ng/dl (% 42), 47 hastanın 0.3-0.6 ng/dl (% 47) arasında, 11 hastanın 0.6-1.4 (% 11) arasında saptandı. sT4 düzeyi <0.3 ng/dl olan bir hastada TSH düzeyi 20-40 mIU/L arasında, 41 hastada >40 mIU/L üzerinde, sT4 düzeyi 0.3-0.6 ng/dl arasında olan bir hastada TSH düzeyi 10-20 mIU/L arasında, 10 hastada 20-40 mIU/L arasında, 36 hastada >40 mIU/L üzerinde, sT4 düzeyi 0.6-1.4 ng/dl arasında olan bir hastada TSH düzeyi 20-40 mIU/L arasında, 10 hastada >40 mIU/L üzerinde saptandı. Tiroid stimulan hormon düzeyi ile sT4 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptandı ($p=0.035$).

4. Başvuru anında agenezi saptanan 42 hastanın 34'ünde tiroglobülin düzeyine baktık tiroglobülin düzeyi ortalaması 14 mg/L', 56 hipoplazi hastasının 47'sine tiroglobülin düzeyi baktık tiroglobülin düzeyi ortalaması 44 mg/L, ektopi saptanan iki hastadada tiroglobülin düzeyine baktık tiroglobülin düzeyi ortalama 280 mg/L olarak saptandı.

5. Kız hastaların 1'inde TSH düzeyi 10-20 mIU/L arasında, 7'sinde 20-40 mIU/L arasında, 49'unda >40 mIU/L üzerinde saptandı. Erkek hastaların beşinde TSH düzeyi 20-40 mIU/L arasında, 38'inde >40 mIU/L üzerinde saptandı (p=0.56).

6. Kız hastaların 18'inde sT4 düzeyi 0.3 ng/dl'nin altında, 32'sinde 0.3-0.6 ng/dl arasında, 7'sinde 0.6-1.4 ng/dl arasında saptandı. Erkek hastaların 24'ünde sT4 düzeyi 0.3 ng/dl'nin altında, 15'inde 0.3-0.6 ng/dl arasında, 4'ünde 0.6-1.4 ng/dl arasında saptandı (p=0.05).

7. USG bulgularında 56 hastada (% 56) hipoplazi, 42 hastada agenezi (% 42), 2 hastada (% 2) ektopi saptandı.

8. USG bulgularına göre hipoplazi saptanan bir hastada TSH düzeyi 10-20 mIU/L arasında, 11 hastada 20-40 mIU/L arasında ve 44 hastada TSH düzeyi >40 mIU/L üzerinde, agenezi saptanan bir hastada TSH düzeyi 20-40 mIU/L arasında, 41 hastada > 40 mIU/L, ektopi saptanan iki hastada TSH düzeyi >40 mIU/L saptandı. USG ile TSH arasında anlamlı ilişki vardı (p=0.044). Hipoplazi saptanan 16 hastada sT4 düzeyi <0.3 ng/dl, 32 hastada 0.3-0.6 ng/dl arasında, sekiz hastada 0.6-1.4 ng/dl arasında, agenezi saptanan 25 hastada <0.3 ng/dl, 15 hastada 0.3-0.6 ng/dl arasında, iki hastada 0.6-1.4 ng/dl arasında, ektopi saptanan bir hastada sT4 düzeyi <0.3 ng/dl, bir hastada 0.6-1.4 ng/dl arasında saptandı. USG ile sT4 arasında anlamlı ilişki vardı (p=0.009).

9. Kız hastaların 32'sinde hipoplazi, 24'ünde agenezi, birinde ektopi, erkek hastaların 24'ünde hipoplazi, 18'inde agenezi, ikisinde ektopi saptandı (p=0.980).

10. TTF-1 geni rs3739914 C/T polimorfizmi 100 disgenetik konjenital hipotiroidili hastada ve 100 sağlam kişinin hiçbirinde saptanmadı. TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmine 76 hastada rastlanmadı (CC), 24 hastada CT heterozigot mutasyonu saptandı. TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi kontrol grubunda 80 kişide saptanmadı (CC), 20 kişide CT heterozigot mutasyonu saptandı. TTF1 2054238 C/T gen polimorfizminin hastalık için bir risk faktörü olmadığı gürldü (odds=0.766 (0.387-1.518), p=0.445). TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi dört hastada GA heterozigot mutasyonu saptanırken iki hastada GG homozigot mutasyonu saptandı. TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi kontrol grubunda dört hastada GA heterozigot mutasyon saptandı. TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizminin hastalık için bir risk faktörü olmadığı gürldü (odds=0,707[0,189-2,641], p=0,606). PAX8 geni rs80049915 A/G polimorfizmi 100 hasta ve 100 kontrol grubunda saptanmadı.

11. TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi saptanmayan bir hastanın TSH düzeyi 10-20 mIU/L arasında, yedi hastada 20-40 mIU/L arasında, 68 hastada >40 mIU/L idi. TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi saptanan beş hastada 20-40 mIU/L arasında, 19 hastada >40 mIU/L saptandı. (p=0.274).

12. TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi saptanmayan bir hastada TSH düzeyi 10-20 mIU/L arasında, 12 hastada 20-40 mIU/L arasında, 81 hastada >40 mIU/L olarak saptandı. GA heterozigot mutasyon saptanan dört hastada TSH düzeyi >40 mIU/L idi. GG homozigot mutasyon saptanan iki hastanın TSH düzeyi >40 mIU/L idi (p=0.786).

13. TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi saptanmayan 30 hastanın sT4 düzeyi <0.3 ng/dl altında, 36 hastada 0.3-0.6 ng/dl arasında, 10 hastada 0.6-1.4 ng/dl arasında saptandı. CT heterozigot mutasyon saptanan 12 hastanın sT4 düzeyi <0.3 ng/dl altında, 11 hastada 0.3-0.6 ng/dl arasında, bir hastada 0.6-1.4 ng/dl arasında saptandı (p=0.400).

14. TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi saptanmayan 39 hastanın sT4 düzeyi <0.3 ng/dl altında, 44 hastada 0.3-0.6 ng/dl arasında, 11 hastada 0.6-1.4 ng/dl arasında saptandı. GA heterozigot mutasyon saptanan iki hastada sT4 düzeyi <0.3 ng/dl

altında, iki hastada sT4 düzeyi 0.3-0.6 ng/dl arasında, GG homozigot mutasyon saptanan bir hastada sT4 düzeyi <0.3 ng/dl altında, bir hastada 0.3-0.6 ng/dl arasında saptandı (p=0.833).

15. TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi saptanmayan 43 hasta kız, 33 hasta erkek, CT heterozigot mutasyon saptanan 14 hasta kız, 10 hasta erkek idi (p=0.880).

16. TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi saptanmayan 53 hasta kız, 41 hasta erkek, GA heterozigot mutasyon saptanan iki hasta kız, iki hasta erkek, GG homozigot mutasyon saptanan iki hasta kız idi (p=0.449).

17. TTF1 geni 2054238 C/T polimorfizmi saptanmayan 43 hastada hipoplazi, 32 hastada agenezi, bir hastada ektopi mevcuttu. TTF1 geni 2054238 CT heterozigot polimorfizmi saptanan 13 hastada hipoplazi, 10 hastada agenezi, bir hastada ektopi vardı.

18. TTF-2 geni rs998532 A/G polimorfizmi saptanmayan 53 hastada hipoplazi, 39 hastada agenezi, iki hastada ektopi, GA heterozigot mutasyon saptanan bir hastada hipoplazi, üç hastada agenezi, GG homozigot mutasyon saptanan iki hastada hipoplazi saptandı.

Son yıllarda; tiroid disgenezisinde genetik faktörlerin de rolü olduğu bildirilmekte ve az sayıda çalışmalar mevcuttur. Genetik alanında gelişmelerle beraber bu çalışmaların artması beklenmektedir. Bizim çalışmamız; ülkemizde bu alanda gerçekleştirilen ilk çalışma olup sonraki çalışmalar için öncü olacaktır.

7. KAYNAKLAR

1. Rovet FR. Congenital hypothyroidism: long term outcome. *Tyroid*. 1999;9:741-748
2. Brown RS. The thyroid gland. In: *Clinical Pediatric Endocrinology*. Brook CGD, Hindmarsh PC (eds). Disorder of the thyroid gland(4th ed). London, Blackwell Science, 2001;288-320.
3. Castanet M, Lyonnet S, Bonaiti-Pellie C, Polak M, Leger J, Czernikow P. Familial forms of thyroid dysgenesis among infants with congenital hypothyroidism. *N Eng J Med*. 2000;343:441-442.
4. Di Laura R. Transcription factor in thyroid development: how genes for congenital hypothyroidism? *Topical Endocrinology*. 2001;10:26-27.
5. Iwatani N, Mabe H, Devrient K, Kodama M, Miike T. Deletion of NKX2.1 gene encoding thyroid transcription factor-1 in two siblings with hypothyroidism and respiratory failure. *J Pediatr* 2000;137:272-276.
6. Devriendt K, Van Hole C, Matthijs G, de Zegher F. Deletion of thyroid transcription factor-1 gene in an infant with neonatal thyroid dysfunction and respiratory failure. *N Eng J Med*. 1998;338:1317-1318.
7. Clifton-Bligh RJ, Wentworth JM, Heinz P, Crisp MS, John M, Lazarus JH et al. Mutation of the gene encoding human TTF-2 associated with thyroid agenesis, cleft palate and choanal atresia. *Nature Genet*. 1998;19:399-401.
8. Macchia PE, Lapi P, Krude H, Pirro M, Chiovato L, Baserga M et al. PAX8 mutation associated with congenital hypothyroidism caused by thyroid dysgenesis. *Nature Genet*. 1998;19:83-86.

9. Damante G. Thyroid defects due to PAX8 gene mutations. *Eur J Endocrinol.* 1998;139:563-566.
10. Manley NR, Capecchi MR. The role of HOXA-3 in mouse thymus and thyroid development. *Development.* 1995;121:1989- 2003.
11. Foley T, Malvaux P, Bilizzard R. Thyroid disease. In: Kappy MS, Migeon CJ (eds). Wilkins. *The diagnosis and treatment of endocrine disorders in childhood and adolescence* (4th edition). Illinois, Charles C. Thomas, 1994:457-533.
12. Pintar JE. Normal development of the hypothalamic-pituitary thyroid axis In: Braverman LE, Utiger RD (eds). *The Thyroid: A fundamental and clinical text* (8th ed). Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2000:7-19.
13. Larsen PR, Davies TF, Schlumberger MJ, Hay ID. Thyroid physiology and diagnostic evaluation of patients with thyroid disorders. In: Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS (eds). *Williams Textbook of Endocrinology* (10th ed). Philadelphia, Saunders, 2003:331-373.
14. Glinoe D, Delange F. The potential repercussions of maternal, fetal and neonatal hypothyroxinemia on the progeny. *Thyroid.* 2000;10:871-887.
15. Kaplan EL, Sugg SL. Surgery of the thyroid. In: Degroot LJ, Jameson JL (eds). *Endocrinology* (4th ed). Philadelphia, Saunders, 2001:2;1567-1608.
16. Fisher DA,. Disorders of the thyroid in the newborn and infant. In: Sperling MA (eds). *Pediatric Endocrinology* (2nd ed). Philadelphia, Saunders, 2002:161-185.
17. Di Laura R, De Felice M. Thyroid gland: Anatomy and development In: Degroot LJ, Jameson JL (eds). *Endocrinology* (4th ed). Philadelphia, Saunders, 2001:1268-1289
18. Junquera LC, Carneiro J, Kelley RO. Adrenals, islets of Langerhans, thyroid, parathyroid and pineal body. In: Junquera LC, Carneiro J, Kelley RO (eds). *Basic Histology* (6th ed) New Jersey,Prentice-Hall International Inc, 1989:401-421.

19. Vanderschueren-Lodeweyckx M. Thyroid function tests. In: Ranke MB (eds). *Diagnostics of Endocrine function in Children and Adolescents* (2nd ed). Leipzig, Johann Ambrosius Barth Verlag, 1996:107-127.
20. Czernichow P. Thyrotropin and thyroid hormones. In: Bertrand J, Rappaport R, Sizonenko PC (eds). *Pediatric Endocrinology*(2nd ed). Maryland, Williams and Wilkins, 1993:79-87.
21. Park SM, Chatterjee VK. Genetics of congenital hypothyroidism. *J Med Genet.* 2005;42:379-89.
22. Brown RS, Demmer LA. The etiology of thyroid dysgenesis-still an enigma after all these years. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:4069-71.
23. Fisher DA. Congenital Hypothyroidism. *Thyroid International.* 2002;3:1-14.
24. Brown RS, Huang S. The thyroid and its disorders. In: Brook CGD, Clayton PE, Brown RS (eds). *Clinical Pediatric Endocrinology*(5th ed). Oxford, Blackwell Publishing, 2005:218-53.
25. Ercan O. Tiroid hormon direnci. In: Akıncı A (eds). *Hormon Direnci*(1th ed). İstanbul, Mart Yayıncılık, 2005:97-110.
26. Beck-Peccoz P, Forloni F, Cortelazzi D, Persani L, Papandreou MJ, Asteria C, et al. Pituitary resistance to thyroid hormones. *Horm Res.* 1992;38:66-72.
27. Weiss RE, Refetoff S. Resistance to thyroid hormone. *Rev Endocr Metab Disord.* 2000;1:97-108.
28. Rose SR, Brown RS, Foley T, Kaplowitz PB, Kaye CI, Sundararajan S, et al. Update of newborn screening and therapy for congenital hypothyroidism. *Pediatrics.* 2006;117:2290-2303.

29. Vuissoz JM, Deladoey J, Buyukgebiz A, Cemeroglu P, Gex G, Gallati S, et al. New autosomal recessive mutation of the TSH-beta subunit gene causing central isolated hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:4468-71.
30. Niu DM, Hwang B, Tiu CM, Tsai LP, Yen JL, Lee NC, et al. Contributions of bone maturation measurements to the differential diagnosis of neonatal transient hypothyroidism versus dysmorphogenetic congenital hypothyroidism. *Acta Paediatr.* 2004;93:1301-1306.
31. Glinoe D. Pregnancy and iodine. *Thyroid.* 2001;11:471-81.
32. Calaciura F, Motta RM, Miscio G, Fichera G, Leonardi D, Carta A, et al. Subclinical hypothyroidism in early childhood: a frequent outcome of transient neonatal hyperthyrotropinemia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:3209-14.
33. Saglam H, Buyukuysal L, Koksall N, Ercan I, Tarim O. Increased incidence of congenital hypothyroidism due to iodine deficiency. *Pediatr Int.* 2007;49:76-79.
34. Niu DM, Lin CY, Hwang B, Jap TS, Liao CJ, Wu JY. Contribution of genetic factors to neonatal transient hypothyroidism. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2005;90:69-72.
35. Yang RL, Zhu ZW, Zhou XL, Zhao ZY. Treatment and follow-up of children with transient congenital hypothyroidism. *J Zhejiang Univ Sci B.* 2005;6:1206-9.
36. De BR, Ng WK, Taylor J, Campbell F, Mitton SG, Dicks-Mireaux C, et al. Neonatal hypothyroidism: comparison of radioisotope and ultrasound imaging in 54 cases. *Acta Paediatr Scand.* 1990;79:1194-8.
37. Silva LO, Dias VM, Silva IN, Chagas AJ. Congenital transient hypothyroidism: characteristics of children identified at Newborn Screening Program of the State of Minas Gerais, Brazil. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2005;49:521-8.

38. La Franchi S. Disorders of the thyroid gland. In: Richard E. Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (eds). Nelson Textbook of Pediatrics(15th ed). Philadelphia, WB Saunders, 2004:1870-1877.
39. Vulsma T, Gons MH, de Vijlder JJ. Maternal-fetal transfer of thyroxine in congenital hypothyroidism due to a total organification defect or thyroid agenesis. *N Engl J Med.* 1989;321:13-16.
40. Tarim OF, Yordam N. Congenital hypothyroidism in Turkey: a retrospective evaluation of 1000 cases. *Turk J Pediatr.* 1992;34:197-202.
41. Ridaura-Sanz C, Lopez-Corella E. Causes of death in congenital hypothyroidism. An autopsy study. *Gac Med Mex.* 1995;131:141-47.
42. Hatipoğlu N, Büyükkayhan D, Kurtoğlu S. Yenidoğan dönemi tiroid hastalıkları. *Türkiye Klinikleri Pediatrik Bilimler Pediatrik Endokrinoloji Özel Sayısı.* 2006;10:63-82.
43. Bubuteishvili L, Garel C, Czernichow P, Leger J. Thyroid abnormalities by ultrasonography in neonates with congenital hypothyroidism. *J Pediatr.* 2003;143:759-64.
44. Marinovic D, Garel C, Czernichow P, Leger J. Ultrasonographic assessment of the ectopic thyroid tissue in children with congenital hypothyroidism. *Pediatr Radiol.* 2004;34:109-13.
45. Ohnishi H, Sato H, Noda H, Inomata H, Sasaki N. Color Doppler Ultrasonography: diagnosis of ectopic thyroid gland in patients with congenital hypothyroidism caused by thyroid dysgenesis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:5145-9.
46. Perry RJ, Maroo S, MacLennan AC, Jones JH, Donaldson MD. Combined ultrasound and isotope scanning is more informative in the diagnosis of congenital hypothyroidism than single scanning. *Arch Dis Child.* 2006;91:972-6.

47. Schoen EJ, Clapp W, To TT, Fireman BH. The key role of newborn thyroid scintigraphy with isotopic iodide (¹²³I) in defining and managing congenital hypothyroidism. *Pediatrics*. 2004;114:683-688.
48. Rovet J, Daneman D. Congenital hypothyroidism: a review of current diagnostic and treatment practices in relation to neuropsychologic outcome. *Pediatr Drugs*. 2003;5:141-9.
49. Buyukgebiz A. Congenital hypothyroidism clinical aspects and late consequences. *Pediatr Endocrinol Rev*. 2003;2:185-90.
50. Heyerdahl S, Oerbeck B. Congenital hypothyroidism: developmental outcome in relation to levothyroxine treatment variables. *Thyroid*. 2003;13:1029-1038.
51. Domenech ME, Barraso GF. Utility of congenital hypothyroidism screening in neonates for monitoring iodine deficit disorders in the Canary Islands. *An Pediatr*. 2003;58:357-363.
52. Pass KA, Lane PA, Fernhoff PM, Hinton CF, Panny SR, Parks JS, et al. Newborn screening system guidelines II: follow-up of children, diagnosis, management, and evaluation Statement of the Council of Regional Networks for Genetic Services. *J Pediatr*. 2000;137:1-46.
53. Therrell BL. Guidelines for the retention, storage, and use residual dried blood spot samples after newborn screening analysis Statement of the Council of Regional Networks for Genetic Services. *Biochem Mol Med*. 1996;57:116-24.
54. Hunter MK, Mandel SH, Sesser DE. Follow-up of newborns with low thyroxine and nonelevated thyroid-stimulating hormone-screening concentrations: results of the 20-year experience in the Northwest Regional Newborn Screening Program. *J Pediatr*. 1998;132:70-74.
55. Kreisner E, Camargo-Neto E, Maia CR, Gross JL. Accuracy of ultrasonography to establish the diagnosis and etiology of permanent primary congenital hypothyroidism. *Clin Endocrinol*. 2003;59:361-365.

56. Ohnishi H, Inomata H, Watanabe T. Clinical utility of thyroid ultrasonography in the diagnosis of congenital hypothyroidism. *Endocr J*. 2002;49:293-297.
57. Siklar Z, Tezer H, Dallar Y, Tanyer G. Borderline congenital hypothyroidism in the neonatal period. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2002;15:817-21.
58. Cody D, Kumar Y, Ng SM, Didi M, Smith C. The differing outcomes of hyperthyrotropinaemia. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2003;16:375-378.
59. Bartalena L, Bogazzi F, Braverman LE, Martino E. Effects of amiodarone administration during pregnancy on neonatal thyroid function and subsequent neurodevelopment. *J Endocrinol Invest*. 2001;24:116-130.
60. Pereira DN, Procianoy RS. Effect of perinatal asphyxia on thyroid stimulating hormone and thyroid hormone levels. *Acta Paediatr*. 2003;92:339-345.
61. Rapaport R, Rose SR, Freemark M. Hypothyroxinemia in the preterm infant: the benefits and risks of thyroxine treatment. *J Pediatr*. 2001;139:182-188.
62. Biswas S, Buffery J, Enoch H, Bland M, Markiewicz M, Walters D. Pulmonary effects of triiodothyronine (T3) and hydrocortisone (HC) supplementation in preterm infants less than weeks gestation: results of the THORN trial. Thyroid hormone replacement in neonates. *Pediatr Res*. 2003;53:48-56.
63. Tylek-Lemanska D, Kumorowicz-Kopiec M, Starzyk J. Screening for congenital hypothyroidism: the value of retesting after four weeks in neonates with low and very low birth weight. *J Med Screen*. 2005;12:166- 169.
64. Perry R, Heinrichs C, Bourdoux P, Khoury K, Dussault JH, Vassart G, et al. Discordance of monozygotic twins for thyroid dysgenesis: implications for screening and for molecular pathophysiology. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:4072-4077.
65. Larson C, Hermos R, Delaney A, Daley D, Mitchell M. Risk factors associated with delayed thyrotropin elevations in congenital hypothyroidism. *J Pediatr*. 2003;143:587-591

66. Hrytsiuk I, Gilbert R, Logan S, Pindoria S, Brook CG. Starting dose of levothyroxine for the treatment of congenital hypothyroidism: a systematic review. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2002;156:485-91.
67. Heyerdahl S. Longterm outcome in children with congenital hypothyroidism. *Acta Paediatr.* 2001;90:1220-2.
68. Campos SP, Sandberg DE, Barrick C, Voorhess ML, MacGillivray MH. Outcome of lower L-thyroxine dose for treatment of congenital hypothyroidism. *Clin Pediatr.* 1995;34:514-20.
69. Rovet JF, Ehrlich R. Psychoeducational outcome in children with early-treated congenital hypothyroidism. *Pediatrics.* 2000;105:515-22.
70. Oerbeck B, Sundet K, Kase BF, Heyerdahl S. Congenital hypothyroidism: influence of disease severity and L-thyroxine treatment on intellectual, motor, and school-associated outcomes in young adults. *Pediatrics.* 2003;112:923-30.
71. Salerno M, Militerni R, Bravaccio C, Micillo M, Capalbo D, Di MS, et al. Effect of different starting doses of levothyroxine on growth and intellectual outcome at four years of age in congenital hypothyroidism. *Thyroid.* 2002;12:45-52.
72. Van VG. Treatment of congenital hypothyroidism. *Lancet.* 2001;358:86-7.
73. Bongers-Schokking JJ, Koot HM, Wiersma D, Verkerk PH, de Muinck Keizer-Schrama SM. Influence of timing and dose of thyroid hormone replacement on development in infants with congenital hypothyroidism. *J Pediatr.* 2000;136:292-7.
74. Selva KA, Harper A, Downs A, Blasco PA, Lafranchi SH. Neurodevelopmental outcomes in congenital hypothyroidism: comparison of initial T4 dose and time to reach target T4 and TSH. *J Pediatr.* 2005;147:775-80.
75. Kooistra L, van der Meere JJ, Vulmsa T, Kalverboer AF. Sustained attention problems in children with early treated congenital hypothyroidism. *Acta Paediatr.* 1996;85:425-9.

76. Bargagna S, Dinetti D, Pinchera A, Marcheschi M, Montanelli L, Presciuttini S, et al. School attainments in children with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening and treated early in life. *Eur J Endocrinol.* 1999;140:407-13.
77. Bargagna S, Canepa G, Costagli C, Dinetti D, Marcheschi M, Millepiedi S, et al. Neuropsychological follow-up in early-treated congenital hypothyroidism: a problem-oriented approach. *Thyroid.* 2000;10:243-9.
78. Rovet J, Walker W, Bliss B, Buchanan L, Ehrlich R. Long-term sequelae of hearing impairment in congenital hypothyroidism. *J Pediatr.* 1996;128:776-83.
79. Kooistra L, Stemerding N, van der MJ, Vulsma T, Kalverboer AF. Behavioural correlates of early-treated congenital hypothyroidism. *Acta Paediatr.* 2001;90:1141-6.
80. Tillotson SL, Fuggle PW, Smith I, Ades AE, Grant DB. Relation between biochemical severity and intelligence in early treated congenital hypothyroidism: a threshold effect. *BMJ.* 1994;309:440-5.
81. Gruters A, Jenner A, Krude H. Long-term consequences of congenital hypothyroidism in the era of screening programmes. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2002;16:369-82.
82. Bongers-Schokking JJ, de Muinck Keizer-Schrama SM. Influence of timing and dose of thyroid hormone replacement on mental, psychomotor, and behavioral development in children with congenital hypothyroidism. *J Pediatr.* 2005;147:768-74.
83. Eugster EA, LeMay D, Zerlin JM, Pescovitz OH. Definitive diagnosis in children with congenital hypothyroidism. *J Pediatr.* 2004;144:643-7.
84. Fisher D. Growth and development of hypothyroid infants. In: Stabler B, Bercu B, editors. *Therapeutic Outcome of Endocrine Disorders*(1st ed). Massachusetts, Springer, 2000:221-2.
85. Boersma B, Otten BJ, Stoeltinga GB, Wit JM. Catch-up growth after prolonged hypothyroidism. *Eur J Pediatr.* 1996;155:362-7

86. Kandemir N, Yordam N. Height prognosis in children with late-diagnosed congenital hypothyroidism. *Turk J Pediatr.* 2001;43:303-6.
87. Radetti G, Zavallone A, Beck-Peccoz P, Bona G. Foetal and neonatal thyroid disorders. *Minevra Pediatr.* 2002;54:383-400.
88. De Felice M, Di Lauro R. Thyroid development and its disorders: genetics and molecular mechanisms. *Endocr Rev.* 2004;25:722-746.
89. Yordam N, Calikoglu AS, Hatun S, Kandemir N, Oguz H, Teziç T, et al. Screening for congenital hypothyroidism in Turkey. *Eur J Pediatr.* 1995;154:614-6.
90. Şimşek E, Karabay M, Kocabay K. Neonatal screening for congenital hypothyroidism in West Black Sea area, Turkey. *Int J Clin Pract.* 2005;59:336-41.
91. Kurinczuk JJ, Bower C, Lewis B, Byrne G. Congenital hypothyroidism in Western Australia 1981-1998. *J Pediatr Child Health.* 2002;38:187-191.
92. Rovet JF. In search of the optimal therapy for congenital hypothyroidism. *J Pediatr.* 2004;144:698-700.
93. Unachak K, Dejkharnon P. Primary congenital hypothyroidism: Clinical characteristics and etiological study. *J Med Assoc Thai.* 2004;87:612-7.
94. Yüksel B, Özer G, Kozanoglu M, Serbest M, Altınbasak S, Tok M. Hipotiroidik olguların tanı sırasındaki semptom ve bulguları. *Ç Ü Tıp Fak Dergisi.* 1994;19:189-194.
95. Darcan Ş, Sözeri B, Gökşen D, Büyükinan M, Çoker M. Konjenital hipotiroidili olguların retrospektif olarak değerlendirilmesi. *Ege Pediatri Bülteni.* 2004;11:91-94.
96. Hanukoglu A, Perlman K, Shamis I, Brnjac C, Rovet J, Daneman D. Relationship of etiology to treatment in congenital hypothyroidism. *JCEM.* 2001;86:186-191.

97. Refetoff, S, Dumont, JE, Vassart, G. Thyroid disorders. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds). *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Diseases* (8th ed). New York, McGraw Hill, 2001:4029–4076.
98. Vassart G, Dumont JE, Refetoff S. 1995. Thyroid disorders. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds). *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* (7th ed). New York, McGraw Hill, 1995:1913-1932.
99. Medeiros-Neto G, Targovnik HM, Vassart G. Defective thyroglobulin synthesis and secretion causing goiter and hypothyroidism. *Endocr. Rev.* 1993;14:165–183.
100. Abramowicz MJ, Targovnik HM, Varela V, Cochaux P, Krawiec L, Pisarev MA, et al. 1992a. Identification of a mutation in the coding sequence of the human thyroid peroxidase gene causing congenital goiter. *J. Clin Invest.* 1992;90:1200–1204.
101. Abramowicz MJ, Vassart G, Christophe D. Functional study of the human thyroid peroxidase gene promoter. *Eur J Biochem.* 1992;203:467–473.
102. Pohlenz J, Medeiros-Neto G, Gross JL, Silveiro SP, Knobel M, Refetoff S. Hypothyroidism in a Brazilian kindred due to iodide trapping defect caused by a homozygous mutation in the sodium/iodide symporter gene. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;240:488–491.
103. Everett LA, Glaser B, Beck JC, Idol JR, Buchs A, Heyman M, et al. Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nat Genet.* 1997;17:411–422.
104. Moreno JC, Bikker H, Kempers MJ, van Trotsenburg AS, Baas F, de Vijlder JJ, et al. Inactivating mutations in the gene for thyroid oxidase 2 (THOX2) and congenital hypothyroidism. *N Engl J Med.* 2002;347:95–102.
105. Moreno JC, Klootwijk W, van Toor H, Pinto G, D'Alessandro M, Leger A, et al. 2008. Mutations in the iodotyrosine deiodinase gene and hypothyroidism. *N Engl J Med.* 2008;358:1811–1818.

106. Abramowicz MJ, Duprez L, Parma J, Vassart G, Heinrichs C. 1997. Familial congenital hypothyroidism due to inactivating mutation of the thyrotropin receptor causing profound hypoplasia of the thyroid gland. *J Clin Invest.* 1997;99:3018–3024.
107. Tonacchera M, Di Cosmo C, De Marco G, Agretti P, Banco M, Perri A, et al. Identification of TSH receptor mutations in three families with resistance to TSH. *Clin Endocrinol.* 2007;67:712–718.
108. Tenenbaum-Rakover Y, Grasberger H, Mamanasiri S, Ringkananont U, Montanelli L, Barkoff MS, et al. Loss of function mutations in the thyrotropin receptor gene as a major determinant of hyperthyrotropinemia in a consanguineous community. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94:1706–1712.
109. Devos H, Rodd C, Gagne N, Laframboise R, van Vliet G. A search for the possible molecular mechanisms of thyroid dysgenesis: sex ratios and associated malformations. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:2502–2506.
110. Grant DB, Smith I. Survey of neonatal screening for primary hypothyroidism in England, Wales, and Northern Ireland 1982–1984. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1988;296:1355–1358.
111. Knobel M, Medeiros-Neto G. An outline of inherited disorders of the thyroid hormone generating system. *Thyroid.* 2003;13:771–801.
112. Lorey FW, Cunningham GC. Birth prevalence of primary congenital hypothyroidism by sex and ethnicity. *Hum Biol.* 1992;64:531-538.
113. Ordookhani A, Mirmiran P, Moharamzadeh M, Hedayati M, Azizi F. A high prevalence of consanguineous and severe congenital hypothyroidism in an Iranian population. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2004;17:1201–1209.
114. Castanet M, Polak M, Bonaiti-Pellie C, Lyonnet S, Czernickow P, Leger J. Nineteen years of national screening for congenital hypothyroidism: familial cases with thyroid dysgenesis suggest the involvement of genetic factors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:2009–2014.

115. Leger J, Marinovic D, Garel C, Bonaiti-Pellie C, Polak M, Czernichow P. Thyroid developmental anomalies in first degree relatives of children with congenital hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:575–580.
116. Plachov D, Chowdhury K, Walther C, Simon D, Guenet JL, Gruss P. Pax8, a murine paired box gene expressed in the developing excretory system and thyroid gland. *Development.* 1990;110:643–651.
117. Stapleton P, Weith A, Urbanek P, Kozmik Z, Busslinger M. Chromosomal localization of seven PAX genes and cloning of a novel family member, PAX-9. *Nat Genet.* 1993;3:292–298.
118. Poleev A, Fickenscher H, Mundlos S, Winterpacht A, Zabel B, Fidler A, et al. PAX8, a human paired box gene: isolation and expression in developing thyroid, kidney and Wilm's tumors. *Development.* 1992;116:611–623.
119. Mansouri A, Chowdhury K, Gruss P. Follicular cells of the thyroid gland require Pax8 gene function. *Nat Genet.* 1998;19:87–90.
120. Di Magliano MP, Di Lauro, Zannini M. Pax8 has a key role in thyroid cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci.* 2000;97:13144-13149.
121. Macchia PE, Lapi P, Krude H, Pirro MT, Missero C, Chiovato L, et al. PAX8 mutations associated with congenital hypothyroidism caused by thyroid dysgenesis. *Nat Genet.* 1998;19:83–86.
122. Vilain, C, Rydlewski C, Duprez L, Heinrichs C, Abramowicz M, Malvaux P, et al. Autosomal dominant transmission of congenital thyroid hypoplasia due to loss-of-function mutation of PAX8. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:234–238.
123. Congdon T, Nguyen LQ, Nogueira CR, Habiby RL, Medeiros-Neto G, Kopp P. A novel mutation (Q40P) in PAX8 associated with congenital hypothyroidism and thyroid hypoplasia: evidence for phenotypic variability in mother and child. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:3962–3967.

124. De Sanctis L, Corrias A, Romagnolo D, Di Palma T, Biava A, Borgarello G, et al. Familial PAX8 small deletion (c.989-992delACCC) associated with extreme phenotype variability. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89: 5669–5674.
125. Grasberger H, Ringkananont U, Le Francois P, Abramowicz M, Vassart G, Refetoff S. Thyroid transcription factor 1 rescues PAX8/p300 synergism impaired by a natural PAX8 paired domain mutation with dominant negative activity. *Mol Endocrinol.* 2005;19:1779–1791.
126. Meeus L, Gilbert B, Rydlewski C, Parma J, Roussie AL, Abramowicz M, et al. Characterization of a novel loss of function mutation of PAX8 in a familial case of congenital hypothyroidism with in-place, normal-sized thyroid. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:4285–4291.
127. Price M, Lazzaro D, Pohl T, Mattei MG, Ruther U, Olivo JC, et al. Regional expression of the homeobox gene Nkx-2.2 in the developing mammalian forebrain. *Neuron.* 1992;8:241-255.
128. Bingle CD. Thyroid transcription factor-1. *Int J Biochem Cell Biol.* 1997;29:1471–1473.
129. Scott MP, Tamkun JW, Hatzell GW. The structure and function of the homeodomain. *Biochim Biophys Acta.* 1989;989:25–48.
130. Guazzi S, Price M, De Felice M, Damante G, Mattei MG, Di Lauro R. Thyroid nuclear factor 1 (TTF-1) contains a homeodomain and displays a novel DNA binding specificity. *EMBO J.* 1990;9:3631–3639.
131. Boggaram V. Thyroid transcription factor-1 (TTF-1/Nkx2.1/TITF1) gene regulation in the lung. *Clin Sci.* 2009;116:27–35.
132. Civitareale D, Lonigro R, Sinclair AJ, Di Lauro R. A thyroid-specific nuclear protein essential for tissue-specific expression of the thyroglobulin promoter. *EMBO J.* 1989;8:2537–2542.

133. Mizuno K, Gonzalez FJ, Kimura S. Thyroid-specific enhancer-binding protein (T/EBP): cDNA cloning, functional characterization, and structural identity with thyroid transcription factor TTF-1. *Mol Cell Biol.* 1991;11:4927–4933.
134. Kikkawa F, Gonzalez FJ, Kimura S. Characterization of a thyroid-specific enhancer located 5.5 kilobase pairs upstream of the human thyroid peroxidase gene. *Mol Cell Biol.* 1990;10:6216–6224.
135. Francis-Lang H, Price M, Polycarpou-Schwartz M, Di Lauro R. Cell- type-specific expression of the rat thyroperoxidase promoter indicates common mechanisms for thyroid-specific gene expression. *Mol Cell Biol.* 1992;12:576–588.
136. Civitareale D, Castelli MP, Falasca P, Saiardi A. Thyroid transcription factor 1 activates the promoter of the thyrotropin receptor gene. *Mol Endocrinol.* 1993;7:1589–1595.
137. Shimura H, Okajima F, Ikuyama S, Shimura Y, Kimura S, Saji M, et al. Thyroid-specific expression and cyclic adenosine 3,5-monophosphate autoregulation of the thyrotropin receptor gene involves thyroid transcription factor-1. *Mol Endocrinol.* 1995; 8:1049–1069.
138. Endo T, Kaneshige M, Nakazato M, Ohmori M, Harii N, Onaya T. Thyroid transcription factor-1 activates the promoter activity of rat thyroid Na⁺/I⁻ symporter gene. *Mol Endocrinol.* 1997;11:1747–1755.
139. Bruno MD, Bohinski RJ, Huelsman KM, Whitsett JA, Korfhagen TR. Lung cell-specific expression of the murine surfactant protein A (SP-A) gene is mediated by interactions between the SP-A promoter and thyroid transcription factor-1. *J Biol Chem.* 1995;270:6531–6536.
140. Li J, Gao E, Mendelson CR. Cyclic AMP-responsive expression of the surfactant protein-A gene is mediated by increased DNA binding and transcriptional activity of thyroid transcription factor-1. *J Biol Chem.* 1998;273:4592–4600.
141. Bohinski RJ, Di Lauro R, Whitsett JA. The lung-specific surfactant protein B gene promoter is a target for thyroid transcription factor 1 and hepatocyte nuclear factor 3,

indicating common factors for organ-specific gene expression along the foregut axis. *Mol Cell Biol.* 1994;14:5671–5681.

142. Margana RK, Boggaram V. Functional analysis of surfactant protein B (SP-B) promoter. Sp1, Sp3, TTF-1, and HNF-3 transcription factors are necessary for lung cell-specific activation of SP-B gene transcription. *J Biol Chem.* 1997;272:3083–3090.

143. Kelly SE, Bachurski CJ, Burhans MS, Glasser SW. Transcription of the lung-specific surfactant protein C gene is mediated by thyroid transcription factor 1. *J Biol Chem.* 1996; 271:6881–6888.

144. Liu C, Glasser SW, Wan H, Whitsett JA. GATA-6 and thyroid transcription factor-1 directly interact and regulate surfactant protein-C gene expression. *J Biol Chem.* 2002;277: 4519–4525.

145. Toonen RF, Gowan S, Bingle CD. The lung enriched transcription factor TTF-1 and the ubiquitously expressed proteins Sp1 and Sp3 interact with elements located in the minimal promoter of the rat Clara cell secretory protein gene. *Biochem J.* 1996;316: 467–473.

146. Zhang L, Whitsett JA, Stripp BR. Regulation of Clara cell secretory protein gene transcription by thyroid transcription factor-1. *Biochim Biophys Acta.* 1997;1350:359–367.

147. Besnard V, Xu Y, Whitsett JA. Sterol response element binding protein and thyroid transcription factor-1 (Nkx2.1) regulate *Abca3* gene expression. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2007;293:1395–1405.

148. Lazzaro D, Price M, De Felice M, Di Lauro R. The transcription factor TTF-1 is expressed at the onset of thyroid and lung morphogenesis and in restricted regions of the foetal brain. *Development.* 1991;113:1093–1104.

149. Nakamura K, Kimura S, Yamazaki M, Kawaguchi A, Inoue K, Sakai T. Immunohistochemical analyses of thyroid-specific enhancer-binding protein in the fetal and adult rat hypothalamus and pituitary glands. *Brain Res Dev.* 2001;130:159–166.

150. Kimura S, Hara Y, Pineau T, Fernandez-Salguero P, Fox CH, Ward JM, et al. The t/epb null mouse: thyroid-specific enhancer-binding protein is essential for the organogenesis of the thyroid, lung, ventral forebrain and pituitary. *Genes Dev.* 1996;10:60–69.
151. Lapi P, Macchia PE, Chiovato L, Biffali E, Moschini L, Larizza D, et al. Mutations in the gene encoding thyroid transcription factor-1 (TTF-1) are not a frequent cause of congenital hypothyroidism (CH) with thyroid dysgenesis. *Thyroid.* 1997;7:383–387.
152. Perna MG, Civitareale D, De Filippis V, Sacco M, Cisternino C, Tassi V. Absence of mutations in the gene encoding thyroid transcription factor-1 (TTF-1) in patients with thyroid dysgenesis. *Thyroid.* 1997;7:377–381.
153. Hishinuma A, Kuribayashi T, Kano Y, Onigata K, Nagashima K, Ieiri T. Sequence analysis of thyroid transcription factor-1 gene reveals absence of mutations in patients with thyroid dysgenesis but presence of polymorphisms in the 5' flanking region and intron. *Endocr J.* 1998;45:563–567.
154. Krude H, Schütz B, Biebermann H, von Moers A, Schnabel D, Neitzel H, et al. Choreoathetosis, hypothyroidism, and pulmonary alterations due to human NKX2-1 haploinsufficiency. *Clin Invest.* 2002;109:475–480.
155. Doyle DA, Gonzalez I, Thomas B, Scavina M. Autosomal dominant transmission of congenital hypothyroidism, neonatal respiratory distress, and ataxia caused by a mutation of NKX2-1. *J Pediatr.* 2004;145:190–193.
156. Moya CM, Perez de Nanclares G, Castan L, Potau N, Bilbao JR, Carrascosa A, et al. Functional study of a novel single deletion in the TITF1/NKX2.1 homeobox gene that produces congenital hypothyroidism and benign chorea but not pulmonary distress. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:1832–1841.
157. Nagasaki K, Narumi S, Asami T, Kikuchi T, Hasegawa T, Uchiyama M. Mutation of a gene for thyroid transcription factor-1 (TITF1) in a patient with clinical features of resistance to thyrotropin. *Endocr J.* 2008;55:875–878.

158. Maquet E, Costagliola S, Parma J, Christophe-Hobertus C, Oligny LL, Fournet JC, et al. Lethal respiratory failure and mild primary hypothyroidism in a term girl with a de novo heterozygous mutation in the TTF1/NKX2.1 gene. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94:197–203.

159. Carre A, Szinnai G, Castanet M, Sura-Trueba S, Tron E, Broutin-L’Hermite I, et al. Five new TTF1/NKX2.1 mutations in brain-lung-thyroid syndrome: rescue by PAX8 synergism in one case. *Hum Mol Genet.* 2009;18:2266–2276.

160. Castanet M, Park S, Smith A. A novel loss of function mutation in TTF-2 is associated with congenital hypothyroidism, thyroid agenesis and cleft palate. *Human Molecular Genetic.* 2002;17:2051-2059.