

**Θεραπευτική Κλινική ΓΝΑ «Αλεξάνδρα»**

**Ιατρική Σχολή ΕΚΠΑ**

**Διευθυντής: ΜΑ Δημόπουλος**

**ΧΡΟΝΙΑ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΑ:  
ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ  
ΟΞΕΙΑΩΤΙΚΟΥ STRESS ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ  
ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ**

**Γιαννακού Μαρία**

**Ιατρός**

**Διδακτορική Διατριβή**

**Αθήνα, 2017**

Ἱπποκράτειος Ὀρκος  
Ἀρχαίον κείμενον

Ὅμνυμι Ἀπόλλωνα ἰητρὸν, καὶ Ἀσκληπιὸν, καὶ Ὑγίαν, καὶ Πανάκειαν, καὶ θεοὺς πάντας τε καὶ πάσας, ἴστορας ποιούμενος, ἐπιτελέα ποιήσῃν κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν ὄρκον τόνδε καὶ ξυγγραφὴν τήνδε. ἠγήσασθαι μὲν τὸν διδάξαντά με τὴν τέχνην ταύτην ἴσα γενέτησιν ἐμοῖσι, καὶ βίου κοινώσασθαι, καὶ χρεῶν χρηρίζοντι μετάδοσιν ποιήσασθαι, καὶ γένος τὸ ἐξ ωυτέου ἀδελφοῖς ἴσον ἐπικρινέειν ἄρρεσι, καὶ διδάξειν τὴν τέχνην ταύτην, ἣν χρηρίζωσι μανθάνειν, ἄνευ μισθοῦ καὶ ξυγγραφῆς, παραγγελίης τε καὶ ἀκροήσιος καὶ τῆς λοιπῆς ἀπάσης μαθήσιος μετάδοσιν ποιήσασθαι υἱοῖσί τε ἐμοῖσι, καὶ τοῖσι τοῦ ἐμὲ διδάξαντος, καὶ μαθηταῖσι συγγεγραμμένοισί τε καὶ ὠρκισμένοις νόμῳ ἰητρικῷ, ἄλλῳ δὲ οὐδενί. Διαιτήμασί τε χρήσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων κατὰ δύναμιν καὶ κρίσιν ἐμὴν, ἐπὶ δηλήσει δὲ καὶ ἀδικίῃ εἴρξειν. Οὐ δώσω δὲ οὐδὲ φάρμακον οὐδενὶ αἰτηθεὶς θανάσιμον, οὐδὲ ὑψηγήσομαι ξυμβουλίην τοιήνδε. ὁμοίως δὲ οὐδὲ γυναικὶ πεσσὸν φθόριον δώσω. Ἄγνων δὲ καὶ ὀσίως διατηρήσω βίον τὸν ἐμὸν καὶ τέχνην τὴν ἐμὴν. Οὐ τεμέω δὲ οὐδὲ μὴν λιθιῶντας, ἐκχωρήσω δὲ ἐργάτησιν ἀνδράσι πρήξιος τῆσδε. Ἐς οἰκίας δὲ ὀκόσας ἂν ἐσίω, ἐσελεύσομαι ἐπ' ὠφελείῃ καμνόντων, ἐκτὸς ἐὼν πάσης ἀδικίης ἐκουσίης καὶ φθορίης, τῆς τε ἄλλης καὶ ἀφροδισίων ἔργων ἐπὶ τε γυναικείων σωμάτων καὶ ἀνδρῶν, ἐλευθέρων τε καὶ δούλων. Ἄ δ' ἂν ἐν θεραπείῃ ἢ ἴδω, ἢ ἀκούσω, ἢ καὶ ἄνευ θεραπιῆς κατὰ βίον ἀνθρώπων, ἃ μὴ χρή ποτε ἐκλαλέεσθαι ἔξω, σιγήσομαι, ἄρρητα ἠγεύμενος εἶναι τὰ τοιαῦτα. Ὀρκον μὲν οὖν μοι τόνδε ἐπιτελέα ποιέοντι, καὶ μὴ ξυγγέοντι, εἴη ἐπαύρασθαι καὶ βίου καὶ τέχνης δοξαζομένῳ παρὰ πᾶσιν ἀνθρώποις ἐς τὸν αἰεὶ χρόνον. παραβαίνοντι δὲ καὶ ἐπιорκοῦντι.

Ιπποκράτειος Όρκος  
Νεοελληνική μετάφραση

Ορκίζομαι στον Απόλλωνα τον Ιατρό και στον Ασκληπιό και στην Υγεία και στην Πανάκεια και σ' όλους τους Θεούς και τις Θεές επικαλούμενος την μαρτυρία τους, να τηρήσω πιστά κατά τη δύναμη και την κρίση μου αυτό τον όρκο και το συμβόλαιό μου αυτό. Να θεωρώ αυτόν που μου δίδαξε αυτή την τέχνη ίσο με τους γονείς μου και να μοιραστώ μαζί του τα υπάρχοντά μου και τα χρήματά μου αν έχει ανάγκη φροντίδας. Να θεωρώ τους απογόνους του ίσους με τα αδέρφια μου και να τους διδάξω την τέχνη αυτή αν θέλουν να τη μάθουν, χωρίς αμοιβή και συμβόλαιο και να μεταδώσω με παραγγελίες, οδηγίες και συμβουλές όλη την υπόλοιπη γνώση μου και στα παιδιά μου και στα παιδιά εκείνου με δίδαξε και στους άλλους μαθητές που έχουν κάνει γραπτή συμφωνία μαζί μου και σε αυτούς που έχουν ορκισθεί στον ιατρικό νόμο και σε κανέναν άλλο και να θεραπεύω τους πάσχοντες κατά τη δύναμή μου και την κρίση μου χωρίς ποτέ, εκουσίως, να τους βλάψω ή να τους αδικήσω. Και να μη δώσω ποτέ σε κανένα, έστω κι αν μου το ζητήσει, θανατηφόρο φάρμακο, ούτε να δώσω ποτέ τέτοια συμβουλή. Ομοίως να μη δώσω ποτέ σε γυναίκα φάρμακο για να αποβάλει. Να διατηρήσω δε τη ζωή μου και την τέχνη μου καθαρή και αγνή. Και να μη χειρουργήσω πάσχοντες από λίθους αλλά να αφήσω την πράξη αυτή για τους ειδικούς. Και σε όποια σπίτια κι αν μπω, να μπω για την ωφέλεια των πασχόντων αποφεύγοντας κάθε εκούσια αδικία και βλάβη και κάθε γενετήσια πράξη και με γυναίκες και με άνδρες, ελεύθερους και δούλους. Και ό,τι δω ή ακούσω κατά την άσκηση του επαγγέλματός μου, ή κι εκτός, για τη ζωή των ανθρώπων, που δεν πρέπει ποτέ να κοινοποιηθεί, να σιωπήσω και να το τηρήσω μυστικό. Αν τον όρκο μου αυτό τηρήσω πιστά και δεν τον αθετήσω, είτε να απολαύσω για πάντα την εκτίμηση όλων των ανθρώπων για τη ζωή μου και για την τέχνη μου, αν όμως παραβώ και αθετήσω τον όρκο μου να υποστώ τα αντίθετα από αυτά.

*Στους γονείς μου*

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Γενικά στοιχεία διδακτορικής διατριβής	8
Βιογραφικό σημείωμα	9
Πρόλογος	13
Συντομογραφίες	16
Γενικό μέρος	17
1. Θυρεοειδής αδένας	18
1.1 Ανατομία	18
1.2 Ιστολογία	19
1.3 Φυσιολογία	21
1.3.1 Θυρεοειδικές ορμόνες	21
1.3.2 Μεταβολισμός ιωδίου	22
1.3.3 Βιοσύνθεση θυρεοειδικών ορμονών	22
1.3.4 Δράσεις θυρεοειδικών ορμονών	26
1.3.5 Ρύθμιση θυρεοειδικής λειτουργίας	27
2. Αυτοάνοση θυροειδική νόσος	29
2.1 Ορισμός	29
2.2 Αιτιοπαθογένεια	29
2.2.1 Γενετικό υπόβαθρο	29
2.2.2 Περιβαλλοντικοί παράγοντες	31
2.2.3 Παθογένεια θυροειδικής αυτοανοσίας	34
2.3 Θυροειδικά αυτοαντισώματα	36
2.3.1 Αντισώματα έναντι της θυρεοσφαιρίνης	36
2.3.2 Αντισώματα έναντι της θυροειδικής υπεροξειδάσης	37
2.3.3 Αντισώματα έναντι του υποδοχέα της TSH	37
2.3.4 Αντισώματα έναντι του συμμεταφορέα νατρίου/ιωδίου	38

<b>3. Θυρεοειδίτιδα Hashimoto</b>	39
<b>3.1 Ορισμός</b>	39
<b>3.2 Κλινική εικόνα υποθυρεοειδισμού</b>	40
<b>3.3 Διάγνωση - Θεραπεία ΗΤ και υποθυρεοειδισμού</b>	43
<b>4. Οξειδωτικό στρες</b>	44
<b>4.1 Ορισμός</b>	44
<b>4.2 Δραστικές μορφές οξυγόνου</b>	45
<b>4.3 Αντιοξειδωτικοί αμυντικοί μηχανισμοί</b>	46
<b>4.4 Οξειδωτικό στρες και θυρεοειδής</b>	47
<b>5. Τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (AGEs)</b>	49
<b>5.1 Ορισμός</b>	49
<b>5.2 Σχηματισμός των AGEs</b>	49
<b>5.3 Πηγές των AGEs</b>	52
<b>5.4 Μεταβολισμός των AGEs</b>	53
<b>5.5 Βιολογικές δράσεις των AGEs</b>	55
<b>6. Υποδοχέας RAGE</b>	57
<b>6.1 Δομή του υποδοχέα RAGE</b>	57
<b>6.2 Συνδέτες του υποδοχέα RAGE</b>	58
<b>6.3 Πολυμορφισμοί του γονιδίου του υποδοχέα RAGE</b>	59
<b>6.4 Πολυμορφισμοί -429T&gt;C και -374T&gt;A του γονιδίου RAGE</b>	62
<b>Ειδικό μέρος</b>	64
<b>7. Σκοπός</b>	65
<b>8. Υλικό και μέθοδοι</b>	66
<b>8.1 Δείγμα</b>	66
<b>8.2 Ατομικό ιστορικό και κλινική εξέταση</b>	67
<b>8.3 Ερωτηματολόγιο διατροφής</b>	67
<b>8.4 Κλίμακα Zung</b>	69
<b>8.5 Μέτρηση θυρεοειδικών ορμονών</b>	69
<b>8.6 Μέτρηση οξειδωτικού στρες</b>	70
<b>8.7 Απομόνωση DNA</b>	70

8.8	Πολυμορφισμοί -429T>C και -374T>A του γονιδίου <i>RAGE</i>	71
8.9	Στατιστική ανάλυση	73
9.	<b>Αποτελέσματα</b>	75
9.1	Περιγραφή δείγματος	75
9.2	Κατανομή γονοτύπων και αλληλίων ως προς τους πολυμορφισμούς του γονιδίου <i>RAGE</i> στον πληθυσμό της μελέτης	76
9.3	Επίπεδα οξειδωτικού στρες (TOS) στον πληθυσμό της μελέτης	79
9.4	Συνδυαστική επίδραση του TOS και του πολυμορφισμού -429T>C στην εξέλιξη της θυρεοειδίτιδας Hashimoto	82
9.5	Παράγοντες που παρουσιάζουν συσχέτιση με το TOS	83
9.5.1	Δείκτης μάζας σώματος	83
9.5.2	Αϋπνία	87
9.5.3	Διατροφικές συνήθειες	87
9.5.4	Μοντέλο σταδιακής λογιστικής παλινδρόμησης	88
9.6	Συσχέτιση του δείκτη φλεγμονής hsCRP με τα επίπεδα TOS	89
9.7	Παρακολούθηση ασθενών	90
10.	<b>Συζήτηση</b>	91
	<b>Περίληψη</b>	98
	<b>Summary</b>	101
	<b>Βιβλιογραφία</b>	103
	<b>Παράρτημα I</b>	127
	<b>Παράρτημα II</b>	129
	<b>Παράρτημα III</b>	131

## **ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗΣ ΔΙΑΤΡΙΒΗΣ**

- Ημερομηνία αιτήσεως για εκπόνηση διδακτορικής διατριβής: 23/3/2011
- Ημερομηνία ορισμού τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής: 22/7/2011

### Μέλη της τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:

1. Καθηγήτρια Μ. Αλεβιζάκη
  2. Καθηγητής Γ. Καλτσάς
  3. Αναπλ. Καθηγήτρια Α. Μητράκου
- 
- Ημερομηνία ορισμού θέματος: 25/1/2012
  - Ημερομηνία κατάθεσης 1<sup>ης</sup> Έκθεσης Προόδου: 3/7/2012
  - Ημερομηνία κατάθεσης 2<sup>ης</sup> Έκθεσης Προόδου: 10/7/2013
  - Ημερομηνία κατάθεσης 3<sup>ης</sup> Έκθεσης Προόδου: -/-/2017
  - Ημερομηνία κατάθεσης Διδακτορικής Διατριβής: -/-/2017



## **ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ**

**Όνοματεπώνυμο:** Μαρία Γιαννακού

**Όνομα πατρός:** Λεόντιος

**Ημερομηνία γέννησης:** 02/12/1986, Αθήνα

**e-mail:** maria-giannakou@hotmail.com

### **ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ - ΔΙΠΛΩΜΑΤΑ**

**1997-2000:** 1<sup>ο</sup> Γυμνάσιο Βριλησίων, Αθήνα

**2001-2003:** 1<sup>ο</sup> Ενιαίο Λύκειο Βριλησίων, Αθήνα, Βαθμός Απολυτηρίου:  
18.9/20.00

**2003-2009:** Τμήμα Ιατρικής Σχολής, Δημοκρίτειου πανεπιστημίου Θράκης,  
Αλεξανδρούπολη (αρ. πτυχίου: 1370), βαθμός πτυχίου: 7.197/10.00 (Λίαν  
Καλώς)

**18/3/2006:** Certificate of Proficiency in English, University of Michigan, USA

**2/6/2010:** KeyCERT IT Basic Plus (Microsoft Excel 2003 GR - ATES,  
Microsoft PowerPoint 2003 GR - ATES, IE 6 & Microsoft Outlook 2003 GR,  
Microsoft Word XP GR - ATES, Windows XP GR - ATES, Microsoft Access  
2003 GR - ATES)

**1/4/2014 - 30/6/2014:** «Courses on Clinical Trials», Αθήνα υπό την αιγίδα του  
Cambridge University Hospitals, NHS

## **ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ:**

**1/9/2011 - 6/6/2012:** Ασκούμενη ιατρός (Preregistration) στο Γενικό Νοσοκομείο Λάρνακας, Κύπρος.

**12/6/2012 - 12/6/2015:** Ειδικευόμενη παθολογίας στην Α΄ Ογκολογική κλινική του Γενικού Ογκολογικού Νοσοκομείου Κηφισιάς «Άγιοι Ανάργυροι», Αθήνα.

## **ΕΛΕΥΘΕΡΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ - POSTER:**

1. M. Giannakou, K. Saltiki, E. Loukari, G. Philippou, K. Terzidis, G. Spina, K. Lily, C. Stavrianos, E. Mantzou, M. Alevizaki. Nutritional factors may be involved in the development of thyroid autoantibodies in women. 36<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Thyroid Association, Pisa, 2012.
2. M. Giannakou, K. Saltiki, E. Loukari, A. Mantzou, G. Philippou, K. Terzidis, C. Stavrianos, M. Alevizaki. Oxidative stress is associated with thyroid hormones and thyroid autoimmunity in euthyroid women. 37<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Thyroid Association, Leiden, 2013.
3. M. Giannakou, K. Saltiki, E. Loukari, A. Mantzou, G. Philippou, K. Terzidis, C. Stavrianos, M. Alevizaki. Associations of thyroid function and autoantibodies with parameters of oxidative stress in women with Hashimoto's thyroiditis. 16<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology, Wroclaw, 2014.
4. M. Giannakou, K. Saltiki, E. Loukari, A. Mantzou, G. Philippou, K. Terzidis, C. Stavrianos, M. Alevizaki. Association of common polymorphisms of the RAGE (Receptor for Advanced Glycation End products) gene with autoimmune parameters in women with Hashimoto's thyroiditis. 38<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Thyroid Association, Santiago de Compostela, 2014.

5. M. Giannakou, K. Saltiki, E. Loukari, A. Mantzou, G. Philippou, K. Terzidis, C. Stavrianos, M. Alevizaki. Associations of Two Common Polymorphisms -429T>C and -374T>A of the *RAGE* Gene Promoter with Hashimoto's Thyroiditis in Greek Women. 98<sup>th</sup> Annual Meeting of the Endocrine Society (ENDO), Boston, 2016.
6. M. Giannakou, K. Saltiki, E. Loukari, A. Mantzou, G. Philippou, K. Terzidis, C. Stavrianos, M. Alevizaki. Autoimmune thyroiditis: association with two common polymorphisms of the *RAGE* gene and oxidative stress. 18<sup>th</sup> European Congress of Endocrinology, Munich, 2016.

#### **ΠΡΟΦΟΡΙΚΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ:**

1. Μ Γιαννακού, Κ Σαλτίκη, Ε Λουκαρή, Γ Φιλίππου, Κ Τερζίδης, Τ Σπίνα, Κ Λιλή, Χ Σταυριανός, Α Μάντζου, Μ Αλεβιζάκη. Συσχέτιση παραγόντων διατροφής με την ανάπτυξη των θυρεοειδικών αντισωμάτων. 40<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο ενδοκρινολογίας και μεταβολισμού, Αθήνα, 2013.
2. Μ Γιαννακού, Κ Σαλτίκη, Ε Λουκαρή, Γ Φιλίππου, Κ Τερζίδης, Κ Λιλή, Χ Σταυριανός, Α Μάντζου, Μ Αλεβιζάκη. Διερεύνηση πιθανών συσχετίσεων δυο κοινών πολυμορφισμών του γονιδίου του υποδοχέα RAGE με παραμέτρους αυτοανοσίας σε γυναίκες με θυρεοειδίτιδα Hashimoto. 41<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο ενδοκρινολογίας και μεταβολισμού, Πόρτο Χέλι, 2014.
3. Μ Γιαννακού, Κ Σαλτίκη, Ε Λουκαρή, Γ Φιλίππου, Κ Τερζίδης, Τ Σπίνα, Κ Λιλή, Χ Σταυριανός, Α Μάντζου, Μ Αλεβιζάκη. Συσχέτιση θυρεοειδικών ορμονών και αντισωμάτων με παραμέτρους οξειδωτικού στρες σε γυναίκες με θυρεοειδίτιδα Hashimoto. 42<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο ενδοκρινολογίας και μεταβολισμού, Θεσσαλονίκη, 2015.

4. Μ. Γιαννακού, Κ. Σαλτίκη, Ε. Λουκαρή, Γ. Φιλίππου, Κ. Τερζίδης, Κ. Λιλή, Χ. Σταυριανός, Α. Μάντζου, Μ. Αλεβιζάκη. Συσχέτιση παραμέτρων οξειδωτικού στρες και πολυμορφισμών του γονιδίου του υποδοχέα των AGES (RAGE) με την εμφάνιση αυτοάνοσης θυρεοειδίτιδας Hashimoto. 43<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο ενδοκρινολογίας και μεταβολισμού & Σακχαρώδη Διαβήτη, Αθήνα, 2016.

#### **ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ:**

Giannakou M, Saltiki K, Mantzou E, Loukari E, Philippou G, Terzidis K, Lili K, Stavrianos C, Kyprianou M, Alevizaki M. RAGE polymorphisms and oxidative stress levels in Hashimoto's thyroiditis. Eur J Clin Invest. 2017 Feb 22. doi: 10.1111/eci.12739. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 28226412.

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η θυρεοειδίτιδα Hashimoto είναι η συχνότερη αυτοάνοση πάθηση του θυρεοειδούς αδένου. Αποτελεί την πιο συχνή αιτία υποθυρεοειδισμού στον γενικό πληθυσμό [59]. Προσβάλλει άτομα κάθε ηλικίας αλλά εμφανίζει αυξημένη επίπτωση στις γυναίκες μέσης ηλικίας [52, 59]. Στην αιτιοπαθογένεια της νόσου συμμετέχουν γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες [27, 28]. Η θυρεοειδίτιδα Hashimoto χαρακτηρίζεται από προοδευτική αντικατάσταση του υγιούς παρεγχύματος του θυρεοειδούς αδένου από λεμφοκύτταρα και ινώδη ιστό. Στον ορό των ασθενών ανιχνεύονται αντιθυρεοειδικά αντισώματα, τα αντιθυρεοσφαιρινικά αντισώματα (anti-Tg) και τα αντισώματα έναντι της θυρεοειδικής υπεροξειδάσης (anti-TPO) [60]. Η παρουσία των αντιθυρεοειδικών αντισωμάτων στο περιφερικό αίμα, και ειδικότερα των anti-TPO έχει συσχετισθεί σε πολλές μελέτες με την εμφάνιση υποθυρεοειδισμού [25, 27]. Παρόλα αυτά τα αντιθυρεοειδικά αντισώματα ανευρίσκονται αρκετά συχνά και σε ευθυρεοειδικά άτομα [25, 52].

Τα κύτταρα του θυρεοειδούς αδένου υπό φυσιολογικές συνθήκες παράγουν μέτριες ποσότητες δραστικών μορφών οξυγόνου, οι οποίες είναι απαραίτητες για την σύνθεση των θυρεοειδικών ορμονών [114-117]. Μελέτες σε ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto έδειξαν ότι οι ασθενείς αυτοί, ακόμα και όταν είναι ευθυρεοειδικοί έχουν αυξημένα επίπεδα δεικτών οξειδωτικού στρες [122-130]. Άμεσα σχετιζόμενα με το οξειδωτικό στρες είναι τα τελικά προϊόντα μη ενζυματικής γλυκοζυλίωσης (AGEs), τα οποία παράγονται σε συνθήκες υπεργλυκαιμίας και αυξημένου οξειδωτικού στρες [138, 139]. Επίσης σημαντικό ρόλο στην διαμόρφωση των επιπέδων των AGEs αλλά και του οξειδωτικού στρες στον οργανισμό κατέχει η διατροφή [109, 110, 138, 139]. Η δράση των AGEs προάγει τη φλεγμονή και την παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου [138, 139, 155]. Στον μεταβολισμό των AGEs συμμετέχει ο υποδοχέας RAGE, ο οποίος ενισχύει τη δράση τους [152]. Οι πολυμορφισμοί του γονιδίου του υποδοχέα RAGE, -429T>C και -374T>A, έχουν συσχετισθεί με ένα ευρύ φάσμα

ασθενειών όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, ο καρκίνος, ο συστηματικός ερυθριματώδης λύκος, η νόσος του Crohn και η σκλήρυνση κατά πλάκας [171-186]. Δεν υπάρχουν αντίστοιχες μελέτες για τον ρόλο των πολυμορφισμών αυτών στην αυτοάνοση θυρεοειδική νόσο.

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής είναι η διερεύνηση της επίδρασης του οξειδωτικού στρες και της διατροφής στην εμφάνιση και την εξέλιξη της θυρεοειδίτιδας Hashimoto. Στην μελέτη συμπεριλαμβάνονται μόνο ευθυρεοειδικές γυναίκες, τόσο στην ομάδα των ασθενών με θυρεοειδίτιδα Hashimoto όσο και στην ομάδα ελέγχου. Επίσης στον ίδιο πληθυσμό μελετάται η κατανομή και ο ρόλος των πολυμορφισμών του γονιδίου του υποδοχέα RAGE, -429T>C και -374T>A. Τέλος, διερευνάται η επίδραση της διατροφής στα επίπεδα του οξειδωτικού στρες και στην πορεία της θυρεοειδίτιδας Hashimoto κατά το διάστημα δύο ετών.

## **Ευχαριστίες**

Ιδιαίτερα θέλω να ευχαριστήσω την Καθηγήτρια Ενδοκρινολογίας κ. Μ. Αλεβιζάκη, επιβλέπουσα καθηγήτρια, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε με την ανάθεση της παρούσας διατριβής. Επίσης την ευχαριστώ θερμά για την υποστήριξη, την καθοδήγηση και την εποπτεία καθ' όλη την διάρκεια της μελέτης καθώς και για την πολύτιμη συμβολή της στην συνολική διαμόρφωση της μελέτης.

Τον Καθηγητή Ενδοκρινολογίας κ. Γ. Καλτσά και την Αναπλ. Καθηγήτρια κ. Α. Μητράκου, μέλη της Τριμελούς Επιτροπής, ευχαριστώ για τις εύστοχες παρατηρήσεις τους κατά την εκπόνηση της διατριβής.

Την κλινικό χημικό κ. Αιμ. Μάντζου, για το ενδιαφέρον που έδειξε και τη βοήθεια που μου πρόσφερε κατά την εκτέλεση του πειραματικού μέρους της μελέτης. Ιδιαίτερα θέλω να την ευχαριστήσω για την καθοδήγηση, την εκμάθηση και την εφαρμογή των μεθόδων προσδιορισμού.

Τους ιατρούς της Μονάδας Κλινικής και Μεταφραστικής έρευνας στην Ενδοκρινολογία, της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, για την βοήθεια τους στην συλλογή των περιστατικών της μελέτης. Ιδιαίτερα θέλω να ευχαριστήσω την κ. Αικ. Σαλίκη για την ουσιαστική συμμετοχή της στην επεξεργασία των δεδομένων της διδακτορικής διατριβής.

Τον χημικό-βιοστατιστικό κ. Μ. Κυπριανού, για την βοήθεια του στην στατιστική επεξεργασία και ανάλυση των αποτελεσμάτων.

Το προσωπικό του Εργαστηρίου της Μονάδας Ενδοκρινολογίας, Μεταβολισμού και Σακχαρώδους Διαβήτη του Πανεπιστημίου Αθηνών του Ευγενιδείου Θεραπευτηρίου, για την βοήθεια που μου πρόσφεραν στην συλλογή των δειγμάτων και στην εκτέλεση των ορμονικών προσδιορισμών.

Την γραμματεία της Μονάδας Κλινικής και Μεταφραστικής έρευνας στην Ενδοκρινολογία της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών και ιδιαίτερα την κ. Ε. Παπανικολάου, για την βοήθεια τους στην πρόσβαση στα ιστορικά των συμμετεχόντων και στη διεκπεραίωση των ερωτηματολογίων.

Τέλος τους γονείς μου Ε. Λουκαρή-Γιαννακού και Λ. Γιαννακού για την συνεχή και ακούραστη υποστήριξη τους σε όλη την διάρκεια διεξαγωγής της διδακτορικής διατριβής.

Μ. Γ.

## ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ

---

Αντιθυρεοειδικά αντισώματα	AΘA
Θυρεοσφαιρίνη	TG
Θυρεοειδική υπεροξειδάση	TPO
Θυροξίνη	T <sub>4</sub>
Τριϊωδοθυρονίνη	T <sub>3</sub>
Ανάστροφη τριϊωδοθυρονίνη	rT <sub>3</sub>
Συμμεταφορέας Νατρίου/Ιωδίου	NIS
Θυρεοειδοτρόπος ορμόνη	TSH
Μονοϊωδοτυροσίνη	MIT
Διϊωδοτυροσίνη	DIT
Ελεύθερο κλάσμα θυροξίνης	FT <sub>4</sub>
Ελεύθερο κλάσμα τριϊωδοθυρονίνης	FT <sub>3</sub>
Πυρηνικοί υποδοχείς	TRs
Αυτοάνοση θυρεοειδική νόσος	AΘN
Νόσος Graves'	GD
Θυρεοειδίτιδα Hashimoto	HT
Υποδοχέας της TSH	TSH-R
Αντισώματα έναντι του υποδοχέα της TSH	anti-TSHR
Αντισώματα έναντι της θυρεοσφαιρίνης	anti-TG
Αντισώματα έναντι της θυρεοειδικής υπεροξειδάσης	anti-TPO
Αντισώματα που συνδέονται με τον υποδοχέα της TSH	TRAb ή TBII
Θυρεοδιεγερτικά αντισώματα του υποδοχέα της TSH	TSAb
Θυρεοανασταλτικά αντισώματα του υποδοχέα της TSH	TBAb
Δραστικές μορφές οξυγόνου	ROS
Τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης	AGEs
Τελικά προϊόντα προχωρημένης οξειδωσης λιπιδίων	ALEs
Σακχαρώδης διαβήτης τύπου 2	ΣΔ2
Δείκτης μάζας σώματος	ΔΜΣ
Waist to hip ratio	WTH
Αρτηριακή διαστολική πίεση	ΑΔΠ
Αρτηριακή συστολική πίεση	ΑΣΠ
Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης	PCR
Διαστήματα εμπιστοσύνης	ΔΕ
Ενδοτεταρτημοριακό εύρος	ΕΕ
Ανάλυση Receiver Operating Characteristics	ανάλυση ROC
Εμβαδόν κάτω από την καμπύλη (Area Under Curve)	AUC
Λόγος συμπληρωματικών πιθανοτήτων (Odds Ratio)	OR

---

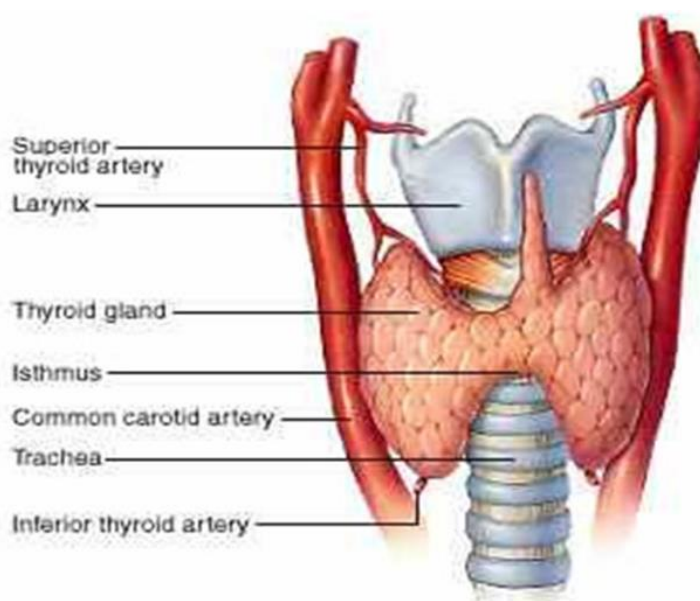


## **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

# 1. ΘΥΡΕΟΕΙΔΗΣ ΑΔΕΝΑΣ

## 1.1 ANATOMIA

Ο θυρεοειδής αδένας είναι από τους μεγαλύτερους ενδοκρινείς αδένες στο ανθρώπινο σώμα. Εντοπίζεται στον πρόσθιο τράχηλο, κάτω από το υοειδές οστόν, μπροστά από τους πρώτους κρικοειδείς χόνδρους της τραχείας. Το βάρος του αδένος ποικίλει από 15 έως 20 γραμμάρια αναλόγως του βάρους του σώματος και του διαθέσιμου ιωδίου στο περιβάλλον. Ο θυρεοειδής αδένας αποτελείται από δύο λοβούς, εκατέρωθεν της τραχείας οι οποίοι συνδέονται μεταξύ τους με μια λεπτή ζώνη θυρεοειδικού ιστού, τον ισθμό (Εικόνα 1.1). Κάθε λοβός έχει πάχος 1-1.5 cm, πλάτος 1.5-2 cm και μήκος 2.5-4 cm. Συχνή ανατομική παραλλαγή είναι η ύπαρξη του πυραμοειδούς λοβού, οποίος συνιστά μια μικρή προεκβολή του ισθμού προς τα πάνω [1-3]. Ο θυρεοειδής αδένας περικλείεται από δύο κάψες συνδετικού ιστού. Την εξωτερική η οποία συντελεί στην πρόσφυση του αδένος στην τραχεία και την εσωτερική από την οποία εξορμούνται διαφραγμάτια τα οποία χωρίζουν τον αδένος σε λόβια και μεταφέρουν τις νευρικές απολήξεις και τα αγγεία.

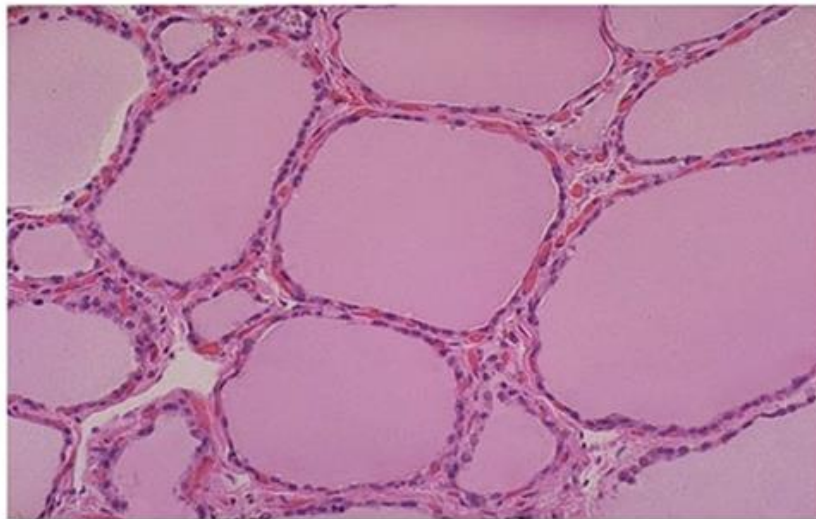


Εικόνα 1.1 Ανατομική απεικόνιση θυρεοειδούς αδένος.

Η αιμάτωση του θυρεοειδούς αδένου γίνεται από την άνω θυρεοειδική αρτηρία κλάδο της έξω καρωτίδας και την κάτω θυρεοειδική αρτηρία κλάδο της υποκλειδίου αρτηρίας και η παροχέτευση του αδένου γίνεται από τις θυρεοειδικές φλέβες [1-3].

## 1.2 ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ

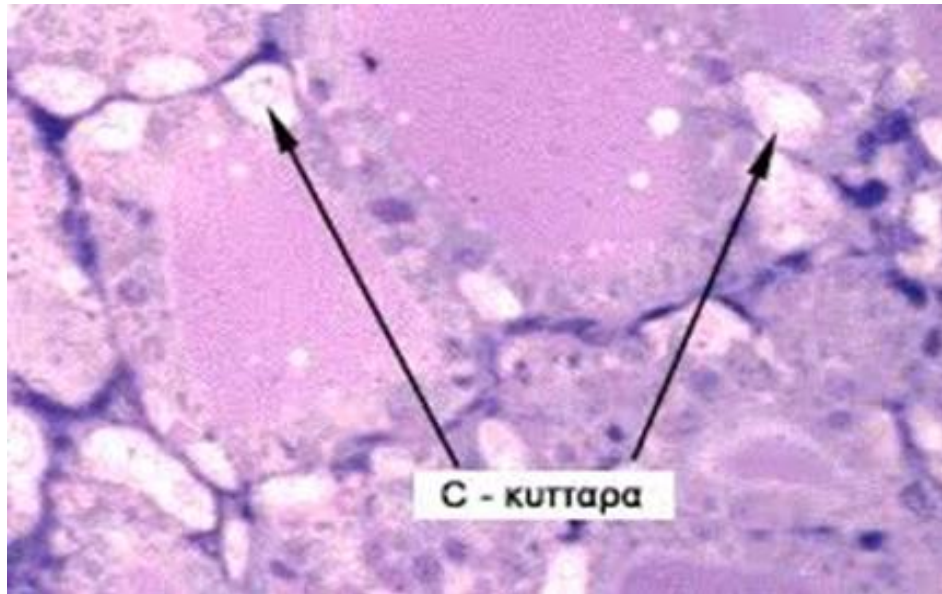
Κάθε λοβός του θυρεοειδούς αδένου αποτελείται από πολλά θυρεοειδικά λόβια. Σε κάθε λόβιο υπάρχουν 30-40 σφαιρικά κυστίδια, τα θυλάκια, διαμέτρου 20 μm έως 900 μm, τα οποία συνιστούν τη λειτουργική μονάδα του θυρεοειδή αδένου. Τα θυλάκια σχηματίζουν ομάδες οι οποίες διαχωρίζονται μεταξύ τους από αιμοφόρα αγγεία και συνδετικό ιστό [2, 3]. Κάθε θυρεοειδικό θυλάκιο αποτελείται από τη βασική μεμβράνη και μια στιβάδα κυβοειδών επιθηλιακών κύτταρων (θυλακιώδη κύτταρα), στο εσωτερικό των οποίων υπάρχει κοιλότητα στην οποία περιέχεται το κολλοειδές (Εικόνα 1.2).



*Εικόνα 1.2 Ιστολογική απεικόνιση των θυρεοειδικών κυττάρων.*

Το κολλοειδές είναι μια διαυγής ουσία ομοιογενούς σύστασης, η οποία αποτελείται κυρίως από θυρεοσφαιρίνη (Εικόνα 1.3) και μικρές ποσότητες νουκλεϊνικών οξέων, βλεννοπρωτεϊνών και πρωτεολυτικών ενζύμων [2, 3].

Στο μόριο της θυρεοσφαιρίνης βρίσκονται αποθηκευμένες οι θυρεοειδικές ορμόνες. Μεταξύ της βασικής μεμβράνης και των θυλακιωδών κυττάρων βρίσκονται τα παραθυλακιώδη κύτταρα ή κύτταρα C (Εικόνα 1.3) [4].



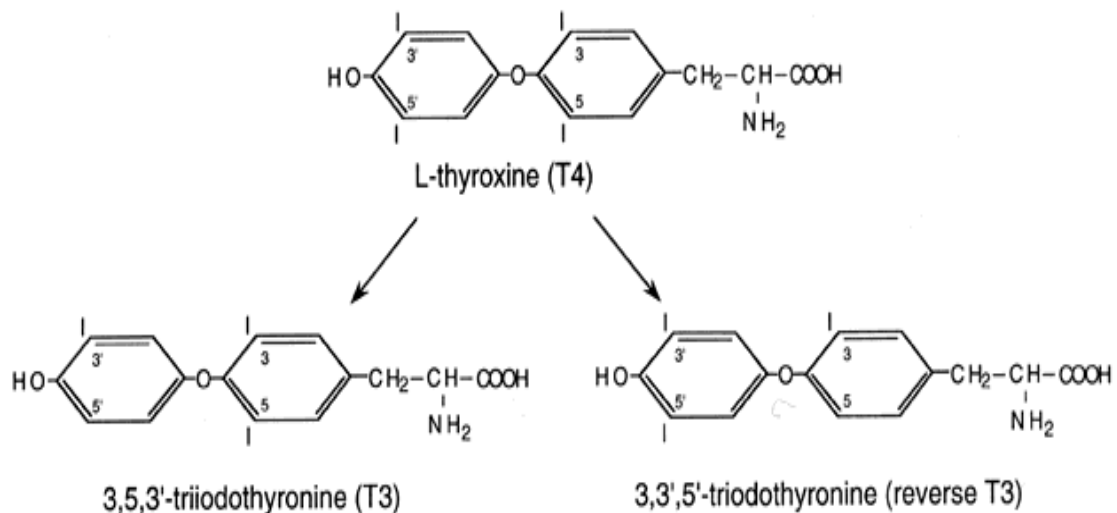
*Εικόνα 1.3 Ιστολογική απεικόνιση των C κυττάρων τους θυρεοειδούς αδένα.*

Η ιστολογική υφή του θυρεοειδούς εξαρτάται από τη λειτουργική κατάσταση του αδένα. Στο ανενεργό θυρεοειδικό θυλάκιο τα θυλακιώδη κύτταρα είναι χαμηλά και οι κοιλότητες γεμάτες κολλοειδές, ενώ στο ενεργοποιημένο θυλάκιο τα θυλακιώδη κύτταρα είναι υψηλά και οι κοιλότητες αδειάζουν [3]. Ο θυρεοειδής αδένας διαθέτει εκτεταμένο δίκτυο λεμφαγγείων και δέχεται συμπαθητική και παρασυμπαθητική νεύρωση. Η συμπαθητική νεύρωση προέρχεται από το άνω και το μέσο τραχηλικό γάγγλιο, ενώ η παρασυμπαθητική νεύρωση προέρχεται από το πνευμονογαστρικό με το άνω και κάτω λαρυγγικό νεύρο [2, 3].

## 1.3 ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ

### 1.3.1 Θυρεοειδικές ορμόνες

Ο θυρεοειδής αδένας συνθέτει τις θυρεοειδικές ορμόνες, θυροξίνη (L-3,5,3',5'-τετραϊωδοθυρονίνη, T<sub>4</sub>) και τριωδοθυρονίνη (L-3,5,3'-τριωδοθυρονίνη, T<sub>3</sub>). Η T<sub>4</sub> και η T<sub>3</sub> είναι ιωδιωμένα παράγωγα της τυροσίνης (Εικόνα 1.4) [5].



Εικόνα 1.4 Μοριακή δομή θυρεοειδικών ορμονών.

(Πηγή: Brent GA: *Thyroid Hormones [T<sub>4</sub>, T<sub>3</sub>]*. In Conn PM, Melmed S [eds]: *Endocrinology: Basic and Clinical Principles*, p 291. Totowa, NJ, Humana Press, 1996)

Η T<sub>4</sub> εκκρίνεται αποκλειστικά από τον θυρεοειδή, ενώ το μεγαλύτερο μέρος της T<sub>3</sub> παράγεται στους περιφερικούς ιστούς, μετά από την αποϊωδίωση της T<sub>4</sub> με τη βοήθεια των αποϊωδινασών τύπου I και II [5]. Ο θυρεοειδής παράγει επίσης μικρές ποσότητες ανάστροφης τριωδοθυρονίνης (rT<sub>3</sub>), η οποία είναι ανενεργή [5]. Τα παραθυλακιώδη κύτταρα του θυρεοειδούς συνθέτουν την καλσιτονίνη, ορμόνη που επηρεάζει τον μεταβολισμό του ασβεστίου [4].

### 1.3.2 Μεταβολισμός ιωδίου

Η πρόσληψη του ιωδίου γίνεται μέσω της διατροφής. Ο θυρεοειδής έχει την ικανότητα να συγκεντρώνει το ιώδιο σε συγκεντρώσεις 40-50 φορές περισσότερο από ότι κυκλοφορεί στο πλάσμα. Η συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη ιωδίου σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας WHO είναι 150 μg. Η πρόσληψη του ιωδίου κυμαίνεται από 100-500 μg ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή. Το ιώδιο των τροφών απορροφάται από τον γαστρεντερικό σωλήνα και εισέρχεται στην κυκλοφορία ως ανόργανο ιόν (I<sup>-</sup>) [5, 6]. Το 20% του I<sup>-</sup> που κυκλοφορεί στο πλάσμα μεταφέρεται στον θυρεοειδή και το υπόλοιπο 80% αποβάλλεται από τους νεφρούς.

Ο θυρεοειδής προσλαμβάνει περίπου 115 μg ιωδίου ημερησίως εκ των οποίων τα 75 μg χρησιμοποιούνται για τη βιοσύνθεση των θυρεοειδικών ορμονών [7]. Το μεγαλύτερο μέρος του ιωδίου αποβάλλεται στα ούρα ενώ μια μικρή ποσότητα αποβάλλεται με τα κόπρανα. Η 24ωρη συγκέντρωση του ιωδίου στα ούρα θεωρείται αξιόπιστος δείκτης της ημερήσιας πρόσληψης ιωδίου. Σύμφωνα με τον WHO ημερήσια απέκκριση ιωδίου ούρων <100μg/L είναι ενδεικτική ανεπαρκούς διαιτητικής πρόσληψης ιωδίου, ενώ 100-200 μg/L επαρκής [8].

### 1.3.3 Βιοσύνθεση των θυρεοειδικών ορμονών

Η σύνθεση των θυρεοειδικών ορμονών αρχίζει με την μεταφορά του ανόργανου ιωδίου (I<sup>-</sup>) του πλάσματος, το οποίο απορροφάται ενεργητικά από τον εξωκυττάριο χώρο στα θυρεοειδικά θυλάκια και στη συνέχεια ενσωματώνεται στα άτομα της τυροσίνης του μορίου της θυρεοσφαιρίνης (TG) [3, 5].

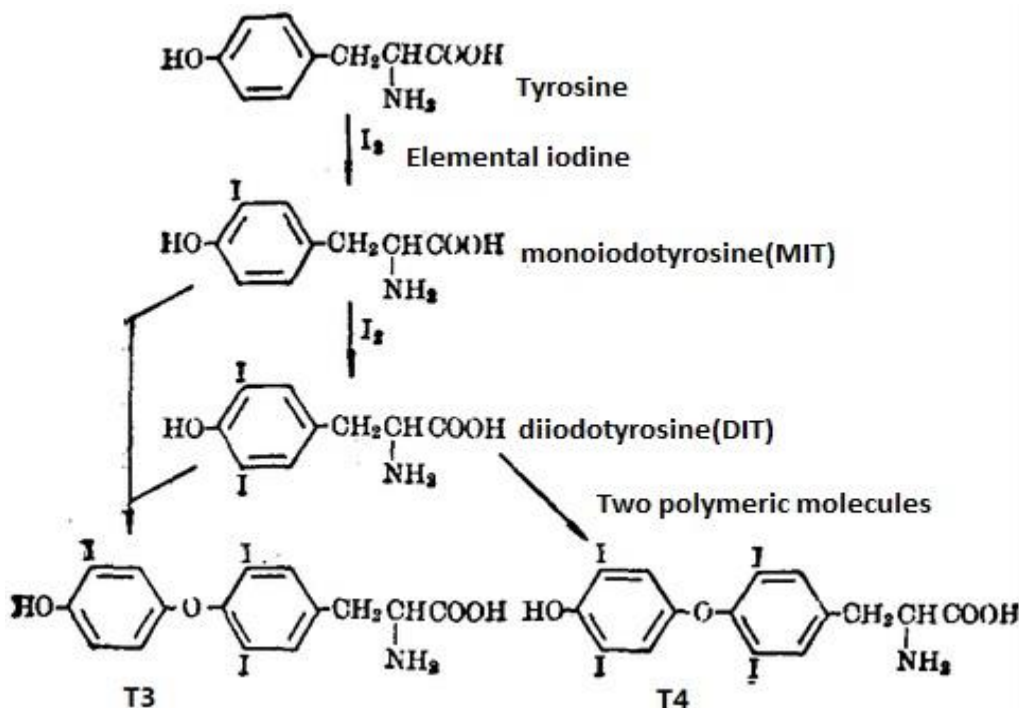
Η θυρεοσφαιρίνη (TG) είναι μία ομοδιμερής γλυκοπρωτεΐνη μοριακού βάρους 660 kDa, η οποία συντίθεται στα θυλακίωδη κύτταρα του θυρεοειδούς αδένου, εκκρίνεται στις κοιλότητες των θυλακίων και αποτελεί το κύριο συστατικό του κολλοειδούς. Η TG είναι απαραίτητη για τα τη σύνθεση και την αποθήκευση των θυρεοειδικών ορμονών [9]. Σε κάθε μόριο της TG υπάρχουν

περίπου 100 μόρια τυροσίνης. Το ένα τέταρτο των τυροσινών υφίσταται ιωδίωση, υποκατάσταση των ατόμων υδρογόνου με ιώδιο στον δακτύλιο της τυροσίνης με τη βοήθεια της θυρεοειδικής υπεροξειδάσης (Thyroid Peroxidase - TPO) [9, 10].

Η θυρεοειδική υπεροξειδάση (TPO) αποτελεί βασικό ένζυμο των θυρεοειδικών κυττάρων και συμμετέχει στην σύνθεση των θυρεοειδικών ορμονών. Η TPO είναι μια διαμεμβρανική αιμοπρωτεΐνη που βρίσκεται στην κορυφαία μεμβράνη των θυρεοειδικών κυττάρων προς την πλευρά του κολλοειδούς. Η TPO καταλύει: (1) την οξείδωση του ιωδίου (οργανοποίηση του ιωδίου) με τη βοήθεια του υπεροξειδίου του υδρογόνου  $H_2O_2$ , (2) την ιωδίωση των αμινοξικών καταλοίπων της τυροσίνης στο μόριο της θυρεοσφαιρίνης και (3) τη σύζευξη ιωδιωμένων τυροσινών στο μόριο της θυρεοσφαιρίνης και την παραγωγή των ορμονών  $T_3$  και  $T_4$  [10, 11]. Η δραστηριότητα της TPO αποτελεί μια μορφή αυτορρύθμισης της λειτουργίας του θυρεοειδούς, καθώς απότομη αύξηση του διαθέσιμου ιωδίου στο κύτταρο περιορίζει τη δραστηριότητα του ενζύμου και προστατεύει τον αδένα από επακόλουθο υπερθυρεοειδισμό (φαινόμενο Wolff - Chaikoff) [12].

Η ενεργητική μεταφορά του ανόργανου ιωδίου ( $I^-$ ) στα επιθηλιακά κύτταρα των θυρεοειδικών θυλάκιων γίνεται μέσω του συµμεταφορέα Νατρίου/Ιωδίου ( $Na^+/I^-$ , NIS) που βρίσκεται στην βασική μεμβράνη των θυλακικών κυττάρων [7, 13]. Το ανόργανο ιώδιο μεταφέρεται ενεργητικά εντός του θυλακικού κυττάρου από την βασική προς την κορυφαία επιφάνειά του, όπου οξειδώνεται ταχύτατα από την TPO σε ελεύθερο ιώδιο με την βοήθεια του  $H_2O_2$  [10, 11]. Η θυρεοειδοτρόπος ορμόνη (TSH) συμμετέχει στην έξοδο του ιωδίου από την κορυφαία επιφάνεια των κυττάρων προς την κοιλότητα των θυλακίων με τη βοήθεια του c-AMP [9, 14]. Μετά την ενσωμάτωση, οργανοποίηση, του ιωδίου στις θέσεις 3' ή και 5' των μορίων της τυροσίνης, σχηματίζονται οι ιωδοθυρονίνες με τη βοήθεια της TPO. Από την προσθήκη ενός ατόμου ιωδίου στο μόριο της τυροσίνης προκύπτει η μονοϊωδοτυροσίνη (MIT), ενώ αν προστεθούν δύο άτομα ιωδίου σχηματίζεται η διωδοτυροσίνη (DIT).

Με την βοήθεια της ΤΡΟ συζεύγνυνται 2 μόρια DIT και σχηματίζεται η Τ<sub>4</sub>, ενώ αν συζευχθούν ένα μόριο MIT με ένα μόριο DIT σχηματίζεται η Τ<sub>3</sub> (Εικόνα 1.5) [10, 11].



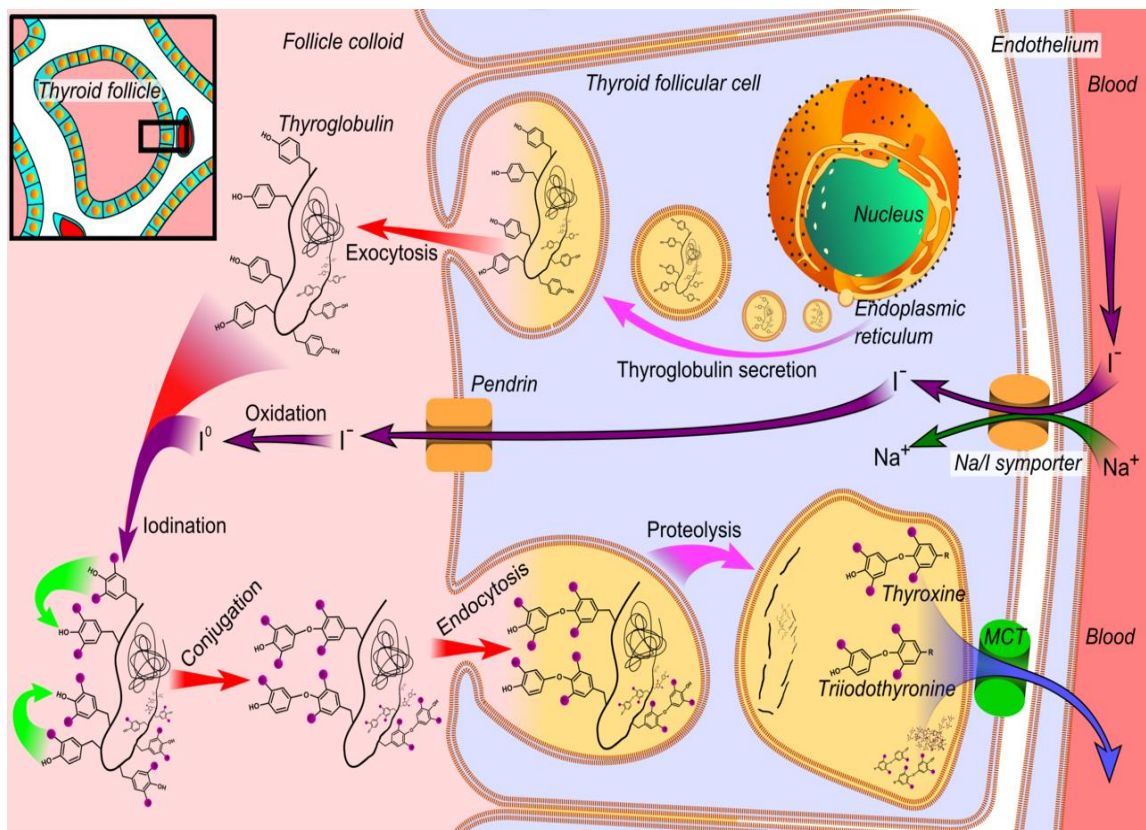
Εικόνα 1.5 Σύνθεση των θυροειδικών ορμονών.

(Πηγή: [http://www.chemicalbook.com/ProductIndex\\_EN.aspx](http://www.chemicalbook.com/ProductIndex_EN.aspx))

Η ιωδιωμένη TG αποθηκεύεται στο κολλοειδές των θυλακίων και ανάλογα με τις ανάγκες του οργανισμού επαναπορροφάται από τα θυλακικά κύτταρα με πινοκύτωση και υδρολύεται στα λυσοσώματα με αποτέλεσμα την απελευθέρωση των Τ<sub>4</sub> και Τ<sub>3</sub> (Εικόνα 1.6) [15]. Οι θυροειδικές ορμόνες μεταφέρονται στο εξωκυττάριο υγρό και εισέρχονται στην συστηματική κυκλοφορία, όπου ενώνονται με τις πρωτεΐνες φορείς του πλάσματος (TBG, TBPA, λευκοματίνη) [16].



Η TSH ρυθμίζει όλα τα στάδια σύνθεσης και απελευθέρωσης των θυρεοειδικών ορμονών, την είσοδο του ιωδίου στο θυρεοειδικό κύτταρο, την σύνθεση της θυρεοσφαιρίνης και την ενεργοποίηση της TPO. Ο θυρεοειδής αδένας παράγει ημερησίως περίπου 90 μg T<sub>4</sub> και 30 μg T<sub>3</sub>. Το 80% της T<sub>4</sub> αποϊωδιώνεται σε T<sub>3</sub> και rT<sub>3</sub>. Οι φυσιολογικές συγκεντρώσεις των θυρεοειδικών ορμονών στον ορό είναι για την T<sub>4</sub> 5-12 μg/dl, για την T<sub>3</sub> 100-200 ng/dl και για την rT<sub>3</sub> 14-32 ng/dl.



Εικόνα 1.6 Απεικόνιση των διεργασιών σύνθεσης και απελευθέρωσης των θυρεοειδικών ορμονών στην συστηματική κυκλοφορία.

(Πηγή: Chapter 49, "Synthesis of Thyroid Hormones" in: Walter F. Boron; Emile L. Boulpaep (2012) Medical Physiology (2nd ed.). Elsevier/Saunders)

### 1.3.4 Δράσεις θυρεοειδικών ορμονών

Η βιολογική δράση των θυρεοειδικών ορμονών πραγματοποιείται από τα ελεύθερα κλάσματα τους, την ελεύθερη  $T_4$  (free  $T_4$  - FT<sub>4</sub>) και την ελεύθερη  $T_3$  (free  $T_3$  - FT<sub>3</sub>). Η σύνδεση των μορίων της  $T_4$  και της  $T_3$  με τις πρωτεΐνες του πλάσματος είναι απαραίτητη για τη μεταφορά τους, για την ομοιόμορφη κατανομή τους σε μεγάλα όργανα και ιστούς καθώς και για την αποθήκευσή τους [16]. Επίσης η σύνδεση των θυρεοειδικών ορμονών με τις πρωτεΐνες του πλάσματος ρυθμίζει το ποσοστό των ελευθέρων κλασμάτων ανάλογα με τις ανάγκες του οργανισμού και του κάθε ιστού [16].

Οι θυρεοειδικές ορμόνες δρουν σχεδόν σε όλα τα κύτταρα κυρίως μέσω της σύνδεσης τους με πυρηνικούς υποδοχείς (TRs). Οι υποδοχείς των θυρεοειδικών ορμονών (TRs) αποτελούν μέλη της υπεροικογένειας των πυρηνικών υποδοχέων και λειτουργούν ως μεταγραφικοί παράγοντες. Οι υποδοχείς αυτοί έχουν πολύ μεγαλύτερη συγγένεια με την  $T_3$  συγκριτικά με την  $T_4$ . Η  $T_3$  μεταφέρεται στον πυρήνα του κυττάρου όπου προσδένεται στον υποδοχέα και στη συνέχεια ρυθμίζει τη γονιδιακή έκφραση και ελέγχει την πρωτεϊνοσύνθεση [17]. Έχουν βρεθεί δυο γονίδια που κωδικοποιούν τους πυρηνικούς υποδοχείς (TRs) το TR $\alpha$  και το TR $\beta$ . Το γονίδιο του υποδοχέα TR $\alpha$  κωδικοποιεί δύο ισομορφές, την TR $\alpha$ 1 και την TR $\alpha$ 2, ενώ το γονίδιο του υποδοχέα TR $\beta$  κωδικοποιεί τρεις ισομορφές, την TR $\beta$ 1, την TR $\beta$ 2 και την TR $\beta$ 3 [17,18]. Η συγγένεια της  $T_3$  με την κάθε ισομορφή (TRs) είναι διαφορετική. Η έκφραση των ισομορφών του υποδοχέα των θυρεοειδικών ορμονών ποικίλει ανάλογα με τον ιστό και τη φάση της ανάπτυξης του οργανισμού.

Στην ενήλικη ζωή ο υποδοχέας TR $\beta$ 1 εκφράζεται κυρίως στους νεφρούς, στο ήπαρ, στην καρδιά και στο θυρεοειδή. Ο TR $\beta$ 2 εκφράζεται κυρίως στον εγκέφαλο, στον αμφιβληστροειδή, στο έσω τμήμα του ωτός και υπερέχει έναντι των άλλων στην υπόφυση. Ο TR $\beta$ 3 εκφράζεται κυρίως στους νεφρούς, στο ήπαρ και στους πνεύμονες. Οι TR $\alpha$ 1 και TR $\alpha$ 2 εκφράζονται σε πολύ ψηλά επίπεδα στον εγκέφαλο ενώ σε χαμηλότερα επίπεδα στους νεφρούς, στους σκελετικούς

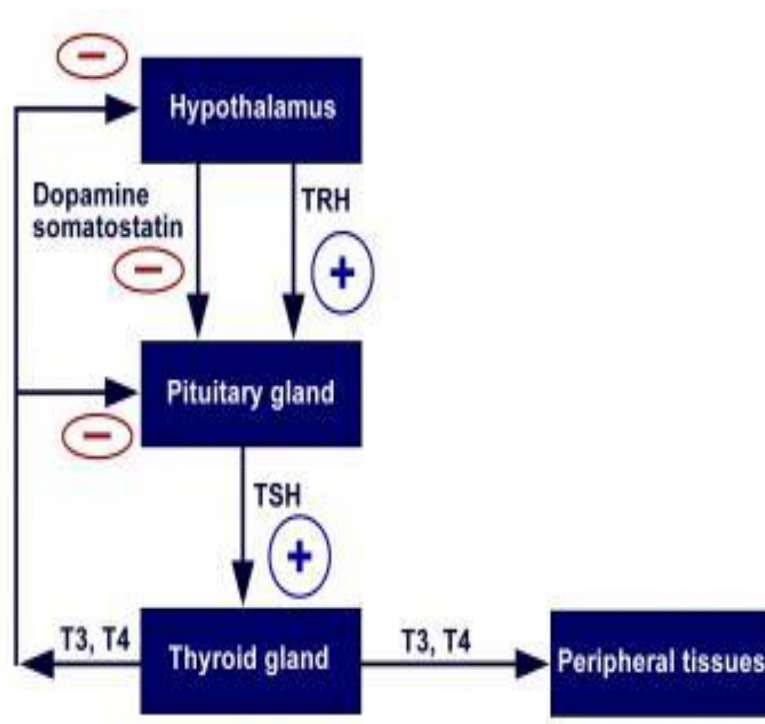
μύες, στους πνεύμονες, στην καρδιά και στο ήπαρ [18]. Η δράση της  $T_3$  σε κάθε ιστό εξαρτάται από τον τύπο, την κατανομή και τη συγκέντρωση των πυρηνικών υποδοχέων σε κάθε ιστό [17, 18].

Οι θυρεοειδικές ορμόνες αυξάνουν τον βασικό μεταβολισμό των κυττάρων και επιδρούν στον μεταβολισμό των υδατανθράκων και των λιπιδίων [19]. Προάγουν τη γλυκονεογένεση, τη γλυκογονόλυση και την απορρόφηση γλυκόζης από το έντερο. Επίσης αυξάνουν τη λιπόλυση και ελαττώνουν τα επίπεδα της χοληστερόλης. Αυξάνουν την κατανάλωση οξυγόνου από τους ιστούς και προκαλούν παραγωγή θερμότητας [19]. Στο καρδιαγγειακό σύστημα οι θυρεοειδικές ορμόνες εμπλέκονται στην παραγωγή της μυοσίνης, στην δραστηριότητα των β-αδρενεργικών υποδοχέων και ασκούν θετική ινότροπο και χρονότροπο δράση στο μυοκάρδιο [20]. Στο συμπαθητικό νευρικό σύστημα, προκαλούν αύξηση της δράσης των κατεχολαμινών και στο αιμοποιητικό σύστημα αύξηση της παραγωγής της ερυθροποιητίνης [19]. Οι θυρεοειδικές ορμόνες ασκούν δράσεις επίσης στο γαστρεντερικό, στο νευρομυϊκό, στο σκελετικό και στο αναπνευστικό σύστημα. Τα επίπεδα των θυρεοειδικών ορμονών στο αίμα είναι πολύ σημαντικά για τη φυσιολογική ανάπτυξη και ωρίμανση του εγκεφάλου των παιδιών [21].

### **1.3.5 Ρύθμιση θυρεοειδικής λειτουργίας**

Η φυσιολογική σύνθεση και η απελευθέρωση των θυρεοειδικών ορμονών στην κυκλοφορία βρίσκεται κάτω από τον έλεγχο του άξονα υποθάλαμος – υπόφυση - θυρεοειδής (Εικόνα 1.7). Η σύνθεση και έκκριση της TSH από την υπόφυση, προκαλείται από την Thyroid Releasing Hormone (TRH) η οποία εκλύεται από τον υποθάλαμο και υπόκειται σε αρνητική παλίνδρομη ρύθμιση από τις θυρεοειδικές ορμόνες και ειδικότερα από την  $T_3$ . Η διατήρηση σταθερής της έκκρισης της TSH απαιτεί συνεχή τονική διέγερση από την TRH [22].

Η λειτουργία του θυρεοειδούς εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα και την πρόσληψη ανόργανου ιωδίου από το περιβάλλον [7]. Ο θυρεοειδής αδένας διαθέτει αυτορυθμιστικούς μηχανισμούς οι οποίοι ελέγχουν την πρόσληψη ιωδίου ανεξάρτητα από την TSH. Η TSH συνδέεται σε υποδοχείς στην επιφάνεια των θυρεοειδικών κυττάρων και διεγείρει τη σύνθεση αδενυλκυκλασης c-AMP στο θυρεοειδικό κύτταρο και έτσι ρυθμίζει τη σύνθεση των θυρεοειδικών ορμονών[12].



Εικόνα 1.7 Σχηματική απεικόνιση του άξονα υποθάλαμος - υπόφυση - θυρεοειδής.

## **2. ΑΥΤΟΑΝΟΣΗ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΗ ΝΟΣΟΣ**

### **2.1 ΟΡΙΣΜΟΣ**

Η αυτοάνοση θυρεοειδική νόσος (ΑΘΝ) είναι η πιο συχνή οργανοειδική αυτοάνοση διαταραχή στον οργανισμό. Εμφανίζεται ως μεμονωμένη εκδήλωση ή στα πλαίσια αυτοάνοσων πολυαδενικών συνδρόμων. Περιλαμβάνει στενά συνδεδεμένα μεταξύ τους σύνδρομα, τη νόσο Graves' (GD), τη θυρεοειδίτιδα Hashimoto (HT), την ατροφική θυρεοειδίτιδα και το πρωτοπαθές μυξοίδημα. Επιπλέον στην ΑΘΝ περιλαμβάνονται και παραλλαγές αυτών των συνδρόμων όπως η σιωπηλή θυρεοειδίτιδα, η θυρεοειδίτιδα μετά τοκετό και η εστιακή θυρεοειδίτιδα [23-26]. Η ΑΘΝ χαρακτηρίζεται από την παρουσία αντιθυρεοειδικών αυτοαντισωμάτων. Τα αυτοαντισώματα αντιδρούν με τα θυρεοειδικά αντιγόνα την TG, την TPO και τον υποδοχέα της TSH (TSH-R). Τα θυρεοειδικά αυτοαντιγόνα αναγνωρίζονται από τα αυτοαντισώματα και τα αυτοδραστικά T-λεμφοκύτταρα. Οι παθήσεις αυτές έχουν κοινά παθολογοανατομικά χαρακτηριστικά, κοινούς ανοσολογικούς μηχανισμούς και στο ίδιο άτομο είναι δυνατή η μετάπτωση από το ένα σύνδρομο στο άλλο. Η ΑΘΝ παρουσιάζει αυξημένη επίπτωση στις γυναίκες και στα μέλη της ίδιας οικογένειας. Στην αιτιοπαθογένεια της νόσου εμπλέκονται γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες [27, 28].

### **2.2 ΑΙΤΙΟΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ**

#### **2.2.1 Γενετικό υπόβαθρο**

Το γενετικό υπόβαθρο συμβάλλει στην εμφάνιση της ΑΘΝ σε ποσοστό 70% [27]. Ειδικότερα, σε μελέτες διδύμων φάνηκε ότι οι γονιδιακοί παράγοντες συνεισφέρουν κατά 79% στην εμφάνιση της GD και κατά 73% στην ανάπτυξη

anti-TPO και anti-TG αντισωμάτων [26]. Στην παθογένεια της ΑΘΝ συμμετέχουν πολυμορφισμοί οι οποίοι εντοπίζονται σε γονίδια που εμπλέκονται στην ανοσολογική αντίδραση και σε γονίδια ειδικά για τον θυρεοειδή [25-27]. Γονίδια ειδικά για τον θυρεοειδή είναι το γονίδιο της θυρεοσφαιρίνης και το γονίδιο του υποδοχέα της TSH (TSH-R) [25-27]. Σημειακές μεταλλάξεις στα εσόνια του γονιδίου του TSH-R συσχετίζονται με την εμφάνιση της GD. Οι λειτουργικές συνέπειες αυτών των μεταλλάξεων δεν είναι πλήρως γνωστές [27, 29]. Στο γονίδιο της θυρεοσφαιρίνης εντοπίζονται πολλές σημειακές μεταλλάξεις οι οποίες συσχετίζονται και με την GD και την HT. Υπάρχουν φυλετικές διαφορές στον εντοπισμό των μεταλλάξεων αυτών (εξόνια σε Καυκάσιους, εσόνια σε Ιάπωνες) [27, 30].

Τα γονίδια που σχετίζονται με την ανοσολογική αντίδραση δεν θεωρούνται ειδικά για την ΑΘΝ καθώς σχετίζονται με την εμφάνιση και άλλων αυτοάνοσων παθήσεων. Τα γονίδια του HLA τάξης II, το CTLA4, και το PTPN22 θεωρούνται γνωστοί παράγοντες κινδύνου για την ανάπτυξη ΑΘΝ. Μεταλλάξεις των παραπάνω γονιδίων εμπλέκονται στην διαδικασία αντιγονοπαρουσίασης των αυτοαντιγόνων από τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα στα T λεμφοκύτταρα [27, 30]. Ειδικότερα, η σημειακή μετάλλαξη που οδηγεί στην παραγωγή της HLA-DRb-Arg74 είναι στενά συνδεδεμένη με την επίπτωση της GD και φαίνεται να δρα συνεργικά με τη σημειακή μετάλλαξη στο εξόνιο 33 του γονιδίου της θυρεοσφαιρίνης [27, 31]. Πολυμορφισμοί στο CTLA4 σχετίζονται με την εμφάνιση της GD, ενώ σημειακές μεταλλάξεις στο PTPN22 συνδέονται και με την GD αλλά και την HT [26, 30].

Επιπλέον έχει βρεθεί συσχέτιση της ΑΘΝ και με μεταλλάξεις των γονιδίων HLA τάξης I. Σε Καυκάσιους πληθυσμούς, πολυμορφισμοί στη γονιδιακή θέση HLA-C παρουσιάζουν πιο ισχυρή συσχέτιση με την GD συγκρινόμενοι με τους πολυμορφισμούς HLA-DRB1, HLA-DQA1 και HLA-DQB1 [27, 32]. Συγκεκριμένα ο πολυμορφισμός HLA-C\*07 φαίνεται ότι προδιαθέτει σε GD, ενώ οι πολυμορφισμοί HLA-C\*03 και HLA-C\*16 δρουν

προστατευτικά [32]. Σε πληθυσμό Κινέζων, πολυμορφισμοί στη γονιδιακή θέση HLA-B φαίνεται να δρουν ως παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη HT [33].

Στα γονίδια που σχετίζονται με την ανοσολογική αντίδραση ανήκουν επίσης και τα γονίδια CD40, FCRL3, IL2RA και FOXP3. Μελέτες σε Καυκάσιους και Κορεάτες αναφέρουν ότι σημειακή μετάλλαξη στην ακολουθία Kozak του γονιδίου CD40 σχετίζεται με την GD [30]. Πολυμορφισμοί στο γονίδιο FCRL3 φαίνεται ότι προδιαθέτουν για αρκετές αυτοάνοσες παθήσεις συμπεριλαμβανομένης και της GD κυρίως σε Καυκάσιους και Κινέζους [34]. Τα γονίδια IL2RA και FOXP3 εμπλέκονται στην ανοσολογική ανοχή και οι πολυμορφισμοί τους συσχετίζονται την ανάπτυξη της GD [27, 35]. Οι πολυμορφισμοί στο γονίδιο FOXP3 ανιχνεύονται συνήθως σε άτομα κάτω των 30 ετών. Επίσης ο εντοπισμός του FOXP3 στο X χρωμόσωμα πιθανόν να συμβάλλει στην αυξημένη επίπτωση της ΑΘΝ στο γυναικείο φύλο [27, 36].

### **2.2.2 Περιβαλλοντικοί παράγοντες**

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες συμβάλλουν σε ποσοστό περίπου 30% στην εμφάνιση της ΑΘΝ. Οι παράγοντες αυτοί είναι τα υψηλά επίπεδα ιωδίου και η ένδεια σεληνίου, το κάπνισμα, το στρες, οι λοιμώξεις, φάρμακα, η κατανάλωση αλκοόλ και τα χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D [26-28].

Το ιώδιο είναι απαραίτητο ιχνοστοιχείο για τη λειτουργία του θυρεοειδούς αδένου. Είναι γνωστό ότι η ιωδίωση της θυρεοσφαιρίνης αυξάνει την αντιγονικότητά της. Επίσης ο βαθμός ιωδίωσης της θυρεοσφαιρίνης δηλώνει την έκταση της ανοσιακής αντίδρασής της. Ο υποθυρεοειδισμός εμφανίζεται συχνότερα σε μη-ιωδιοπενικές περιοχές ενώ αντίθετα ο υπερθυρεοειδισμός σε ιωδιοπενικές περιοχές. Υπερβολική πρόσληψη ιωδίου ενδέχεται, στις μεν ιωδιοπενικές περιοχές να αποκαλύψει λανθάνουσα GD ενώ στις περιοχές με επάρκεια ιωδίου να μετατρέψει μια ήπια υπάρχουσα HT σε υποθυρεοειδισμό [27, 28]. Οι πιο πρόσφατες μελέτες υποστηρίζουν ότι σε περιοχές με επάρκεια ιωδίου παρατηρείται αύξηση των ατόμων με θετικά θυρεοειδικά αντισώματα

(anti-TPO, anti-TG) καθώς και του αυτοάνοσου υποθυρεοειδισμού σε σύγκριση με ιωδιοπενικές περιοχές [37].

Το κάπνισμα είναι γνωστό ότι συνιστά παράγοντα κινδύνου για την εμφάνιση της GD. Οι καπνιστές με GD παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης υπερθυρεοειδισμού και οφθαλμοπάθειας. Το κάπνισμα επηρεάζει την ανταπόκριση στην θεραπεία και συμβάλλει στην υποτροπή της GD. Σημαντικό ρόλο διαδραματίζει ο αριθμός των τσιγάρων/ημέρα και η διάρκεια του καπνίσματος. Η επίδραση του καπνίσματος στη GD είναι πιο έντονη στις γυναίκες και μειώνεται σημαντικά μερικά χρόνια μετά τη διακοπή του [28, 38]. Το κάπνισμα φαίνεται να προστατεύει από την HT και τον αυτοάνοσο υποθυρεοειδισμό, μειώνοντας τον κίνδυνο ανάπτυξης αντιθυρεοειδικών αντισωμάτων (anti-TPO, anti-TG). Η προστατευτική αυτή επίδραση είναι δοσοεξαρτώμενη και εξαφανίζεται λίγα χρόνια μετά τη διακοπή του καπνίσματος. Η διαφορά αυτή στην επίδραση του καπνίσματος στις δύο νόσους δεν είναι πλήρως κατανοητή [28, 39].

Αναδρομικές μελέτες έχουν συσχετίσει το στρες με την εμφάνιση της GD. Οι ασθενείς με GD συνήθως αναφέρουν έντονα στρεσογόνα βιώματα πριν την έναρξη της νόσου [28]. Η επίδραση του στρες στην ανάπτυξη της HT έχει μελετηθεί ελάχιστα. Με βάση τα μέχρι τώρα δεδομένα δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ στρες και της de novo εμφάνισης anti-TPO ή της ανάπτυξης αυτοάνοσου υποθυρεοειδισμού [28, 40].

Στην παθογένεια της ΑΘΝ εμπλέκονται οι λοιμώξεις που προκαλούνται από *Yersinia enterocolitica* (YE), ιό της ηπατίτιδας C (HCV) και εντεροϊό [27]. Η λοίμωξη από YE έχει μελετηθεί σε σχέση με την εμφάνιση της GD. Η YE έχει ειδικές θέσεις σύνδεσης για την TSH, οι οποίες αναγνωρίζονται από τα αντισώματα του υποδοχέα TSH που απομονώνονται από ασθενείς με GD. Αντιστρόφως, ανοσοποίηση ποντικών με YE οδηγεί στην επαγωγή αντισωμάτων έναντι του υποδοχέα TSH. Επίσης η πρωτεΐνη της εξωτερικής μεμβράνης της YE (YOP) αλληλεπιδρά με τον υποδοχέα της TSH. Τελικά οι μελέτες δεν κατάφεραν να αναδείξουν συσχέτιση της λοίμωξης από YE με την παθογένεια της ΑΘΝ



[28]. Η λοίμωξη από HCV σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης ΑΘΝ. Ο HCV προσβάλλει τα θυρεοειδικά κύτταρα με αποτέλεσμα την παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών, οι οποίες ενισχύουν την αυτοάνοση απάντηση [41]. Σε παιδιά που πάσχουν από HCV και δεν έχουν λάβει θεραπεία ανιχνεύονται συχνότερα θετικά θυρεοειδικά αντισώματα σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Οι εντεροϊοί ανιχνεύονται στον θυρεοειδικό ιστό ορισμένων ασθενών με ΗΤ, ο ρόλος τους όμως στην θυρεοειδική αυτοανοσία παραμένει άγνωστος [27].

Η θεραπεία με ιντερφερόνη-α σε γυναίκες με θετικά anti-TPO συχνά οδηγεί σε ΗΤ και σπανιότερα σε GD [42]. Η θεραπεία με alemtuzumab (anti-CD52 MAB) ή η υψηλής δραστηριότητας αντιρετροϊκή θεραπεία (HAART) επάγει το σύνδρομο ανοσολογικής ανασύστασης, κατά τη διάρκεια του οποίου συχνά εκδηλώνεται υπερθυρεοειδισμός και σπανιότερα υποθυρεοειδισμός [43]. Γυναίκες με GD που έλαβαν οιστρογόνα είχαν χαμηλότερα επίπεδα αντιθυρεοειδικών αντισωμάτων (anti-TG<anti-TPO) και σπανιότερα εκδήλωναν υπερθυρεοειδισμό [28].

Ο θυρεοειδής αδένας είναι ο ιστός με την υψηλότερη περιεκτικότητα σε σελήνιο. Το σελήνιο βρίσκεται στις σεληνοπρωτεΐνες (αποϊωδιονάσες της ιωδοθυρονίνης, υπεροξειδάσες της γλουταθειόνης, αναγωγάσες της θειορεδοξίνης). Οι σεληνοπρωτεΐνες συμμετέχουν στον μεταβολισμό της θυροξίνης, στην οξειδωτική ισορροπία και έχουν αντιοξειδωτική δράση. Το ένζυμο GPx3 (Glyceraldehyde3-phosphate) προστατεύει τα θυρεοειδικά κύτταρα από την οξειδωτική δράση του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [27, 28]. Έχει βρεθεί ότι η χορήγηση συμπληρωμάτων σεληνίου σε άτομα με ΑΘΝ μειώνει τα επίπεδα των anti-TPO μετά από 6 μήνες θεραπείας [44]. Το φαινόμενο αυτό είναι πιο έντονο σε περιοχές με ανεπάρκεια ιωδίου. Η χορήγηση συμπληρωμάτων σεληνίου σε περιοχές με οριακά χαμηλό σελήνιο βρέθηκε ότι συμβάλλει στην πρόληψη της προόδου της ήπιας οφθαλμοπάθειας GD και της ανάπτυξης αντιθυρεοειδικών αντισωμάτων (anti-TPO) μετά τον τοκετό [45, 46]. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι ανάγκες κάθε ατόμου σε σελήνιο διαφέρουν και αυτό πιθανόν να οφείλεται σε

πολυμορφισμούς στα γονίδια κωδικοποίησης των σεληνοπρωτεϊνών. Οι υπάρχουσες μελέτες δεν τεκμηριώνουν το ευεργετικό αποτέλεσμα της συμπληρωματική χορήγησης σεληνίου στους ασθενείς με ΑΘΝ [28].

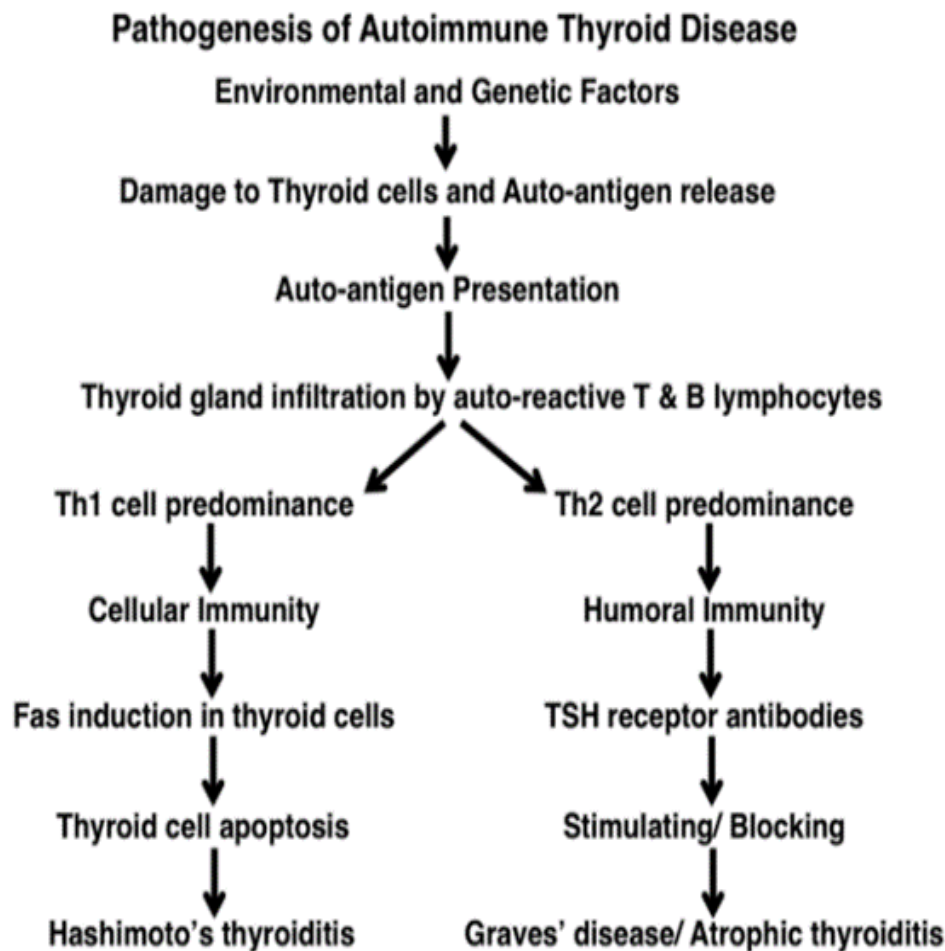
Τα τελευταία χρόνια μελετάται ο ρόλος του αλκοόλ και των επιπέδων της βιταμίνης D στην αυτοανοσία. Η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ έχει συσχετισθεί με μειωμένο κίνδυνο ανάπτυξης υπερθυρεοειδισμού στην GD. Η προστατευτική αυτή επίδραση του αλκοόλ εμφανίζεται και σε άλλες αυτοάνοσες παθήσεις, χωρίς να είναι ξεκάθαρος ο μηχανισμός δράσης του [47]. Τα χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D θεωρούνται παράγοντας κινδύνου για διάφορες αυτοάνοσες παθήσεις. Όσον αφορά την ΑΘΝ τα ευρήματα είναι αντιφατικά. Έχει βρεθεί ότι ασθενείς με ΑΘΝ έχουν χαμηλότερα επίπεδα βιταμίνης D σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Οι ασθενείς με GD ή HT είναι πιο πιθανό να έχουν ανεπάρκεια βιταμίνης D (<10 ng/mL) [48]. Σε μια μεγάλη πληθυσμιακή μελέτη προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες με θετικά anti-TPO είχαν χαμηλότερα επίπεδα βιταμίνης D σε σύγκριση με γυναίκες ίδιας ηλικίας με αρνητικά anti-TPO. Αντίθετα στην ίδια μελέτη τα επίπεδα βιταμίνης D των μετεμμηνόπαυσιων γυναικών και των ανδρών με θετικά αντισώματα δεν διέφεραν από την ομάδα ελέγχου [49]. Τα παραπάνω ευρήματα δεν επιβεβαιώνονται από προοπτικές μελέτες [50]. Δεν υπάρχουν μελέτες αξιολόγησης της επίδρασης της συμπληρωματικής αγωγής με βιταμίνη D στην θυρεοειδική αυτοανοσία και δεν έχει γίνει συσχέτιση των πολυμορφισμών του γονιδίου VDR με την ΑΘΝ [51].

### **2.2.3 Παθογένεια θυρεοειδικής αυτοανοσίας**

Η ΑΘΝ χαρακτηρίζεται από τη διαφυγή των κυττάρων του ανοσολογικού συστήματος από τους μηχανισμούς ανοσολογικής ανοχής και τη διέγερσή τους κατά των θυρεοειδικών αντιγόνων, την TG, την TPO και τον υποδοχέα της TSH (TSH-R). Το ανοσοποιητικό σύστημα αναγνωρίζει τα θυρεοειδικά κύτταρα ως ξένα και παράγονται αντισώματα εναντίον των θυρεοειδικών κυττάρων με αποτέλεσμα τη σταδιακή καταστροφή τους. Η διαδικασία αυτή βρίσκεται υπό την επίδραση γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων [23-28].

Στα αρχικά στάδια της θυρεοειδικής αυτοανοσίας, τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (APC) εισβάλλουν στον θυρεοειδή αδένα μετά από καταστροφή θυρεοειδικών κυττάρων και απελευθέρωση θυρεοειδικών αντιγόνων και παρουσιάζουν τα θυρεοειδικά αυτοαντιγόνα στα Th-λεμφοκύτταρα των επιχώριων λεμφαδένων. Η διαδικασία της αντιγονοπαρουσίασης περιλαμβάνει την πρόσδεση του αντιγόνου σε μόρια του μείζονος συστήματος ιστοσυμβατότητας (MHC) I και II που βρίσκονται στην επιφάνεια των APC και έπειτα την παρουσίασή του σε υποδοχείς των Th-λεμφοκυττάρων συνοδεία ενός σήματος B7.1 ή B7.2. Αποτέλεσμα της αντιγονοπαρουσίασης είναι η διαφοροποίηση των Th-λεμφοκυττάρων σε Th1, Th2 ή Th17 ανάλογα με το είδος του συνδιεγερτικού μορίου B7.1, B7.2, CTLA-4 και των κυτταροκινών που δέχονται από τα APC. Τα ενεργοποιημένα Th λεμφοκύτταρα που διέφυγαν της ανοσολογικής ανοχής διηθούν το θυρεοειδικό παρέγχυμα και εκκρίνουν τοπικά τις αντίστοιχες κυτταροκίνες [23-27].

Η διήθηση του θυρεοειδούς από Th1 ή Th17 λεμφοκύτταρα συνοδεύεται από την έκκριση προφλεγμονωδών Th1 κυτταροκινών, όπως TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  και IL-2. Η παρουσία αυτών των κυτταροκινών επάγει τον μηχανισμό απόπτωσης στα θυρεοειδικά κύτταρα με αποτέλεσμα την προοδευτική καταστροφή του παρεγχύματος και ο ασθενής εμφανίζει HT. Ωστόσο, όταν ο θυρεοειδής διηθείται από Th2 λεμφοκύτταρα παράγονται κυρίως αντιφλεγμονώδεις Th2 κυτταροκίνες, όπως IL-4, IL-5, IL-10. Η παρουσία αυτών των κυτταροκινών ευνοεί τη διέγερση της χυμικής ανοσίας και την έκκριση αυτοαντισωμάτων από τα B-λεμφοκύτταρα. Επίσης, οι Th2 κυτταροκίνες μεταβάλλουν την έκφραση του MHC-II, ενισχύοντας την παρουσίαση αυτοαντιγόνων, όπως ο TSH-R και την παραγωγή αυτοαντισωμάτων (anti-TSHR). Τα anti-TSHR μπορεί να είναι είτε διεγερτικά είτε ανασταλτικά. Στην πρώτη περίπτωση προκαλούν υπερπλασία και υπερλειτουργία των θυρεοειδικών κυττάρων, η οποία εκφράζεται κλινικά με τη GD, ενώ στην δεύτερη περίπτωση η κλινική έκβαση είναι η ατροφική θυρεοειδίτιδα (Εικόνα 2.1) [23-27].



Εικόνα 2.1 Διάγραμμα απεικόνισης της αιτιοπαθογένειας της αυτόνοσης θυρεοειδικής νόσου.

(Πηγή: Dong YH, Fu DG. Autoimmune thyroid disease: mechanism, genetics and current knowledge. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2014)

## 2.3 ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΑ ΑΥΤΟΑΝΤΙΣΩΜΑΤΑ

### 2.3.1 Αντισώματα έναντι της θυρεοσφαιρίνης

Τα αντισώματα έναντι της θυρεοσφαιρίνης (anti-TG) βρίσκονται σε ψηλά επίπεδα τον όρο ασθενών με ΑΘΝ. Ανιχνεύονται σε ποσοστό >90% στον ορό ασθενών με ΗΤ και σε 40-70% των ασθενών με GD [25, 27]. Επίσης βρίσκονται

περίπου στο 20% ευθυρεοειδικών ατόμων στον γενικό πληθυσμό [25, 52]. Η παρουσία των anti-TG στην εγκυμοσύνη σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο αποβολής και εμφάνισης θυρεοειδίτιδας μετά τον τοκετό [53]. Τα anti-TG είναι IgG ανοσοσφαιρίνες, χωρίς να ανήκουν σε συγκεκριμένη υπόταξη. Στην HT ανευρίσκονται κυρίως IgG1 (30%) και IgG2 (40%), ενώ στη GD κυρίως IgG4 (60%) [54].

### **2.3.2 Αντισώματα έναντι της θυρεοειδικής υπεροξειδάσης**

Τα αντισώματα έναντι της θυρεοειδικής υπεροξειδάσης (anti-TPO) είναι από τα πρώτα θυρεοειδικά αντισώματα που ανιχνεύθηκαν και η παρουσία τους στο πλάσμα επιβεβαιώνει την ΑΘΝ. Ανιχνεύονται σχεδόν σε όλους τους ασθενείς με HT και στο 70% ασθενών με GD [25, 27]. Αυξημένα επίπεδα anti-TPO εμφανίζονται στο 12-26% των υγιών ενήλικων γυναικών και στο 6-14% των υγιών ανδρών. Η επίπτωση θετικών anti-TPO αυξάνει με την ηλικία ανεξαρτήτως φύλου [52]. Τα anti-TPO είναι κυρίως τάξης IgG και ανήκουν στις υποτάξεις IgG1 και IgG4 [55].

Τα anti-TPO ενεργοποιούν την *in vitro* πρόσδεση του συμπληρώματος και τα επίπεδα τους συσχετίζονται με την ενεργό φάση της νόσου. Προσβάλλουν τα θυρεοειδικά κύτταρα μέσω του κυτταροτοξικού μηχανισμού των κυττάρων NK (natural killer) [55]. Επίσης υπάρχει συσχέτιση μεταξύ του τίτλου των anti-TPO και της λεμφοκυτταρικής διήθησης του θυρεοειδούς αδένος. Η έναρξη θεραπείας οδηγεί σε μείωση των τίτλων των anti-TPO κατά 20% στους ασθενείς με ΑΘΝ. Η παρουσία anti-TPO σε ευθυρεοειδικά άτομα οδηγεί στην εξέλιξη σε κλινικό υποθυρεοειδισμό με ρυθμό 2.5% τον χρόνο [55]. Η παρουσία anti-TPO σε εγκυμονούσες αποτελεί παράγοντα κινδύνου εκδήλωσης θυρεοειδίτιδας μετά τοκετό και αποβολής [53, 55].

### **2.3.3 Αντισώματα έναντι του υποδοχέα της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης**

Τα αντισώματα έναντι του υποδοχέα της TSH διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες: (1) Τα αντισώματα που συνδέονται με τον υποδοχέα της TSH (TRAb ή TBII), τα οποία προσδιορίζονται με ραδιοανοσολογική μέθοδο και

ανιχνεύονται στο 75-90% των ασθενών με GD. (2) Τα αντισώματα που διεγείρουν τον υποδοχέα της TSH (θυρεοδιεγερτικά αντισώματα, TSAb), τα οποία προσδιορίζονται με βιοδοκιμασία. Προκαλούν αύξηση της έκκρισης c-AMP ή της πρόσληψης ραδιενεργού ιωδίου από τα θυροειδικά κύτταρα και οδηγούν στην πρόκληση υπερθυροειδισμού. Ανιχνεύονται σε ποσοστό 90-100% σε ασθενείς με GD. (3) Τα αντισώματα που αναστέλλουν τον υποδοχέα της TSH (θυρεοανασταλτικά αντισώματα, TBAb), τα οποία επίσης προσδιορίζονται με βιοδοκιμασία. Προκαλούν μείωση της έκκρισης c-AMP και της πρόσληψης ραδιενεργού ιωδίου από τα θυροειδικά κύτταρα, και είναι υπεύθυνα για την εμφάνιση υποθυροειδισμού (ατροφική θυροειδίτιδα, πρωτοπαθές μυξοίδημα) [56].

#### **2.3.4 Αντισώματα έναντι του συµμεταφορέα νατρίου/ιωδίου**

Αντισώματα κατά του συµμεταφορέα  $\text{Na}^+/\text{I}^-$  ανιχνεύονται σε ποσοστό 24% σε ασθενείς με θυροειδίτιδα Hashimoto, σε ποσοστό 22% με νόσο Graves', ενώ δεν ανιχνεύονται σε υγιή άτομα ούτε σε ασθενείς με άλλα αυτοάνοσα νοσήματα [57]. Τα αντισώματα κατά του συµμεταφορέα  $\text{Na}^+/\text{I}^-$  δεν φαίνεται να επηρεάζουν την πρόσληψη ιωδίου από τα θυροειδικά κύτταρα, αλλά πιθανόν να εμπλέκονται στους µηχανισµούς πρόκλησης αυτοάνοσων νοσηµάτων του θυροειδούς αδένου.

### **3. ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑ HASHIMOTO**

#### **3.1 ΟΡΙΣΜΟΣ**

Η πρώτη αναφορά στην θυρεοειδίτιδα Hashimoto έγινε το 1912 στην Ιαπωνία από τον Hakaru Hashimoto [58]. Η θυρεοειδίτιδα Hashimoto (αυτοάνοση ή χρόνια λεμφοκυτταρική θυρεοειδίτιδα) είναι η συχνότερη αυτοάνοση πάθηση του θυρεοειδούς αδένου. Αποτελεί την πιο συχνή αιτία υποθυρεοειδισμού στον γενικό πληθυσμό [59]. Προσβάλλει άτομα κάθε ηλικίας αλλά εμφανίζει αυξημένη επίπτωση στις γυναίκες (7 φορές περισσότερο από ότι στους άνδρες) και είναι πιο συχνή στην μέση ηλικία [52, 59]. Χαρακτηρίζεται από προοδευτική αντικατάσταση του υγιούς παρεγχύματος του θυρεοειδούς αδένου από λεμφοκύτταρα και ινώδη ιστό. Στον ορό των ασθενών ανιχνεύονται αντιθυρεοσφαιρινικά αντισώματα (anti-Tg) και αντισώματα έναντι της θυρεοειδικής υπεροξειδάσης (anti-TPO) [60]. Οι παράγοντες οι οποίοι συμβάλλουν στην εμφάνιση της HT είναι γενετικοί και περιβαλλοντικοί και αναφέρονται αναλυτικά στο 2.2, στα πλαίσια της αιτιοπαθογένειας της ΑΘΝ.

Η HT είναι μια χρόνια νόσος η οποία συνήθως εξελίσσεται με βραδύ ρυθμό και στα αρχικά στάδια είναι ασυμπτωματική. Στην HT παρατηρείται σταδιακή απώλεια της λειτουργικότητας του θυρεοειδούς αδένου με συνέπεια οι ασθενείς να αναπτύσσουν υποθυρεοειδισμό [60, 61]. Συχνά ο αδένου διογκώνεται και δημιουργείται βρογχοκήλη. Η διόγκωση του αδένου μπορεί να είναι εκτεταμένη να υπάρχουν πιεστικά φαινόμενα (δύσπνοια, δυσκαταποσία) και η βρογχοκήλη να είναι εμφανής [60]. Κλινικά η HT εκτός από τη βρογχοκήλη γίνεται αντιληπτή μόνο όταν αναπτυχθεί υποθυρεοειδισμός [61].

### 3.2 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ

Ο υποθυρεοειδισμός προκαλεί συμπτώματα σχεδόν από όλα τα συστήματα του οργανισμού, η ένταση των οποίων εξαρτάται από τη βαρύτητα του υποθυρεοειδισμού. Παρατηρείται ελάττωση της εφίδρωσης και η επιδερμίδα είναι ατροφική και παρουσιάζει υπερκεράτωση [60]. Σε βαρύ υποθυρεοειδισμό εμφανίζεται κίτρινη χροιά του δέρματος λόγω αυξημένης εναπόθεσης καροτίνης. Το δέρμα είναι κρύο, τραχύ, ωχροό και οιδηματώδες λόγω της αυξημένης διαπερατότητας των τριχοειδών, της αγγειοσύσπασης, της κατακράτησης ύδατος και της διήθησης του χορίου από βλεννοπολυσαχαρίτες χωρίς να αφήνει εντύπωμα κατά την πίεση. Το οίδημα είναι εμφανές στα βλέφαρα, στο πρόσωπο, στη ραχιαία επιφάνεια της άκρας χειρός, στην πηχεοκαρπική άρθρωση και στους υπερκλείδιους βόθρους. Διήθηση από βλεννοπολυσακχαρίτες εντοπίζεται επίσης και στους βλεννογόνους με αποτέλεσμα μεγάλη και οιδηματώδη γλώσσα, βραχνή φωνή και βαρηκοΐα [62]. Συνυπάρχει τριχόπτωση, τα μαλλιά είναι ξηρά και τα νύχια είναι εύθρυπτα. Υπάρχει χαρακτηριστική τριχόπτωση στην άκρη των φρυδιών και στο τριχωτό της κεφαλής (Queen Anne sign) [60, 62].

Οι ασθενείς με έκδηλο υποθυρεοειδισμό παρουσιάζουν συχνά χρόνια κόπωση, βραδυψυχισμό, νωθρότητα αντιδράσεων, έλλειψη ψυχικής διάθεσης και κατάθλιψη [60]. Επιπλέον διαμαρτύρονται για έλλειψη συγκέντρωσης, διαταραχές μνήμης, υπνηλία, κεφαλαλγίες και μείωση της ακοής. Στο ηλεκτροεγκεφαλογράφημα είναι πιθανή η απώλεια του ρυθμού Α [60, 63]. Σε περιπτώσεις με πολύ βαρύ υποθυρεοειδισμό παρατηρείται καταστολή των εγκεφαλικών λειτουργιών και εμφανίζονται ψυχικές και νευρολογικές διαταραχές με αποκορύφωμα την εκδήλωση επιθετικότητας, η οποία αναφέρεται ως «μυξοιδηματική παράνοια» [60, 63].

Οι υποθυρεοειδικοί ασθενείς διαμαρτύρονται πολύ συχνά για αυτόματες μυϊκές κράμπες, μυϊκή αδυναμία, παραισθησίες και αρθραλγίες. Παρατηρείται βραδύτητα σύσπασης και χάλασης κυρίως των εγγύς μυών των κάτω άκρων και δυσκαμψία κατά την άσκηση [60, 64]. Συχνό εύρημα αποτελεί το σύνδρομο καρπιαίου σωλήνα λόγω πίεσης του μέσου νεύρου από την εναπόθεση



βλεννοπολυσακχαριτών [64]. Τα τενόντια αντανακλαστικά είναι νωθρά. Χαρακτηριστική είναι η βραδύτητα επαναφοράς του αχίλλειου αντανακλαστικού που χρησιμοποιείται κυρίως στο παρελθόν σαν σημείο διάγνωσης της νόσου.

Από το καρδιαγγειακό σύστημα πολύ συχνά εμφανίζεται βραδυκαρδία. Στο ηλεκτροκαρδιογράφημα παρατηρείται μειωμένη συχνότητα, χαμηλά δυναμικά, παράταση του QT διαστήματος και αντεστραμμένα T [60, 65, 66]. Σπανιότερα σε βαρύτερες μορφές υποθυρεοειδισμού αναπτύσσεται μεγαλοκαρδία, ελαττώνεται η συσταλτικότητα του μυοκαρδίου, μειώνεται το κλάσμα εξώθησης, ο όγκος παλμού και η κατανάλωση οξυγόνου. Επιβαρύνονται περισσότερο άτομα με συνυπάρχουσα καρδιοπάθεια [65, 66]. Δεν αποκλείεται σε εξαιρετικές περιπτώσεις να αναπτυχθεί αριστερή καρδιακή ανεπάρκεια και πνευμονικό οίδημα. Παρατηρείται διαταραχή του λιπιδαιμικού προφίλ με αύξηση των επιπέδων χοληστερίνης και πρώιμη αθηροσκλήρωση. Συχνά υπάρχει διαστολική υπέρταση η οποία συσχετίζεται με την αύξηση των περιφερικών αντιστάσεων και τη δυσλειτουργία του ενδοθηλίου [65, 66].

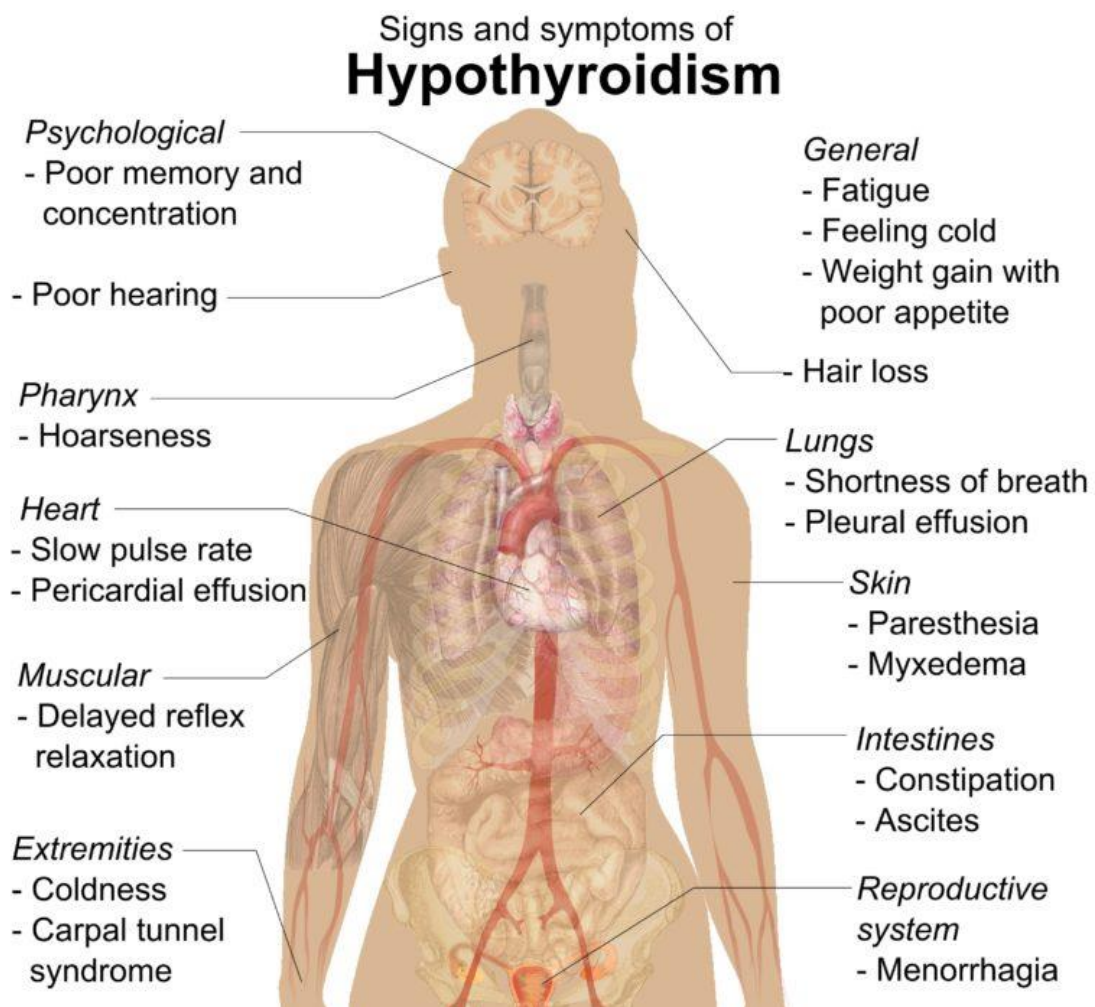
Τα ευρήματα από το αναπνευστικό σύστημα είναι συνήθως ήπια. Μερικοί ασθενείς παρουσιάζουν χρόνια ρινική συμφόρηση, μειωμένη αναπνευστική συχνότητα και επιπόλαιες αναπνοές [60, 67]. Σε βαρύ υποθυρεοειδισμό παρατηρείται υποξυγοναιμία, υπερκαπνία, και αναπνευστική ανεπάρκεια [67].

Από το γαστρεντερικό σύστημα υπάρχει δυσκοιλιότητα και μετεωρισμός που προκαλούνται λόγω μείωσης των περισταλτικών κινήσεων του εντέρου. Σε ακραίες περιπτώσεις μπορεί να εξελιχθεί σε παραλυτικό ειλεό [60, 68]. Μικρή αύξηση στο σωματικό βάρος παρατηρείται λόγω ελάττωσης του βασικού μεταβολισμού και κατακράτησης υγρών. Η κατακράτηση υγρών οφείλεται σε μειωμένη σπειραματική διήθηση. Σπανιότερα υπάρχει υπερουριχαιμία, μέτρια πρωτεϊνουρία και υπονατριαιμία [69].

Η έλλειψη των θυρεοειδικών ορμονών μειώνει τη σύνθεση της αιμοσφαιρίνης και προκαλεί δυσαπορρόφηση του φυλλικού οξέος, του σιδήρου και της βιταμίνης B12. Οι ασθενείς με υποθυρεοειδισμό εμφανίζουν συνήθως

νορμόχρωμη νορμοκυτταρική αναιμία ή υπόχρωμη μικροκυτταρική ενώ πιο σπάνια μεγαλοβλαστική αναιμία [60, 70].

Στον υποθυρεοειδισμό παρατηρείται υπογονιμότητα και στα δύο φύλα. Οι γυναίκες εμφανίζουν ανωοθυλακιορρηξία και μηνορραγίες λόγω διαταραχών στην έκκριση της LH και της FSH καθώς και στην σύνθεση των οιστρογόνων [60, 71]. Αναφέρεται αυξημένη συχνότητα αποβολών στις γυναίκες με HT οι οποίες δεν λαμβάνουν θεραπεία υποκατάστασης με θυροξίνη ευθυρεοειδικές και υποθυρεοειδικές [71, 72]. Στην εικόνα 3.1 απεικονίζονται σχηματικά τα σημεία και τα συμπτώματα του υποθυρεοειδισμού.



Εικόνα 3.1 Σχηματική απεικόνιση σημείων και συμπτωμάτων υποθυρεοειδισμού.

### 3.3 ΔΙΑΓΝΩΣΗ - ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΗΤ ΚΑΙ ΥΠΟΘΥΡΕΟΕΙΔΙΣΜΟΥ

Κατά την ψηλάφηση ο θυρεοειδής αδένας των ασθενών με ΗΤ μπορεί να είναι ελάχιστα ως πολύ διογκωμένος, υπόσκληρος και ανώμαλος. Η διάγνωση της ΗΤ είναι κυρίως εργαστηριακή. Στον ορό των περισσότερων ασθενών ανιχνεύονται αντιθυρεοειδικά αντισώματα anti-TPO και anti-Tg. Απεικονιστικά γίνεται υπερηχογράφημα στο οποίο διαπιστώνεται η χαρακτηριστική ανομοιογενής απεικόνιση του θυρεοειδικού παρεγχύματος [73].

Η εκτίμηση της θυρεοειδικής λειτουργίας γίνεται με μέτρηση των θυρεοειδικών ορμονών (TSH, FT<sub>4</sub>) στον ορό. Οι ασθενείς μπορεί να είναι ευθυρεοειδικοί, να έχουν υποκλινικό ή κλινικό υποθυρεοειδισμό. Όταν η ΗΤ επιφέρει υποθυρεοειδισμό, αυτός συνήθως είναι μόνιμος και συνεπώς χρειάζεται ισόβια αγωγή υποκατάστασης με θυροξίνη.

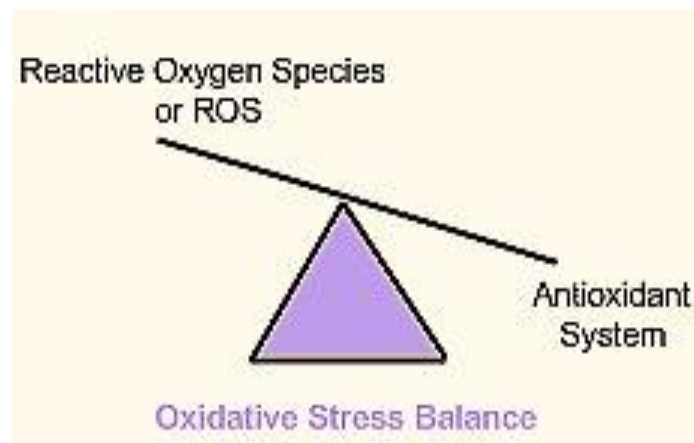
Θεραπεία εκλογής για τη διόρθωση του υποθυρεοειδισμού είναι η συνθετική θυροξίνη. Η μέση δόση υποκατάστασης με θυροξίνη στους ενήλικες είναι 1.6 mcg/kg βάρους σώματος την ημέρα, ενώ στα παιδιά απαιτείται μεγαλύτερη δόση [74]. Η θυροξίνη έχει χρόνο ημίσειας ζωής 7 μέρες και περίπου το 60-80% της χορηγούμενης δόσης απορροφάται από τον οργανισμό. Λαμβάνεται μια φορά την ημέρα με άδειο στομάχι, ιδανικά μια ώρα πριν από το πρωινό [75].

Είναι αποδεκτό ότι έναρξη θεραπείας γίνεται σε ασθενείς με επίπεδα TSH>10 mIU/l. Τιμές TSH μεταξύ 4.5-10 mIU/l ορίζουν τον υποκλινικό υποθυρεοειδισμό και συνιστάται τακτική παρακολούθηση των ασθενών [76, 77]. Σε άτομα με υποκλινικό υποθυρεοειδισμό, τα οποία εμφανίζουν κλινικά συμπτώματα υποθυρεοειδισμού, βρογχοκήλη ή πολύ υψηλούς τίτλους anti-TPO (τα οποία υποδηλώνουν γρήγορη εξέλιξη της νόσου) γίνεται έναρξη χορήγησης θυροξίνης [77]. Επίσης στην περίπτωση των γυναικών οι οποίες βρίσκονται σε εγκυμοσύνη ή επιθυμούν να κυοφορήσουν συνιστάται έναρξη θεραπείας με θυροξίνη και τακτική παρακολούθηση των επιπέδων των θυρεοειδικών ορμονών [78].

## 4. ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ

### 4.1 ΟΡΙΣΜΟΣ

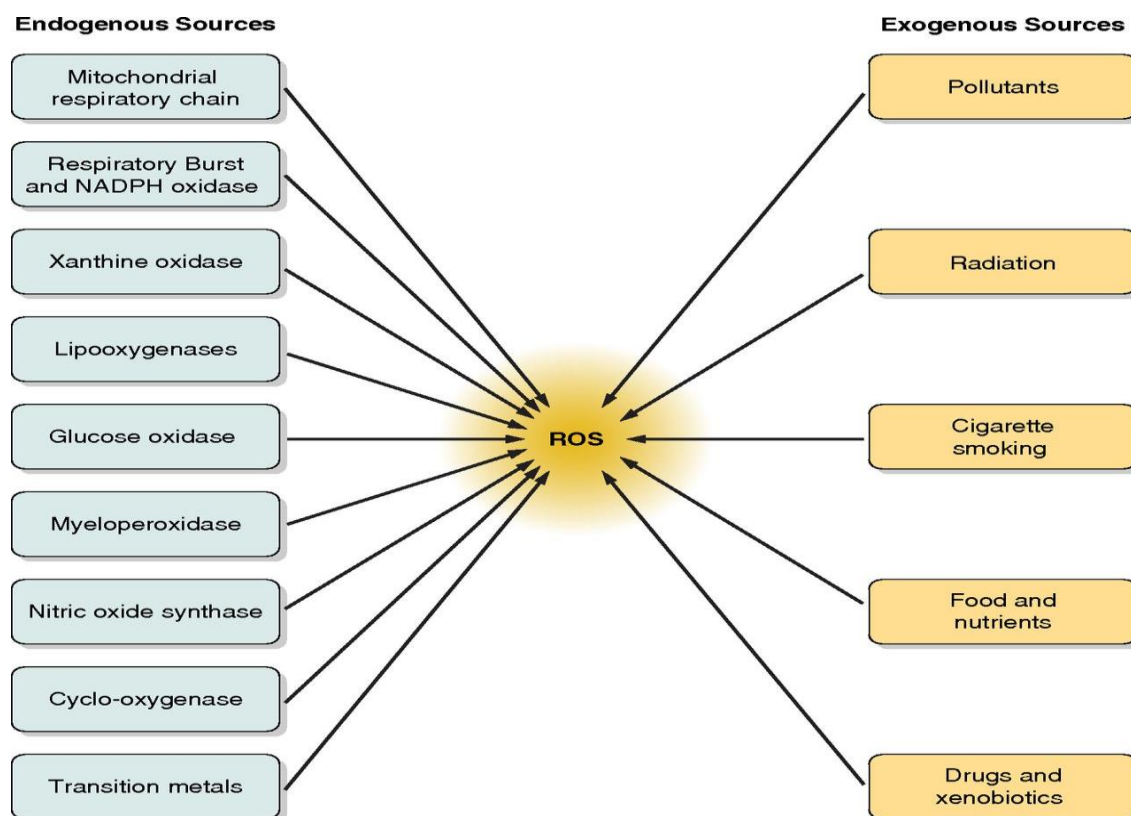
Η διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ της ενδογενούς παραγωγής δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species - ROS) και της αποτελεσματικότητας των αντιοξειδωτικών μηχανισμών στον οργανισμό ορίζεται ως οξειδωτικό στρες (Εικόνα 4.1) [79, 80]. Η ανατροπή της ισορροπίας μπορεί να γίνει μέσω της υπέρμετρης παραγωγής ROS ή/και της ανεπαρκούς απομάκρυνσης τους από τον οργανισμό. Το οξειδωτικό στρες έχει συσχετιστεί με τη φυσιολογική διαδικασία της γήρανσης [79-81]. Έχει επίσης ενοχοποιηθεί για την εμφάνιση πληθώρας παθολογικών καταστάσεων όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, τα καρδιαγγειακά νοσήματα, οι βλάβες που οφείλονται σε ισχαιμία και επαναιμάτωση, τα κακοήθη νεοπλάσματα, οι νευροεκφυλιστικές παθήσεις (νόσος Alzheimer, νόσος Parkinson) και η ρευματοειδής αρθρίτιδα [79-88].



*Εικόνα 4.1 Σχηματική απεικόνιση της διαταραχής της ισορροπίας μεταξύ των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) και των αντιοξειδωτικών.*

## 4.2 ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΕΣ ΟΞΥΓΟΝΟΥ

Οι ROS είναι χημικά δραστικά μόρια τα οποία σχηματίζονται από τη μερική αναγωγή του οξυγόνου [79, 80]. Στις ROS ανήκουν μόρια τα οποία περιέχουν ελεύθερες ρίζες όπως το ανιόν υπεροξειδίου ( $O_2^{\cdot -}$ ), η ρίζα υδροξυλίου ( $HO^{\cdot}$ ) και τα υπεροξείδια λιπιδίων (λιποϋπεροξεική ρίζα,  $LOO^{\cdot -}$ ). Επίσης συμπεριλαμβάνονται και μόρια τα οποία δεν περιέχουν ελεύθερες ρίζες όπως το υπεροξείδιο του υδρογόνου ( $H_2O_2$ ), το μονήρες οξυγόνο (singlet oxygen,  $^1O_2$ ), το υποχλωριώδες οξύ ( $HOCl$ ), οι χλωραμίνες ( $RNHCl$ ) και το όζον ( $O_3$ ) [79, 80, 89]. Οι ROS στον οργανισμό προέρχονται από ενδογενείς και εξωγενείς πηγές (Εικόνα 4.2).



Εικόνα 4.2 Ενδογενείς και εξωγενείς πηγές ROS στον οργανισμό.

(Πηγή: Bhattacharyya A et al. *Physiol Rev.* 2014)

Οι ROS αποτελούν προϊόντα του φυσιολογικού κυτταρικού μεταβολισμού. Σχηματίζονται κατά την κυτταρική αναπνοή, τη μιτοχονδριακή οξειδωτική φωσφορυλίωση και κατά την κατάλυση χημικών αντιδράσεων από ένζυμα, όπως η NADPH οξειδάση, η οξειδάση της ξανθίνης, η λιποξυγενάση, η οξειδάση της γλυκόζης, η μυελοπεροξειδάση, η κυκλοξυγενάση κ.α. [79, 80, 90]. Χαμηλές συγκεντρώσεις ROS είναι απαραίτητες για την ανάπτυξη των ιστών, τη μίτωση και την άμυνα του οργανισμού [79, 80, 91]. Αντίθετα, υψηλές συγκεντρώσεις ROS προκαλούν υπεροξειδωση των λιπιδίων, αλλοίωση στην δομή των πρωτεϊνών (γλυκοζυλίωση, νίτρωση, διάσπαση πεπτιδικών δεσμών κ.α.) και οξειδωτικές βλάβες στα νουκλεϊνικά οξέα [92, 93].

Σε αρκετές παθολογικές καταστάσεις όπως φλεγμονές, υπεργλυκαιμία, παχυσαρκία, διαταραχές του ανοσοποιητικού κ.α. παρατηρείται αυξημένη ενδογενής παραγωγή ROS [79-88, 94-99]. Η επίδραση περιβαλλοντικών παραγόντων (ατμοσφαιρική ρύπανση, ακτινοβολία, κάπνισμα) [100, 101] και η λήψη ορισμένων φαρμακευτικών σκευασμάτων (αντικαρκινικά φάρμακα, μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη, γλυκοκορτικοειδή κ.α.) ενισχύουν την παραγωγή ROS [102, 103]. Η διατροφή, ο ύπνος και η άσκηση διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις μεταβολές των επιπέδων των ROS στον οργανισμό. Η κατανάλωση αντιοξειδωτικών τροφών, η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ, οι επαρκείς ώρες ύπνου και η συστηματική άσκηση ασκούν προστατευτική δράση στον οργανισμό από τις βλαπτικές επιδράσεις των ROS [104-110].

#### **4.3 ΑΝΤΙΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΙ ΑΜΥΝΤΙΚΟΙ ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ**

Ο οργανισμός διαθέτει ενδογενείς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς οι οποίοι τον προστατεύουν από τη βλαπτική επίδραση των ROS με την απομάκρυνση των ελεύθερων ριζών, περιορίζοντας την οξειδωτική βλάβη. Οι αντιοξειδωτικοί αμυντικοί μηχανισμοί διακρίνονται σε ενζυμικούς και μη ενζυμικούς, [93]. Τα σημαντικότερα αντιοξειδωτικά ένζυμα είναι η υπεροξειδική δεσμουτάση, η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και η καταλάση. Οι μη ενζυμικοί μηχανισμοί άμυνας περιλαμβάνουν αντιοξειδωτικές ουσίες (θειόνες,

μελατονίνη, χολερυθρίνη, ουρικό οξύ, α-λιποϊκό οξύ) και πρωτεΐνες (φερριτίνη, λακτοφερίνη, τρανσφερίνη, σερουλοπλασμίνη) [93, 111].

Εκτός από τους ενδογενείς αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς, η διαιτητική πρόσληψη αντιοξειδωτικών ουσιών συμβάλλει σημαντικά στην άμυνα του οργανισμού έναντι των ROS [110]. Η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ), η βιταμίνη E (α-τοκοφερόλη) και η βιταμίνη A (α και β καροτένια, λυκοπένιο) είναι αντιοξειδωτικές ουσίες οι οποίες περιέχονται στα φρέσκα φρούτα και λαχανικά [93, 112, 113]. Οι πολυφαινόλες (φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα κ.α.) βρίσκονται σε υψηλή συγκέντρωση στα κόκκινα φρούτα και λαχανικά, στο κόκκινο κρασί, στο τσάι και στους ξηρούς καρπούς [93, 112, 113]. Επίσης ορισμένα μέταλλα τα οποία λαμβάνονται μέσω της τροφής δρουν ως συμπαράγοντες αντιοξειδωτικών ενζύμων. Ο ψευδάργυρος, ο χαλκός και το μαγγάνιο είναι απαραίτητα για τη δράση της υπεροξειδικής δισμουτάσης, ο σίδηρος αποτελεί βασικό συστατικό της καταλάσης και το σελήνιο είναι απαραίτητο για τη σύνθεση των σεληνοπρωτεϊνών [93, 112, 113].

#### **4.4 ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟ ΣΤΡΕΣ ΚΑΙ ΘΥΡΕΟΕΙΔΗΣ**

Τα κύτταρα του θυρεοειδούς αδένα υπό φυσιολογικές συνθήκες παράγουν μέτριες ποσότητες ROS, οι οποίες είναι απαραίτητες για τη σύνθεση των θυρεοειδικών ορμονών [114, 115]. Επίσης διαθέτουν αντιοξειδωτικά ένζυμα όπως η υπεροξειδάση της γλουταθειόνης και η καταλάση, τα οποία προστατεύουν τα θυρεοειδικά κύτταρα από τις βλαπτικές επιδράσεις των ROS [116, 117]. Αύξηση της παραγωγής των ROS ή/και μείωση της απομάκρυνσής τους, αυξάνει το οξειδωτικό στρες και δημιουργεί τοξικό περιβάλλον για το θυρεοειδικό κύτταρο [114-117].

Ασθενείς με διαταραχή της θυρεοειδικής λειτουργίας (υπερθυρεοειδισμός, υποθυρεοειδισμός) έχουν αυξημένους δείκτες οξειδωτικού στρες [118-137]. Μελέτες σε ασθενείς με GD έδειξαν ότι εκτός από ψηλά επίπεδα οξειδωτικού

στρες έχουν και μειωμένη αποτελεσματικότητα των αντιοξειδωτικών αμυντικών τους μηχανισμών [118-124]. Επίσης τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες έχουν συσχετιστεί με τη διάρκεια της νόσου [118].

Μελέτες σε ασθενείς με ΗΤ έδειξαν ότι υπάρχει διαταραχή της οξειδωτικής ισορροπίας, αυξημένα επίπεδα ROS και ανεπαρκής προστασία από τους αντιοξειδωτικούς μηχανισμούς [122-130]. Αντίστοιχες μελέτες σε ευθυρεοειδικούς ασθενείς με ΗΤ έδειξαν επίσης αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες [128-130]. Αξίζει να σημειωθεί ότι οι ασθενείς με κλινικό υποθυρεοειδισμό έχουν υψηλότερα επίπεδα οξειδωτικού στρες σε σύγκριση με τους ασθενείς με υποκλινικό υποθυρεοειδισμό [129, 131-136]. Η θεραπεία υποκατάστασης με θυροξίνη βρέθηκε ότι βελτιώνει το οξειδωτικό προφίλ των υποθυρεοειδικών ασθενών, χωρίς όμως να το επαναφέρει στο φυσιολογικό [124, 137].



## **5. ΤΕΛΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ ΠΡΟΧΩΡΗΜΕΝΗΣ ΓΛΥΚΟΖΥΛΙΩΣΗΣ (AGEs)**

### **5.1 ΟΡΙΣΜΟΣ**

Τα τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης (advanced glycation end products, AGEs) συνιστούν μια ετερογενή ομάδα προοξειδωτικών μεταβολικών παραγώγων. Αυτά σχηματίζονται ενδογενώς, ως αποτέλεσμα μη ενζυμικής γλυκοζυλίωσης και αποτελούν μέρος του φυσιολογικού μεταβολισμού. Επίσης μπορεί να προέρχονται και από εξωγενείς πηγές όπως το κάπνισμα και οι τροφές. Τα επίπεδα των AGEs στον οργανισμό υπόκεινται σε αυστηρό έλεγχο. Υπάρχουν όμως καταστάσεις όπου αυξάνονται και διατηρούνται σε υψηλά επίπεδα για μεγάλο χρονικό διάστημα, με αποτέλεσμα να προκαλούνται βλάβες στους ιστούς [138, 139]. Αρχικά τα AGEs αναγνωρίστηκαν ως ενδογενείς ουσίες οι οποίες σχηματίζονται σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη λόγω υπεργλυκαιμίας [95]. Σήμερα είναι γνωστό ότι παράγονται και σε συνθήκες αυξημένου οξειδωτικού στρες απουσία υπεργλυκαιμίας [139]. Υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για τον κλινικό ρόλο των AGEs διότι σχετίζονται με το οξειδωτικό στρες και τη φλεγμονή [95, 139]. Έχει βρεθεί ότι τα AGEs εμπλέκονται στην εμφάνιση χρόνιων νόσων όπως οι καρδιαγγειακές παθήσεις, ο σακχαρώδης διαβήτης, η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και νευροεκφυλιστικές παθήσεις (π.χ. νόσος Alzheimer, νόσος Parkinson) [138, 139].

### **5.2. ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΤΩΝ AGES**

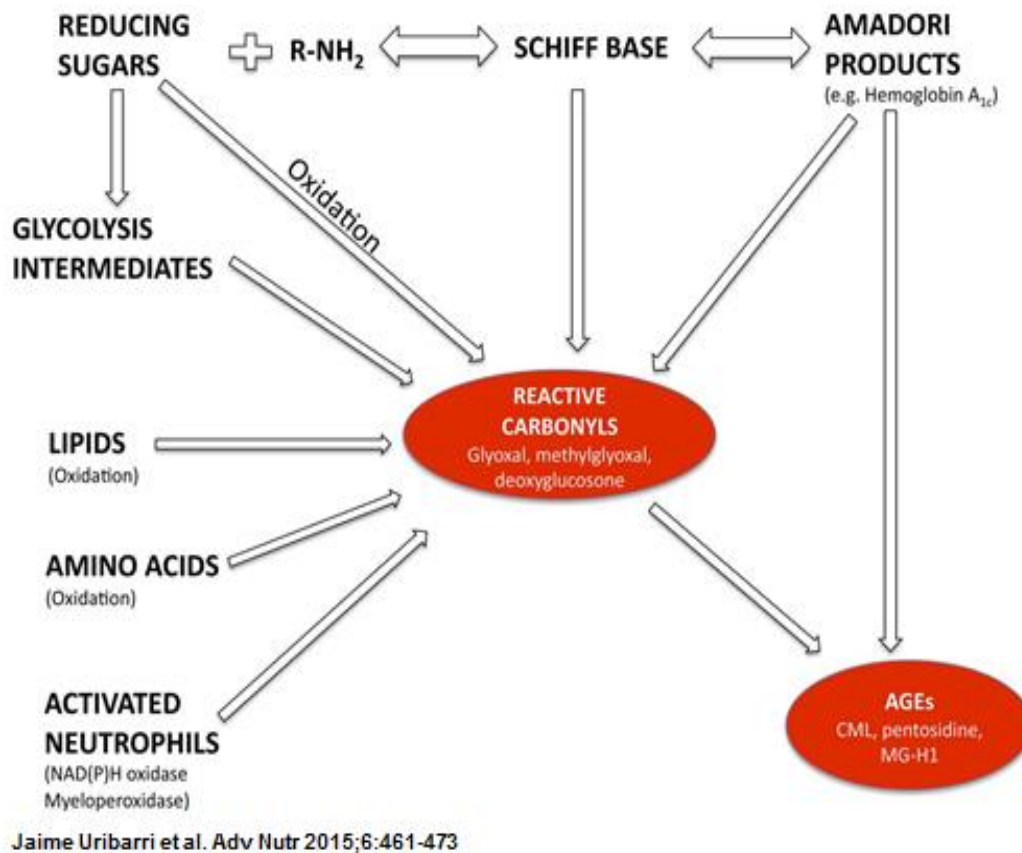
Υπάρχουν δύο είδη γλυκοζυλίωσης των πρωτεϊνών η ενζυμική και η μη ενζυμική. Η ενζυμική γλυκοζυλίωση αποτελεί μέρος του τελικού σταδίου σύνθεσης ορισμένων πρωτεϊνών και πραγματοποιείται στο ενδοπλασματικό

δίκτυο και το σύστημα Golgi. Η μη ενζυμική γλυκοζυλίωση πραγματοποιείται εξωκυττάρια χωρίς την παρουσία ενζύμων, είναι βραδεία και διαρκεί μερικές εβδομάδες. Στην μη ενζυμική γλυκοζυλίωση τα αναγωγικά σάκχαρα (αλδόζες, κετόζες) μεταξύ των οποίων και η γλυκόζη αντιδρούν με τις ελεύθερες αμινομάδες πρωτεϊνών, λιπιδίων και νουκλεϊνικών οξέων [130-141].

Η αντίδραση σχηματισμού των AGEs αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1912 από τον Γάλλο χημικό Louis Camille Maillard, στην προσπάθειά του να αναπαραγάγει τη βιολογική πρωτεϊνοσύνθεση. Αποτελεί μια από τις βασικές αντιδράσεις της χημείας τροφίμων κατά τη διάρκεια της οποίας παράγεται ένα χαρακτηριστικό χρυσό-καφέ χρώμα «browning effect» που προσδίδει χαρακτηριστική γεύση και άρωμα στις τροφές [140]. Η αντίδραση αυτή ονομάζεται αντίδραση Maillard και αποτελεί το κλασικό μονοπάτι σχηματισμού των AGEs, είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη στις μεταβολές του pH, της θερμοκρασίας και της υγρασίας [140].

Η αντίδραση Maillard περιλαμβάνει μία σειρά μη ενζυμικών αντιδράσεων οι οποίες οδηγούν στον σχηματισμό κεταμινών, οι οποίες ονομάζονται βάσεις Schiff. Αρχικά λαμβάνει χώρα μια αμφίδρομη αντίδραση μεταξύ των αμινομάδων των πρωτεϊνών (συχνότερα της λυσίνης και της αργινίνης), των νουκλεϊνικών οξέων και των φωσφολιπιδίων με τις καρβονυλικές ομάδες των αναγωγικών σακχάρων [139, 141]. Οι βάσεις Schiff μετά από αναδιαμόρφωση του μορίου τους μετατρέπονται σε πιο σταθερές ενώσεις τα προϊόντα Amadori (π.χ. γλυκοζυλιωμένη αιμοσφαιρίνη). Τα προϊόντα Amadori μετά από οξειδωτικές τροποποιήσεις (γλυκοξειδώσεις) οι οποίες επάγονται από την επίδραση ελευθέρων ριζών οξυγόνου, τροποποιούνται στα σταθερά πλέον, τελικά προϊόντα προχωρημένης γλυκοζυλίωσης, τα AGEs [139, 141]. Τα AGEs μπορούν να σχηματισθούν επίσης μέσω της οξείδωσης σακχάρων, λιπών ή αμινοξέων, προς αλδεΐδες, οι οποίες συνδέονται ομοιοπολικά με πρωτεΐνες (Εικόνα 5.1) [139].

### Different pathways of AGE formation.



Εικόνα 5.1 Σχηματική απεικόνιση των οδών σχηματισμού των AGEs.

(Πηγή: J. Uribarri et al. Adv Nutr 2015)

Εκτός των καρβονυλικών ομάδων των αναγωγικών σακχάρων, καρβονυλικές ομάδες που προέρχονται από τον καταβολισμό των λιπών και των πρωτεϊνών συμμετέχουν στην αντίδραση Schiff. Όταν η καρβονυλική ομάδα προέρχεται από τα λιπίδια τα προϊόντα της αντίδρασης ονομάζονται τελικά προϊόντα προχωρημένης οξείδωσης λιπιδίων (ALEs) [141, 142]. Δεν είναι πάντα εφικτός ο διαχωρισμός μεταξύ AGEs και ALEs διότι δεν μπορεί να προσδιοριστεί πάντοτε η προέλευση των καρβονυλικών ομάδων π.χ. η καρβοξυμεθυλολυσίνη (CML) μπορεί να παραχθεί από τον καταβολισμό υδατανθράκων και λιπών [143].

Τα AGEs διακρίνονται σε τρεις βασικές ομάδες με κριτήριο το είδος των δεσμών του μορίου τους: (1) τα φθορίζοντα AGEs, τα οποία σχηματίζουν ομοιοπολικούς διασταυρούμενους δεσμούς (π.χ. πεντοσιδίνη, κροσλίνη), (2) τα μη-φθορίζοντα AGEs, τα οποία σχηματίζουν διασταυρούμενους δεσμούς (π.χ. διλυσίνες ιμιδαζολίου), (3) τα AGEs τα οποία σχηματίζουν ομοιοπολικούς μη διασταυρούμενους δεσμούς (π.χ. πυρραλίνη, N-καρβοξυμεθυλολυσίνη - CML) [141].

Η αντίδραση σχηματισμού των AGEs είναι βραδεία μπορεί να διαρκέσει από μερικές εβδομάδες έως και έτη. Κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες όπως υπεργλυκαιμία, αυξημένη θερμοκρασία και αυξημένο οξειδωτικό στρες, ο σχηματισμός των AGEs μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσα σε μερικές ώρες [141, 144].

### 5.3 ΠΗΓΕΣ ΤΩΝ AGEs

Τα AGEs σχηματίζονται ενδογενώς ή προέρχονται από εξωγενείς πηγές [138, 139, 145, 146]. Τα εξωγενή AGEs προέρχονται κυρίως από τις τροφές και τον καπνό και συνεισφέρουν στην δεξαμενή των AGEs του οργανισμού. Τα ενδογενή και τα εξωγενή AGEs έχουν την ίδια δομή και λειτουργία [139, 147]. Από το σύνολο των εξωγενών AGEs που προσλαμβάνονται, περίπου το 10% απορροφάται από το γαστρεντερικό, τα δύο τρίτα του οποίου παραμένουν στον οργανισμό για 72 ώρες. Σε αυτό το χρονικό διάστημα αυξάνεται το οξειδωτικό στρες και η σύνθεση νέων AGEs με αποτέλεσμα την πρόκληση βλάβης στους ιστούς [138, 148].

Οι βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν τον σχηματισμό AGEs κατά την παρασκευή των τροφών είναι, η θρεπτική τους σύσταση και οι συνθήκες μαγειρέματος. Οι πρωτεΐνες περισσότερο από τα λίπη και τους υδατάνθρακες των τροφών προάγουν τον σχηματισμό AGEs. Οι συνθήκες μαγειρέματος περιλαμβάνουν το ύψος της θερμοκρασίας και τη διάρκεια εφαρμογής της, την υγρασία, το pH και την παρουσία ορισμένων μετάλλων [149]. Η προετοιμασία

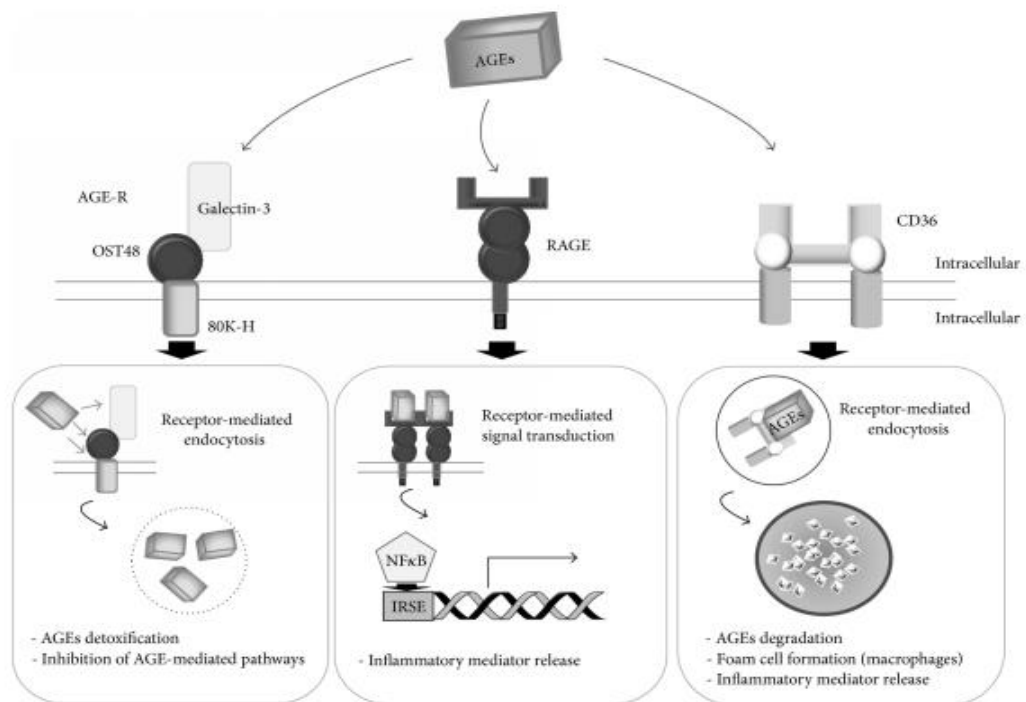
γεύματος σε ξηρές συνθήκες, με υψηλή θερμοκρασία και για παρατεταμένο χρόνο αυξάνει την παραγωγή των AGEs. Συνεπώς οι διαφορετικοί τρόποι μαγειρέματος μπορούν να επηρεάσουν ουσιαστικά το περιεχόμενο των τροφών σε AGEs χωρίς να αλλάζει η θρεπτική τους σύσταση [139, 149]. Τα AGEs βελτιώνουν σημαντικά τη γεύση γεγονός το οποίο εκμεταλλεύονται οι βιομηχανίες τροφίμων, οι οποίες ενισχύουν την περιεκτικότητα των προϊόντων τους σε AGEs με σκοπό την αύξηση των πωλήσεών τους [150].

#### 5.4 ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ ΤΩΝ AGEs

Τα επίπεδα των AGEs στην κυκλοφορία αντικατοπτρίζουν την ισορροπία μεταξύ της ενδογενούς παραγωγής, της εξωγενούς πρόσληψης AGEs, του καταβολισμού τους και της απομάκρυνσης τους από τον οργανισμό. Η αποδόμηση των AGEs γίνεται από τα μακροφάγα των ιστών και από τα κυτταρικά συστήματα ενδοκύττωσης μέσω της σύνδεσής τους με ειδικούς κυτταρικούς υποδοχείς [138, 151, 152]. Κατά την αποδόμηση των AGEs δημιουργούνται χαμηλού μοριακού βάρους σύμπλοκα AGE-πεπτιδίων, τα οποία απελευθερώνονται στον εξωκυττάριο χώρο και στην κυκλοφορία. Στη συνέχεια τα σύμπλοκα AGE-πεπτιδίων διέρχονται από τα νεφρά όπου ένα μέρος τους διηθείται στο εγγύς σωληνάριο και ένα μέρος τους αποβάλλεται με τα ούρα [151, 153]. Συνεπώς η αποτελεσματική απομάκρυνση των AGEs από τον οργανισμό εξαρτάται άμεσα από την καλή νεφρική λειτουργία. Ένας επιπλέον ενδοκυττάριος προστατευτικός μηχανισμός είναι τα ενζυμικά συστήματα αποδόμησης, όπως το σύστημα γλυοξυλάσης I και II, τα οποία περιορίζουν την συσσώρευση των δραστικών παραγώγων των AGEs [139, 151, 153]. Επίσης τα κύτταρα Kupffer και τα ενδοθηλιακά κύτταρα των κολλοειδών τριχοειδών αγγείων του ήπατος απομακρύνουν τα AGEs μέσω φαγοκυττάρωσης [154].

Το σύστημα των υποδοχέων των AGEs διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ομοιόσταση των AGEs στον οργανισμό. Στο σύστημα αυτό περιλαμβάνονται ειδικοί και μη ειδικοί υποδοχείς των AGEs καθώς και μερικές διαλυτές πρωτεΐνες (Εικόνα 5.2) [151-153]. Οι ειδικοί υποδοχείς των AGEs

χωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Στην πρώτη ανήκουν υποδοχείς οι οποίοι προάγουν το οξειδωτικό στρες και τη φλεγμονή, και ενισχύουν την παραγωγή νέων AGEs, με χαρακτηριστικό παράδειγμα τον υποδοχέα RAGE [152]. Η δεύτερη κατηγορία υποδοχέων περιλαμβάνει υποδοχείς που συμβάλλουν στην αποδόμηση των AGEs και προστατεύουν τον οργανισμό από την οξειδωτική βλάβη, όπως οι υποδοχείς AGER1, AGER2, AGER3 [152]. Στους μη ειδικούς υποδοχείς οι οποίοι συμβάλλουν στην απομάκρυνση των AGEs συγκαταλέγονται οι SCARB2, TLRs, GPCRs, PRRs και CD36 [152]. Διαλυτές πρωτεΐνες οι οποίες αποτελούν τμήμα της αντιμικροβιακής άμυνας του οργανισμού όπως η λυσοζύμη και οι αμυνοσιίνες, δεσμεύουν τα AGEs και αποτρέπουν τη συσσώρευσή τους [151-153].



Εικόνα 5.2 Σχηματική απεικόνιση των υποδοχέων των AGEs.

(Πηγή: Boyer F et al. Oxidative stress and adipocyte biology: focus on the role of AGEs. Oxid Med Cell Longev.)

## 5.5 ΒΙΟΛΟΓΙΚΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ AGES

Τα AGEs προκαλούν βλάβες στον οργανισμό κυρίως μέσω δύο μηχανισμών: (1) σχηματίζοντας διασταυρούμενους ομοιοπολικούς δεσμούς μεταξύ πρωτεϊνών και λιπιδίων, (2) αλληλεπιδρώντας με ειδικούς κυτταρικούς υποδοχείς. Στον πρώτο μηχανισμό η δημιουργία ομοιοπολικών δεσμών διαταράσσει τη δομή και τη λειτουργία των εμπλεκόμενων μορίων. Στον δεύτερο μηχανισμό η σύνδεση των AGEs με τους υποδοχείς, οδηγεί σε ενεργοποίηση ενδοκυττάρων μηχανισμών οι οποίοι προάγουν το οξειδωτικό στρες και τη φλεγμονή [138, 139, 155].

Σε κυτταρικό επίπεδο τα AGEs προκαλούν υπεροξείδωση των λιπιδίων, δυσλειτουργία του ενδοθηλίου και κινητοποίηση των μηχανισμών ανοσίας [155]. Στα αγγεία η δράση των AGEs οδηγεί σε ελάττωση της διαμέτρου του αυλού, πάχυνση του τοιχώματος, αδυναμία χάλασης και ελάττωση της ελαστικότητας τους. Η δράση των AGEs επιτυγχάνεται μέσω της μείωσης των επιπέδων NO, της αύξησης του αγγειακού τόνου και της ενεργοποίησης της παραγωγής ενδοθηλίνης-1 [156]. Τα ψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες, που προκαλούνται από τη δράση των AGEs, οδηγούν σε αύξηση της έκφρασης του αγγειακού μορίου προσκόλλησης VCAM-1 και του ρυθμού προσκόλλησης των μονοκυττάρων στο ενδοθήλιο [157]. Τα AGEs ενεργοποιούν τους μηχανισμούς ανοσίας με την προαγωγή της έκκρισης ορισμένων κυτοκινών (IL-1, TNF-β και IGF-1A), την παραγωγή ιντεφερόνης-γ, την αύξηση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και τη διέγερση των T-λεμφοκυττάρων [155].

Σε επίπεδο ιστών οι δράσεις των AGEs είναι ιδιαίτερα εμφανείς στον αμφιβληστροειδή, στα νεφρά και στον μηχανισμό πήξης του αίματος [155]. Στον αμφιβληστροειδή προκαλούν αύξηση της διαπερατότητας των ενδοθηλιακών κυττάρων, πάχυνση του αγγειακού τοιχώματος, απόφραξη των τριχοειδών και ισχαιμία. Στους νεφρούς προκαλούν αύξηση του μεσαγγείου και του πάχους της σπειραματικής βασικής μεμβράνης, με αποτέλεσμα την επιδείνωση της νεφρικής λειτουργίας [158]. Αποτέλεσμα της δράσης των AGEs είναι η υπερπηκτικότητα, η αύξηση της σύνθεσης του αυξητικού παράγοντα VEGF, η αγγειογένεση και η

νεοαγγείωση [158, 159]. Η δράση των AGEs στον μηχανισμό πήξης του αίματος οδηγεί σε αύξηση του ιστικού παράγοντα, ελάτωση της θρομβοδουλίνης, σταθεροποίηση της ινικής, γλυκοζυλίωση των υποδοχέων IIΑ και IIΒ της κυτταρικής μεμβράνης των αιμοπεταλίων και ενίσχυση της συσσώρευσης των αιμοπεταλίων [155].

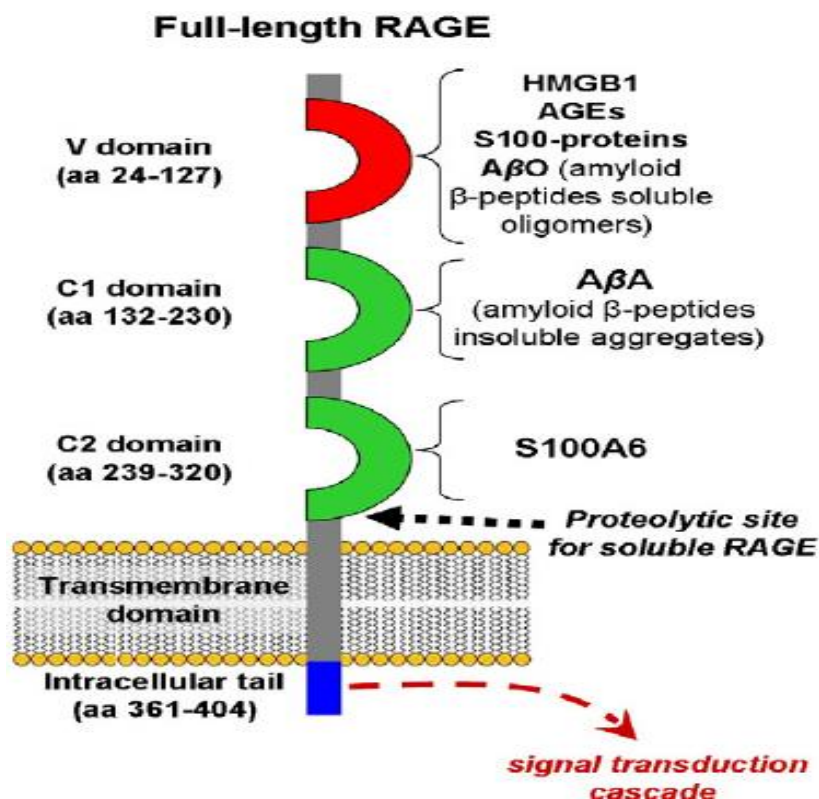


## **6. ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ RAGE**

### **6.1 ΔΟΜΗ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ RAGE**

Ο υποδοχέας RAGE είναι ένας από τους πιο καλά μελετημένους υποδοχείς των AGEs [138-142], είναι μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη μοριακού βάρους 35 kDa, η οποία ανήκει στην υπεροικογένεια των ανοσοσφαιρινών [160, 161]. Ο υποδοχέας RAGE αποτελείται από μία μεταβλητή περιοχή τύπου V, δύο σταθερές περιοχές τύπου C, μια μικρή διαμεμβρανική περιοχή και μια κυτταροπλασματική ουρά 43 αμινοξέων (Εικόνα 6.1) [160, 161]. Η περιοχή τύπου V συμμετέχει στη διαμόρφωση της περιοχής πρόσδεσης των συνδετών, ενώ η κυτταροπλασματική ουρά είναι απαραίτητη για την ενδοκυτταρική σηματοδότηση [160, 161]. Στην κυκλοφορία αναγνωρίζονται διαλυτές ισομορφές του υποδοχέα RAGE (sRAGE), από τις οποίες υπολείπεται η διαμεμβρανική περιοχή και η κυτταροπλασματική ουρά [161].

Η έκφραση του υποδοχέα RAGE στους ιστούς εξαρτάται από τον τύπο των κυττάρων και το στάδιο ανάπτυξης του οργανισμού [161]. Κατά τη διάρκεια της εμβρυϊκής ζωής τα επίπεδα έκφρασης του υποδοχέα είναι υψηλά [162], ενώ στην ενήλικη ζωή είναι χαμηλά, εξαίρεση αποτελούν το δέρμα και οι πνεύμονες, όπου αυτά παραμένουν υψηλά καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής [162]. Ο υποδοχέας RAGE υπό φυσιολογικές συνθήκες εκφράζεται σε μικρές ποσότητες στα μονοκύτταρα, στα μακροφάγα, στα ενδοθηλιακά κύτταρα, στα κύτταρα των λείων μυϊκών ινών, στους ινοβλάστες, και στα μεσαγγειακά κύτταρα [162]. Σε καταστάσεις στις οποίες υπάρχει συσσώρευση των συνδετών του υποδοχέα ή ενεργοποίηση των μεταγραφικών παραγόντων που ρυθμίζουν την έκφρασή του τότε τα επίπεδα του υποδοχέα RAGE αυξάνονται [161, 162].



Εικόνα 6.1 Σχηματική απεικόνιση της δομής του υποδοχέα RAGE.

(Πηγή: Musumeci D et al, Pharmacol Ther. 2014)

## 6.2 ΣΥΝΔΕΤΕΣ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ RAGE

Ο υποδοχέας RAGE αναγνωρίστηκε αρχικά ως υποδοχέας των AGEs το 1992 από τους Nepper et al [160]. Είναι πλέον γνωστό ότι εκτός από τα AGEs συνδέεται και με ένα ευρύ φάσμα συνδετών, οι οποίοι αυξάνονται στους ιστούς με τη γήρανση, τις χρόνιες εκφυλιστικές παθήσεις και τη φλεγμονή [163, 164]. Στους συνδέτες αυτούς ανήκουν τα πεπτίδια β-αμυλοειδούς, τα οποία συσσωρεύονται στη νόσο Alzheimer και το αμυλοειδές A το οποίο συναθροίζεται στη συστηματική αμυλοειδωση [161, 165]. Επίσης ο υποδοχέας RAGE συνδέεται με τις S100/καλγκρανουλίνες, μία οικογένεια στενά σχετιζόμενων πολυπεπτιδίων, τα οποία συνδέονται με το ασβέστιο και συσσωρεύονται εξωκυττάρια σε περιοχές χρόνιας φλεγμονής [161, 165]. Ένας

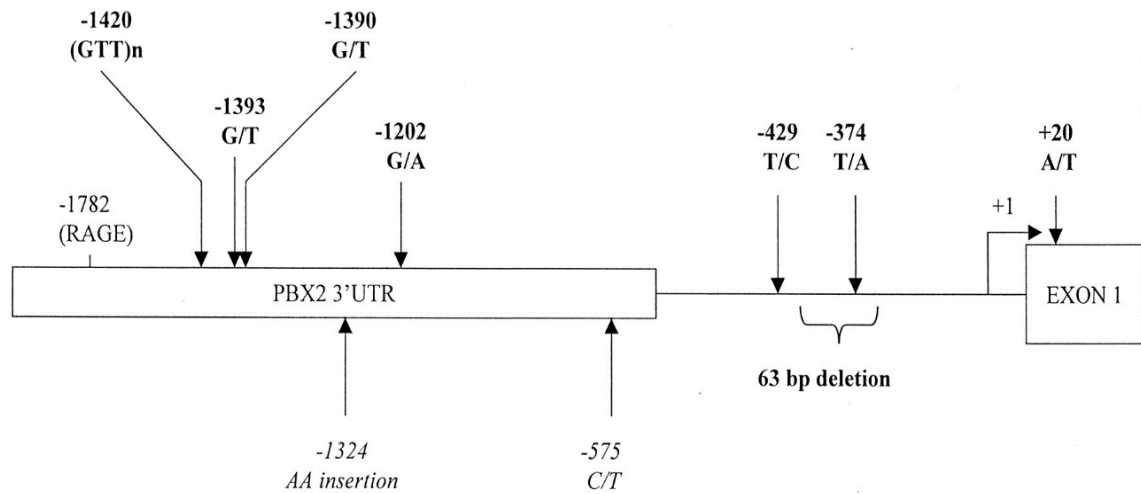
ακόμη συνδέτης είναι η πρωτεΐνη HMGB1 (amphoterin), η οποία απελευθερώνεται από τα κύτταρα που υφίστανται νέκρωση [161, 165]. Έχει βρεθεί ότι ο υποδοχέας RAGE αλληλεπιδρά με μόρια της επιφάνειας των λευκοκυττάρων και ορισμένων βακτηρίων [161, 165]. Εκτός από την ενεργοποίηση προφλεγμονωδών οδών ο υποδοχέας RAGE επηρεάζει και τους μηχανισμούς άμυνας του κυττάρου. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η σύνδεση του με τα AGEs, που οδηγεί σε καταστολή της ανηγμένης γλουταθειόνης και του ασκορβικού οξέος, συμβάλλοντας έτσι στην αύξηση του ενδοκυττάρου οξειδωτικού στρες [166].

Ανάλογα με τον τύπο του κυττάρου, η σύνδεση του υποδοχέα RAGE με διαφορετικό είδος συνδέτη μπορεί να οδηγήσει στην ενεργοποίηση διαφορετικών ενδοκυττάρων σηματοδοτικών οδών (π.χ. οδός της ERK1/2 (p44/p42) MAP κινάσης, οδός της SAPK/JNK MAP κινάσης, οδός της JAK/STAT κ.α) [161, 166]. Οι περισσότερες από αυτές τις οδούς, περιλαμβάνουν και την ενεργοποίηση του προφλεγμονώδους μεταγραφικού παράγοντα NF-κB [167]. Ο παράγοντας NF-κB δρα στον πυρήνα του κυττάρου και προάγει τη μεταγραφή γονιδίων στόχων, συμπεριλαμβανομένου και του γονιδίου του υποδοχέα RAGE. Συνεπώς, αυξάνεται η έκφραση του υποδοχέα και κατ' επέκταση και οι διαθέσιμες θέσεις πρόσδεσης για τους συνδέτες, ενισχύοντας κατ' αυτόν τον τρόπο τη δράση τους [166, 167]. Η αλληλεπίδραση του υποδοχέα RAGE με τους συνδέτες προάγει την παραγωγή ελευθέρων ριζών οξυγόνου κυρίως μέσω της NADPH οξειδάσης [166, 168].

### **6.3 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ RAGE**

Το γονίδιο που κωδικοποιεί τον υποδοχέα RAGE εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 6p21.3 στην περιοχή του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας (MHC locus III) και αποτελείται από μία 1.7-kb 5' εγγύς τελική περιοχή (5' flanking region) και 11 εξόνια [169]. Η 5' flanking region του γονιδίου *RAGE*,

επικαλύπτεται από το γονίδιο PBX2, το οποίο είναι ένα μη λειτουργικό ψευδογονίδιο, αντιγραφή του χρωμοσώματος 3 [169]. Έχουν αναγνωριστεί πάνω από 30 μεταλλάξεις του γονιδίου *RAGE*, οι οποίες παρουσιάζονται αναλυτικά στον πίνακα 6.1 (πηγή: Hudson et al, Current Science, vol 83, No.12, 2002) [170]. Στην εικόνα 6.2 εμφανίζονται οι γνωστές μεταλλάξεις στην 5' flanking region του γονιδίου *RAGE* [171]. Οι πολυμορφισμοί που εντοπίζονται στο γονίδιο *RAGE* εμφανίζονται με έντονη γραμματοσειρά, ενώ οι πολυμορφισμοί που εντοπίζονται στο ψευδογονίδιο *PBX2* εμφανίζονται με πλάγια γραμματοσειρά.



Εικόνα 6.2 Χάρτης της 5' flanking region του γονιδίου *RAGE*, με τους γνωστούς πολυμορφισμούς.

(Πηγή: Barry I. Hudson et al. Diabetes 2001;50: 1505- 1511)

Πίνακας 6.1 Πολυμορφισμοί του γονιδίου *RAGE*.

Πολυμορφισμός <i>RAGE</i>	Περιοχή εντόπισης	Συχνότητες αλληλίων
-1420 (GTT) <i>n</i>	5' flanking region	Μη διαθέσιμο
-1393 G/T	5' flanking region	Μη διαθέσιμο
-1390 G/T	5' flanking region	Μη διαθέσιμο
-1202 G/A	5' flanking region	Μη διαθέσιμο
-405 με -345 έλλειψη	5' flanking region	>99% προσθήκη, <1% έλλειψη
-429 T/C	5' flanking region	83% -429T, 17% -429C
-374 T/A	5' flanking region	81% -374T, 19% -374A
Ala2Ala (GCT/GCA)	Εξόνιο 1	86% T, 14% A
67 C/G	Εξόνιο 1	83% C, 17% G
Lys37Ser	Εξόνιο 2	>99% Lys37, <1% Ser37
Arg77Cys	Εξόνιο 3	>99% Arg77, <1% Cys77
Gly82Ser	Εξόνιο 3	95% Gly82, 5% Ser82
Val89Val (GTG/GTC)	Εξόνιο 3	95% G, 5% C
Gly90Gly (GCT/GCA)	Εξόνιο 3	95% T, 5% A
718 G/T	Εσόνιο 3	92% 718 G, 8% 718 T
Thr187Pro	Εξόνιο 7	>99% Thr187, <1% Pro187
1704 G/T	Εσόνιο 7	95% 1704 G, 5% 1704 T
A προσθήκη 1727	Εσόνιο 7	Μη διαθέσιμο
His305Gln	Εξόνιο 8	>99% His305, <1% Gln305
Ser307Cys	Εξόνιο 8	>99% Ser307, 1% Cys307
Gly329Arg	Εξόνιο 8	>99% Gly329, <1% Arg329
2117 A/G	Εξόνιο 8	Μη διαθέσιμο
2184 A/G	Εσόνιο 8	84% 2184 A, 16% 2184 G
2224 A/G	Εσόνιο 8	Μη διαθέσιμο
2245 G/A	Εσόνιο 8	92% 2245 G, 8% 2245 T
2249 A/G	Εσόνιο 8	Μη διαθέσιμο
2741 G/A	Εσόνιο 9	Μη διαθέσιμο
Leu363Leu (CTG/TTG)	Εξόνιο 10	99% C, 1% T
Arg389Gln	Εξόνιο 10	>99% Arg389, <1% Gln389
CA έλλειψη 3089	3'UTR	<1% CA διαγραφή

#### 6.4 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ -429T>C ΚΑΙ -374T>A ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *RAGE*

Οι πολυμορφισμοί του γονιδίου *RAGE* -429T>C και -374T>A, εντοπίζονται στον εκκινητή του γονιδίου και αυξάνουν τη μεταγραφική δραστηριότητα του γονιδίου κατά δύο και τρεις φορές αντίστοιχα [171]. Τα τελευταία χρόνια υπάρχει έντονο επιστημονικό ενδιαφέρον για τον ρόλο που διαδραματίζουν σε ένα ευρύ φάσμα ασθενειών [171-186].

Μελέτες σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου 2 (ΣΔ2) καταλήγουν σε αντικρουόμενα αποτελέσματα [171-177]. Ο πολυμορφισμός -374T>A στη πλειοψηφία των μελετών φαίνεται ότι ασκεί προστατευτική δράση στη ανάπτυξη αγγειακών επιπλοκών στο ΣΔ [172-175]. Υπάρχουν όμως και κάποιες μελέτες οι οποίες υποστηρίζουν ότι δρα ως παράγοντας κινδύνου στην εμφάνιση αγγειακών επιπλοκών [176]. Οι ασθενείς με ΣΔ2 που είναι φορείς του πολυμορφισμού -429T>C εμφανίζουν αυξημένη επίπτωση μικροαγγειακών και μακροαγγειακών επιπλοκών [171, 174, 177]. Επίσης, νέα δεδομένα υποστηρίζουν ότι οι πολυμορφισμοί -429T>C και -374T>A συμμετέχουν στην εμφάνιση και εξέλιξη ορισμένων τύπων καρκίνου [178-181]. Συγκεκριμένα, ο πολυμορφισμός -374T/A έχει συσχετισθεί με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού και του πνεύμονα [178-180]. Ο πολυμορφισμός -429T>C φαίνεται ότι δρα προστατευτικά στην ανάπτυξη και στην πρόγνωση του ηπατοκυτταρικού καρκινώματος [181]. Επιπλέον ο γονότυπος-429CC φαίνεται ότι συσχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο εμφάνισης της νόσου Parkinson [182].

Υπάρχουν βιβλιογραφικά δεδομένα για τον ρόλο των πολυμορφισμών -429T>C και -374T>A σε αυτοάνοσες παθήσεις όπως ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος, η νόσος Crohn και η σκλήρυνση κατά πλάκας. Έχει βρεθεί ότι η επίπτωση του πολυμορφισμού -429T>C ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκος συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Επίσης στην ίδια μελέτη παρατηρήθηκε ότι οι ασθενείς οι οποίοι ήταν φορείς και των

δύο πολυμορφισμών (-429T>C, -374T>A) και έπασχαν από νεφρίτιδα του λύκου εμφάνιζαν αυξημένη επίπτωση πρωτεϊνουρίας και μειωμένη ανταπόκριση στην θεραπεία [183]. Υποστηρίζεται ότι ο πολυμορφισμός -374T>A παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με την εμφάνιση της νόσου Crohn σε μελέτες που αφορούσαν τις φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου [184-185] Επίσης έχει αναφερθεί η προστατευτική επίδραση του γονότυπου -374AA του γονιδίου *RAGE* στην εμφάνιση της σκλήρυνσης κατά πλάκας [186].

## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



## **7. ΣΚΟΠΟΣ**

Η θυρεοειδίτιδα Hashimoto είναι μια πολυπαραγοντική νόσος στην αιτιοπαθογένεια της οποίας συμβάλλουν γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες [27, 28]. Δεν είναι ακόμη γνωστό ποιοι ακριβώς παράγοντες οδηγούν ευθυρεοειδικά άτομα με θυρεοειδίτιδα Hashimoto και θετικούς τίτλους αντιθυρεοειδικών αυτοαντισωμάτων σε θυρεοειδική δυσλειτουργία.

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή θα μελετήσουμε τον πιθανό ρόλο της διατροφής και του οξειδωτικού στρες στην πρόοδο της θυρεοειδίτιδας Hashimoto προς την κατεύθυνση του κλινικού υποθυρεοειδισμού σε ευθυρεοειδικούς ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto.

Τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες στον οργανισμό επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες ενδογενείς και εξωγενείς [80, 90, 100-110]. Στην παρούσα διδακτορική διατριβή θα μελετηθεί η επίδραση της διατροφής και ορισμένων καθημερινών συνηθειών στα επίπεδα του οξειδωτικού στρες, στα πλαίσια της θυρεοειδίτιδας Hashimoto.

Τέλος δεδομένου του ρόλου των πολυμορφισμών του υποδοχέα των AGEs, RAGE, στην πρόγνωση πολλών νοσημάτων [171-186] και λόγω της έλλειψης αντίστοιχης βιβλιογραφίας για την θυρεοειδίτιδα Hashimoto, θα μελετηθεί η κατανομή και ο πιθανός ρόλος των πολυμορφισμών -429T>C και -374T>A του γονιδίου του υποδοχέα RAGE στην εξέλιξη της θυρεοειδίτιδας Hashimoto.

## **8. ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **8.1 ΔΕΙΓΜΑ**

Στην μελέτη συμμετείχαν συνολικά 317 γυναίκες από 19 έως 69 ετών. Όλες οι γυναίκες προσήλθαν ως εξωτερικοί ασθενείς στην Μονάδα Κλινικής και Μεταφραστικής έρευνας στην Ενδοκρινολογία της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, το χρονικό διάστημα από τον Νοέμβριο του 2010 έως τον Μάιο του 2014. Οι γυναίκες που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη ήταν ευθυρεοειδικές (FT4: 9-20.5 pmol/L, TSH: 0.4-4.0 μUI/ml, T3: 0.7-1.8 ng/ml), δεν διήνυαν περίοδο εγκυμοσύνης ή θηλασμού και η τελευταία τους εγκυμοσύνη, όπου υπήρξε, απείχε τουλάχιστον 6 μήνες από τη συμμετοχή τους στην μελέτη. Επίσης αποκλείστηκε η συμμετοχή γυναικών οι οποίες είχαν πρώτου ή δεύτερου βαθμού συγγένεια μεταξύ τους ή λάμβαναν συμπληρώματα βιταμινών στην μελέτη.

Οι 218 γυναίκες είχαν θυρεοειδίτιδα Hashimoto (HT) με τουλάχιστον ένα από τα θυρεοειδικά αυτοαντισώματα θετικό (anti-Tg $\geq$ 30 U/L, anti-TPO $\geq$ 40 U/L) και χαρακτηριστική εικόνα ανομοιογένειας στο υπερηχογράφημα του θυρεοειδούς αδένου. Οι ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto χωρίστηκαν σε δύο ομάδες ανάλογα με τη λήψη ή όχι θεραπείας υποκατάστασης. Οι 102 γυναίκες οι οποίες λάμβαναν θυροξίνη απετέλεσαν την ομάδα HT υπό θεραπεία και οι 116 γυναίκες οι οποίες δεν λάμβαναν θεραπεία την ομάδα HT χωρίς θεραπεία. Οι υπόλοιπες 99 γυναίκες ανήκαν στην ομάδα ελέγχου και είχαν αρνητικά θυρεοειδικά αντισώματα, ομοιογενή υπερηχογραφική εικόνα του θυρεοειδούς αδένου και αρνητικό οικογενειακό ιστορικό για αυτοάνοση θυρεοειδοπάθεια σε συγγενείς πρώτου βαθμού.

Οι γυναίκες με θυρεοειδίτιδα Hashimoto επανεξετάστηκαν σε ετήσια βάση για τα επόμενα δύο χρόνια. Ο επανέλεγχος περιλάμβανε κλινική εξέταση, τη μέτρηση θυρεοειδικών ορμονών, θυρεοειδικών αυτοαντισωμάτων και δεικτών για οξειδωτικού στρες καθώς και τη συμπλήρωση ερωτηματολογίου διατροφής.

Η παρούσα μελέτη εγκρίθηκε από την επιστημονική επιτροπή και την επιτροπή ηθικής και δεοντολογίας της Ιατρικής Σχολής του Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (Απόφαση Επιστημονικής Επιτροπής Νοσοκομείου Αλεξάνδρας αριθμός πρωτοκόλλου 9468/13-7-2012). Όλες οι συμμετέχουσες στην μελέτη ενημερώθηκαν και συναίνεσαν για την συμμετοχή τους στην διεξαγωγή της μελέτης.

## **8.2 ΑΤΟΜΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ**

Συλλέχθηκαν κλινικά και επιδημιολογικά στοιχεία για όλες τις συμμετέχουσες. Πραγματοποιήθηκε ψηλάφηση και υπερηχογράφημα του θυρεοειδούς αδένος για την εκτίμηση του μεγέθους, της υφής και της ύπαρξης όζων στο αδενικό παρέγχυμα. Έγιναν ανθρωπομετρικές μετρήσεις ύψους (m), βάρους (kg), περίμετρος μέσης (cm) και περίμετρος ισχίων (cm). Υπολογίστηκαν ο δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ) με βάση τον τύπο  $\text{kg}/\text{m}^2$  και ο λόγος μέσης προς περιφέρεια (WHR) ως δείκτης εκτίμησης της κατανομής λίπους. Επίσης έγινε μέτρηση της αρτηριακής πίεσης σε καθιστή θέση. Έγινε λεπτομερής καταγραφή ατομικού και οικογενειακού ιστορικού. Επίσης καταγράφηκαν στοιχεία για τις συνήθειες καπνίσματος, τις ώρες ύπνου καθώς και την τρέχουσα φαρμακευτική αγωγή (βλ. Παράρτημα Ι).

## **8.3 ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

Για την διερεύνηση του ρόλου της διατροφής στην εξέλιξη της θυρεοειδίτιδας Hashimoto συντάχθηκε ερωτηματολόγιο με στόχο την εκτίμηση των διατροφικών συνηθειών των συμμετεχουσών [187, 188]. Στο

ερωτηματολόγιο συμπεριλήφθηκαν 52 ερωτήσεις κλειστού τύπου και 4 ερωτήσεις ανοιχτού τύπου. Οι ερωτήσεις κλειστού τύπου αφορούσαν τη συχνότητα κατανάλωσης τροφίμων (κόκκινο κρέας, πουλερικά, αλλαντικά, ψάρι, θαλασσινά, γάλα/γιαούρτι, αυγά, τυρί, λαχανικά, φρούτα, ξηροί καρποί, λεμόνι/ξύδι, όσπρια, δημητριακά, ζυμαρικά, πατάτες, ελαιόλαδο, γλυκά, πατατάκια, παρεμφερή σνακ) και ροφημάτων (αναψυκτικά, αλκοόλ, τσάι, καφές) κατά τη διάρκεια του προηγούμενου χρόνου. Επίσης εμπεριέχονταν ερωτήσεις για τον τρόπο μαγειρέματος των τροφών (βραστό, τηγανητό, ψητό, στα κάρβουνα). Οι απαντήσεις δίδονταν σε 6 προκαθορισμένες απαντήσεις: ποτέ, σπάνια, 2-3 μερίδες τον μήνα, 1-2 μερίδες την εβδομάδα, 3-5 μερίδες την εβδομάδα, καθημερινά. Οι ανοιχτού τύπου ερωτήσεις χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων και ροφημάτων τα οποία συνήθως καταναλώνονται περισσότερες από μια φορά την ημέρα όπως φρούτα, λαχανικά, καφές, τσάι. Το ερωτηματολόγιο έχει τίτλο «Διατροφικές Συνήθειες» (βλ. παράρτημα II) και συμπληρώθηκε από όλες τις συμμετέχουσες κατά την ένταξη τους στην μελέτη.

Για την επανεκτίμηση των διατροφικών συνηθειών των ασθενών με θυρεοειδίτιδα Hashimoto συντάχθηκε ένα δεύτερο ερωτηματολόγιο με στόχο την αξιολόγηση των αλλαγών συγκριτικά με το πρώτο ερωτηματολόγιο διατροφής [187, 188]. Το ερωτηματολόγιο περιείχε 29 ερωτήσεις κλειστού τύπου και 2 ερωτήσεις ανοιχτού τύπου. Οι ερωτήσεις κλειστού τύπου αφορούσαν τη συχνότητα κατανάλωσης τροφίμων (κόκκινο κρέας, πουλερικά, αλλαντικά, ψάρι, θαλασσινά, γάλα/γιαούρτι, αυγά, τυρί, λαχανικά, φρούτα, ξηροί καρποί, λεμόνι/ξύδι, όσπρια, δημητριακά/ζυμαρικά/πατάτες, γλυκά, πατατάκια και παρεμφερή σνακ) και ροφημάτων (αναψυκτικά, αλκοόλ) κατά τη διάρκεια του προηγούμενου χρόνου. Επίσης συμπεριλήφθηκαν ερωτήσεις για τον τρόπο μαγειρέματος των τροφών (βραστό, τηγανητό, ψητό, στα κάρβουνα). Οι απαντήσεις δίδονταν σε 3 προκαθορισμένες απαντήσεις: περισσότερο, ίδιο, λιγότερο. Οι ανοιχτού τύπου ερωτήσεις χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση της

ημερήσιας κατανάλωσης φρούτων και λαχανικών. Το ερωτηματολόγιο έχει τίτλο «Διατροφικές Συνήθειες - Επανελέγχος» (βλ. παράρτημα ΙΙΙ) και συμπληρώθηκε από τις ασθενείς των δύο ΗΤ ομάδων, κατά τον επανελέγχο.

#### **8.4 ΚΛΙΜΑΚΑ ZUNG**

Όλες οι συμμετέχουσες κατά την ένταξη τους στη μελέτη συμπλήρωσαν την κλίμακα Zung. Η κλίμακα Zung είναι σχεδιασμένη από τον William W.K. Zung και χρησιμοποιείται για την εκτίμηση του επιπέδου κατάθλιψης σε ασθενείς με διαγνωσμένη καταθλιπτική διαταραχή καθώς επίσης και για την ανίχνευση πρώιμων συμπτωμάτων κατάθλιψης στον γενικό πληθυσμό [189]. Το ερωτηματολόγιο συμπληρώνεται από τον ίδιο τον ασθενή και περιέχει 20 ερωτήσεις που αφορούν ψυχολογικά και σωματικά συμπτώματα τα οποία συσχετίζονται με την κατάθλιψη. Οι 10 ερωτήσεις είναι διατυπωμένες θετικά ενώ οι υπόλοιπες 10 αρνητικά. Ο ασθενής αναλόγως της συχνότητας με την οποία βιώνει το κάθε σύμπτωμα επιλέγει την αντίστοιχη απάντηση: καθόλου, μερικές φορές, συχνά, πάντα. Κάθε ερώτηση βαθμολογείται από το 1 έως το 4 αναλόγως της απάντησης και το άθροισμα της βαθμολογίας όλων των απαντήσεων συνιστά το ZDRS score. Τα τελικά αποτελέσματα του ZDRS score κυμαίνονται από 20 έως 80 και χωρίζονται σε 4 κατηγορίες. Τιμές ZDRS score από 20 έως 44 θεωρούνται φυσιολογικές, τιμές από 45 έως 59 είναι ενδεικτικές ελάσσονος καταθλιπτικής διαταραχής, τιμές από 60 έως 69 είναι ενδεικτικές μείζονος καταθλιπτικής διαταραχής, ενώ τιμές πάνω 70 είναι ενδεικτικές σοβαρής καταθλιπτικής διαταραχής [189, 190].

#### **8.5 ΜΕΤΡΗΣΗ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΚΩΝ ΟΡΜΟΝΩΝ**

Η μέτρηση των θυρεοειδικών ορμονών πραγματοποιήθηκε σε δείγματα ορού αίματος. Λήφθηκε δείγμα αίματος από όλες τις συμμετέχουσες μέσω φλεβοκέντησης μεταξύ 08:00 - 09:00 π.μ. μετά από ολονύκτια νηστεία. Τα δείγματα φυγοκεντρήθηκαν και ο όρος διατηρήθηκε κατεψυγμένος στους -20 °C

για μικρό χρονικό διάστημα έως ότου να πραγματοποιηθούν οι αναλύσεις. Μετρήθηκαν η θυρεοειδοτρόπος ορμόνη (TSH), η ελεύθερη θυροξίνη (FT4), η τριϊωδοθυρονίνη (T3), τα αντιθυρεοειδικά αντισώματα έναντι της θυρεοειδικής υπεροξειδάσης (anti-TPO), τα αντιθυρεοειδικά αντισώματα έναντι της θυρεοσφαιρίνης (anti-TG) στον ορό. Οι τιμές αναφοράς για τους παραπάνω προσδιορισμούς ήταν TSH: 0.4-4.0  $\mu$ UI/ml, FT4: 9-20.5 pmol/L, T3: 0.7-1.8 ng/ml, anti-TPO<30 U/L, anti-TG<40 U/L. Οι μετρήσεις έγιναν με την ανοσομετρική μέθοδο χημειοφωταύγειας. Χρησιμοποιήθηκε ο αυτόματος ανοσολογικός αναλυτής DPC IMMULITE 2000 Los Angeles, USA της εταιρείας Siemens. Με τον ίδιο αναλυτή IMMULITE 2000 μετρήθηκαν η γλυκόζη νηστείας με τιμές αναφοράς 70-120 mg/dL και η υψηλής ευαισθησίας CRP (hsCRP) με τιμές αναφοράς <3 mg/L.

## **8.6 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ**

Το επίπεδο ολικών οξειδωμένων λιπιδίων στον ορό (total oxidative status-TOS) χρησιμοποιήθηκαν ως δείκτης του οξειδωτικού στρες. Η μέτρηση του TOS έγινε με τη φωτομετρική μέθοδο για τον καθορισμό της ολικής οξειδωτικής κατάστασης/ικανότητας – TOS/TOC - EDTA-πλάσματος, ορού και άλλων βιολογικών υλικών. Χρησιμοποιήθηκε το PerOx - (TOS/TOC) kit της εταιρείας Immundiagnostik. Η μέθοδος ορίζει ως «χαμηλό οξειδωτικό στρες» τιμές <180  $\mu$ mol/L, «μέτριο οξειδωτικό στρες» τιμές από 180 μέχρι και 310  $\mu$ mol/L και «υψηλό οξειδωτικό στρες» τιμές >310  $\mu$ mol/L [191-193].

## **8.7 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ DNA**

Η απομόνωση του DNA έγινε από δείγμα περιφερικού αίματος χρησιμοποιώντας το FlexiGene DNA kit της εταιρείας Qiagen [194, 195].

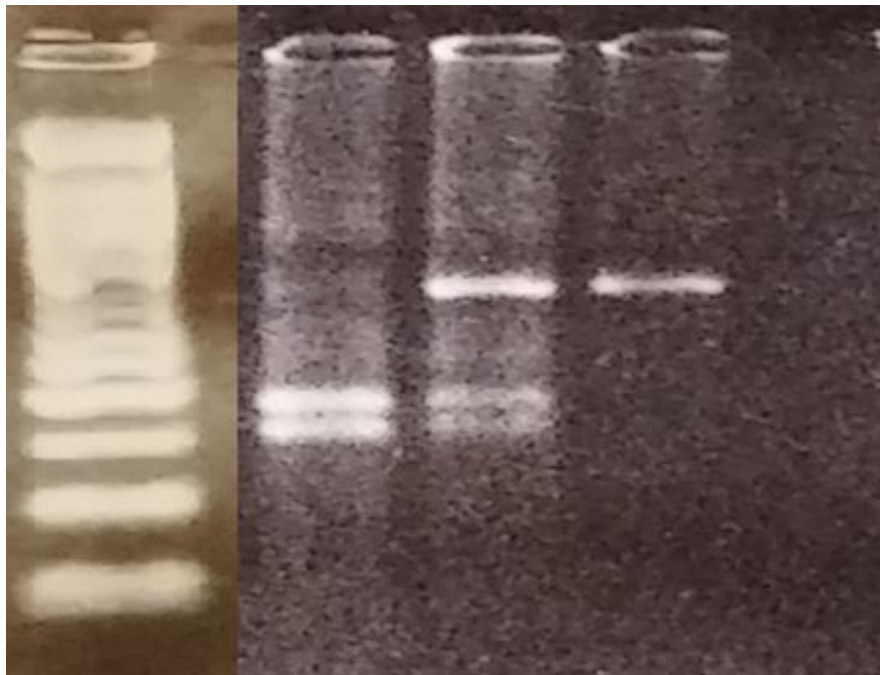
## 8.8 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ -429T>C ΚΑΙ -374T>A ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *RAGE*

Μελετήθηκαν οι πολυμορφισμοί -429T>C και -374T>A του γονιδίου *RAGE*, σε DNA από δείγμα περιφερικού αίματος χρησιμοποιώντας τη μέθοδο Restriction Fragment Length Polymorphism - πολυμορφία ως προς τη θέση αναγνώρισης των περιοριστικών ενζύμων (RFLP). Για την ενίσχυση της περιοχής που περιέχει και τις δύο πολυμορφίες χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθοι εκκινητές: πρόσθιος (forward) εκκινητής 5'-GGGGGCAGTTCTCTCCTC-3' και ανάστροφος (reverse) εκκινητής 5'-TCAGAGCCCCCGATCCTATTT-3'. Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) πραγματοποιήθηκε σε δείγμα όγκου 50  $\mu$ L και περιείχε 25 pmol από κάθε εκκινητή. Η θερμοκρασία πρόσδεσης των εκκινητών ήταν 59.5°C (45sec) και το τελικό στάδιο επέκτασης πραγματοποιήθηκε στους 72°C για 7 λεπτά. Η πέψη του προϊόντος της PCR πραγματοποιήθηκε σε δύο διαφορετικά διαλύματα: στο πρώτο το περιοριστικό ένζυμο *AluI* για τον πολυμορφισμό -429T>C, με επώαση για 24 ώρες στους 37°C και στο δεύτερο με το ένζυμο *MfeI* για τον πολυμορφισμό -374T>A, επίσης με επώαση για 24 ώρες στους 37°C.

Τα προϊόντα της κάθε αντίδρασης διαχωρίστηκαν με ηλεκτροφόρηση σε γέλη αγαρόζης 3% στην οποία είχε προστεθεί βρωμιούχο αιθίδιο. Η ανάγνωση του αποτελέσματος έγινε με τη βοήθεια υπεριώδους ακτινοβολίας. Το περιοριστικό ένζυμο *AluI* αναγνωρίζει και αποκόπτει το μεταλλαγμένο αλληλίο. Έτσι στην περίπτωση του μη μεταλλαγμένου αλληλίου (wild type, 429T), στην ηλεκτροφόρηση εμφανίζεται μόνο το προϊόν της PCR (344 bp), ενώ στην περίπτωση παρουσίας του πολυμορφισμού -429T>C, εμφανίζονται τα δύο τμήματα που προκύπτουν από την πέψη μεγέθους 215 bp και 129 bp το καθένα (Εικόνα 8.1).

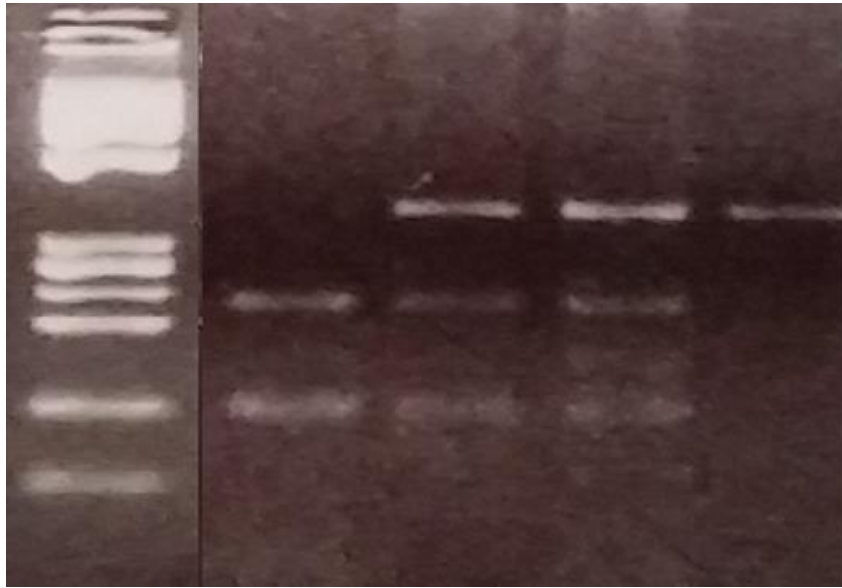
Αντίθετα, το περιοριστικό ένζυμο *MfeI* αναγνωρίζει και αποκόπτει το μη μεταλλαγμένο αλληλίο (wild type, -374T). Κατά συνέπεια, στην περίπτωση του μη μεταλλαγμένου αλληλίου, μετά την πέψη προκύπτουν δύο τμήματα μεγέθους 256 bp και 88 bp το καθένα, ενώ όταν υπάρχει ο πολυμορφισμός -374T>A, λαμβάνεται μόνο το προϊόν της PCR, μεγέθους 344 bp (Εικόνα 8.2) [171].

Οι γονότυποι των δύο υπό μελέτη πολυμορφισμών του *RAGE* (-429T>C, -374T>A), ομαδοποιούνται σε δύο κατηγορίες: τους μη μεταλλαγμένους (wild type, -429TT, -374TT) και τους φορείς, οι οποίοι περιλαμβάνουν τους ομόζυγους και ετερόζυγους γονότυπους για την κάθε πολυμορφία (-429TC/CC, -374TA/AA).



Εικόνα 8.1 Προϊόντα PCR μετά από πέψη με το περιοριστικό ένζυμο *AluI* (πολυμορφισμός -429T>C, θέση 1: marker, θέση 2: ομόζυγος για την πολυμορφία, θέση 3: ετερόζυγος, θέση 4: απουσία πολυμορφίας - wild type).





Εικόνα 8.2 Προϊόντα PCR μετά από πέψη με το περιοριστικό ένζυμο *MfeI* (πολυμορφισμός -374T>A, θέση 1:marker, θέση 2:wild type, θέσεις 3&4: ετερόζυγο, θέση 5: ομόζυγο).

## 8.9 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Για συνεχείς μεταβλητές οι τιμές περιγράφονται με τη μέση τιμή και την τυπική απόκλιση. Για κατηγορικές μεταβλητές αναφέρεται η απόλυτη και ποσοστιαία κατανομή συχνοτήτων. Οι κατανομές συχνοτήτων των γονοτύπων των δύο υπό μελέτη πολυμορφισμών στην ομάδα ελέγχου ελέγχθηκαν έναντι των αναμενόμενων συχνοτήτων με τη χρήση της δοκιμασίας  $\chi^2$ . Παρομοίως, η κατανομή των φορέων έναντι των wild type για τους δυο πολυμορφισμούς μεταξύ των τριών ομάδων ελέγχθηκε με την δοκιμασία  $\chi^2$  καθώς και με τη δοκιμασία  $\chi^2$  για τάσεις (chi square for trend). Τα ποσοστά των φορέων των πολυμορφισμών αναφέρονται με διαστήματα εμπιστοσύνης 95% (ΔΕ). Επίσης δεδομένου του δείγματος και των αναφερόμενων συχνοτήτων πραγματοποιήθηκε post-hoc ανάλυση ισχύος, για τον υπολογισμό της παρατηρούμενης ισχύος της μελέτης.

Οι τιμές των θυρεοειδικών ορμονών και αντισωμάτων καθώς και τα επίπεδα του TOS για τις τρεις ομάδες αναφέρονται με τις διάμεσες τιμές τους και το αντίστοιχο ενδοτεταρτημοριακό εύρος (EE) καθώς καμία παράμετρος δεν ακολουθεί κανονική κατανομή. Επίσης συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων και ανά ζεύγη έγιναν με τα μη παραμετρικά τεστ των Kruskal-Wallis και Mann-Whitney αντίστοιχα. Η διακριτική ικανότητα του TOS για τις δύο HT ομάδες ελέγχθηκε με την ανάλυση Receiver Operating Characteristics (ROC) αναφέροντας το εμβαδόν κάτω από την καμπύλη (Area Under Curve, AUC) και ελέγχοντας αν η τιμή του είναι σημαντικά μεγαλύτερη του 0.5. Ακολούθως ανευρέθη η διαχωριστική τιμή του TOS η οποία αποδίδει την καλύτερη ισορροπία μεταξύ ευαισθησίας και ειδικότητας (sensitivity and specificity). Για τον υπολογισμό του λόγου συμπληρωματικών πιθανοτήτων - odds ratio (OR) με 95% ΔΕ δημιουργήθηκε πίνακας συνάφειας 2x2 των συχνοτήτων τιμών TOS πάνω και κάτω από αυτήν τη διαχωριστική τιμή έναντι των ομάδων HT χωρίς και υπό θεραπεία. Επίσης τα ORs και το μοντέλο σταδιακής λογιστικής παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκαν για την εκτίμηση τη συνδυαστικής επίδρασης των παραγόντων κινδύνου στην εμφάνιση της HT υπό θεραπεία στις γυναίκες με HT.

Οι ίδιες μέθοδοι χρησιμοποιήθηκαν στην περαιτέρω ανάλυση των πιθανών συσχετίσεων του TOS με το ΔΜΣ, τις διατροφικές συνήθειες, τη συστηματική αϋπνία και την hsCRP. Οι παράγοντες που επιβεβαιώθηκε ότι έχουν στατιστικά σημαντική επίδραση στα επίπεδα του TOS εισήχθησαν σε μοντέλο σταδιακής λογιστικής παλινδρόμησης με σκοπό να εξακριβωθεί κατά πόσον η επίδραση των παραγόντων στο TOS είναι ανεξάρτητη η μία από τις άλλες. Όσον αφορά στο hsCRP, επειδή οι τιμές δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή, η σύγκριση μεταξύ των δύο ομάδων του TOS έγινε με το μη παραμετρικό τεστ των Mann-Whitney. Οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του SPSS V.22. Το επίπεδο σημαντικότητας ορίστηκε στο 0.05.

## 9. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### 9.1 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Το δείγμα της παρούσας διδακτορικής διατριβής αποτελείται από 317 ευθυρεοειδικές γυναίκες με μέση ηλικία  $44.8 \pm 13.0$  έτη και  $\Delta\text{Μ}\Sigma$   $26.0 \pm 5.5$  Kg/m<sup>2</sup>. Ο πίνακας 9.1 παρουσιάζει τα δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης. Αναλυτικά παρουσιάζονται οι μέσες τιμές ηλικίας,  $\Delta\text{Μ}\Sigma$ , WTH, ΑΔΠ, ΑΣΠ, TSH, FT4, T3, anti-TPO, anti-TG, γλυκόζης νηστείας και hsCRP ανά ομάδα γυναικών (ομάδα ελέγχου, HT χωρίς θεραπεία, HT υπό θεραπεία). Τα επίπεδα των anti-TPO και anti-TG ήταν υψηλότερα στις ομάδες HT σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου ( $p < 0.05$ ). Από στις συμμετέχουσες στην μελέτη 21 γυναίκες είχαν διαβήτη τύπου 2, και ήταν ομοιόμορφα κατανομημένες στην ομάδα ελέγχου και στις ομάδες HT. Επίσης 38 γυναίκες είχαν ακόμη ένα αυτοάνοσο νόσημα έκτος από την θυρεοειδίτιδα Hashimoto.

Πίνακας 9.1 Δημογραφικά, κλινικά και εργαστηριακά χαρακτηριστικά του πληθυσμού της μελέτης. Μέσες τιμές ( $\pm$  τυπικές αποκλίσεις) ανά ομάδα.

	Ομάδα ελέγχου	HT χωρίς θεραπεία	HT υπό θεραπεία
N	99	116	102
Ηλικία (έτη)	$42.2 \pm 13.4$	$45.1 \pm 13.7$	$47.0 \pm 11.4$
$\Delta\text{Μ}\Sigma$ (Kg/m <sup>2</sup> )	$26.1 \pm 5.6$	$25.0 \pm 5.0$	$27.1 \pm 5.9$
WTH (ratio)	$0.78 \pm 0.08$	$0.78 \pm 0.07$	$0.79 \pm 0.08$
ΑΔΠ (mmHg)	$70.4 \pm 8.5$	$70.8 \pm 8.5$	$69.3 \pm 9.4$
ΑΣΠ (mmHg)	$112.7 \pm 13.5$	$113.6 \pm 13.1$	$113.7 \pm 14.5$
TSH ( $\mu\text{UI/ml}$ )	$1.9 \pm 0.9$	$2.4 \pm 1.6$	$2.0 \pm 1.6$
FT4 (pmol/L)	$13.6 \pm 2.1$	$14.0 \pm 2.6$	$15.5 \pm 2.4$
T3 (ng/ml)	$1.1 \pm 0.2$	$1.1 \pm 0.2$	$1.0 \pm 0.2$
anti-TPO (U/L)	$5.3 \pm 8.8$	$343.2 \pm 341.3$	$432.8 \pm 1014.1$
anti-TG (U/L)	$4.5 \pm 8.5$	$109.6 \pm 250.1$	$391.7 \pm 780.2$
Γλυκόζη (mg/dL)	$96.1 \pm 12.1$	$99.5 \pm 29.3$	$96.6 \pm 29.2$
hsCRP (mg/L)	$1.9 \pm 2.6$	$1.8 \pm 3.2$	$3.1 \pm 3.5$

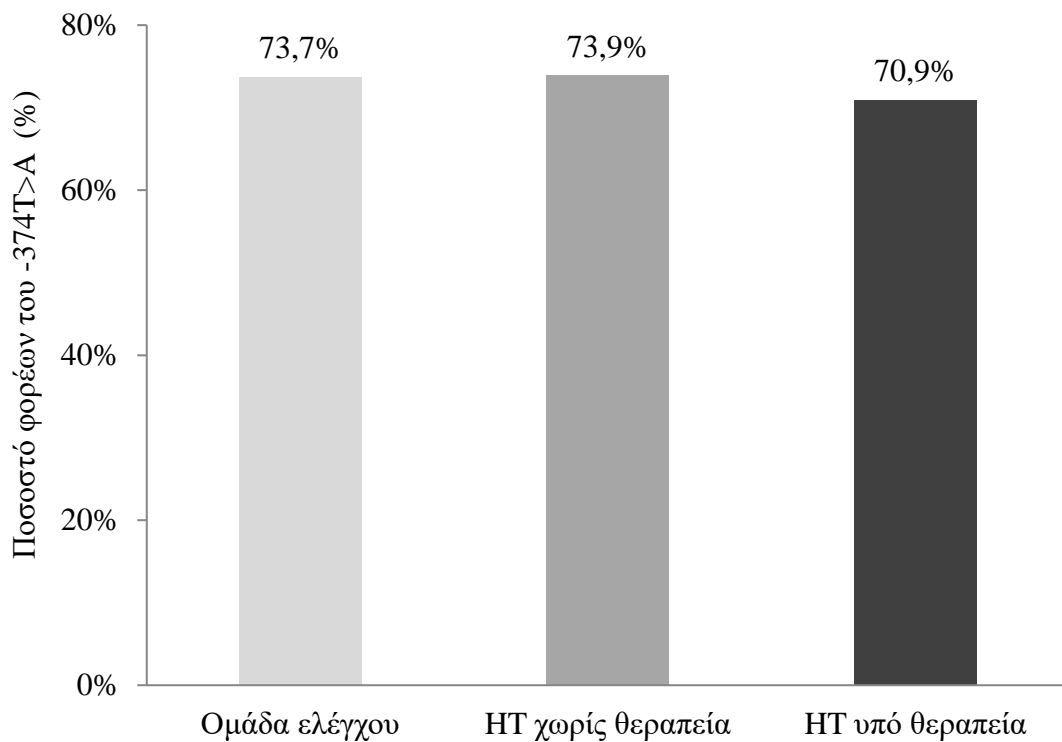
## 9.2 ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΓΟΝΟΤΥΠΩΝ ΚΑΙ ΑΛΛΗΛΙΩΝ ΩΣ ΠΡΟΣ ΤΟΥΣ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥΣ ΤΟΥ ΓΟΝΙΔΙΟΥ *RAGE* ΣΤΟΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Οι συχνότητες των γονοτύπων και για τους δύο υπό μελέτη πολυμορφισμούς, -429T>C και -374T>A του γονιδίου του υποδοχέα RAGE, ήταν εντός των ορίων της ισορροπίας κατά Hardy-Weinberg. Αναλυτικά για τον πολυμορφισμό -429T>C,  $\chi^2=2.39$ ,  $df=1$ ,  $p=0.122$  και για τον πολυμορφισμό -374T>A,  $\chi^2=0.04$ ,  $df=1$ ,  $p=0.839$ . Ο πίνακας 9.2 παρουσιάζει την κατανομή των γονοτύπων και των αλληλίων για τους πολυμορφισμούς -429T>C και -374T>A του γονιδίου *RAGE* ανά ομάδα (HT υπό θεραπεία, HT χωρίς θεραπεία, Ομάδα ελέγχου).

Πίνακας 9.2. Κατανομή γονοτύπων και αλληλίων για τους πολυμορφισμούς -429T>C και -374T>A του γονιδίου *RAGE* ανά ομάδα.

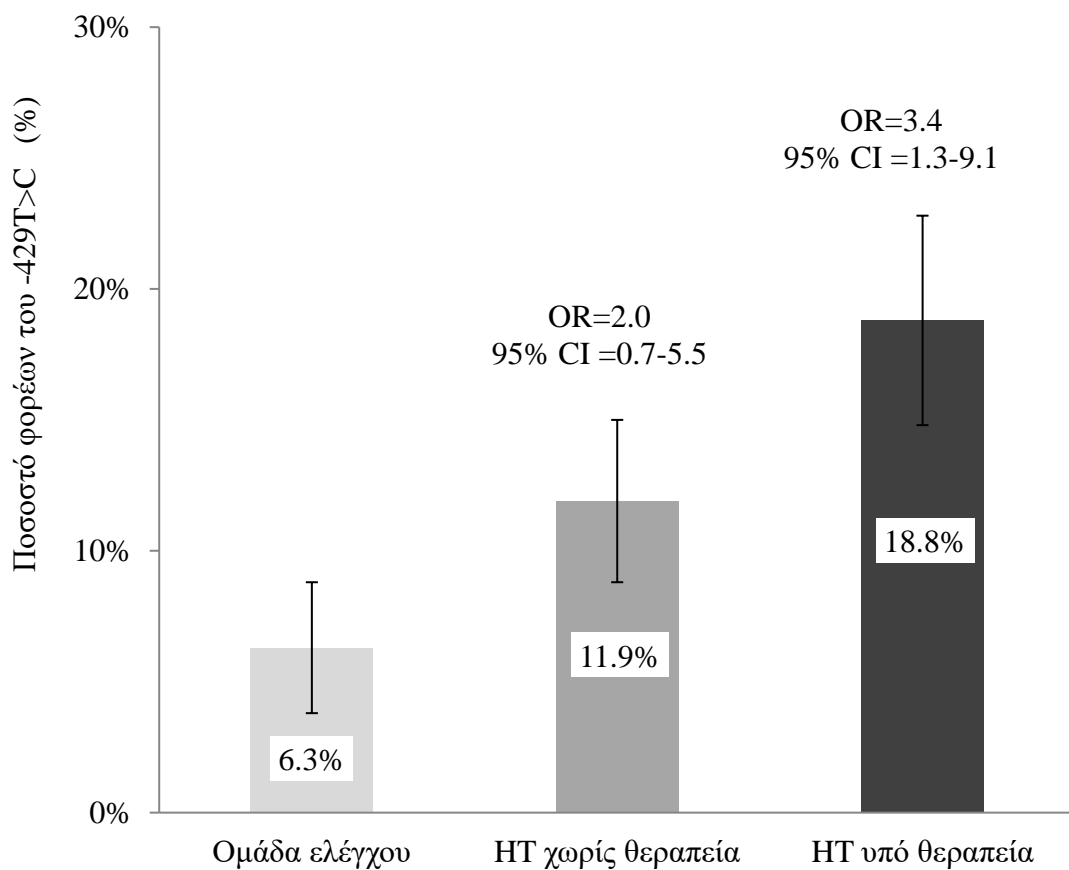
	Γονότυποι/ Αλληλία	HT υπό θεραπεία N (%)	HT χωρίς θεραπεία N (%)	Ομάδα ελέγχου N (%)
<i>AluI</i>	TT	78 (81.2%)	96 (88.1%)	89 (93.7%)
<i>Rs1800625</i>	TC	16 (16.7%)	12 (11.0%)	6 (6.3%)
-429T>C	CC	2 (2.1%)	1 (0.9%)	0 (0.0%)
	T αλληλίο	172 (89.6%)	204 (93.6%)	184 (96.8%)
	C αλληλίο	20 (10.4%)	14 (6.4%)	6 (3.2%)
<i>MfeI</i>	TT	28 (28.3%)	29 (26.6%)	25 (27.2%)
<i>Rs1800624</i>	TA	48 (48.5%)	55 (50.5%)	45 (48.9%)
-374T>A	AA	23 (23.2%)	25 (22.9%)	22 (23.9%)
	T αλληλίο	104 (52.5%)	113 (51.8%)	95 (51.6%)
	A αλληλίο	94 (47.5%)	105 (48.2%)	89 (48.4%)

Το διάγραμμα 9.1 απεικονίζει το ποσοστό των φορέων του πολυμορφισμού -374T>A στις τρεις ομάδες. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην κατανομή των φορέων αυτού του πολυμορφισμού ανάμεσα στην ομάδα ελέγχου και στις ομάδες ΗΤ χωρίς θεραπεία και ΗΤ υπό θεραπεία (73.7%, 73.9% και 70.8% αντίστοιχα,  $p=NS$ ).



Διάγραμμα 9.1. Ποσοστό φορέων του πολυμορφισμού -374T>A στις τρεις ομάδες.

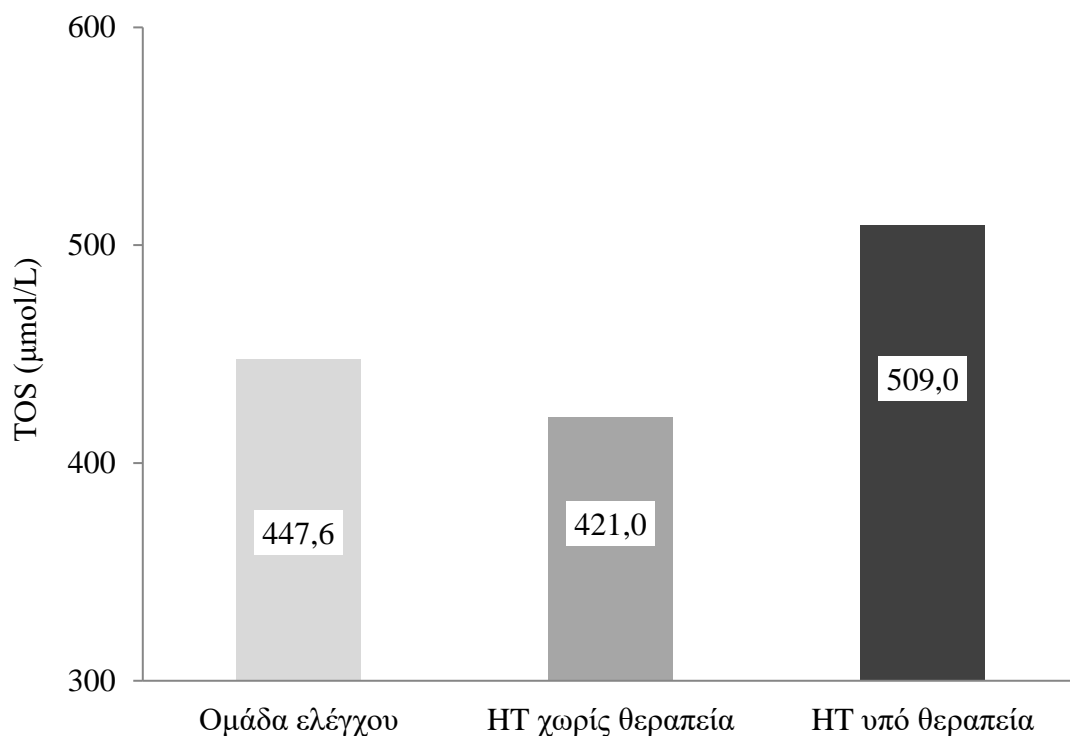
Το διάγραμμα 9.2 απεικονίζει το ποσοστό των φορέων του πολυμορφισμού -429T>C στις τρεις ομάδες. Το ποσοστό αυξάνεται από 6/95 (6.3%) στην ομάδα ελέγχου σε 13/109 (11.9%) στην ομάδα HT χωρίς θεραπεία και σε 18/96 (18.8%) στην ομάδα HT υπό θεραπεία ( $\chi^2=6.85$   $df=2$ ,  $p=0.032$ ). Η τάση είναι ακόμα πιο σημαντική ( $\chi^2$  for trend,  $df=1$ ,  $p=0.009$ ). Δεδομένου του μεγέθους του δείγματος και των αναφερόμενων διαφορών στα ποσοστά των φορέων, η παρατηρούμενη ισχύς της μελέτης είναι 0.782.



Διάγραμμα 9.2 Ποσοστό των φορέων του πολυμορφισμού -429T>C στις τρεις ομάδες. Οι γραμμές σφάλματος παρουσιάζουν τα 95% ΔΕ των ποσοστών. Τα odds ratios (φορείς/wild) για τις δύο HT ομάδες ελέγχθηκαν έναντι της ομάδας ελέγχου.

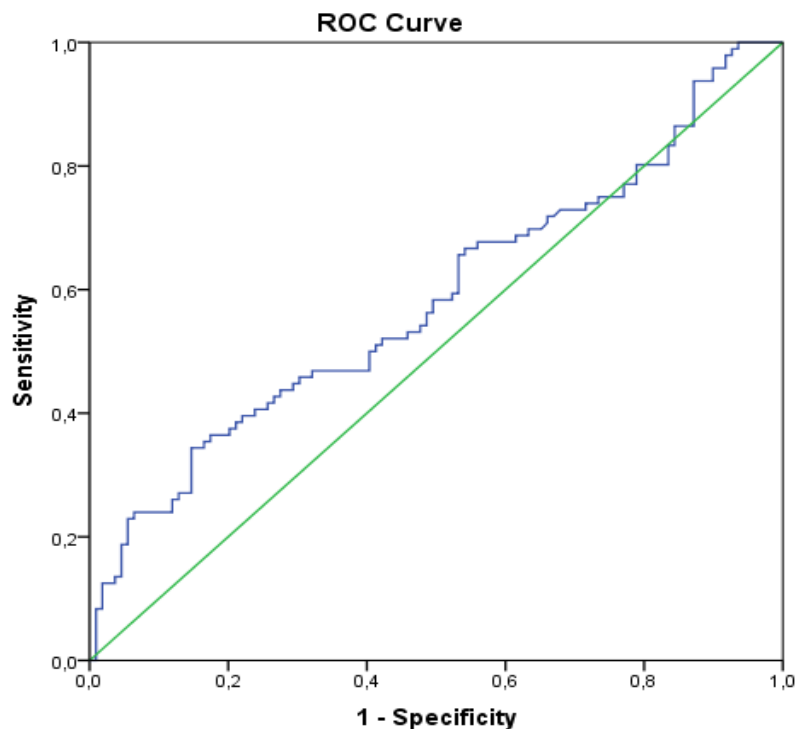
### 9.3 ΕΠΙΠΕΔΑ ΟΞΕΙΔΩΤΙΚΟΥ ΣΤΡΕΣ (ΤΟΣ) ΣΤΟΝ ΠΛΗΘΥΣΜΟ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Το διάγραμμα 9.3 απεικονίζει τις μέσες τιμές του ΤΟΣ για τις τρεις ομάδες (ΗΤ υπό θεραπεία  $509.0 \pm 308.2$   $\mu\text{mol/L}$ , ΗΤ χωρίς θεραπεία  $421.0 \pm 238.5$   $\mu\text{mol/L}$ , ομάδα ελέγχου  $447.6 \pm 247.6$   $\mu\text{mol/L}$ ). Τα επίπεδα ΤΟΣ ήταν σημαντικά υψηλότερα στις γυναίκες ΗΤ υπό θεραπεία σε σύγκριση με την ομάδα ΗΤ χωρίς θεραπεία και την ομάδα ελέγχου (Mann-Whitney test,  $p < 0.05$ ). Το κάπνισμα και η κατανάλωση αλκοόλ δεν διέφεραν ανάμεσα στις ομάδες και δεν είχαν επίδραση στα επίπεδα του ΤΟΣ.



Διάγραμμα 9.3. Μέσες τιμές ΤΟΣ για τις τρεις ομάδες.

Στα πλαίσια της διερεύνησης του ρόλου του TOS ως παράγοντα κινδύνου για την πρόοδο της θυρεοειδίτιδας Hashimoto, έγινε ROC ανάλυση έτσι ώστε να διερευνηθεί αν το TOS έχει σημαντική ικανότητα να διακρίνει μεταξύ των δύο HT ομάδων. Το διάγραμμα 9.4 απεικονίζει την καμπύλη που προέκυψε από τη ROC ανάλυση και φαίνεται ότι το TOS έχει σημαντική ικανότητα να διακρίνει μεταξύ των δύο HT ομάδων (AUC=0.583 (0.040),  $p<0.05$ ).



Διάγραμμα 9.4. Καμπύλη της ROC ανάλυσης για τη διακριτική ικανότητα του TOS.

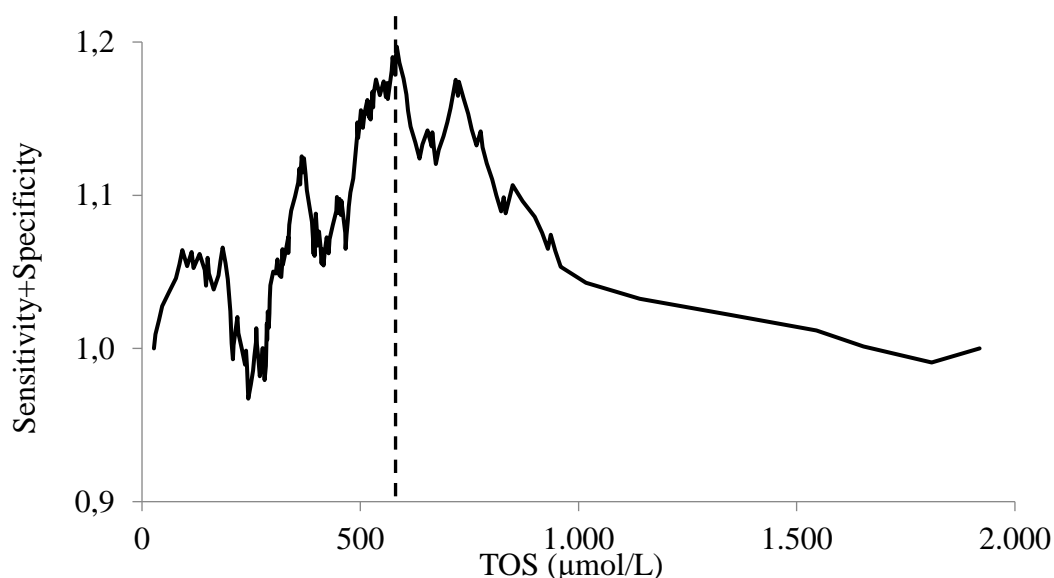
Το διάγραμμα 9.5 απεικονίζει τη διαδικασία ανεύρεσης της διαχωριστικής τιμής του TOS η οποία προσφέρει την καλύτερη ισορροπία μεταξύ ευαισθησίας και ειδικότητας. Η τιμή αυτή ανέρχεται στα 590  $\mu\text{mol/L}$ .

Με βάση την ανευρεθείσα διαχωριστική τιμή του TOS δημιουργήθηκε ο παρακάτω πίνακας συνάφειας 2X2 (Πίνακας 9.3). Η συμπληρωματική πιθανότητα (odds) HT υπό/χωρίς θεραπεία σε τιμές TOS κάτω από τη διαχωριστική τιμή ήταν μόνο  $64/93=0.69$  αλλά αυξάνεται σε  $32/16=2$  για τιμές



TOS πάνω από αυτή τη διαχωριστική τιμή. Αυτό αποδίδει OR=2.9 (95% CI=1.5-5.7).

Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των επιπέδων anti-TG και anti-TPO στις ομάδες γυναικών με ΗΤ, πάνω και κάτω από την διαχωριστική τιμή TOS. Επίσης δεν παρατηρήθηκαν συσχετίσεις μεταξύ της διαχωριστικής τιμής του TOS και της κατανομής των δύο μελετώμενων πολυμορφισμών.



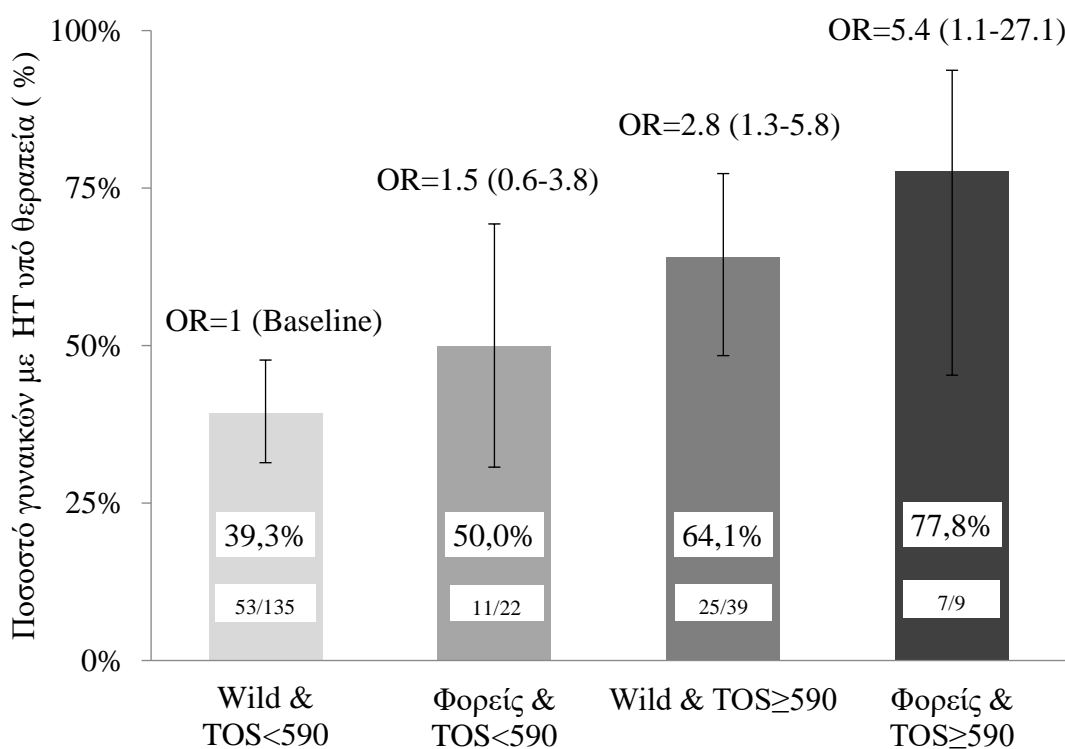
Διάγραμμα 9.5. Ανέυρεση της διαχωριστικής τιμής του TOS η οποία προσφέρει το καλύτερο trade-off μεταξύ ευαισθησίας και ειδικότητας

Πίνακας 9.3. Πίνακας συνάφειας 2X2 των συχνοτήτων των γυναικών με τιμές TOS πάνω και κάτω από τη διαχωριστική τιμή σε σχέση με την ομάδα ΗΤ.

TOS (μmol/L)	Ομάδα ασθενών με ΗΤ		Σύνολο
	Χωρίς θεραπεία	Υπό θεραπεία	
TOS<590	93 (59.2%)	64 (40.8%)	167
TOS≥590	16 (33.3%)	32 (66.7%)	48
Σύνολο	117 (54.9%)	96 (45.1%)	213

#### 9.4 ΣΥΝΔΥΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΤΟΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ -429T>C ΣΤΗΝ ΕΞΕΛΙΞΗ ΤΗΣ ΘΥΡΕΟΕΙΔΙΤΙΔΑΣ HASHIMOTO

Το διάγραμμα 9.6 απεικονίζει την επίδραση των δύο παραγόντων κινδύνου, δηλαδή της ύπαρξης φορέων του πολυμορφισμού -429T>C και επιπέδων TOS πάνω από 590  $\mu\text{mol/L}$  (αυξημένο TOS), στην επίπτωση της ΗΤ υπό θεραπεία στον πληθυσμό των γυναικών με ΗΤ. Η παρουσία του πολυμορφισμού -429T>C κατά την απουσία υψηλών επιπέδων TOS δεν αυξάνει σημαντικά την πιθανότητα έναντι της baseline (OR=1.5). Αντιθέτως η παρουσία υψηλών επιπέδων TOS κατά την απουσία του πολυμορφισμού -429T>C αυξάνει το odds ratio σε 2.8. Επιπλέον η ταυτόχρονη επίδραση και των δύο παραγόντων κινδύνου αυξάνει το odds ratio σε 5.4.



Διάγραμμα 9.6. Ποσοστό γυναικών με ΗΤ υπό θεραπεία προς το συνολικό αριθμό των γυναικών με ΗΤ ανάλογα με τον γονότυπο του πολυμορφισμού -429T>C (φορείς/wild) και επίπεδα TOS (πάνω/κάτω από 590  $\mu\text{mol/L}$ ). Οι γραμμές σφάλματος υποδηλώνουν τα 95% ΔΕ των ποσοστών. Το baseline OR ορίζεται ως το υποσύνολο των γυναικών που δεν είναι φορείς του πολυμορφισμού -429T>C και έχουν χαμηλά επίπεδα TOS (<590  $\mu\text{mol/L}$ ).

## 9.5 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΥΝ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟ ΤΟΣ

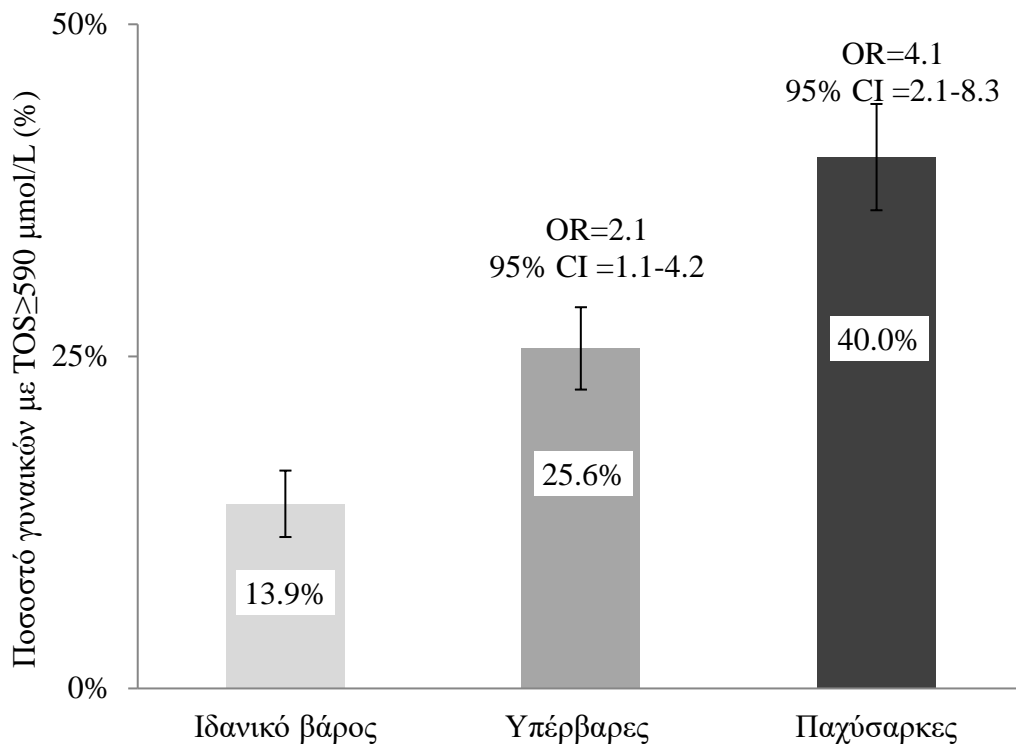
### 9.5.1 Δείκτης μάζας σώματος

Ο δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ), ένας δείκτης ενδεικτικός για το ποσοστό λίπους, παρουσιάζει στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τις τιμές του ΤΟΣ (συντελεστής συσχέτισης κατά Pearson  $r=0.265$ ,  $p<0.01$ ). Αυτό επιβεβαιώνεται και από τη στατιστικά σημαντική διαφορά των μέσων τιμών του ΤΟΣ σε σχέση με την τιμή του ΔΜΣ (Πίνακας 9.4,  $F(2,283)=9.8$ ,  $p<0.01$ ). Με βάση την τιμή του ΔΜΣ οι συμμετέχουσες στην μελέτη κατηγοριοποιήθηκαν, με βάση τα παγκοσμίως αποδεκτά όρια, στις παρακάτω ομάδες: Ιδανικό βάρος (ΔΜΣ 18.5-24.9 Kg/m<sup>2</sup>), Υπέρβαρες (ΔΜΣ 25-29.9 Kg/m<sup>2</sup>), Παχύσαρκες (ΔΜΣ  $\geq 30$  Kg/m<sup>2</sup>) [96].

Πίνακας 9.4. Μέσες τιμές του ΤΟΣ ανάλογα με την ομάδα ΔΜΣ

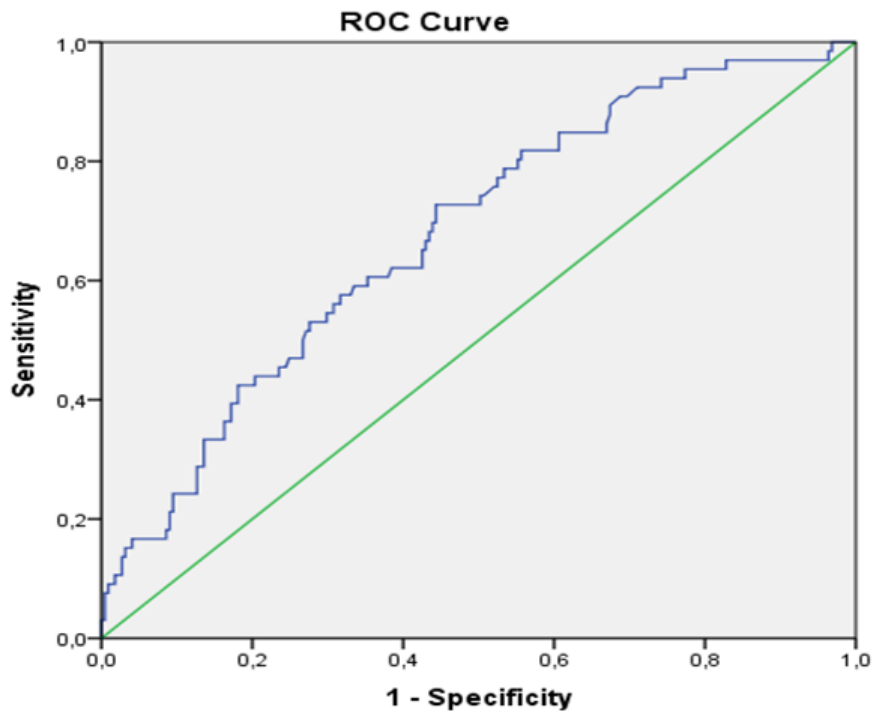
Ομάδα ΔΜΣ	N	TOS (μmol/L)	Τυπική απόκλιση
Ιδανικό βάρος	144	396.7	247.3
Υπέρβαρες	82	467.8	219.1
Παχύσαρκες	60	560.6	269.3

Το διάγραμμα 9.7 απεικονίζει το ποσοστό των γυναικών με αυξημένο ΤΟΣ (ΤΟΣ $\geq 590$  μmol/L) στις ομάδες ΔΜΣ. Το ποσοστό αυτό αυξάνεται από 13.9% στην ομάδα ιδανικού βάρους σε 25.6% στην ομάδα υπέρβαρων γυναικών και σε 40.0% στην ομάδα παχύσαρκων γυναικών ( $\chi^2=17.0$ , β.ε.=2,  $p<0.01$ ). Τα odds ratios για την ομάδα υπέρβαρων και παχύσαρκων γυναικών ελέγχθηκαν έναντι της ομάδας ιδανικού βάρους και παρατηρήθηκε αύξηση από 2.1 για την ομάδα υπέρβαρων γυναικών σε 4.1 για την ομάδα των παχύσαρκων γυναικών.



Διάγραμμα 9.7. Ποσοστό των γυναικών με TOS ≥ 590 μmol/L στις ομάδες ΔΜΣ. Οι γραμμές σφάλματος παρουσιάζουν τα 95% ΔΕ των ποσοστών.

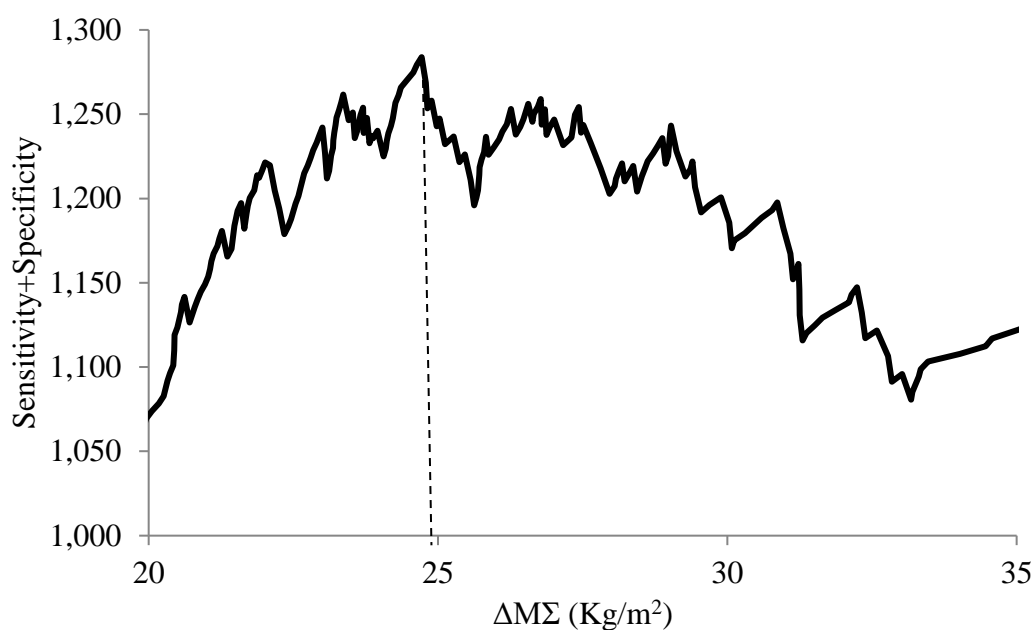
Στα πλαίσια της διερεύνησης του ρόλου του ΔΜΣ ως παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη υψηλών επιπέδων TOS, έγινε ROC ανάλυση έτσι ώστε να διερευνηθεί αν ο ΔΜΣ έχει σημαντική ικανότητα να διακρίνει μεταξύ των επιπέδων TOS. Το διάγραμμα 9.8 απεικονίζει την καμπύλη που προέκυψε από τη ROC ανάλυση και φαίνεται ότι ο ΔΜΣ έχει σημαντική ικανότητα να διακρίνει μεταξύ επιπέδων TOS (AUC=0.677 (0.037),  $p < 0.00$ ).



Διάγραμμα 9.8. Καμπύλη της ROC ανάλυσης για τη διακριτική ικανότητα του ΔΜΣ.

Το διάγραμμα 9.9 απεικονίζει τη διαδικασία ανεύρεσης της διαχωριστικής τιμής του ΔΜΣ η οποία προσφέρει την καλύτερη ισορροπία μεταξύ ευαισθησίας και ειδικότητας. Η τιμή αυτή είναι 24.9 Kg/m<sup>2</sup>. Η τιμή αυτή συνιστά τη διαχωριστική τιμή ΔΜΣ μεταξύ γυναικών με ιδανικό βάρος και τις υπέρβαρες και παχύσαρκες.

Με βάση την ανευρεθείσα διαχωριστική τιμή του ΔΜΣ 24.9 Kg/m<sup>2</sup> δημιουργήθηκε ο παρακάτω πίνακας συνάφειας 2X2 (Πίνακας 9.5). Η συμπληρωματική πιθανότητα (odds) TOS κάτω/πάνω από 590 μmol/L σε τιμές ΔΜΣ κάτω από τη διαχωριστική τιμή ήταν 20/124=0.16 αλλά αυξάνεται σε 45/97=0.46 για τιμές ΔΜΣ πάνω από την αυτήν τη διαχωριστική τιμή. Αυτό αποδίδει OR=2.9 (95% CI=1.6-5.2).



Διάγραμμα 9.9. Ανεύρεση της τιμής του ΔΜΣ η οποία προσφέρει το καλύτερο trade-off μεταξύ ευαισθησίας και ειδικότητας.

Πίνακας 9.5. Πίνακας συνάφειας 2Χ2 των συχνοτήτων των γυναικών με τιμές ΔΜΣ πάνω και κάτω από τη διαχωριστική τιμή σε σχέση με την τιμή ΤΟΣ.

ΔΜΣ (Kg/m <sup>2</sup> )	ΤΟΣ (μmol/L)		Σύνολο
	ΤΟΣ<590	ΤΟΣ≥590	
ΔΜΣ<24.9	124 (86.1%)	20 (13.9%)	144
ΔΜΣ≥24.9	97 (68.3%)	45 (31.7%)	142
Σύνολο	221 (77.3%)	65 (22.7%)	286

### 9.5.2 Αϋπνία

Η τέταρτη ερώτηση του ερωτηματολογίου κατάθλιψης Zung αφορούσε τις συνήθειες του ύπνου. Ειδικότερα η διατύπωση της ήταν: «Έχετε προβλήματα ύπνου το βράδυ;» και οι πιθανές απαντήσεις ήταν: «Καθόλου», «Μερικές φορές», «Συχνά», «Πάντοτε». Με βάση τις απαντήσεις είναι προφανές ότι οι γυναίκες που απάντησαν «Πάντοτε» παρουσιάζουν αϋπνία (NAI), ενώ οι γυναίκες που έδωσαν οποιαδήποτε άλλη απάντηση δεν παρουσιάζουν αϋπνία (OXI).

Στον παρακάτω πίνακα συνάφειας 2X2 (Πίνακας 9.6) παρουσιάζονται οι κατανομές των γυναικών με τιμές TOS πάνω/κάτω από την διαχωριστική τιμή (590  $\mu\text{mol/L}$ ) σε σχέση με την ύπαρξη ή όχι αϋπνίας. Η ύπαρξη αϋπνίας αποδίδει  $OR=2.7$  (95% ΔΕ 1.1-6.4), το οποίο σημαίνει ότι γυναίκες με αϋπνία έχουν σχεδόν τριπλάσια συμπληρωματική πιθανότητα να έχουν ψηλά επίπεδα TOS.

Πίνακας 9.6. παρουσιάζει την κατανομή των γυναικών με τιμές TOS πάνω και κάτω από την διαχωριστική τιμή ανάλογα με την ύπαρξη ή όχι αϋπνίας.

Αυπνία	TOS ( $\mu\text{mol/L}$ )	
	TOS<590	TOS $\geq$ 590
NAI	211(77.6%)	61 (22.4%)
OXI	13 (56.5%)	10 (43.5%)

### 9.5.3 Διατροφικές συνήθειες

Μετά από μελέτη του διατροφικού ερωτηματολογίου που συμπλήρωσαν οι συμμετέχουσες διαπιστώθηκε συσχέτιση της κατανάλωσης φρούτων και τσαγιού με τα επίπεδα TOS. Με βάση την ημερήσια κατανάλωση φρούτων οι γυναίκες χωρίστηκαν σε εκείνες που κατανάλωναν τουλάχιστον 2 μερίδες φρούτα εποχής (NAI) και σε εκείνες που κατανάλωναν λιγότερο (OXI). Με

βάση την εβδομαδιαία κατανάλωση τσαγιού οι γυναίκες χωρίστηκαν σε εκείνες που κατανάλωναν πάνω από 2-3 φλυτζάνια τσάι (ΝΑΙ) και σε εκείνες οι οποίες κατανάλωναν λιγότερο (ΟΧΙ).

Στον πίνακα 9.7 απεικονίζονται τα ποσοστά των γυναικών με αυξημένο TOS ( $TOS \geq 590$   $\mu\text{mol/L}$ ) ανάλογα με την κατανάλωση φρούτων και τσαγιού. Η περιορισμένη κατανάλωση φρούτων (<2 μερίδες ημερησίως) αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης αυξημένου TOS και αποδίδει OR 2.6. Παρομοίως, η περιορισμένη κατανάλωση τσαγιού (<2-3 φλυτζάνια εβδομαδιαίως) αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης αυξημένου TOS και αποδίδει OR 1.8.

Πίνακας 9.7. Ποσοστό των γυναικών με αυξημένο TOS ( $TOS \geq 590$   $\mu\text{mol/L}$ ) ανάλογα με την κατανάλωση φρούτων και τσαγιού.

Κατανάλωση	Ποσοστό γυναικών με $TOS \geq 590$ $\mu\text{mol/L}$ (%)			
	ΝΑΙ	ΟΧΙ	OR	95% ΔΕ
Φρούτα $\geq 2$ ημερησίως	15.0%	31.3%	2.6	1.4-4.6
Τσάι $\geq 2-3$ φλ/εβδ	19.6%	30.8%	1.8	1.1-3.1

#### 9.5.4 Μοντέλο σταδιακής λογιστικής παλινδρόμησης

Πραγματοποιήθηκε μοντέλο σταδιακής λογιστικής παλινδρόμησης με εξαρτημένη μεταβλητή τα επίπεδα του TOS (πάνω/κάτω 590  $\mu\text{mol/L}$ ) και ανεξάρτητους παράγοντες τις ομάδες ΔΜΣ (υπέρβαρες γυναίκες με ΔΜΣ 25-29.9 και παχύσαρκες γυναίκες με ΔΜΣ  $\geq 30$ ), τη αϋπνία, την κατανάλωση φρούτων λιγότερο από 2 μερίδες καθημερινά, και την κατανάλωση τσαγιού λιγότερο από 2-3 φλυτζάνια τσάι εβδομαδιαίως. Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον πίνακα 9.8.



Εφόσον το μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης που εφαρμόστηκε ήταν το σταδιακό, η εισαγωγή όλων των παραγόντων στην εξίσωση λογιστικής παλινδρόμησης αποδεικνύει ότι όλοι οι παράγοντες έχουν στατιστικά σημαντική επίδραση στα επίπεδα του TOS και είναι ανεξάρτητοι μεταξύ τους.

Πίνακας 9.8. Μοντέλο σταδιακής λογιστικής παλινδρόμησης για την πιθανότητα αυξημένου TOS ( $TOS \geq 590 \mu\text{mol/L}$ ).

Ανεξάρτητοι Παράγοντες	B	P	OR	95% ΔΕ
Υπέρβαρες γυναίκες	0.9	0.024	2.4	1.1-4,9
Παχύσαρκες γυναίκες	1.6	0.000	4.8	2.3-10.2
Αϋπνία	1.4	0.007	4.1	1.5-11.5
Κατανάλωση φρούτων	1.2	0.000	3.5	1.8-6.8
Κατανάλωση τσαγιού	0.6	0.051	1.8	1.0-3.4
Σταθερά	-3.1	0.000		

## 9.6 ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΤΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΦΛΕΓΜΟΝΗΣ hsCRP ΜΕ ΤΑ ΕΠΙΠΕΔΑ TOS

Παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των τιμών hsCRP με τις υψηλές τιμές TOS ( $r=0.253$ ,  $p<0.01$ ). Οι τιμές της hsCRP δεν ακολουθούν την κανονική κατανομή, επομένως η σύγκριση μεταξύ των δύο ομάδων του TOS έγινε με το μη παραμετρικό τεστ των Mann-Whitney ( $p<0.01$ ), αναφέροντας για την κάθε ομάδα τη διάμεσο τιμή και το ενδοτεταρτημοριακό εύρος (ΕΕ, Πίνακας 9.9).

Πίνακας 9.9. Διάμεσος τιμή και ΕΕ της hsCRP, με βάση το ύψος της τιμής TOS

TOS	hsCRP (mg/L)		
	N	Διάμεσος	ΕΕ
<590 μmol/L	241	0.6	1.0
≥590 μmol/L	76	2.3	4.9

### 9.7 ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΑΣΘΕΝΩΝ

Οι γυναίκες με θυρεοειδίτιδα Hashimoto μελετήθηκαν για δύο χρόνια με ετήσιο επανέλεγχο. Ο επανέλεγχος περιλάμβανε κλινική εξέταση, λήψη δείγματος αίματος για μέτρηση TOS, θυρεοειδικών ορμονών και θυρεοειδικών αυτοαντισωμάτων καθώς και τη συμπλήρωση του ερωτηματολογίου διατροφής με τίτλο «Διατροφικές Συνήθειες - Επανέλεγχος».

Το ποσοστό των ασθενών με αυξημένο TOS (TOS≥590 μmol/L) παρέμεινε περίπου στα ίδια επίπεδα και στις τρεις μετρήσεις. Στην πρώτη μέτρηση το ποσοστό ασθενών με αυξημένο TOS ήταν 24.0%, στην δεύτερη μέτρηση ήταν 26.1% και στην τρίτη μέτρηση ήταν 30.9%,  $\chi^2=NS$ . Επίσης κατά την επεξεργασία των ερωτηματολογίων που συμπληρώθηκαν στον επανέλεγχο, δεν διαπιστώθηκε σημαντική απόκλιση από τις απαντήσεις που είχαν δοθεί στο αρχικό ερωτηματολόγιο διατροφής.

## 10. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή μελετήθηκε η κατανομή και ο ρόλος των πολυμορφισμών -429T>C και -374T>A του γονιδίου του υποδοχέα των AGEs, RAGE, σε ευθυρεοειδικές γυναίκες με θυρεοειδίτιδα Hashimoto. Στον ίδιο πληθυσμό μελετήθηκε η επίδραση του οξειδωτικού στρες στην εμφάνιση και την εξέλιξη της θυρεοειδίτιδας Hashimoto. Επίσης στα πλαίσια της θυρεοειδίτιδας Hashimoto, έγινε διερεύνηση της επίδρασης της παχυσαρκίας, της αϋπνίας και της διατροφής στα επίπεδα του οξειδωτικού στρες στον οργανισμό.

Στη παρούσα μελέτη βρέθηκε ότι η συχνότητα του πολυμορφισμού -429 T>C του γονιδίου του υποδοχέα RAGE είναι αυξημένη στις γυναίκες με θυρεοειδίτιδα Hashimoto, ειδικότερα σε εκείνες που λαμβάνουν θεραπεία υποκατάστασης. Από την άλλη μεριά, η συχνότητα του πολυμορφισμού -374T>A δεν διέφερε ανάμεσα στις ομάδες που μελετήθηκαν. Τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες βρέθηκαν αυξημένα στις ασθενείς HT υπό θεραπεία σε σύγκριση με τις ασθενείς HT χωρίς θεραπεία και με την ομάδα ελέγχου. Περαιτέρω ανάλυση έδειξε ότι η τιμή TOS πάνω από 590  $\mu\text{mol/L}$  σε γυναίκες με θυρεοειδίτιδα Hashimoto σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα οι γυναίκες αυτές να αναπτύξουν κλινικό υποθυρεοειδισμό και να χρειαστούν θεραπεία υποκατάστασης. Η πιθανότητα αυτή αυξάνεται ακόμα περισσότερο όταν οι γυναίκες εκτός από τα υψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες είναι και φορείς του πολυμορφισμού -429T>C.

Σημαντικό εύρημα της μελέτης είναι η συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων του TOS και των τιμών του ΔΜΣ. Χωρίζοντας το σύνολο του πληθυσμού σε ομάδες με βάση τον ΔΜΣ (φυσιολογικό βάρος, υπέρβαρες, παχύσαρκες) βρέθηκε ότι το ποσοστό των γυναικών με αυξημένο TOS ( $\text{TOS} \geq 590 \mu\text{mol/L}$ ) είναι σημαντικά ψηλότερο στην ομάδα των παχύσαρκων γυναικών. Περαιτέρω διερεύνηση του ρόλου του ΔΜΣ ως παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη υψηλών επιπέδων TOS, έδειξε ότι η τιμή ΔΜΣ πάνω από 24.9  $\text{Kg/m}^2$  σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα οι γυναίκες αυτές να έχουν αυξημένο οξειδωτικό στρες.

Ακόμα βρέθηκε ότι η ύπαρξη αϋπνίας αυξάνει την πιθανότητα εμφάνισης υψηλών επιπέδων TOS. Προς την ίδια κατεύθυνση, η περιορισμένη κατανάλωση φρούτων (<2 μερίδες ημερησίως) και τσαγιού (<2-3 φλυτζάνια εβδομαδιαίως) αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης υψηλών επιπέδων TOS. Το μοντέλο σταδιακής λογιστικής παλινδρόμησης που πραγματοποιήθηκε (εξαρτημένη μεταβλητή - επίπεδα του TOS, ανεξάρτητοι παράγοντες - ομάδες ΔΜΣ, αϋπνία, περιορισμένη κατανάλωση φρούτων και τσαγιού) έδειξε ότι όλοι οι υπό μελέτη παράγοντες έχουν στατιστικά σημαντική επίδραση στα επίπεδα του TOS και είναι ανεξάρτητοι μεταξύ τους. Επιπλέον παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ των τιμών hsCRP και των τιμών  $TOS \geq 590 \mu\text{mol/L}$ . Κατά τον επανέλεγχο των ασθενών τα επόμενα δύο χρόνια, το ποσοστό των ασθενών με αυξημένο TOS παρέμεινε σταθερό.

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων της κατανομής των πολυμορφισμών του γονιδίου RAGE στον πληθυσμό της μελέτης, έδειξε ότι το ποσοστό των φορέων του πολυμορφισμού -374T>A δεν διέφερε ανάμεσα στις τρεις υπό μελέτη ομάδες (ομάδα ελέγχου, HT χωρίς θεραπεία, HT υπό θεραπεία). Ο πολυμορφισμός -374T>A εμπλέκεται στην εμφάνιση και στην πρόγνωση παθήσεων όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, ο καρκίνος, ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος, η σκλήρυνση κατά πλάκας και η νόσος του Crohn [172-176, 178-180, 183-186]. Παρ' όλα αυτά, τα ευρήματα της παρούσας μελέτης δεν υποστηρίζουν κάποια συσχέτιση μεταξύ αυτού του πολυμορφισμού και της εμφάνισης ή της πρόγνωσης της θυρεοειδίτιδας Hashimoto.

Τα αποτελέσματα της κατανομής του πολυμορφισμού -429T>C στον πληθυσμό της μελέτης, έδειξαν ότι το ποσοστό των φορέων ήταν αυξημένο στις ομάδες των ασθενών με HT σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου. Ανάμεσα στις δύο ομάδες HT, η ομάδα HT υπό θεραπεία είχε ψηλότερα ποσοστά φορέων του πολυμορφισμού -429T>C. Τα ευρήματα αυτά είναι προς την ίδια κατεύθυνση με εκείνα που έχουν δημοσιευθεί για τον συστηματικό ερυθματώδη λύκο. Οι ασθενείς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο έχουν ψηλότερα ποσοστά φορέων του πολυμορφισμού -429T>C σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου και οι φορείς του πολυμορφισμού σχετίζονται με χειρότερη πρόγνωση της νόσου [183]. Στην

βιβλιογραφία δεν υπάρχουν αναφορές για την κατανομή και τον ρόλο των πολυμορφισμών του υποδοχέα RAGE στην θυρεοειδίτιδα Hashimoto. Τα παραπάνω ευρήματα υποστηρίζουν την εμπλοκή του πολυμορφισμού -429T>C του υποδοχέα RAGE στην φλεγμονή η οποία συνοδεύει την αυτοάνοση θυρεοειδική νόσο. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι οι μελέτες γενετικών πολυμορφισμών σε ασθένειες δείχνουν συσχετίσεις και όχι αιτιολογικές σχέσεις.

Η σύγκριση των επιπέδων του οξειδωτικού στρες ανάμεσα στις τρεις ομάδες της μελέτης έδειξε ότι, η ομάδα HT υπό θεραπεία παρουσιάζει τα υψηλότερα επίπεδα οξειδωτικού στρες σε σύγκριση με την ομάδα HT χωρίς θεραπεία και την ομάδα ελέγχου. Παρόμοια ευρήματα, με αυξημένα επίπεδα δεικτών οξειδωτικού στρες αναφέρονται σε αρκετές μελέτες που συμμετείχαν ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto [122-130]. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι στην παρούσα μελέτη, οι ασθενείς με HT χωρίς θεραπεία έχουν παρόμοια επίπεδα οξειδωτικού στρες με την ομάδα ελέγχου. Το εύρημα αυτό δεν επιβεβαιώνεται από την βιβλιογραφία, καθώς οι μελέτες σε ευθυρεοειδικούς ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto χωρίς θεραπεία αναφέρουν αυξημένα επίπεδα δεικτών οξειδωτικού στρες σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου [128-130]. Σημαντικός παράγοντας ο οποίος πιθανόν να εμπλέκεται στην απόκλιση των ευρημάτων της παρούσας μελέτης, είναι η ανομοιογένεια των δεικτών οξειδωτικού στρες ανάμεσα στις μελέτες. Σε μία από τις μελέτες που έγινε σε ευθυρεοειδικούς ασθενείς εκτός των άλλων δεικτών μετρήθηκαν και τα επίπεδα των οξειδωμένων λιποπρωτεϊνών, δείκτης οποίος είναι παρόμοιος με τον δείκτη που μετρήθηκε στην παρούσα μελέτη (ολικά οξειδωμένα λιπίδια). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ενώ οι υπόλοιποι δείκτες οξειδωτικού στρες ήταν αυξημένοι στους ασθενείς σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, τα επίπεδα των οξειδωμένων λιποπρωτεϊνών δεν διέφεραν ανάμεσα στις δύο ομάδες [130]. Περιορισμό της μελέτης αποτελεί το γεγονός ότι μελετήσαμε μόνο έναν δείκτη οξειδωτικού στρες.

Η διαφορά στα επίπεδα του οξειδωτικού στρες ανάμεσα στις γυναίκες με HT υπό θεραπεία και στις γυναίκες με HT χωρίς θεραπεία, θέτει το ερώτημα εάν το οξειδωτικό στρες διαδραματίζει κάποιο ρόλο στην πρόοδο της θυρεοειδίτιδας

Hashimoto προς την κατεύθυνση της θεραπείας. Η ROC ανάλυση έδειξε ότι το TOS έχει ικανότητα να διακρίνει μεταξύ των δύο HT ομάδων και η διαχωριστική τιμή του TOS ανέρχεται στα 590  $\mu\text{mol/L}$ . Ενδιαφέρον είναι το γεγονός ότι η τιμή αυτή είναι αρκετά ψηλότερη από την τιμή 310  $\mu\text{mol/L}$ , η οποία με βάση την μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε είναι ενδεικτική υψηλού οξειδωτικού στρες [191-193]. Το αυξημένο επίπεδο  $\text{TOS} \geq 590 \mu\text{mol/L}$  σχετίζεται με OR 2.9 υπονοώντας ότι τα αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες μπορεί να είναι ένας από τους πολλούς παράγοντες που εμπλέκονται στην μετάβαση ενός ασθενή με HT από το στάδιο του ευθυρεοειδισμού χωρίς θεραπεία στο στάδιο του κλινικού υποθυρεοειδισμού.

Κατά την διερεύνηση της συνδυαστικής επίδρασης των δύο παραγόντων κινδύνου, δηλαδή της ύπαρξης φορέων του πολυμορφισμού -429T>C και επιπέδων TOS πάνω από 590  $\mu\text{mol/L}$ , στην επίπτωση της HT υπό θεραπεία στον πληθυσμό των γυναικών με HT, βρέθηκε ότι η συνύπαρξη και των δύο παραγόντων σχετίζεται με OR 5.4. Το γεγονός ότι οι γυναίκες με θυρεοειδίτιδα Hashimoto, οι οποίες είναι φορείς του πολυμορφισμού -429T>C και έχουν υψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες ( $\text{TOS} \geq 590 \mu\text{mol/L}$ ), διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο να αναπτύξουν κλινικό υποθυρεοειδισμό και να χρειάζονται θεραπεία υποκατάστασης με θυροξίνη, συνηγορεί υπέρ της εμπλοκής του οξειδωτικού στρες στην πρόοδο της θυρεοειδίτιδας Hashimoto. Εύλογα τίθεται το ερώτημα κατά πόσον η λήψη αντιοξειδωτικών είτε μέσω της διατροφής, είτε μέσω συμπληρωμάτων διατροφής συμβάλλει στην καθυστέρηση της ανάγκης για θεραπεία σε ευθυρεοειδικούς ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto.

Μελετώντας το σύνολο του πληθυσμού της μελέτης, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ του ΔΜΣ και των επιπέδων του TOS. Όταν οι γυναίκες χωρίστηκαν σε ομάδες με βάση τον ΔΜΣ (φυσιολογικό βάρος, υπέρβαρες, παχύσαρκες) παρατηρήθηκε ότι η ομάδα των παχύσαρκων γυναικών παρουσιάζει το ψηλότερο ποσοστό γυναικών με  $\text{TOS} \geq 590 \mu\text{mol/L}$  συγκριτικά με τις άλλες ομάδες. Τα ευρήματα αυτά είναι προς την ίδια κατεύθυνση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα για την παχυσαρκία. Η παχυσαρκία είναι μια παθολογική κατάσταση στην οποία υπάρχει αυξημένη παραγωγή ROS και

μειωμένη λειτουργικότητα των αντιοξειδωτικών αμυντικών μηχανισμών του οργανισμού [97]. Επίσης η σχέση μεταξύ παχυσαρκίας και οξειδωτικού στρες είναι αμφίδρομη, αφενός τα υψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες προδιαθέτουν σε παχυσαρκία και αφετέρου η παχυσαρκία προάγει την ανάπτυξη οξειδωτικού στρες [97, 98].

Η περαιτέρω διερεύνηση του ρόλου του ΔΜΣ ως παράγοντα κινδύνου για την ανάπτυξη υψηλών επιπέδων TOS με ROC ανάλυση, έδειξε ότι ΔΜΣ πάνω από 24.9 Kg/m<sup>2</sup> σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα ύπαρξης αυξημένων επιπέδων οξειδωτικού στρες και αποδίδει OR=2.9. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι η διαχωριστική τιμή ΔΜΣ, πάνω από την οποία υπάρχει αυξημένη πιθανότητα το οξειδωτικό στρες να είναι σε υψηλά επίπεδα, αποτελεί επίσης την υψηλότερη αποδεκτή τιμή για το φυσιολογικό βάρος. Το εύρημα αυτό ενισχύει ακόμα περισσότερο την συσχέτιση οξειδωτικού στρες και παχυσαρκίας.

Ένας ακόμη παράγοντας ο οποίος βρέθηκε ότι συσχετίζεται με τα υψηλά επίπεδα TOS $\geq$ 590  $\mu$ mol/L είναι η αϋπνία, όπως διαμορφώθηκε από τις απαντήσεις που δόθηκαν στην τέταρτη ερώτηση του ερωτηματολογίου κατάθλιψης Zung. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης υποστηρίζουν ότι οι γυναίκες οι οποίες υποφέρουν από αϋπνία έχουν σημαντικά αυξημένες πιθανότητες να έχουν υψηλά επίπεδα TOS. Αντίστοιχες μελέτες σε ασθενείς με αϋπνία αναφέρουν διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ οξειδωτικών-αντιοξειδωτικών, με την ζυγαριά να γέρνει προς την μεριά των οξειδωτικών σε αυτούς τους ασθενείς [104, 105, 106].

Η διατροφή κατέχει σημαντικό ρόλο στην διαμόρφωση των επιπέδων του οξειδωτικού στρες στον οργανισμό. Έχει βρεθεί ότι η συστηματική κατανάλωση τροφών πλούσιων σε αντιοξειδωτικές ουσίες και η αποφυγή τροφών που προάγουν την παραγωγή ROS, επηρεάζουν τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες [108-113]. Όλες οι συμμετέχουσες στη μελέτη συμπλήρωσαν ένα ερωτηματολόγιο διατροφής το οποίο είχε ως στόχο την εκτίμηση των διατροφικών συνηθειών. Από την ανάλυση των απαντήσεων, διαπιστώθηκε συσχέτιση της κατανάλωσης φρούτων και τσαγιού με τα επίπεδα TOS. Βρέθηκε ότι οι γυναίκες οι οποίες καταναλώνουν περιορισμένη ποσότητα φρούτων (<2

μερίδες ημερησίως) και τσαγιού (<2-3 φλυτζάνια εβδομαδιαίως) έχουν αυξημένη πιθανότητα να έχουν υψηλά επίπεδα TOS ( $TOS \geq 590$   $\mu\text{mol/L}$ ). Δεδομένου ότι τα φρούτα και το τσάι ανήκουν στις τροφές με υψηλή συγκέντρωση αντιοξειδωτικών ουσιών [111-113], φαίνεται ότι οι γυναίκες οι οποίες δεν προσλαμβάνουν επαρκή αντιοξειδωτικά μέσω της διατροφής έχουν αυξημένη πιθανότητα να έχουν υψηλά επίπεδα TOS. Συνεπώς η κατανάλωση πάνω από δυο μερίδες φρούτων ημερησίως καθώς και τσαγιού πάνω από 3 φλυτζάνια την εβδομάδα δρα προστατευτικά έναντι της ανάπτυξης υψηλών επιπέδων οξειδωτικού στρες.

Ενδιαφέρον εύρημα αποτελεί το γεγονός ότι όλοι οι παράγοντες που βρέθηκε ότι συσχετίζονται με υψηλά επίπεδα TOS (παχυσαρκία, αϋπνία, περιορισμένη κατανάλωση φρούτων και τσαγιού) είναι ανεξάρτητοι μεταξύ τους. Συνεπώς όταν ισχύουν ταυτόχρονα, είναι αυξημένες οι πιθανότητες το οξειδωτικό στρες να βρίσκεται σε υψηλά επίπεδα. Σύσταση για την υιοθέτηση ενός υγιεινού τρόπου ζωής που θα περιλαμβάνει διατήρηση του ΔΜΣ εντός φυσιολογικών ορίων, επαρκείς ώρες βραδινού ύπνου, κατανάλωση φρούτων πάνω από 2 μερίδες ημερησίως και τσαγιού πάνω από 3 φλυτζάνια εβδομαδιαίως συμβάλλει στην διατήρηση χαμηλών επιπέδων οξειδωτικού στρες στον οργανισμό.

Ακόμη από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης προκύπτει στατιστικά σημαντική συσχέτιση των τιμών hsCRP με τις τιμές  $TOS \geq 590$   $\mu\text{mol/L}$ . Το εύρημα αυτό είναι προς στην ίδια κατεύθυνση με τα βιβλιογραφικά δεδομένα που υποστηρίζουν την εμπλοκή του οξειδωτικού στρες στη φλεγμονή [79-88]. Βέβαια πρέπει να σημειωθεί ότι το δείγμα στην παρούσα μελέτη αποτελείται κατά τα δυο τρίτα από γυναίκες οι οποίες πάσχουν από θυρεοειδίτιδα Hashimoto. Το γεγονός αυτό ενισχύει την εμπλοκή των υψηλών επιπέδων οξειδωτικού στρες στην αυτοάνοσία.

Συνοψίζοντας, τα παραπάνω ευρήματα υποστηρίζουν την συμμετοχή του οξειδωτικού στρες και του πολυμορφισμού -429T>C του γονιδίου του υποδοχέα RAGE στην πρόοδο της θυρεοειδίτιδας Hashimoto. Βέβαια αυτά τα ευρήματα καλύπτουν μόνο ένα μικρό κλάσμα της παθοφυσιολογίας της θυρεοειδίτιδας



Hashimoto. Ακόμη με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης η διατήρηση του ΔΜΣ εντός φυσιολογικών ορίων, οι επαρκείς ώρες βραδινού ύπνου, η κατανάλωση φρούτων πάνω από 2 μερίδες ημερησίως και τσαγιού πάνω από 3 φλυτζάνια εβδομαδιαίως συμβάλλουν στην διατήρηση χαμηλών επιπέδων οξειδωτικού στρες στον οργανισμό.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η θυρεοειδίτιδα Hashimoto είναι η συχνότερη αυτοάνοση πάθηση του θυρεοειδούς αδένου. Αποτελεί την πιο συχνή αιτία υποθυρεοειδισμού στον γενικό πληθυσμό και εμφανίζει αυξημένη επίπτωση στις γυναίκες μέσης ηλικίας. Στην αιτιοπαθογένεια της συμμετέχουν γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες. Τα κύτταρα του θυρεοειδούς αδένου υπό φυσιολογικές συνθήκες παράγουν μέτριες ποσότητες δραστικών μορφών οξυγόνου, οι οποίες είναι απαραίτητες για την σύνθεση των θυρεοειδικών ορμονών. Μελέτες σε ασθενείς με θυρεοειδίτιδα Hashimoto έδειξαν ότι οι ασθενείς αυτοί, ακόμα και όταν είναι ευθυρεοειδικοί έχουν αυξημένα επίπεδα οξειδωτικού στρες. Άμεσα σχετιζόμενα με το οξειδωτικό στρες είναι τα τελικά προϊόντα μη ενζυματικής γλυκοζυλίωσης (AGEs), τα οποία παράγονται σε συνθήκες υπεργλυκαιμίας και αυξημένου οξειδωτικού στρες. Στην διαμόρφωση των επιπέδων των AGEs αλλά και του οξειδωτικού στρες στον οργανισμό μετέχει η διατροφή. Στον μεταβολισμό των AGEs συμμετέχει ο υποδοχέας RAGE, ο οποίος ενισχύει την δράση τους. Οι πολυμορφισμοί του γονιδίου του υποδοχέα RAGE, -429T>C και -374T>A, συσχετίζονται με ένα ευρύ φάσμα ασθενειών. Δεν υπάρχουν αντίστοιχες μελέτες για τον ρόλο των πολυμορφισμών αυτών στην αυτοάνοση θυρεοειδική νόσο.

Σκοπός της παρούσας διδακτορικής διατριβής ήταν η μελέτη της επίδρασης του οξειδωτικού στρες και της διατροφής στην εμφάνιση και στην εξέλιξη της θυρεοειδίτιδας Hashimoto, σε ευθυρεοειδικές γυναίκες με θυρεοειδίτιδα Hashimoto. Επίσης τον ίδιο πληθυσμό διερευνήθηκε η κατανομή και ο ρόλος των πολυμορφισμών του γονιδίου του υποδοχέα RAGE, -429T>C και -374T>A.

Στην μελέτη συμμετείχαν συνολικά 317 ευθυρεοειδικές γυναίκες 19 - 69 ετών. Οι 218 γυναίκες είχαν θυρεοειδίτιδα Hashimoto (HT) και ανάλογα με την λήψη ή όχι θεραπείας υποκατάστηκαν σε δύο ομάδες. Η ομάδα «HT υπό θεραπεία» περιείχε 102 γυναίκες με HT οι οποίες λάμβαναν θυροξίνη και η ομάδα «HT χωρίς θεραπεία» περιείχε 116 γυναίκες με HT οι οποίες δεν λάμβαναν θεραπεία υποκατάστησης. Οι υπόλοιπες 99 γυναίκες δεν έπασχαν

από θυρεοειδική νόσο και αποτελούσαν την ομάδα ελέγχου. Ως δείκτης οξειδωτικού στρες μετρήθηκαν τα ολικά οξειδωμένα λιπίδια στον ορό (TOS). Μελετήθηκαν οι πολυμορφισμοί -429T>C και -374T>A του γονιδίου του υποδοχέα RAGE.

Η συχνότητα του πολυμορφισμού -429 T>C του γονιδίου του υποδοχέα RAGE ήταν αυξημένη στις γυναίκες με HT, ειδικότερα σε εκείνες που έπαιρναν θεραπεία υποκατάστασης ( $\chi^2=6.85$  df=2,  $p=0.032$ ). Η συχνότητα του πολυμορφισμού -374T>A δεν διέφερε ανάμεσα στις ομάδες που μελετήθηκαν. Τα επίπεδα του οξειδωτικού στρες ήταν αυξημένα στις ασθενείς HT υπό θεραπεία σε σύγκριση με τις ασθενείς HT χωρίς θεραπεία και με την ομάδα ελέγχου (Mann-Whitney test,  $p<0.05$ ). Περαιτέρω ανάλυση έδειξε ότι η τιμή TOS πάνω από 590  $\mu\text{mol/L}$  σε γυναίκες με HT σχετιζόταν με αυξημένη πιθανότητα οι γυναίκες αυτές να αναπτύξουν κλινικό υποθυρεοειδισμό και να χρειαστούν θεραπεία υποκατάστασης (OR=2.9). Η πιθανότητα αυτή αυξανόταν ακόμα περισσότερο όταν οι γυναίκες εκτός από τα υψηλά επίπεδα οξειδωτικού στρες ήταν και φορείς του πολυμορφισμού -429T>C (OR= 5.4).

Επίσης παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση των τιμών ΔΜΣ με τα επίπεδα του TOS ( $r=0.265$ ,  $p<0.01$ ). Όταν χωρίστηκαν οι συμμετέχουσες με βάση τον ΔΜΣ (φυσιολογικό βάρος, υπέρβαρες, παχύσαρκες), βρέθηκε ότι το ποσοστό των γυναικών με υψηλό TOS ( $\text{TOS}\geq 590$   $\mu\text{mol/L}$ ) ήταν σημαντικά υψηλότερο στην ομάδα των παχύσαρκων γυναικών ( $\chi^2=17.0$ , β.ε.=2,  $p<0.01$ ). Περαιτέρω ανάλυση έδειξε ότι τιμή ΔΜΣ πάνω από 24.9  $\text{Kg/m}^2$  σχετιζόταν με αυξημένη πιθανότητα οι γυναίκες αυτές να έχουν ψηλά επίπεδα TOS (OR=2.9). Ακόμα βρέθηκε ότι η ύπαρξη αϋπνίας αύξανε την πιθανότητα εμφάνισης υψηλών επιπέδων TOS (OR=2.7). Προς την ίδια κατεύθυνση, η περιορισμένη κατανάλωση φρούτων (<2 μερίδες ημερησίως) και τσαγιού (<2-3 φλυτζάνια εβδομαδιαίως) αύξανε τον κίνδυνο εμφάνισης υψηλού TOS (OR 2.6, OR. 1.8 αντίστοιχα). Όλοι οι παραπάνω παράγοντες είχαν σημαντική επίδραση στα επίπεδα του TOS και ήταν ανεξάρτητοι μεταξύ τους.

Συνοψίζοντας, τα ευρήματα της μελέτης υποστηρίζουν την συμμετοχή του οξειδωτικού στρες και του πολυμορφισμού -429T>C του γονιδίου του

υποδοχέα RAGE στην ανάπτυξη και πρόοδο της θυρεοειδίτιδας Hashimoto. Επίσης η διατήρηση του ΔΜΣ εντός φυσιολογικών ορίων, οι επαρκείς ώρες βραδινού ύπνου, η κατανάλωση φρούτων πάνω από 2 μερίδες ημερησίως και τσαγιού πάνω από 3 φλυτζάνια εβδομαδιαίως συμβάλλουν στην διατήρηση χαμηλών επιπέδων οξειδωτικού στρες στον οργανισμό.

## **SUMMARY**

Hashimoto's thyroiditis is the most common autoimmune thyroid disease and the main cause of hypothyroidism. It affects people of any age with an increased incidence in middle-aged women. Both genetic and environmental factors are implicated in the pathogenesis and the development of this disease. Thyroid gland normally produces moderate amounts of reactive oxygen species, which are necessary for thyroid hormone synthesis. Previous studies have shown that patients with Hashimoto's thyroiditis have elevated oxidative stress levels, even when they are euthyroid. Oxidative stress is associated with advanced glycation end products (AGEs) since both hyperglycemia and increased levels of oxidative stress increase the production of AGEs. Nutrition affects both oxidative stress and AGEs levels. AGEs' effect is enhanced by binding to the RAGE receptor. Polymorphisms of the RAGE receptor gene, -429T>C and -374T>A, are involved in a wide range of diseases. So far, no similar studies have examined the role of these polymorphisms in autoimmune thyroid disease.

The aim of the present study was to investigate the effect of oxidative stress and nutrition on the development and the progression of Hashimoto's thyroiditis, in euthyroid women with Hashimoto's thyroiditis. Moreover, the distribution and the possible role of the two common polymorphisms of the RAGE gene, -429T>C and -374T>A, in Hashimoto's thyroiditis were examined.

The study involved 317 euthyroid women 19 - 69 years old. The participants with Hashimoto's thyroiditis (HT) were classified into two groups: the "HT with treatment" group consisted of 102 women on T<sub>4</sub> replacement and the "HT without treatment" group consisted of 116 women who did not receive thyroxine treatment. The control group consisted of 99 women with no thyroid disease. To evaluate oxidative stress, total lipid peroxide levels (TOS) in serum were measured. Genotyping was performed to study the presence of -429T>C and -374T>A polymorphisms in the RAGE gene.

The results of this study showed that women with HT, particularly those on T<sub>4</sub> replacement ( $\chi^2=6.85$ ,  $df=2$ ,  $p=0.032$ ) had an increased frequency of the

polymorphism -429 T>C of the RAGE receptor gene. The frequency of the polymorphism -374T>A did not differ among the studied groups. The levels of oxidative stress were significantly elevated in the “HT with treatment” group compared to the “HT without treatment” and the control group (Mann-Whitney test,  $p<0.05$ ). Further analysis demonstrated that TOS levels higher than 590  $\mu\text{mol/L}$  in euthyroid women with HT are associated with an increased risk to develop hypothyroidism (OR=2.9). This risk is further increased in the carriers of the RAGE -429T>C polymorphism (OR=5.4).

Moreover, correlation between BMI values and TOS levels was observed ( $r=0.265$ ,  $p<0.01$ ). The participants were classified into three groups based on BMI values (normal weight, overweight, obese) and the percentage of women with high TOS levels ( $\text{TOS}\geq 590 \mu\text{mol/L}$ ) was found to be higher in the obese group ( $\chi^2=17.0$ ,  $\text{df}=2$ ,  $p<0.01$ ). Further analysis showed that BMI value above  $24.9 \text{ Kg/m}^2$  is associated with an increased risk of high TOS levels (OR=2.9). Furthermore, women suffering from insomnia had increased risk of having high TOS levels (OR=2.7). A similar association was observed between nutrition and oxidative stress since limited consumption of fruits (<2 servings per day) and tea (<2 to 3 cups a week) appeared to increase the risk of high TOS levels (OR=2.6, OR=1.8 respectively). Logistic regression analysis showed that all these factors had a significant effect on the levels of TOS and were independent of each other.

In conclusion, our study suggests that both oxidative stress and the polymorphism -429T>C of the RAGE receptor contribute to the development and progression of Hashimoto’s thyroiditis. Behaviors such as maintaining a BMI within the normal range, getting sufficient hours of night sleep, consuming fruits more than 2 servings per day and tea more than 3 cups a week, all contribute in maintaining oxidative stress at low levels.

## **BIBΙΟΓΡΑΦΙΑ**

1. Linder HH. The thyroid gland. In: Clinical Anatomy. Appleton & Lange 1989.
2. Dumont J, Opitz r, Christophe D, Vassart G, Roger PP, Maenhaut C. Ontogeny, Anatomy, Metabolism and Physiology of the Thyroid. 2015 Jul 15. In: De Groot LJ, Beck-Peccoz P, Chrousos G, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Koch C, McLachlan R, New M, Rebar R, Singer F, Vinik A, Weickert MO, editors. Endotext. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. PMID: 25905409.
3. Francis S. Greenspan. The thyroid gland. In: Basic Endocrinology. Francis S. Greenspan & David G. Gardner. 7<sup>th</sup> edition. Lange p 215-291 2004.
4. Wolfe HJ, Voelkel EF, Tashjian AH Jr. Distribution of calcitonin-containing cells in the normal adult human thyroid gland: a correlation of morphology with peptide content. J Clin Endocrinol Metab. 1974 Apr;38(4):688-94. PMID: 4132222.
5. Miot F, Dupuy C, Dumont J, Rousset B. Chapter 2 Thyroid Hormone Synthesis and Secretion. 2015 Sep 2. In: De Groot LJ, Beck-Peccoz P, Chrousos G, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Koch C, McLachlan R, New M, Rebar R, Singer F, Vinik A, Weickert MO, editors. Endotext. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. PMID: 25905405.
6. Pehrsson PR, Patterson KY, Spungen JH, Wirtz MS, Andrews KW, Dwyer JT, Swanson CA. Iodine in food- and dietary supplement-composition databases. Am J Clin Nutr. 2016 Aug 17. pii: ajcn110064. Review. PMID: 27534627.
7. Dunn JT, Dunn AD. Update on intrathyroidal iodine metabolism. Thyroid. 2001 May;11(5):407-14. Review. PMID: 11396699.
8. Pearce EN, Caldwell KL. Urinary iodine, thyroid function, and thyroglobulin as biomarkers of iodine status. Am J Clin Nutr. 2016 Aug 17. pii: ajcn110395. Review. PMID: 27534636.

9. Dunn JT, Dunn AD. Thyroglobulin: chemistry, biosynthesis, and proteolysis. In: Braverman LE, Utiger R, editors. *The Thyroid*. Philadelphia: Lippicott Williams & Wilkins, 2000: 91-104.
10. Taurog A, Dorris ML, Doerge DR. Mechanism of simultaneous iodination and coupling catalyzed by thyroid peroxidase. *Arch Biochem Biophys*. 1996 Jun 1;330(1):24-32. PMID: 8651700.
11. Ruf J, Carayon P. Structural and functional aspects of thyroid peroxidase. *Arch Biochem Biophys*. 2006 Jan 15;445(2):269-77. Review. PMID: 16098474.
12. Wolff J, Chaikoff I. Plasma inorganic iodide, a chemical regulator of normal thyroid function. *Endocrinology*. 1948 Jun;42(6):468-71. PMID: 18871451.
13. Dohán O, De la Vieja A, Paroder V, Riedel C, Artani M, Reed M, Ginter CS, Carrasco N. The sodium/iodide Symporter (NIS): characterization, regulation, and medical significance. *Endocr Rev*. 2003 Feb;24(1):48-77. Review. PMID: 12588808.
14. JE, Van Sande J. Species specific thyroid signal transduction: conserved physiology, divergent mechanisms. *Mol Cell Endocrinol*. 2010 May 5;319(1-2):56-62. doi: 10.1016/j.mce.2010.01.024. PMID: 20109522.
15. Dunn AD, Crutchfield HE, Dunn JT. Proteolytic processing of thyroglobulin by extracts of thyroid lysosomes. *Endocrinology*. 1991 Jun;128(6):3073-80. PMID: 1903699.
16. Schussler GC. The thyroxine-binding proteins. *Thyroid*. 2000 Feb;10(2):141-9. Review. Erratum in: *Thyroid* 2000 Apr;10(4):372. PMID: 10718550.
17. Brent GA. Mechanisms of thyroid hormone action. *J Clin Invest*. 2012 Sep;122(9):3035-43. doi: 10.1172/JCI60047. Review. PMID: 22945636.
18. Cheng SY, Leonard JL, Davis PJ. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr Rev*. 2010 Apr;31(2):139-70. doi: 10.1210/er.2009-0007. Review. PMID: 20051527.
19. Mullur R, Liu YY, Brent GA. Thyroid hormone regulation of metabolism. *Physiol Rev*. 2014 Apr;94(2):355-82. doi: 10.1152/physrev.00030.2013. Review. PMID: 24692351.



20. Vargas-Uricoechea H, Sierra-Torres CH. Thyroid hormones and the heart. *Horm Mol Biol Clin Investig.* 2014 Apr;18(1):15-26. doi: 10.1515/hmbci-2013-0059.Review. PMID: 25389997.
21. Bernal J. Thyroid Hormones in Brain Development and Function. 2015 Sep 2. In: De Groot LJ, Beck-Peccoz P, Chrousos G, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Koch C, McLachlan R, New M, Rebar R, Singer F, Vinik A, Weickert MO, editors. *Endotext.* South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. PMID: 25905404.
22. Joseph-Bravo P, Jaimes-Hoy L, Uribe RM, Charli JL. 60 Years of neuroendocrinology: TRH, the first hypophysiotropic releasing hormone isolated: control of the pituitary-thyroid axis. *J Endocrinol.* 2015 Aug;226(2): T85-T100. doi: 10.1530/JOE-15-0124. Review. PMID: 26101376.
23. Weetman A, DeGroot LJ. Autoimmunity to the Thyroid Gland. 2016 Jan 14. In: De Groot LJ, Beck-Peccoz P, Chrousos G, Dungan K, Grossman A, Hershman JM, Koch C, McLachlan R, New M, Rebar R, Singer F, Vinik A, Weickert MO, editors. *Endotext.* South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. PMID: 25905407.
24. Khan FA, Al-Jameil N, Khan MF, Al-Rashid M, Tabassum H. Thyroid dysfunction: an autoimmune aspect. *Int J Clin Exp Med.* 2015 May 15;8(5):6677-81. eCollection 2015. Review. PMID: 26221205.
25. Dong YH, Fu DG. Autoimmune thyroid disease: mechanism, genetics and current knowledge. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2014;18(23):3611-8. Review. PMID: 25535130.
26. Wiersinga WM. Thyroid autoimmunity. *Endocr Dev.* 2014;(26):139-57. doi: 10.1159/000363161. Review. PMID: 25231450.
27. Effraimidis G, Wiersinga WM. Mechanisms in endocrinology: autoimmune thyroid disease: old and new players. *Eur J Endocrinol.* 2014 Jun;170(6):R241-52. doi: 10.1530/EJE-14-0047. Review. PMID: 24609834.
28. Wiersinga WM. Clinical Relevance of Environmental Factors in the Pathogenesis of Autoimmune Thyroid Disease. *Endocrinol Metab (Seoul).*

- 2016 Jun;31(2):213-22. doi: 10.3803/EnM.2016.31.2.213. Review. PMID: 27184015.
29. Brand OJ, Barrett JC, Simmonds MJ, Newby PR, McCabe CJ, Bruce CK, Kysela B, Carr-Smith JD, Brix T, Hunt PJ, Wiersinga WM, Hegedüs L, Connell J, Wass JA, Franklyn JA, Weetman AP, Heward JM, Gough SC. Association of the thyroid stimulating hormone receptor gene (TSHR) with Graves' disease. *Hum Mol Genet.* 2009 May 1;18(9):1704-13. doi: 10.1093/hmg/ddp087. PMID: 19244275.
  30. Jacobson EM, Tomer Y. The CD40, CTLA-4, thyroglobulin, TSH receptor, and PTPN22 gene quintet and its contribution to thyroid autoimmunity: back to the future. *J Autoimmun.* 2007 Mar-May;28(2-3):85-98. Review. PMID: 17369021.
  31. Hodge SE, Ban Y, Strug LJ, Greenberg DA, Davies TF, Concepcion ES, Villanueva R, Tomer Y. Possible interaction between HLA-DRbeta1 and thyroglobulin variants in Graves' disease. *Thyroid.* 2006 Apr;16(4):351-5. PMID: 16646680.
  32. Simmonds MJ, Howson JM, Heward JM, Carr-Smith J, Franklyn JA, Todd JA, Gough SC. A novel and major association of HLA-C in Graves' disease that eclipses the classical HLA-DRB1 effect. *Hum Mol Genet.* 2007 Sep 15;16(18):2149-53. PMID: 17597093.
  33. Huang CY, Chang TY, Chu CC, Lo FS, Ting WH, Lin CH, Wu YL, Chu SY, Chang SC, Chen WF, Lin CL, Lin WS, Lee YJ. The HLA-B gene and Hashimoto disease in Han Chinese children: a case-control and family-based study. *Tissue Antigens.* 2012 Nov;80(5):431-6. doi: 10.1111/tan.12003. PMID: 23020308.
  34. Zhao SX, Liu W, Zhan M, Song ZY, Yang SY, Xue LQ, Pan CM, Gu ZH, Liu BL, Wang HN, Liang L, Liang J, Zhang XM, Yuan GY, Li CG, Chen MD, Chen JL, Gao GQ, Song HD; China Consortium for the Genetics of Autoimmune Thyroid Disease. A refined study of FCRL genes from a genome-wide association study for Graves' disease. *PLoS One.* 2013;8(3):e57758. doi: 10.1371/journal.pone.0057758. PMID: 23505439.

35. Brand OJ, Lowe CE, Heward JM, Franklyn JA, Cooper JD, Todd JA, Gough SC. Association of the interleukin-2 receptor alpha (IL-2Ralpha)/CD25 gene region with Graves' disease using a multilocus test and tag SNPs. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2007 Apr;66(4):508-12. PMID: 17371467.
36. Owen CJ, Eden JA, Jennings CE, Wilson V, Cheetham TD, Pearce SH. Genetic association studies of the FOXP3 gene in Graves' disease and autoimmune Addison's disease in the United Kingdom population. *J Mol Endocrinol*. 2006 Aug;37(1):97-104. PMID: 16901927.
37. Pedersen IB, Knudsen N, Carlé A, Vejbjerg P, Jørgensen T, Perrild H, Ovesen L, Rasmussen LB, Laurberg P. A cautious iodization programme bringing iodine intake to a low recommended level is associated with an increase in the prevalence of thyroid autoantibodies in the population. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011 Jul;75(1):120-6. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.04008.x. PMID: 21521277.
38. Wiersinga WM. Smoking and thyroid. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013 Aug;79(2):145-51. doi: 10.1111/cen.12222. Review. PMID: 23581474.
39. Effraimidis G, Tijssen JG, Wiersinga WM. Discontinuation of smoking increases the risk for developing thyroid peroxidase antibodies and/or thyroglobulin antibodies: a prospective study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009 Apr;94(4):1324-8. doi: 10.1210/jc.2008-1548. PMID: 19141579.
40. Effraimidis G, Tijssen JG, Brosschot JF, Wiersinga WM. Involvement of stress in the pathogenesis of autoimmune thyroid disease: a prospective study. *Psychoneuroendocrinology*. 2012 Aug;37(8):1191-8. doi: 10.1016/j.psyneuen.2011.12.009. PMID: 22226433.
41. Blackard JT, Kong L, Huber AK, Tomer Y. Hepatitis C virus infection of a thyroid cell line: implications for pathogenesis of hepatitis C virus and thyroiditis. *Thyroid*. 2013 Jul;23(7):863-70. doi: 10.1089/thy.2012.0507. PMID: 23259732.
42. Tomer Y, Menconi F. Interferon induced thyroiditis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2009 Dec;23(6):703-12. doi: 10.1016/j.beem.2009.07.004. Review. PMID: 19942147.

43. Weetman A. Immune reconstitution syndrome and the thyroid. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2009 Dec;23(6):693-702. doi: 10.1016/j.beem.2009.07.003. Review. PMID: 19942146.
44. Gärtner R, Gasnier BC, Dietrich JW, Krebs B, Angstwurm MW. Selenium supplementation in patients with autoimmune thyroiditis decreases thyroid peroxidase antibodies concentrations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Apr;87(4):1687-91. PMID: 11932302.
45. Marcocci C, Kahaly GJ, Krassas GE, Bartalena L, Prummel M, Stahl M, Altea MA, Nardi M, Pitz S, Boboridis K, Sivelli P, von Arx G, Mourits MP, Baldeschi L, Bencivelli W, Wiersinga W; European Group on Graves' Orbitopathy. Selenium and the course of mild Graves' orbitopathy. *N Engl J Med.* 2011 May 19;364(20):1920-31. doi: 10.1056/NEJMoa1012985. PMID: 21591944.
46. Negro R, Greco G, Mangieri T, Pezzarossa A, Dazzi D, Hassan H. The influence of selenium supplementation on postpartum thyroid status in pregnant women with thyroid peroxidase autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Apr;92(4):1263-8. PMID: 17284630.
47. Carlé A, Bülow Pedersen I, Knudsen N, Perrild H, Ovesen L, Rasmussen LB, Jørgensen T, Laurberg P. Graves' hyperthyroidism and moderate alcohol consumption: evidence for disease prevention. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2013 Jul;79(1):111-9. doi: 10.1111/cen.12106. PMID: 23170908.
48. Wang J, Lv S, Chen G, Gao C, He J, Zhong H, Xu Y. Meta-analysis of the association between vitamin D and autoimmune thyroid disease. *Nutrients.* 2015 Apr 3;7(4):2485-98. doi: 10.3390/nu7042485. Review. PMID: 25854833.
49. Choi YM, Kim WG, Kim TY, Bae SJ, Kim HK, Jang EK, Jeon MJ, Han JM, Lee SH, Baek JH, Shong YK, Kim WB. Low levels of serum vitamin D3 are associated with autoimmune thyroid disease in pre-menopausal women. *Thyroid.* 2014 Apr;24(4):655-61. doi: 10.1089/thy.2013.0460. PMID: 24320141.

50. Effraimidis G, Badenhoop K, Tijssen JG, Wiersinga WM. Vitamin D deficiency is not associated with early stages of thyroid autoimmunity. *Eur J Endocrinol.* 2012 Jul;167(1):43-8. doi: 10.1530/EJE-12-0048. PMID:22518050.
51. Feng M, Li H, Chen SF, Li WF, Zhang FB. Polymorphisms in the vitamin D receptor gene and risk of autoimmune thyroid diseases: a meta-analysis. *Endocrine.* 2013 Apr;43(2):318-26. doi: 10.1007/s12020-012-9812-y. PMID: 23065592.
52. Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, Hannon WH, Gunter EW, Spencer CA, Braverman LE. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Feb;87(2):489-99. PMID:11836274.
53. Stagnaro-Green A, Pearce E. Thyroid disorders in pregnancy. *Nat Rev Endocrinol.* 2012 Nov;8(11):650-8. doi: 10.1038/nrendo.2012.171. Review. PMID: 23007317.
54. Caturegli P, Kuppers RC, Mariotti S, Burek CL, Pinchera A, Ladenson PW, Rose NR. IgG subclass distribution of thyroglobulin antibodies in patients with thyroid disease. *Clin Exp Immunol.* 1994 Dec;98(3):464-9. PMID: 7994910.
55. Prummel MF, Wiersinga WM. Thyroid peroxidase autoantibodies in euthyroid subjects. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2005 Mar;19(1):1-15. Review. PMID: 15826919.
56. Michalek K, Morshed SA, Latif R, Davies TF. TSH receptor autoantibodies. *Autoimmun Rev.* 2009 Dec;9(2):113-6. doi: 10.1016/j.autrev.2009.03.012. Review. PMID: 19332151.
57. Raspé E, Costagliola S, Ruf J, Mariotti S, Dumont JE, Ludgate M. Identification of the thyroid Na<sup>+</sup>/I<sup>-</sup> cotransporter as a potential autoantigen in thyroid autoimmune disease. *Eur J Endocrinol.* 1995 Apr;132(4):399-405. PMID: 7711875.

58. Amino N, Tada H, Hidaka Y, Hashimoto K. Hashimoto's disease and Dr. Hakaru Hashimoto. *Endocr J*. 2002 Aug;49(4):393-7. PMID: 12402969.
59. McLeod DS, Cooper DS. The incidence and prevalence of thyroid autoimmunity. *Endocrine*. 2012 Oct;42(2):252-65. Review. PMID: 22644837.
60. Caturegli P, De Remigis A, Rose NR. Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria. *Autoimmun Rev*. 2014 Apr-May;13(4-5):391-7. doi: 10.1016/j.autrev.2014.01.007. Review. PMID: 24434360.
61. Radetti G. Clinical aspects of Hashimoto's thyroiditis. *Endocr Dev*. 2014; 26:158-70. doi: 10.1159/000363162. Review. PMID: 25231451.
62. Safer JD. Thyroid hormone action on skin. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2012 Oct;19(5):388-93. doi: 10.1097/MED.0b013e328357b45e. Review. PMID: 22914563.
63. Davis JD, Tremont G. Neuropsychiatric aspects of hypothyroidism and treatment reversibility. *Minerva Endocrinol*. 2007 Mar;32(1):49-65. Review. PMID: 17353866.
64. Boswell SB, Patel DB, White EA, Gottsegen CJ, Forrester DM, Masih S, Matcuk GR Jr. Musculoskeletal manifestations of endocrine disorders. *Clin Imaging*. 2014 Jul-Aug;38(4):384-96. doi: 10.1016/j.clinimag.2014.02.014. Review. PMID: 24642251.
65. Fazio S, Palmieri EA, Lombardi G, Biondi B. Effects of thyroid hormone on the cardiovascular system. *Recent Prog Horm Res*. 2004;(59):31-50. Review. PMID: 14749496.
66. Biondi B, Klein I. Hypothyroidism as a risk factor for cardiovascular disease. *Endocrine*. 2004 Jun;24(1):1-13. Review. PMID: 15249698.
67. Schlenker EH. Effects of hypothyroidism on the respiratory system and control of breathing: Human studies and animal models. *Respir Physiol Neurobiol*. 2012 Apr 30;181(2):123-31. doi: 10.1016/j.resp.2012.02.007. Review. PMID: 22394514.
68. Kyriacou A, McLaughlin J, Syed AA. Thyroid disorders and gastrointestinal and liver dysfunction: A state of the art review. *Eur J Intern Med*. 2015 Oct;26(8):563-71. doi: 10.1016/j.ejim.2015.07.017 Review. PMID: 26260744.

69. Mariani LH, Berns JS. The renal manifestations of thyroid disease. *J Am Soc Nephrol.* 2012 Jan;23(1):22-6. doi: 10.1681/ASN.2010070766. Review. PMID: 22021708.
70. Green ST, Ng JP. Hypothyroidism and anaemia. *Biomed Pharmacother.* 1986;40(9):326-31. PMID: 3828479.
71. Poppe K, Velkeniers B, Glinoer D. The role of thyroid autoimmunity in fertility and pregnancy. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2008 Jul;4(7):394-405. doi: 10.1038/ncpendmet0846. Review. PMID: 18506157.
72. Nazarpour S, Ramezani Tehrani F, Simbar M, Azizi F. Thyroid dysfunction and pregnancy outcomes. *Iran J Reprod Med.* 2015 Jul;13(7):387-96. Review. PMID: 26494985.
73. Lee JH, Anzai Y. Imaging of thyroid and parathyroid glands. *Semin Roentgenol.* 2013 Jan;48(1):87-104. doi: 10.1053/j.ro.2012.09.003. Review. PMID: 23158053.
74. Santini F, Pinchera A, Marsili A, Ceccarini G, Castagna MG, Valeriano R, Giannetti M, Taddei D, Centoni R, Scartabelli G, Rago T, Mammoli C, Elisei R, Vitti P. Lean body mass is a major determinant of levothyroxine dosage in the treatment of thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Jan;90(1):124-7. PMID: 15483074.
75. Bolk N, Visser TJ, Nijman J, Jongste IJ, Tijssen JG, Berghout A. Effects of evening vs morning levothyroxine intake: a randomized double-blind crossover trial. *Arch Intern Med.* 2010 Dec 13;170(22):1996-2003. doi: 10.1001/archinternmed.2010.436. PMID: 21149757.
76. Biondi B, Cooper DS. The clinical significance of subclinical thyroid dysfunction. *Endocr Rev.* 2008 Feb;29(1):76-131. Review. PMID: 17991805.
77. Surks MI, Ortiz E, Daniels GH, Sawin CT, Col NF, Cobin RH, Franklyn JA, Hershman JM, Burman KD, Denke MA, Gorman C, Cooper RS, Weissman NJ. Subclinical thyroid disease: scientific review and guidelines for diagnosis and management. *JAMA.* 2004 Jan 14;291(2):228-38. Review. PMID: 14722150.

78. Negro R, Schwartz A, Gismondi R, Tinelli A, Mangieri T, Stagnaro-Green A. Increased pregnancy loss rate in thyroid antibody negative women with TSH levels between 2.5 and 5.0 in the first trimester of pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010 Sep;95(9):E44-8. doi: 10.1210/jc.2010-0340. PMID:20534758.
79. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol.* 2007;39(1):44-84. Review. PMID: 16978905.
80. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993 Oct;26(5):351-7. Review. PMID: 8299205.
81. Birch-Machin MA, Bowman A. Oxidative stress and ageing. *Br J Dermatol.* 2016 Oct;175 Suppl (2):26-29. doi: 10.1111/bjd.14906. Review. PMID: 27667312.
82. Newsholme P, Cruzat VF, Keane KN, Carlessi R, de Bittencourt PI Jr. Molecular mechanisms of ROS production and oxidative stress in diabetes. *Biochem J.* 2016 Dec 15;473(24):4527-4550. Review. PMID: 27941030.
83. Dhalla NS, Temsah RM, Netticadan T. Role of oxidative stress in cardiovascular diseases. *J Hypertens.* 2000 Jun;18(6):655-73. Review. PMID: 10872549.
84. Uttara B, Singh AV, Zamboni P, Mahajan RT. Oxidative stress and neurodegenerative diseases: a review of upstream and downstream antioxidant therapeutic options. *Curr Neuropharmacol.* 2009 Mar;7(1):65-74. doi: 10.2174/157015909787602823. PMID: 19721819.
85. Sayre LM, Smith MA, Perry G. Chemistry and biochemistry of oxidative stress in neurodegenerative disease. *Curr Med Chem.* 2001 Jun;8(7):721-38. Review. PMID: 11375746.
86. Jenner P. Oxidative stress in Parkinson's disease. *Ann Neurol.* 2003;53 Suppl (3):S26-36; discussion S36-8. Review. PMID: 12666096.
87. Perl A. Oxidative stress in the pathology and treatment of systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Rheumatol.* 2013 Nov;9(11):674-86. doi: 10.1038/nrrheum.2013.147. Review. PMID: 24100461.



88. Grygiel-Górniak B, Puszczewicz M. Oxidative damage and antioxidative therapy in systemic sclerosis. *Mediators Inflamm.* 2014;(2014):389582. doi: 10.1155/2014/389582. PMID: 25313270.
89. Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, Crowe SE. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiol Rev.* 2014 Apr;94(2):329-54. doi: 10.1152/physrev.00040.2012. Review. PMID: 24692350.
90. Poyton RO, Ball KA, Castello PR. Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling. *Trends Endocrinol Metab.* 2009 Sep;20(7):332-40. doi: 10.1016/j.tem.2009.04.001. Review. PMID: 19733481.
91. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002 Jan;82(1):47-95. Review. PMID: 11773609.
92. Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telser J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem.* 2004 Nov;266(1-2):37-56. Review. PMID: 15646026.
93. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem.* 2015 Jun 5;(97):55-74. doi: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040. Review. PMID: 25942353.
94. Yu T, Robotham JL, Yoon Y. Increased production of reactive oxygen species in hyperglycemic conditions requires dynamic change of mitochondrial morphology. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006 Feb 21;103(8):2653-8. PMID: 16477035.
95. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature.* 2001 Dec 13;414(6865):813-20. PMID: 11742414.
96. Sikaris KA. The clinical biochemistry of obesity. *Clin Biochem Rev.* 2004 Aug;25(3):165-81. PMID: 18458706.
97. Savini I, Catani MV, Evangelista D, Gasperi V, Avigliano L. Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. *Int J Mol Sci.* 2013 May 21;14(5):10497-538. doi: 10.3390/ijms140510497. Review. PMID: 23698776.

98. Fernández-Sánchez A, Madrigal-Santillán E, Bautista M, Esquivel-Soto J, Morales-González A, Esquivel-Chirino C, Durante-Montiel I, Sánchez-Rivera G, Valadez-Vega C, Morales-González JA. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci.* 2011;12(5):3117-32. doi: 10.3390/ijms12053117. Review. PMID: 21686173.
99. Di Dalmazi G, Hirshberg J, Lyle D, Freij JB, Caturegli P. Reactive oxygen species in organ-specific autoimmunity. *Auto Immun Highlights.* 2016 Dec;7(1):11. doi: 10.1007/s13317-016-0083-0. PMID: 27491295.
100. Riley PA. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol.* 1994 Jan;65(1):27-33. Review. PMID: 7905906.
101. Halliwell B, Cross CE. Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspect.* 1994 Dec;102 Suppl 10:5-12. Review. PMID: 7705305.
102. Deavall DG, Martin EA, Horner JM, Roberts R. Drug-induced oxidative stress and toxicity. *J Toxicol.* 2012;(2012):645460. doi: 10.1155/2012/645460. PMID: 22919381.
103. Iuchi T, Akaike M, Mitsui T, Ohshima Y, Shintani Y, Azuma H, Matsumoto T. Glucocorticoid excess induces superoxide production in vascular endothelial cells and elicits vascular endothelial dysfunction. *Circ Res.* 2003 Jan 10;92(1):81-7. PMID: 12522124.
104. Liang B, Li YH, Kong H. Serum paraoxonase, arylesterase activities and oxidative status in patients with insomnia. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2013 Sep;17(18):2517-22. PMID: 24089233.
105. Gulec M, Ozkol H, Selvi Y, Tuluçe Y, Aydin A, Besiroglu L, Ozdemir PG. Oxidative stress in patients with primary insomnia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2012 Jun 1;37(2):247-51. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.02.011. PMID: 22401887.
106. Lira AB, de Sousa Rodrigues CF. Evaluation of oxidative stress markers in obstructive sleep apnea syndrome and additional antioxidant therapy: a review article. *Sleep Breath.* 2016 Dec;20(4):1155-1160. Review. PMID: 27255237.

107. He F, Li J, Liu Z, Chuang CC, Yang W, Zuo L. Redox Mechanism of Reactive Oxygen Species in Exercise. *Front Physiol.* 2016 Nov 7;(7):486. Review. PMID: 27872595.
108. Cederbaum AI, Lu Y, Wu D. Role of oxidative stress in alcohol-induced liver injury. *Arch Toxicol.* 2009 Jun;83(6):519-48. doi: 10.1007/s00204-009-0432-0. Review. PMID: 19448996.
109. Bjørklund G, Chirumbolo S. Role of oxidative stress and antioxidants in daily nutrition and human health. *Nutrition.* 2017 Jan;(33):311-321. doi: 10.1016/j.nut.2016.07.018. Review. PMID: 27746034.
110. Mohanty P, Ghanim H, Hamouda W, Aljada A, Garg R, Dandona P. Both lipid and protein intakes stimulate increased generation of reactive oxygen species by polymorphonuclear leukocytes and mononuclear cells. *Am J Clin Nutr.* 2002 Apr;75(4):767-72. PMID: 11916766.
111. Rajendran P, Nandakumar N, Rengarajan T, Palaniswami R, Gnanadhas EN, Lakshminarasiah U, Gopas J, Nishigaki I. Antioxidants and human diseases. *Clin Chim Acta.* 2014 Sep 25;(436):332-47. doi: 10.1016/j.cca.2014.06.004. Review. PMID: 24933428.
112. Gomes-Rochette NF, Da Silveira Vasconcelos M, Nabavi SM, Mota EF, Nunes-Pinheiro DC, Daglia M, De Melo DF. Fruit as Potent Natural Antioxidants and Their Biological Effects. *Curr Pharm Biotechnol.* 2016;17(11):986-93. Review. PMID: 27109905.
113. Gordon MH. Significance of dietary antioxidants for health. *Int J Mol Sci.* 2012;13(1):173-9. doi: 10.3390/ijms13010173. Review. PMID: 22312245.
114. Poncin S, Gérard AC, Boucquey M, Senou M, Calderon PB, Knoop B, Lengelé B, Many MC, Colin IM. Oxidative stress in the thyroid gland: from harmlessness to hazard depending on the iodine content. *Endocrinology.* 2008 Jan;149(1):424-33. PMID: 17884933.
115. Poncin S, Van Eeckoudt S, Humblet K, Colin IM, Gérard AC. Oxidative stress: a required condition for thyroid cell proliferation. *Am J Pathol.* 2010 Mar;176(3):1355-63. doi: 10.2353/ajpath.2010.090682. PMID: 20093493.

116. Song Y, Driessens N, Costa M, De Deken X, Detours V, Corvilain B, Maenhaut C, Miot F, Van Sande J, Many MC, Dumont JE. Roles of hydrogen peroxide in thyroid physiology and disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007 Oct;92(10):3764-73. Review. PMID: 17666482.
117. Mancini A, Di Segni C, Raimondo S, Olivieri G, Silvestrini A, Meucci E, Currò D. Thyroid Hormones, Oxidative Stress, and Inflammation. *Mediators Inflamm.* 2016;(2016):6757154. doi: 10.1155/2016/6757154. Review. PMID: 27051079.
118. Aslan M, Cosar N, Celik H, Aksoy N, Dulger AC, Begenik H, Soyoral YU, Kucukoglu ME, Selek S. Evaluation of oxidative status in patients with hyperthyroidism. *Endocrine.* 2011 Oct;40(2):285-9. doi: 10.1007/s12020-011-9472-3. PMID: 21519910.
119. Marcocci C, Leo M, Altea MA. Oxidative stress in graves' disease. *Eur Thyroid J.* 2012 Jul;1(2):80-7. doi: 10.1159/000337976. PMID: 24783001.
120. Ademoğlu E, Ozbey N, Erbil Y, Tanrikulu S, Barbaros U, Yanik BT, Bozbora A, Ozarmağan S. Determination of oxidative stress in thyroid tissue and plasma of patients with Graves' disease. *Eur J Intern Med.* 2006 Dec;17(8):545-50. PMID: 17142172.
121. Lampka M, Junik R, Nowicka A, Kopczyńska E, Tyrakowski T, Odrowaz-Sypniewska G. Oxidative stress markers during a course of hyperthyroidism. *Endokrynol Pol.* 2006 May-Jun;57(3):218-22. PMID: 16832785.
122. Lassoued S, Mseddi M, Mnif F, Abid M, Guermazi F, Masmoudi H, El Feki A, Attia H. A comparative study of the oxidative profile in Graves' disease, Hashimoto's thyroiditis, and papillary thyroid cancer. *Biol Trace Elem Res.* 2010 Dec;138(1-3):107-15. doi: 10.1007/s12011-010-8625-1. PMID: 20204550.
123. Korkmaz H, Tabur S, Ozkaya M, Oguz E, Elboga U, Aksoy N, Akarsu E. Paraoxonase and arylesterase levels in autoimmune thyroid diseases. *Redox Rep.* 2016 Sep;21(5):227-31. doi: 10.1080/13510002.2015.1107310. PMID: 26795296.

124. Erdamar H, Demirci H, Yaman H, Erbil MK, Yakar T, Sancak B, Elbeg S, Biberoglu G, Yetkin I. The effect of hypothyroidism, hyperthyroidism, and their treatment on parameters of oxidative stress and antioxidant status. *Clin Chem Lab Med.* 2008;46(7):1004-10. doi: 10.1515/CCLM.2008.183. PMID: 18605962.
125. Metwalley KA, Farghaly HS, Saad K, Othman HA. Oxidative status in children and adolescents with autoimmune thyroiditis. *Clin Exp Med.* 2016 Nov;16(4):571-575. PMID: 26343039.
126. Rostami R, Aghasi MR, Mohammadi A, Nourooz-Zadeh J. Enhanced oxidative stress in Hashimoto's thyroiditis: inter-relationships to biomarkers of thyroid function. *Clin Biochem.* 2013 Mar;46(4-5):308-12. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2012.11.021. PMID: 23219737.
127. Öztürk Ü, Vural P, Özderya A, Karadağ B, Doğru-Abbasoğlu S, Uysal M. Oxidative stress parameters in serum and low density lipoproteins of Hashimoto's thyroiditis patients with subclinical and overt hypothyroidism. *Int Immunopharmacol.* 2012 Dec;14(4):349-52. doi: 10.1016/j.intimp.2012.08.010. PMID: 22951187.
128. Ruggeri RM, Vicchio TM, Cristani M, Certo R, Caccamo D, Alibrandi A, Giovino S, Saija A, Campennì A, Trimarchi F, Gangemi S. Oxidative Stress and Advanced Glycation End Products in Hashimoto's Thyroiditis. *Thyroid.* 2016 Apr;26(4):504-11. doi: 10.1089/thy.2015.0592. PMID: 26854840.
129. Ates I, Yilmaz FM, Altay M, Yilmaz N, Berker D, Güler S. The relationship between oxidative stress and autoimmunity in Hashimoto's thyroiditis. *Eur J Endocrinol.* 2015 Dec;173(6):791-9. doi: 10.1530/EJE-15-0617. PMID: 26340971.
130. Baser H, Can U, Baser S, Yerlikaya FH, Aslan U, Hidayetoglu BT. Assessment of oxidative status and its association with thyroid autoantibodies in patients with euthyroid autoimmune thyroiditis. *Endocrine.* 2015 Apr;48(3):916-23. doi: 10.1007/s12020-014-0399-3. PMID: 25150037.

131. Coria MJ, Pastrán AI, Gimenez MS. Serum oxidative stress parameters of women with hypothyroidism. *Acta Biomed.* 2009 Aug;80(2):135-9. PMID: 19848051.
132. Haribabu A, Reddy VS, Pallavi Ch, Bitla AR, Sachan A, Pullaiah P, Suresh V, Rao PV, Suchitra MM. Evaluation of protein oxidation and its association with lipid peroxidation and thyrotropin levels in overt and subclinical hypothyroidism. *Endocrine.* 2013 Aug;44(1):152-7. doi: 10.1007/s12020-012-9849-y. PMID: 23224563.
133. Torun AN, Kulaksizoglu S, Kulaksizoglu M, Pamuk BO, Isbilen E, Tutuncu NB. Serum total antioxidant status and lipid peroxidation marker malondialdehyde levels in overt and subclinical hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009 Mar;70(3):469-74. doi: 10.1111/j.1365-2265.2008.03348.x. PMID: 18727709.
134. Santi A, Duarte MM, Moresco RN, Menezes C, Bagatini MD, Schetinger MR, Loro VL. Association between thyroid hormones, lipids and oxidative stress biomarkers in overt hypothyroidism. *Clin Chem Lab Med.* 2010 Nov;48(11):1635-9. doi: 10.1515/CCLM.2010.309. PMID: 20704527.
135. Cebeci E, Oner FA, Usta M, Yurdakul S, Erguney M. Evaluation of oxidative stress, the activities of paraoxonase and arylesterase in patients with subclinic hypothyroidism. *Acta Biomed.* 2011 Dec;82(3):214-22. PMID: 22783718.
136. Reddy VS, Gouroju S, Suchitra MM, Suresh V, Sachan A, Srinivasa Rao PV, Bitla AR. Antioxidant defense in overt and subclinical hypothyroidism. *Horm Metab Res.* 2013 Sep;45(10):754-8. doi: 10.1055/s-0033-1348262. PMID: 23828125.
137. Baskol G, Atmaca H, Tanriverdi F, Baskol M, Kocer D, Bayram F. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with hypothyroidism before and after treatment. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2007 Sep;115(8):522-6. PMID: 17853336.
138. Vlassara H, Uribarri J. Advanced glycation end products (AGE) and diabetes: cause, effect, or both? *Curr Diab Rep.* 2014 Jan;14(1):453. doi: 10.1007/s11892-013-0453-1. Review. PMID: 24292971.

139. Uribarri J, del Castillo MD, de la Maza MP, Filip R, Gugliucci A, Luevano-Contreras C, Macías-Cervantes MH, Markowicz Bastos DH, Medrano A, Menini T, Portero-Otin M, Rojas A, Sampaio GR, Wrobel K, Wrobel K, Garay-Sevilla ME. Dietary advanced glycation end products and their role in health and disease. *Adv Nutr.* 2015 Jul 15;6(4):461-73. doi: 10.3945/an.115.008433. Review. PMID: 26178030.
140. Henning C, Glomb MA. Pathways of the Maillard reaction under physiological conditions. *Glycoconj J.* 2016 Aug;33(4):499-512. doi: 10.1007/s10719-016-9694-y. Review. PMID: 27291759.
141. Stirban A, Gawlowski T, Roden M. Vascular effects of advanced glycation endproducts: Clinical effects and molecular mechanisms. *Mol Metab.* 2013 Dec 7;3(2):94-108. doi: 10.1016/j.molmet.2013.11.006. Review. PMID: 24634815.
142. Vlassara H, Striker GE. AGE restriction in diabetes mellitus: a paradigm shift. *Nat Rev Endocrinol.* 2011 May 24;7(9):526-39. doi: 10.1038/nrendo.2011.74. Review. PMID: 21610689.
143. Fu MX, Requena JR, Jenkins AJ, Lyons TJ, Baynes JW, Thorpe SR. The advanced glycation end product, Nepsilon-(carboxymethyl)lysine, is a product of both lipid peroxidation and glycoxidation reactions. *J Biol Chem.* 1996 Apr 26;271(17):9982-6. PMID: 8626637.
144. Schiekofe S, Andrassy M, Chen J, Rudofsky G, Schneider J, Wendt T, Stefan N, Humpert P, Fritsche A, Stumvoll M, Schleicher E, Häring HU, Nawroth PP, Bierhaus A. Acute hyperglycemia causes intracellular formation of CML and activation of ras, p42/44 MAPK, and nuclear factor kappaB in PBMCs. *Diabetes.* 2003 Mar;52(3):621-33. PMID: 12606501.
145. Koschinsky T, He CJ, Mitsuhashi T, Bucala R, Liu C, Buenting C, Heitmann K, Vlassara H. Orally absorbed reactive glycation products (glycotoxins): an environmental risk factor in diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997 Jun 10;94(12):6474-9. PMID: 9177242.
146. Cerami C, Founds H, Nicholl I, Mitsuhashi T, Giordano D, Vanpatten S, Lee A, Al-Abed Y, Vlassara H, Bucala R, Cerami A. Tobacco smoke is a source of

- toxic reactive glycation products. Proc Natl Acad Sci U S A. 1997 Dec 9;94(25):13915-20. PMID: 9391127.
147. Cai W, Gao QD, Zhu L, Peppas M, He C, Vlassara H. Oxidative stress-inducing carbonyl compounds from common foods: novel mediators of cellular dysfunction. Mol Med. 2002 Jul;8(7):337-46. PMID: 12393931.
  148. Förster A, Kühne Y, Henle T. Studies on absorption and elimination of dietary maillard reaction products. Ann N Y Acad Sci. 2005 Jun; 1043:474-81. PMID: 16037269.
  149. Uribarri J, Woodruff S, Goodman S, Cai W, Chen X, Pyzik R, Yong A, Striker GE, Vlassara H. Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. J Am Diet Assoc. 2010 Jun;110(6):911-16. e12. doi: 10.1016/j.jada.2010.03.018. PMID: 20497781.
  150. van Boekel MA. Formation of flavour compounds in the Maillard reaction. Biotechnol Adv. 2006 Mar-Apr;24(2):230-3. Review. PMID: 16386869.
  151. Vlassara H, Uribarri J. Glycooxidation and diabetic complications: modern lessons and a warning? Rev Endocr Metab Disord. 2004 Aug;5(3):181-8. Review. PMID: 15211089.
  152. Vlassara H. The AGE-receptor in the pathogenesis of diabetic complications. Diabetes Metab Res Rev. 2001 Nov-Dec;17(6):436-43. Review. PMID: 11757079.
  153. Vlassara H, Striker GE. Advanced glycation endproducts in diabetes and diabetic complications. Endocrinol Metab Clin North Am. 2013 Dec;42(4):697-719. doi: 10.1016/j.ecl.2013.07.005. Review. PMID: 24286947.
  154. Smedsrød B, Melkko J, Araki N, Sano H, Horiuchi S. Advanced glycation end products are eliminated by scavenger-receptor-mediated endocytosis in hepatic sinusoidal Kupffer and endothelial cells. Biochem J. 1997 Mar 1;322 (Pt2):567-73. PMID: 9065778.
  155. Κ. Κούζη-Κολιάκου, Ν. Κατσίκη, Χ.Μάνες. Τελικά προϊόντα προχωρημένης μη ενζυματικής γλυκοζύλιωσης (AGEs) και βιολογική τους δράση. Ελληνικά Διαβητολογικά Χρονικά 2004 17; 2: 118-138.



156. Sims TJ, Rasmussen LM, Oxlund H, Bailey AJ. The role of glycation cross-links in diabetic vascular stiffening. *Diabetologia*. 1996 Aug;39(8):946-51. PMID: 8858217.
157. Chappey O, Dosquet C, Wautier MP, Wautier JL. Advanced glycation end products, oxidant stress and vascular lesions. *Eur J Clin Invest*. 1997 Feb;27(2):97-108. Review. PMID: 9061302.
158. Vlassara H. Recent progress on the biologic and clinical significance of advanced glycosylation end products. *J Lab Clin Med*. 1994 Jul;124(1):19-30. Review. PMID: 8035098.
159. Vlassara H, Bucala R, Striker L. Pathogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biologic, and clinical implications for diabetes and aging. *Lab Invest*. 1994 Feb;70(2):138-51. Review. PMID: 8139257.
160. Neeper M, Schmidt AM, Brett J, Yan SD, Wang F, Pan YC, Elliston K, Stern D, Shaw A. Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycosylation end products of proteins. *J Biol Chem*. 1992 Jul 25;267(21):14998-5004. PMID: 1378843.
161. Bierhaus A, Humpert PM, Morcos M, Wendt T, Chavakis T, Arnold B, Stern DM, Nawroth PP. Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products. *J Mol Med (Berl)*. 2005 Nov;83(11):876-86. Review. PMID: 16133426.
162. Brett J, Schmidt AM, Yan SD, Zou YS, Weidman E, Pinsky D, Nowygrod R, Neeper M, Przysiecki C, Shaw A, et al. Survey of the distribution of a newly characterized receptor for advanced glycation end products in tissues. *Am J Pathol*. 1993 Dec;143(6):1699-712. PMID: 8256857.
163. Ramasamy R, Yan SF, Schmidt AM. RAGE: therapeutic target and biomarker of the inflammatory response--the evidence mounts. *J Leukoc Biol*. 2009 Sep;86(3):505-12. doi: 10.1189/jlb.0409230. Review. PMID: 19477910.
164. Schmidt AM, Yan SD, Yan SF, Stern DM. The multiligand receptor RAGE as a progression factor amplifying immune and inflammatory responses. *J Clin Invest*. 2001 Oct;108(7):949-55. Review. PMID: 11581294.

165. Schmidt AM, Yan SD, Yan SF, Stern DM. The biology of the receptor for advanced glycation end products and its ligands. *Biochim Biophys Acta*. 2000 Dec 20;1498(2-3):99-111. Review. PMID: 11108954.
166. Wautier MP, Guillausseau PJ, Wautier JL. Activation of the receptor for advanced glycation end products and consequences on health. *Diabetes Metab Syndr*. 2016 Sep 4. pii: S1871-4021(16)30208-9. doi: 10.1016/j.dsx.2016.09.009. Review. PMID: 27612394.
167. Bierhaus A, Schiekofer S, Schwaninger M, Andrassy M, Humpert PM, Chen J, Hong M, Luther T, Henle T, Klötting I, Morcos M, Hofmann M, Tritschler H, Weigle B, Kasper M, Smith M, Perry G, Schmidt AM, Stern DM, Häring HU, Schleicher E, Nawroth PP. Diabetes-associated sustained activation of the transcription factor nuclear factor-kappaB. *Diabetes*. 2001 Dec;50(12):2792-808. PMID: 11723063.
168. Wautier MP, Chappey O, Corda S, Stern DM, Schmidt AM, Wautier JL. Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidant stress to altered gene expression via RAGE. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001 May;280(5):E685-94. PMID: 11287350.
169. Sugaya K, Fukagawa T, Matsumoto K, Mita K, Takahashi E, Ando A, Inoko H, Ikemura T. Three genes in the human MHC class III region near the junction with the class II: gene for receptor of advanced glycosylation end products, PBX2 homeobox gene and a notch homolog, human counterpart of mouse mammary tumor gene int-3. *Genomics*. 1994 Sep 15;23(2):408-19. PMID: 7835890.
170. Hudson, BI, Hofmann, MA, Bucciarelli, L, Wendt, T, Moser, B, Lu, Y, Qu, W, Stern, DM, D'Agati, V, Yan, SD, Yan, SF, Grant, PJ & Schmidt, AM 2002, 'Glycation and diabetes: The RAGE connection' *Current Science*, vol 83, no. 12, pp. 1515-1521.
171. Hudson BI, Stickland MH, Futers TS, Grant PJ. Effects of novel polymorphisms in the RAGE gene on transcriptional regulation and their association with diabetic retinopathy. *Diabetes*. 2001 Jun;50(6):1505-11. PMID: 11375354.

172. Picheth G, Costantini CO, Pedrosa FO, Leme da Rocha Martinez T, Maltempo de Souza E. The -374A allele of the receptor for advanced glycation end products (RAGE) gene promoter is a protective factor against cardiovascular lesions in type 2 diabetes mellitus patients. *Clin Chem Lab Med.* 2007;45(10):1268-72. PMID: 17924846.
173. Yuan D, Yuan D, Liu Q. Association of the receptor for advanced glycation end products gene polymorphisms with diabetic retinopathy in type 2 diabetes: a meta-analysis. *Ophthalmologica.* 2012;227(4):223-32. doi: 10.1159/000335628. PMID: 22354095.
174. Tripathi AK, Chawla D, Bansal S, Banerjee BD, Madhu SV, Kalra OP. Association of RAGE gene polymorphism with vascular complications in Indian type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014 Mar;103(3):474-81. doi: 10.1016/j.diabres.2013.12.004. PMID: 24418399.
175. Lu W, Feng B. The -374A allele of the RAGE gene as a potential protective factor for vascular complications in type 2 diabetes: a meta-analysis. *Tohoku J Exp Med.* 2010 Apr;220(4):291-7. PMID: 20410680.
176. Liu L, Qiu XB. Association between the receptor for advanced glycation end products gene polymorphisms and coronary artery disease. *Mol Biol Rep.* 2013 Nov;40(11):6097-105. PMID: 24078092.
177. Shi Z, Lu W, Xie G. Association between the RAGE gene -374T/A, -429T/C polymorphisms and diabetic nephropathy: a meta-analysis. *Ren Fail.* 2015 Jun;37(5):751-6. doi: 10.3109/0886022X.2015.1014754. Review. PMID: 25707513.
178. Xia W, Xu Y, Mao Q, Dong G, Shi R, Wang J, Zheng Y, Xu L, Jiang F. Association of RAGE polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis of 27 studies. *Med Oncol.* 2015 Feb;32(2):442. doi: 10.1007/s12032-014-0442-5. PMID: 25603950.
179. Feng LJ, Liu HL, Tan Q, Jin P. -374T/A polymorphism of the receptor for advanced glycation end products is associated with decreased risk of breast cancer in a Chinese population. *Int J Clin Exp Med.* 2015 Jun 15;8(6):10109-13. PMID: 26309709.

180. Zhao DC, Lu HW, Huang ZH. Association between the receptor for advanced glycation end products gene polymorphisms and cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *J Buon*. 2015 Mar-Apr;20(2):614-24. Review. PMID: 26011358.
181. Su SC, Hsieh MJ, Chou YE, Fan WL, Yeh CB, Yang SF. Effects of RAGE Gene Polymorphisms on the Risk and Progression of Hepatocellular Carcinoma. *Medicine (Baltimore)*. 2015 Aug;94(34):e1396. doi: 10.1097/MD.0000000000001396. PMID: 26313784.
182. Gao J, Teng J, Liu H, Han X, Chen B, Xie A. Association of RAGE gene polymorphisms with sporadic Parkinson's disease in Chinese Han population. *Neurosci Lett*. 2014 Jan 24;(559):158-62. doi: 10.1016/j.neulet.2013.11.038. PMID: 24304868.
183. Martens HA, Nienhuis HL, Gross S, van der Steege G, Brouwer E, Berden JH, de Sévaux RG, Derksen RH, Voskuyl AE, Berger SP, Navis GJ, Nolte IM, Kallenberg CG, Bijl M. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) polymorphisms are associated with systemic lupus erythematosus and disease severity in lupus nephritis. *Lupus*. 2012 Aug;21(9):959-68. doi: 10.1177/0961203312444495. PMID: 22513366.
184. Däbritz J, Friedrichs F, Weinhage T, Hampe J, Kucharzik T, Lügering A, Broeckel U, Schreiber S, Spieker T, Stoll M, Foell D. The functional -374T/A polymorphism of the receptor for advanced glycation end products may modulate Crohn's disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2011 May;300(5):G823-32. doi: 10.1152/ajpgi.00115.2010. PMID: 21311028.
185. Wang ZT, Hu JJ, Fan R, Zhou J, Zhong J. RAGE gene three polymorphisms with Crohn's disease susceptibility in Chinese Han population. *World J Gastroenterol*. 2014 Mar 7;20(9):2397-402. doi: 10.3748/wjg.v20.i9.2397. PMID: 24605038.
186. Tizlavicz Z, Gyulai Z, Bencsik K, Szolnoki Z, Kocsis AK, Somogyvári F, Vécsei L, Mándi Y. RAGE gene polymorphisms in patients with multiple sclerosis. *J Mol Neurosci*. 2009 Nov;39(3):360-5. doi: 10.1007/s12031-009-9291-7. PMID: 19757202.

187. Hu FB, Rimm E, Smith-Warner SA, Feskanich D, Stampfer MJ, Ascherio A, Sampson L, Willett WC. Reproducibility and validity of dietary patterns assessed with a food-frequency questionnaire. *Am J Clin Nutr.* 1999 Feb;69(2):243-9. PMID: 9989687.
188. Katsouyanni K, Rimm EB, Gnardellis C, Trichopoulos D, Polychronopoulos E, Trichopoulou A. Reproducibility and relative validity of an extensive semi-quantitative food frequency questionnaire using dietary records and biochemical markers among Greek schoolteachers. *Int J Epidemiol.* 1997;26 Suppl 1:S118-27. PMID: 9126540.
189. Carrell BJ. Validity of the Zung self-rating scale. *Br J Psychiatry.* 1978 Oct;(133):379-80. PMID: 709012.
190. Fountoulakis KN, Iacovides A, Samolis S, Kleanthous S, Kaprinis SG, St Kaprinis G, Bech P. Reliability, validity and psychometric properties of the Greek translation of the Zung Depression Rating Scale. *BMC Psychiatry.* 2001;(1):6. PMID: 11806757.
191. Schimke I, Müller J, Priem F, Kruse I, Schön B, Stein J, Kunze R, Wallukat G, Hetzer R. Decreased oxidative stress in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy one year after immunoglobulin adsorption. *J Am Coll Cardiol.* 2001 Jul;38(1):178-83. PMID: 11451270.
192. Hildebrandt W, Alexander S, Bärtsch P, Dröge W. Effect of N-acetyl-cysteine on the hypoxic ventilatory response and erythropoietin production: linkage between plasma thiol redox state and O(2) chemosensitivity. *Blood.* 2002 Mar 1;99(5):1552-5. PMID: 11861267.
193. Reichenbach J, Schubert R, Schindler D, Müller K, Böhles H, Zielen S. Elevated oxidative stress in patients with ataxia telangiectasia. *Antioxid Redox Signal.* 2002 Jun;4(3):465-9. PMID: 12215213.
194. Ferik P, Teran N, Gersak K. The (TAAAA)n microsatellite polymorphism in the SHBG gene influences serum SHBG levels in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2007 Apr;22(4):1031-6. PMID: 17189294.
195. Huang Y, Yang H, Borg BB, Su X, Rhodes SL, Yang K, Tong X, Tang G, Howell CD, Rosen HR, Thio CL, Thomas DL, Alter HJ, Sapp RK, Liang TJ.

A functional SNP of interferon-gamma gene is important for interferon-alpha-induced and spontaneous recovery from hepatitis C virus infection. Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Jan 16;104(3):985-90. PMID: 17215375.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

### ΙΣΤΟΡΙΚΟ

ΑΥΞΩΝ ΑΡΙΘΜΟΣ:..... ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ:.....ΙΑΤΡΕΙΟ:.....

#### ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ:

Όνοματεπώνυμο: .....  
Τηλέφωνο: Σταθερό: ..... Κινητό: .....  
Ημερομηνία γέννησης: ...../...../..... Διαμονή έως 10 ετών .....  
Διεύθυνση:.....ΤΚ:.....

#### ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ:

Κάπνισμα: OXI/0 NAI/1, έτη.....τσιγάρα/μέρα.....  
Μεσημεριανός ύπνος: OXI/0 NAI/1, Βραδινός ύπνος:.....  
Λήψη ιωδιούχων: OXI/0 NAI/1

#### ΑΤΟΜΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ:

- Ιστορικό στεφανιαίας νόσου: OXI/0 NAI/1
- Ιστορικό πρόπτωσης μιτροειδούς: OXI/0 NAI/1
- Ιστορικό υπέρτασης: OXI/0 NAI/1
- Ιστορικό αρρυθμίας: OXI/0 NAI/1 κολπικής μαρμαρυγής/2
- Ιστορικό κακοήθειας: OXI/0, θυρεοειδούς/1, λοιπές/2.....
- Ιστορικό σακχαρώδη διαβήτη: OXI/0 ΔΑΓ/1 ΣΔΤ2/2 ΣΔΤ1/3
- Αντιδιαβητική αγωγή: Δίαιτα/1 Δισκία/2 Ινσουλίνη/3
- Ιστορικό δυσλιπιδαιμίας: OXI/ Chol/1 Trigl/2 Μικτή/3
- Ιστορικό οστεοπόρωσης OXI/0 οστεοπενία/1 NAI/2
- Ιστορικό υπερουριχαιμίας: OXI/0 NAI/1
- Σιδηροπενική αναιμία: OXI/ 0 NAI/ 1
- Αυτοάνοσα νοσήματα: OXI/0, Λεύκη/1, Ψωρίαση/2, Ρ.Α/3, ΣΕΛ/4, Άλλο/5
- Αλλεργίες: OXI/0 NAI/1

#### ΓΥΝΑΙΚΟΛΟΓΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ:

- Ηλικία εμμηναρχής:.....Ηλικία εμμηνόπαυσης:.....
- Συχνότητα εμμήνου ρύσεως (κύκλοι/ έτος):.....
- Πολυκυστικές ωοθήκες: OXI/0 NAI/1
- Ιστορικό λήψης αντισυλληπτικών: OXI/0 NAI/1 έτη:.....
- Θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης: OXI/0 NAI/1 έτη:.....
- Αριθμός κήσεων:..... Αριθμός τοκετών ζώντων νεογνών:.....
- Σακχαρώδης διαβήτης κύησης: OXI/0 NAI/1

ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΑΥΤΟΑΝΟΣΗΣ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ:

OXI/0 Hashimoto/1 Graves'/2 Hashimoto&Graves'/3  
Μέλος με θυρεοειδοπάθεια: Πατέρας/1, Μητέρα/2, Αδέλφια/3, Παιδιά/4,  
Συγγενείς μητρικής οικογένειας/5, Συγγενείς πατρικής οικογένειας/6

ΛΟΙΠΟ ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ: (γονείς, αδέλφια, παιδιά)

Σακχαρώδης διαβήτης: OXI/0 NAI/1  
Παχυσαρκία: OXI/0 NAI/1  
Αυτοάνοσα νοσήματα: OXI/0 NAI/1

ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ:

- Ύψος:..... cm
- Βάρος:..... kg BMI:.....kg/cm<sup>2</sup>
- Περίμετρος κοιλίας:..... cm CELIAC: .....
- Περίμετρος γλουτών:..... cm W/H: .....
- Αρτηριακή πίεση: Συστολική:.....Διαστολική:.....Σφύξεις:.....
- Ψηλάφηση θυρεοειδούς: Μέγεθος: Μικρό/1 Μέτριο/2 Μεγάλο/3  
Υφή: Μαλθακή/ 1 Ελαστική /2  
Όζοι ψηλαφητοί .....

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΕΥΡΗΜΑΤΑ:

	1η επίσκεψη	2η επίσκεψη	3η επίσκεψη
TSH			
T4			
FT4			
T3			
Anti-Tg			
Anti-TPO			
U/S θυρ Ευρήματα:			

ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΘΥΡΕΟΕΙΔΟΠΑΘΕΙΑΣ:

Θυρεοειδοπάθεια: Όχι ΑΘΑ/0  
Μόνο ΑΘΑ/1, (anti-Tg, anti-TPO, anti-Tg&anti-TPO)  
Υποκλινικός υποθυρεοειδισμός/2  
Υποθυρεοειδισμός/3  
Δόση θυροξίνης: ..... μg  
Έναρξη...../...../..... δόση κατά την έναρξη.....



## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

### ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ

- Πόσα γεύματα τρώτε την ημέρα: κύρια.....σνακ.....
- Τρώτε πάντα πρωινό: ΟΧΙ    ΝΑΙ
- Πόσο συχνά καταναλώνετε τρόφιμα από τις παρακάτω ομάδες με βάση μια συνήθη εβδομάδα:

	Ποτέ	Σπάνια	2-3 φορές/μήνα	1-2 φορές /εβδ	3-5 φορές/εβδ	Καθημερινά
Κρέας άπαχο						
Λουκάνικα, λιπαρά κρέατα						
Αλλαντικά						
Ψάρι- Θαλασσινά						
Γαλακτοκομικά						
Αυγά						
Φέτα						
Κίτρινα τυριά						
Χόρτα						
Λαχανικά ωμά						
Φρέσκα φρούτα						
Ξηρά φρούτα						
Λεμόνι ή Ξύδι						
Όσπρια						
Δημητριακά						
Ζυμαρικά						
Πατάτες						
Ελαιόλαδο						
Ωμοί Ξηροί καρποί						
Γλυκά						
Πατατάκια και παρεμφερή σνακ						
Αναψυκτικά ανθρακούχα						
Αλκοόλ						

- Πως προτιμάτε να καταναλώνετε το κρέας σας;  
Καλά ψημένο[ ] Μέτρια ψημένο[ ] Λίγο ψημένο[ ]
- Καταναλώνετε συμπληρώματα διατροφής και αν ναι ποιά;.....
- Πόσο συχνά καταναλώνετε το ΚΡΕΑΣ ή το ΨΑΡΙ σας παρασκευασμένο με τους παρακάτω τρόπους μαγειρέματος με βάση μια συνήθη εβδομάδα:

	Ποτέ	Σπάνια	2-3 φορές/μήνα	1-2 φορές /εβδ	3-5 φορές/εβδ	Καθημερινά
Βραστό						
Τηγανητό						
Τσιγαριστό						
Φούρνου						
Στη σχάρα ή στα κάρβουνα						
Από κονσέρβα						
Fast food						

- Πόσο συχνά καταναλώνετε τα ΛΑΧΑΝΙΚΑ σας παρασκευασμένα με τους παρακάτω τρόπους μαγειρέματος με βάση μια συνήθη εβδομάδα:

	Ποτέ	Σπάνια	2-3 φορές/μήνα	1-2 φορές /εβδ	3-5 φορές/εβδ	Καθημερινά
Βραστά						
Τηγανητά						
Φούρνου						
Τσιγαριστά						
Στη σχάρα ή στα κάρβουνα						
Από κονσέρβα						
Fast food						

- Ποιά φρούτα καταναλώνετε συνήθως και σε τι ποσότητα ημερησίως:.....
- Ποια λαχανικά καταναλώνετε συνήθως και σε τι ποσότητα ημερησίως:.....
- Καταναλώνετε ψωμί συνήθως: λευκό[ ], ολικής άλεσης[ ], πολύσπορο[ ], φρυγανισμένο[ ]
- Το γάλα/γιαούρτι σας προτιμάτε να είναι: πλήρες, χαμηλά λιπαρά, χωρίς λιπαρά
- Στο μαγείρεμα χρησιμοποιείτε: Λάδι φυτικής προέλευσης [ ] Βούτυρο [ ]
- Πίνετε καθημερινά καφέ και σε τι ποσότητα; (φλιτζάνια 60 gr καφεΐνης)  
ΟΧΙ[ ] 0-2φλυτζάνια[ ] 3-5φλυτζάνια[ ] >5φλυτζάνια[ ]
- Πίνετε τσάι και σε τι ποσότητα; (φλιτζάνια 60 gr τεινης)  
ΟΧΙ[ ] 0-1φύτζάνια/εβδ.[ ] 2-3φλυτζάνια/εβδ.[ ] 4-5φλυτζάνια/εβδ.[ ]  
Καθημερινά[ ] >2φλυτζάνια/ημέρα[ ]

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ

### ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ – ΕΠΑΝΕΛΕΓΧΟΣ

Συγκριτικά με τον προηγούμενο χρόνο έχουν αλλάξει οι διατροφικές σας συνήθειες όσον αφορά τα παρακάτω τρόφιμα σε εβδομαδιαία βάση;

	Περισσότερο	Ίδιο	Λιγότερο
Κρέας			
Λιπαρά κρέατα			
Αλλαντικά			
Ψάρια-Θαλασσινά			
Γάλα, γιαούρτι			
Τυριά			
Λαχανικά ωμά			
Φρέσκα φρούτα			
Ξηρά φρούτα			
Ωμοί ξηροί καρποί			
Λεμόνι ή Ξύδι			
Όσπρια			
Δημητριακά, ζυμαρικά, πατάτες			
Γλυκά			
Πατατάκια και παρεμφερή σνακ			
Αναψυκτικά			
Αλκοόλ			

Συγκριτικά με τον προηγούμενο χρόνο έχει αλλάξει ο τρόπος που μαγειρεύετε το κρέας ή το ψάρι σε εβδομαδιαία βάση;

	Περισσότερο	Ίδιο	Λιγότερο
Βραστά			
Τηγανητά			
Τσιγαριστά			
Φούρνου			
Στη σχάρα ή στα κάρβουνα			
Από κονσέρβα			
Fast food			

Συγκριτικά με τον προηγούμενο χρόνο έχει αλλάξει ο τρόπος που μαγειρεύετε τα λαχανικά σε εβδομαδιαία βάση;

	Περισσότερο	Ίδιο	Λιγότερο
Βραστά			
Τηγανητά			
Τσιγαριστά			
Φούρνου			
Στη σχάρα ή στα κάρβουνα			
Από κονσέρβα			
Fast food			

Πόσες μερίδες φρούτα καταναλώνετε συνήθως ημερησίως:.....

Πόσες μερίδες λαχανικά καταναλώνετε συνήθως ημερησίως:.....