

# Utjecaj prehrane na razinu hormona štitne žlijezde u plazmi i njihova uloga u pregradnji kostiju

---

**Brdar, Dubravka**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Split, School of Medicine / Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:171:639609>

*Rights / Prava:* [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-17**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**DUBRAVKA BRDAR**

**UTJECAJ PREHRANE NA RAZINU HORMONA ŠTITNE  
ŽLIJEZDE U PLAZMI I NJIHOVA ULOGA U  
PREGRADNJI KOSTIJU**

**DOKTORSKI RAD**

**Split, 2022.**

**SVEUČILIŠTE U SPLITU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Doktorski studij  
Klinička medicina utemeljena na dokazima**

**DUBRAVKA BRDAR**

**UTJECAJ PREHRANE NA RAZINU HORMONA ŠTITNE  
ŽLIJEZDE U PLAZMI I NJIHOVA ULOGA U  
PREGRADNJI KOSTIJU**

**DOKTORSKI RAD**

**Mentor:  
Prof. dr. sc. Tatijana Zemunik**

**Split, 2022.**

Ova disertacija proizlazi iz rezultata projekta Hrvatske zaklade za znanost „Reguliranje funkcije štitne i doštitne žlijezde i homeostaze kalcija u krvi“ kojem je voditeljica prof. dr. sc. Tatijana Zemunik (IP 2593).

Ovaj rad plod je dugogodišnjeg učenja i rada, ljubavi prema medicini i neprestane želje da se pomogne čovjeku potrebnom liječničke pomoći. U njega su utkani trud, pažnja i ljubav dragih ljudi kojima ovom prigodom želim od srca zahvaliti.

Prije svega, zahvaljujem dragom Bogu na daru života i liječničkog poziva.

Hvala mojim dragim roditeljima za sve u životu, ponajviše za beskrajnu ljubav kojom su ispunili moj život!

Hvala mojim dragim sestrama, Mariji i Jadranki, zetu Dražanu, za zajedništvo i bezuvjetnu podršku!

Hvala mojim nećakinjama Ivi, Ani, Klari i Lani za osmijeh i djetinju sreću!

Hvala svim učiteljima, nastavnicima i profesorima, koji su bili dio mog odgoja i obrazovanja od prvog dana prvog razreda osnovne škole sve do sada!

Zahvaljujem svim kolegama i suradnicima koji su na bilo koji način sudjelovali, pomogli u izradi ovog rada! Posebno hvala Veseli Torlak-Lovrić, Nikolini Pleić, Mirjani Babić Leko, Matei Dumančić, Jakovu Matasu!

Hvala prof. dr. sc. Anti Pundi što je podržao moju želju za daljnjim profesionalnim usavršavanjem!

Na poseban način zahvaljujem mentorici, prof. dr. sc. Tatijani Zemunik na stručnoj pomoći i savjetima, prijateljskoj podršci, od početka do kraja izrade doktorskog rada!

Draga profesorice, hvala Vam što ste uvijek bili 'tu'!

I za kraj, jedno neizmjereno hvala mojem mentoru na specijalizaciji, pok. prof. Vinku Markoviću!

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	1
<b>1.1. Štitna žlijezda</b> .....	1
1.1.1. Embriologija, anatomija i histologija štitne žlijezde .....	1
1.1.2. Sinteza i sekrecija hormona štitne žlijezde.....	3
1.1.3. Transport, metabolizam i djelovanje hormona štitne žlijezde .....	6
1.1.4. Regulacija funkcije štitne žlijezde.....	10
1.1.5. Utjecaj čimbenika okoliša na funkciju štitne žlijezde .....	12
1.1.6. Uloge hormona štitne žlijezde .....	17
1.1.7. Hipotireoza .....	22
1.1.8. Hipertireoza .....	24
<b>1.2. Kost</b> .....	26
1.2.1. Struktura i metabolizam kosti.....	26
1.2.1.1. Pregradnja kosti .....	28
1.2.1.2. Remodeliranje kosti.....	30
1.2.2. Kvaliteta i čvrstoća kosti .....	32
1.2.2.1. Dvoenergetska apsorpciometrija X-zraka i trabekularna struktura kosti.....	33
1.2.2.2. Biljezi koštane pregradnje .....	34
1.2.3. Metabolizam kalcija .....	35
1.2.4. Fiziološko djelovanje hormona doštitne žlijezde .....	39
1.2.5. Fiziološko djelovanje kalcitonina.....	41
1.2.6. Fiziološko djelovanje osteokalcina.....	42
1.2.7. Uloga hormona štitne žlijezde u metabolizmu kosti .....	45
<b>2. HIPOTEZE</b> .....	48
<b>2.1. Hipoteze prve studije</b> .....	48
<b>2.2. Hipoteze druge studije</b> .....	48
<b>3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b> .....	49
<b>3.1. Ciljevi prve studije</b> .....	49
<b>3.2. Ciljevi druge studije</b> .....	49
<b>4. MATERIJALI I METODE</b> .....	50
<b>4.1. Ispitanici</b> .....	50
<b>4.2. Postupci</b> .....	51
4.2.1. Biokemijska mjerenja.....	51
4.2.2. Procjena unosa hrane .....	52
4.2.3. Fenotipska obilježja.....	53

<b>4.3. Statistički postupci</b> .....	53
4.3.1. Prva studija .....	53
4.3.2. Druga studija .....	54
<b>5. REZULTATI</b> .....	56
<b>5.1. Prva studija</b> .....	56
5.1.1. Karakteristike ispitanika uključenih u studiju .....	56
5.1.2. Faktorska analiza potrošnje hrane .....	56
5.1.3. Povezanost hormona štitne žlijezde i prehrane.....	58
<b>5.2. Druga studija</b> .....	62
5.2.1. Karakteristike ispitanika uključenih u studiju .....	62
5.2.2. Razlike fenotipskih karakteristika između ispitanika u eutireozi u odnosu na one koji pripadaju skupinama subkliničke i kliničke hipotireoze te subkliničke i kliničke hipertireoze ....	63
5.2.3. Korelacijska analiza osteokalcina, BMI i BMD s dobi, spolom, TSH, hormonima štitne žlijezde, omjerom FT3/FT4 i osteokalcinom .....	67
5.2.4. Korelacijska analiza između TSH i hormona štitne žlijezde .....	68
5.2.5. Utvrđivanje medijacijskog učinka osteokalcina na povezanost između hormona štitne žlijezde i BMD, kao i suzbijajućeg utjecaja hormona štitne žlijezde na povezanost BMI s vrijednostima osteokalcina kod eutiroidnih ispitanika .....	68
5.2.6. Utjecaj ostalih varijabli na razinu osteokalcina.....	71
<b>6. RASPRAVA</b> .....	73
<b>6.1. Prva studija</b> .....	73
<b>6.2. Druga studija</b> .....	76
<b>7. ZAKLJUČCI</b> .....	83
<b>7.1. Prva studija</b> .....	83
<b>7.2. Druga studija</b> .....	83
<b>8. SAŽETAK</b> .....	85
<b>8.1. Prva studija</b> .....	85
<b>8.2. Druga studija</b> .....	85
<b>9. SUMMARY</b> .....	87
<b>9.1. First study</b> .....	87
<b>9.2. Second study</b> .....	87
<b>10. LITERATURA</b> .....	89
<b>11. KRATKI ŽIVOTOPIS</b> .....	115

## POPIS KRATICA

T3	Trijodtironin
T4	Tiroksin
Tg	Tireoglobulin
NIS	Jodna crpka (engl. <i>Sodium-iodide symporter</i> )
TPO	Štitna peroksidaza (engl. <i>Thyroid peroxidase</i> )
MIT	Monojodtirozin
DIT	Dijodtirozin
rT3	Reverzni trijodtironin
IYD	Flavoproteinska dejodinaza (engl. <i>Iodotyrosine deiodinase</i> )
TBG	Globulin koji veže tiroksin (engl. <i>Thyroxin binding globulin</i> )
TTR	Transtiretin
T2	Dijodtironin
MCT	Prijenosnici monokarboksilata (engl. <i>Monocarboxylate transporters</i> )
OATP	Prijenosnici organskih aniona (engl. <i>Organic anions transporting polypeptide</i> )
LAT	Prijenosnici neutralnih aminokiselina (engl. <i>L-type aminoacid transporters</i> )
TR	Receptor hormona štitnjače (engl. <i>Thyroid hormone receptor</i> )
RXR	Receptor za retinoid X (engl. <i>Retinoid X receptor</i> )
TRE	Regulacijski elementi hormona štitnjače (engl. <i>Thyroid hormone response elements</i> )
SMRT	Posrednici utišavanja retinoične kiseline i receptora hormona štitnjače (engl. <i>Silencing mediator of retinoic acid and thyroid hormone receptor</i> )
NCoR	Korepresor nuklearnog receptora (engl. <i>Nuclear receptor corepressor</i> )
cAMP	Ciklički adenzin-monofosfat
fT4	Slobodni tiroksin (engl. <i>free</i> )
fT3	Slobodni trijodtironin (engl. <i>free</i> )
TRH	Tireotropin oslobađajući hormon (ili Tireoliberin) (engl. <i>Tyrotropin releasing hormone</i> )
TSH	Tireotropni hormon (engl. <i>Thyroid-stimulating hormone</i> )
LH	Luteinizirajući hormon (engl. <i>Luteinizing hormone</i> )



hCG	Humani korionski gonadotropin
TSHR	Receptor za TSH (engl. <i>Thyroid stimulating hormone receptor</i> )
PTU	Propiltiouracil
IF	Interferon
IL	Interleukin
CTLA-4	Protein povezan s citotoksičnim T limfocitima (engl. <i>Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4</i> )
PDL	Receptorski ligand programirane stanične smrti (engl. <i>Programmed Death Receptor Ligand</i> )
IGF 1	Inzulinu sličan faktor rasta-1 (engl. <i>Insulin-like growth factor-1</i> )
EGF	epidermalni faktor rasta (engl. <i>Epidermal growth factor</i> )
BMP	Koštani morfogenetski protein (engl. <i>Bone morphogenetic protein</i> )
LDL-R	Receptor lipoproteina male gustoće (engl. <i>Low-density lipoproteins receptor</i> )
HMGCR	Hidroksi-metil-glutaril-koenzim A reduktaza (engl. <i>3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase</i> )
MAFA	Onkogeni homolog A mišićnoaponeurotskog fibrosarkoma (engl. <i>Musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog A</i> )
SERCA	Ca <sup>2+</sup> ovisne ATP-aze sarkoplazmatsko/endoplazmatskog retikuluma (engl. <i>Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup> dependent ATPase</i> )
AMPK	Adenozin monofosfat aktivirana protein kinaza (engl. <i>Adenosine monophosphate-activated protein kinase</i> )
STAT3	Transduktor signala i aktivator transkripcije 3 (engl. <i>Signal transducer and activator of transcription 3</i> )
POMC	Proopiomelanokortin (engl. <i>Proopiomelanocortin</i> )
CREB	Vezujući protein za element odgovora cAMP (engl. <i>cAMP response element binding protein</i> )
TGAt	Protutijela na tireoglobulin (engl. <i>Thyroglobulin antibody</i> )
TPOAt	Protutijela na peroksidazu (engl. <i>Thyroid peroxidase antibody</i> )
TRAt	Protutijela na receptor za TSH (engl. <i>TSH receptor antibody</i> )
PTH	Paratireoidni hormon
RANKL	Ligand aktivacijskog receptora za jezgrin čimbenik κ-B (engl. <i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand</i> )
M-CSF	Čimbenik stimulacije makrofragnih kolonija (engl. <i>Macrophage colony-stimulating factor</i> )

OPG	Osteoprotegerin (engl. <i>Osteoprotegerin</i> )
ER $\alpha$	Estrogenski $\alpha$ receptor (engl. <i>Estrogen <math>\alpha</math> receptor</i> )
IGF-1	Inzulinu sličan čimbenik rasta 1 (engl. <i>Insulin-like growth factor-1</i> )
GH	Hormon rasta (engl. <i>Growth hormone</i> )
BMD	Mineralna gustoća kosti (engl. <i>Bone Mineral Density</i> )
TBS	Indeks trabekularne kosti (engl. <i>Trabecular Bone Score</i> )
DXA	Dvoenergetska apsorpciometrija X-zraka (engl. <i>Dual energy-X-ray absorptiometry</i> )
RTG	Radiografija
CT	Kompjutorizirana tomografija
QUS	Kvantitativni ultrazvuk (engl. <i>Quantitative ultrasound</i> )
QCT	Kvantitativna kompjutorizirana tomografija (engl. <i>Quantitative Computed Tomography</i> )
CaSR	Receptor osjetljiv na kalcij (engl. <i>Calcium-sensing receptor, CaSR</i> )
TRPV	Prolazni receptorski potencijal podobitelji vaniloid (engl. <i>Transient receptor potential vanilloid</i> )
FGF	Čimbenik rasta fibroblasta (engl. <i>Fibroblast growth factor</i> )
ERK $\frac{1}{2}$	Izvanstanično signalno regulirane kinaze 1/2 (engl. <i>Extracellular signal-regulated kinases</i> )
PLC	Fosfatidilinozitol-specifična fosfolipaza C (engl. <i>Phosphatidylinositol-specific phospholipase</i> )
RANK	Receptor aktivator jezgrinog čimbenika na preosteoklastima $\kappa$ -B (engl. <i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B</i> )
PKA	Protein Kinaza A
PIP2	Fosfatidilinozitol (4,5)-difosfat (engl. <i>Phosphatidylinositol (4,5)-biphosphate</i> )
DAG	Diacilglicerol
IP3	Inozitol (1,4,5)-trifosfat (engl. <i>Inositol (1,4,5)-trisphosphate</i> )
CGRP	Peptid povezan s kalcitoninskim genom (engl. <i>Calcitonin Gene-Related Peptide</i> )
CRSP	Peptid koji stimulira receptor kalcitonina (engl. <i>Calcitonin Receptor-Stimulating Peptide</i> )

MAPK/Erk ½	Mitogen aktivirane protein kinaze/izvanstanične signalno regulirane kinaze ½ (engl. <i>Mitogen-activated protein kinases/extracellular signal-regulated kinases</i> )
MAP	Mitogen-aktivirane protein kinaze (engl. <i>Mitogen-activated protein kinases</i> )
GABA	Gama-amino maslačna kiselina (engl. <i>Gamma-Aminobutyric Acid</i> )
VIF	Faktor inflacije varijance
GI	Glikemijski indeks
PBM	Vršna koštana masa (engl. <i>Peak bone mass</i> )
FRAX	Alat za procjenu rizika prijeloma (engl. <i>Fracture Risk Assessment Tool</i> )

# 1. UVOD

Doktorska disertacija bazirana je na rezultatima dviju provedenih studija. Prvom studijom analizirane su skupine prehrambenih čimbenika koje se povezuju s plazma razinom TSH i hormona štitne žlijezde kod eutiroidnih ispitanika. Drugom studijom analizirane su korelacije TSH i hormona štitne žlijezde s vrijednostima osteokalcina, BMI i BMD kod eutiroidnih ispitanika. Također su analizirane razlike između skupine eutiroidnih ispitanika i onih koji imaju subkliničku ili kliničku hipotireozu, te subkliničku ili kliničku hipertireozu. Sukladno tome, poglavlja disertacije odvojeno prikazuju problematiku jedne i druge studije.

## 1.1. Štitna žlijezda

### 1.1.1. Embriologija, anatomija i histologija štitne žlijezde

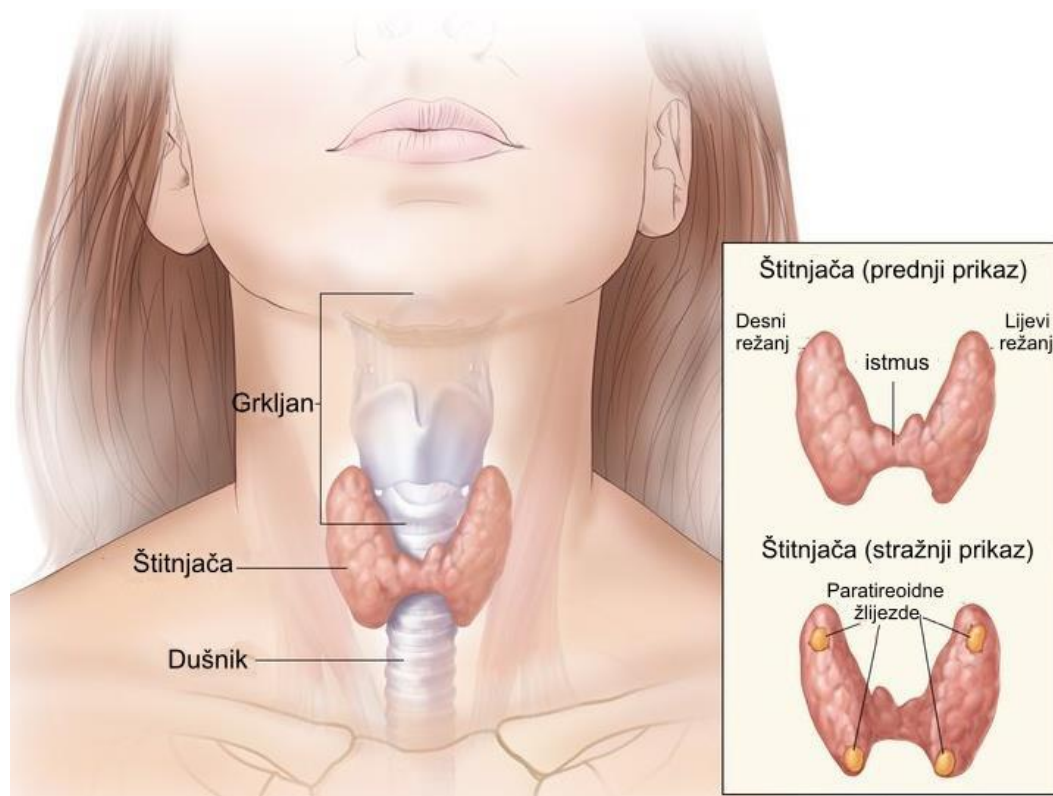
Štitna žlijezda (lat. *glandula thyroidea*) se razvija iz endoderma, krajem trećeg tjedna embrionalnog razvoja, u području foramen cekuma (1). Epitelna osnova u obliku divertikula spušta se kaudalno, ostaje povezana s jezikom tireoglosalnim duktusom. U petom i šestom tjednu embrionalnog razvoja proksimalni dio tireoglosalnog duktusa iščezava, a ako zaostane iz njega se razvije piramidalni lobus, koji je najčešće smješten paramedijalno lijevo. Svoj konačni položaj ispred dušnika i štitne hrskavice dosegne u 7. tjednu razvoja. Sastoji se od desnog i lijevog režnja, uskog središnjeg spojnog dijela, istmusa, koji se nalazi kaudalno uz prstenastu hrskavicu. Prvi folikuli se pojavljuju krajem trećeg mjeseca, a folikularne stanice počinju izlučivati koloid koji sadrži trijodtironin (T3) i tiroksin (T4) (2).

Štitnjači se u razvoju pridružuju stanice faringelanog kompleksa koje su neuroektodermalnog porijekla, a iz njih se razvijaju parafolikularne ili C-stanice koje izlučuju kalcitonin.

Štitnjača je obavijena vanjskom i unutarnjom vezivnom ovojnicom, a tračci unutarnje ovojnice dijele štitnjaču u sitne režnjiće (1). Arterijskom krvlju opskrbljuju je dvije parne gornje i donje tiroidne arterije (lat. *arteria thyroidea superior*, *arteria thyroidea inferior*). Gornja je ogranak vanjske karotidne arterije, a donja je ogranak subklavije. U 10 % ljudi se uz opisane nalazi tiroidna arterija ima (lat. *arteria thyroidea ima*), koja je ogranak zajedničke karotidne arterije ili trunkus brahiocefalikusa. Vensku krv odvođe gornje, srednje i donje tiroidne vene (lat. *vena thyroidea superior*, *vena thyroidea media*, *vena thyroidea inferior*) koje se ulijevaju u unutarnju jugularnu venu. S donjeg dijela štitne žlijezde, vene u medijalnoj

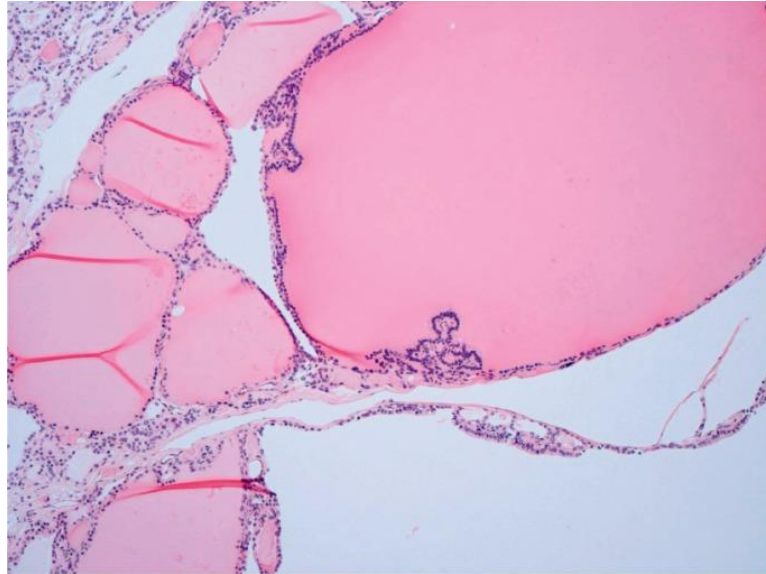
liniji tvore venski splet (lat. *plexus thyroideus impar*), potom se vena tiroidea ima ulijeva u lijevu brahiocefaličnu venu (3).

Limfa se drenira u paratrahealne, pretrahealne, paraglandularne, prelaringealne, jugularne, supraklavikularne i medijastinalne limfne čvorove (1). Štitna žlijezda je inervirana od gornjeg, srednjeg i donjeg cervikalnog simpatičkog ganglija (3).



Slika 1. Štitna žlijezda. Preuzeto i prilagođeno prema <https://visualsonline.cancer.gov/details.cfm?imageid=9268>

Osnovna funkcionalna jedinica štitnjače je folikul, okrugli mjehurić obložen jednoslojnim epitelnim stanicama. Folikularne stanice mogu biti kubične, niske cilindrične i pločaste (4). Folikuli su promjera od 100-300  $\mu\text{m}$ . Lumen folikula sadrži koloid, čiji je glavni sastojak tireoglobulin (Tg), na koji su vezani hormoni štitnjače (5). Tako je štitna žlijezda jedina endokrina žlijezda s hormonima pohranjenim ekstracelularno (6). Masa štitnjače u zdrave, odrasle osobe je 15-20 g (5).



Slika 2. Histološka slika štitne žlijezde, Hemalaun & Eozin, x 100. Folikuli ispunjeni koloidom. Preuzeto i prilagođeno prema (7).

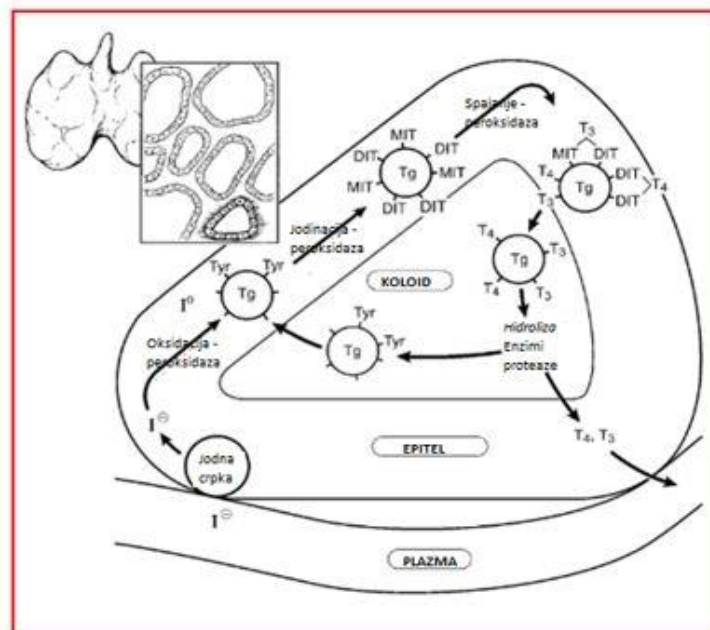
#### 1.1.2. Sinteza i sekrecija hormona štitne žlijezde

Štitna žlijezda sintetizira T4 i T3. Za sintezu hormona štitnjače neophodan je jod, kojeg unosimo hranom u obliku jodida. Tjedna potreba je oko 1 mg, odnosno godišnja 50 mg. Da bi se izbjegao manjak joda, u Hrvatskoj je donesen zakon o obveznom jodiranju kuhinjske soli s dodatkom od 25 mg KI/kg soli (8).

Nakon oralne ingestije, jod se u gornjem dijelu tankog crijeva reducira u jodid ( $J^-$ ). Više od 90 % jodida se apsorbira u roku od 60 minuta. Krvlju se distribuira slično kloridnom ionu. Oko 20 % jodida iz krvi ekstrahira štitnjača, a oko 80 % ga se izluči bubrezima. Dio se luči slinovnicama i želučanom sluznicom u probavni sustav. Jodid se iz krvi aktivnim transportom pomoću jodne crpke, odnosno NIS-a (engl. *Sodium-iodide symporter*, NIS) na bazolateralnoj membrani tireocita prenosi u unutrašnjost stanice. NIS kotransportom prenosi dva iona natrija i jedan ion jodida u unutrašnjost stanice. Intracelularna koncentracija joda je 25-30 puta veća od koncentracije u plazmi, a u stanjima maksimalne aktivnosti i do 500 puta (9).

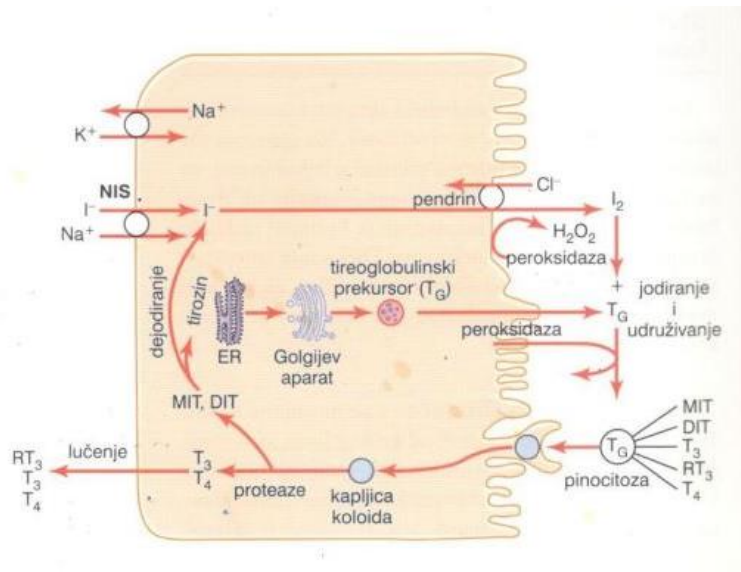
Energija za aktivni transport jodida protiv koncentracijskog gradijenta potječe od natrijsko-kalijske ATP-azne crpke. Jodid se potom na apikalnoj membrani s kloridnim ionom pomoću transmembranskog proteina pendrina prenosi u lumen folikula (5). Endoplazmatski retikulum i Golgijev aparat tireocita sintetiziraju Tg, glikoprotein relativne molekulske mase oko 670 kDa (10). Tg se izlučuje u lumen folikula. Svaka molekula Tg sadrži 140 molekula

aminokiseline tirozina, koje vežu jod i stvaraju hormone štitnjače. Hormoni se sintetiziraju na spoju apikalne površine i koloida, a pohranjuju unutar molekule Tg, u koloidu folikularne stanice (5). Prvi važan stupanj u sintezi hormona štitnjače je oksidacija i vezanje jodidnih iona, a potom se u oksidiranom obliku jod veže s tirozinom na molekuli Tg. Proces vezanja joda s Tg zove se organifikacija Tg. Ove procese katalizira štitna peroksidaza (TPO) u prisustvu vodikovog peroksida. Peroksidaza je membranski glikoprotein, sastoji se od 933 aminokiseline, a nalazi se na apikalnom dijelu stanične membrane (5). Tirozin se jodira u monojodtirozin (MIT), potom u dijodtirozin (DIT). Spajanjem MIT-a i DIT-a nastaje T<sub>3</sub>, a spajanjem dva DIT-a nastaje T<sub>4</sub>. U malim količinama stvara se i reverzni trijodtironin (rT<sub>3</sub>) koji je gotovo potpuno neaktivan (11).



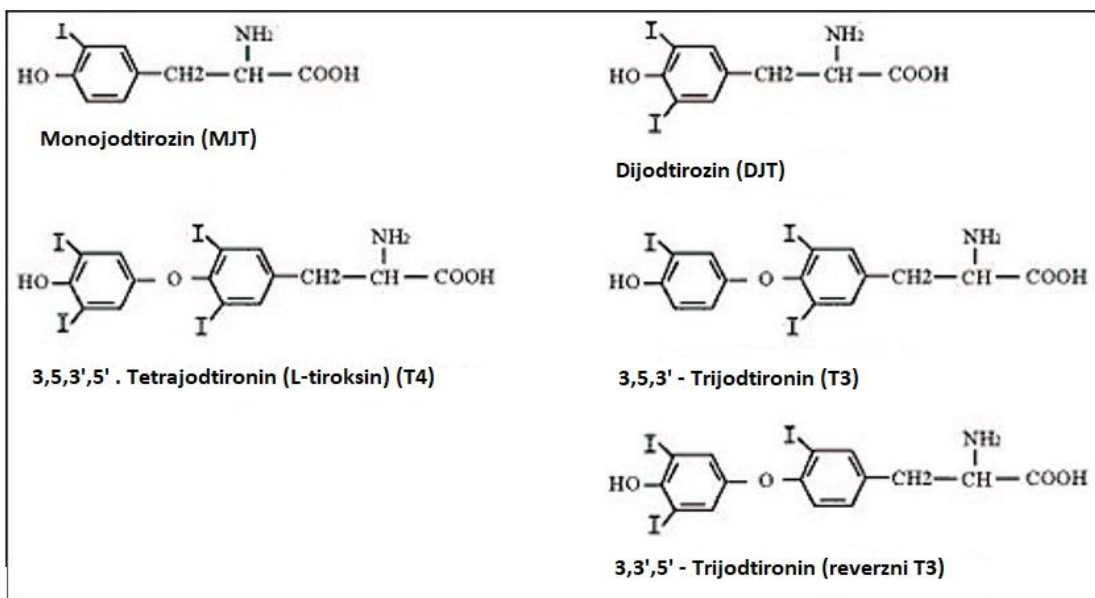
Slika 3. Metabolizam joda. Preuzeto i prilagođeno prema (9).

Hormoni štitne žlijezde pohranjuju se u folikulima vezani na Tg, a pohranjena količina hormona dovoljna je za normalno funkcioniranje organizma tijekom 2-3 mjeseca (5). U stanjima eutireoze, hormoni ostaju u koloidu oko 84 dana (12). Hormoni se odcijepuju od molekule Tg. Na apikalnoj strani tireocita nalaze se izdanci u obliku pseudopodija, obaviju male dijelove koloida, te tako tvore pinocitozne mjehuriće, s kojima se stapaju proteaze lizosoma koji oslobađaju T<sub>3</sub> i T<sub>4</sub>. Hormoni difundiraju u krv na kontralateralnoj strani tireocita.



Slika 4. Sinteza i sekrecija hormona štitne žlijezde. Preuzeto i prilagođeno prema (5).

Tijekom razgradnje Tg, osim hormona oslobađaju se i jodirani tirozini (MIT i DIT), od kojih se djelovanjem flavoproteinske dejodinaze (engl. *Iodotyrosine deiodinase*, IYD) oslobađa jod, koji se koristi za ponovnu sintezu hormona (13,14). Od ukupne količine hormona izlučenih iz žlijezde, približno 93 % čini T4, a 7 % T3. Dnevno se sintetizira oko 100 µg (130 nmol) T4 i 33,5 µg (50 nmol) T3 (10).



Slika 5. Strukturne formule hormona štitne žlijezde i njihovih prekursora. Preuzeto i prilagođeno prema (15).



### 1.1.3. Transport, metabolizam i djelovanje hormona štitne žlijezde

Hormoni štitne žlijezde gotovo su netopivi u vodi, te su u krvi vezani na transportne proteine. Vrlo mala količina hormona je u slobodnom, nevezanom obliku (engl. *free*), oko 0,3 % T<sub>3</sub> i 0,02 % T<sub>4</sub> (16). Glavni transportni proteini su: globulin koji veže tiroksin (engl. *thyroxin binding globulin*, TBG), transtiretin, ranije nazvan prealbumin, koji veže tiroksin (TTR) i albumin. TBG ima najveći afinitet za vezanje hormona štitnjače. Albumin ima znatno manji afinitet vezivanja hormona u usporedbi s TBG i TTR, ali zbog velike koncentracije transportira oko 20 % T<sub>4</sub> i 11 % T<sub>3</sub>. TBG transportira oko 65 % T<sub>4</sub> i 80 % T<sub>3</sub>, a TTR 15 % T<sub>4</sub> i 9 % T<sub>3</sub> (17).

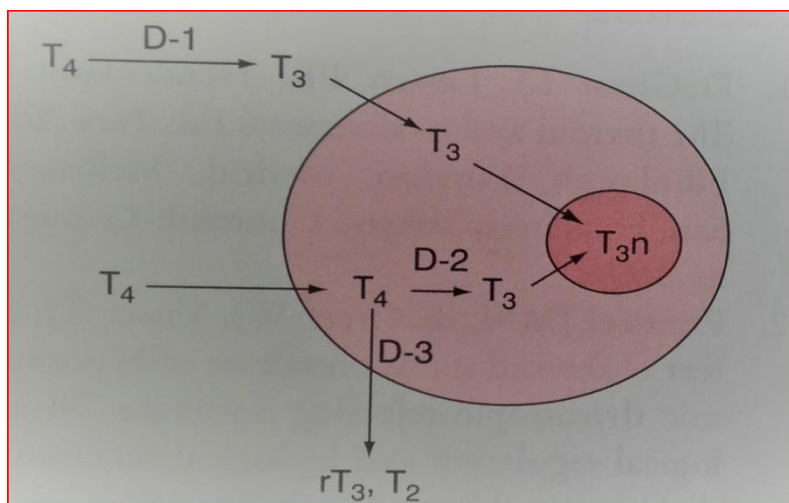
Zbog velikog afiniteta transportnih proteina za hormone štitnjače, hormoni se sporo otpuštaju u stanice. Poluživot T<sub>4</sub> u plazmi je oko sedam dana, a T<sub>3</sub> jedan dan. T<sub>3</sub> djeluje s vremenom latencije od 6-12 h, s maksimalnom aktivnošću za 2-3 dana. T<sub>4</sub> maksimum aktivnosti postiže za 10-12 dana (5).

Hormone štitnjače metaboliziraju tri dejodinaze - tip1, 2 i 3 (D1, D2 i D3) u aktivne i inaktivne oblike. Dejodinaze su integralni membranski proteini, sadrže selenocistein te spadaju u skupinu selenoproteina (18).

D1 je prisutna u plazma membrani, katalizira dejodinaciju T<sub>4</sub> na vanjskom prstenu (tako nastaje T<sub>3</sub>), a i na unutarnjem prstenu (tako nastaje rT<sub>3</sub>). Dejodinacijom T<sub>3</sub> i rT<sub>3</sub> nastaje dijodtironin (T<sub>2</sub>) (10). Najzastupljenija je u jetri, bubrezima, štitnjači. Aktivnost joj je povećana u hipertireozi.

D2 katalizira dejodinaciju T<sub>4</sub> na vanjskom prstenu, te tako nastaje T<sub>3</sub>. Nalazi se unutar stanice, na membrani endoplazmatskog retikuluma, te joj je fiziološka uloga kontrola intracelularne koncentracije T<sub>3</sub>. Aktivnost joj je pojačana u hipotireozi. Najzastupljenija je u hipofizi, mozgu, smeđem masnom tkivu; te je njeno djelovanje bitno za opskrbu mozga i hipofize trijodtironinom (10).

D3 se nalazi u plazma membrani, inaktivira T<sub>3</sub> i T<sub>4</sub> jer katalizira dejodinaciju na unutarnjem prstenu (tako nastaju rT<sub>3</sub> i T<sub>2</sub>). Najzastupljenija je u glija stanicama, posteljici, maternici i fetalnim tkivima; te regulira koncentraciju hormona štitnjače u fetusa (19). Fiziološka uloga D3 je zaštita fetalnih tkiva od prevelike koncentracije T<sub>3</sub>. D2 i D3 tako reguliraju intranuklearnu razinu T<sub>3</sub> (20).



Slika 6. Dejodinacija hormona štitne žlijezde posredovana specifičnim dejodinazama. Preuzeto i prilagođeno prema (10).

Tip	D1	D2	D3
Tkiva	jetra, bubreg, štitnjača	mozak, hipofiza, skeletni mišići, srce	mozak, placenta, fetalna tkiva
Supstrati	$rT_3 \gg T_4 = T_3$	$T_4 > rT_3$	$T_3 > T_4$
Funkcija	Produkcija plazmatskog T <sub>3</sub>	Produkcija lokalnog T <sub>3</sub>	Degradacija T <sub>3</sub>
Hipotireoza	Pad	Rast	Pad
Hipertireoza	Rast	Pad	Rast

Slika 7. Tri tipa jodotironin dejodinaza i njihove karakteristike. Preuzeto i prilagođeno prema (11).

Ulazak hormona štitnjače u ciljne stanice, posredovan je specifičnim membranskim transportnim proteinima (21). U čovjeka je poznato 16 prijenosnika hormona štitnjače, grupiranih u pet obitelji. To su: prijenosnici monokarboksilata, MCT8 i MCT10 (engl. *Monocarboxylate transporter*, MCT) prijenosnici organskih aniona, OATP1C1 (engl. *Organic anion transporting polypeptide*, OATP) i prijenosnici neutralnih aminokiselina, LAT1 i LAT2 (engl. *L-type amino acid transporter*, LAT). Oni posreduju i ulazak i izlazak

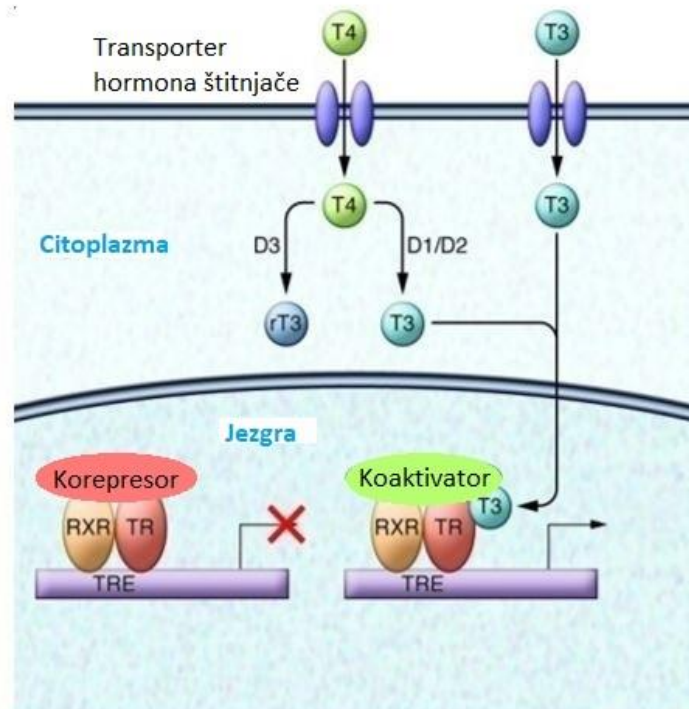
hormona štitnjače preko stanične membrane (22). MCT8 je eksprimiran u mozgu, jetri, bubrezima, placenti, crijevima (23), a sudjeluje u prijenosu T3, rT3, T4 i T2 (24).

OATP1C1 iz obitelji OATP ima najveći afinitet za hormone štitnjače. U stanicama moždanog tkiva sudjeluje u prijenosu T4 preko krvno-moždane barijere (25).

LAT prijenosnici uz aminokiseline, prenose i T3 i T4. LAT1 je učinkovitiji od LAT2 u prijenosu T3 (26). Sudjeluju i u unosu monojodotirozina u stanice (27). Eksprimirani su u mozgu, placenti, jetri, bubrezima, probavnom sustavu, mišićima.

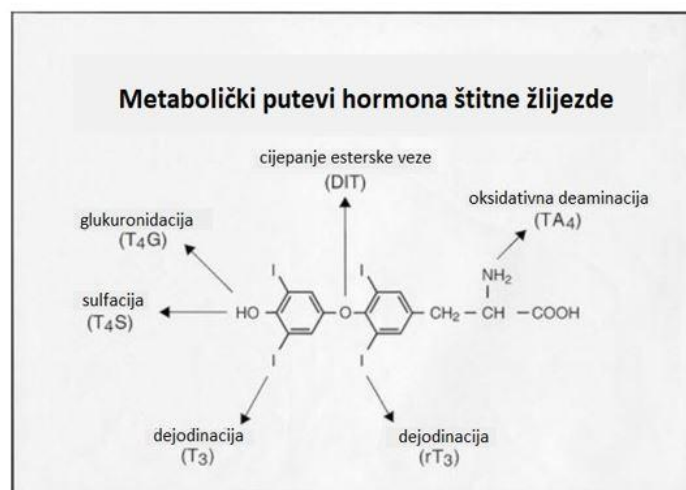
Učinci hormona štitnjače posljedica su njihovog genskog i negenskog djelovanja. Ulaskom u stanicu, hormoni štitnjače se vežu za receptore u jezgri, kao i vitamin D i retinoidi. Receptori hormona štitne žlijezde spadaju u skupinu nuklearnih receptora (28,29). Receptore kodiraju geni *THRA* i *THRB*. Gen *THRA* kodira receptor hormona štitne žlijezde alfa ( $TR\alpha$ ), a gen *THRB* receptor hormona štitne žlijezde beta ( $TR\beta$ ) (engl. *Thyroid hormone receptor*, TR). Gen *THRA* u sisavaca kodira tri C-terminalne varijante, izoforme,  $TR\alpha$ .  $TR\alpha1$  je funkcionalni tip receptora, a  $TR\alpha2$  i  $TR\alpha3$  in vitro djeluju kao antagonisti (30). Gen *THRB* kodira tri N-terminalne varijante  $TR\beta$ ,  $TR\beta1$ ,  $TR\beta2$  i  $TR\beta3$ .  $TR\alpha1$  je eksprimiran u mozgu, srcu i skeletnim mišićima,  $TR\beta1$  u mozgu, jetri, bubrezima;  $TR\beta2$  u mozgu, retini i unutarnjem uhu; a  $TR\beta3$  u bubrezima, jetri i plućima (31).

$TR\alpha1$  i  $TR\beta1$  su najzastupljeniji, a njihove relativne koncentracije se razlikuju za vrijeme razvoja i u odrasloj dobi. Ekspresija  $TR\beta2$  u hipotalamusu i hipofizi posreduje inhibicijsko djelovanje hormona štitnjače na TRH i TSH za kontrolu osi hipotalamus - hipofiza - štitna žlijezda (32,33). T3 se veže za receptor, koji s receptorom za retinoid X (engl. *Retinoid X receptor*, RXR) stvara heterodimer, koji međudjeluje s tireoidnim regulacijskim elementom (engl. *Thyroid hormone response elements*, TRE) koji se nalazi u promotorskom dijelu T3-ciljnih regulacijskih gena, te tako kontrolira njihovu ekspresiju (5). U stanju kad heterodimer TR-RXR nije vezan s T3, veže se na TRE, a zatim na korepresor; utišavaju gene koji se aktiviraju s T3 te dolazi do blokiranja genske transkripcije. Korepresori su posrednici utišavanja retinoične kiseline i receptora hormona štitne žlijezde (engl. *Silencing mediator of retinoic acid and thyroid hormone receptor*, SMRT), te korepresor nuklearnog receptora (engl. *Nuclear receptor corepressor*, NCoR). U slučaju vezanog heterodimera TR-RXR s T3 i TRE, dolazi do 'pucanja' veze s korepresorom, poticanja vezanja koaktivatora, te do aktivacije transkripcije (34).



Slika 8. Djelovanje hormona štitne žlijezde u jezgri. Preuzeto i prilagođeno prema (34).

Negenska djelovanja hormona štitnjače opisana su na mitohondrijima, u citoplazmi i na plazma membrani (31,35). Vezanjem za integralni membranski receptor integrin  $\alpha V\beta 3$ , aktiviraju signalne puteve i biokemijske procese u stanici (36). Povezani su s aktivacijom drugih glasnika (ciklički adenzin-monofosfat, cAMP, protein-kinaza), regulacijom oksidacijske fosforilacije i ionskih kanala (5). Negenska djelovanja hormona štitnjače važna su u regulaciji koncentracije glukoze i triglicerida u krvi, frekvencije pulsa, tjelesne temperature (37), a preko mitohondrija djeluju na proizvodnju energije u stanicama (38). Negenski učinci su kratke latencije, imaju agonistički i antagonistički afinitet, te kinetiku različitu od klasičnih jezgrinih hormona (39). T4 sintetizira štitnjača, a najveći dio cirkulirajućeg T3 nastaje dejodinacijom T4 u perifernim tkivima. Od ukupne dnevne sinteze T4, 30 % se dejodinacijom pretvara u T3, a 40 % u rT3. Od ukupne količine T3: 80% nastaje dejodinacijom T4 ekstratiroidno, a 20 % intratiroidno na način da 10 % nastaje sintezom, a 10 % iz T4. Dakle, 90 % ukupnog T3 nastaje iz T4 (11). Dio hormona koji se ne metabolizira dejodinacijom posredovanom dejodinazama, razgrađuje se u jetri i bubrezima konjugacijom s glukuronskom i sulfatnom kiselinom, te oksidativnom deaminacijom, dekarboksilacijom i cijepanjem esterskih veza (40).



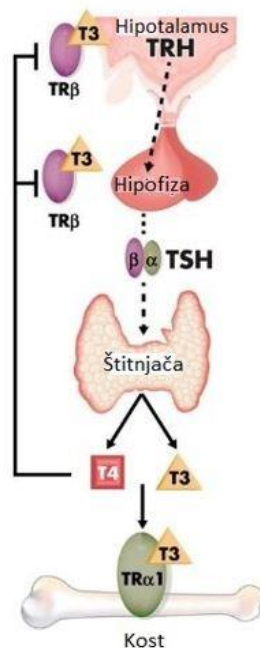
Slika 9. Metabolizam hormona štitne žlijezde. Preuzeto i prilagođeno prema (11).

Serumska koncentracija slobodnog T<sub>4</sub> (fT<sub>4</sub>) je četiri puta veća od slobodnog T<sub>3</sub> (fT<sub>3</sub>), a afinitet receptora je sto puta veći za fT<sub>3</sub> nego za fT<sub>4</sub> (41). Zato se T<sub>4</sub> naziva prohormon, a T<sub>3</sub> je biološki aktivan hormon.

#### 1.1.4. Regulacija funkcije štitne žlijezde

Razina hormona štitne žlijezde treba biti odgovarajuća za održavanje normalne metaboličke aktivnosti. Serumska koncentracija hormona štitne žlijezde kontrolirana je negativnom povratnom spregom osi hipotalamus - hipofiza - štitna žlijezda (42). Hormoni za lokalne potrebe osiguravaju se kontrolom i regulacijom ulaza hormona transmembranskim transporterima i tkivno specifičnim dejodinazama, a djelovanje hormona regulirano je aktivnošću tkivno specifičnih TR (43).

U paraventricularnoj jezgri hipotalamusa luči se tireoliberin, hormon koji oslobađa tireotropin, TRH (engl. *Tyrotropin releasing hormone*, TRH). TRH se hipotalamo - hipofiznim portalnim krvnim žilama transportira u adenohipofizu, veže se za receptor na membrani tireotrofa. U stanici se povećava koncentracija cAMP, te se izlučuje tireotropni hormon (engl. *Thyroid-stimulating hormone*, TSH) (10). TSH se veže na receptore u folikularnim stanicama štitne žlijezde i stimulira sintezu i sekreciju T<sub>4</sub> i T<sub>3</sub>. TSH je glikoprotein, molekularne mase oko 38 kDa, sastoji se od  $\alpha$  i  $\beta$  podjedinice (10).  $\alpha$ -podjedinica je ista i kod hormona koji stimulira folikule (engl. *Follicle stimulating hormone*, FSH), luteinizirajućeg hormona (engl. *Luteinizing hormone*, LH) i humanog korionskog gonadotropina (hCG), a  $\beta$ -podjedinica je TSH-specifična.



Slika 10. Os hipotalamus - hipofiza - štitnjača. Preuzeto i prilagođeno prema (44).

Receptor za TSH, TSHR (engl. *Thyroid stimulating hormone receptor*, TSHR) je receptor na koji je vezan G protein, a sastoji se od vežućeg liganda, izvanstanične i transmembranske domene. cAMP je glavni drugi glasnik u tireocitima nakon aktivacije TSHR, ali su uključeni i alternativni signalni putevi u ekstratiroidnim tkivima i u štitnjači (45–48).

TSH stimulira rad jodidne crpke, jodiranje tirozina i sintezu hormona štitne žlijezde, povećanje volumena i broja tireocita. Najbrži i najvažniji učinak TSH je proteoliza Tg i izlučivanje T3 i T4 u krvotok u roku od 30 minuta (5). Za TSH je karakteristična pulsna sekrecija u razmaku od dva sata, a maksimum sekrecije je između 21 h i 02 h, uz razliku od 1-3 mIJ između minimalne i maksimalne vrijednosti. Poluživot TSH je oko jedan sat (10).

Glavni regulator sinteze i izlučivanja TSH je razina hormona štitnjače. Porast koncentracije hormona štitnjače inhibira sintezu i izlučivanje TSH izravno na razini hipofize, ali i neizravno smanjujući sintezu i izlučivanje TRH u hipotalamusu. U hipotalamusu i hipofizi hormoni štitne žlijezde djeluju uglavnom preko TRβ (32,49).

U stanjima smanjene koncentracije hormona štitnjače, dolazi do povećane sinteze i izlučivanja TSH i TRH.

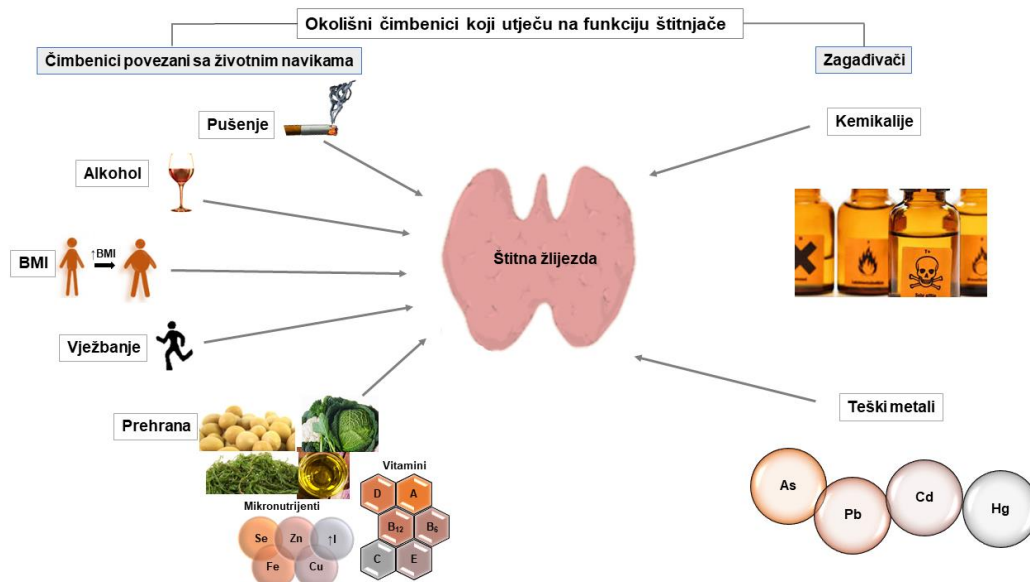
Jod je također bitan u regulaciji rada štitne žlijezde. U stanjima nedostatka joda, povećava se transport joda, povećana je sinteza MIT-a u odnosu na DIT, kao i T3 u odnosu na T4, a jod nastao dejodinacijom se koristi za ponovnu sintezu hormona. U stanjima suviška joda, autoregulacijski mehanizam dovodi do suprotnih učinaka (10).

Somatostatin, dopamin, glukokortikoidi i interleukini (IL6 i IL1 $\beta$ ) inhibiraju izlučivanje TSH, a prostaglandini i  $\alpha$ -adrenergički blokatori stimuliraju izlučivanje TSH (10).

Izlaganje hladnoći je podražaj koji povećava izlučivanje TRH, a time i TSH; što je posljedica stimulacije centra za regulaciju tjelesne temperature u hipotalamusu. Emocionalne reakcije također utječu na izlučivanje TRH i TSH. U stanjima uzbuđenosti i tjeskobe, zbog prenadraženosti simpatikusa, dolazi do smanjenog izlučivanja TSH, vjerojatno jer je zbog povećanja bazalnog metabolizma povećana produkcija topline (5). Sinteza i sekrecija hormona štitne žlijezde regulirani su integriranim podacima nutritivnog statusa, cirkadijalnog ritma, adrenergičkog sustava, kortizola, leptina, akutnog stresa (50,51).

### 1.1.5. Utjecaj čimbenika okoliša na funkciju štitne žlijezde

Veliki broj čimbenika okoliša, kao što su temperatura, svjetlost, nadmorska visina, prehrana, gladovanje, minerali, fizički i emocionalni stres, utječu na funkciju štitne žlijezde. Mnogi lijekovi i kemikalije također utječu na funkciju štitne žlijezde (52). Pušenje i konzumacija alkohola povezani su s TSH i hormonima štitne žlijezde (53).



Slika 11. Čimbenici okoliša koji utječu na funkciju štitnjače. Preuzeto i prilagođeno prema (53).

Izlaganje novorođenčadi niskim temperaturama dovodi do porasta TSH, potom do porasta T3 i T4. Kod odraslih nema značajnijih promjena hormona štitnjače ili dolazi samo do blagog porasta TSH (52). Nizozemska studija na zdravim muškarcima pokazala je da su koncentracije T3 i T4 veće tijekom zimskih mjeseci (54). Utjecaj topline i izlaganje visokim temperaturama, nije temeljitije istraživano. Izlaganje toplini ima suprotan učinak, ali u manjoj mjeri. Kod akutnog izlaganja visokim temperaturama i u febrilnim stanjima, T3 i rT3 su niži (55,56).

Izlaganje većim nadmorskim visinama dovodi do porasta T3 i T4. Na većim visinama dolazi do porasta T4, fT4, T3 i TSH, a fT3 je u granici normale. Ljudi koji žive na višoj nadmorskoj visini imaju niži T4 i viši fT3 i fT4 (52).

Kontinuirana izloženost štakora svjetlu dovodi do porasta T4 za 20 %, a izlaganje vjeeverica tami dovodi do pada mase štitnjače i pada T4, a što govori u prilog inhibicijskog učinka melatonina na funkciju štitnjače (52). Fizički i emocionalni stres mogu imati različite učinke. Primjećen je porast koncentracije hormona štitnjače u studijama na životinjama kao i pri prijemu akutnih psihijatrijskih pacijenata. U većini studija, u 7 - 18 % pacijenata pri prijemu nađene su povišene vrijednosti fT4. Međutim, rezultati su maskirani utjecajem osnovne bolesti i lijekovima koje pacijenti uzimaju. Operacija, kao fizički stres, uzrokovala je brzi pad koncentracije T3. Pretpostavlja se da bi pojačana adrenokortikalna aktivnost ili preoperacijski post mogli uzrokovati promjene u štitnjači (52).

Tijekom prvih 24-48 h gladovanja, koncentracija T3 značajno se smanjuje (57), a što je posljedica smanjene konverzije T4 u T3 (58). Koncentracije T4 i fT4 se povećavaju. Sinteza T3 tijekom gladovanja samo se dijelom može povećati dodatkom proteina, jer se proteini procesom glukoneogeneze pretvaraju u glukozu (59). Dodatkom ugljikohidrata u prehrani, vrijednosti hormona štitnjače se normaliziraju što je pokazala studija na pretilim ispitanicima (60). Udio ugljikohidrata u prehrani čini se glavni čimbenik koji određuje razinu T3 u krvi (61).

Tijekom gladovanja, bazalni TSH je u granici normale ili snižen, a za očekivati je porast TSH zbog nižeg T3. Oslabljen je odgovor hipofize na stimulaciju s TRH (62). To se može objasniti hipotezom da gladovanje 'resetira' točku povratne sprege ili činjenicom da je lučenje u hipofizi regulirano intracelularnom koncentracijom T3 koja se za vrijeme gladovanja značajno ne mijenja, jer je regulirana djelovanjem lokalne dejodinaze D2 (63).

Na razinu hormona štitnjače u krvi ne utječe samo količina hrane koja se uzima, nego i sastav prehrane. Kod zdravih ljudi primjećeno je smanjenje razine TSH, T3, fT3 i fT4 kod primjene dijeta s visokim udjelom proteina (61,64).



Primjena dijete sa smanjenim udjelom proteina povezana je s nižom razinom T3 i većom razinom rT3, vjerojatno zbog promjena u dejodinaciji jodotirozina. Snižen TBG i TTR u serumu, dovode do poremećaja u vezivanju. Kao posljedica toga, fT3 i fT4 su u granici normale (52).

Rezultati većine studija govore da pretili ljudi imaju normalnu funkciju štitne žlijezde i normalan metabolizam hormona, bez poremećaja u funkcioniranju osi hipotalamus - hipofiza-štitna žlijezda (65).

Jod je neophodan element za sintezu hormona štitnjače, a u organizam se unosi vodom i hranom. Preporučena dnevna doza unosa joda za pojedine dobne skupine, po preporukama Svjetske zdravstvene organizacije je 90 µg za novorođenčad, 120 µg za djecu od 1-13 godina života, 150 µg za adolescente i odrasle, te 250 µg za trudnice i dojilje (66).

U stanjima nedostatnog unosa joda, dolazi do povećanog lučenja TSH, što dovodi do povećanog transporta joda u štitnu žlijezdu. Povećana je sinteza MIT-a u odnosu na DIT, kao i T3 u odnosu na T4. T3 je inače tri puta učinkovitiji od T4. Također su ubrzani proteoliza i izlučivanje hormona, a histološki se nalazi stanična hiperplazija i povećanje volumena štitne žlijezde. Jod koji nastaje dejodinacijom MIT-a i DIT-a ne napušta štitnjaču, nego se ponovo koristi u sintezi hormona. Zbog povećanog lučenja TSH, stimulacijom dejodinaze tip 1 u štitnjači, dolazi do pojačane konverzije T4 u T3 (10).

Nedostatak joda dovodi do porasta veličine štitne žlijezde tj. do gušavosti. Nedostatan unos joda tijekom trudnoće dovodi do teških oštećenja ploda. Dolazi do zaostajanja u rastu, mentalne retardacije, gluhoće tj. kretenizma (67).

U stanjima suviška joda, čak i do 1000 µg/dan, autoregulacijskim mehanizmom sinteza hormona održava se normalnom. To se postiže smanjenim transportom joda u štitnjaču, prevladava sinteza DIT-a u odnosu na MIT, sintetizira se više T4 u odnosu na T3, jodirani tireoglobulin se pohranjuje u koloidu, smanjena je proteoliza tireoglobulina, a jod koji nastaje dejodinacijom izlučuje se iz štitnjače. Primjena visokih doza joda dovodi do akutne blokade organifikacije joda i sinteze hormona štitnjače (tzv. učinak po Wolffu i Chaikoffu) (68). Tako se, osim s TSH, koncentracija hormona štitne žlijezde održava u granici normale autoregulacijskim mehanizmom transporta i nakupljanja joda u štitnjači. Povećan unos joda dovodi do povećane jodinacije tireoglobulina, što povećava njegovu imunogenost. Dokaz za to je porast incidencije Gravesove bolesti nakon uvođenja jodne profilakse. Glavni antigeni su tireoglobulin i tiroidna peroksidaza (10).

Selen je komponenta dejodinaza, kao i enzima odgovornih za zaštitu od slobodnih radikala, glutation peroksidaze i superoksid dismutaze (69). Kineska epidemiološka studija

pokazala je povezanost smanjene koncentracije selena s porastom incidencije gušavosti, subkliničke i kliničke hipotireoze i tireoiditisa (70). Kombinacija selena i joda u terapiji gušave djece dovodi do pada TSH i smanjenja mase štitne žlijezde (71).

Cink također utječe na funkciju štitne žlijezde. Kao dio enzima cink-ovisne karboksipeptidaze sudjeluje u sintezi TRH, kao kofaktor dejodinaza D1 i D2 sudjeluje u sintezi hormona štitne žlijezde, dio je transkripcijskog faktora 2 koji sudjeluje u transkripciji gena za Tg i TPO, a dio je i jezgrinog receptora za T3. U pacijenata s hipotireozom, koncentracija cinka je značajno snižena (53). Kalcij je strumogen, jer primjena u dnevnoj dozi od 2 g smanjuje klirens joda u štitnoj žlijezdi (72).

Vitamin D izravno utječe na os hipotalamus - hipofiza - štitna žlijezda, preko receptora za vitamin D koji su eksprimirani u hipofizi i u štitnjači. Povišena koncentracija vitamina D stimulira izlučivanje hormona štitnjače, a negativnom povratnom spregom smanjuje se izlučivanje TSH. Mnoge studije su pokazale povezanost autoimunih bolesti štitne žlijezde i snižene koncentracije vitamina D (53). Studija na bijelcima pokazala je da je TSH tijekom jeseni i zime značajno veći u usporedbi s TSH tijekom proljeća i ljeta, a što govori u prilog sezonske varijacije TSH (73).

Sezonske varijacije TSH u eutiroidnih ispitanika ovise o koncentraciji vitamina D, te je manjak vitamina D povezan s većom razinom TSH i nakon korekcije za dob, spol i sezonske varijacije (74).

Strumogene supstance inhibiraju sintezu hormona štitnjače, što rezultira padom koncentracije hormona štitne žlijezde, porastom TSH i stvaranjem guše. To su tiocijanati, tioglukozidi, cijanogeni glukozidi, flavonoidi, goitrin. Prisutni su u kupusnjačama, soji, kukuruzu, prosu, bademima (52).

Mnogi lijekovi i druge supstance interferiraju s homeostazom hormona štitne žlijezde. Mogu interferirati sa sintezom, izlučivanjem, transportom, metabolizmom i djelovanjem hormona. Također mogu dovesti do promjene imuniteta.

Tireostatski lijekovi, metimazol i propiltiouracil (PTU), koriste se u terapiji hipertireoze. Inhibiraju tiroidnu peroksidazu te tako smanjuju sintezu hormona štitnjače. PTU inhibira i konverziju T4 u T3 (75).

Ionski inhibitori, perklorat i tiocijanati, kompeticijski se natječu s jodom za NIS, te tako sprečavaju transport joda u štitnu žlijezdu (76).

Akutna primjena velikih doza joda i Lugolove otopine dovodi do blokade sinteze i izlučivanja hormona (68). Amiodaron je derivat benzofurana, tableta od 200 mg sadrži oko 70 mg joda. Koristi se kao antiaritmik, a zbog velike količine joda može inhibirati organifikaciju joda i

dovesti do smanjene sinteze hormona u štitnoj žlijezdi. Također inhibira jetrenu D1, smanjuje konverziju T4 u T3, te povećava koncentraciju rT3. U 8,5 % bolesnika se razvije hipotireoza nakon primjene amiodarona, u oko 80% tijekom prve godine liječenja. Tireotoksikoza se razvije u oko 15% bolesnika na terapiji amiodaronom (10). Razlikujemo dva tipa amiodaronom inducirane tireotoksikoze. Tireotoksikoza tip 1, slična je klasičnoj, jod-induciranoj hipertireozu (77), a tip 2 vjerojatno je posljedica citotoksičnog djelovanja amiodarona i destruktivnog tireoiditisa (78).

Litij se koristi u terapiji bipolarnе depresije, inhibira izlučivanje hormona iz štitnjače, kao i konverziju T4 u T3. U 34 % pacijenata dovodi do subkliničke, a u 15 % do kliničke (manifestne) hipotireoze (79).

Estrogeni, heptanon i metadon povećavaju, a androgeni i glukokortikoidi smanjuju koncentraciju TBG. Mijenjajući koncentracije transportnih proteina, utječu na koncentraciju ukupnih hormona štitne žlijezde u krvi. Salicilati, fursemid, slobodne masne kiseline i flavonoidi kompetitivski se vežu s hormonima štitne žlijezde za transportne proteine, te povećavaju koncentraciju fT3 i fT4 (52).

Heparin u dugotrajnoj primjeni dovodi također do porasta koncentracije fT3 i fT4. Aktivacijom lipoprotein lipaze, povećava se koncentracija slobodnih masnih kiselina koje se kompetitivski vežu s transportnim proteinima (80). Kolestiramin, kalcij karbonat, aluminij-hidroksid, željezni sulfat i sukralfat smanjuju apsorpciju tiroksina u crijevima (81,82).

Lijekovi koji povećavaju aktivnost jetrenih oksigenaza (antiepileptici, rifampicin), dovode do pada koncentracije T4 zbog ubrzanog metabolizma T4 i tako smanjuju njegov poluživot u plazmi (83).

Monodejodnaciju T4 inhibiraju jodni i nejodni lijekovi. U nejodne ubrajamo propiltiouracil, deksametazon i propranolol. Propiltiouracil inhibira konverziju T4 u T3 u perifernim tkivima, ali nije baš potentan (84). Deksametazon smanjuje koncentraciju TSH, što dovodi do pada T3 i T4 (85). Visoke doze deksametazona inhibiraju aktivnost D1, te smanjuju koncentraciju T3 (86). Propranolol smanjuje perifernu konverziju T4 u T3 (10).

Jodna kontrastna sredstva, ipodat i ipanoat, inhibiraju D1 i D2, te dovode do porasta fT4 i rT3 i pada fT3 (87).

Interferon (IF) i interleukin (IL) mogu uzrokovati hipotireozu i tireotoksikozu (52). Monoklonsko protutijelo anti CD 52 protutijelo (Alemtuzumab) je glikoprotein, eksprimiran na B stanicama i CD4+ T stanicama, a uz njegovu primjenu najčešće se javlja Gravesova bolest (52). Tirozin-kinazni inhibitor, Sunitinib, koji se koristi u terapiji karcinoma bubrega i

gastrointestinalnog stromalnog tumora, dovodi do hipotireoze. Uz terapiju Sorafenibom, hipotireoza se razvije u trećini slučajeva u usporedbi sa Sunitinibom (88).

Lijekovi koji pojačavaju imunološki odgovor na tumorske stanice kao što su CTLA-4 (engl. *Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein-4*) i PDL-1 (engl. *Programmed Death Receptor Ligand-1*) inhibitori, pojačavaju autoimunost štitne žlijezde. Monoklonsko antitijelo na CTLA-4, ipilimumab, najčešće uzrokuje hipofizitis. Antitijela na PDL-1, Pembrolizumab i Nivolumab, mogu dovesti do hipotireoze, tiroiditisa i hipofizitisa s hipotireozom (52). Retinoid Bexaroten, koji se najčešće koristi u terapiji limfoma, može dovesti do razvoja centralne hipotireoze (89).

Životne navike, kao što su pušenje i konzumacija alkohola također su povezani s TSH i hormonima štitnjače. Pušenje je povezano sa značajno nižim razinama TSH i s višim razinama T3 i T4. Većina studija su pokazale da je konzumacija alkohola povezana s višim razinama TSH i nižim razinama fT3 (53).

#### 1.1.6. Uloge hormona štitne žlijezde

Hormoni štitne žlijezde reguliraju metaboličke procese koji su neophodni za rast i razvoj, te reguliraju metabolizam u odraslih.

Njihovo primarno djelovanje izraženo je na staničnoj jezgri, gdje vežući se za receptore reguliraju ekspresiju različitih gena, što dovodi do porasta sinteze bjelančevina i enzimske aktivnosti. Nogenska djelovanja hormona štitne žlijezde posredovana su vezanjem hormona štitne žlijezde za receptore na plazma membrani, mitohondrijima i u citosolu (5).

Kako je afinitet receptora sto puta puta veći za fT3 nego za fT4 (41), preko 90 % hormona vezanih za receptore je fT3 (5).

U regulaciji rasta i razvoja uz hormone štitne žlijezde, značajnu ulogu imaju i hormon rasta, inzulin, inzulinu sličan faktor rasta-1 (engl. *Insulin-like growth factor-1*, IGF 1), glukokortikoidi, spolni hormoni. Kontroliraju staničnu proliferaciju i apoptozu, a što je primjećeno u ispitivanjima na vodozemcima (90,91). T3 vezanjem za receptore u jezgri modificira ekspresiju gena koji kontroliraju stanični ciklus, kao što su epidermalni faktor rasta (engl. *Epidermal growth factor*, EGF), ciklin, transkripcijski faktori (92). Studije na životinjama su pokazale da T3 potiče proliferaciju hepatocita nakon parcijalne hepatektomije (93). T3 također potiče cijeljenje rana, kao i proliferaciju stanica u kulturama stanica koštane srži, bubrega, gušterače (94–96).

Djelovanje na rast očituje se tijekom rasta u djece. Hormoni štitnjače imaju ključnu ulogu u enhondralnoj i intramembranskoj osifikaciji, te u longitudinalnom rastu kosti. TR su eksprimirani na mjestima intramembranske i enhondralne osifikacije. Kvantitativne studije su pokazale da je koncentracija TR $\alpha$ 1 najmanje deset puta veća od TR $\beta$ 1 (97), što dokazuje da TR $\alpha$ 1 prevladava kao medijator u kostima. U zonama rasta, T3 inhibira staničnu proliferaciju i stimulira diferencijaciju hipertrofičnih hondrocita te tako regulira enhondralnu osifikaciju i linearni rast (98). T3 stimulira osteoblaste, te izravno potiče linearni rast (99). MCT8 je eksprimiran i reguliran tiroidnim statusom u zoni rasta hondrocita, osteoblasta i osteoklasta; a studije nisu pokazale ekspresiju OATP1C1 u kostima (100). MCT10 je glavni transporter u zonama rasta, a LAT1 i LAT2 su također eksprimirani u kostima (101). Za dostupnost hormona štitnjače tkivima bitan je enzimatski sustav dejodinaza (42). D1 nije eksprimirana u hrskavici i kostima (102). D2 je eksprimirana u osteoblastima. D2 mRNA je detektirana u embrionalnom skeletu miša (103,104). D2 je također eksprimirana u primarnim mezenhimijskim matičnim stanicama, a ekspresija je snažno potaknuta nakon tretmana s koštanim morfogenetskim proteinom 7 (engl. *Bone morphogenetic protein 7*, BMP7) (105). D3 je eksprimirana u svim koštanim stanicama, posebno tijekom razvoja, s najvećom razinom aktivnosti u zonama rasta hondrocita (102,103). Tako je tkivna dostupnost hormona štitne žlijezde u kostima regulirana s D2 i D3.

Prisustvo TR, membranskih transportera i dejodinaza u koštanim stanicama je dokaz da hormoni štitne žlijezde imaju ključnu ulogu u rastu i razvoju koštanog sustava. Nedostatak hormona štitnjače u djece dovodi do usporenog razvoja kostiju, do zastoja rasta praćenog epifiznom disgenezom (106,107). Tireotoksikoza u djetinjstvu dovodi do ubrzanog rasta i razvoja kostiju, no zbog preuranjenog zatvaranja epifiznih ploča rasta, dovodi do prestanka rasta. U teškim slučajevima, preuranjeno zatvaranje sutura lubanje može dovesti do kraniosinostoze (108). Djeca s hipertireozom su rastom viša od svojih vršnjaka tijekom rasta, ali kako dolazi do preuranjenog zatvaranja epifiza, konačna visina u odrasloj dobi može biti manja (5).

Hormoni štitnjače imaju ključnu ulogu u rastu i razvoju mozga. Genskim i negenskim djelovanjima kontroliraju neurogenezu, diferencijaciju i migraciju neurona i glija stanica, stvaranje sinapsi i mijelinizaciju, kao i metabolizam moždanog tkiva (109). Nedostatak hormona štitne žlijezde tijekom fetalnog i ranog postnatalnog života dovodi do usporenog rasta i razvoja mozga, a ukoliko se supstitucijska terapija ne uključi tijekom prvih dana ili tjedana po porodu, dijete će biti mentalno zaostalo (5).

Hormoni štitne žlijezde imaju važnu ulogu u potrošnji energije, djelujući centralno i na periferiji. Reguliraju bazalni metabolizam, djeluju na apetit i unos hrane, sudjeluju u termogenezi te reguliraju tjelesnu masu. Povećavaju bazalni metabolizam povećanom proizvodnjom ATP-a u metaboličkim procesima i održavanjem ionskog gradijenta (110). Stimuliraju metaboličke procese sinteze i razgradnje masti, glukoze i bjelančevina. Stimuliraju  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP-azu}$  (111) i reguliraju ekspresiju  $\text{Ca}^{2+}$ -ovisne ATP-aze sarkoplazmatsko/endoplazmatskog retikuluma u skeletnim mišićima (112), a hidrolizom ATP-a stvara se toplina (113). Hormoni štitne žlijezde utječu i na tjeslesnu masu. Hipertireoza uzrokuje smanjenje, a hipotireoza povećanje tjelesne mase. Varijacije TSH i unutar referentnih vrijednosti, povezane su s promjenama tjelesne mase (114).

Hormoni štitne žlijezde reguliraju metabolizam prvenstveno preko djelovanja u mozgu, jetri, gušterači, mišićima, bijelom i smeđem masnom tkivu. U regulaciji metabolizma, uz hormone štitne žlijezde, najvažniju ulogu ima adrenergički živčani sustav (115). Hormoni štitne žlijezde djeluju na centralnu regulaciju autonomnog živčanog sustava preko receptora u parvalbuminergičkim neuronima u prednjem hipotalamusu, koji su izravno povezani s regulacijom krvnog tlaka, frekvencije pulsa i tjelesne temperature (116).

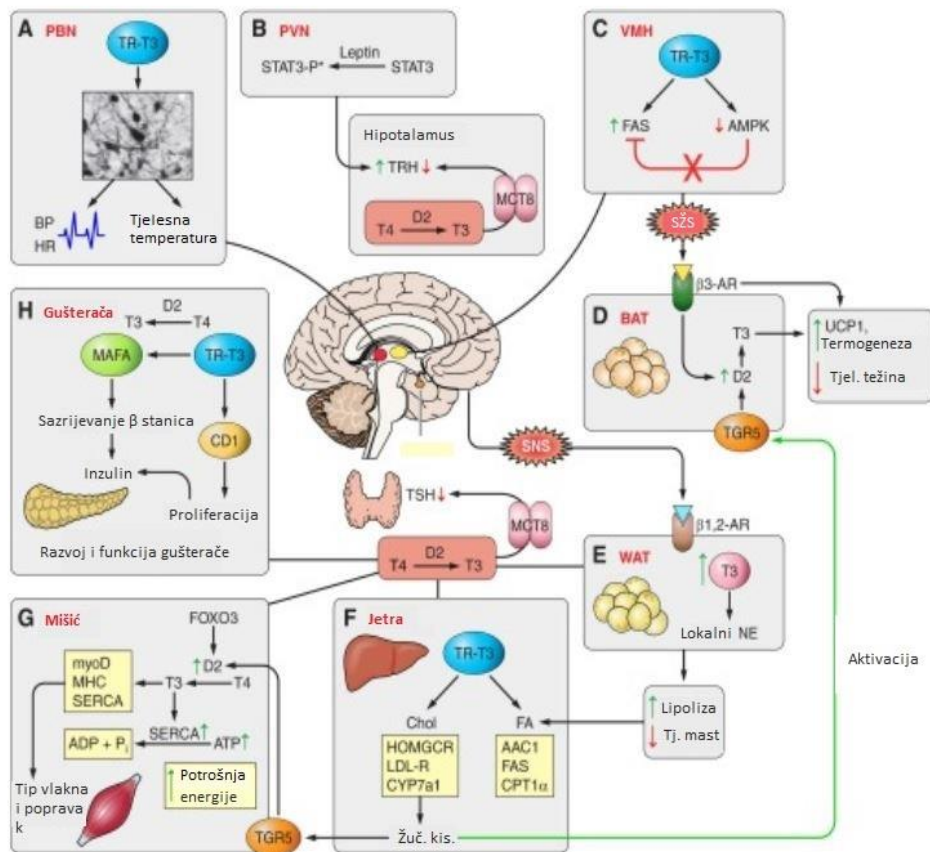
Homeostaza lipida u jetri regulirana je izravnim djelovanjem T3 i neizravno preko receptora u jezgri aktiviranih nutrijentima. T3 stimulira transkripciju gena za receptor lipoproteina male gustoće (engl. *Low-density lipoproteins receptor*, LDL-R), te stimulira hidroksi-metil-glutaril-koenzim A reduktazu (engl. *3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-coenzyme A reductase*, HMGCR), koja kontrolira brzinu sinteze kolesterola. To rezultira povećanom sintezom kolesterola (117). T3 preko smanjenja koncentracije apolipoproteina B11 i B48, dovodi do smanjenja koncentracija kolesterola (118). Homeostaza kolesterola bitna je za sintezu žučnih kiselina. Ekspresija enzima koji katalizira sintezu žučnih kiselina, kolesterol 7-hidroksilaze, regulirana je s nekoliko jezgrinih receptora koji se nalaze u neposrednoj blizini TRE (119). U smeđem masnom tkivu, žučne kiseline stimuliraju ekspresiju D2, te se povećava potrošnja energije (120). Hormoni štitnjače stimuliraju sintezu masnih kiselina potičući transkripciju enzima koji sudjeluju u sintezi: acetil-koenzim A karboksilaze 1 i sintaze masnih kiselina (121). T3 potiče razgradnju masnih kiselina stimulirajući karnitin-palmitoiltransferazu-1A (122). Kad postoji potreba za energijom, centralnom aktivacijom simpatičkog živčanog sustava oslobađaju se kateholamini, koji stimuliraju hidrolizu triglicerida u adipocitima. T3 povećava i ekspresiju  $\beta$ -adrenergičkih receptora u adipocitima (123). T3 stimulira glukoneogenezu, što je izraženije u stanjima hipertireoze. U hipotireozi je glukoneogeneza reducirana (124).

Hormoni štitnjače su potrebni za normalan razvoj i funkciju gušterače. Otočići gušterače imaju TR $\alpha$ 1 i TR $\beta$ 1. T3 stimulira transkripciju faktora MAFA (engl. *Musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog A*), ključnog čimbenika u sazrijevanju beta-stanica gušterače za izlučivanje inzulina (125). T3 stimulira gensku ekspresiju ciklina D1 (engl. *Cyclin D1*, CD1) koji potiče proliferaciju beta-stanica gušterače (126).

Tijekom razvoja skeletnih mišića kao i tijekom regeneracije nakon ozljede, FoxO3 protein (engl. *Forkhead box O3*) stimulira ekspresiju D2 u stanicama skeletnih mišića. Hormoni štitnjače potiču stvaranje brzokontrahirajućih mišićnih vlakana i teških lanaca miozina (127). Reguliraju ekspresiju Ca<sup>2+</sup>ovisne ATP-aze sarkoplazmatsko/endoplazmatskog retikuluma (engl. *Sarcoplasmic/endoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>dependent ATPase*, SERCA) u skeletnim mišićima (112). Djelovanjem Ca<sup>2+</sup>ATP-aze hidrolizira se ATP, pri čemu se stvara toplina (113).

U ventromedijalnoj jezgri hipotalamusa, T3 stimulira sintezu masnih kiselina, smanjuje fosforilaciju 5' adenozin monofosfat aktivirane protein kinaze (engl. *5' adenosine monophosphate-activated protein kinase*, AMPK) i povećava aktivnost sintaze masnih kiselina. Povećana sinteza lipida u hipotalamusu, povezana je s aktivacijom simpatičkog živčanog sustava koji preko  $\beta$ 3-adrenergičkih receptora u smeđem masnom tkivu stimulira ekspresiju gena za nevezani protein 1 i povećava aktivnost D2. Tako se potiče termogeneza i gubitak tjelesne mase (128). T3 i norepinefrin sinergističkim djelovanjem povećavaju transkripciju nevezanog proteina 1 dvadeset puta (129). Katekolamini potiču aktivnost specifične deubikvitinaze koja stimulira aktivnost D2, te tako povećavaju koncentraciju T3 u jezgri (130). Za održavanje tjelesne temperature potrebno je djelovanje i hormona štitne žlijezde i simpatičkog živčanog sustava (131). U jednoj studiji opisana je stimulacija D2 preko G-protein vezanog membranskog receptora žučnih kiselina, a nastali T3 stimulira ekspresiju nevezanog proteina 1, lipolizu smeđeg masnog tkiva i termogenezu (120). Stimulacija  $\beta$ 1 i  $\beta$ 2 adrenergičkih receptora u bijelom masnom tkivu stimulira lipolizu, a T3 stimulira i sintezu norepinefrina, što povećava lipolizu i smanjuje tjelesnu mast (123). Leptin je adipokin, sintetizira se u perifernom masnom tkivu. Cirkulira u vezanom i slobodnom obliku, a serumska koncentracija je proporcionalna količini masti u tijelu. Preadipociti i adipociti imaju receptore za TSH, a hormoni štitne žlijezde imaju važnu ulogu u pretvorbi preadipocita u adipocite (132). Leptin izravno regulira izlučivanje TRH i TSH povratnom spregom s paraventrikularnom jezgrom hipotalamusa, te neizravno preko lučne jezgre. Leptin izravnim mehanizmom stimulira fosforilaciju transduktora signala i aktivatora

transkripcije 3 (engl. *Signal transducer and activator of transcription 3*, STAT3), koji izravno stimulira ekspresiju TRH. Neizravnim djelovanjem, dovodi do inhibicije neuropeptida Y i agouti-vezanog proteina, te stimulacije proopiomelanokortina (engl. *Proopiomelanocortin*, POMC). Produkt POMC-a,  $\alpha$ -melanocit stimulirajući hormon, stimulira protein CREB (engl. *cAMP response element binding protein*) u TRH neuronu (133).



Slika12. Regulacija metabolizma hormonima štitne žlijezde. Preuzeto i prilagođeno prema (123).

U stanjima hipertireoze, povećava se potrošnja energije u mirovanju, povećava se glukoneogeneza i razgradnja masti, smanjuje se koncentracija kolesterola, te dolazi do smanjenja tjelesne mase (34). Hormoni štitnjače stimuliraju i sintezu i razgradnju masti, no u stanjima hipertireoze, dolazi do gubitka masti (134).

U stanjima hipotireoze, smanjuje se potrošnja energije u mirovanju, smanjuje se lipoliza i glukoneogeneza, povećava se kolesterol i tjelesna masa (34). U stanjima potpunog



nedostatka hormona štitne žlijezde, bazalni metabolizam se smanjuje za 40-50 % ispod normalnih vrijednosti, a u stanjima pretjeranog lučenja, bazalni metabolizam poraste za 60-70 % iznad normalnih vrijednosti (5).

#### 1.1.7. Hipotireoza

Hipotireoza je stanje smanjene sinteze, sekrecije i djelovanja hormona štitne žlijezde na stanice.

Prevalencija hipotireoze u općoj populaciji je 1 - 2 %, deset puta je veća kod žena nego kod muškaraca (135). Prevalencija subkliničke hipotireoze je veća, u Colorado studiji iznosila je 9 % (136).

Ovisno o vremenu pojavnosti, hipotireozu dijelimo na kongenitalnu i stečenu; o razini patogenog endokrinog poremećaja na primarnu, sekundarnu, tercijarnu i perifernu (defekt receptora za hormone štitne žlijezde ili postreceptorska); sukladno stupnju - težini bolesti, odnosno kliničkoj prezentaciji na kliničku i subkliničku. Kretenizam i miksedemska koma su najteži oblici hipotireoze.

Primarna hipotireoza je posljedica bolesti štitne žlijezde. Može biti primarna idiopatska, postablacijska (nakon operacijskog odstranjenja štitne žlijezde ili nakon radiojodne terapije hipertireoze), kongenitalna (ageneza ili displazija štitnjače). Može biti posljedica atrofičnog tireoiditisa, upalnih stanja (subakutni-de Quervain i postpartalni tireoiditis). Kongenitalna hipotireoza se javlja u 1/3000 - 4500 novorođenčadi (16).

U skupinu hipotireoza sa strumom ubrajamo: Hashimoto tireoiditis, endemsku gušavost zbog nedostatka joda u prehrani, hipotireozu uzrokovanu upotrebom tireostatske terapije i drugim lijekovima (amiodaron, imunoterapija, litij, jodidi), te hereditarni defekt sinteze hormona štitne žlijezde (10).

Sekundarna hipotireoza je posljedica nedovoljnog lučenja TSH iz hipofize, a javlja se u manje od 5 % svih hipotireoza (137). Može biti posljedica kirurškog zahvata ili zračenja, tumora te Sheehanovog sindroma. Obično se javlja uz nedostatak i drugih hipofiznih hormona (138).

Tercijarna hipotireoza je posljedica nedovoljnog lučenja TRH u hipotalamusu, a može biti idiopatska ili je uzrokovana traumom, tumorom i infiltracijskim bolestima.

Periferna rezistencija na hormone štitne žlijezde karakterizirana je povećanom koncentracijom T3 i T4, uz normalne ili povećane vrijednosti TSH. Prevalencija je 1/50 000 novorođenčadi. Može se raditi o generaliziranoj rezistenciji (na razini perifernih tkiva i hipofize) ili

rezistenciji na nivou hipofize. Najčešće je nasljedna, autosomno-dominantni tip, a u 13% se javlja sporadično. Uzroci su mutacije gena za receptor hormona štitne žlijezde u jezgri (10).

U stanjima endemske gušavosti, više od 10 % populacije ima uvećanu štitnu žlijezdu (139). Najčešći uzrok je nedostatan unos joda. Endemski kretinizam u dojenčadi je rezultat intrauterine insuficijencije štitne žlijezde, a simptomi su mentalna retardacija, somnolencija, poteškoće dojenja, suha koža, epifizna disgeneza.

Dijagnoza hipotireoze postavlja se na temelju anamneze, kliničkog pregleda, laboratorijskih nalaza (testovi evaluacije funkcije štitnjače: T3, T4, TSH, TGAt (engl. *Thyroglobulin antibody*), TPOAt (engl. *Thyroid peroxidase antibody*); biokemijski testovi: lipidi, transaminaze, kreatinin), ehografskog pregleda štitnjače (veličina, ehogenost tkiva). Po potrebi se radi scintigrafija i citološka punkcija štitnjače. Štitna žlijezda je jedini izvor endogenog T4, te je zbog toga T4 indikator funkcije štitne žlijezde.

U kliničkoj slici prisutni su umor, osjetljivost na hladnoću, suha i hladna koža, opstipacija, porast tjelesne mase, promjene glasa (hrapav i promukao), bradikardija, povišen krvni tlak, edemi, dispneja. Kod žena se mogu javiti neredovita, obilna menstrualna krvarenja, amenoreja, smanjena plodnost, smanjen libido. Kod muškaraca se javlja smanjen libido i impotencija. U vrijeme rasta i razvoja kod djece je usporen rast i razvoj skeleta (epifizna disgeneza, patuljasti rast).

U laboratorijskim nalazima snižene su vrijednosti T3 i T4, a povišen TSH. U stanjima subkliničke hipotireoze, T3 i T4 su u granicama referentnih vrijednosti, a TSH je blago do umjereno povišen, bez kliničkih tegoba (10). Atrofični i Hashimoto tireoiditis su autoimune bolesti. Često su udružene s drugim autoimunim bolestima (dijabetes, reumatoidni artritis, vitiligo), a često su prisutna i protutijela na tireoglobulin (TGAt), na peroksidazu (TPOAt), te na receptor za TSH (engl. *TSH receptor antibody*, TRAt).

U terapiji hipotireoze primjenjuje se nadomjesno liječenje, supstitucijska terapija levotiroksinom. Cilj liječenja je postizanje kliničke remisije, te optimizacija vrijednosti T3, T4 i TSH. Liječe se obično pacijenti s TSH > 10 mIU/L, mlađe osobe s TSH > 4,5 i/ili pozitivnim protutijelima, trudnice, s pozitivnom obiteljskom anamnezom hipotireoze, te s dislipidemijom uz subkliničku hipotireozu (10).

Najteža komplikacija neprepoznate, dugotrajne i neliječene hipotireoze je miksedemska koma, koja je hitno, životno ugrožavajuće stanje. Prisutna je hipotenzija, bradikardija, hipoksemija, hiperkapnija. Zahtijeva hitno, intenzivno liječenje: supstitucijsku terapiju levotiroksinom, strojno disanje, kisik, korekciju elektrolitskog disbalansa, primjenu glukoze, kortikosteroide, kardiotonike. Kod bolesnika visoke životne dobi s drugim teškim

kroničnim bolestima, infekcije, upotreba lijekova kao što su sedativi, hipnotici i analgetici, mogu doprinijeti pogoršanju stanja (10).

#### 1.1.8. Hipertireoza

Hipertireoza je stanje povećane sinteze, sekrecije i djelovanja hormona štitne žlijezde na stanice. Prevalencija hipertireoze u žena je 0,5 - 2 %, deset puta je veća nego u muškaraca. Prevalencija subkliničke hipertireoze je oko 3 %, a u muškaraca i žena starijih od 65 godina 5%. Subklinička hipertireoza je češća u crnaca (0,4 %) nego u bijelaca (0,1 %) (140). U područjima s dostatnim unosom joda, prevalencija subkliničke hipertireoze je 6 – 10 % (135). Tireotoksikoza je širi pojam, a uz hipertireozu uključuje i druga stanja u kojima je povećana koncentracija hormona štitne žlijezde u krvi koji nisu posljedica pojačane sinteze, nego npr. oslobađanja hormona štitnjače (upalna stanja štitne žlijezde) ili posljedica prekomjerne terapije hormonima štitne žlijezde (lat. *thyreotoxicosis factitia*), te proizvodnje hormona u ektopičnom tkivu ili u metastazama dobrodiferenciranog karcinoma štitnjače (137).

Hipertireoza može biti posljedica poremećaja štitne žlijezde - primarna, hipofize i pojačanog lučenja TSH - sekundarna (adenom hipofize) ili hipotalamusa i pojačanog lučenja TRH - tercijarna (tumor hipotalamusa). Također može biti posljedica abnormalne stimulacije štitnjače (koriokarcinom, mola hidatidoza), te hipertireoza inducirana jodom (Jod-Basedowljeva bolest).

Uzroci primarne hipertireoze su: Basedowljeva ili Gravesova bolest, toksični adenom i multinodozna toksična struma. Gravesova bolest je autoimuna bolest štitnjače, uzrokovana cirkulirajućim protutijelima na TSH receptore (TRAt). Najčešći je uzrok hipertireoze u osoba do 40 godina života. 80-90 % bolesnika ima pozitivna protutijela na TSH receptore, a u 50-80 % nalaze se TGAt i TPOAt. To je kompleks bolesti, dominantno genetski uvjetovan. Osim promjena štitne žlijezde, javljaju se i promjene na očnim mišićima (oftalmopatija) i dermatopatija. Osnovni poremećaj u razvoju autoimunosti je pad supresijskih limfocita T, što je u vezi sa sustavom tkivne snošljivosti ili HLA sustavom. Uz genski mehanizam, značajnu ulogu imaju stres, trauma i infekcija. Smanjuje se broj supresijskih limfocita i povećava aktivnost pomoćničkih limfocita T, koji proizvode interferon; a istovremeno dolazi do stimulacije limfocita B i povećane proizvodnje TRAt. TRAt se veže za receptor TSH, te stimulira povećanu sintezu T3 i T4 (10).

Toksični adenom je benigni tumor, najčešće folikularni adenom koji neovisno o potrebama organizma, autonomno, neovisno o TSH, proizvodi hormone štitne žlijezde. S porastom

veličine, javljaju se i simptomi. U slučaju multinodozne toksične strume, više čvorova autonomno luči hormone, te tako dovodi do hipertireoze.

Jod-Basedowljeva bolest uzrokovana je prekomjernim unosom joda, u predisponiranih osoba. Najčešće se javlja uz primjenu amiodarona, Lugolove otopine ili jodnih kontrastnih sredstava. Tireotoksikoza bez hipertireoze može biti posljedica subakutnog tireoiditisa, „*silent*“ tireoiditisa (najčešće postpartalni), kao i prekomjerne terapije hormonima štitnjače, proizvodnje hormona u ektopičnom tkivu štitne žlijezde (npr. struma ovarii), te u slučaju proizvodnje hormona u metastazama dobrodiferenciranog karcinoma štitne žlijezde (138).

Dijagnoza hipertireoze postavlja se na temelju anamneze, kliničkog pregleda, laboratorijskih nalaza, ehografskog pregleda štitnjače, scintigrafije štitnjače, te testa akumulacije radiojoda u štitnjači.

U Gravesovoj bolesti glavne kliničke manifestacije su uvećana štitna žlijezda (struma), oftalmopatija i dermopatija, akropatija.

Hormoni štitnjače povećavaju metaboličke aktivnosti svih ili gotovo svih tkiva u tijelu. Povećanjem metabolizma povećava se potrošnja kisika. Zbog povećane potrebe za odavanjem topline, povećava se protok krvi kroz kožu, ali i u ostalim organima zbog vazodilatacije. Povećava se srčani volumen, srčana frekvencija, blago se povećava i volumen krvi kao i tlak pulsa. Povećava se frekvencija i dubina disanja, povećan je apetit, stolice su učestalije i mekane. Kontraksije mišića su snažnije, a u stanjima izrazito povećanih hormona, mišići slabe zbog prekomjerne razgradnje bjelancevina. Hormoni štitnjače ubrzavaju misaone procese, mentalne funkcije. Zbog povećane podražljivosti živčanih sinapsi, pojavljuje se fini mišićni tremor (tremor frekvencije 10-15 puta u sekundi). To je tipičan simptom u bolesnika s hipertireozom, a ispituje se podrhtavanjem lista papira položenog na ispružene ruke. Zbog iscrpljivanja mišića, kao i središnjeg živčanog sustava, bolesnici s hipertireozom su obično trajno umorni, ali se žale na nesanicu zbog povećane podražljivosti živčanih sinapsi. Hormoni štitnjače potiču lučenje hormona većine ostalih endokrinih žlijezda, ali povećavaju i potrebu za hormonima drugih žlijezda kao npr. povećavajući metabolizam glukoze, povećava se i lučenje inzulina (5,10,16).

U kliničkoj slici prevladavaju tahikardija, palpitacije, nervoza, fini mišićni tremor, topla koža, pojačano znojenje, umor, dispneja, pojačan apetit, gubitak na težini, učestalije stolice, oskudno menstrualno krvarenje i amenoreja u žena, te oligospermija i impotencija u muškaraca.

U laboratorijskim nalazima T3 i T4 su povećani, a TSH snižen. U stanjima subkliničke hipertireoze, T3 i T4 su u granici referentnih vrijednosti uz snižen TSH.

U terapiji hipertireoze koriste se antitireoidni lijekovi, u prvom redu tireostatici-tionamidi, metimazol i propiltiouracil. Tionamidi inhibiraju tireoidnu peroksidazu, organifikaciju joda, kao i spajanje MIT i DIT u T3 i T4. Propiltiouracil inhibira i perifernu konverziju T4 u T3. Imaju i imunosupresivni učinak.

Također se koriste kalijev-perklorat, koji sprječava transport joda u štitnjaču, litij - inhibira izlučivanje T4 i T3 iz štitnjače, jodid - blokira sintezu i izlučivanje hormona, kortikosteroidi - blokiraju konverziju T4 u T3 (10).

Kao posljedica dugotrajne, neliječene hipertireoze može se razviti tireotoksična kriza. To je životno ugrožavajuće stanje, a precipitirajući čimbenici su infekcije, malnutricija, trauma, kirurški zahvat. U terapiji se koristi plazmafereza, tireostatski lijekovi, beta-blokatori, kortikosteroidi, litij, jod, suportivna terapija.

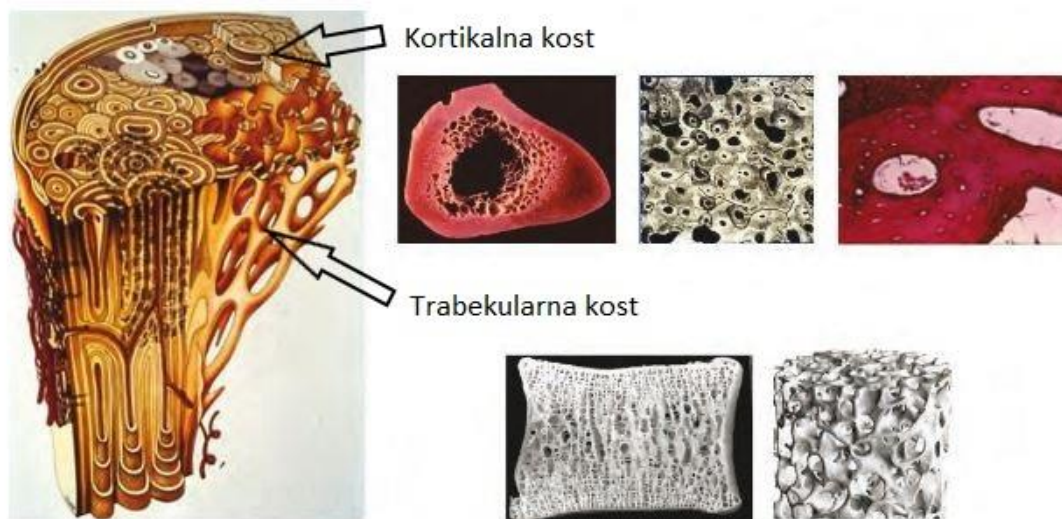
U pacijenata kod kojih hipertireoza perzistira i uz farmakološku terapiju ili često recidivira, kao definitivni tretman koristi se radiojodna terapija ili kirurški zahvat, subtotalna ili totalna tireoidektomija (10).

## **1.2. Kost**

### **1.2.1. Struktura i metabolizam kosti**

Kosti se razvijaju iz mezenhima. Mezenhimske stanice imaju sposobnost migracije, diferenciraju se u hondroblaste, fibroblaste i osteoblaste koji stvaraju koštano tkivo. Kosti nastaju izravnom diferencijacijom mezenhima u kost, tj. izravnom mineralizacijom matriksa koji su izlučili osteoblasti (intramembransko okoštavanje) ili najprije nastaje hijalina hrskavica koju potom zamijeni kost, tj. odlaganjem koštanog matriksa na mjestu prethodnog hrskavičnog matriksa (enhondralno okoštavanje) (2,4). Makroskopski razlikujemo kortikalnu (kompaktnu) i trabekularnu (spužvastu) kost. Kortikalna kost čini 80 %, a trabekularna 20 % kostura. Trabekularna kost se remodelira brže i zato je podložnija promjenama povezanim s povećanom koštanom pregradnjom (141). Kortikalna kost se uglavnom nalazi u dugim kostima i na vanjskoj površini pločastih kostiju, a trabekularna u epifizama i metafizama, u kralješcima i u unutarnjem dijelu pločastih kostiju. Kortikalna kost se sastoji od kompaktne kosti, kružno položene oko Haversovog kanala koji sadrži krvne i limfne žile, živce i vezivno tkivo. Trabekularna kost je građena od koštanih gređica između kojih su šupljine, ispunjene koštanom srži (142). Mikroskopski razlikujemo nezrelu, primarnu ili vlaknatu; te zrelu,

sekundarnu ili lamelarnu kost. Primarna kost je građena od nepravilno raspoređenih kolagenih vlakana, sadrži manje minerala i veći broj osteocita. Pojavljuje se u embrionalnom razvoju, te privremeno tijekom reparacije nakon prijeloma ili drugih oštećenja, a ubrzo ju zamjenjuje lamelarna kost. Kosti u odraslih su najvećim dijelom građene od sekundarne kosti, u kojoj su kolagena vlakna pravilno raspoređena u obliku tankih pločica, lamela (4). Koštani sustav štiti vitalne organe u tjelesnim šupljinama, potpora je tijelu, služi kao hvatište mišićima, a u koštanoj srži se stvaraju krvne stanice. Ima i metaboličku ulogu, sudjeluje u održavanju homeostaze kalcija i fosfata.



Slika 13. Kortikalna i trabekularna kost. Preuzeto i prilagođeno prema (142).

Kost je građena od koštanog, hrskavičnog i vezivnog tkiva. Krvlju je opskrbljena s tri vrste arterija: male arterije u periostu, ogranci zglobnih arterija i velike hranidbene arterije. Arterije su spojene anastomozama (3). Koštano tkivo je građeno od koštanog matriksa ili međustanične tvari i koštanih stanica. Koštani matriks se sastoji od anorganskog i organskog dijela. Anorganski dio čini 70 %, organski oko 22 %, a ostatak od 5 - 8 % voda. 95 % anorganskog dijela čine kristali hidroksiapatita, a dio je i amorfni, nekristalni kalcij-fosfat. 85 % organskog dijela je građeno od kolagena tip I, a 15 % od nekolagenih proteina (glikoproteina). Neki od nekolagenih proteina, kao što je osteokalcin su specifični za kost. Osteopontin, fibronektin i različiti peptidni faktori rasta se nalaze i u drugim vezivnim tkivima. Nekolageni proteini čine 85 % izvanstaničnih i 15 % staničnih proteina. Nekolageni koštani proteini sudjeluju u vezivanju koštanih stanica na koštani matriks i u regulaciji aktivnosti koštanih stanica u procesu remodeliranja kosti (142). Tri su tipa koštanih stanica: osteoblasti, osteociti i osteoklasti. Osteoblasti nastaju iz

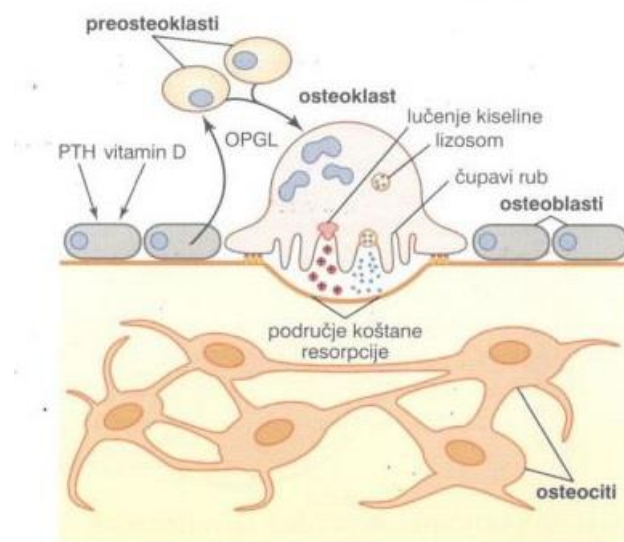
pluripotentnih mezenhimskih matičnih stanica, a glavna funkcija im je sinteza i mineralizacija koštanog matriksa, osteoida. Za sintezu i mineralizaciju koštanog matriksa potrebni su kolagen tip I i alkalna fosfataza, a oni su i markeri aktivnosti osteoblasta (143). Osteoblasti se nalaze na površini koštanog tkiva, poredani su u nizu, slično stanicama jednoslojnog epitela. Kad se osteoblast u cjelosti okruži matriksom, postaje osteocit. Osteociti su smješteni u lakunama, između matriksa. Od lakuna se pružaju kanalići u kojima se nalaze izdanci citoplazme osteocita (4). Po završetku sinteze matriksa, osteoblasti mogu ostati u formi osteocita, kao pokrovne (*lining*) stanice ili podliježu apoptozi (144). Osteoid je sloj novog (neovapnjenog) matriksa između sloja osteoblasta i prethodno stvorene kosti, a stvaranje kosti se završava odlaganjem kalcijevih soli u novostvoreni matriks. Osteociti čine oko 90 % koštanih stanica u odraslih. Djeluju kao mehanosenzori kod fizičkih napora i mikrooštećenja, iniciraju primjereno modeliranje i remodeliranje kosti (145). Osteociti eksprimiraju glavni inhibitor koštane izgradnje, sklerostin. Tijekom opterećenja ili kretanja, za održavanja koštane mase, osteociti šalju osteoklastima inhibicijski signal. Obrnuto, za vrijeme mirovanja, osteociti šalju osteoklastima signal za aktivaciju, odnosno za resorpciju kosti (142). Osteoklasti nastaju iz hematopoetskih stanica monocitno-makrofagnog sustava. Diferencirani osteoklasti su multinuklearne stanice (sadrže 5-50 jezgara), koje nabranim rubom dodiruju koštani matriks, izlučuju kiseline i enzime, kao npr. metaloproteaze, katepsin K, koji razgrađuju koštani matriks (146). Produkti razgradnje koštanog matriksa potom se razgrađuju u citoplazmi osteoklasta i transportiraju u kapilare. Aktivnost osteoklasta reguliraju citokini i hormoni. Osteoklasti imaju receptore za tiroksin, kalcitonin, a nemaju za paratireoidni hormon. Osteoblasti imaju receptore za paratireoidni hormon koji stimulira osteoklaste (4).

#### 1.2.1.1. Pregradnja kosti

Kost se stalno pregrađuje, dio kosti se resorbira, a dio izgrađuje. Osim u vrijeme rasta, resorpcija i izgradnja kosti su u ravnoteži. U koštanim šupljinama i na vanjskim površinama kosti nalaze se osteoblasti, a neprestano su aktivni na oko 4 % koštanih površina u odraslih, dok su osteoklasti aktivni na oko 1 % koštanih površina. Resorpciju kosti potiče paratireoidni hormon (PTH) i to neizravnim mehanizmom. Naime, osteoklasti nemaju receptore za PTH. PTH se veže za receptore na osteoblastima, potiče sintezu citokina, liganda aktivacijskog receptora za jezgrin čimbenik  $\kappa$ -B (engl. *Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand*, RANKL) i čimbenika stimulacije makrofagnih kolonija (engl. *Macrophage colony-stimulating factor*, M-CSF). RANKL proizvode osteoblasti, dendritičke stanice (engl. *dendritic cells*) i T-limfociti. RANKL se veže za receptor aktivator jezgrinog čimbenika  $\kappa$ -B

(engl. *Receptor activator of nuclear factor kappa-B*, *RANK*) na preosteoklastima, a M-CSF za svoje receptore na preosteoklastima, te dovode do diferencijacije preosteoklasta u zrele osteoklaste. PTH inhibira sintezu osteoprotegerina (engl. *Osteoprotegerin*, *OPG*). OPG proizvode osteoblasti, stromalne stanice koštane srži i B-limfociti (5,142). OPG se veže za RANKL, inhibira diferencijaciju preosteoklasta u osteoklaste, te tako sprječava vezanje RANKL-a za RANK (djeluje kao „lažni“ receptor koji se veže za RANKL) (5).

Osteoklasti stvaraju resičaste izdanke, tzv. čupavi rub prema koštanom matriksu, oslobađaju enzime iz lizosoma koji razgrađuju organski matriks, te kiseline koje otapaju hidroksiapatit, te na taj način omogućuju pristup za razgradnju kolagena i drugih proteina matriksa. Važne molekule su katepsin-proteolitički enzim za razgradnju matriksa, te druge metaloproteinaze matriksa. Osteoklasti su bogati tartarat-rezistentnom kiselom fosfatazom. Produkti razgradnje koštanog matriksa potom se razgrađuju u citoplazmi osteoklasta i prenose u krvne kapilare (5,142).

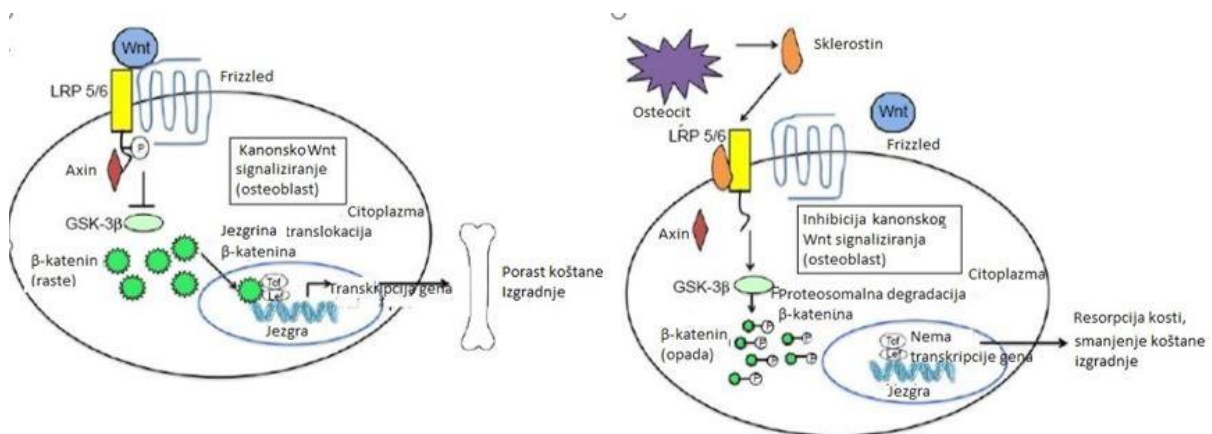


Slika 14. Razgradnja kosti. Preuzeto i prilagođeno prema (5).

Izgradnja kosti je višestupanjski proces. U usmjeravanju diferencijacije mezenhimskih matičnih stanica u stanice osteoblastne linije sudjeluju transkripcijski čimbenici. To su transkripcijski čimbenik povezan s *runt* proteinom ili Runx2 (engl. *Runx-related transcription factor 2*, *Runx2*) i *Osx* (engl. *Osterix*), koji su ujedno i biljezi diferencijacije osteoblasta (147). Prvi korak je sinteza osteoida. Značajnu ulogu ima Wnt- $\beta$ -katenin kanonski put. Wnt se veže za receptore LRP5 i 6 (engl. *LDL related receptor*, *LRP*) i specifične „*frizzled*“ receptore (skupina atipičnih receptora vezanih za G protein koji služe kao receptori u Wnt signalnom putu), te dolazi do inhibicije destruktivnog kompleksa  $\beta$ -katenina. Nefosfosforilirani  $\beta$ -



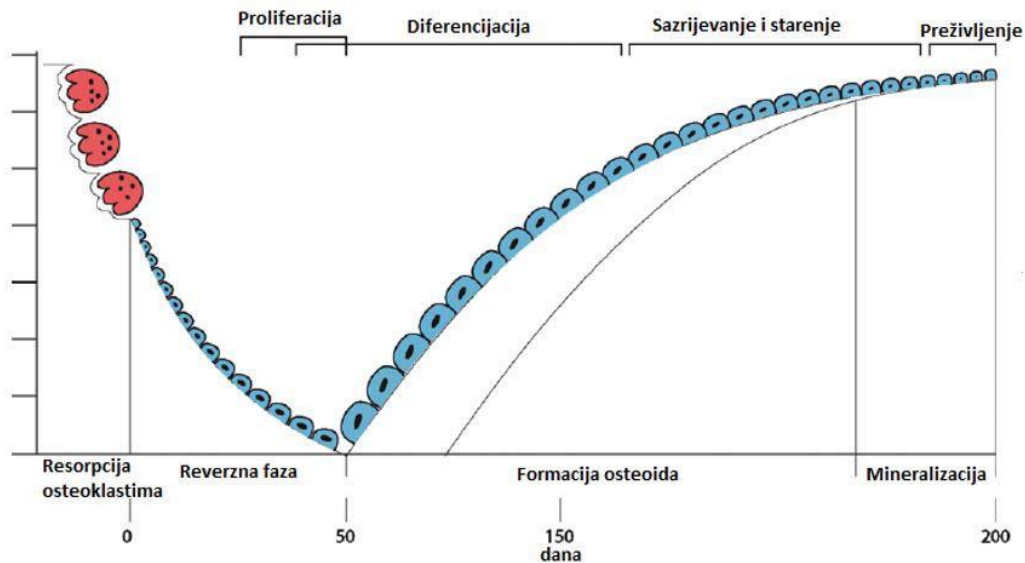
Wnt-β-katenin se ne razgrađuje nego se akumulira u citoplazmi, ulazi u jezgru, veže se za T-stanični faktor transkripcije, što dovodi do transkripcije odgovornih gena i stvaranja kosti. Sklerostin, kojeg izlučuju osteociti, inhibira Wnt-β-katenin signalni put vezujući se za LRP5 i 6. Inhibicijski učinak ima i Dickkopf vezani protein 1 (Dkk1) (148). Nakon 5-10 dana odlaganja novostvorenog matriksa, počinje primarna mineralna apozicija, koja traje do 100 dana. Potom slijedi sekundarna mineralizacija tijekom koje se povećava broj i veličina kristala hidroksiapatita, te se mijenja unutarnji raspored (142). Godišnje se pregradi približno 10 % skeleta, tj. cijeli skelet se obnovi za deset godina (149).



Slika 15. Kanonski Wnt-β-kateninski signalni put u izgradnji kosti i inhibicija sklerostinom. Preuzeto i prilagođeno prema (150).

### 1.2.1.2. Remodeliranje kosti

Tijekom života, mehanički integritet skeleta održava se procesom koštanog remodeliranja. To omogućava zamjenu oštećene kosti novom. Remodeliranje kosti se sastoji od četiri faze: resorpcijska faza, faza obrata, faza izgradnje i faza mirovanja. Ciklus remodeliranja traje približno šest mjeseci, faza resorpcije 10-14 dana, a faza izgradnje 150 dana. Završetak resorpcijske faze i početak faze izgradnje predstavlja reverznu fazu, tj. fazu obrata. Kad osteoklasti uklone dio kosti, tijekom faze obrata podliježu apoptozi, a iz mezenhimskih matičnih stanica u koštanoj srži diferenciraju se osteoblasti. Osteoblasti se nalaze na površini kosti i sintetiziraju osteoid. Kad osteoblasti sintetiziraju i mineraliziraju osteoid, postaju osteociti (142).

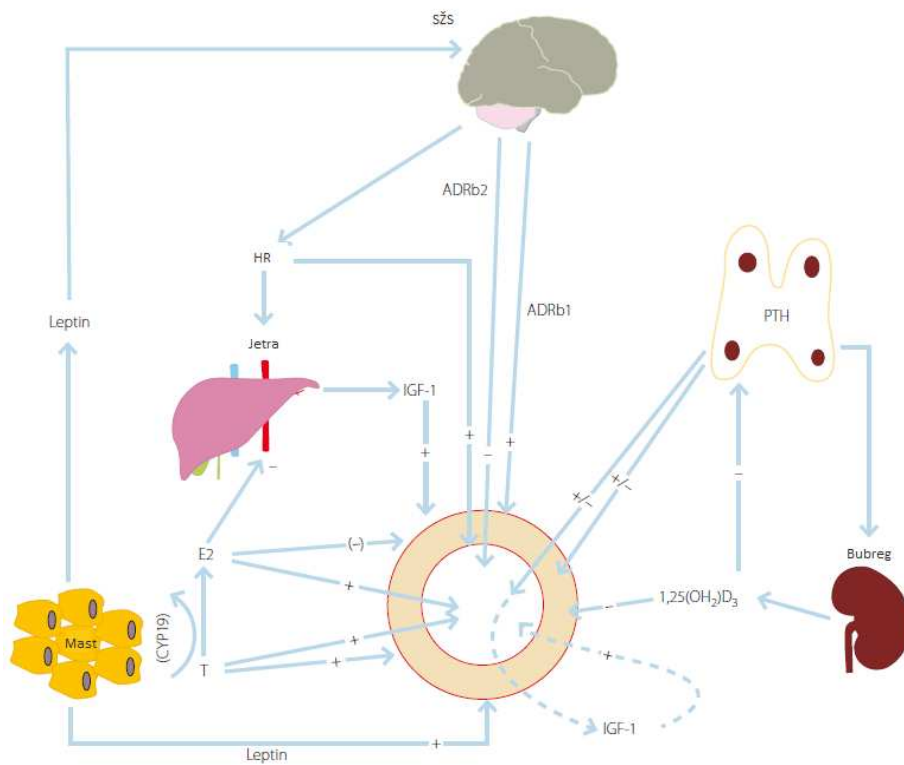


Slika 16. Remodeliranje kosti. Preuzeto i prilagođeno prema (142).

Glavni stimulator koštanog remodeliranja je PTH, a njegova primarna fiziološka uloga je homeostaza serumskog kalcija. Stimulira koštanu pregradnju potičući sintezu RANKL-a i inzulinu sličnog čimbenika rasta, te inhibirajući ekspresiju sklerostina (151). Aktivni oblik vitamina D (1,25-dihidroksi kolekalciferol) neophodan je za mineralizaciju kosti. Potiče apsorpciju kalcija u crijevima, ali čini se da inhibira stvaranje OPG i potiče stvaranje RANKL-a, te tako potiče stvaranje zrelih osteoklasta. Glukokortikoidi također potiču koštanu resorpciju aktivacijom osteoklasta, stimulirajući sintezu RANKL-a i inhibirajući sintezu OPG-a (5). Kalcitonin inhibira resorpciju kosti direktnim djelovanjem na osteoklaste (152). Estrogen preko estrogenskih  $\alpha$  receptora (engl. *Estrogen  $\alpha$  receptor*, ER $\alpha$ ) (153) potiče sintezu OPG, inhibira pretvorbu preosteoklasta u zrele osteoklaste, te inhibira koštanu razgradnju (5). Androgeni stimuliraju koštanu izgradnju (154). Središnji živčani sustav preko hormona rasta potiče lučenje inzulinu sličnog čimbenika rasta 1 (engl. *Insulin-like growth factor-1*, IGF-1) u jetri, koji stimulira koštanu izgradnju (posebno uz periostalnu površinu). Hormon rasta (engl. *Growth hormone*, GH), također izravno utječe na koštano remodeliranje (142). Središnji živčani sustav posreduje neke od djelovanja leptina, koji inhibira stvaranje i stimulira resorpciju trabekularne kosti preko beta-2 adrenergičkih receptora, što rezultira smanjenjem volumena trabekularne kosti. Suprotno tome, leptin i stimulacija  $\beta$ -1 adrenergičkih receptora stimuliraju izgradnju kosti i direktno povećavaju kortikalnu koštanu masu (155).

Za vrijeme rasta, intezivan koštani „*de novo*“ rast se događa periostalno, bez prethodne koštane resorpcije kosti (156), a endostalna apozicija dominira u djevojčica tijekom puberteta. Tijekom djetinjstva i adolescencije koštana masa se poveća nekoliko puta, a do kraja drugog

desetljeća postigne se vršna koštana masa. Vršna koštana masa je određena brojnim čimbenicima, uključujući genetske, fizičku aktivnost, hormonski status, unos kalcija i druge prehrambene navike. Crnkinje imaju veću koštanu masu od bijelkinja (157). Djevojčice postignu vršnu koštanu masu od 12-13-te godine života, a dječaci od 13-14-te godine života, te takva ostane održana barem godinu dana dulje nego kod djevojčica, što je razlog da je koštana masa u dječaka u prosjeku 15 % veća od koštane mase u djevojčica. Spolni hormoni imaju važnu ulogu u dostizanju vršne koštane mase. Estrogen je neophodan za normalno zatvaranje zona rasta u oba spola. Djevojčice s kasnijom menarhom su višeg rasta, ali s manjom koštanom masom i kortikalnom debljinom (158). Muškarci imaju duže kosti, veći koštani dijametar i veću kortikalnu debljinu dugih kostiju (159).



Slika 17. Koštana pregradnja i koštana masa. Preuzeto i prilagođeno prema (142).

### 1.2.2. Kvaliteta i čvrstoća kosti

Kvaliteta kosti ovisi o mikroarhitekturi, stupnju mineralizacije, te o orijentaciji i kemijskoj strukturi kolagenih niti. Čvrstoća kosti se definira kao maksimalno opterećenje koje se može primjeniti, a da ne dođe do prijeloma kosti. Glavne odrednice koštane čvrstoće su masa, mikroarhitektura kosti (volumen trabekula, povezanost i debljina trabekula), geometrija (vanjski dijametar i kortikalna debljina) i čimbenici povezani s mehaničkom kvalitetom

koštanog tkiva (mineralizacija, kortikalna poroznost, orijentacija kolagenih fibrila i veze, mikrooštećenja) (142). Rast i razvoj kosti, vršna koštana masa kao i homeostaza kosti ovise o mnogim nepromjenjivim i promjenjivim čimbenicima. Nepromjenjivi čimbenici su spol, etnička pripadnost i genetski čimbenici; a promjenjivi čimbenici su prehrana, hormoni, životni stil i fizička aktivnost (160). Za održavanje čvrstoće kosti bitna je stalna koštana pregradnja, jer se kost prilagođava stupnju opterećenja i silama naprezanja. Veće opterećenje potiče zadebljanje kosti. Organski matriks vremenom degenerira, kost postaje krhkija, te je potrebna zamjena nosivim materijalima (5). Kolageni koštani matriks je odgovoran za otpornost na naprezanje, a mineralni anorganski dio za otpornost na opterećenje, kompresiju (160).

#### 1.2.2.1. Dvoenergetska apsorpciometrija X-zraka i trabekularna struktura kosti

Biopsija kosti je najbolja metoda za procjenu koštane pregradnje, no zbog invazivnosti i cijene pretrage, nije u svakodnevnoj primjeni. U svakodnevnoj kliničkoj praksi određujemo mineralnu gustoću kosti (engl. *Bone Mineral Density*, BMD), trabekularnu strukturu kosti, odnosno indeks trabekularne kosti (engl. *Trabecular Bone Score*, TBS) i biljege koštane pregradnje. Koštanu gustoću možemo mjeriti različitim tehnikama, na različitim dijelovima skeleta. Najčešće se koristi dvoenergetska apsorpciometrija X-zraka (engl. *Dual energy-X-ray absorptiometry*, DXA). Dvije X-zrake različite energije, prolazeći kroz dio tijela, dijelom se apsorbiraju. Kolimator usmjerava X-zrake na dio tijela koji se snima i sprečava raspršenje X-zraka u okolinu. Apsorpcija ovisi o gustoći tkiva kroz koja zračenje prolazi (meka tkiva, kosti). Apsorpcija je veća što je gustoća tkiva kroz koje prolazi zračenje veća. Dio koji se ne apsorbira, detektira se s druge strane tijela. Iz podataka o apsorbiranom i detektiranom zračenju, računalni program daje podatak o koštanoj gustoći (161). BMD najčešće mjerimo u području slabinske kralježnice (L1-L4 kralježak) i proksimalnog okrajka bedrene kosti, a može se mjeriti i u području distalne trećine podlaktice ili u području petne kosti. Koristi se u dijagnostici osteoporoze prema kriterijima SZO iz 1994.g. Dijagnoza osteoporoze se postavlja na osnovu *T-scora*. *T-scor* koji je - 2,5 ili niži govori u prilog osteoporoze, a znači da je mjereni BMD za 2,5 ili više SD niži od prosječnog BMD mladih osoba, istog spola (162,163). Studije su pokazale jaku korelaciju između BMD i rizika za frakturu kosti (164), te između BMD-a i mehaničke čvrstoće kosti (165). Osim DXA, koristi se i TBS. TBS može prepoznati razlike trodimenzionalne (3D) mikroarhitekture između dvije različite 2D DXA slike koje daju gotovo identične rezultate BMD. TBS se može primijeniti na nekoliko različitih vrsta slike, uključujući DXA, uobičajene radiografske slike (RTG), kompjutoriziranu tomografiju

(CT) i kvantitativni CT, te se može koristiti na svim dijelovima skeleta koja zadovoljavaju specifičnu razlučivost i kriterije omjera signal-šum (166). TBS nije direktno mjerenje koštane mikroarhitekture, ali je povezan s 3D karakteristikama kao što je broj, povezanost i odvajanje trabekula (167,168). Prednost TBS pred određivanjem BMD je što je osjetljiviji i na male promjene kvalitete kosti, a degenerativne promjene (kalcifikati) ne utječu na TBS, za razliku od BMD. Kvantitativni ultrazvuk (engl. *Quantitative ultrasound*, QUS) se većinom koristi za probir pacijenata, a mjeri se brzina prolaza i atenuacija ultrazvučnih valova u petnoj kosti. Navedeni parametri su smanjeni u stanjima smanjene koštane gustoće. Pretraga je jeftina, nema radijacijskog opterećenja. Osim navedenih tehnika, koristi se kvantitativna kompjutorizirana tomografija (engl. *Quantitative Computed Tomography*, QCT). QCT je multiplanarna, trodimenzionalna koštana denzitometrija, koja ima mogućnost odjeljivanja kortikalne i trabekularne kosti. QCT-om se mogu mjeriti kortikalna debljina i gustoća, poprečna površina kosti, periostalni i endostalni opseg kosti. Nedostatak je veće radijacijsko opterećenje, te se zbog toga više koristi u istraživačke svrhe nego u svakodnevnoj kliničkoj praksi. Također se koristi magnetska rezonanca (MR). Prednost je što nema radijacijskog opterećenja, a koristi se većinom u istraživanjima (169).

#### 1.2.2.2. Biljezi koštane pregradnje

Koštanu pregradnju možemo procijeniti iz biljega koštane pregradnje, tj. produkata izgradnje i razgradnje kosti (170). Biljezi koštane pregradnje su produkti sinteze osteoblasta i razgradnje osteoklasta, kao i enzimi koje pri tome luče. Biljezi koštane izgradnje u serumu su: koštana alkalna fosfataza, osteokalcin, karboksiterminalni propeptid kolagena tipa I i aminoterminalni propeptid kolagena tipa I. Biljezi koštane razgradnje u serumu su: C-telopeptid cross-links kolagena tipa I. Biljezi koštane razgradnje u urinu su: hidroksiprolin, ukupni i slobodni piridinolin, ukupni i slobodni deoksipiridinolin, N-telopeptid kolagen cross-links i C-telopeptid kolagen cross-links (171,172). Osteokalcin je nekolageni protein, proizvode ga osteoblasti, a prilikom resorpcije kosti otpušta se i u cirkulaciju, te je tako biljeg ukupne koštane pregradnje, tj. i izgradnje i razgradnje. Najbolji biljezi koštane izgradnje su koštana alkalna fosfataza i karboksiterminalni propeptid kolagena tip I, jer im izlučivanje ne varira tijekom dana (172). Najbolji biljezi koštane razgradnje su N-telopeptid cross-links i C-telopeptid cross-links jer nastaju samo razgradnjom koštanog kolagena, za razliku od piridinolina, deoksipiridinolina i hidroksiprolina koji su produkti razgradnje i kolagena kože, hrskavičnog tkiva. Kisela fosfataza je osim u osteoklastima prisutna i u prostati, ali tartarat ne

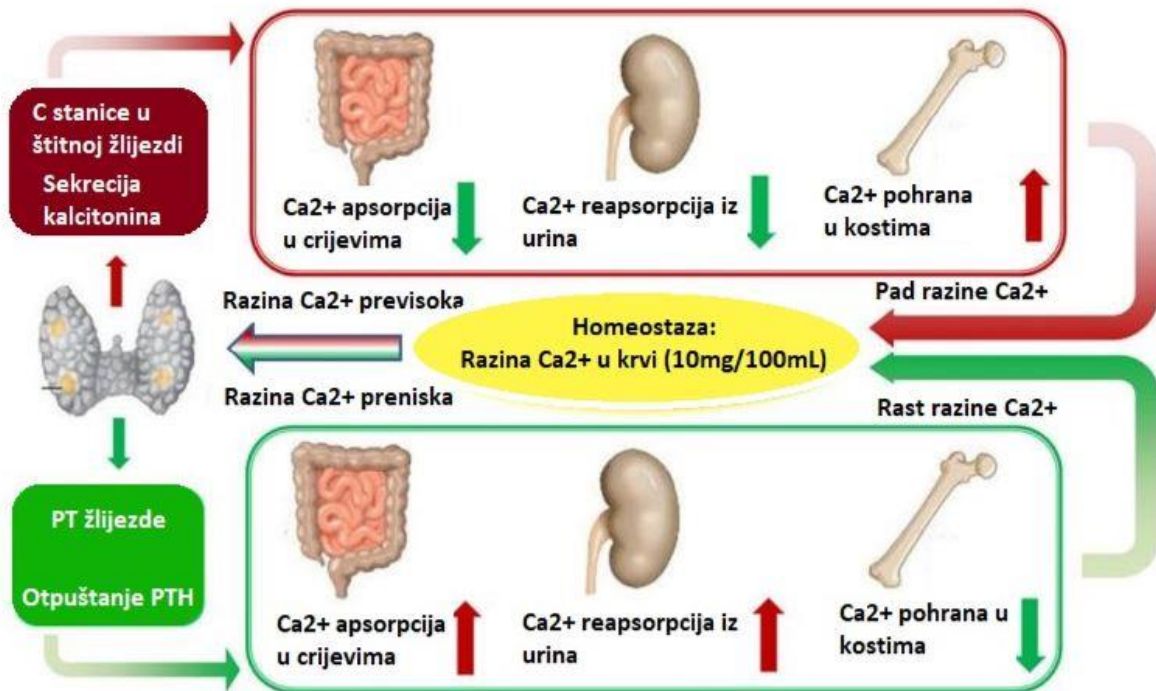
inhibira aktivnost kisele fosfataze osteoklasta, te je tako tartarat rezistentna kiselina fosfataza specifična za osteoklaste (172–174). Serumske koncentracije koštanih biljega kao i njihovo izlučivanje bubrezima variraju tijekom dana (175,176), razlikuju se u koštanim bolestima, a i tijekom praćenja kao odgovor na terapiju (npr. osteoporozu). Zbog toga su u kliničkoj praksi najbolji u provjeri i praćenju terapijskog učinka, jer biljezi koštane razgradnje padaju za 4-6 tjedana, a biljezi izgradnje porastu za 2-3 mjeseca od uvođenja terapije (177,178).

### 1.2.3. Metabolizam kalcija

Kalcij je najzastupljeniji mineral u ljudskom tijelu. Ima važnu ulogu u mineralizaciji kosti, prijenosu signala, koagulaciji, mišićnoj kontrakciji, živčanoj provodljivost. Ljudski organizam sadrži oko 1 000 - 1 300 g kalcija. Kost i zubi sadrže oko 99,3 % ukupnog kalcija, 0,6 % se nalazi u mekim tkivima, a 0,1 % u izvanstaničnoj tekućini, u plazmi 0,03 % (179). Dnevno se u prosjeku hranom unese oko 1 000 mg kalcija, u tankom crijevu se apsorbira oko 400 mg, a potom se 200 mg izluči crijevnom sekrecijom. Dnevna neto apsorpcija kalcija iznosi oko 200 mg (180). Normalna koncentracija kalcija u serumu je 2,2 - 2,6 mmol/L (181). U serumu je 45 % kalcija vezano za bjelancevine, 7 % na anione, a 48 % je u ioniziranom obliku. Ionizirani kalcij i kalcij vezan na anione difundiraju kroz kapilarnu membranu (180). Oko 500 mg kalcija dnevno se izmjeni između kosti i izvanstanične tekućine. 10 g kalcija se dnevno filtrira bubrezima, a 98 % filtriranog se apsorbira u bubrežnim tubulima, tj. 200 mg se izluči bubrezima (182). Koncentracija kalcija u plazmi ovisi o apsorpciji u crijevima, koštanoj pregradnji i reapsorpciji kalcija u bubrezima. Ti procesi su regulirani kalcitriolom, PTH i kalcitoninom preko njihovih receptora. Ključnu ulogu u regulaciji koncentracije kalcija u plazmi ima receptor osjetljiv na kalcij (engl. *Calcium-sensing receptor, CaSR*) (183). Kalcij se u tankom crijevu apsorbira pasivnom difuzijom i aktivnim transcelularnim transportom, a aktivni transport potiče kalcitriol [1,25 (OH)<sub>2</sub>D]. Aktivni transport se odvija kalcijevim kanalima koji pripadaju nadobitelji prolaznog receptorskog potencijala, podobitelji vaniloid 5 i 6 (engl. *Transient receptor potential vanilloid, TRPV*) (184). U bubrezima se 60-70 % filtriranog kalcija reapsorbira u proksimalnim tubulima, 20 % u uzlaznom kraku Henleove petlje, 10 % u distalnim tubulima i oko 5% u sabirnim kanalčićima (180). 85 % reapsorpcije kalcija u proksimalnim tubulima je pasivno (185), a samo 15 % reapsorpcije odvija se aktivnim transportom. U uzlaznom kraku Henleove petlje, reapsorpcija je također većim dijelom pasivna, a omogućuju je dva tijesno vezana proteina, kladin-16 i kladin-19

(engl. *Claudin-16, Claudin-19*) (186). Aktivni transport kalcija u bubregu potiču PTH i kalcitonin.

CaSR je receptor na koji je vezan G-protein (187). Humani CaSR je polipeptidni lanac koji sadrži 1078 aminokiselina. Sastoji se od izvanstanične domene, središnjeg dijela koji se sastoji od sedam domena smještenih u membrani, te unutarstaničnog dijela koji je vezan s proteinom G (188). U stanjima hiperkalcemije, aktivira se CaSR. Stimulacija receptora kalcijevim ionima, aktivira nekoliko unutarstaničnih signalnih puteva. Najbolje istraženi su fosfolipaza C i izvanstanično signalno regulirane kinaze 1/2 (eng. *Extracellular signal-regulated kinases 1/2, ERK 1/2*) (189,190). Interakcijom iona kalcija i receptora osjetljivog na kalcij koji je povezan s G-proteinom, aktivira se fosfatidilinoizitol-specifična fosfolipaza C (engl. *Phosphatidylinositol-specific phospholipase, PLC*). PLC hidrolizira fosfatidilinoizitol-4,5-difosfat na inozitol-1,4,5-trifosfat i diacilglicerol. Inozitol-1,4,5-trifosfat se veže za receptor u membrani endoplazmatskog retikuluma i oslobađa kalcij iz endoplazmatskog retikuluma. Kalmodulin se veže za C-terminalni dio receptora za kalcij, te regulira ekspresiju receptora na staničnoj površini (191). Potaknut kalcijevim ionima, povećava se izlučivanje kalcija bubrezima i smanjuje se izlučivanje PTH. Smanjena koncentracija PTH smanjuje mobilizaciju kalcija iz kosti, inhibirana je i sinteza kalcitriola, a što također smanjuje mobilizaciju kalcija iz kosti i apsorpciju kalcija u crijevima. Ovi procesi dovode do normalizacije koncentracije kalcija u serumu (192). Receptor osjetljiv na kalcij nalazi se u doštitnoj žlijezdi i štitnjači, regulira izlučivanje PTH i kalcitonina ovisno o koncentraciji kalcija u izvanstaničnoj tekućini (187). Vjerojatno CaSR ima važnu ulogu i u hiperplaziji doštitne žlijezde u stanjima sekundarnog hiperparatireoidizma (193), a što je potvrđeno i na studijama na animalnom modelu (194). CaSR također se nalazi u bubrezima (195), u kostima (196), u probavnom sustavu (197), u središnjem živčanom sustavu (198).



Slika 18. Regulacija homeostaze kalcija. Preuzeto i prilagođeno prema(199).

PTH je glavni regulator reapsorpcije kalcija u bubrezima. Hipokalcemija inaktivira CaSR na stanicama doštitne žlijezde, što dovodi do povećanog izlučivanja PTH, a povišeni PTH i kalcitriol povećavaju aktivnu reapsorpciju kalcija u distalnim bubrežnim tubulima (200). Djelovanje PTH u kostima ovisi o izloženosti, da li je kontinuirana ili povremena. Kod kontinuirane izloženosti djelovanju PTH, aktiviraju se osteoklasti posredno preko RANKL-a, povećava se koštana razgradnja i resorpcija kosti. To dovodi do resorpcije kalcija iz kosti i povećanja koncentracije kalcija u plazmi (201,202). Povremena izloženost PTH-u, stimulira aktivaciju osteoblasta i izgradnju kosti (202). PTH potiče i sintezu kalcitriola koji povećava crijevnu apsorpciju kalcija i fosfata. Obrnuto, u stanjima hiperkalcemije, aktivacijom CaSR smanjuje se izlučivanje PTH, što dovodi do procesa obrnutih od prethodno navedenih.

Metabolizam kalcija vezan je s metabolizmom fosfata i magnezija. Homeostaza fosfata regulirana je s PTH, kalcitriolom, čimbenikom rasta fibroblasta 23 (engl. *Fibroblast growth factor 23*, FGF-23) (180). U stanjima povišene koncentracije fosfata u serumu, kosti izlučuju FGF-23, a on potiče izlučivanje fosfata bubrezima, te smanjuje sintezu kalcitriola što dovodi do smanjenja apsorpcije fosfata u crijevima. Kalcij i magnezij se vezuju za CaSR na stanicama doštitne žlijezde i bubrega, ali na različitim mjestima. Magnezij ima ulogu u modulaciji PTH (203,204). Snižena koncentracija serumskog magnezija potiče izlučivanje PTH, a povišena koncentracija magnezija smanjuje izlučivanje PTH. Jako snižena



koncentracija magnezija češće dovodi do smanjenog izlučivanja PTH i porasta rezistencije na PTH u kostima, a što dovodi do hipokalcemije (185,205).

Kalcij utječe i na metabolizam vitamina D. 7-dehidrokolesterol se nalazi u koži, a djelovanjem ultraljubičastih zraka pretvara se u kolekalciferol, vitamin D<sub>3</sub>. Kolekalciferol se u jetri djelovanjem 25-hidroksilaze pretvara u 25-hidroksikolekalciferol, koji povratnom spregom inhibira pretvorbu. To je važan mehanizam jer se količina unešenog vit. D<sub>3</sub> može višestruko povećati, a koncentracija 25-hidroksikolekalciferola ostane u granici normale. Tako kontrolirana pretvorba štedi vit. D pohranjen u jetri. Naime, vit. D<sub>3</sub> se u jetri može pohraniti nekoliko mjeseci, a 25-hidroksikolekalciferol samo nekoliko tjedana. 25-hidroksikolekalciferol se u proksimalnim kanalićima bubrega djelovanjem 1-hidroksilaze pretvara u 1,25-dihidroksikolekalciferol, a što je najaktivniji oblik vit. D. Aktivni oblik vit. D pospješuje apsorpciju kalcija i fosfata u crijevima, reapsorpciju kalcija u bubrezima (206). Za pretvorbu u aktivni oblik u bubregu potreban je PTH. Ako nema PTH, prestaje sinteza 1,25-dihidroksikolekalciferola. Kalcijevi ioni inhibiraju 1-hidroksilaciju u bubregu, a također povećana koncentracija kalcijevih iona inhibira lučenje PTH, što dodatno inhibira 1-hidroksilaciju u bubregu. Tada se 25-hidroksikolekalciferol pretvara u neaktivni oblik vit. D (24,25-dihidroksikolekalciferol). Aktivni oblik vit. D pospješuje i resorpciju kalcija i fosfata iz kosti. Vit. D potiče stvaranje kalbindina - vezne bjelančevine za kalcij, koja ostaje u crijevima nekoliko tjedana, čime je produljen utjecaj na apsorpciju kalcija. Učinak vit. D na apsorpciju kalcija i fosfata u bubrežnim kanalićima je znatno slabiji. U malim količinama potiče i mineralizaciju kosti, vjerojatno potičući transport kalcija kroz stanične membrane osteoblasta i osteocita. Prekomjerne količine vit. D dovode do resorpcije kosti. Receptori za vit. D nalaze se na većini tjelesnih stanica, u jezgrama. Sadrže domenu koja veže vit. D i domenu koja veže DNA. Receptor stvara kompleks s drugim unutarstaničnim receptorom, retinskim receptorom X, te se veže na DNA. U većini slučajeva potiče, a u nekima inhibira transkripciju. Afinitet receptora za 1,25-dihidroksikolekalciferol je oko 1000 puta veći nego za 25-hidroksikolekalciferol, što je i razlog njegove biološke aktivnosti (5).

Kalcitonin luče C-parafolikularne stanice štitnjače. U stanjima hiperkalcemije, kalcitonin inhibira aktivnost osteoklasta i smanjuje apsorpciju kalcija u crijevima i u bubrezima, te tako dovodi do pada koncentracije kalcija u plazmi (207).

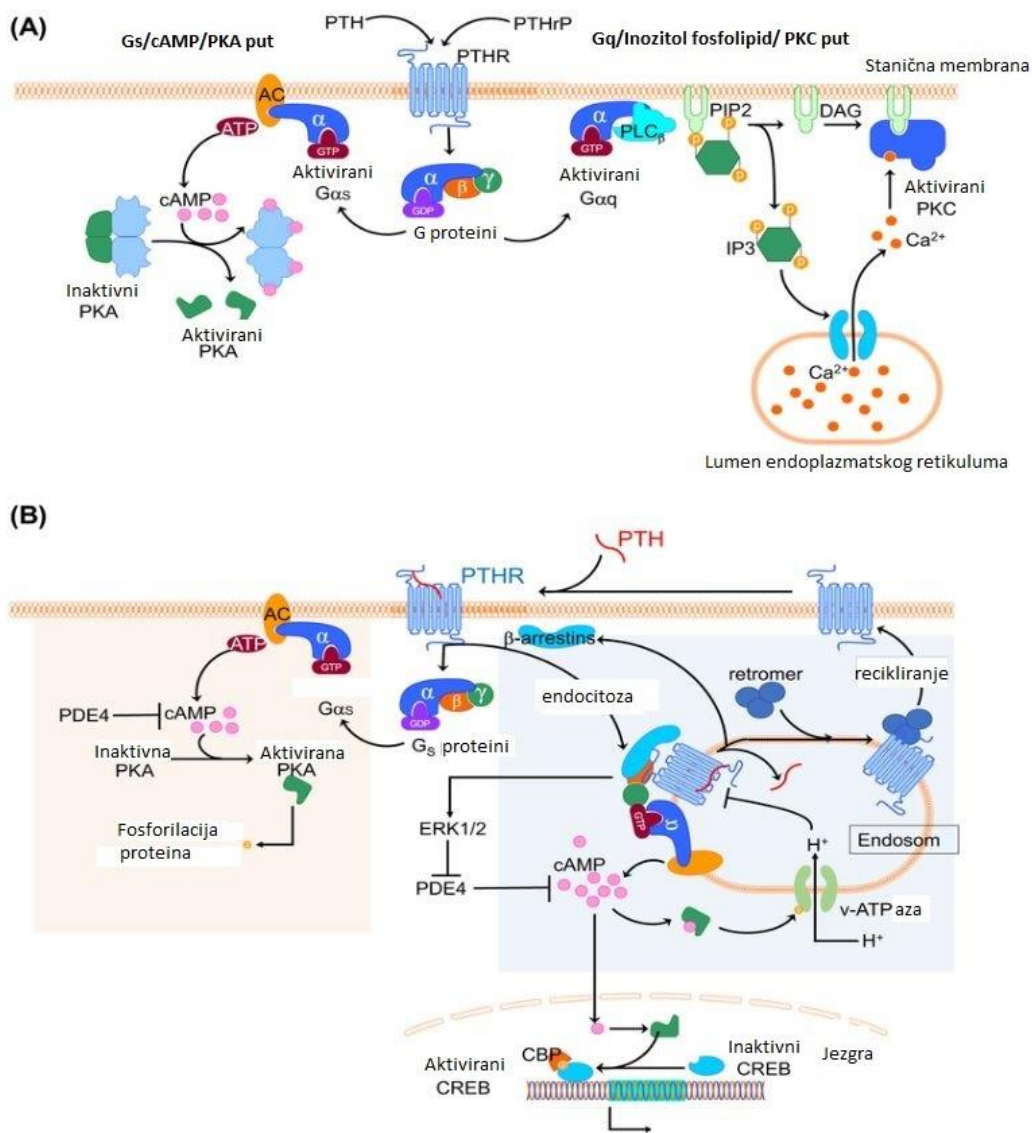
#### 1.2.4. Fiziološko djelovanje hormona doštitne žlijezde

Doštitne žlijezde se razvijaju iz endoderma, u šestom tjednu embrionalnog razvoja. Gornje doštitne žlijezde se razvijaju iz četvrte, a donje iz treće škržne vreće. Ovalnog su oblika, vel. 5 x 3 x 2,5 mm; a masa im je od 30 - 80 mg (1). Arterijskom krvlju ih opskrbljuju ogranci arterija štitnjače, a vene se ulijevaju u vene štitnjače. Inerviraju ih aksoni ganglijskih stanica vratnog simpatikusa, a parasimpatička vlakna su ogranci vagusa (3). Smještene su neposredno uz štitnjaču, na stražnjoj strani. Najčešće nalazimo četiri, po jedna uz gornji i donji pol oba režnja štitnjače. Mogu biti i prekobrojne, ektopične - smještene u području vrata ili prsišta. Doštitna žlijezda je građena od glavnih i oksifilnih stanica, a glavninu paratiroidnog hormona (PTH) proizvode glavne stanice. PTH se sintetizira na ribosomima u obliku preprohormona, koji sadrži 110 aminokiselina. Odcijepi se prohormon, koji sadrži 90 aminokiselina, a potom hormon, koji se nalazi u sekrecijskim granulama u citoplazmi. Hormon se sastoji od 84 aminokiseline, molekulske mase 9 500. Aktivni oblik PTH se izluči vrlo brzo, par sekundi nakon pada koncentracije kalcija u plazmi. PTH se izlučuje egzocitozom. Manji spojevi, koji sadrže samo 34 aminokiseline s N-kraja molekule, također su hormonski aktivni. Bubrezi i jetra za nekoliko minuta izluče hormon od 84 aminokiseline, a manje fragmente izlučuju satima, pa tako velik dio hormonske aktivnosti u organizmu potječe od manjih fragmenata (5,208,209).

U stanjima hipokalcemije, PTH stimulira oslobađanje kalcija i fosfata iz kosti. PTH djeluje na osteoklaste indirektno, preko osteoblasta. Naime, osteoklasti nemaju receptore za PTH. PTH stimulira osteoblaste na ekspresiju RANKL i M-CSF. RANKL se veže za RANK na preosteoklastima, a M-CSF se veže također na receptore na preosteoklastima; te stimuliraju diferencijaciju preosteoklasta u osteoklaste. PTH inhibira sintezu OPG u osteoblastima, koji se veže za RANKL kao 'lažni receptor', te tako sprečava vezivanje RANKL-a za RANK. Oba učinka dovode do aktivacije osteoklasta, razgradnje kosti i oslobađanja kalcija (5). Brzi učinak započinje za samo nekoliko minuta te se pojačava tijekom više sati, a što je posljedica aktivacije osteocita i oslobađanja kalcija i fosfata. Za sporiji učinak potrebno je nekoliko dana ili tjedana da se potpuno razvije, a nastaje proliferacijom i djelovanjem osteoklasta, odnosno resorpcijom kosti. PTH u bubrezima stimulira reapsorpciju kalcija u distalnim tubulima i u sabirnim kanalčićima preko kalbindina-D, vitamin D ovisnog citosolnog proteina, koji veže kalcij (210); a inhibira reapsorpciju fosfata u proksimalnim tubulima. Također potiče sintezu 1 alfa-hidroksilaze u proksimalnim tubulima, koja katalizira pretvorbu 25-

hidroksikolekalciferola u 1,25-dihidroksikolekalciferol, koji je aktivni oblik vit. D. Aktivni oblik vit. D potiče apsorpciju kalcija u crijevima (5). Reapsorpcija kalcija u bubrezima je jako važna, jer bi izlučivanje bubrezima dovelo do manjka kalcija u izvanstaničnoj tekućini i u kostima.

Receptor za PTH tip1 je receptor povezan s G-proteinom. Stanice mnogih tkiva imaju receptor za PTH, prvenstveno koštane (osteociti i osteoblasti), stanice proksimalnih i distalnih tubula bubrega, te mliječne žlijezde (211). Vezivanjem PTH za receptor, G-protein aktivira adenil-ciklazu, koja katalizira razgradnju adenozin trifosfata u cAMP. cAMP djeluje kao drugi glasnik, te aktivira protein kinazu A (PKA). Gq protein aktivira fosfolipazu C, koja cijepa fosfatidilinozitol (4,5)-difosfat (engl. *Phosphatidylinositol(4,5)-bisphosphate*, PIP2) na diacilglicerol (engl. *Diacylglycerol*, DAG) i inozitol (1,4,5)-trifosfat (engl. *Inositol (1,4,5)-trisphosphate*, IP3). IP3 potom difundira u citosol i aktivira IP3-kalcijske kanale na membranama endoplazmatskog retikuluma, te oslobađa kalcij u citosol. Porast koncentracije kalcija u citosolu, potiče translokaciju protein kinaze C na plazma membranu i aktivaciju diacilglicerolom. Receptor PTH, uklopljen u endosome potiče sintezu cAMP, koji potom difundira u jezgu i izravno aktivira PKA (212).



Slika 19. Aktivacija PTH receptora tip1. Preuzeto i prilagođeno prema (213).

### 1.2.5. Fiziološko djelovanje kalcitonina

Kalcitonin je hormon kojeg luče parafolikularne, C-stanice u štitnjači, koje nastaju iz neuroektodermalnih stanica faringealnog kompleksa. Dio su difuznog endokrinog sustava, te ga mogu sintetizirati stanice medularnog karcinoma štitnjače, neuroendokrinih tumora, karcinoma malih stanica pluća (1). Kalcitonin se sastoji od 32 aminokiseline. Nastaje iz prokalcitonina, koji sadži 116 aminokiselina, a prokalcitonin nastaje proteolizom iz preprokalcitonina koji sadrži 141 aminokiselinu (214). Porast koncentracije kalcija u plazmi

stimulira izlučivanje kalcitonina. Povećanje koncentracije kalcija u plazmi za 10 %, dvostruko poveća izlučivanje kalcitonina (5). Izlučivanje kalcitonina također potiču gastrin i pentagastrin (215). Kalcitonin smanjuje koncentraciju kalcija u krvi na dva načina, inhibira resorpciju kosti i povećava izlučivanje kalcija bubrezima (216,217). Glavni učinak kalcitonina je inhibicija resorpcije kosti direktnim djelovanjem na osteoklaste (152). Receptori za kalcitonin se nalaze na osteoklastima, u bubrezima, mozgu, probavnom, dišnom i reproduktivnom sustavu. Pripadaju skupini G-protein vezanih receptora koja uključuje nekoliko peptida. Peptidi su strukturni analozi kalcitonina u koje ubrajamo peptid povezan s kalcitoninskim genom (engl. *Calcitonin Gene-Related Peptide*, CGRP), amilin, adrenomedulin, intermedin i peptid koji stimulira receptor kalcitonina (engl. *Calcitonin Receptor-Stimulating Peptide*, CRSP). Ekspimirani su u  $\beta$ -stanicama gušterače, u feokromocitomu, središnjem živčanom sustavu. Vezivanjem na receptore, kalcitonin dovodi do aktivacije cAMP signalnog puta. Može aktivirati i fosfolipazu C, što uzrokuje oslobađanje kalcija iz intracelularnih granula. Kalcitonin također može aktivirati i fosfolipazu D (218), koja stimulira Shc tirozin fosforilaciju mitogen aktivirane protein kinaze/izvanstanično signalno regulirane kinaze  $\frac{1}{2}$  (engl. *Mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase*, MAPK/Erk  $\frac{1}{2}$ ) (219). Vezivanjem za receptore na osteoklastima, unutar jedne minute kalcitonin potiče kontrakciju i inhibira motilitet osteoklasta, uz postupnu retrakciju (220,221). U ovom procesu drugi glasnici su cAMP i kalcij, oba posredovana G-proteinom (221). Kalcitonin inhibira oslobađanje kisele fosfataze i ekspresiju ugljične anhidraze II (222,223). U bubrezima, kalcitonin stimulira diurezu i izlučivanje kalcija i fosfata inhibicijom tubularne reapsorpcije. Tako je učinak kalcitonina suprotan učinku PTH-a. Osteoblasti nemaju receptore za kalcitonin, ali kako su izgradnja i resorpcija kosti vezani procesi, inhibicija osteoklasta indirektno dovodi do stimulacije osteoblasta. Djelovanje kalcitonina je mnogo slabije od djelovanja PTH. Razlog tome je što smanjenje koncentracije kalcijevih iona zbog djelovanja kalcitonina, već tijekom par sati poveća izlučivanje PTH, a drugi razlog je što je koštana pregradnja kod odraslih vrlo spora (5).

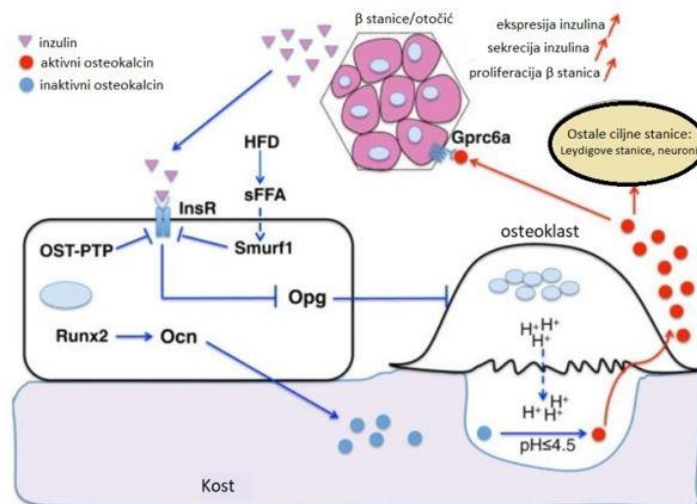
#### 1.2.6. Fiziološko djelovanje osteokalcina

Osteokalcin je protein, sastoji se od 49 aminokiselina, sintetiziraju ga osteoblasti i osteociti (224). Sintetizira se kao neaktivni prekursor, a karboksilacijom glutaminske kiseline postaje biološki aktivan. Za to je potreban vitamin K (225). Najzastupljeniji je nekolagenski

koštani protein, u ljudi ga kodira gen *BGLAP* (226). Karboksilirani i nekarboksilirani oblik mogu se naći u cirkulaciji (227).

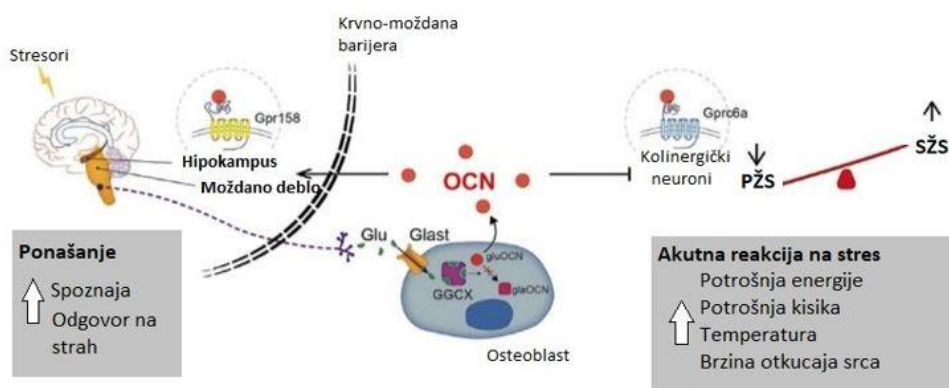
Osteoblasti imaju receptore za hormone štitnjače. Studije su pokazale da hormoni štitnjače reguliraju diferencijaciju i proliferaciju osteoblasta, kao i ekspresiju čimbenika koštane pregradnje (99). T3 potiče ekspresiju osteokalcina dijelom preko p38 mitogen-aktivirane protein kinaze (MAP), a sustav cAMP-a regulira ekspresiju osteokalcina supresijom p38 MAP kinaze u klonskim mišjim staničnim linijama preosteoblasta (228,229). Prijašnja saznanja govorila su u prilog da osteokalcin potiče stvaranje kristala hidroksiapatita, usklađujući vezivanje glutaminskih ostataka i iona kalcija (230). Novija istraživanja govore u prilog da osteokalcin inhibira mineralizaciju kosti, a što je potvrđeno inhibicijom precipitacije kalcijevih soli osteokalcinom u zasićenim otopinama (231). Studija na starijim 'knockout' animalnim modelima pokazala je porast minerala u odnosu na matriks, uz porast veličine kristala hidroksiapatita. To bi govorilo u prilog da osteokalcin regulira brzinu sazrijevanja minerala (232). Druge studije govore hipotetski o mehaničkoj funkciji osteokalcina u koštanom matriksu, da povezuje matriks i mineralni dio kosti, zbog njegovog čvrstog vezivanja hidroksiapatita i formiranja kompleksa s kolagenom preko osteopontina (233–235).

*In vitro* studije, kao i studije na miševima, otkrile su hormonska djelovanja nekarboksiliranog oblika osteokalcina. Osteokalcin stimulira  $\beta$ -stanice gušterače na izlučivanje inzulina i ekspresiju adiponektina u adipocitima (236–238) preko GPCR6A receptora (238). Polimorfizam lokusa ljudskog *BGLAP* gena bio je povezan sa šećernom bolesti tip 2 i debljinom (239,240). Inzulin u osteoblastima inhibira ekspresiju osteoprotegerina, koji je inhibitor diferencijacije i aktivnosti osteoklasta; te tako dovodi do resorpcije kosti. To je bitno jer resorpcija kosti zahtijeva kiselost izvanstaničnog matriksa, a niži pH je jedino poznato sredstvo za dekarboksilaciju proteina izvan stanice. Niži pH, koji nastaje resorpcijom, neophodan je za dekarboksilaciju i aktivaciju osteokalcina. Inzulin i osteokalcin su vezani, te je inzulinski podražaj osteoblasta potreban za homeostazu glukoze u miševa hranjenih normalnom hranom (241,242). Korejska studija je pokazala korelaciju razine serumskog osteokalcina i inzulinske rezistencije u žena u postmenopauzi, no ne i kod žena u premenopauzi (243).



Slika 20. Regulacija homeostaze glukoze putem osi kost-gušterača. Preuzeto i prilagođeno prema (244).

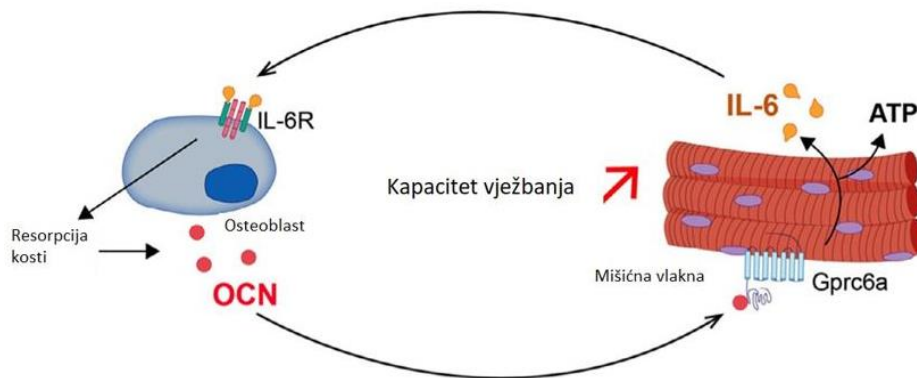
Također je utvrđeno da osteokalcin regulira razvoj i funkciju mozga. Osteokalcin-deficijentni miševi su pasivniji, slabije memorije; a mozak, posebice hipokampus su manji. Osteokalcin regulira sintezu različitih neurotransmitera kao što su dopamin, norepinefrin, serotonin (245). Receptori za osteokalcin u mozgu su GPR158 (246). Literaturni podaci pokazuju da pacijenti koji boluju od neuropsihijatrijskih bolesti često imaju osteoporozu ili smanjenu koštanu masu, a to bi govorilo u prilog da postizanje koštane mase kontrolira mozak (247,248). U mozgu je dokazan i GPR37, receptor za osteokalcin. Preko njega osteokalcin inhibira diferencijaciju i mijelinizaciju oligodendrocita (249). U stanjima akutnog stresa, osteokalcin prolazi krvno-moždanu barijeru, veže se i potiče aktivnost neurona u određenim regijama mozga. Stimulira sintezu monoamino neurotransmitera, te inhibira sintezu gama-amino maslačne kiseline (engl. *Gamma-Aminobutyric Acid, GABA*) (245).



Slika 21. Djelovanje osteokalcina u akutnom stresu. Preuzeto i prilagođeno prema (250).

Osteokalcin potiče sekreciju testosterona u Leydigovim stanicama testisa, vežući se na receptor vezan s G-proteinom, GPRC6A (237). Visoke koncentracije serumskog osteokalcina i prevelika ekspresija GPRC6A su povezane s razvojem karcinoma prostate (251–253).

Za vrijeme vježbanja, u miševa i u ljudi, koncentracija osteokalcina se povećava (254). Osteokalcin *in vitro* povećava nakupljanje glukoze (255). Za vrijeme vježbanja povećava se i serumska koncentracija IL-6 iz skeletnih mišića miša (256). Moguće postoji veza između mišića i kosti, pa IL-6 iz mišića potiče sintezu glukoze i masnih kiselina, kao i sekreciju osteokalcina.



Slika 22. Djelovanje osteokalcina u endokrinoj petlji kost - mišić tijekom vježbanja. Preuzeto i prilagođeno prema (250).

### 1.2.7. Uloga hormona štitne žlijezde u metabolizmu kosti

Hormoni štitne žlijezde su potrebni za razvoj kostiju, za postizanje vršne koštane mase i održavanje homeostaze. Hipotireoza u djece usporava razvoj kostiju, dovodi do poremećaja enhondralne osifikacije i do epifizne disgeneze. U težim slučajevima dolazi do zaustavljanja rasta, te razvoja koštanih displazija (257). Hipertireoza u djece dovodi do ubranog rasta i koštanog razvoja, ali zbog preranog zatvaranja zona rasta dolazi do prestanka rasta, što rezultira nižim rastom. U težim ili neprepoznatim slučajevima, prerano zatvaranje kranijalnih sutura, dovodi do kraniosinostoza (108).

Hormoni štitne žlijezde kod odraslih sudjeluju u reguliranju homeostaze kosti. Struktura skeleta se definira rastom i razvojem, te postizanjem vršne koštane mase. Kvaliteta i čvrstoća kosti održavaju se koštanom pregradnjom. Kliničke studije su pokazale da je za normalnu koštanu pregradnju i mineralizaciju, te za održavanje koštane čvrstoće potreban uredan hormonski status štitne žlijezde (258–260). U hipotireozu je smanjena koštana pregradnja, produljena je faza koštane izgradnje, što rezultira povećanom mineralizacijom (261).



Hipertireoza zbog ubrzane koštane pregradnje i disproporcionalnog porasta resorpcije kosti, dovodi do gubitka približno 10 % koštane mase po ciklusu remodeliranja. Mineralna gustoća kosti se smanjuje, te se povećava rizik za frakturu (262). Za održavanje koštane mase i mikroarhitekture, neophodna je kontinuirana koštana pregradnja. U slučaju mikrooštećenja ili promjene mehaničkog opterećenja, osteociti izlučuju citokine i kemoatraktante. To dovodi do diferencijacije prekursora osteoklasta u zrele osteoklaste, koji resorbiraju kost. Potom se aktiviraju osteoblasti, koji sintetiziraju i mineraliziraju osteoid, koji zamjenjuje resorbiranu kost (263). Ekspresija receptora za hormone štitne žlijezde i TSH, ekspresija membranskih transportera i dejodinaza u koštanim stanicama, govore o važnosti hormona štitne žlijezde u koštanom metabolizmu. T3 preko TR $\alpha$ 1 regulira diferencijaciju i funkciju osteoblasta i međudjeluje s FGFR1 signalnim putem (264). Djelovanje T3 u *in vitro* studijama je variralo, a ovisilo je o stupnju diferencijacije, dozi i vremenu djelovanja, vrsti i anatomskom porijeklu. Generalni stav je da T3 stimulira proliferaciju i diferencijaciju osteoblasta, sintezu koštanog matriksa i mineralizaciju (44). T3 u zonama rasta stimulira diferencijaciju hipertrofičnih hondrocita i inhibira staničnu proliferaciju, te tako regulira enhondralnu osifikaciju i linearni rast (98). *In vitro* studija na hrskavičnoj zoni rasta lopatice fetusa svinje pokazala je da T3 stimulira ekspresiju gena uključenih u sintezu hrskavičnog matriksa, mineralizaciju i razgradnju (265). U *in vitro* studijama višak hormona štitnjače dovodi do porasta broja i aktivnosti osteoklasta, što dovodi do resorpcije kosti. Nije jasno je li djelovanje hormona štitne žlijezde na osteoklaste izravno ili neizravno, preko osteoblasta (266,267). Ekspresija TSHR u osteoblastima, osteoklastima i hondrocitima govori za izravno djelovanje TSH na hrskavicu i kosti (268). Podaci o djelovanju TSH na osteoblaste su kontradiktorni. Neke studije su pokazale da TSH stimulira diferencijaciju i funkciju osteoblasta (269,270). *In vitro*, TSH inhibira diferencijaciju osteoblasta, smanjuje ekspresiju kolagena tip I, sijaloproteina i osteokalcina (268). *In vitro* studije su pokazale da TSH inhibira osteoklastogenezu, neizravnim djelovanjem, preko TNF $\alpha$  (271). Iako se izravan učinak TSH na kosti ne može isključiti, provedene studije govore u prilog da je učinak na kosti primarno učinak hormona štitne žlijezde. Relativne učinke hormona štitne žlijezde i TSH nije lako razlučiti zbog odnosa TSH i hormona štitne žlijezde, koji je reguliran negativnom povratnom spregom osi hipotalamus - hipofiza - štitna žlijezda. Rezultati istraživanja pokazuju da hormoni štitne žlijezde imaju anaboličko djelovanje na rast tijekom razvoja, ali potiču gubitak kosti u odraslih (263). MCT8 je izražen u hondrocitima, osteoblastima i osteoklastima (100), a MCT10 je glavni membranski transporter u zonama rasta (101). Studija o djelovanju dejodinaza u kostima, govori da D1 nije bila izražena ni u jednoj koštanoj stanici. D2 je

izražena u osteoblastima, a aktivnost joj je smanjena u zrelim diferenciranim osteoblastima. D3 je bila izražena u zonama rasta hondrocita, osteoblastima i osteoklastima. Najveća razina aktivnosti D2 bila je u zonama rasta hondrocita, ali joj se aktivnost smanjivala s dobi životinja (102).

## **2. HIPOTEZE**

### **2.1. Hipoteze prve studije**

U prvoj studiji postavili smo hipotezu da ćemo pronaći skupine namirnica koje su pozitivno ili negativno povezane s razinama TSH, fT4 i fT3 koje ćemo moći protumačiti temeljem njihovog biokemijskog i fiziološkog djelovanja. S obzirom na dosadašnja saznanja, hrana visokog glikemijskog indeksa će pokazati pozitivnu povezanost s razinama fT3 i fT4, a negativnu s razinama TSH. Isto tako će hrana s visokim udjelom proteina pokazati negativnu povezanost s razinama fT3 i fT4, a pozitivnu s razinama TSH.

### **2.2. Hipoteze druge studije**

U drugoj studiji postavili smo hipotezu da ćemo pronaći pozitivnu korelaciju između plazma razine hormona štitne žlijezde i osteokalcina. Potvrdit ćemo medijacijski učinak osteokalcina na povezanost između TSH i hormona štitne žlijezde s BMD, kao i suzbijajući učinak hormona štitne žlijezde na potencijalnu povezanost između BMI i razine osteokalcina u plazmi. Također ćemo pronaći razlike između skupine eutiroidnih ispitanika i onih koji imaju subkliničku ili kliničku hipotireozu u smislu niže razine osteokalcina i nižih vrijednosti BMD kod subkliničke ili kliničke hipotireoze.

### **3. CILJEVI ISTRAŽIVANJA**

#### **3.1. Ciljevi prve studije**

Glavni cilj: pronaći skupine namirnica koje pozitivno ili negativno utječu na razinu TSH, fT3 i fT4 u eutiroidnih ispitanika, te objasniti njihovo moguće djelovanje.

Sporedni cilj: utvrditi postoji li razlika u razini analiziranih hormona kod muškaraca i žena, te utječu li dob, BMI, pušenje ili vrijednosti glukoze natašte na razine analiziranih hormona.

#### **3.2. Ciljevi druge studije**

Glavni cilj: provjeriti korelaciju razine TSH i hormona štitne žlijezde s razinom osteokalcina u krvi kod eutiroidnih ispitanika, te odrediti razliku između skupine eutiroidnih ispitanika i onih koji imaju subkliničku i kliničku hipotireozu (najčešćih funkcionalnih poremećaja štitne žlijezde).

Sporedni cilj: pokazati postoji li medijacijski učinak osteokalcina na povezanost između TSH i hormona štitne žlijezde s BMD, te suzbijajući učinak hormona štitne žlijezde na povezanost između BMI i razine osteokalcina u plazmi.

## 4. MATERIJALI I METODE

### 4.1. Ispitanici

Uzorak čine odrasli ispitanici u dobi od 18 godina i stariji koji su regrutirani kroz projekt „10 001 Dalmatinac - Hrvatska biobanka“. Projekt se provodi od 1999. godine, a cilj je bio stvaranje reprezentativnog uzorka hrvatske populacije od nekoliko tisuća pojedinaca u svrhu istraživanja genetičkih i okolišnih odrednica zdravlja i bolesti u populaciji. Od svakog ispitanika prikupljeni su i pohranjeni biološki uzorci (krv, serum, plazma, urin), preko 250 fenotipskih obilježja koji su dobiveni standardiziranim i međunarodno priznatim anketnim upitnicima (koji su sadržavali informacije o načinu života, navikama, izloženosti zdravstvenim rizicima, o zdravstvenim stavovima) kao i mjerenjem različitih fizioloških i biokemijskih parametara. Svakom ispitaniku napravljena je i analiza cijelog genoma potrebna za niz provedenih genetičkih studija do sada (272).

Ispitanici uključeni u prvo istraživanje potječu iz tri hrvatske kohorte: grad Split (CROATIA\_Split), otok Korčula (CROATIA\_Korčula) i otok Vis (CROATIA\_Vis). Inicijalno je uključeno 4848 odraslih ispitanika iz Dalmacije, južna Hrvatska (1012 iz Splita, 2811 s otoka Korčule, 1025 s otoka Visa). Isključena su 263 ispitanika koja su izjavila da imaju bilo koji oblik disfunkcije štitne žlijezde, uzimaju lijekove za rad štitne žlijezde ili su imali operaciju štitne žlijezde, čime je za analizu ostalo dostupno 4585 ispitanika. Među njima 368 je imalo vrijednosti fT3 izvan referentnog intervala (fT3: 3,3 – 6,47 pmol/L), 461 ih je imalo fT4 izvan referentnog intervala (fT4: 10,29 – 21,88 pmol/L), dok ih je 719 imalo vrijednosti TSH izvan referentnog intervala (TSH: 0,3 – 3,6 mIU/L). Ovi ispitanici isključeni su iz pojedinačnih analiza za fT3, fT4 i TSH. Uz pretpostavljenu razinu značajnosti od 0,05, post-hoc analizom snage studije, opaženi koeficijent determinacije  $R^2$  od 0,02 za fT3, 0,05 za fT4 te 0,03 za TSH, te broj prediktorskih varijabli od 19 za analizu fT3 te 20 za analize fT4 i TSH, izračunata snaga studije bila je preko 99% za pojedinačne analize fT3, fT4 i TSH.

U drugoj studiji inicijalno je uključeno 969 ispitanika s otoka Korčule (CROATIA\_Korčula) za koje imamo izmjerene vrijednosti svih hormona i antitijela štitne žlijezde, osteokalcina, PTH, kalcija i kalcitonina. U selekciji zdravih ispitanika isključeno je 339 ispitanika koji su izjavili da imaju bilo koji oblik disfunkcije štitne žlijezde, uzimaju lijekove za rad štitne žlijezde ili su imali operaciju iste, one kojima vrijednosti TSH i hormona štitne žlijezde nisu unutar referentnih vrijednosti ili imaju pozitivna antitijela (TgAt >100 IU/mL, TPOAt > 16 IU/mL). Dodatno su isključeni oni koji boluju od neke maligne bolesti, anemije, jetrene ili

bubrežne disfunkcije ili uzimaju supstitucijsku terapiju spolnih hormona ili druge lijekove koji utječu na metabolizam kostiju. Također su isključeni oni koji imaju vrijednosti PTH, kalcija i kalcitonina izvan referentnog intervala (PTH: 12,26-35,5 pg/ml; Ca: 2,14-2,53 mmol/L; kalcitonin: < 20 ng/ml). U konačnici, analizirano je 330 eutirodnih zdravih ispitanika. Subklinička hipotireoza definirana je kao TSH iznad i fT4 u referentnom rasponu, dok je klinička hipotireoza definirana kao TSH iznad i fT4 ispod referentnog raspona. Nasuprot tome, subklinička hipertireoza definirana je kao TSH ispod i fT4 u referentnom rasponu, dok je klinička hipertireoza definirana kao TSH ispod i fT4 iznad referentnog raspona. Razliku među grupama analizirali smo između eutiroidnih ispitanika (n = 630), ispitanika u subkliničkoj (n = 67) i kliničkoj hipotireozu (n = 16), te onih u subkliničkoj (n = 9) i kliničkoj (n = 3) hipertireozu. Ispitanici koji su bili u eutireozu, ali su imali povišene vrijednosti antitijela (n = 121) isključeni su iz analize jer ne možemo predvidjeti u kojem smjeru će se bolest razvijati. Za ovo istraživanje provedena je a-priori analiza potrebne veličine uzorka za višestruku linearnu regresiju. Uz pretpostavljenu razinu značajnosti od 0,05, očekivanu veličinu učinka od 0.05 (Cohenov f<sup>2</sup>), 7 prediktorskih varijabli i snagu studije od 80%, izračunata minimalna veličina uzorka je 293, što je ispunjeno našim uzorkom od 330 ispitanika.

Svi ispitanici su prilikom uključanja u projekt potpisali informirani pristanak. Za provođenje ovih istraživanja dobiveno je odobrenje Etičkog povjerenstva medicinskog fakulteta u Splitu Klasa:003-08/19-03/0003, uredski broj: 2181-198-03-04-19-0022. Dobivena je i suglasnost Etičkog povjerenstva KBC Split: Klasa: 500-03/ 19-01 /26, uredski broj: 2 181 - 147- 01 /06/M. S.- 19-2.

## **4.2. Postupci**

### **4.2.1. Biokemijska mjerenja**

Uzorci krvi uzimani su natašte između 07:00 h i 09:00 h, a plazma je pohranjena na -80°C do trenutka određivanja hormona i antitijela. Vrijednosti fT3, fT4, TSH, TgAt i TPOAt određeni su imunoesej metodom na potpuno automatiziranom instrumentu Biomedica Liaison Chemiluminescence Analyzer (DiaSorin, Saluggia, Italy) u Biokemijskom laboratoriju Kliničkog zavoda za nuklearnu medicinu, KBC Split. Referentne vrijednosti su: za fT3: 3,39 - 6,47 pmol/L, za fT4: 10,29 - 21,88 pmol/L, za TSH: 0,3 - 3,6 mIU/L, za TgAt < 100 IU/mL i za TPOAt < 16 IU/mL.

Vrijednosti PTH, kalcitonina i osteokalcina određene su radioimunoesej metodom (RIA). RIA je ručna metoda koja se očitava na Scintilacijskom brojaču za tekuće uzorke (Scintillation counter liquid samples, Capintec), a J-125 služi kao marker. Referentne vrijednosti su: za PTH: 12,26 - 35,5 pg/ml, za kalcitonin: < 20 ng/ml i za osteokalcin: 5 - 25 ng/ml. Ova mjerenja provedena su u Biokemijskom laboratoriju Kliničkog zavoda za nuklearnu medicinu, KBC Split.

Vrijednosti kalcija određene su fotometrijskom metodom (o-cresolphthalein fotometry OSR 6113) u biokemijskom laboratoriju "Labor Centar" u Zagrebu. Ovaj Calcium oCPC postupak temelji se na ionima kalcija (Ca<sup>2+</sup>) koji reagiraju s o-krezolftalein kompleksom u alkalnoj otopini kako bi se formirao intenzivan ljubičasto obojeni kompleks. Mjeri se apsorbancija Ca-oCPC kompleksa bikromatski na 570/660 nm. Rezultirajuće povećanje apsorpcije reakcijske smjese izravno je proporcionalno koncentraciji kalcija u uzorku. Referentna vrijednost za Ca: 2,14 - 2,53 mmol/L.

#### 4.2.2. Procjena unosa hrane

Potrošnja pojedinih namirnica procijenjena je prema statistički validiranom upitniku koji je sadržavao 58 pitanja o učestalosti konzumacije pojedinih namirnica i pića koji su popunjavali ispitanici (upitnik u prilogu disertacije).

U svrhu statističke provjere validnosti upitnika provedena je eksploratorna faktorska analiza na zajedničke faktore (ortogonalna rotacija Varimax) i analiza pouzdanosti na cijelom uzorku. U svrhu utvrđivanja prikladnosti podataka za primjenu faktorske analize ispitani su potrebni uvjeti. Varijable koje se analiziraju faktorskom analizom moraju biti kvantitativne, što je u našem istraživanju ispunjeno, imajući na umu činjenicu da je riječ o numeričkim varijablama. Za ispitivanje prikladnosti podataka primjenjena je Kaiser-Meyer-Olkinova mjera za sve varijable zajedno te Bartlett's test. Budući da Kaiser-Meyer-Olkinova mjera u našem slučaju iznosi 0,78, možemo konstatirati da su podaci korištenih varijabli prikladni za provođenje faktorske analize. P-vrijednost Bartlett's testa je < 0,001, što znači da postoji značajna korelacija između originalnih varijabli. Faktorska analiza pokazala je osamnaest-faktorsko rješenje. Postotak objašnjene varijance osamnaest-faktorskim rješenjem bio je 53,1%. Pouzdanost upitnika bila je zadovoljavajuća, Cronbach's alpha iznosila je 0,67. Dio upitnika također je validiran koristeći dodatni referentni test u prethodnoj studiji (273).

Prehrambeni proizvodi grupirani su u 15 kategorija: mast, mliječni proizvodi, meso, unutarnji organi, derivati mesa, divljač, perad, riba i riblji derivati, jaja, povrće, voće, žitarice, slatkiši,

juhe u prahu i pića. Za svaku namirnicu u upitniku od sudionika se tražilo da odabere učestalost unosa: 1 = svaki dan, 2 = 2 ili 3 puta tjedno, 3 = jednom tjedno, 4 = rijetko ili 5 = nikad; s izuzetkom unosa masti, za koji su postojala tri moguća odgovora: 1 = uvijek, 2 = ponekad i 3 = nikad. Za analizu, vrijednosti frekvencije konzumacije su pretvorene u ekvivalentne tjedne unose na sljedeći način: svaki dan (pretvoreno u 7 puta tjedno), 2 do 3 puta tjedno (2,5 puta tjedno), jednom tjedno (1 put/tjedan), rijetko (0,5/tjedan; jednom u 2 tjedna) i nikada (0 puta/tjedan). Frekvencija potrošnje masti također je pretvorena u kvantitativni tjedni unos, kako slijedi: uvijek (7 puta tjedno), ponekad (2,5 puta tjedno) i nikada (0 puta tjedno).

#### 4.2.3. Fenotipska obilježja

Koristeći BMI procjenjuje se debljina i pretilost pojedinca. Iako nije idealan pokazatelj pretilosti, najbliže je povezan s količinom prekomjernog masnog tkiva u ljudskom tijelu, a izračunava se na osnovu odnosa tjelesne težine i kvadrata visine osobe. Pretilost dodatno ovisi i o udjelu koštane i mišićne mase. Vrijednosti preporučenog BMI-a, prema klasifikaciji Svjetske zdravstvene organizacije za europsko stanovništvo, su iste za muškarce i žene i iznose od 18,5 - 24,9 kg/m<sup>2</sup>.

BMD određena je DXA metodom pomoću petnog denzitometra. Denzitometrija koristi X-zrake dviju energija u vrlo maloj dozi koje se propuštaju kroz kost, nakon prolaska senzori mjere X-zrake koje su prošle kroz kost. Procjena mineralne gustoće kosti određuje se temeljem razlike energije propuštenih i apsorbiranih X-zraka, a izražava u apsolutnim vrijednostima u g/cm<sup>2</sup>.

### 4.3. Statistički postupci

#### 4.3.1. Prva studija

Kako bismo identificirali temeljne obrasce konzumacije hrane - tj. namirnice koje su konzumirane jednako frekventno, napravili smo faktorsku analizu. Adekvatnost testiranih stavki kao i veličina uzorka procijenjeni su Kaiser-Meyer-Olkin indeksom i Bartlettovim  $\chi^2$  testom. Rezultati za učestalost konzumacije 58 stavki (namirnica) iz upitnika reducirane su na ključne prehrambene skupine (faktore) na način da su namirnice unutar pojedine prehrambene skupine konzumirane jednako često. Kako bi se dobile prehrambene skupine koje su neovisne



i ne koreliraju jedna s drugom, korištena je faktorska analiza s ortogonalnom (*varimax*) rotacijom. U definiranju broja prehrambenih skupina (faktora) uzete su u obzir svojstvene vrijednosti veće od 1, vizualna provjera Cattellovog dijagrama (engl. *scree plot*) kao i interpretativnost rezultata. Namirnice s faktorom opterećenja (engl. *loading factor*)  $\geq 0,4$  uključene su u pojedine prehrambene skupine. Faktor opterećenja ukazuje na to koliko namirnica korelira s prehrambenom skupinom (faktorom). Svaka prehrambena skupina sastavljena je od namirnica među kojima neke mogu imati snažniji utjecaj na prehrambenu skupinu. Faktor opterećenja ukazuje na ovaj utjecaj korelacijskim koeficijentom koji može biti od -1 do 1. Konačno se regresijskom metodom određuje faktor specifični rezultat koji se dodjeljuje svakom sudioniku.

#### *Povezanost prehrane i razine hormona*

Testirali smo povezanost između razina fT3, fT4 i TSH i nekoliko potencijalnih čimbenika koji mogu imati utjecaj na njih: dob, spol, indeks tjelesne mase, razina glukoze natašte i pušenje. Pearsonov koeficijent korelacije izračunat je za numeričke varijable, dok su t-test i analiza varijance korišteni za procjenu razlika u razinama hormona između grupa. Provedena je višestruka linearna regresijska analiza kako bismo procijenili povezanost prehrambenih čimbenika s razinom hormona u plazmi, gdje su prehrambene skupine bile nezavisne varijable, a razina hormona zavisna varijabla. Za modele linearne regresije napravljena je kontrola na potencijalne zbunjujuće čimbenike. Regresijske pretpostavke: linearnost podataka, normalnost reziduala i homoskedastičnost provjereni su pomoću dijagnostičkih grafova. P-vrijednost  $< 0,05$  smatrana je statistički značajnom. Statističke analize su provedene pomoću programa SPSS, verzija 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, SAD) i R (R Zaklada za statističko računarstvo, Beč, Austrija).

#### 4.3.2. Druga studija

U drugom istraživanju korištena je korelacijska analiza, točnije izračunat je Pearsonov koeficijent korelacije, kako bismo utvrdili korelaciju između razine TSH i hormona štitne žlijezde s razinom osteokalcina, BMI i BMD nakon korekcije za dob i spol. Analizom varijance (ANOVA) utvrđene su razlike između skupine zdravih eutiroidnih ispitanika, skupina ispitanika u subkliničkoj i kliničkoj hipotireozu kao i ispitanika u subkliničkoj i kliničkoj hipertireozu. Na temelju modela linearne regresije procijenjen je mogući suzbijajući učinak hormona štitne žlijezde na povezanost između BMI i razine osteokalcina u plazmi. Na sličan način, na temelju modela linearne regresije procijenjen je mogući medijacijski učinak

osteokalcina na povezanost između TSH i hormona štitne žlijezde na BMD. Primijenjena je višestruka linearna regresija, kako bismo istražili simultani utjecaj dobi, spola, razine TSH i hormona štitne žlijezde, BMI i BMD na razinu osteokalcina.

Statističke analize provedene su pomoću programa SPSS, verzija 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, SAD), a p-vrijednost  $< 0,05$  smatrana je statistički značajnom.

## 5. REZULTATI

### 5.1. Prva studija

#### 5.1.1. Karakteristike ispitanika uključenih u studiju

Tablica 1. pokazuje opće karakteristike 4585 ispitanika uključenih u ovu studiju. Podaci su prikazani kao srednja vrijednost  $\pm$  SD za kontinuirane varijable i kao frekvencija (postotak) za kategoričke varijable.

Tablica 1. Karakteristike ispitanika uključenih u studiju

Varijabla	Srednja vrijednost $\pm$ SD ili n (%)	P za fT3 (n=4217)	P za fT4 (n=4124)	P za TSH (n=3866)
Spol		0,036*	0,003*	0,004*
Muško	1828 (39.9%)			
Žensko	2755 (60.1%)			
Starost (godine)	53,5 $\pm$ 15.67	0,217†	0,273†	0,279†
BMI, kg/m <sup>2</sup>	27,48 $\pm$ 6.21	0,295†	0,551†	0,944†
Pušenje cigareta		0,199‡	0,724‡	0,001‡
Pušači	1249 (27.2%)			
Nepušači	2318 (50.6%)			
Bivši pušači	965 (21%)			
Razina glukoze natašte (mmol/l)	5,65 $\pm$ 1.53	0,531†	0,006†	0,304†

BMI=indeks tjelesne mase; fT3= slobodni trijodtironin; fT4=slobodni tiroksin; TSH=stimulirajući hormon štitnjače

\*t-test

† Pearsonov koeficijent korelacije

‡ Analiza varijance

Razine svih hormona značajno su se razlikovale između muškaraca i žena. Žene su pokazale značajno veći TSH i niže razine fT3 i fT4 od muškaraca. Razine glukoze natašte bile su značajno pozitivno povezane s razinom fT4. Pušači su pokazali značajno niže razine TSH od nepušača i bivših pušača.

#### 5.1.2. Faktorska analiza potrošnje hrane

Prikladnost podataka za faktorsku analizu potvrđena je Kaiser Meyer Olkinovom mjerom adekvatnosti uzorkovanja (0,78) i Bartlettovim testom sferičnosti ( $p < 0,001$ ). Faktorskom

analizom dobiveno je 18 prehrambenih skupina (faktora), koji objašnjavaju 53,1% ukupne varijance u frekvenciji unosa hrane. Maslinovo ulje, pavlaka, teletina, salama, krumpir, voćni kompoti, džem, žele, puding, žestoka pića, mesne konzerve i svježe voće uklonjeni su iz kreiranih skupina, zbog toga što nisu dovoljno opteretili niti jednu od njih da bi bili identificirani kao pripadnici te skupine. Identificirane skupine s odgovarajućim pripadajućim namirnicama kao i njihovi faktori opterećenja prikazani su u Tablici 2. Skupine su bile u skladu s konvencionalnim prehrambenim skupinama.

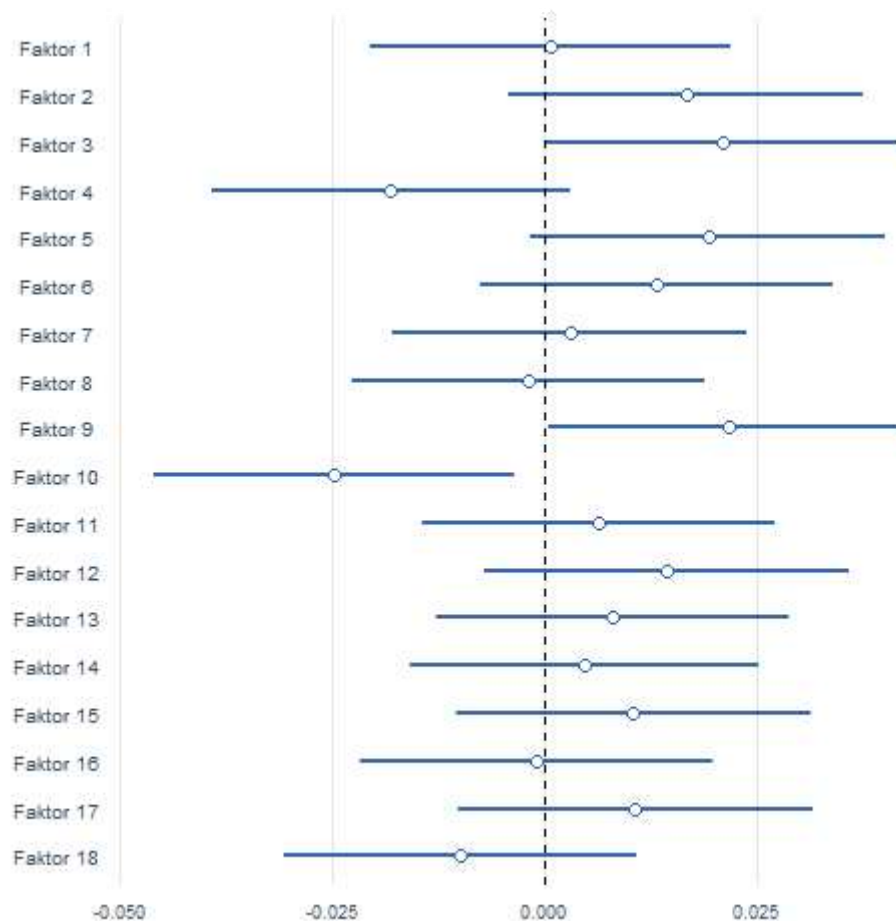
Tablica 2. Popis namirnica i njihova faktorska opterećenja za 18 identificiranih prehrambenih skupina (faktora)

Prehrambena skupina (faktor)	Namirnice (faktor opterećenja)
1	Korjenasto povrće (0,77), Lisnato povrće (0,71), Cvjetno povrće (0,7), Plodno povrće (0,66), Mahunarke (0,55)
2	Čokolada (0,76), Keksi (0,76), Kolači (0,66), Bomboni (0,59)
3	Lignje i hobotnice (0,74), Plava riba (0,72), Plodovi mora (0,65), Bijela riba(0,59), Sušena riba i sardine (0,52)
4	Svinjetina (0,59), Jaja (0,58), Govedina (0,54)
5	Bijeli kruh (0,78), Kruh od cjelovitog zrna (-0,86)
6	Bezalkoholna pića (0,69), Voćni sokovi (0,64), Cedevita i praškasti vitaminski sokovi (0,63)
7	Sušeno voće (0,69), Orašasti plodovi (0,58), Žitne pahuljice muesli (0,58)
8	Punomasni sir (0,73), Svježi sir (0,67), Tvrđi sir (0,54)
9	Slanina (0,59), Kobasice (0,59)
10	Gljive (0,57), Konzervirano kiselo povrće (0,54)
11	Janjetina (0,72), Iznutrice (0,61)
12	Mlijeko (0,64), Jogurt (0,66)
13	Divljač (0,77), Riblje prerađevine (0,57)
14	Maslo (0,78), Životinjska mast (0,7)
15	Tjestenina i riža (0,58)
16	Piletina (0,72), Puretina (0,64)
17	Juhe u prahu (0,63), Sokovi od povrća (0,59)
18	Biljno ulje (0,79)

### 5.1.3. Povezanost hormona štitne žlijezde i prehrane

#### *Slobodni trijodtironin (fT3)*

Od 4585 sudionika, 368 je imalo vrijednosti fT3 izvan referentnog raspona. Nakon što su ti sudionici isključeni, konačni broj ispitanika uključenih u analize za fT3 iznosio je 4217. Vrijednosti fT3 bile su približno normalno distribuirane. Budući da je spol bio značajno povezan s vrijednostima fT3 ( $p = 0,036$ ), u modelu višestruke linearne regresije koji se koristi za procjenu povezanosti prehrambenih čimbenika s razinama fT3 u plazmi, korišten je kao kontrolna varijabla. Linearna regresijska analiza je pokazala da je prehrambena skupina s visokim opterećenjem za slaninu i kobasice (prehrambena skupina 9) bila pozitivno povezana s plazma razinama fT3 ( $\beta = 0,02$ ,  $SE = 0,01$ ,  $p = 0,044$ ). Prehrambena skupina s visokim opterećenjem za gljive te konzervirano i kiselo povrće (prehrambena skupina 10) bila je negativno povezana s plazma razinom fT3 ( $\beta = - 0,03$ ,  $SE = 0,01$ ,  $p = 0,023$ ). Druge prehrambene skupine nisu pokazale povezanost s razinama fT3 u plazmi. Rezultati analize linearne regresije prikazani su na Slici 23.

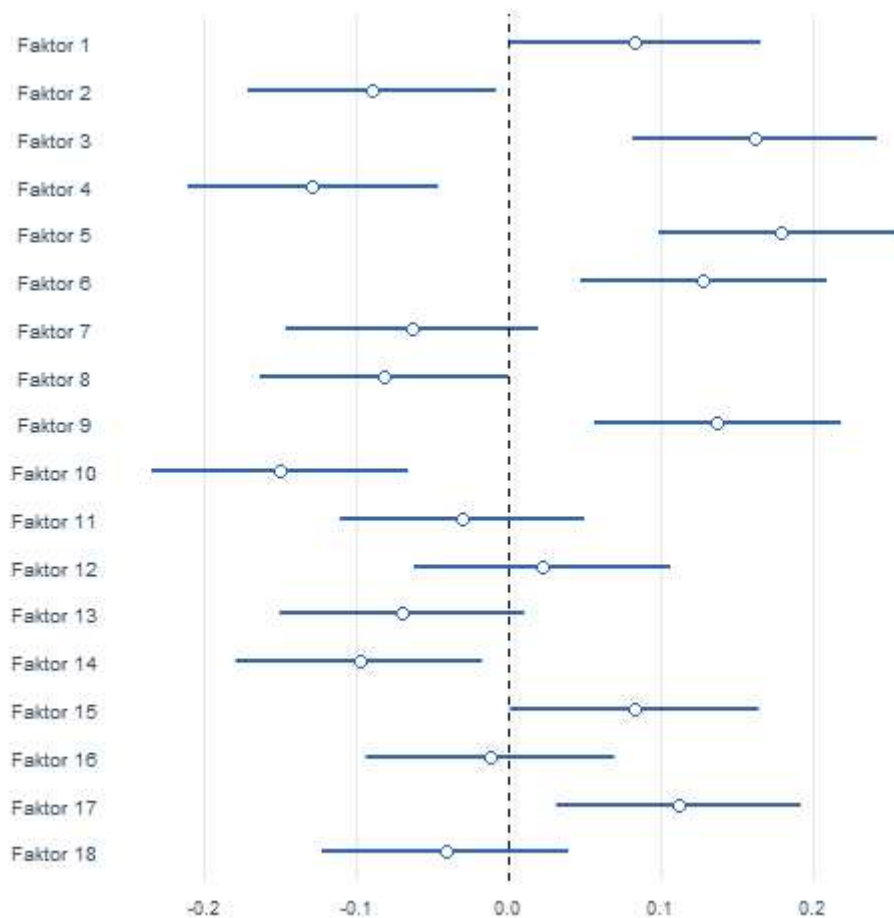


Slika 23. Učinak i 95%-tni interval pouzdanosti dobiveni iz analize linearne regresije za povezanost prehrambenih skupina (faktora) s razinama slobodnog trijodtironina (fT3). Statistički značajne prehrambene skupine su linije koje ne sijeku okomitu liniju u 0. Ako je donja granica intervala pouzdanosti iznad 0, prehrambena skupina je pozitivno povezana sa slobodnim trijodtironinom. Ako je gornja granica intervala pouzdanosti ispod 0, povezanost je negativna.

#### *Slobodni tiroksin (fT4)*

Od 4585 sudionika, 461 je imao vrijednosti fT4 izvan referentnog raspona. Nakon što su ti sudionici isključeni, konačni broj ispitanika uključenih u analize za fT4 iznosio je 4124. Vrijednosti fT4 bile su približno normalno distribuirane. Budući da su vrijednosti fT4 bile značajno povezane sa spolom ( $p = 0,003$ ) i s razinom glukoze natašte ( $p = 0,006$ ), ove su varijable korištene kao kontrolne varijable u modelu višestruke linearne regresije koji se koristi za procjenu povezanosti prehrambene skupine s razinama fT4 u plazmi. Analiza linearne regresije pokazala je negativnu povezanost između fT4 i prehrambene skupine s visokim opterećenjem za svinjetinu, govedinu i jaja (prehrambena skupina 4;  $\beta = - 1,22$ ,

SE = 0,04, p = 0,004), skupine s visokim opterećenjem za gljive te konzervirano i kiselo povrće (prehrambena skupina 10;  $\beta = -0,15$ , SE = 0,04, p = 0,001), te skupine s visokim opterećenjem za maslac i životinjske masti (prehrambena skupina 14;  $\beta = -0,091$ , SE = 0,04, p = 0,027). Pozitivno povezana s razinama fT4 bila je skupina s visokim opterećenjem za bijelu ribu, plavu ribu, plodove mora, lignje, hobotnicu i sušenu ribu (prehrambena skupina 3;  $\beta = 0,162$ , SE = 0,04, p < 0,0001), skupina s visokim pozitivnim opterećenjem za bijeli kruh i visokim negativnim opterećenjem za kruh od cjelovitog zrna (prehrambena skupina 5;  $\beta = 0,191$ , SE = 0,04, p < 0,0001), skupina s visokim opterećenjem za voćne sokove, Cedevita i praškaste vitaminske sokove kao i bezalkoholna pića (prehrambena skupina 6;  $\beta = 0,14$ , SE = 0,04, p = 0,001), skupina s visokim opterećenjem za slaninu i kobasice (prehrambena skupina 9;  $\beta = 0,137$ , SE = 0,04, p = 0,001), i skupina s visokim opterećenjem za juhe u prahu i sokove od povrća (prehrambena skupina 17;  $\beta = 0,115$ , SE = 0,04, p = 0,006). Druge prehrambene skupine nisu pokazale povezanost s razinama fT4. Rezultati analize linearne regresije prikazani su na Slici 24.



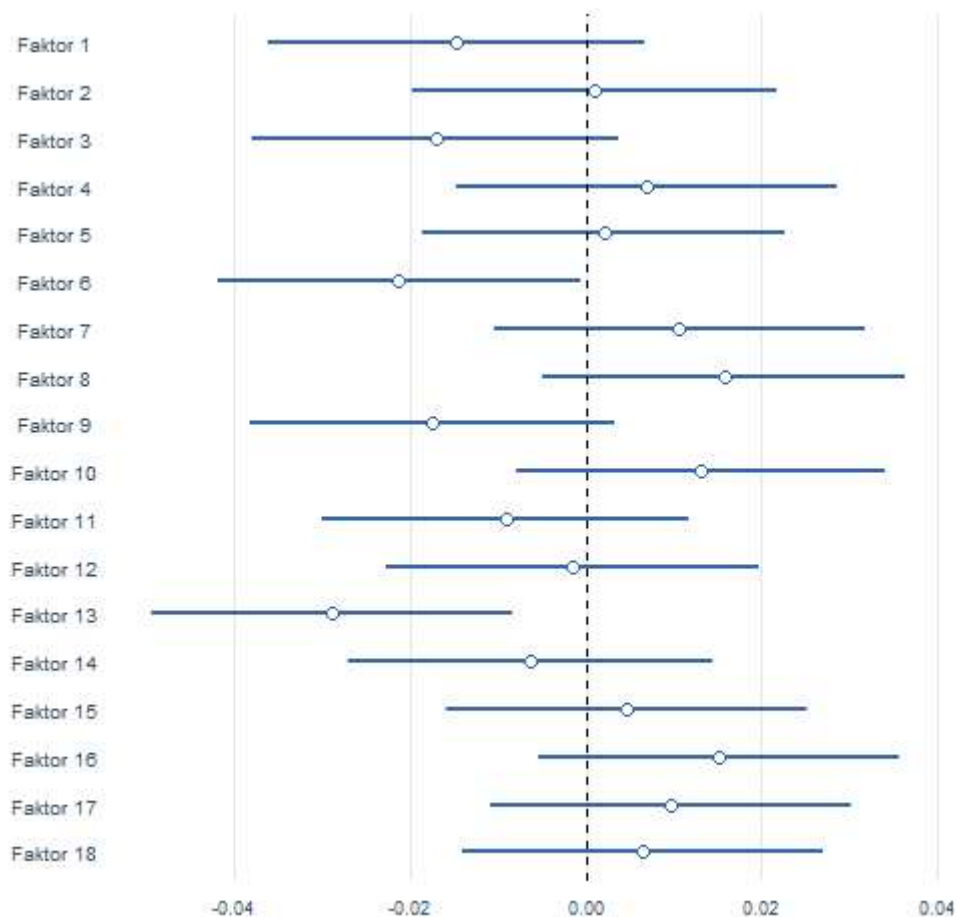
Slika 24. Učinak i 95%-tni interval pouzdanosti dobiveni iz analize linearne regresije za povezanost prehrambenih skupina (faktora) s razinama slobodnog tiroksina (fT4).

Statistički značajne prehrambene skupine su linije koje ne sijeku okomitu liniju u 0. Ako je donja granica intervala pouzdanosti iznad 0, prehrambena skupina je pozitivno povezana sa slobodnim tiroksinom. Ako je gornja granica intervala pouzdanosti ispod 0, povezanost je negativna.

#### *Stimulirajući hormon štitnjače (TSH)*

Od 4585 sudionika, 719 je imalo vrijednosti TSH izvan referentnog raspona. Nakon što su ti sudionici isključeni, konačni broj ispitanika uključenih u analize bio je 3866. Budući da su vrijednosti TSH pratile log-normalnu distribuciju, napravljena je log-transformacija prije provođenja analiza. Vrijednosti TSH pokazale su značajnu povezanost sa spolom ( $p = 0,004$ ) i pušenjem ( $p = 0,001$ ), te su te varijable korištene kao kontrolne varijable u višestrukom linearnom regresijskom modelu korištenom za procjenu povezanosti prehrambenih čimbenika s razinom TSH u plazmi. Linearna regresijska analiza pokazala je da je prehrambena skupina s visokim udjelom voćnih sokova, Cedevite i praškastih vitaminskih sokova kao i bezalkoholnih pića (prehrambena skupina 6) bila negativno povezana s razinom TSH u plazmi ( $\beta = - 0,021$ ,  $SE = 0,01$ ,  $p = 0,043$ ). Prehrambena skupina s visokim opterećenjem za divljač i riblje prerađevine (prehrambena skupina 13), bila je također negativno povezana s razinom TSH u plazmi ( $\beta = - 0,03$ ,  $SE = 0,01$ ,  $p = 0,006$ ). Ostale prehrambene skupine nisu pokazale povezanost s razinama TSH. Rezultati analize linearne regresije prikazani su na Slici 25.





Slika 25. Učinak i 95%-tni interval pouzdanosti dobiveni iz analize linearne regresije za povezanost prehrambenih skupina (faktora) s razinama stimulirajućeg hormona štitnjače (TSH). Statistički značajne prehrambene skupine su linije koje ne sijeku okomitu liniju u 0. Ako je donja granica intervala pouzdanosti iznad 0, prehrambena skupina je pozitivno povezana sa stimulirajućim hormonom štitnjače. Ako je gornja granica intervala pouzdanosti ispod 0, povezanost je negativna.

## 5.2. Druga studija

### 5.2.1. Karakteristike ispitanika uključenih u studiju

U studiju je inicijalno bilo uključeno 969 ispitanika. Među njima 630 ispitanika je bilo u eutireozi i nije imalo povišena antitijela, 121 ispitanik je bio u eutireozi s povišenim vrijednostima antitijela, 67 ispitanika je bilo u subkliničkoj hipotireozi, 16 ispitanika je bilo u kliničkoj hipotireozi, 9 ih je bilo u subkliničkoj hipertireozi, a samo 3 ispitanika su bila u kliničkoj hipertireozi. Ukupno je 725 ispitanika uključeno u analiziranje razlika

među grupama (ispitanici u eutireozi, subkliničkoj hipotireozi i kliničkoj hipotireozi). TSH i fT4 su imali pozitivno asimetričnu distribuciju, dok je fT3 bio približno normalno distribuiran. Vrijednosti osteokalcina također su pratile pozitivno asimetričnu distribuciju. Na vrijednostima TSH, fT4 i osteokalcina napravljena je log-transformacija, no ona nije dala bitno različite rezultate analiza u odnosu na originalne varijable pa rezultate analiza navodimo za originalne vrijednosti tih varijabli.

Među ispitanicima 568 ih je imalo vrijednosti PTH unutar referentnog intervala, 842 ispitanika imala su vrijednosti kalcija unutar referentnog intervala, a 27 ih je imalo kalcitonin iznad gornje granice referentne vrijednosti. Dodatno je isključeno 24 ispitanika koji su bolovali od neke maligne bolesti, anemije, jetrene ili bubrežne disfunkcije ili su uzimali supstitucijsku terapiju spolnih hormona ili druge lijekove koji utječu na metabolizam kostiju. Konačno smo izdvojili 330 ispitanika koji su predstavljali zdravu skupinu sa svim dodatnim parametrima unutar referentnih vrijednosti.

### 5.2.2. Razlike fenotipskih karakteristika između ispitanika u eutireozi u odnosu na one koji pripadaju skupinama subkliničke i kliničke hipotireoze te subkliničke i kliničke hipertireoze

Razlike između fenotipskih karakteristika (dob, spol, TSH, fT3, fT4, osteokalcin, BMI, BMD, kalcitonin i kalcij) ispitanika u eutireozi u odnosu na one koji pripadaju skupini subkliničke i kliničke hipotireoze, te onih koji pripadaju skupini subkliničke i kliničke hipertireoze određene su analizom varijance (ANOVA). Ispitanici u subkliničkoj hipertireozi imali su više vrijednosti osteokalcina u odnosu na ispitanike u eutireozi ( $p = 0,031$ ) i ispitanike u subkliničkoj hipotireozi ( $p = 0,012$ ). Ispitanici u subkliničkoj hipotireozi imali su niže vrijednosti PTH u odnosu na one u eutireozi ( $p = 0,021$ ), dok su ispitanici u subkliničkoj hipertireozi imali više vrijednosti PTH u odnosu na one u eutireozi ( $p = 0,036$ ), subkliničkoj hipotireozi ( $p = 0,038$ ) i kliničkoj hipotireozi ( $p = 0,001$ ). Ispitanici u subkliničkoj hipotireozi su imali značajno veće vrijednosti TSH u odnosu na ispitanike u eutireozi ( $p < 0,001$ ), a ispitanici u kliničkoj hipotireozi su imali niže vrijednosti fT3 i fT4 u odnosu na skupinu ispitanika u eutireozi (fT3:  $p < 0,001$ ; fT4:  $p < 0,001$ ) i skupinu ispitanika u subkliničkoj hipotireozi (fT3:  $p < 0,001$ ; fT4:  $p < 0,001$ ). Dodatno je u skupini subkliničke hipotireoze zabilježena niža vrijednost fT4 u odnosu na eutireozu ( $p < 0,001$ ). Subklinička hipertireoza pokazala je više vrijednosti fT3 i fT4 prema kliničkoj hipotireozi (fT3:  $p < 0,001$ ; fT4:  $p < 0,001$ ), dok je klinička hipertireoza pokazala

značajno više vrijednosti fT3 i fT4 u odnosu na sve ostale skupine (p-vrijednosti za sve skupine bile su  $< 0,001$ ) (Tablica 3).

Tablica 3. Karakteristike populacije i razlike u dobi, spolu, vrijednostima stimulirajućeg hormona štitnjače (TSH), slobodnog trijodtironina (fT3), slobodnog tiroksina (fT4), osteokalcina, indeksa tjelesne mase (BMI), mineralne gustoće kosti (BMD), paratiroidnog hormona (PTH), osteokalcina, kalcitonina i kalcija između ispitanika u eutireozi, subkliničkoj hipotireozi, kliničkoj hipotireozi, subkliničkoj hipertireozi i kliničkoj hipertireozi

	Eutireoza (n=630)	Subklinička hipotireoza (n=67)	Klinička hipotireoza (n=16)	Subklinička hipertireoza (n=9)	Klinička hipertireoza (n=3)	p-vrijednost
Muškarci/ žene	225/405	23/44	5/11	4/5	2/1	0,49‡
Dob	56,75 ± 14,42	56,6 ± 13,3	60,81 ± 10,13	62,9 ± 10,9	70 ± 10,81	0,116†
TSH	<b>1,28 (0,92- 1,9)</b>	<b>4,21 (3,86-6,02)</b> <0,001 <sup>a</sup>	4,84 (4,17 – 9,17)	0,06 (0,02-0,17)	0,04 (0,03-0,04)	<0,001†
fT3	<b>4,52 (0,44)</b>	<b>4,35 ± 0,61</b>	<b>3,72 ± 0,7</b> <0,001 <sup>a</sup> <0,001 <sup>b</sup>	<b>4,52 ± 0,55</b> <0,001 <sup>c</sup>	<b>6,8 ± 1,15</b> <0,001 <sup>a</sup> <0,001 <sup>b</sup> <0,001 <sup>c</sup> <0,001 <sup>d</sup>	<0,001†
fT4	<b>12,7 (11,9- 14,1)</b>	<b>11,9 (10,9 – 12,9)</b> <0,001 <sup>a</sup>	<b>9,9 (8,9 – 9,9)</b> <0,001 <sup>a</sup> <0,001 <sup>b</sup>	<b>12,2 (11,9-13,3)</b> <0,001 <sup>c</sup>	<b>25,2 (22,5-25,2)</b> <0,001 <sup>a</sup> <0,001 <sup>b</sup> <0,001 <sup>c</sup> <0,001 <sup>d</sup>	<0,001†
Osteokalcin	<b>14,3 (12,25- 16,9)</b>	<b>14,3 (11,9 – 16,9)</b>	14,65 (13,88 – 16,9)	<b>17,6 (16,05-20,9)</b> 0,031 <sup>a</sup> 0,012 <sup>b</sup>	13,3 (13,2-13,3)	<b>0,002†</b>

BMI	27,82± 3,88	27,97 ± 4,09	28,59 ± 3,19	28,1 ± 2,43	25,61 ± 1,66	0,949†
BMD	0,45 ± 0,09	0,45 ± 0,09	0,42 ± 0,08	0,4 ± 0,08	0,4 ± 0,05	0,207†
PTH	<b>16,55 (10,31- 39,1)</b>	<b>15,6 (12,5 – 22,8) 0,021<sup>a</sup></b>	<b>19,9 (12,5 – 25,7)</b>	<b>28,3 (22,85-55,1) 0,036<sup>a</sup> 0,038<sup>b</sup> 0,001<sup>c</sup></b>	22,95 (10,8-22,95)	<b>&lt;0,001†</b>
Kalcitonin	7,45 (4,2- 10,1)	7 (4,9 – 9,2)	8,8 (4,9 – 41,6)	6,1 (4,7-8,45)	10,1 (1,1-10,1)	0,068†
Kalcij	2,33 ± 0,57	2,31 ± 0,13	2,4 ± 0,2	2,3 ± 0,1	2,28 ± 0,08	0,959†

Normalno distribuirane varijable su prikazane kao srednja vrijednost ± SD, dok su asimetrično distribuirane varijable prikazane kao medijan (interkvartilni raspon). ‡Fisherov test, †ANOVA, <sup>a</sup>u odnosu na skupinu eutireoza, <sup>b</sup>u odnosu na skupinu subklinička hipotireoza, <sup>c</sup>u odnosu na skupinu klinička hipotireoza, <sup>d</sup>u odnosu na skupinu subklinička hipertireoza.

### 5.2.3. Korelacijska analiza osteokalcina, BMI i BMD s dobi, spolom, TSH, hormonima štitne žlijezde, omjerom fT3/fT4 i osteokalcinom

Sve tri varijable: osteokalcin, BMI i BMD pokazale su korelaciju s dobi i spolom. Stoga je nakon primjene prilagodbe za dob i spol, samo TSH pokazao pozitivnu korelaciju s vrijednostima osteokalcina ( $r = 0,109$ ;  $p = 0,048$ ). Iako je osteokalcin pokazao negativnu korelaciju s BMD ( $r = -0,244$ ;  $p < 0,001$ ), ona se gubi nakon korekcije za dob i spol ( $r = -0,087$ ;  $p = 0,116$ ) (Tablica 4).

Tablica 4. Rezultati korelacije osteokalcina, indeksa tjelesne mase (BMI) i mineralne koštane gustoće (BMD) s dobi, spolom, stimulirajućim hormonom štitne žlijezde (TSH), slobodnim trijodtironinom (fT3), slobodnim tiroksinom (fT4), omjerom fT3/fT4 i osteokalcinom. Broj ispitanika  $n = 330$ .

	Osteokalcin		BMI		BMD	
	r	p-vrijednost	r	p-vrijednost	r	p-vrijednost
Dob	<b>0,227</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,341</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>-0,312</b>	<b>&lt;0,001</b>
Spol	<b>-0,165</b>	<b>0,003</b>	<b>0,189</b>	<b>0,001</b>	<b>0,484</b>	<b>&lt;0,001</b>
TSH	<b>0,113</b>	<b>0,04</b>	-0,016	0,775	-0,057	0,303
TSH kontrolirano na dob i spol	<b>0,109</b>	<b>0,048</b>	-0,002	0,979	-0,035	0,53
fT3	-0,092	0,097	0,028	0,62	-0,058	0,295
fT3 kontrolirano na dob i spol	-0,091	0,1	0,045	0,421	-0,072	0,197
fT4	-0,02	0,716	0,019	0,737	0,038	0,490
fT4 kontrolirano na dob i spol	-0,016	0,776	-0,019	0,737	0,016	0,774
fT3/fT4	-0,055	0,317	-0,008	0,887	-0,088	0,114
fT3/fT4 kontrolirano na dob i spol	-0,061	0,268	0,033	0,554	-0,077	0,165
Osteokalcin	-	-	-0,025	0,657	<b>-0,244</b>	<b>&lt;0,001</b>
Osteokalcin kontrolirano na dob i spol	-	-	-0,079	0,157	-0,087	0,116

#### 5.2.4. Korelacijska analiza između TSH i hormona štitne žlijezde

Pokazana je pozitivna korelacija između razine fT3 i razine fT4 ( $r = 0,349$ ;  $p < 0,001$ ), kao i pozitivna korelacija omjera fT3/fT4 s vrijednostima fT3 ( $r = 0,437$ ;  $p < 0,001$ ) i negativna s vrijednostima fT4 ( $r = -0,676$ ;  $p < 0,001$ ) (Tablica 5).

Tablica 5. Rezultati korelacije stimulirajućeg hormona štitnjače (TSH), slobodnog trijodtironina (fT3), slobodnog tiroksina (fT4) i omjera fT3/fT4 s dobi spolom, TSH, hormonima štitne žlijezde i omjerom fT3/fT4. Broj ispitanika  $n = 330$ .

	TSH		fT3		fT4		fT3/fT4	
	r	p-vrijednost	r	p-vrijednost	r	p-vrijednost	r	p-vrijednost
Dob	-0,02	0,719	-0,025	0,656	0,07	0,204	-0,07	0,205
Spol	-0,07	0,205	-0,007	0,894	0,11	0,046	-0,103	0,062
TSH	-	-	-0,035	0,522	-0,085	0,125	0,045	0,416
fT3	-0,035	0,522	-	-	<b>0,349</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>0,437</b>	<b>&lt;0,001</b>
fT4	-0,085	0,125	<b>0,349</b>	<b>&lt;0,001</b>	-	-	<b>-0,676</b>	<b>&lt;0,001</b>
fT3/fT4	0,045	0,416	<b>0,437</b>	<b>&lt;0,001</b>	<b>-0,676</b>	<b>&lt;0,001</b>	-	-

5.2.5. Utvrđivanje medijacijskog učinka osteokalcina na povezanost između hormona štitne žlijezde i BMD, kao i suzbijajućeg utjecaja hormona štitne žlijezde na povezanost BMI s vrijednostima osteokalcina kod eutiroidnih ispitanika

Utvrđeno je da TSH ima negativan učinak na BMD ( $\beta = -0,057$ ) koji se umanjuje kada se pridoda utjecaj osteokalcina ( $\beta = -0,029$ ) čime je pokazan suzbijajući učinak osteokalcina na povezanost TSH i BMD (Tablica 6). Također je utvrđeno da fT3 ima negativan učinak na BMD ( $\beta = -0,058$ ) koji se povećava kada se pridoda utjecaj osteokalcina ( $\beta = -0,081$ ) čime je pokazan medijacijski učinak osteokalcina na povezanost fT3 i BMD (Tablica 7).

Međutim, nije utvrđen medijacijski učinak osteokalcina na povezanost fT4 i BMD (Tablica 8).

Tablica 6. Učinak stimulirajućeg hormona štitnjače (TSH) kao i TSH zajedno s osteokalcinom na mineralnu gustoću kosti (BMD)

Model 1	Nestandardizirani koeficijent		Standardizirani koeficijent	t-statistika	p-vrijednost
	$\beta$	SE	$\beta$		
konstanta	0,468	0,012		38,445	0,000
TSH	-0,008	0,008	-0,057	-1,031	0,303
Model 2	Nestandardizirani koeficijent		Standardizirani koeficijent	t-statistika	p-vrijednost
	$\beta$	SE	$\beta$		
konstanta	0,497	0,014		36,778	0,000
TSH	-0,004	0,007	-0,029	-0,542	0,588
osteokalcin	-0,007	0,001	-0,241	-4,441	0,000

Zavisna varijabla je BMD.

Tablica 7. Učinak slobodnog trijodtironina (fT3) kao i fT3 zajedno s osteokalcinom na mineralnu gustoću kosti (BMD)

Model 1	Nestandardizirani koeficijent		Standardizirani koeficijent	t-statistika	p-vrijednost
	$\beta$	SE	$\beta$		
konstanta	0,517	0,058		8,861	0,000
fT3	-0,013	0,013	-0,058	-1,049	0,295
Model 2	Nestandardizirani koeficijent		Standardizirani koeficijent	t-statistika	p-vrijednost
	$\beta$	SE	$\beta$		
konstanta	0,577	0,058		9,942	0,000



ft3	-0,019	0,012	-0,081	-1,497	0,135
osteokalcin	-0,007	0,001	-0,251	-4,663	0,000

Zavisna varijabla je BMD.

Tablica 8. Učinak slobodnog tiroksina (ft4) kao i ft4 zajedno s osteokalcinom na mineralnu gustoću kosti (BMD)

Model 1	Nestandardizirani koeficijent		Standardizirani koeficijent	t-statistika	p-vrijednost
	$\beta$	SE	$\beta$		
konstanta	0,427	0,043		9,934	0,000
ft4	-0,002	0,003	0,038	0,692	0,490
Model 2	Nestandardizirani koeficijent		Standardizirani koeficijent	t-statistika	p-vrijednost
	$\beta$	SE	$\beta$		
konstanta	0,465	0,043		10,915	0,000
ft4	-0,002	0,003	-0,035	0,642	0,521
osteokalcin	-0,007	0,001	-0,244	-4,524	0,000

Zavisna varijabla je BMD.

Utvrđeno je da se negativni učinak osteokalcina na BMI ( $\beta = - 0,025$ ) ne mijenja kada se pridoda utjecaj ft3 ( $\beta = - 0,022$ ) ili ft4 ( $\beta = - 0,024$ ) (Tablica 9). Nismo potvrdili suzbijajući utjecaj hormona štitne žlijezde na povezanost BMI s vrijednostima osteokalcina kod eutiroidnih ispitanika.

Tablica 9. Učinak osteokalcina kao i osteokalcina zajedno sa slobodnim trijodtironinom (fT3), slobodnim tiroksinom (fT4) na indeks tjelesne mase (BMI)

Model 1	Nestandardizirani koeficijent		Standardizirani koeficijent	t-statistika	p-vrijednost
	$\beta$	SE	$\beta$		
konstanta	27,967	0,426		65,721	0,000
osteokalcin	-0,031	0,069	-0,025	-0,445	0,657
Model 2	Nestandardizirani koeficijent		Standardizirani koeficijent	t-statistika	p-vrijednost
	$\beta$	SE	$\beta$		
konstanta	26,776	2,667		10,039	0,000
osteokalcin	-0,027	0,069	-0,022	-0,395	0,693
fT3	-0,259	0,572	0,025	0,452	0,651
Model 3	Nestandardizirani koeficijent		Standardizirani koeficijent	t-statistika	p-vrijednost
	$\beta$	SE	$\beta$		
konstanta	27,345	1,953		14,004	0,000
osteokalcin	-0,030	0,069	-0,024	-0,437	0,662
fT4	0,047	0,145	0,018	0,326	0,745

Zavisna varijabla je BMI.

### 5.2.6. Utjecaj ostalih varijabli na razinu osteokalcina

Standardnom multivarijantnom linearnom regresijom provjerili smo simultani utjecaj nezavisnih varijabli dobi, spola, TSH, fT3, fT4, BMD i BMI na osteokalcin. Omjer fT3/fT4 nije analiziran jer ne predstavlja samostalnu nezavisnu varijablu. Pokazano je da su spol i dob značajni prediktori osteokalcina (spol:  $p = 0,046$ ; dob:  $p = 0,001$ ), dok su TSH i fT3 pokazali granične p-vrijednosti (TSH:  $p = 0,051$ , fT3:  $p = 0,063$ ). Faktor

inflacije varijance (VIF) za sve analizirane prediktore bio je ispod dozvoljene gornje granice od 10, što bi značilo da nema multikolinearnosti (Tablica 10).

Tablica 10. Rezultati standardne multivarijantne linearne regresije utjecaja nezavisnih varijabli dobi, spola, stimulirajućeg hormona štitnjače (TSH), slobodnog trijodtironina (fT3), slobodnog tiroksina (fT4), mineralne gustoće kosti (BMD) i indeksa tjelesne mase (BMI) na osteokalcin

Model	Nestandardizirani koeficijent		Standardizirani koeficijent	t-statistika	p-vrijednost	Kolinearna statistika	
	$\beta$	SE	$\beta$			Tolerancija	VIF
konstanta	8,339	2,879		2,896	0,004		
TSH	0,517	0,264	0,105	1,957	0,051	0,984	1,016
fT3	-0,873	0,467	-0,106	-1,868	0,063	0,879	1,137
fT4	0,048	0,12	0,023	0,404	0,686	0,872	1,147
Spol	-0,928	0,464	-0,129	-1,999	0,046	0,670	1,492
Dob	0,051	0,015	0,217	3,41	0,001	0,694	1,441
BMD	-3,628	2,487	-0,099	-1,459	0,146	0,607	1,648
BMI	-0,05	0,047	-0,062	-1,068	0,287	0,838	1,193

Zavisna varijabla je osteokalcin.

## 6. RASPRAVA

### 6.1. Prva studija

Razlike u serumskim razinama hormona štitne žlijezde ovise o genetičkim i okolišnim čimbenicima (274). Serumске razine hormona štitne žlijezde naročito su osjetljive na utjecaj prehrambenih čimbenika, a posebno ovise o unosu joda. Jod je neophodan za sintezu hormona štitne žlijezde, a njegov prvenstveni izvor je hrana bogata jodom kao što je sol, mliječni proizvodi, kruh i plodovi mora (275). Osim joda, drugi mikronutrijenti kao što je selen, cink, željezo i vitamin D utječu na serumске koncentracije hormona štitne žlijezde (53,74,276,277). Smatra se da zastupljenost ugljikohidrata u prehrani kao i njena kalorijska vrijednost imaju ulogu u regulaciji hormona štitne žlijezde, a čini se da najveći utjecaj na razinu T3 ima količina konzumiranih ugljikohidrata (64). Pokazano je da prehrana s reduciranom kalorijskom vrijednošću reducira i funkciju štitne žlijezde, što se smatra mehanizmom štednje energije (278,279). Razina hormona štitne žlijezde ovisi i o vrsti hrane koja se konzumira. Niže razine fT3, fT4, T3 i TSH primijećene su kod zdravih ljudi koji su bili na dijeti s kratkoročnim unosom veće količine proteina prehranom (61,64,280).

U našoj studiji pronašli smo značajno niže razine fT3 i fT4 i značajno više razine TSH kod žena u odnosu na muškarce. Više razine TSH i niže fT3 i fT4 kod žena u skladu su s prethodno objavljenim rezultatima velike kineske studije (281). Autori su pokazali više vrijednosti TSH kod žena u svim ispitivanim dobnim skupinama. Također su pokazali da je fT3 kao i omjer fT3/fT4 značajno viši kod muškaraca nego kod žena (281). Strich i suradnici također su zabilježili višu razinu fT3 kod muškaraca tijekom života osim u izrazito mlađim i izrazito starijim dobnim skupinama (282).

U našoj studiji pušači imaju značajno niže vrijednosti TSH u odnosu na nepušače i bivše pušače, dok su ispitanici s višom razinom glukoze natašte imali više vrijednosti fT4 u plazmi. Veći broj studija istraživao je utjecaj pušenja na razinu TSH u zdravih ispitanika, a primijećeno je da pušači imaju niže vrijednosti TSH u odnosu na nepušače i bivše pušače, što je u skladu s našim rezultatom (283–285). Nedavno je i nekoliko velikih populacijskih studija pokazalo da pušenje utječe na funkciju štitne žlijezde na način da snižava vrijednosti TSH (286,287). Hormoni štitne žlijezde povezani su s metabolizmom glukoze, ali još uvijek nije dokazano mogu li male promjene razine hormona unutar referentnog raspona utjecati na homeostazu glukoze. Suprotno našem rezultatu, nedavno objavljena

presječna korejska studija nije pokazala povezanost razine fT4 s razinom glukoze natašte (288). Međutim, još je jedna studija primijetila da ljudi s kliničkom i subkliničkom hipertireozom imaju značajno veću razinu glukoze natašte (289).

Rezultati našeg istraživanja pokazuju negativnu povezanost česte konzumacije voćnih sokova, Cedevite i bezalkoholnih pića (faktor 6) s razinom TSH i pozitivnu povezanost s razinom fT4. Česta konzumacija bijelog kruha (faktor 5), slanine i kobasica (faktor 9), te tjestenine i riže (faktor 15) pokazala je pozitivnu povezanost s razinom fT4, dok je česta konzumacija slanine i kobasica (faktor 9) također pokazala pozitivnu povezanost s razinama fT3. Slanina i kobasice su bogate lipidima, a voćni sokovi, Cedevita, bezalkoholna pića, tjestenina i riža su hrana koja sadrži ugljikohidrate, a sve te namirnice imaju visoki glikemijski indeks (GI) (290,291). Zapaženo je da visoki glikemijski indeks hrane koja se konzumira kao i nizak unos nezasićenih masnih kiselina povećava rizik za nastanak tumora štitnjače, ali studije o utjecaju prehrane s visokim GI na razine hormona štitne žlijezde su rijetke (292). Hormoni štitne žlijezde imaju različite učinke na energetske homeostazu te metabolizam glukoze i lipida, kao i veliki utjecaj na sve komponente metaboličkog sindroma (293). Danforth i suradnici zabilježili su povišenu koncentraciju T3 kod zdravih, mladih volontera nakon tri tjedna prejedanja s miješanom prehranom (294). Druga studija, provedena na mladim ljudima koji boluju od šećerne bolesti tip 1, pokazala je obrnutu korelaciju između vrijednosti TSH i glikemijskih vrijednosti konzumirane hrane, dok nije pronađena korelacija između slobodnih hormona štitne žlijezde i glikemijskih vrijednosti hrane (295). Osim toga, studija provedena na životinjama pokazala je povećanje koncentracije hormona štitne žlijezde u plazmi kod adrenalektomijom izazvane pretilosti u (ob/ob) miševa (296). Najizraženiji učinak pokazali su miševi koji su hranjeni škrobom ili glukozom, u kojih su koncentracije T4 bile gotovo dvostruko više nego u kontrolama (296).

Naši rezultati također su pokazali da česta konzumacija složenih ugljikohidrata iz kruha od cjelovitog zrna (faktor 5) ima negativnu povezanost s razinom fT4 u plazmi, dok je česta konzumacija bijelog kruha bila pozitivno povezana. To se može objasniti činjenicom da konzumacija bijelog kruha rezultira peterostrukim unosom jednostavnih ugljikohidrata u odnosu na konzumaciju kruha od pšenice od cjelovitog zrna, raži ili drugih vrsta crnog kruha (297). U usporedbi s rafiniranim žitaricama koje sadrži bijeli kruh, cjelovite žitarice sadrže korisne hranjive tvari koje se prvenstveno nalaze u vanjskim slojevima zrna, koja se gube tijekom obrade zrna (298). Cjelovito zrno ima vanjski sloj bogat vlaknima, koji sadrži značajne količine fitokemikalija, antioksidansa i esencijalnih minerala kao što su selen,

željezo i cink zbog čega se kruh od cjelovitog zrna smatra namirnicom koja može pomoći u održavanju zdravlja i funkcije štitne žlijezde. Takav kruh bogat je složenim ugljikohidratima koji održavaju stabilan šećer u krvi, osiguravajući tijelu dugotrajan izvor energije, a pomaže kod probave.

Osim toga, uočili smo povezanost između česte konzumacije punomasnog sira, svježeg sira i tvrdog sira (faktor 8), kao i maslaca i životinjske masti (faktor 14) s nižim razinama fT4. Sve ove namirnice su bogate zasićenim masnim kiselinama. Donedavno je bila valjana preporuka da se u prehrani ograniči unos zasićenih masnih kiselina, ali dostupni dokazi više ne podržavaju ograničavanje unosa takve hrane (299,300). Maslac, sir i životinjske masti se više ne smatraju “nezdravom hranom”, a prema našim rezultatima imaju pozitivan učinak na funkciju štitnjače snižavanjem razine fT4 u plazmi. Nadalje, primijetili smo da je česta konzumacija svinjetine, govedine i jaja (faktor 4) pokazala negativnu povezanost s razinama fT4, a prehrambena skupina s čestom konzumacijom konzerviranog kiselog povrća i gljiva (faktor 10) pokazala je negativnu povezanost s razinom fT4 i fT3. Meso i gljive su glavni izvori proteina, a konzervirano povrće i gljive izvor su dijetalnih vlakana (291,301). Za ove namirnice smatra se da imaju nizak GI i stoga očekivano pozitivan učinak na funkciju štitne žlijezde. Također, svinjetina, govedina, jaja i gljive su namirnice bogate selenom, a konzumacija balansirane dijete osigurava adekvatnu količinu selena za sintezu hormona štitne žlijezde (302). Nedavno provedena studija koju su proveli Basolo i suradnici pokazala je smanjenje oba hormona fT3 i fT4 nakon 24 satnog uzimanja velikih količina proteina u prehrani kod ispitanika u eutireozu (61). Isto tako, druga studija je pokazala značajno sniženje koncentracije T3 i reverznog T3 kod zdravih, pretilih žena nakon primjene nisko-kalorične dijete s visokim udjelom proteina (280). Ullrich i sur. pokazali su značajnije sniženje serumske razine T3 nakon primjene dijete s visokim udjelom višestruko nezasićenih masti kod zdravih, mladih odraslih osoba nego nakon primjene dijete s visokim udjelom proteina (64).

Dapače, u našoj studiji učestala konzumacija bijele ribe, plave ribe, plodova mora, lignje i hobotnice te sardine i sušene ribe (faktor 3), hrane s niskim GI, pokazala je povezanost s višim razinama fT3 i fT4. Ovo možemo objasniti visokim udjelom joda u hrani iz mora, glavnim izvorom joda u prehrani (303). Naša studija provedena je u dalmatinskoj populaciji koja živi pored mora i stoga konzumira više hrane iz mora, te na taj način unosi i veću količinu joda u organizam. Zdravi ljudi toleriraju visoki unos joda prehranom, ali kod osjetljivih pojedinaca to može dovesti do hipertireoze (304).

Nadalje, primijetili smo povezanost češće konzumacije divljači i ribljih prerađevina (faktor 13), hrane niskog GI i visokog udjela proteina s nižom razinom TSH. U isto vrijeme, razine hormona štitne žlijezde nisu bile pogođene. Također smo primijetili povezanost između učestale konzumacije juha u prahu i sokova od povrća s visokim razinama fT4. Za juhe u prahu možemo pretpostaviti da ovaj učinak može biti rezultat visokog unosa soli ili natrijevog klorida. Bello i sur. su pokazali da su štakori koji su pili otopinu s visokom koncentracijom soli razvili hipotireozu u usporedbi s kontrolnom skupinom. Kod ovih štakora, jod vezan za proteine kao i unos joda bili su niži nego u kontrolnoj skupini (305).

Snaga naše studije proizlazi iz velikog uzorka i činjenice da ispitanici potječu iz regije s dovoljnim unosom joda. Međutim, limitacija ove studije je njezin presječni dizajn, koji omogućava samo analizu povezanosti. Nadalje, sve varijable upitnika o učestalosti konzumacije pojedinih namirnica su prijavljene od strane ispitanika. Kvalitativni pristup uzimanja namirnica ima određene limitacije, međutim ipak osigurava relevantne informacije o prehrani. Kontrolirane su sociodemografske varijable, ali drugi čimbenici koji mogu utjecati na rezultat još uvijek mogu biti prisutni uključujući prisustvo metaboličkog sindroma ili šećerne bolesti.

Zaključno, ova studija je pokazala negativan učinak učestale konzumacije hrane s visokim GI na funkciju štitne žlijezde. U isto vrijeme „zdrava hrana“ s visokim udjelom proteina i hrana bogata zasićenim masnim kiselinama koju prema preporukama nutricionista u današnje vrijeme nije potrebno izbjegavati, pokazala je pozitivan učinak na funkciju štitne žlijezde.

## **6.2. Druga studija**

U našoj studiji, ispitanici u subkliničkoj hipertireozu imali su više vrijednosti osteokalcina u odnosu na ispitanike u eutireozu i one u subkliničkoj hipotireozu. Poznato je da pored drugih hormona koji imaju utjecaj na remodeliranje kostiju, one su i ciljno tkivo hormona štitne žlijezde (306,307). Hormoni štitne žlijezde utječu na razvoj skeleta, linearan rast kostiju i održavanje koštane mase (30). Još uvijek se nedovoljno zna o molekularnim mehanizmima djelovanja hormona štitne žlijezde na kosti. Poznato je da je aktivnost T3 u stanicama posredovana njegovim vezanjem za receptore koji reguliraju transkripciju ciljnih gena. T3 receptori (TR $\alpha$  i TR $\beta$ ) su izraženi u osteoblastima, pa T3 stimulira njihovu aktivnost i diferencijaciju. Između različitih ciljnih gena, T3 u osteoblastima stimulira ekspresiju osteokalcina (258,308). T4 ima 100 puta niži afinitet za vezanje na receptore od

T3 i ne ulazi u jezgru u dovoljnoj koncentraciji (258). Postoji mogućnost da disfunkcija štitne žlijezde praćena povišenim vrijednostima T4, a niskim T3, stimulira vezanje T4 za receptore u jezgri i njegovu biološku aktivnost u osteoblastima. Ovo objašnjenje sugerira mogući utjecaj samog T4 na homeostazu kosti. Međutim, T4 ima značajno niži učinak na ekspresiju osteokalcina što ukazuje na njegov drugačiji utjecaj na ekspresiju gena (308). Pored genskog mehanizma djelovanja, hormoni štitne žlijezde imaju i negenski utjecaj na koštane stanice pa je moguće da T4 ima važnu negensku aktivnost na kosti (308). Iako subklinička hipertireoza nije praćena povišenim vrijednostima T3 ili T4, ipak bismo u ovom svjetlu mogli promatrati naš rezultat.

Nadalje, u našoj studiji ispitanici u subkliničkoj hipotireozi su imali niže vrijednosti PTH u odnosu na skupinu ispitanika u eutireozi. Također je primijećena viša razina PTH kod ispitanika u subkliničkoj hipertireozi u odnosu na skupine ispitanika u eutireozi te subkliničkoj i kliničkoj hipotireozi.

Zapažane razlike u razinama TSH i hormona štitne žlijezde po skupinama u skladu su s očekivanim. Naime, u našoj studiji zabilježili smo da su vrijednosti TSH bile značajno više u subkliničkoj hipotireozi u odnosu na eutireozu, te da su vrijednosti fT3 i fT4 bile niže u kliničkoj hipotireozi u odnosu na eutireozu i subkliničku hipotireozu. Dodatno je u skupini subkliničke hipotireoze zabilježena niža vrijednost fT4 u odnosu na eutireozu. Subklinička hipertireoza pokazala je više vrijednosti fT3 i fT4 prema kliničkoj hipotireozi, dok je klinička hipertireoza pokazala više vrijednosti fT3 i fT4 u odnosu na sve ostale ispitivane skupine. Nadalje, ova studija je pokazala pozitivnu korelaciju između razine fT3 i razine fT4 kao i pozitivnu korelaciju omjera fT3/fT4 s vrijednostima fT3 i negativnu s vrijednostima fT4. Sve ove razlike i pokazane korelacije u skladu su s očekivanim korelacijama hormona u eutireozi kao i dobro poznatim razlikama u stanjima disfunkcije štitne žlijezde (309,310).

Analizirajući korelaciju između osteokalcina, BMI i BMD s dobi i spolom među eutiroidnim ispitanicima, primijetili smo snažnu korelaciju na način da je dob pokazala pozitivnu korelaciju s osteokalcinom i BMI, a negativnu s BMD. Muški spol je pokazao pozitivnu korelaciju s BMI i BMD, a negativnu s osteokalcinom. Španjolska studija provedena među ženama u premenopauzi pokazala je da dob i BMI nemaju utjecaj na vrijednost osteokalcina kao ni drugih markera pregradnje kosti. Međutim, nakon isključivanja žena koje su koristile oralne kontraceptive, dob je pokazala pozitivnu povezanost, ali BMI, suprotno našem rezultatu, pokazao je negativnu povezanost s razinom osteokalcina (311). Uvriježeno je mišljenje da BMD doseže svoj maksimum do dobi od 35



godina nakon čega počinje postupno opadati, a ovo stajalište je na neki način u skladu s našim rezultatom (312–315). Spolni hormoni kod muškaraca i žena imaju važnu ulogu u homeostazi kostiju. Kod žena, značajan gubitak koštanog tkiva počinje u menopauzi, dok kod muškaraca gubitak koštanog tkiva pokazuje sporu progresiju. Promjene u BMD ovise i o mjestu određivanja odnosno tipu kosti u kojoj se BMD definira (313). Lee i suradnici pokazali su postupni gubitak koštanog tkiva bedrene kosti (lat. *femur*) s kratkom ubrzanom fazom nakon dostizanja vršne koštane mase (engl. *peak bone mass*, PBM) kod muškaraca. Suprotno tome, kod žena, gubitak koštanog tkiva slijedi tri faze: ubrzanje (akcelerirajuća faza), konsolidirajuća faza ili usporavanje nakon čega slijedi nova faza ubrzanog gubitka (313). Sličan način gubitka koštanog tkiva opisao je i Warming sa suradnicima (316). U našoj studiji primjetili smo pozitivnu povezanost između muškog spola i BMD, a mjerenja su napravljena u petnoj kosti (lat. *calcaneus*). Budući da su žene obuhvaćene našom studijom bile starije životne dobi (u skupini eutireoze  $56,75 \pm 14,42$ ; subkliničke hipotireoze  $56,6 \pm 13,3$ ; kliničke hipotireoze  $60,81 \pm 10,13$ , subkliničke hipertireoze  $62,9 \pm 10,9$ ; kliničke hipertireoze  $70 \pm 10,81$ ) što ukazuje da je znatan udio žena bio u menopauzi, za očekivati je da imaju niže vrijednosti BMD od muškaraca te je u skladu s tim pronađena pozitivna povezanost muškog spola s BMD (317,318). Također smo primijetili i očekivano negativnu povezanost razine osteokalcina u plazmi i muškog spola u odnosu na žene. Ovaj rezultat također je očekivan i u skladu s do sada publiciranim zapažanjima, budući žene pokazuju veću incidenciju osteoporoze od muškaraca koja je praćena višim vrijednostima osteokalcina (319,320). Kod žena u osteoporozi zapažena je negativna korelacija između razine osteokalcina i BMD (321). Smatra se da visoke serumske razine osteokalcina mogu biti prediktivni parametri za osteoporozu (322).

Zbog pokazane korelacije s dobi i spolom, u ostalim analizama primijenjena je korekcija na ova dva parametra. Tako osteokalcin nije pokazao korelaciju s BMI, ali je pokazao negativnu korelaciju s BMD koja se izgubila nakon korekcije za dob i spol. Kosti se smatraju i endokrinim sustavom koji proizvodi nekoliko hormona koji se vežu na izvanskeletne receptore. U tom smislu sinteza osteokalcina u osteoblastima zauzima centralno mjesto (307). Osteokalcin prolazi posttranslacijsku modifikaciju posredovanu vitamin K-ovisnom  $\gamma$ -karboksilazom kako bi se proizveo Gla-protein. Osteokalcin se može otpustiti u cirkulaciju i tijekom formiranja osteoblastične kosti i tijekom osteoklastične resorpcije kosti (323). Stoga su se razine osteokalcina u serumu često koristile kao biljeg koštane pregradnje. Pokazano je da miševi kojima nedostaje osteokalcin pokazuju povećanu sintezu kosti bez utjecaja na resorpciju kosti. Ova činjenica ukazuje na važnost

osteokalcina u formiranju kosti (324,325). Nadalje, osim pregradnje kosti, osteokalcin je uključen u više fizioloških procesa. U beta stanicama gušterače osteokalcin aktivira sintezu inzulina i povećava inzulinsku senzitivnost u jetri, mišićima i masnom tkivu. Osteokalcin je pokazao inverznu korelaciju s parametrima metabolizma glukoze i debljinom. Leptin kojeg proizvode adipociti utječe na formiranje kosti inhibirajući aktivnost osteoblasta i sintezu osteokalcina (307).

Nadalje, u ovoj studiji pokazana je pozitivna korelacija TSH s osteokalcinom među zdravim ispitanicima. Štoviše, linearnom regresijskom analizom utvrđeno je da TSH ima negativan učinak na BMD koji se umanjuje kada se pridoda utjecaj osteokalcina čime je pokazan suzbijajući učinak osteokalcina na povezanost TSH i BMD. Također je utvrđeno da FT3 ima negativan učinak na BMD koji se povećava kada se pridoda utjecaj osteokalcina, što ukazuje na medijacijski učinak osteokalcina na povezanost FT3 i BMD. Međutim, nije utvrđen medijacijski učinak osteokalcina na povezanost FT4 i BMD. Poznato je da je kod bolesnika s hipertireozom skraćeno trajanje remodeliranja kosti s povećanom izmjenom koštanog tkiva što rezultira smanjenim BMD i visokom predispozicijom za frakture. Ova činjenica u skladu je s našim rezultatom negativnog učinka FT3 na BMD, ali ne i negativnim učinkom TSH. S druge strane, u bolesnika s hipotireozom produženo je trajanje koštanog remodeliranja s niskom izmjenom koštanog tkiva i povećanom BMD (258,308,326). Nadalje, viši rezultat u procjeni rizika od prijeloma (engl. *Fracture Risk Assessment Tool (FRAX) score*) zapažen je u skupini žena u postmenopauzi sa subkliničkom hipotireozom, dok u skupini starijih muškaraca sa subkliničkom hipotireozom nije zapažena povezanost razine hormona štitne žlijezde s biljezima koštane pregradnje niti nastankom fraktura (327,328). Receptori za TSH su smješteni u osteoklastima i osteoblastima i zato TSH ima potencijalni utjecaj na izmjenu koštanog tkiva neovisno o hormonima štitne žlijezde. Koncentracije TSH pokazale su različite korelacije s remodeliranjem kostiju kod muškaraca i žena. Zapažena je značajna povezanost između *FRAX score* i subkliničke hipotireoze kod žena, ali ne i kod muškaraca. U isto vrijeme zapažena je pozitivna povezanost između razine TSH i *FRAX score* kod muškaraca, ali ne kod žena (326). Nadalje, *knock-out* miševi za TSH receptor koji su dobivali supstitucijsku terapiju za hormone štitne žlijezde su razvili osteoporozu praćenu visokom izmjenom koštanog tkiva (268). Samo je jedna studija provedena do sada opisala pozitivnu povezanost između FT3 kao i omjera FT3/FT4 s osteokalcinom, ali nisu pronašli povezanost između FT4 i TSH s osteokalcinom (329). Suprotno njihovom rezultatu, mi smo pronašli pozitivnu povezanost između TSH i osteokalcina u plazmi. Rezultati studija koje

su istraživale utjecaj funkcije štitne žlijezde na BMD još uvijek su kontroverzne. Provedene studije često daju konfliktne rezultate zbog razlika u dizajnu studije, selekciji ispitanika i vrlo često malom broju ispitanika. Velika europska studija je zabilježila da su hormoni štitne žlijezde, fT3 i fT4, u gornjim granicama referentnih vrijednosti povezani s smanjenim BMD. Studija je uključila 1278 eutiroidnih žena u postmenopauzi (bez bolesti štitne žlijezde ili nekih drugih bolesti i onih koji uzimaju lijekove koji utječu na status štitne žlijezde ili metabolizam kostiju). Ova povezanost utvrđena je analizom BMD u kuku, ali ista nije zabilježena kada je analizirana BMD u kralješcima (258). Druga studija, koju su proveli Van der Deure i suradnici, uključivala je 1151 ženu i muškarca iz Roterdamske studije, starosti 55 godina i više (ispitanice nisu bile selektirane na ostale bolesti izuzev bolesti štitne žlijezde, niti za uzimanje lijekova koji utječu na metabolizam kostiju), također je pokazala negativnu povezanost između razine fT4 i BMD kao i pozitivnu povezanost između BMD i TSH (330). Rezultati ove dvije studije u suglasnosti su s našim nalazom negativnog učinka fT3 na BMD. U našoj studiji, BMD je određivan u petnoj kosti. Nasuprot tome, korejska studija provedena na ženama u postmenopauzi pokazala je povezanost između niskih, normalnih vrijednosti TSH i niže BMD određene na lumbalnoj kralježnici i vratu femura. Autori su odabrali 959 eutiroidnih žena u postmenopauzi bez povijesti bolesti štitnjače, bolesti koje pogađaju metabolizam kosti ili neke druge značajne bolesti. Iz studije su isključene i osobe koje su uzimale lijekove koji mogu utjecati na metabolizam kosti ili funkciju štitne žlijezde (331). Nadalje, studija provedena na 648 žena iz Koreje koje su bile u postmenopauzi i 728 muškaraca, nije pronašla povezanost fT4 i TSH s BMD. Međutim, razine tiroksina u gornjem referentnom intervalu pokazale su povezanost s nižim vrijednostima trabekularne strukture kosti (engl. *Trabecular bone score*, TBS) kod žena u postmenopauzi, ali ne i kod muškaraca. U ovoj studiji autori su isključili ispitanike s disfunkcijom štitne žlijezde, one koji su imali operaciju štitne žlijezde ili dijagnozu neke bolesti štitne žlijezde kao i one koji su uzimali lijekove koji utječu na metabolizam kosti (332). Nedavno provedena studija, suprotno našem rezultatu, pokazala je pozitivnu povezanost između TSH i BMD, ali je studija provedena na svega 114 muškaraca s normalnom funkcijom štitne žlijezde. Iz studije su isključeni ispitanici s kroničnom bolesti jetre, bubrega ili neke druge endokrine bolesti kao i oni koji su uzimali lijekove koji utječu na metabolizam kosti (333).

U našoj studiji, linearnom regresijskom analizom, pokazali smo da se negativni utjecaj osteokalcina na BMI ne mijenja kada se pridoda utjecaj hormona štitne žlijezde (fT3 ili fT4). Studija provedena na 1152 eutiroidna ispitanika također je pokazala negativnu

povezanost BMI i serumske razine osteokalcina. Za razliku od nas, oni su dodatno pokazali da fT3 i omjer fT3/fT4 suprimira negativnu povezanost između BMI i osteokalcina (329). Primjenom multivarijantne linearne regresije potvrdili smo snažan utjecaj dobi i spola na razinu osteokalcina, te ih stoga možemo smatrati prediktivnim varijablama za razinu osteokalcina. Iako smo pokazali pozitivnu asocijaciju TSH i osteokalcina, primjenom multivarijantne linearne regresije utvrđen je granični prediktivni učinak TSH i hormona štitne žlijezde (fT3 i fT4) na razinu osteokalcina. Dvije studije provedene do sad pokazale su kontroverzne rezultate. Njemačka populacijska studija pokazala je pozitivnu povezanost TSH i razine osteokalcina, dok velika australska studija provedena među starijim muškarcima nije pronašla povezanost između TSH i hormona štitne žlijezde (fT3 i fT4) s razinama osteokalcina u serumu (326,328).

Analizirajući i komentirajući rezultate studija provedenih do sada, možemo zaključiti da iako su neke od njih provedene na velikom uzorku, rezultati su uglavnom neujednačeni i različiti. Razlog tome je vjerojatno nekonzistentnost u odabiru ispitivane skupine i neujednačenost u kriterijima isključivanja ispitanika iz studije. U startu, naša studija je imala vrlo veliki broj ispitanika (969), ali nakon primjene rigoroznih kriterija isključivanja prema svim dostupnim parametrima koji mogu utjecati na hormone štitne žlijezde i metabolizam kosti, uzorak je znatno reduciran na 330 zdravih ispitanika koji su uključeni u analize. Mi smo jedina studija do sada koja je primijenila kriterije isključenja prema kompletnom statusu štitne žlijezde (uključujući sve hormone štitne žlijezde i antitijela na štitnu žlijezdu), prisustvu maligne bolesti, anemije, bubrežne ili jetrene disfunkcije, korištenju nadomjesne hormonske terapije, korištenju lijekova koji utječu na metabolizam kosti kao i isključenje onih ispitanika čije vrijednosti PTH, kalcitonina i kalcija nisu bile unutar referentnih vrijednosti. Vjerujemo da su ovakvi rigorozni kriteriji isključenja uklonili mogući zbunjujući učinak.

Iako smo uklonili većinu potencijalnih čimbenika koji mogu zbunjujuće utjecati na rezultat, naša studija i dalje ima neke limitacije. Nismo imali podatke za koncentracije spolnih hormona kao ni vrijednosti vitamina D ( $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ )) kao dodatnih potencijalnih faktora koji mogu utjecati na rezultat studije. Još je jedna limitacija ove studije koja se temelji na modernim pristupima u utvrđivanju trabekularne izgradnje kosti, koji se smatra boljim indikatorom koštane čvrstoće od BMD. U zaključku, rezultati prvog dijela provedene studije ukazuju da su vrijednosti osteokalcina i PTH povezane s funkcijom štitne žlijezde tako da su oba hormona viša u stanjima hipertireoze. Drugi dio ove studije pokazao je pozitivnu povezanost TSH s vrijednostima

osteokalcina, a negativnu s vrijednostima BMD, koja se gubi nakon korekcije za dob i spol kod zdravih ispitanika. Negativni učinak TSH na BMD umanjuje se kada se pridoda učinak osteokalcina, čime se potvrđuje njegov suzbijajući učinak. Nadalje, negativan učinak fT3 na BMD povećava se pod utjecajem osteokalcina, čime se potvrđuje njegov medijacijski učinak. Negativni učinak osteokalcina na BMI ne mijenja se kada se pridoda učinak fT3 ili fT4, što negira njihov medijacijski učinak. Ova studija ima veliki doprinos s obzirom na rigoroznu selekciju ispitanika u odnosu na studije provedene do sada, međutim rezultati trebaju biti potvrđeni na većem uzorku.

## 7. ZAKLJUČCI

### 7.1. Prva studija

1. Prehrambena skupina s visokim opterećenjem za slaninu i kobasice (prehrambena skupina 9) bila je pozitivno povezana s plazma razinama fT3. Prehrambena skupina s visokim opterećenjem za gljive te konzervirano i kiselo povrće (prehrambena skupina 10) bila je negativno povezana s plazma razinom fT3.
2. Pokazana je negativna povezanost između fT4 i prehrambene skupine s visokim opterećenjem za svinjetinu, govedinu i jaja (prehrambena skupina 4), skupine s visokim opterećenjem za gljive te konzervirano i kiselo povrće (prehrambena skupina 10), te skupine s visokim opterećenjem za maslac i životinjske masti (prehrambena skupina 14). Pozitivno povezana s razinama fT4 bila je skupina s visokim opterećenjem za bijelu ribu, plavu ribu, plodove mora, lignje, hobotnicu i sušenu ribu (prehrambena skupina 3), skupina s visokim pozitivnim opterećenjem za bijeli kruh i visokim negativnim opterećenjem za kruh od cjelovitog zrna (prehrambena skupina 5), skupina s visokim opterećenjem za voćne sokove, Cedevitu i praškaste vitaminske sokove kao i bezalkoholna pića (prehrambena skupina 6), skupina s visokim opterećenjem za slaninu i kobasice (prehrambena skupina 9) te skupina s visokim opterećenjem za juhe u prahu i sokove od povrća (prehrambena skupina 17).
3. Prehrambena skupina s visokim udjelom voćnih sokova, Cedevite i praškastih vitaminskih sokova kao i bezalkoholnih pića (prehrambena skupina 6) kao i prehrambena skupina s visokim opterećenjem za divljač i riblje prerađevine (prehrambena skupina 13) bile su negativno povezana s razinom TSH u plazmi.
4. Žene su pokazale značajno veći TSH i niže razine fT3 i fT4 od muškaraca. Razine glukoze natašte bile su značajno pozitivno povezane s razinom fT4. Pušači su pokazali značajno niže razine TSH od nepušača i bivših pušača.

### 7.2. Druga studija

1. Ispitanici u subkliničkoj hipertireozi imaju više vrijednosti osteokalcina u odnosu na ispitanike u eutireozi i one u subkliničkoj hipotireozi.
2. Ispitanici u subkliničkoj hipotireozi imaju niže vrijednosti PTH u odnosu na skupinu ispitanika u eutireozi. Nadalje, ispitanici u subkliničkoj hipertireozi imaju više

vrijednosti PTH u odnosu na skupine ispitanika u eutireozi, subkliničkoj i kliničkoj hipotireozi.

3. Plazma razine TSH i hormona štitne žlijezde pokazale su očekivane razlike prema skupinama. Vrijednosti TSH značajno su više u subkliničkoj hipotireozi u odnosu na eutireozu, dok su vrijednosti fT3 i fT4 niže u kliničkoj hipotireozi u odnosu na eutireozu i subkliničku hipotireozu. U skupini subkliničke hipotireoze zabilježena je niža vrijednost fT4 u odnosu na eutireozu. Subklinička hipertireoza pokazala je više vrijednosti fT3 i fT4 prema kliničkoj hipotireozi, dok je klinička hipertireoza pokazala više vrijednosti fT3 i fT4 u odnosu na sve ostale ispitivane skupine. Pokazana je i pozitivna korelacija između razine fT3 i razine fT4 kao i pozitivna korelacija omjera fT3/fT4 s vrijednostima fT3 i negativna s vrijednostima fT4.
4. Dob je pokazala pozitivnu korelaciju s vrijednostima osteokalcina i BMI, a negativnu s BMD. Muški spol je pokazao pozitivnu korelaciju s BMI i BMD, a negativnu s osteokalcinom. Snažan utjecaj dobi i spola na razinu osteokalcina potvrđen je primjenom multivarijantne linearne regresije, te se ove dvije varijable mogu smatrati prediktivnim varijablama za razinu osteokalcina.
5. Osteokalcin nije pokazao korelaciju s BMI, ali je pokazao negativnu korelaciju s BMD koja se izgubila nakon korekcije za dob i spol. Pokazana je pozitivna korelacija TSH s vrijednostima osteokalcina.
6. Utvrđeno je da TSH ima negativan učinak na BMD koji se umanjuje kada se pridoda utjecaj osteokalcina, čime je pokazan suzbijajući učinak osteokalcina na povezanost TSH i BMD.
7. Utvrđeno da fT3 ima negativan učinak na BMD koji se povećava kada se pridoda utjecaj osteokalcina, što ukazuje na medijacijski učinak osteokalcina na povezanost fT3 i BMD. Nije utvrđen medijacijski učinak osteokalcina na povezanost fT4 i BMD.
8. Negativan utjecaj osteokalcina na BMI se ne mijenja kada se pridoda utjecaj hormona štitne žlijezde (fT3 ili fT4).

## **8. SAŽETAK**

### **8.1. Prva studija**

Cilj ovog istraživanja bio je analizirati povezanost prehrambenih skupina (faktora) s razinom hormona štitnjače u eutiroidnih ispitanika. U ovu presječnu studiju uključeno je 4585 eutiroidnih ispitanika s područja Dalmacije u južnoj Hrvatskoj s mjerenjem razine slobodnog trijodtironina (fT3), slobodnog tiroksina (fT4) i tireotropnog hormona (TSH). Unos pojedinih namirnica procijenjen je prema podacima ispunjenog upitnika koji je sadržavao pitanja o unosu 58 namirnica. Faktorska analiza provedena je kako bi se konzumirane namirnice grupirale u prehrambene skupine, nakon čega je uslijedila linearna regresijska analiza, kako bi se ispitala povezanost između prehrambenih skupina i razina fT3, fT4 i TSH. Među 4585 eutiroidnih ispitanika, primijetili smo niže razine fT3 i fT4 u plazmi i više razine TSH u žena nego u muškaraca. Utvrđeno je da pušači imaju znatno niže razine TSH od nepušača i bivših pušača, a ispitanici s višim razinama glukoze natašte imali su više razine fT4. Različite prehrambene skupine (faktori) pokazale su povezanost s razinama fT3, fT4 i TSH. Uočeno je da prehrambene skupine (s čestom konzumacijom voćnih sokova, Cedevita vitaminskog napitka i bezalkoholnih pića) koje su negativno utjecale na razinu TSH, istovremeno imaju pozitivan učinak na fT4, što je zadovoljavalo očekivani obrazac djelovanja. Zaključno, u našem istraživanju česta konzumacija hrane s visokim glikemijskim indeksom pokazala je pozitivnu povezanost s razinama fT3 i fT4 i negativnu povezanost s razinama TSH, dok je hrana bogata zasićenim masnim kiselinama i s visokom koncentracijom proteina pokazala negativnu povezanost s razinama fT3 i fT4.

### **8.2. Druga studija**

Hormoni štitnjače (TH) imaju nezamjenjivu ulogu u razvoju skeleta i pregradnji kostiju. Neke studije su izvijestile o povezanosti TH s razinama osteokalcina u serumu (OC), ali rezultati su prilično nedosljedni, a molekularni mehanizam njihove istovremene ili međusobno zavisne aktivnosti u kostima gotovo je nepoznat. Stoga je cilj ovog istraživanja bio utvrditi moguće povezanosti razina TH s razinama OC u plazmi i njihov mogući posrednički učinak na mineralnu gustoću kostiju (BMD) putem OC. U tu svrhu odabrali smo zdrave, eutiroidne ispitanike (N = 330) s kontroliranim svim dostupnim zbunjujućim čimbenicima koji mogu utjecati na funkciju štitne žlijezde i metabolizam kostiju.



Osteokalcin je pokazao negativnu korelaciju s BMD, koja se izgubila nakon korekcije za dob i spol, dok je TSH pokazao pozitivnu korelaciju s vrijednostima osteokalcina. Utvrđeno je da TSH ima negativan učinak na BMD, koji se umanjuje kada se pridoda utjecaj osteokalcina, čime je pokazan suzbijajući učinak osteokalcina na povezanost TSH i BMD. Također je utvrđeno da FT3 ima negativan učinak na BMD koji se povećava kada se pridoda utjecaj osteokalcina, što ukazuje na medijacijski učinak osteokalcina na povezanost FT3 i BMD. Dob i spol mogu se smatrati prediktivnim varijablama za razinu osteokalcina. Prema našem mišljenju, na zabilježene razlike u rezultatima među do sada publiciranim studijama mogu utjecati nedosljedan odabir ispitanika i utjecaj zbunjujućih čimbenika.

## **9. SUMMARY**

### **9.1. First study**

The aim of the study was to analyze the association of dietary groups (groups of food items) with thyroid hormone levels in healthy individuals. This cross-sectional study enrolled 4585 healthy individuals from the Dalmatian region of south Croatia with measurements of plasma free triiodothyronine (fT3), free thyroxine (fT4), and thyroid-stimulating hormone (TSH) levels. Dietary intake was assessed according to data of the completed food frequency questionnaire, containing 58 food items. Principal component analysis was performed to reduce food items into dietary groups, followed by linear regression analyses to test the association between dietary groups and fT3, fT4, and TSH levels. Among the 4585 healthy individuals, we observed lower plasma fT3 and fT4 levels and higher TSH levels in women than in men. Smokers were found to have significantly lower TSH levels than non-smokers and ex-smokers, and participants with higher fasting glucose levels had higher fT4 levels. Different dietary groups (factors) showed association with fT3, fT4, and TSH levels. It was observed that dietary factors (with frequent consumption of fruit juices, Cedevita vitamin drink, and non-alcoholic drinks) that negatively affected TSH levels simultaneously had a positive effect on fT4, satisfying the expected pattern of effects. In conclusion, frequent consumption of foods with a high glycemic index showed a positive association with fT3 and fT4 levels and a negative association with TSH levels, whereas foods rich in saturated fatty acids and with a high protein concentration showed a negative association with fT3 and fT4 levels.

### **9.2. Second study**

Thyroid hormones (THs) play an indispensable role in skeletal development and bone remodelling. Some studies have reported associations of THs with serum osteocalcin (OC) levels, but the results are quite inconsistent and the molecular mechanism of their simultaneous or interdependent activity on bone is almost unknown. Therefore, the aim of this study was to determine the possible associations of plasma THs with plasma OC levels and their possible mediating effect on bone mineral density (BMD) via OC. For this purpose, we selected healthy euthyroid participants (N = 330) controlled for all available confounding factors that can affect thyroid function and bone metabolism. TSH was found

to have a negative effect on BMD that decreases when the effect of osteocalcin is added thus demonstrating the suppressive effect of osteocalcin on the association of TSH and BMD. It was also found that fT3 has a negative effect on BMD, which increases when the effect of osteocalcin is added, indicating a mediating effect of osteocalcin on the association of fT3 and BMD. Age and gender can be considered predictive variables for osteocalcin levels. In our opinion, the observed differences in results among the studies published so far may be influenced by inconsistent selection of participants and the influence of confusing factors.

## 10. LITERATURA

1. Bumber Ž, Katić V, Nikšić Ivančić M, Pegan B, Petrić V, Šprem N. Otorinolaringologija. Zagreb: Naklada Ljevak; 2004. 338 str.
2. Sadler T. Medicinska embriologija. 10. Zagreb: Školska knjiga; 2009. 374 str.
3. Krmpotić-Nemanić J, Marušić A. Anatomija čovjeka. Zagreb: Medicinska naklada; 2007. 664 str.
4. Junqueira L, Carneiro J. Osnove histologije: udžbenik i atlas. Zagreb: Školska knjiga; 2005. 524 str.
5. Guyton A, Hall J. Medicinska fiziologija. 13. Zagreb: Medicinska naklada; 2017. 1144 str.
6. Santisteban P. Development and anatomy of the hypothalamic-pituitary-thyroid axis. Werner & Ingbar's The Thyroid: A Fundamental and Clinical Text. In: Braverman L, Utiger R, editors. 9. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2005. str. 8–25.
7. Beynon ME, Pinneri K. An Overview of the Thyroid Gland and Thyroid-Related Deaths for the Forensic Pathologist. Acad Forensic Pathol. 2016;6:217–36.
8. Kusić Z, Jukić T. History of endemic goiter in Croatia: from severe iodine deficiency to iodine sufficiency. Coll Antropol. 2005;29:9–16.
9. Ziessman H, O'Malley J, Thrall J. Nuclear Medicine: The Requisites. 3. Philadelphia: Elsevier Health Science; 1994. 466 str.
10. Solter M. Bolesti štitnjače – klinička tireoidologija. Zagreb: Medicinska naklada; 2007. 208 str.
11. Peeters RP, Visser TJ. Metabolism of Thyroid Hormone. New Comprehensive Biochemistry. In: Feingold K, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2017. str. 81–103.
12. Ingbar S, Braverman L. Werner's the thyroid: a fundamental and clinical text. 5. Ingbar S, Braverman L, editors. Philadelphia: JB Lippincott Company; 1986. 912 str.
13. Thomas SR, McTamney PM, Adler JM, LeRonde-LeBlanc N, Rokita SE. Crystal structure of iodotyrosine deiodinase, a novel flavoprotein responsible for iodide salvage in thyroid glands. J Biol Chem. 2009;284:19659–67.
14. Moreno JC, Visser TJ. Genetics and phenomics of hypothyroidism and goiter due to iodotyrosine deiodinase (DEHAL1) gene mutations. Mol Cell Endocrinol. 2010;322:91–8.
15. Rousset B, Dupuy C, Miot F, et al. Thyroid Hormone Synthesis And Secretion. In:

- Feingold K, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2015.
16. Vrhovac B, Bakran I, Jakšić B, Reiner Ž, Vucelić B. *Interna medicina*. Zagreb: Naprijed; 1997. 342 str.
  17. Hulbert AJ. Thyroid hormones and their effects: a new perspective. *Biol Rev Camb Philos Soc*. 2000;75:519–631.
  18. Larsen PR, Zavacki AM. The role of the iodothyronine deiodinases in the physiology and pathophysiology of thyroid hormone action. *Eur Thyroid J*. 2012;1:232–42.
  19. van der Spek AH, Fliers E, Boelen A. The classic pathways of thyroid hormone metabolism. *Mol Cell Endocrinol*. 2017;458:29–38.
  20. St Germain DL, Galton VA, Hernandez A. Minireview: Defining the roles of the iodothyronine deiodinases: current concepts and challenges. *Endocrinology*. 2009;150:1097–107.
  21. Visser WE, Friesema ECH, Visser TJ. Minireview: thyroid hormone transporters: the knowns and the unknowns. *Mol Endocrinol*. 2011;25:1–14.
  22. Groeneweg S, Van Geest FS, Peeters RP, Heuer H, Visser WE. Thyroid Hormone Transporters. *Endocr Rev*. 2020;41:146–201.
  23. Van Der Deure WM, Hansen PS, Peeters RP, Kyvik KO, Friesema ECH, Hegedüs L, et al. Thyroid hormone transport and metabolism by organic anion transporter 1C1 and consequences of genetic variation. *Endocrinology*. 2008;149:5307–14.
  24. Friesema ECH, Ganguly S, Abdalla A, Manning Fox JE, Halestrap AP, Visser TJ. Identification of Monocarboxylate Transporter 8 as a Specific Thyroid Hormone Transporter. *J Biol Chem*. 2003;278:40128–35.
  25. Sugiyama D, Kusuhara H, Taniguchi H, Ishikawa S, Nozaki Y, Aburatani H, et al. Functional characterization of rat brain-specific organic anion transporter (Oatp14) at the blood-brain barrier: high affinity transporter for thyroxine. *J Biol Chem*. 2003;278:43489–95.
  26. Morimoto E, Kanai Y, Do KK, Chairoungdua A, Hye WC, Wempe MF, et al. Establishment and characterization of mammalian cell lines stably expressing human L-type amino acid transporters. *J Pharmacol Sci*. 2008;108:505–16.
  27. Zevenbergen C, Meima ME, De Souza ECL, Peeters RP, Kinne A, Krause G, et al. Transport of Iodothyronines by Human L-Type Amino Acid Transporters. *Endocrinology*. 2015;156:4345–55.
  28. Sap J, Muñoz A, Damm K, Goldberg Y, Ghysdael J, Leutz A, et al. The c-erb-A

- protein is a high-affinity receptor for thyroid hormone. *Nature*. 1986;324:635–40.
29. Weinberger C, Thompson CC, Ong ES, Lebo R, Gruol DJ, Evans RM. The c-erb-A gene encodes a thyroid hormone receptor. *Nature*. 1986;324:641–6.
  30. Harvey CB, O’Shea PJ, Scott AJ, Robson H, Siebler T, Shalet SM, et al. Molecular mechanisms of thyroid hormone effects on bone growth and function. *Mol Genet Metab*. 2002;75:17–30.
  31. Cheng SY, Leonard JL, Davis PJ. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr Rev*. 2010;31:139–70.
  32. Dale Abel E, Ahima RS, Boers ME, Elmquist JK, Wondisford FE. Critical role for thyroid hormone receptor  $\beta$ 2 in the regulation of paraventricular thyrotropin-releasing hormone neurons. *J Clin Invest*. 2001;107:1017–23.
  33. Abel ED, Boers ME, Pazos-Moura C, Moura E, Kaulbach H, Zakaria M, et al. Divergent roles for thyroid hormone receptor beta isoforms in the endocrine axis and auditory system. *J Clin Invest*. 1999;104:291–300.
  34. Brent GA. Mechanisms of thyroid hormone action. *J Clin Invest*. 2012;122:3035–43.
  35. Bassett JHD, Harvey CB, Williams GR. Mechanisms of thyroid hormone receptor-specific nuclear and extra nuclear actions. *Mol Cell Endocrinol*. 2003;213:1–11.
  36. Davis PJ, Leonard JL, Davis FB. Mechanisms of nongenomic actions of thyroid hormone. *Front Neuroendocrinol*. 2008;29:211–8.
  37. Hönes GS, Rakov H, Logan J, Liao XH, Werbenko E, Pollard AS, et al. Noncanonical thyroid hormone signaling mediates cardiometabolic effects in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2017;114:E11323–32.
  38. Lanni A, Moreno M, Goglia F. Mitochondrial Actions of Thyroid Hormone. *Compr Physiol*. 2016;6:1591–607.
  39. Lösel R, Wehling M. Nongenomic actions of steroid hormones. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2003;4:46–55.
  40. Kelly G. Peripheral metabolism of thyroid hormones: a review - *Altern Med Rev*. 2000;5:306–33.
  41. Murphy E, Williams GR. The thyroid and the skeleton. *Clin Endocrinol*. 2004;61:285–98.
  42. Bianco AC, Salvatore D, Gereben B, Berry MJ, Larsen PR. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocr Rev*. 2002;23:38–89.
  43. Van Der Deure WM, Peeters RP, Visser TJ. Molecular aspects of thyroid hormone

- transporters, including MCT8, MCT10, and OATPs, and the effects of genetic variation in these transporters. *J Mol Endocrinol.* 2010;44:1–11.
44. Duncan Bassett JH, Williams GR. Role of Thyroid Hormones in Skeletal Development and Bone Maintenance. *Endocr Rev.* 2016;37:135–87.
  45. Bell A, Gagnon A, Dods P, Papineau D, Tiberi M, Sorisky A. TSH signaling and cell survival in 3T3-L1 preadipocytes. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2002;283:1056–64.
  46. Kero J, Ahmed K, Wettschureck N, Tunaru S, Wintermantel T, Greiner E, et al. Thyrocyte-specific Gq/G11 deficiency impairs thyroid function and prevents goiter development. *J Clin Invest.* 2007;117:2399–407.
  47. Park ES, Kim H, Suh JM, Park SJ, You SH, Chung HK, et al. Involvement of JAK/STAT (Janus kinase/signal transducer and activator of transcription) in the thyrotropin signaling pathway. *Mol Endocrinol.* 2000;14:662–70.
  48. Vassart G, Dumont JE. The thyrotropin receptor and the regulation of thyrocyte function and growth. *Endocr Rev.* 1992;13:596–611.
  49. Nikrodhanond AA, Ortiga-Carvalho TM, Shibusawa N, Hashimoto K, Xiao HL, Refetoff S, et al. Dominant Role of Thyrotropin-releasing Hormone in the Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis. *J Biol Chem.* 2006;281:5000–7.
  50. Ghamari-Langroudi M, Vella KR, Srisai D, Sugrue ML, Hollenberg AN, Cone RD. Regulation of thyrotropin-releasing hormone-expressing neurons in paraventricular nucleus of the hypothalamus by signals of adiposity. *Mol Endocrinol.* 2010;24:2366–81.
  51. Hollenberg AN. The role of the thyrotropin-releasing hormone (TRH) neuron as a metabolic sensor. *Thyroid.* 2008;18:131–9.
  52. Sarne D. Effects of the Environment, Chemicals and Drugs on Thyroid Function. In: Feingold K, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.;2016.
  53. Babić Leko M, Gunjača I, Pleić N, Zemunik T. Environmental factors affecting thyroid-stimulating hormone and thyroid hormone levels. *Int J Mol Sci.* 2021;22:6521.
  54. Smals AGH, Ross HA, Kloppenborg PWC. Seasonal variation in serum T3 and T4 levels in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1977;44:998–1001.
  55. Ljunggren J -G, Kallner G, Tryselius M. The effect of body temperature on thyroid hormone levels in patients with non-thyroidal illness. *Acta Med Scand.* 1977;202:459–62.
  56. Epstein Y, Udassin R, Sack J. Serum 3,5,3'-triiodothyronine and 3,3',5'-

- triiodothyronine concentrations during acute heat load. *J Clin Endocrinol Metab.* 1979;49:677–8.
57. Merimee TJ, Fineberg ES. Starvation-induced alterations of circulating thyroid hormone concentrations in man. *Metabolism.* 1976;25:79–83.
  58. Suda AK, Pittman CS, Shimizu T, Chambers JB. The production and metabolism of 3,5,3'-triiodothyronine and 3,3',5-triiodothyronine in normal and fasting subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 1978;47:1311–9.
  59. Harris ARC, Fang SL, Vagenakis AG, Braverman LE. Effect of starvation, nutrient replacement, and hypothyroidism on in vitro hepatic T4 to T3 conversion in the rat. *Metabolism.* 1978;27:1680–90.
  60. Azizi F. Effect of dietary composition on fasting-induced changes in serum thyroid hormones and thyrotropin. *Metabolism.* 1978;27:935–42.
  61. Basolo A, Begaye B, Hollstein T, Vinales KL, Walter M, Santini F, et al. Effects of Short-Term Fasting and Different Overfeeding Diets on Thyroid Hormones in Healthy Humans. *Thyroid.* 2019;29:1209–12.
  62. Carlson HE, Drenick EJ, Chopra IJ, Hershman JM. Alterations in basal and TRH-stimulated serum levels of thyrotropin, prolactin, and thyroid hormones in starved obese men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1977;45:707–13.
  63. Silva JE, Dick TE, Larsen PR. The contribution of local tissue thyroxine monodeiodination to the nuclear 3,5,3'-triiodothyronine in pituitary, liver, and kidney of euthyroid rats. *Endocrinology.* 1978;103:1196–207.
  64. Ullrich IH, Peters PJ, Albrink MJ. Effect of low-carbohydrate diets high in either fat or protein on thyroid function, plasma insulin, glucose, and triglycerides in healthy young adults. *J Am Coll Nutr.* 1985;4:451–9.
  65. Glass AR, Burman KD, Dahms WT, Boehm TM. Endocrine function in human obesity. *Metabolism.* 1981;30:89–104.
  66. World Health Organization. Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination : a guide for programme managers. 3. World Health Organization; 2007. 97 str.
  67. Eastman CJ, Zimmermann MB. The Iodine Deficiency Disorders. In: Feingold K, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2018.
  68. Wolff J, Chaikoff I, Goldberg R, Meier J. The temporary nature of the inhibitory action of excess iodine on organic iodine synthesis in the normal thyroid. *Endocrinology.* 1949;45:504–13.



69. Winther KH, Rayman MP, Bonnema SJ, Hegedüs L. Selenium in thyroid disorders - essential knowledge for clinicians. *Nat Rev Endocrinol.* 2020;16:165–76.
70. Wu Q, Rayman MP, Lv H, Schomburg L, Cui B, Gao C, et al. Low Population Selenium Status Is Associated With Increased Prevalence of Thyroid Disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100:4037–47.
71. Zimmermann MB, Adou P, Torresani T, Zeder C, Hurrell RF. Effect of oral iodized oil on thyroid size and thyroid hormone metabolism in children with concurrent selenium and iodine deficiency. *Eur J Clin Nutr.* 2000;54:209–13.
72. Boyle JA, Greig WR, Fulton S, Dalakos TG. Excess dietary calcium and human thyroid function. *J Endocrinol.* 1966;34:531–2.
73. Das G, Taylor PN, Javaid H, Tennant BP, Geen J, Aldridge A, et al. Seasonal variation of vitamin D and serum thyrotropin levels and its relationship in euthyroid caucasian population. *Endocr Pract.* 2018;24:53–9.
74. Barchetta I, Baroni MG, Leonetti F, De Bernardinis M, Bertocchini L, Fontana M, et al. TSH levels are associated with vitamin D status and seasonality in an adult population of euthyroid adults. *Clin Exp Med.* 2015;15:389–96.
75. Leonard JL, Rosenberg IN. Thyroxine 5'-deiodinase activity of rat kidney: observations on activation by thiols and inhibition by propylthiouracil. *Endocrinology.* 1978;103:2137–44.
76. Dai G, Levy O, Carrasco N. Cloning and characterization of the thyroid iodide transporter. *Nature.* 1996;379:458–60.
77. Martino E, Bartalena L, Mariotti S, Aghini-Lombardi F, Ceccarelli C, Lippi F, et al. Radioactive iodine thyroid uptake in patients with amiodarone-iodine-induced thyroid dysfunction. *Acta Endocrinol.* 1988;119:167–73.
78. Roti E, Minelli R, Gardini E, Bianconi L, Braverman L. Thyrotoxicosis followed by hypothyroidism in patients treated with amiodarone. A possible consequence of a destructive process in the thyroid. *Arch Intern Med.* 1993;153:886–92.
79. Lazarus JH. The effects of lithium therapy on thyroid and thyrotropin-releasing hormone. *Thyroid.* 1998;8:909–13.
80. Schatz DL, Sheppard RH, Steiner G, Chandarlapaty CS, de Veber GA. Influence of heparin on serum free thyroxine. *J Clin Endocrinol Metab.* 1969;29:1015–22.
81. Northcutt RC, Stiel JN, Hollifield JW, Stant EG. The Influence of Cholestyramine on Thyroxine Absorption. *JAMA.* 1969 Jun 9;208:1857–61.
82. Shakir KMM, Chute JP, Aprill BS, Lazarus AA. Ferrous sulfate-induced increase in

- requirement for thyroxine in a patient with primary hypothyroidism. *South Med J*. 1997;90:637–9.
83. Ohnhaus EE, Burgi H, Burger A, Studer H. The effect of antipyrine, phenobarbitol and rifampicin on thyroid hormone metabolism in man. *Eur J Clin Invest*. 1981;11:381–7.
  84. Geffner DL, Azukizawa M, Hershman JM. Propylthiouracil blocks extrathyroidal conversion of thyroxine to triiodothyronine and augments thyrotropin secretion in man. *J Clin Invest*. 1975;55:224–9.
  85. Wilber JF, Utiger RD. The effect of glucocorticoids on thyrotropin secretion. *J Clin Invest*. 1969;48:2096–103.
  86. Burr WA, Griffiths RS, Ramsden DB, Black EG, Hoffenberg R, Meinhold H, et al. Effect of a single dose of dexamethasone on serum concentrations of thyroid hormones. *Lancet*. 1976;308:58–61.
  87. Bürgi H, Wimpfheimer C, Burger A, Zaunbauer W, Rösler H, Lemarchand-Béraud TS. Changes of circulating thyroxine, triiodothyronine and reverse triiodothyronine after radiographic contrast agents. *J Clin Endocrinol Metab*. 1976;43:1203–10.
  88. Tamaskar I, Bukowski R, Elson P, Ioachimescu AG, Wood L, Dreicer R, et al. Thyroid function test abnormalities in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with sorafenib. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2008;19:265–8.
  89. Sherman S, Gopal J, Haugen B, Chiu A, Whaley K, Nowlakha P, et al. Central Hypothyroidism Associated with Retinoid X Receptor–Selective Ligands. *N Engl J*. 1999;340:1075–9.
  90. Su Y, Damjanovski S, Shi Y, Shi Y. Molecular and cellular basis of tissue remodeling during amphibian metamorphosis. *Histol Histopathol*. 1999;14:175–83.
  91. Tata JR. Amphibian metamorphosis as a model for the developmental actions of thyroid hormone. *Mol Cell Endocrinol*. 2006;246:10–20.
  92. Huang Y-H, Tsai M-M, Lin K-H. Thyroid hormone dependent regulation of target genes and their physiological significance - PubMed. *Chang Gung Med J*. 2008;31:325–34.
  93. Malik R, Mellor N, Selden C, Hodgson H. Triiodothyronine enhances the regenerative capacity of the liver following partial hepatectomy. *Hepatology*. 2003;37:79–86.
  94. Safer JD, Crawford TM, Holick MF. Topical Thyroid Hormone Accelerates Wound Healing in Mice. *Endocrinology*. 2005;146:4425–30.
  95. Foster M, Montecino-Rodriguez E, Dorshking K. Proliferation of bone marrow pro-B cells is dependent on stimulation by the pituitary/thyroid axis. *J Immunol*.

- 999;163:5883–90.
96. Ohmura T, Karyal S, Locker J, Ledda-Columbano G, Columbano A, Shinozuka H. Induction of cellular DNA synthesis in the pancreas and kidneys of rats by peroxisome proliferators, 9-cis retinoic acid, and 3,3',5-triiodo-L-thyronine. *Cancer Res.* 1997;57:795–8.
  97. Bookout AL, Jeong Y, Downes M, Yu RT, Evans RM, Mangelsdorf DJ. Anatomical profiling of nuclear receptor expression reveals a hierarchical transcriptional network. *Cell.* 2006;126:789–99.
  98. Robson H, Siebler T, Stevens DA, Shalet SM, Williams GR. Thyroid hormone acts directly on growth plate chondrocytes to promote hypertrophic differentiation and inhibit clonal expansion and cell proliferation. *Endocrinology.* 2000;141:3887–97.
  99. Kassem M, Mosekilde L, Eriksen E. Effects of triiodothyronine on DNA synthesis and differentiation markers of normal human osteoblast-like cells in vitro - PubMed. *Biochem Mol Biol Int.* 1993;30:779–88.
  100. Capelo LP, Beber EH, Fonseca TL, Gouveia CHA. The monocarboxylate transporter 8 and L-type amino acid transporters 1 and 2 are expressed in mouse skeletons and in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Thyroid.* 2009;19:171–80.
  101. Abe S, Namba N, Abe M, Fujiwara M, Aikawa T, Kogo M, et al. Monocarboxylate transporter 10 functions as a thyroid hormone transporter in chondrocytes. *Endocrinology.* 2012;153:4049–58.
  102. Williams AJ, Robson H, Kester MHA, van Leeuwen JPTM, Shalet SM, Visser TJ, et al. Iodothyronine deiodinase enzyme activities in bone. *Bone.* 2008;43:126–34.
  103. Capelo LP, Beber EH, Huang SA, Zorn TMT, Bianco AC, Gouveia CHA. Deiodinase-mediated thyroid hormone inactivation minimizes thyroid hormone signaling in the early development of fetal skeleton. *Bone.* 2008;43:921–30.
  104. Gouveia CHA, Christoffolete MA, Zaitune CR, Dora JM, Harney JW, Maia AL, et al. Type 2 Iodothyronine Selenodeiodinase Is Expressed throughout the Mouse Skeleton and in the MC3T3-E1 Mouse Osteoblastic Cell Line during Differentiation. *Endocrinology.* 2005;146:195–200.
  105. Lavery K, Hawley S, Swain P, Rooney R, Falb D, Alaoui-Ismaili MH. New insights into BMP-7 mediated osteoblastic differentiation of primary human mesenchymal stem cells. *Bone.* 2009;45:27–41.
  106. Bassett JHD, Williams GR. Critical role of the hypothalamic–pituitary–thyroid axis in bone. *Bone.* 2008;43:418–26.

107. Rivkees SA, Bode HH, Crawford JD. Long-term growth in juvenile acquired hypothyroidism: the failure to achieve normal adult stature. *N Engl J Med.* 1988;318:599–602.
108. Segni M, Leonardi E, Mazzoncini B, Pucarelli I, Pasquino AM. Special features of Graves' disease in early childhood. *Thyroid.* 1999;9:871–7.
109. Bernal J. Thyroid Hormones in Brain Development and Function. *Endotext.* Feingold K, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2022.
110. Silva JE. Thermogenic mechanisms and their hormonal regulation. *Physiol Rev.* 2006 Apr;86:435–64.
111. Ismail-Beigi F. Regulation of Na<sup>+</sup>,K<sup>(+)</sup>-ATPase expression by thyroid hormone - PubMed. *Semin Nephrol.* 1992;12:44–8.
112. Simonides WS, Thelen MHM, Van der Linden CG, Muller A, Van Hardeveld C. Mechanism of thyroid-hormone regulated expression of the SERCA genes in skeletal muscle: implications for thermogenesis. *Biosci Rep.* 2001;21:139–54.
113. De Meis L. Role of the sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase on heat production and thermogenesis. *Biosci Rep.* 2001;21:113–37.
114. Fox CS, Pencina MJ, D'Agostino RB, Murabito JM, Seely EW, Pearce EN, et al. Relations of thyroid function to body weight: cross-sectional and longitudinal observations in a community-based sample. *Arch Intern Med.* 2008;168:587–92.
115. Silva JE, Bianco SDC. Thyroid-adrenergic interactions: physiological and clinical implications. *Thyroid.* 2008;18:157–65.
116. Mittag J, Lyons DJ, Sällström J, Vujovic M, Dudazy-Gralla S, Warner A, et al. Thyroid hormone is required for hypothalamic neurons regulating cardiovascular functions. *J Clin Invest.* 2013;123:509–16.
117. Lopez D, Abisambra Socarrás JF, Bedi M, Ness GC. Activation of the hepatic LDL receptor promoter by thyroid hormone. *Biochim Biophys Acta.* 2007;1771:1216–25.
118. Goldberg IJ, Huang LS, Huggins LA, Yu S, Nagareddy PR, Scanlan TS, et al. Thyroid hormone reduces cholesterol via a non-LDL receptor-mediated pathway. *Endocrinology.* 2012;153:5143–9.
119. Chiang JYL. Bile acids: regulation of synthesis. *J Lipid Res.* 2009;50:1955–66.
120. Watanabe M, Houten SM, Matakai C, Christoffolete MA, Kim BW, Sato H, et al. Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. *Nature.* 2006;439:484–9.

121. Huang C, Freake HC. Thyroid hormone regulates the acetyl-CoA carboxylase PI promoter. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;249:704–8.
122. Jackson-Hayes L, Song S, Lavrentyev EN, Jansen MS, Hillgartner FB, Tian L, et al. A thyroid hormone response unit formed between the promoter and first intron of the carnitine palmitoyltransferase-1 $\alpha$  gene mediates the liver-specific induction by thyroid hormone. *J Biol Chem.* 2003;278:7964–72.
123. Mullur R, Liu YY, Brent GA. Thyroid Hormone Regulation of Metabolism. *Physiol Rev.* 2014;94:355–82.
124. Comte B, Vidal H, Laville M, Riou JP. Influence of thyroid hormones on gluconeogenesis from glycerol in rat hepatocytes: a dose-response study. *Metabolism.* 1990;39:259–63.
125. Aguayo-Mazzucato C, Zavacki AM, Marinelarena A, Hollister-Lock J, El Khattabi I, Marsili A, et al. Thyroid hormone promotes postnatal rat pancreatic  $\beta$ -cell development and glucose-responsive insulin secretion through MAFA. *Diabetes.* 2013;62:1569–80.
126. Furuya F, Shimura H, Yamashita S, Endo T, Kobayashi T. Liganded thyroid hormone receptor- $\alpha$  enhances proliferation of pancreatic beta-cells. *J Biol Chem.* 2010;285:24477–86.
127. Marsili A, Tang D, Harney JW, Singh P, Zavacki AM, Dentice M, et al. Type II iodothyronine deiodinase provides intracellular 3,5,3'-triiodothyronine to normal and regenerating mouse skeletal muscle. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011;301:818–24.
128. López M, Varela L, Vázquez MJ, Rodríguez-Cuenca S, González CR, Velagapudi VR, et al. Hypothalamic AMPK and fatty acid metabolism mediate thyroid regulation of energy balance. *Nat Med.* 2010;16:1001–8.
129. Bianco A, Sheng X, Silva J. Triiodothyronine amplifies norepinephrine stimulation of uncoupling protein gene transcription by a mechanism not requiring protein synthesis - PubMed. *J Biol Chem.* 1988;263:18168–75.
130. Gereben B, Zavacki AM, Ribich S, Kim BW, Huang SA, Simonides WS, et al. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. *Endocr Rev.* 2008;29:898–938.
131. Silva JE, Rabelo R. Regulation of the uncoupling protein gene expression. *Eur J Endocrinol.* 1997;136:251–64.
132. Obregon MJ. Thyroid hormone and adipocyte differentiation. *Thyroid.* 2008;18:185–95.

133. Seoane LM, Carro E, Tovar S, Casanueva FF, Dieguez C. Regulation of in vivo TSH secretion by leptin. *Regul Pept.* 2000;92:25–9.
134. Oppenheimer JH, Schwartz HL, Lane JT, Thompson MP. Functional relationship of thyroid hormone-induced lipogenesis, lipolysis, and thermogenesis in the rat. *J Clin Invest.* 1991;87:125–32.
135. Vanderpump M. The epidemiology of thyroid diseases. In: Werner and Ingbar's *The Thyroid: A Fundamental and Clinical Text*. 9. Philadelphia: JBLippincott-Raven; 2005. str. 398–496.
136. Canaris GJ, Manowitz NR, Mayor G, Ridgway EC. The Colorado thyroid disease prevalence study. *Arch Intern Med.* 2000;160:526–34.
137. Gamulin S, Marušić M, Krvavica S. *Patofiziologija*. Zagreb: Jugoslavenska medicinska naklada; 1988. 348 str.
138. Ivančević D, Dodig D, Kusić Z. *Klinička nuklearna medicina*. Zagreb: Medicinska naklada; 1999. 215 str.
139. Lamberg BA. Endemic goitre-iodine deficiency disorders. *Ann Med.* 1991;23:367–72.
140. Hollowell JG, Staehling NW, Dana Flanders W, Harry Hannon W, Gunter EW, Spencer CA, et al. 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;87:489–99.
141. Stevenson J, Marsh M. *An atlas of osteoporosis*. London: Informa; 2007. 96 str.
142. Rizzoli R. *Atlas of Postmenopausal Osteoporosis*. 3. London: Current Medicine Group; 2010. 118 str.
143. Murshed M, Harmey D, Millán JL, McKee MD, Karsenty G. Unique coexpression in osteoblasts of broadly expressed genes accounts for the spatial restriction of ECM mineralization to bone. *Genes Dev.* 2005;19:1093–104.
144. Adler C-P. *Bone Diseases*. New York, NY: Springer-Verlag; 2000. 589 str.
145. Bonewald LF. Osteocytes as dynamic multifunctional cells. *Ann N Y Acad Sci.* 2007;1116:281–90.
146. Rodan S, Duong T, Cathepsin K. A new molecular target for osteoporosis. *BoneKey.* 2008;5:16–24.
147. Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. *Osf2/Cbfa1*: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell.* 1997;89:747–54.
148. Baron R, Rawadi G. Targeting the Wnt/beta-catenin pathway to regulate bone formation in the adult skeleton. *Endocrinology.* 2007;148:2635–43.

149. Seeman E, Delmas PD. Bone quality-the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med*. 2006;354:2250–61.
150. Lim SY, Bolster MB. Profile of romosozumab and its potential in the management of osteoporosis. *Drug Des Devel Ther*. 2017;11:1221–31.
151. Goltzman D. Studies on the mechanisms of the skeletal anabolic action of endogenous and exogenous parathyroid hormone. *Arch Biochem Biophys*. 2008;473:218–24.
152. Copp DH, Cameron EC, Cheney BA, Davidson AGF, Henze KG. Evidence for calcitonin--a new hormone from the parathyroid that lowers blood calcium. *Endocrinology*. 1962;70:638–49.
153. Nakamura T, Imai Y, Matsumoto T, Sato S, Takeuchi K, Igarashi K, et al. Estrogen prevents bone loss via estrogen receptor alpha and induction of Fas ligand in osteoclasts. *Cell*. 2007;130:811–23.
154. Raisz LG, Wiita B, Artis A, Bowen A, Schwartz S, Trahiotis M, et al. Comparison of the effects of estrogen alone and estrogen plus androgen on biochemical markers of bone formation and resorption in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:37–43.
155. Hamrick MW, Ferrari SL. Leptin and the sympathetic connection of fat to bone. *Osteoporos Int*. 2008;19:905–12.
156. Rauch F, Travers R, Glorieux FH. Cellular activity on the seven surfaces of iliac bone: a histomorphometric study in children and adolescents. *J bone Miner Res*. 2006;21:513–9.
157. Roy D, Swarbrick C, King Y, Pye S, Adams J, Berry J, et al. Differences in peak bone mass in women of European and South Asian origin can be explained by differences in body size. *Osteoporos Int*. 2005;16:1254–62.
158. Chevalley T, Bonjour JP, Ferrari S, Rizzoli R. Influence of age at menarche on forearm bone microstructure in healthy young women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:2594–601.
159. Vanderschueren D, Bouillon R. Androgens and bone. *Calcif Tissue Int*. 1995;56:341–6.
160. Hart N, Newton R, Tan J, Rantalainen T, Chivers P, Siafarikas A, et al. Biological basis of bone strength: anatomy, physiology and measurement. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2020;20:347–71.
161. Shepherd JA, Lu Y, Wilson K, Fuerst T, Genant H, Hangartner TN, et al. Cross-calibration and minimum precision standards for dual-energy X-ray absorptiometry:

- the 2005 ISCD Official Positions. *J Clin Densitom.* 2006;9:31–6.
162. World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: technical report series 843. Geneva: World Health Organization; 1994. 129 str.
  163. Kanis JA, McCloskey E V., Johansson H, Oden A, Melton LJ, Khaltayev N. A reference standard for the description of osteoporosis. *Bone.* 2008;42:467–75.
  164. Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ.* 1996;312:1254–9.
  165. Lotz JC, Cheal EJ, Hayes WC. Fracture prediction for the proximal femur using finite element models: Part I--Linear analysis. *J Biomech Eng.* 1991;113:353–60.
  166. Hans D, Šteňová E, Lamy O. The Trabecular Bone Score (TBS) Complements DXA and the FRAX as a Fracture Risk Assessment Tool in Routine Clinical Practice. *Curr Osteoporos Rep.* 2017;15:521–31.
  167. Winzenrieth R, Michelet F, Hans D. Three-dimensional (3D) microarchitecture correlations with 2D projection image gray-level variations assessed by trabecular bone score using high-resolution computed tomographic acquisitions: effects of resolution and noise. *J Clin Densitom.* 2013;16:287–96.
  168. Hans D, Goertzen AL, Krieg MA, Leslie WD. Bone microarchitecture assessed by TBS predicts osteoporotic fractures independent of bone density: the Manitoba study. *J bone Miner Res.* 2011;26:2762–9.
  169. Sawyer A, Bachrach L, Fung E. *Bone Densitometry in Growing Patients, Guidelines for Clinical Practice.* Totowa, New Jersey: Human Press; 2007. 226 str.
  170. Calvo M, Eyre D, Gundberg C. Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover. *Endocr Rev.* 1996;17:333–68.
  171. Khlosa S, Kleerekoper M. Biochemical markers of bone turnover. In: *Primer on the metabolic bone disease and disorders of bone metabolism.* Washinton: American Society for Bone and Mineral Research; 2003. str. 166–72.
  172. Taylor A, Lueken S, Libanati C, Baylink D. Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of bone metabolism. *Rheum Dis Clin North Am.* 1994;20:589–607.
  173. Hanson DA, Weis MAE, Bollen A -M, Maslan SL, Singer FR, Eyre DR. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptides in urine. *J bone Miner Res.* 1992;7:1251–8.
  174. Garnero P, Gineyts E, Arbault P, Christiansen C, Delmas PD. Different effects of



- bisphosphonate and estrogen therapy on free and peptide-bound bone cross-links excretion. *J bone Miner Res.* 1995;10:641–9.
175. Hassager C, Risteli J, Risteli L, Jensen SB, Christiansen C. Diurnal variation in serum markers of type I collagen synthesis and degradation in healthy premenopausal women. *J bone Miner Res.* 1992;7:1307–11.
  176. Christgau S. Circadian variation in serum CrossLaps concentration is reduced in fasting individuals. *Clin Chem.* 2000;46:431.
  177. Prestwood KM, Pilbeam CC, Burleson JA, Woodiel FN, Delmas PD, Deftos LJ, et al. The short-term effects of conjugated estrogen on bone turnover in older women. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;79:366–71.
  178. Garnero P, Shih WJ, Gineyts E, Karpf DB, Delmas PD. Comparison of new biochemical markers of bone turnover in late postmenopausal osteoporotic women in response to alendronate treatment. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;79:1693–700.
  179. Chonchol M, Smogorzewski M, Stubbs J, Yu A. Disorders of calcium, magnesium, and phosphate balance. Philadelphia, PA: Elsevier Inc; 2019. 613 str.
  180. Blaine J, Chonchol M, Levi M. Renal Control of Calcium, Phosphate, and Magnesium Homeostasis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2015;10:1257–72.
  181. Peacock M. Calcium metabolism in health and disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5 Suppl 1:23–30.
  182. Tinawi M. Disorders of Calcium Metabolism: Hypocalcemia and Hypercalcemia. *Cureus.* 2021;13:e12420.
  183. Brown EM. The calcium-sensing receptor: physiology, pathophysiology and CaR-based therapeutics. *Subcell Biochem.* 2007;45:139–67.
  184. Pérez A V., Picotto G, Carpentieri AR, Rivoira MA, Peralta López ME, Tolosa De Talamoni NG. Minireview on regulation of intestinal calcium absorption. Emphasis on molecular mechanisms of transcellular pathway. *Digestion.* 2008;77:22–34.
  185. Yu ASL, Cheng MH, Angelow S, Günzel D, Kanzawa SA, Schneeberger E, et al. Molecular basis for cation selectivity in claudin-2-based paracellular pores: identification of an electrostatic interaction site. *J Gen Physiol.* 2009;133:111–27.
  186. Sato T, Courbebaisse M, Ide N, Fan Y, Hanai JI, Kaludjerovic J, et al. Parathyroid hormone controls paracellular Ca<sup>2+</sup> transport in the thick ascending limb by regulating the tight-junction protein Claudin14. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2017;114:E3344–53.
  187. Brown EM, Macleod RJ. Extracellular calcium sensing and extracellular calcium signaling. *Physiol Rev.* 2001;81:239–97.

188. Garrett JE, Capuano I V., Hammerland LG, Hung BCP, Brown EM, Hebert SC, et al. Molecular cloning and functional expression of human parathyroid calcium receptor cDNAs. *J Biol Chem.* 1995;270:12919–25.
189. Hofer AM, Brown EM. Extracellular calcium sensing and signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2003;4:530–8.
190. Ward DT. Calcium receptor-mediated intracellular signalling. *Cell Calcium.* 2004;35:217–28.
191. Huang Y, Zhou Y, Wong HC, Castiblanco A, Chen Y, Brown EM, et al. Calmodulin regulates Ca<sup>2+</sup>-sensing receptor-mediated Ca<sup>2+</sup> signaling and its cell surface expression. *J Biol Chem.* 2010;285:35919–31.
192. Kestenbaum B, Houillier P. *Comprehensive Clinical Nephrology. Disorders of calcium, phosphate, and magnesium metabolism.* In: Johnson R, Feehally J, Floege J, Tonelli M, editors. 6. Philadelphia, PA: Elsevier Inc; 2018. str. 124–41.
193. Goodman WG. Recent developments in the management of secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int.* 2001;59:1187–201.
194. Ho C, Conner DA, Pollak MR, Ladd DJ, Kifor O, Warren HB, et al. A mouse model of human familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe hyperparathyroidism. *Nat Genet.* 1995;11:389–94.
195. Riccardi D, Hall AE, Chattopadhyay N, Xu JZ, Brown EM, Hebert SC. Localization of the extracellular Ca<sup>2+</sup>/polyvalent cation-sensing protein in rat kidney. *Am J Physiol.* 1998;274.
196. Yamaguchi T, Chattopadhyay N, Kifor O, Butters RR, Sugimoto T, Brown EM. Mouse osteoblastic cell line (MC3T3-E1) expresses extracellular calcium (Ca<sup>2+</sup>o)-sensing receptor and its agonists stimulate chemotaxis and proliferation of MC3T3-E1 cells. *J Bone Miner Res.* 1998;13:1530–8.
197. Chattopadhyay N, Cheng I, Rogers K, Riccardi D, Hall A, Diaz R, et al. Identification and localization of extracellular Ca<sup>2+</sup>-sensing receptor in rat intestine. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol.* 1998;274:122–30.
198. Yano S, Brown EM, Chattopadhyay N. Calcium-sensing receptor in the brain. *Cell Calcium.* 2004;35:257–64.
199. Zhang C, Miller CL, Brown EM, Yang JJ. The calcium sensing receptor: from calcium sensing to signaling. *Sci China Life Sci.* 2015;58:14–27.
200. Dimke H, Hoenderop JG, Bindels RJ. Hereditary tubular transport disorders: implications for renal handling of Ca<sup>2+</sup> and Mg<sup>2+</sup>. *Clin Sci.* 2009;118:1–18.

201. Talmage R V., Mobley HT. Calcium homeostasis: reassessment of the actions of parathyroid hormone. *Gen Comp Endocrinol.* 2008;156:1–8.
202. Duque EJ, Elias RM, Moysés RMA. Parathyroid Hormone: A Uremic Toxin. *Toxins (Basel).* 2020;12:189.
203. Kumar R, Thompson JR. The Regulation of Parathyroid Hormone Secretion and Synthesis. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22:216–24.
204. Martin KJ, González EA, Slatopolsky E. Clinical consequences and management of hypomagnesemia. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20:2291–5.
205. Riccardi D, Brown EM. Physiology and pathophysiology of the calcium-sensing receptor in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010;298:485–99.
206. Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. *Physiol Rev.* 2016;96:365–408.
207. Felsenfeld AJ, Levine BS. Calcitonin, the forgotten hormone: does it deserve to be forgotten? *Clin Kidney. J* 2015;8:180–7.
208. Hans S, Levine S. Hypoparathyroidism. *Physiology, Parathyroid Hormone.* Khan M, Jose A, Sharma S, editors. Treasure Island (FL): StatPearls StatPearls Publishing; 2022.
209. Goyal A, Anastasopoulou C, Ngu M, Singh S. Hypocalcemia. *Physiology, Parathyroid Hormone.* Khan M, Jose A, Sharma S, editors. Treasure Island (FL): StatPearls StatPearls Publishing; 2022.
210. Khan M, Jose A, Sharma S. *Physiology, Parathyroid Hormone.* StatPearls Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.
211. Ureña P, Kong XF, Abou-Samra AB, Jüppner H, Kronenberg HM, Potts JT, et al. Parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor messenger ribonucleic acids are widely distributed in rat tissues. *Endocrinology.* 1993;133:617–23.
212. Feinstein TN, Wehbi VL, Ardura JA, Wheeler DS, Ferrandon S, Gardella TJ, et al. Retromer terminates the generation of cAMP by internalized PTH receptors. *Nat Chem Biol.* 2011;7:278–84.
213. Sutkeviciute I, Clark LJ, White AD, Gardella TJ, Vilardaga JP. PTH/PTHrP Receptor Signaling, Allostery, and Structures. *Trends Endocrinol Metab.* 2019;30:860–74.
214. Becker K, Nylén E, Choen R, Silva O, Snider R. Calcitonin: Structure, Molecular Biology, and Actions. *Principles of Bone Biology.* In: Bilezikian J, Raisz L, Rodan G, editors. Academic Press; 1996. str. 471–94.

215. Erdogan MF, Gursoy A, Kulaksizoglu M. Long-term effects of elevated gastrin levels on calcitonin secretion. *J Endocrinol Invest.* 2006;29:771–5.
216. Warshawsky H, Goltzman D, Rouleau MF, Bergeron JJM. Direct in vivo demonstration by radioautography of specific binding sites for calcitonin in skeletal and renal tissues of the rat. *J Cell Biol.* 1980;85:682–94.
217. Friedman J, Raisz LG. Thyrocalcitonin: inhibitor of bone resorption in tissue culture. *Science.* 1965;150:1465–7.
218. Pondel M. Calcitonin and calcitonin receptors: bone and beyond. *Int J Exp Pathol.* 2000;81:405–22.
219. Chen Y, Shyu JF, Santhanagopal A, Inoue D, David JP, Dixon SJ, et al. The calcitonin receptor stimulates Shc tyrosine phosphorylation and Erk1/2 activation. Involvement of Gi, protein kinase C, and calcium. *J Biol Chem.* 1998;273:19809–16.
220. Chambers TJ, Hall TJ. Cellular and molecular mechanisms in the regulation and function of osteoclasts. *Vitam Horm.* 1991;46:41–86.
221. Becker L, Nylèn E, Choen R, Silva O, Snider R. Calcitonin gene family of peptides. *Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism.* In: Becker K, editor. 2. Philadelphia: J. B. Lippincott & Co; 1995. str. 474–83.
222. Zaidi M, Bax B, Shankar V, Moonga B, Simon B, Alam A, et al. Dimensional analysis of osteoclastic bone resorption and the measurement of biologically active calcitonin. *Exp Physiol.* 1994;79:387–99.
223. Zheng MH, Fan Y, Wysocki S, Wood DJ, Papadimitriou JM. Carbonic anhydrase II gene transcript in cultured osteoclasts from neonatal rats: effect of calcitonin. *Cell Tissue Res.* 1994;276:7–13.
224. DiGirolamo DJ, Clemens TL, Kousteni S. The skeleton as an endocrine organ. *Nat Rev Rheumatol.* 2012;8:674–83.
225. Hauschka P V., Lian JB, Cole DE, Gundberg CM. Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone. *Physiol Rev.* 1989;69:990–1047.
226. Dirckx N, Moorer MC, Clemens TL, Riddle RC. The role of osteoblasts in energy homeostasis. *Nat Rev Endocrinol.* 2019;15:651–65.
227. Poser J, Esch F, Ling N, Price P. Isolation and sequence of the vitamin K-dependent protein from human bone. Undercarboxylation of the first glutamic acid residue - PubMed. *J Biol Chem.* 1980;255:8685–91.
228. Ishisaki A, Tokuda H, Yoshida M, Hirade K, Kunieda K, Hatakeyama D, et al. Activation of p38 mitogen-activated protein kinase mediates thyroid hormone-

- stimulated osteocalcin synthesis in osteoblasts. *Mol Cell Endocrinol.* 2004;214:189–95.
229. Kanno Y, Ishisaki A, Yoshida M, Nakajima K, Tokuda H, Numata O, et al. Adenylyl cyclase-cAMP system inhibits thyroid hormone-stimulated osteocalcin synthesis in osteoblasts. *Mol Cell Endocrinol.* 2005;229:75–82.
230. Price PA, Otsuka AS, Poser JW, Kristaponis J, Raman N. Characterization of a gamma-carboxyglutamic acid-containing protein from bone. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1976;73:1447–51.
231. van de Loo PGF, Soute BAM, van Haarlem LJM, Vermeer C. The effect of Gla-containing proteins on the precipitation of insoluble salts. *Biochem Biophys Res Commun.* 1987;142:113–9.
232. Boskey AL, Gadaleta S, Gundberg C, Doty SB, Ducy P, Karsenty G. Fourier transform infrared microspectroscopic analysis of bones of osteocalcin-deficient mice provides insight into the function of osteocalcin. *Bone.* 1998;23:187–96.
233. Hauschka P V., Carr SA. Calcium-Dependent  $\alpha$ -Helical Structure in Osteocalcin. *Biochemistry.* 1982;21:2538–47.
234. Ritter NM, Farach-Carson MC, Butler WT. Evidence for the formation of a complex between osteopontin and osteocalcin. *J Bone Miner Res.* 1992;7:877–85.
235. Hoang QQ, Sicheri F, Howard AJ, Yang DSC. Bone recognition mechanism of porcine osteocalcin from crystal structure. *Nature.* 2003;425:977–80.
236. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell.* 2007;130:456–69.
237. Oury F, Sumara G, Sumara O, Ferron M, Chang H, Smith CE, et al. Endocrine regulation of male fertility by the skeleton. *Cell.* 2011;144:796–809.
238. Wei J, Hanna T, Suda N, Karsenty G, Ducy P. Osteocalcin promotes  $\beta$ -cell proliferation during development and adulthood through Gprc6a. *Diabetes.* 2014;63:1021–31.
239. Korostishevsky M, Malkin I, Trofimov S, Pei Y, Deng HW, Livshits G. Significant association between body composition phenotypes and the osteocalcin genomic region in normative human population. *Bone.* 2012;51:688–94.
240. Xu H, Xiao W, Luo D, Liu YM, Zou L, Kuang H Bin. Association analysis of genetic polymorphisms and potential interaction of the osteocalcin (BGP) and ER-alpha genes with body mass index (BMI) in premenopausal Chinese women. *Acta Pharmacol Sin.* 2010;31:455–60.
241. Fulzele K, Riddle RC, DiGirolamo DJ, Cao X, Wan C, Chen D, et al. Insulin receptor

- signaling in osteoblasts regulates postnatal bone acquisition and body composition. *Cell*. 2010;142:309–19.
242. Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, Del Fattore A, DePinho RA, Teti A, et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. *Cell*. 2010;142:296–308.
243. Kim S, Lee JY, Im JA, Kim DW, Lee HS, Kim SH, et al. Association between serum osteocalcin and insulin resistance in postmenopausal, but not premenopausal, women in Korea. *Menopause*. 2013;20:1061–6.
244. Wei J, Karsenty G. An overview of the metabolic functions of osteocalcin. *Rev Endocr Metab Disord*. 2015;16:93–8.
245. Oury F, Khrimian L, Denny CA, Gardin A, Chamouni A, Goeden N, et al. Maternal and offspring pools of osteocalcin influence brain development and functions. *Cell*. 2013;155:228.
246. Khrimian L, Obri A, Ramos-Brossier M, Rousseaud A, Moriceau S, Nicot AS, et al. Gpr158 mediates osteocalcin's regulation of cognition. *J Exp Med*. 2017;214:2859–73.
247. Schweiger U, Weber B, Deuschle M, Heuser I. Lumbar bone mineral density in patients with major depression: evidence of increased bone loss at follow-up. *Am J Psychiatry*. 2000;157:118–20.
248. Yirmiya R, Bab I. Major depression is a risk factor for low bone mineral density: a meta-analysis. *Biol Psychiatry*. 2009;66:423–32.
249. Qian Z, Li H, Yang H, Yang Q, Lu Z, Wang L, et al. Osteocalcin attenuates oligodendrocyte differentiation and myelination via GPR37 signaling in the mouse brain. *Sci Adv*. 2021;7:eabi5811.
250. Berger JM, Karsenty G. Osteocalcin and the physiology of danger. *FEBS Lett*. 2022;596:665–80.
251. Hayashi Y, Kawakubo-Yasukochi T, Mizokami A, Takeuchi H, Nakamura S, Hirata M. Differential Roles of Carboxylated and Uncarboxylated Osteocalcin in Prostate Cancer Growth. *J Cancer*. 2016;7:1605–9.
252. Gardner TA, Lee SJ, Lee SD, Li X, Shirakawa T, Kwon DD, et al. Differential expression of osteocalcin during the metastatic progression of prostate cancer. *Oncol Rep*. 2009;21:903–8.
253. Pi M, Quarles LD. GPRC6A regulates prostate cancer progression. *Prostate*. 2012;72:399–409.
254. Mera P, Laue K, Ferron M, Confavreux C, Wei J, Galán-Díez M, et al. Osteocalcin

- Signaling in Myofibers Is Necessary and Sufficient for Optimum Adaptation to Exercise. *Cell Metab.* 2016;23:1078–92.
255. Lin X, Parker L, McLennan E, Zhang X, Hayes A, McConell G, et al. Recombinant uncarboxylated osteocalcin per se enhances mouse skeletal muscle glucose uptake in both extensor digitorum longus and soleus muscles. *Front Endocrinol.* 2017;8:330.
256. Steensberg A, Van Hall G, Osada T, Sacchetti M, Saltin B, Pedersen BK. Production of interleukin-6 in contracting human skeletal muscles can account for the exercise-induced increase in plasma interleukin-6. *J Physiol.* 2000;529:237–42.
257. Hüffmeier U, Tietze HU, Rauch A. Severe skeletal dysplasia caused by undiagnosed hypothyroidism. *Eur J Med Genet.* 2007;50:209–15.
258. Murphy E, Williams GR. The thyroid and the skeleton. *Clin Endocrinol.* 2004;61:285–98.
259. Faber J, Galloe AM. Changes in bone mass during prolonged subclinical hyperthyroidism due to L-thyroxine treatment: a meta-analysis. *Eur J Endocrinol.* 1994;130:350–6.
260. Uzzan B, Campos J, Cucherat M, Nony P, Boissel JP, Perret GY. Effects on bone mass of long term treatment with thyroid hormones: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81:4278–89.
261. Eriksen EF, Mosekilde L, Melsen F. Kinetics of trabecular bone resorption and formation in hypothyroidism: evidence for a positive balance per remodeling cycle. *Bone.* 1986;7:101–8.
262. Mosekilde L, Eriksen EF, Charles P. Effects of Thyroid Hormones on Bone and Mineral Metabolism. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 1990;19:35–63.
263. Williams G. Actions of thyroid hormones in bone. *Endokrynol Pol.* 2009;60:380–8.
264. Stevens DA, Harvey CB, Scott AJ, O’Shea PJ, Barnard JC, Williams AJ, et al. Thyroid hormone activates fibroblast growth factor receptor-1 in bone. *Mol Endocrinol.* 2003;17:1751–66.
265. Burch WM, Lebovitz HE. Triiodothyronine stimulates maturation of porcine growth-plate cartilage in vitro. *J Clin Invest.* 1982;70:496–504.
266. Mundy GP, Shapiro JL, Bandelin JG, Canalis EM, Raisz LG. Direct stimulation of bone resorption by thyroid hormones. *J Clin Invest.* 1976;58:529–34.
267. Allain TJ, Chambers TJ, Flanagan AM, McGregor AM. Tri-iodothyronine stimulates rat osteoclastic bone resorption by an indirect effect. *J Endocrinol.* 1992;133:327–31.
268. Abe E, Marians RC, Yu W, Wu X Bin, Ando T, Li Y, et al. TSH is a negative regulator

- of skeletal remodeling. *Cell*. 2003;115:151–62.
269. Baliram R, Chow A, Huber AK, Collier L, Ali MR, Morshed SA, et al. Thyroid and Bone: Macrophage-Derived TSH- $\beta$  Splice Variant Increases Murine Osteoblastogenesis. *Endocrinology*. 2013;154:4919–26.
270. Sampath TK, Simic P, Sendak R, Draca N, Bowe AE, O'Brien S, et al. Thyroid-stimulating hormone restores bone volume, microarchitecture, and strength in aged ovariectomized rats. *J Bone Miner Res*. 2007;22:849–59.
271. Yamoah K, Brebene A, Baliram R, Inagaki K, Dolios G, Arabi A, et al. High-mobility group box proteins modulate tumor necrosis factor- $\alpha$  expression in osteoclastogenesis via a novel deoxyribonucleic acid sequence. *Mol Endocrinol*. 2008;22:1141–53.
272. Rudan I, Marušić A, Janković S, Rotim K, Boban M, Lauc G, et al. “10 001 Dalmatians:” Croatia Launches Its National Biobank. *Croat Med J*. 2009;50:4–6.
273. Marendić M, Polić N, Matek H, Oršulić L, Polašek O, Kolčić I. Mediterranean diet assessment challenges: Validation of the Croatian Version of the 14-item Mediterranean Diet Serving Score (MDSS) Questionnaire. *PLoS One*. 2021;16:e0247269.
274. Hansen PS, Brix TH, Sørensen TIA, Kyvik KO, Hegedüs L. Major genetic influence on the regulation of the pituitary-thyroid axis: a study of healthy Danish twins. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:1181–7.
275. Leung AM, Braverman LE. Consequences of excess iodine. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10:136–42.
276. Winther KH, Bonnema SJ, Cold F, Debrabant B, Nybo M, Cold S, et al. Does selenium supplementation affect thyroid function? Results from a randomized, controlled, double-blinded trial in a Danish population. *Eur J Endocrinol*. 2015;172:657–67.
277. Jain RB. Thyroid function and serum copper, selenium, and zinc in general U.S. population. *Biol Trace Elem Res*. 2014;159:87–98.
278. Fontana L, Klein S, Holloszy JO, Premachandra BN. Effect of long-term calorie restriction with adequate protein and micronutrients on thyroid hormones. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91:3232–5.
279. Fisher D. Physiological variations in thyroid hormones: physiological and pathophysiological considerations. *Clin Chem*. 1996;42:135–9.
280. Barrows K, Snook JT. Effect of a high-protein, very-low-calorie diet on resting metabolism, thyroid hormones, and energy expenditure of obese middle-aged women.



- Am J Clin Nutr. 1987;45:391–8.
281. Chen X, Zheng X, Ding Z, Su Y, Wang S, Cui B, et al. Relationship of gender and age on thyroid hormone parameters in a large Chinese population. *Arch Endocrinol Metab.* 2020;64:52–8.
  282. Strich D, Karavani G, Edri S, Chay C, Gillis D. Ft3 is Higher in Males than in Females and Decreases Over the Lifespan. *Endocr Pract.* 2017;23:803–7.
  283. Park S, Kim WG, Jeon MJ, Kim M, Oh HS, Han M, et al. Serum thyroid-stimulating hormone levels and smoking status: Data from the Korean National Health and Nutrition Examination Survey VI. *Clin Endocrinol.* 2018;88:969–76.
  284. Brown SJ, Bremner AP, Hadlow NC, Feddema P, Leedman PJ, O’Leary PC, et al. The log TSH-free T4 relationship in a community-based cohort is nonlinear and is influenced by age, smoking and thyroid peroxidase antibody status. *Clin Endocrinol.* 2016;85:789–96.
  285. Mehran L, Amouzgar A, Delshad H, Azizi F. The Association of cigarette smoking with serum TSH concentration and thyroperoxidase antibody. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2012;120:80–3.
  286. Zhang Y, Shi L, Zhang Q, Peng N, Chen L, Lian X, et al. The association between cigarette smoking and serum thyroid stimulating hormone, thyroid peroxidase antibodies and thyroglobulin antibodies levels in Chinese residents: A cross-sectional study in 10 cities. *PLoS One.* 2019;14:e0225435.
  287. Gruppen EG, Kootstra-Ros J, Kobold AM, Connelly MA, Touw D, Bos JHJ, et al. Cigarette smoking is associated with higher thyroid hormone and lower TSH levels: the PREVEND study. *Endocrine.* 2020;67:613–22.
  288. Ha J, Lee J, Lim DJ, Lee JM, Chang SA, Kang M Il, et al. Association of serum free thyroxine and glucose homeostasis: Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *Korean J Intern Med.* 2021;36:S170–9.
  289. Abdel-Gayoum A. The Fasting Serum Insulin and Glucose Levels and the Estimated Insulin Resistance in Clinical and Subclinical Hyperthyroid Patients from Saudi Arabia. *Br Biomed Bull.* 2017;5:1–5.
  290. Wu S-J, Chang Y-H, Wei I-L, Kao M-D, Lin Y-C, Pan W-H. Intake levels and major food sources of energy and nutrients in the Taiwanese elderly. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2005;14:211–20.
  291. Wu S-J, Pan W-H, Yeh N-H, Chang H-Y. Dietary nutrient intake and major food sources: the Nutrition and Health Survey of Taiwan Elementary School Children 2001-

2002. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2007;16:518–33.
292. Zamora-Ros R, Rinaldi S, Tsilidis KK, Weiderpass E, Boutron-Ruault MC, Rostgaard-Hansen AL, et al. Energy and macronutrient intake and risk of differentiated thyroid carcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition study. *Int J Cancer.* 2016;138:65–73.
293. Iwen KA, Schröder E, Brabant G. Thyroid hormones and the metabolic syndrome. *Eur Thyroid. J* 2013;2:83–92.
294. Danforth E, Horton ES, O’Connell M, Sims EA, Burger AG, Ingbar SH, et al. Dietary-induced alterations in thyroid hormone metabolism during overnutrition. *J Clin Invest.* 1979;64:1336–47.
295. Bellastella G, Maiorino MI, Scappaticcio L, Casciano O, Petrizzo M, Caputo M, et al. TSH oscillations in young patients with type 1 diabetes may be due to glycemic variability. *J Endocrinol Invest.* 2018;41:389–93.
296. Kang JS, Pilkington JD, Ferguson D, Kim HK, Romsos DR. Dietary glucose and fat attenuate effects of adrenalectomy on energy balance in ob/ob mice. *J Nutr.* 1992;122:895–905.
297. Behall KM, Scholfield DJ, Hallfrisch J. The effect of particle size of whole-grain flour on plasma glucose, insulin, glucagon and thyroid-stimulating hormone in humans. *J Am Coll Nutr.* 1999;18:591–7.
298. Wu H, Flint AJ, Qi Q, Van Dam RM, Sampson LA, Rimm EB, et al. Association between dietary whole grain intake and risk of mortality: two large prospective studies in US men and women. *JAMA Intern Med.* 2015;175:373–84.
299. Prättälä RS, Groth M V., Oltersdorf US, Roos GM, Sekula W, Tuomainen HM. Use of butter and cheese in 10 European countries: a case of contrasting educational differences. *Eur J Public Health.* 2003;13:124–32.
300. Astrup A, Magkos F, Bier DM, Brenna JT, de Oliveira Otto MC, Hill JO, et al. Saturated Fats and Health: A Reassessment and Proposal for Food-Based Recommendations: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol.* 2020;76:844–57.
301. Das AK, Nanda PK, Dandapat P, Bandyopadhyay S, Gullón P, Sivaraman GK, et al. Edible Mushrooms as Functional Ingredients for Development of Healthier and More Sustainable Muscle Foods: A Flexitarian Approach. *Molecules.* 2021;26:2463.
302. Sharma R, Bharti S, Kumar KVSH. Diet and thyroid - myths and facts. *J Med Nutr Nutraceuticals.* 2014;3:60–5.

303. Nerhus I, Markhus MW, Nilsen BM, Øyen J, Maage A, Ødegård ER, et al. Iodine content of six fish species, Norwegian dairy products and hen's egg. *Food Nutr Res.* 2018;62:1291.
304. Katagiri R, Yuan X, Kobayashi S, Sasaki S. Effect of excess iodine intake on thyroid diseases in different populations: A systematic review and meta-analyses including observational studies. *PLoS One.* 2017;12:e0173722.
305. Belló AA, Covian MR. Rats with spontaneous high level of NaCl intake have hypothyroidism. *Physiol Behav.* 1991;50:1071–3.
306. Zhu S, Pang Y, Xu J, Chen X, Zhang C, Wu B, et al. Endocrine Regulation on Bone by Thyroid. *Front Endocrinol.* 2022;13:524.
307. Zofkova I. Bone tissue as a systemic endocrine regulator. *Physiol Res.* 2015;64:439–45.
308. Cheng S, Xing W, Pourteymoor S, Mohan S. Effects of Thyroxine (T4), 3,5,3'-triiodo-L-thyronine (T3) and their Metabolites on Osteoblast Differentiation. *Calcif Tissue Int.* 2016;99:435–42.
309. Christian N, Rhodes M, Adams C, Bragg S. Thyroid and Parathyroid Conditions: Hypothyroidism - FP Essent. 2022;514:18–23.
310. Sheely D, Pujare D. Endocrinopathies. *Med Clin North Am.* 2022;106:495–507.
311. Guañabens N, Filella X, Monegal A, Gómez-Vaquero C, Bonet M, Buquet D, et al. Reference intervals for bone turnover markers in Spanish premenopausal women. *Clin Chem Lab Med.* 2016;54:293–303.
312. Spiriduso WW, Francis KL, MacRae PG. Physical dimensions aging. New York IL, USA: Human Kinetics, Inc; 2004. 374 str.
313. Lee EY, Kim D, Kim KM, Kim KJ, Choi HS, Rhee Y, et al. Age-related bone mineral density patterns in Koreans (KNHANES IV). *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:3310–8.
314. Kim J, Park SK. Differences in Physical Characteristics of the Lower Extremity and Running Biomechanics Between Different Age Groups. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19:4320.
315. Avdagić SC, Barić IC, Keser I, Rumbak I, Štalić Z. Influence of Heredity and Environment on Peak Bone Density: A Review of Studies in Croatia. *Arh Hig Rada Toksikol.* 2012;63:11–5.
316. Warming L, Hassager C, Christiansen C. Changes in bone mineral density with age in men and women: a longitudinal study. *Osteoporos Int.* 2002;13:105–12.

317. Wang Y, Li F, Chu C, Zhang X, Zhang XY, Liao YY, et al. Early life body mass index trajectories and albuminuria in midlife: A 30-year prospective cohort study. *E Clinical Medicine*. 2022;48:101420.
318. Ekingen T, Sob C, Hartmann C, Rühli FJ, Matthes KL, Staub K, et al. Associations between hydration status, body composition, sociodemographic and lifestyle factors in the general population: a cross-sectional study. *BMC Public Health*. 2022;22:1–12.
319. Chi PJ, Hung SY, Hsiao FT, Liou HH, Tsai JP. Serum osteocalcin concentration as an independent biomarker of osteoporosis in patients with chronic kidney disease. *Clin Nephrol*. 2022;98:1–9.
320. Choi KH, Lee JH, Lee DG. Sex-related differences in bone metabolism in osteoporosis observational study. *Medicine (Baltimore)*. 2021;100:e26153.
321. Banjabia AA, Kannan K, Kumosani TA, Yousef JM, Abulnaja KO, Moselhy SS. Association of blood heavy metal levels with osteocalcin abnormality and incidence of osteoporosis in Saudi subjects. *Braz J Biol*. 2021;83:e248828.
322. Venkatesh D, Rajora P, Sagare S V, Bagga SK, Kaur P, Gandhi V. Plasma Osteocalcin Levels, Status of Oral Disease and Alteration in Mandibular Bone Density in Postmenopausal Women. *J Contemp Dent Pr*. 2020;21:916–21.
323. Liu Z, Chen R, Jiang Y, Yang Y, He L, Luo C, et al. A meta-Analysis of serum osteocalcin level in postmenopausal osteoporotic women compared to controls. *BMC Musculoskelet Disord*. 2019;20:1–7.
324. Kondo A, Otsuka A, Kato K, Matsushima-Nishiwaki R, Kuroyanagi G, Mizutani J, et al. AMP-activated protein kinase regulates thyroid hormone-stimulated osteocalcin synthesis in osteoblasts. *Int J Mol Med*. 2013;31:1457–62.
325. Fujita K, Tokuda H, Kainuma S, Kuroyanagi G, Yamamoto N, Matsushima-Nishiwaki R, et al. Resveratrol suppresses thyroid hormone-induced osteocalcin synthesis in osteoblasts. *Mol Med Rep*. 2017;16:2881–6.
326. Tsourdi E, Wallaschofski H, Rauner M, Nauck M, Pietzner M, Rettig R, et al. Thyrotropin serum levels are differentially associated with biochemical markers of bone turnover and stiffness in women and men: results from the SHIP cohorts. *Osteoporos Int*. 2016;27:719–27.
327. Polovina S, Popovic V, Duntas L, Milic N, Micic D. Frax score calculations in postmenopausal women with subclinical hypothyroidism. *Hormones (Athens)*. 2013;12:439–48.
328. Siru R, Alfonso H, Chubb SAP, Golledge J, Flicker L, Yeap BB. Subclinical thyroid

- dysfunction and circulating thyroid hormones are not associated with bone turnover markers or incident hip fracture in older men. *Clin Endocrinol.* 2018;89:93–9.
329. Nie X, Xu Y, Shen Y, Wang Y, Ma X, Bao Y. Suppressing Effect of Free Triiodothyronine on the Negative Association between Body Mass Index and Serum Osteocalcin Levels in Euthyroid Population. *Int J Endocrinol.* 2021;2021:6624516.
330. Van Der Deure WM, Uitterlinden AG, Hofman A, Rivadeneira F, Pols HAP, Peeters RP, et al. Effects of serum TSH and FT4 levels and the TSHR-Asp727Glu polymorphism on bone: the Rotterdam Study. *Clin Endocrinol.* 2008;68:175–81.
331. Kim HJ, Bae JC, Park HK, Byun DW, Suh K, Yoo MH, et al. Triiodothyronine levels are independently associated with metabolic syndrome in euthyroid middle-aged subjects. *Endocrinol Metab.* 2016;31:311–9.
332. Hwangbo Y, Kim JH, Kim SW, Park YJ, Park DJ, Kim SY, et al. High-normal free thyroxine levels are associated with low trabecular bone scores in euthyroid postmenopausal women. *Osteoporos Int.* 2016;27:457–62.
333. Deng T, Zhang W, Zhang Y, Zhang M, Huan Z, Yu C, et al. Thyroid-stimulating hormone decreases the risk of osteoporosis by regulating osteoblast proliferation and differentiation. *BMC Endocr Disord.* 2021;21:1–10.

## 11. KRATKI ŽIVOTOPIS

Rođena sam 12.01.1971. u Splitu. Osnovnu školu sam završila u Svibu, a srednju medicinsku, sanitarno-laboratorijski smjer u Splitu. Diplomirala sam 1996. g. na Medicinskom fakultetu u Zagrebu, Studij u Splitu. Dvogodišnji pripravnički staž odradila sam u KBC Split i u DZ Splitsko-dalmatinske županije. Nakon položenog državnog ispita, radila sam na HP Imotski, u ambulanta opće medicine DZ SDŽ do 2011. g. Poslijediplomski stručni studij 'Hitna i intenzivna medicina' završila sam u Zagrebu, 2001. - 2003. g. Od 2011. - 2014. g. odradila sam specijalistički staž iz nuklearne medicine na KZZNM KBC Split i u KBC Zagreb, te poslijediplomski specijalistički studij. Nakon položenog specijalističkog ispita 2011.g. zaposlena sam na KZZNM KBC Split, gdje sam zadnje četiri godine voditelj odjela za funkcijsku radiobiokemijsku dijagnostiku i liječenje.

2011. g. upisala sam doktorski studij 'Medicina utemeljena na dokazima' na Medicinskom fakultetu u Splitu. Od 2012. g. sudjelujem kao vanjski suradnik u nastavi na Medicinskom fakultetu u Splitu, kolegij Biofizika i Nuklearna medicina, na studiju Dentalne medicine u Splitu, kolegij Biofizika, te u nastavi kolegija Nuklearna medicina na Sveučilišnom odjelu zdravstvenih studija u Splitu.

### PROJEKTI:

Od 2020. suradnik HRZZ istraživačkog projekta „Reguliranje funkcije štitne i doštitne žlijezde i homeostaze kalcija u krvi“ broj 2593.

2014. - 2018. suradnik HRZZ istraživačkog projekta „Otkrivanje novih genskih lokusa uključenih u regulaciju funkcije štitne i doštitne žlijezde“, broj 1498.

### PUBLIKACIJE:

1. Pleić N, Brdar D, Gunjača I, Babić Leko M, Torlak V, Punda A, Polašek O, Hayward C, Zemunik T. Thyroid Hormones Are Not Associated with Plasma Osteocalcin Levels in Adult Population with Normal Thyroid Function. *Metabolites* 2022;12:719. doi: 10.3390/metabo12080719.

2. Strikić Đula I, Pleić N, Babić Leko M, Gunjača I, Torlak V, Brdar D, Punda A, Polašek O, Hayward C, Zemunik T. Epidemiology of Hypothyroidism, Hyperthyroidism and Positive Thyroid Antibodies in the Croatian Population. *Biology* 2022;11:394. .

3. Brdar D, Gunjača I, Pleić N, Torlak V, Knežević P, Punda A, Polašek O, Hayward C, Zemunik T. The effect of food groups and nutrients on thyroid hormone levels in healthy individuals. *Nutrition* 2021;91-92:111394. doi: 10.1016/j.nut.2021.111394.
4. Arapović A, Punda A, Brdar D, Capkun V, Bajo D, Veljacic D, Punda H, Simicic-Majce A, Saraga-Babic M, Vukojevic K, Saraga M. Types of Parenchymal Changes Diagnosed on DMSA Scans of Kidneys Affected by Different Grades of Vesicoureteral Reflux. *Med Sci Monit* 2021;27:e929617-1- 9.
5. Matana A, Boutin T, Torlak V, Brdar D, Gunjača I, Kolčić I, Boraska Perica V, Punda A, Polašek O, Barbalić M, Hayward C, Zemunik T. Genome-Wide Analysis Identifies Two Susceptibility Loci for Positive Thyroid Peroxidase and Thyroglobulin Antibodies. *J Clin Endocrinol Metab* 2020;105:dgz239. doi: 10.1210/clinem/dgz239.
6. Popović M, Matana A, Torlak V, Boutin T, Brdar D, Gunjača I, Kaličanin D, Kolčić I, Boraska Perica V, Punda A, Polašek O, Barbalić M, Hayward C, Zemunik T Genome-wide meta-analysis identifies novel loci associated with free triiodothyronine and thyroid-stimulating hormone. *J Endocrinol Invest* 2019;42:1171-80. doi: 10.1007/s40618-019-01030-9.
7. Matana A, Popović M, Boutin T, Torlak V, Brdar D, Gunjača I, Kolčić I, Boraska Perica V, Punda A, Rudan I, Polašek O, Barbalić M, Hayward C, Zemunik T. Genetic Variants in the ST6GAL1 Gene Are Associated with Thyroglobulin Plasma Level in Healthy Individuals *Thyroid* 2019;29:886-893. doi: 10.1089/thy.2018.0661.
8. Popović M, Matana A, Torlak V, Brdar D, Gunjača I, Boraska Perica V, Barbalić M, Kolčić I, Punda A, Polašek O, Hayward C, Zemunik T. The effect of multiple nutrients on plasma parathyroid hormone level in healthy individuals. *Int J Food Sci Nutr* 2019;70:638-44. doi: 10.1080/09637486.2018.1551335.
9. Penovic S, Roje Z, Brdar D, Gracan S, Bubic A, Vela J, Punda A. Globus Pharyngeus: A Symptom of Increased Thyroid or Laryngopharyngeal Reflux? *Acta Clin Croat* 2018; 57:110-15.
10. Eterovic D, Brdar D, Baric A, Sladic S, Omrcen T, Punda A. Physiological parameterization of thyroid radioiodine kinetics. *Nuclear Medicine Communications* 2018; 39:593–6.
11. Matana A, Brdar D, Torlak V, Boutin T, Popović M, Gunjača I, Kolčić I, Boraska Perica V, Punda A, Polašek O, Barbalić M, Hayward C, Zemunik T. Genome-wide meta-analysis identifies novel loci associated with parathyroid hormone level. *Mol Med* 2018;24:15. .
12. Matana A, Popović M, Boutin T, Torlak V, Brdar D, Gunjača I, Kolčić I, Boraska Perica V, Punda A, Polašek O, Hayward C, Barbalić M, Zemunik T. Genome-wide meta-analysis identifies novel gender specific loci associated with thyroid antibodies level in Croatians. *Genomics* 2019;111:737-43. doi: 10.1016/j.ygeno.2018.04.012.

13. Matana A, Torlak V, Brdar D, Popović M, Lozić B, Barbalić M, Perica VB, Punda A, Polašek O, Hayward C, Zemunik T. Dietary Factors Associated with Plasma Thyroid Peroxidase and Thyroglobulin Antibodies. *Nutrients* 2017;9:1186. doi: 10.3390/nu9111186.
14. Markovic V, Glavina G, Eterovic D , Punda A, Brdar D. Dual ectopic thyroid gland: sonography and scintigraphy of lingual and sublingual thyroid. *Clin Nucl Med* 2014; 39:556-8.
15. Markovic V, Eterovic D, Punda A, Brdar D, Tadic T, Grandic L. Unusual bone scan finding: Gigantic hepatic hemangioma visualized on bone scintigraphy. *Hell J Nucl Med* 2012;15:260.
16. Markovic V, Eterovic D, Punda A, Brdar D, Roglic J, Slobodnjak Z. Retrotracheal Secondary Intrathoracic Goiter Presenting as Cervical Thyroid Nodules on Ultrasonography. *Thyroid* 2011;21:91-2.