

# Analiza kliničkih karakteristika i fenotipova u bolesnika s Hashimotovim tireoiditisom

---

**Barić, Ana**

**Doctoral thesis / Disertacija**

**2019**

*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:171:703380>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-26**



*Repository / Repozitorij:*

[MEFST Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U SPLITU**  
**MEDICINSKI FAKULTET**

**Ana Barić**

**ANALIZA KLINIČKIH KARAKTERISTIKA I FENOTIPOVA U BOLESNIKA S  
HASHIMOTOVIM TIREOIDITISOM**

**Doktorska disertacija**

**Komentori:**

**Izv. prof. dr. sc. Vesna Boraska Perica**

**Izv. prof. dr. sc. prim. Ante Punda**

**Split, 2019.**

Ova doktorska disertacija izrađena je na Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu KBC-a Split i Katedri za medicinsku biologiju, Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu.

Istraživanje je provedeno u sklopu projekta „Cjelogenomska analiza povezanosti Hashimotovog tireoiditisa“ pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Vesne Boraske Perice. Projekt je financiran od strane Hrvatske zaklade za znanost (pod brojem 4950).

Na temelju ovog istraživanja dobitnica sam nacionalne stipendije L'oreal UNESCO „Za žene u znanosti“, 2019.

*Zahvaljujem se svojim mentorima, izv. prof. dr. sc. Vesni Boraska Perici i izv. prof. dr. sc. prim. Anti Pundi, koji su me usmjeravali u otkrivanju znanstvene djelatnosti, pružili su mi veliku podršku pri izradi ove disertacije i strpljivo ispravljali moje pogrešne korake. Zahvaljujem im se na svakom savjetu, prenesenom znanju i ukazanom povjerenju.*

*Neizmjerne sam ponosna na ljubav prema kliničkoj tireoidologiji koju mi je prenio moj mentor tijekom specijalističkog usavršavanja izv. prof. dr. sc. prim. Ante Punda. Zahvalnost koju osjećam prema tako predanom stručnjaku i mom uzoru nadilazi granice ovog rada.*

*Zahvaljujem se svim suradnicima na projektu koji su znanjem i radom pridonijeli našem zajedničkom uspjehu, a osobito dr. sc. Luki Brčiću koji mi je uvelike pripomogao u izradi ove disertacije.*

*Zahvaljujem se svim djelatnicima Kliničkog zavoda za nuklearnu medicinu KBC-a Split na pomoći pri provođenju ovog istraživanja i na podršci u svakodnevnom radu, divno je biti dio takvog kolektiva.*

*Zahvaljujem se mojoj obitelji koja mi je velika podrška u svemu što radim. Mojim dragim roditeljima Ivici i Šimi zahvalna sam na odrastanju u ljubavi, oni su izvor moje sigurnosti i sretna sam što su me naučili da je znanje jedini put prema uspjehu. Obitelj kakvu ste vi osnovali je moj najviši životni cilj, iznimno sam ponosna na vas. Zahvaljujem se mom bratu Vinku koji me uči drugačijim pogledima na svijet i što svojom kreativnošću unosi radost u našu svakodnevicu. Zahvaljujem se mojoj teti Marini jer me od malena podržava i vjeruje u mene.*

*Osobito sam zahvalna mom zaručniku Nikoli na neizmjerneoj ljubavi, njegova podrška i razumijevanje značajno mi olakšavaju put prema uspjehu.*

*Mome didu Vinku.*

## POPIS KRATICA

ECM - ekstracelularni matriks

TRH - tireoliberin

TSH - tireotropin

TPO - tireoidna peroksidaza

MIT - monojodtirozin

DIT - dijodtirozin

Tg - tireoglobulin

T3 - trijodtironin

T4 - tiroksin

TBG - globulin koji veže tiroksin

FT4 - slobodni tiroksin

FT3 - slobodni trijodtironin

rT3 - reverzni T3

T0 - tironin

T2 - dijodtironin

MCT8 - monokarboksilatni transporter 8

RNA - ribosinukleinska kiselina

TR - receptor za hormone štitnjače

TRE- engl. *thyroid hormone response elements*

DNA - deoksiribonukleinska kiselina

cGMP - ciklički gvanozin monofosfat

HT - Hashimotov tireoiditis

HLA - glavni antigen tkivne snošljivosti

CTLA - engl. *cytotoxic T-lymphocyte-associated protein*

CD - engl. *cluster of differentiation*

TgAt - tireoglobulinska protutijela

TPOAt - protutijela na tireoidnu peroksidazu

IgG - imunoglobulin razreda G

MCH - engl. *major histocompatibility complex*

Th - pomoćnički limfociti T

ICAM - unutarstanična adhezijska molekula

IL- interleukin

MsAt - mikrosomalna protutijela

HE - Hashimotov encefalitis

MAS - multipli autoimuni sindrom

ANA - antinuklearna protutijela

MPV - prosječan volumen trombocita

PSV - vršna sistolička brzina

Tc-99m - metastabilni tehnecij-99

I-123 - radioaktivni izotop joda 123

I -131 - radioaktivni izotop joda 131

LT4 - levotiroksin

LT3 - liotironin

DTE - engl. *desiccated thyroid extract*

KBC- Klinički bolnički centar

ETA - Europsko društvo za štitnjaču

BSA - ukupna površina tijela, engl. *body surface area*

BMI - indeks tjelesne mase, engl. *body mass index*

SE - standardna pogreška

OI - omjer izgleda

IP - interval pouzdanosti



## SADRŽAJ

<b>1.</b>	<b>UVOD.....</b>	<b>1</b>
1.1.	Embrionalni razvoj štitnjače.....	2
1.2.	Histologija štitnjače.....	2
1.3.	Anatomija štitnjače.....	3
1.4.	Funkcija i fiziologija štitnjače.....	4
1.5.	Autoimune bolesti štitnjače.....	8
1.5.1.	Hashimotov tireoiditis.....	9
1.5.1.1.	Etiologija Hashimotovog tireoiditisa.....	10
1.5.2.	Autoimuni procesi u Hashimotovom tireoiditisu.....	12
1.5.2.1.	Protutijela na tireoidnu peroksidazu.....	14
1.5.2.2.	Protutijela na tireoglobulin.....	14
1.5.3.	Utjecaj TPOAt i TgAt na druge organske sustave.....	15
1.5.4.	HT i pridružene bolesti.....	16
1.5.5.	Klinička slika Hashimotovog tireoiditisa.....	17
1.5.6.	Dijagnoza Hashimotovog tireoiditisa.....	19
1.5.7.	Liječenje Hashimotovog tireoiditisa.....	22
1.6.	Problematika istraživanja.....	24
<b>2.</b>	<b>CILJEVI RADA I HIPOTEZA.....</b>	<b>26</b>
<b>3.</b>	<b>ISPITANICI I POSTUPCI.....</b>	<b>28</b>
3.1.	Ispitanici.....	29
3.2.	Materijali i postupci.....	30
3.2.1.	Statistička raščlamba podataka.....	32
3.2.1.1.	Analiza kliničkih karakteristika ispitanika s HT-om.....	32
3.2.1.2.	Korelacije između fenotipskih karakteristika ispitanika i kliničkih karakteristika	33

	kojima se definira HT	
3.2.1.3.	Analiza prediktora simptoma hipotireoze.....	33
3.2.1.3.1.	Analiza razlike u pojavnosti simptoma između dvije skupine ispitanika (sa i bez terapije LT4)	34
<b>4.</b>	<b>REZULTATI</b> .....	<b>35</b>
4.1.	Kliničke karakteristike ispitanika s Hashimotovim tireoiditisom.....	36
4.2.	Korelacije između fenotipskih karakteristika ispitanika i kliničkih karakteristika kojima se definira HT	38
4.2.1.	Značajne korelacije u skupini ispitanika bez terapije.....	40
4.2.2.	Značajne korelacije u skupini ispitanika koji su na terapiji LT4.....	40
4.2.3.	Značajne korelacije u skupini svih ispitanika.....	41
4.3.	Analiza prediktora svih analiziranih simptoma.....	41
4.3.1.	Učestalost simptoma u skupini ispitanika bez terapije.....	41
4.3.2.	Analiza razlike u pojavnosti simptoma između dvije skupine ispitanika (sa i bez terapije LT4)	43
<b>5.</b>	<b>RASPRAVA</b> .....	<b>45</b>
5.1.	Pozitivna korelacija TgAt i broja simptoma u skupini ispitanika koji nisu na terapiji LT4	46
5.2.	Analiza prediktora simptoma hipotireoze.....	47
5.2.1.	Analiza razlike u pojavnosti simptoma između dvije skupine ispitanika (sa i bez terapije LT4)	48
5.3.	Ostale pronađene korelacije fenotipskih karakteristika ispitanika i kliničkih karakteristika kojima se definira HT	49
5.4.	Ograničenja i prednosti studije.....	51
<b>6.</b>	<b>ZAKLJUČCI</b> .....	<b>52</b>
<b>7.</b>	<b>LITERATURA</b> .....	<b>54</b>
<b>8.</b>	<b>SAŽETAK</b> .....	<b>74</b>

<b>9.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>76</b>
<b>10.</b>	<b>ŽIVOTOPIS .....</b>	<b>78</b>
<b>11.</b>	<b>DODATAK .....</b>	<b>83</b>

## **1. UVOD**

Štitnjača (štitna žlijezda, lat. *glandula thyreoidea*) je najveća endokrina žlijezda, bilobularnog izgleda, kod odraslih osoba teži oko 20 g.

Ranih 1660-ih godina štitnjača je prvi put opisana kao anatomska struktura, iako je prethodno struma već bila definirana kao pojam. Nekoliko godina kasnije ju je anatom Thomas Wharton nazvao imenom štitna žlijezda prema grčkoj riječi *thyreos* koja znači štit, a odnosi se na izgled tireoidne hrskavice uz koju je štitnjača neposredno smještena (1).

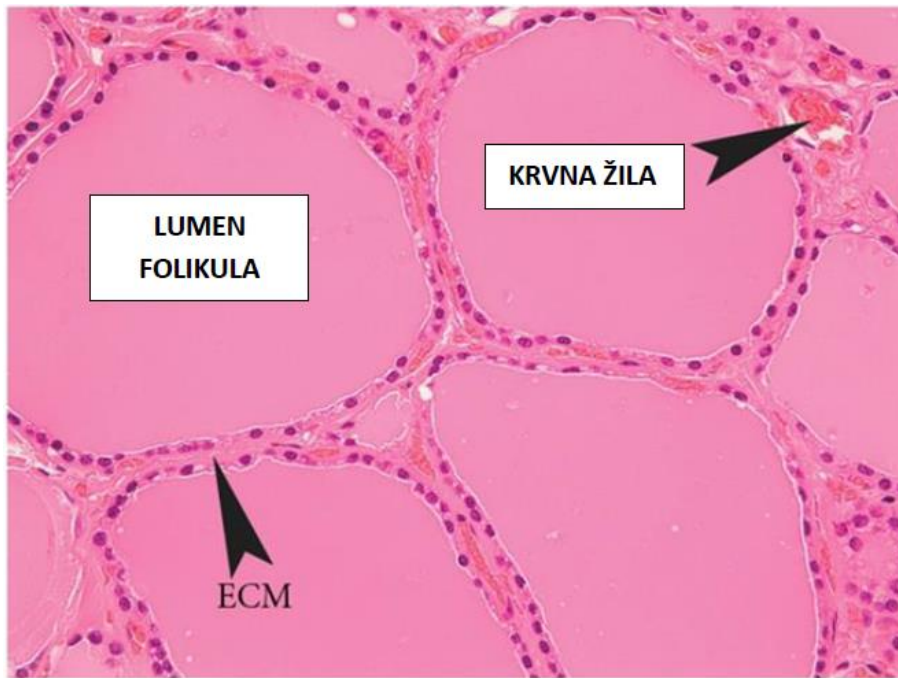
### **1.1. Embrionalni razvoj štitnjače**

Tijekom embrionalnog razvoja razvija se prva od svih endokrinih žlijezda, u 4. tjednu započinje sinteza tireoglobulina, a u 12. tjednu embrionalna štitnjača već ima sposobnost sinteze hormona tj. mjerljiva je sekrecija tiroksina iz fetalne štitnjače (2). Već u 6. tjednu gestacije započinje razvoj osovine hipotalamus-hipofiza-štitnjača, a u 7. tjednu fetalna štitnjača ima bilobularni izgled, dok se u 10. tjednu razvijaju folikularne stanice i koloid, uz sposobnost hvatanja joda (2). Štitnjača se razvija od osnove probavne cijevi te se tijekom embrionalnog razvoja odvija migracija žlijezde od baze jezika (lat. *foramen caecum*) do fiziološkog ležišta štitnjače u donjoj trećini vrata pretrahealno. Migracijski put žlijezde je važan jer može biti sjedište ektopičnog tkiva štitnjače s prevalencijom od 1/100,000 - 300,000 osoba, što može biti i jedino funkcijsko tkivo štitnjače (3).

### **1.2. Histologija štitnjače**

Histološki, osnovna funkcionalna i organizacijska jedinica štitnjače je folikul (šuplje tjelešce) čiji je lumen ispunjen koloidom, a okružen je jednoslojnim epitelom koji se većim dijelom sastoji od folikularnih stanica (Slika 1.). Folikularni je epitel izvana obložen mrežom retikulinskih vlakana, a struktura stanica se mijenja ovisno o funkciji pa je epitel u inaktivnoj fazi pločast, u sekrecijskoj fazi je kubičan, a u resorpcijskoj fazi je cilindričan (4).

Parafolikularne ili C stanice također su dio građe štitnjače, prisutne su unutar folikularnog epitela te izlučuju kalcitonin koji sudjeluje u metabolizmu kalcija.

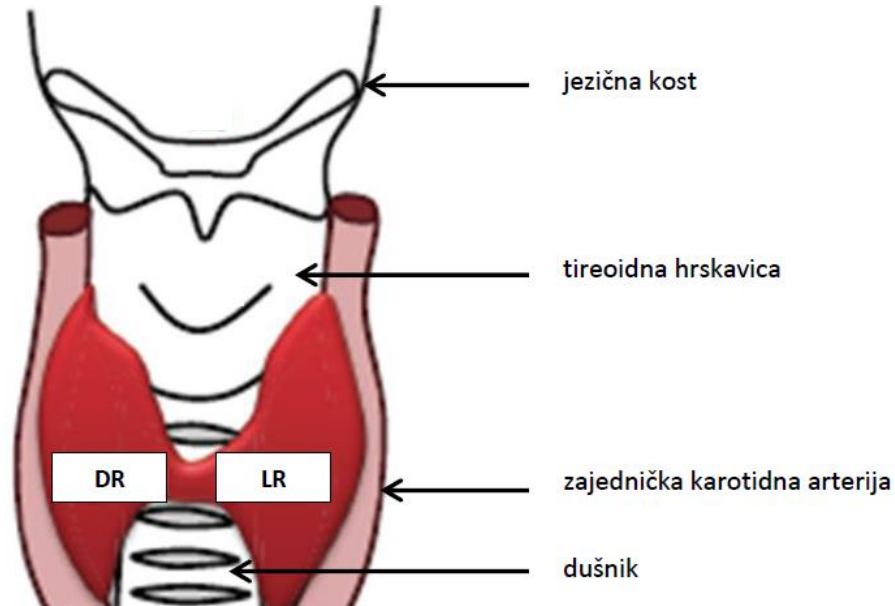


**Slika 1.** Histološka građa štitnjače. Lumen folikula ispunjen je koloidom, okružen je jednoslojnim epitelom koji je građen pretežno od folikularnih stanica, među folikulima nalazi se ekstracelularni matriks u kojeg su uklopljene kapilare. ECM - ekstracelularni matriks. Preuzeto i prilagođeno (5).

### 1.3. Anatomija štitnjače

Štitnjača je građena od dva režnja (desni režanj, lat. *lobus dexter* i lijevi režanj, lat. *lobus sinister*), povezuje ih parenhimski most (isthmus) koji prelazi preko prednje stijenke dušnika u razini od 2. do 4. trahealnog prstena (Slika 2.). Izvana je obložena vezivnom ovojnicom (lat. *capsula fibrosa*) koja oblikuje izdanke u parenhim i vezivnim pregradama odvaja režnjiće unutar svakog režnja (lobulusi). Krvna opskrba štitnjače sastoji se od parnih arterija - gornje štitaste arterije (lat. *a. thyroidea superior*) i donje štitaste arterije (lat. *a. thyroidea inferior*). U 10% slučajeva prisutna je i peta krvna žila, *a. thyroidea ima*, koja je ogranak zajedničke karotidne arterije ili brahiocefaličnog trunkusa, prelazi preko prednje stijenke dušnika i grana se po donjem polu žlijezde te kao anatomska aberacija može predstavljati poteškoće pri određenim operativnim zahvatima (6). Venski sustav štitne žlijezde čine tri para vena pa tako vensku krv s gornjeg pola režnjeva odvode *v. thyroideae superior*, s lateralnih dijelova režnjeva *v. thyroideae mediae*, ulijevaju se u unutarnju jugularnu venu.

Venski sustav donjeg pola režnjeva formira *plexus thyreoideus impar* koji se preko donje štitaste vene ulijeva u lijevu brahiocefaličnu venu (6).



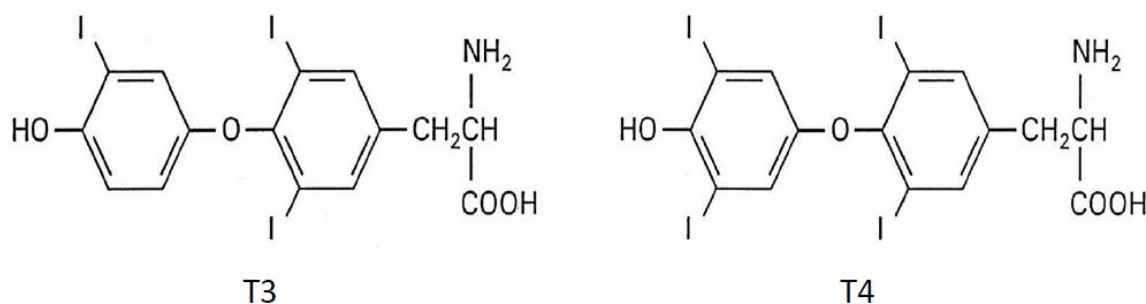
**Slika 2.** Shematski prikaz izgleda i smještaja štitnjače. DR - desni režanj štitnjače, LR - lijevi režanj štitnjače. Preuzeto i prilagođeno (7).

#### 1.4. Funkcija i fiziologija štitnjače

Funkcija štitnjače je pod kontrolom osovine hipotalamusa (luči tireoliberin, engl. *thyrotropin-releasing hormone*, TRH) i hipofize (luči tireotropin, engl. *thyroid stimulating hormone*, TSH), te je regulirana mehanizmom negativne povratne sprege. Tireotropin se izlučuje pulsatilno, na dvosatnoj razini, amplitude oko 0,6 mIU/L, a izlučivanje ovisi o razini hormona štitnjače čime TSH postaje vrlo osjetljiv pokazatelj funkcije štitnjače, što je uvaženo i u kliničkoj praksi (8). Sinteza hormona štitnjače započinje aktivnim transportom joda iz plazme preko bazalne membrane tireocita, regulira se preko TSH. Prijenos joda odvija se preko natrij-jodnog simportera, energetski je ovisan proces jer se odvija protivno koncentracijskom gradijentu uz 20 - 50 puta višu koncentraciju joda unutar štitnjače u odnosu na plazmu. Jod se unutar stanice prvo oksidira, a potom se veže na tirozinske ostatke na molekuli tireoglobulina. Proces organifikacije (vezanje joda na tirozinske nastavke) odvija se uz pomoć enzima

tireoidne peroksidaze (TPO), čime nastaje monojodtirozin (MIT) i dijodtirozin (DIT). Upravo su protein tireoglobulin i enzim TPO glavni ciljni antigeni kod autoimune bolesti štitnjače (9). Tireoidna peroksidaza je membranski vezan protein, a nalazi se na apikalnoj strani površine tireocita, homodimer (oko 100 kDa monomera) iz skupine hem proteina (10).

Tireoglobulin (Tg) je veliki dimerni glikoprotein molekularne mase 660 kDa, sedimentacijskog koeficijenta 19S, u odnosu na druge proteine u tijelu jedinstven je po velikom sadržaju jodiniranih aminokiselina. Molekulu Tg-a karakterizira heterogenost u sadržaju hormona, glikolizacije i veličine, a sadrži prosječno oko 2 - 3 molekule tiroksina i 0,3 molekule trijodtironina (11). Sintaza Tg-a odvija se u endoplazmatskom retikulumu tireocita i kontrolirana je razinom TSH. Tireoglobulin je solubilna te je prisutan i u serumu, a u fiziološkim uvjetima razina može biti i do 48.7 ng/mL (12). Više razine Tg-a fiziološki su prisutne kod novorođenčadi te kod poremećaja štitnjače kao što su hipertireoza, upalne bolesti štitnjače, difuzna i polinodozna struma (13). Razina Tg-a povezana je i s unosom joda te je Tg u serumu pouzdan pokazatelj jednog statusa (8, 14). S obzirom na to da je štitnjača jedini izvor Tg-a, u bolesnika koji su liječeni zbog dobro diferenciranog karcinoma štitnjače nakon totalne tireoidektomije i radiojodne ablacije, on postaje vrlo osjetljiv tumorski marker (15). Jodtirozini na molekuli tireoglobulina nemaju biološku aktivnost i prekursori su hormona štitnjače. U odnosu na druge endokrine sustave, biosinteza se hormona štitnjače razlikuje po tome što se odvija izvan stanice, u lumenu folikula. Oksidativnim procesom spajanja MIT-a i DIT-a nastaju biološki aktivni hormoni trijodtironin (T3) i tetrajodtironin (tiroksin, T4) (Slika 3.).



**Slika 3.** Strukturni prikaz T3 (3,5,3'-trijodtironin) i T4 (3,5,3',5'-tetrajodtironin).

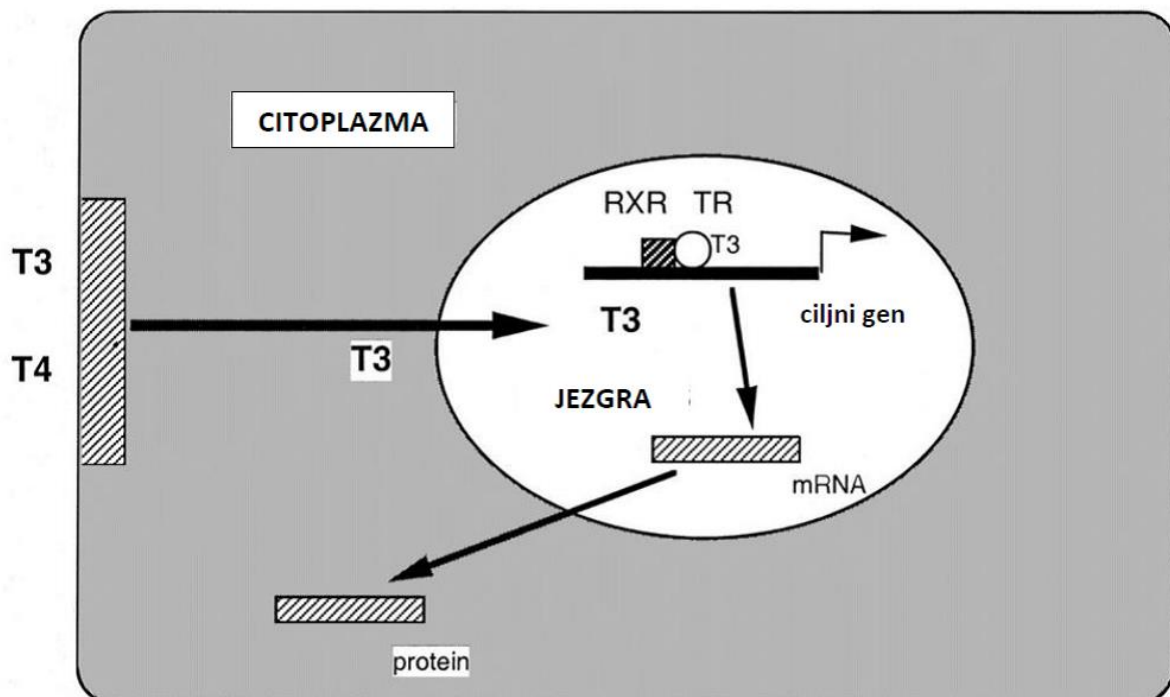


Visoke koncentracije Tg-a unutar lumena folikula (100 - 400 ng/mL) omogućavaju brzo otpuštanje hormona štitnjače u krvotok. Tireotropin potiče pinocitozu koloida nakon čega dolazi do proteolize Tg-a unutar stanice i oslobađanja hormona štitnjače. Trijodtironin je metabolički aktivan, samo se manjim dijelom direktno proizvodi u štitnjači a većim dijelom nastaje perifernom konverzijom iz T4 pomoću enzima 5'dejodinaze. Iako se T4 smatra prohormonom dokazana je i njegova metabolička aktivnost, uglavnom negenomska (16). Poluživot T4 iznosi 7 dana, a T3 oko 24 sata.

Hormoni štitnjače su netopivi u vodi te su u serumu vezani na proteinske nosače (engl. *thyroxine binding globulin*, TBG; transtiretin, albumin) na što mogu utjecati brojna fiziološka stanja i bolesti. Znatno manji udio hormona, oko 0,03% T4 (*free T4*, FT4) i 0,3% T3 (*free T3*, FT3), je u slobodnom obliku (17) te zbog svoje postojanosti vjerodostojnije prikazuje funkcijski status štitnjače. Tireoglobulin sadrži 10 - 20 puta veću količinu T4 u odnosu na T3, a većina T3 unutar štitnjače nastaje dejodinacijom iz T4. Manji dio hormona štitnjače čine i obrnuti oblik T3 (reverzni T3, rT3), tironin (T0) i dijodtironin (T2) koji nemaju značajnu biološku aktivnost. Hormoni štitnjače u perifernim tkivima podliježu različitim metaboličkim procesima kojima se modulira njihova djelatnost, a to su prije svega dejodinacija potom konjugacija, deaminacija i dekarboksilacija (18).

Dejodinaze enzimskom aktivnošću uklanjaju molekulu joda na unutarnjem ili vanjskom prstenu hormona štitnjače čime djeluju na njihovu strukturu i aktivnost. Uklanjanjem joda na vanjskom prstenu T4 dolazi do stvaranja aktivnog oblika T3. Nasuprot tome, dejodinacijom na unutarnjem prstenu T4 nastaje inaktivni oblik rT3. Trijodtironin se također inaktivira dejodinacijom na unutarnjem prstenu. Tri vrste dejodinaza različito su zastupljene u tkivima, njihova je funkcija regulirana i razinom hormona štitnjače te tako osiguravaju funkcionalnu homeostazu hormona u različitim stanjima. Dejodinaza tip 1 je selenoprotein, nalazi se na plazmatskoj membrani u parenhimu jetre, bubrega, štitnjače i hipofize, može katalizirati dejodinaciju na unutarnjem i vanjskom prstenu. Dejodinaza tip 2 je najzastupljenija u mozgu, nalazi se u endoplazmatskom retikulumu i dejodinacijom na vanjskom prstenu T4 osigurava dostatnu razinu T3, a manjim je dijelom zastupljena i u drugim tkivima kao što su hipofiza i smeđe masno tkivo (19). Dejodinaza tip 3 je visoko zastupljena u tkivu posteljice, također se nalazi na plazmatskoj membrani i katalizira dejodinaciju na unutarnjem prstenu čime inaktivira hormone (20).

Hormoni štitnjače reguliraju rast, razvoj i metabolizam, a ciljno mjesto njihovog djelovanja je stanična jezgra. Iako se prethodno smatralo da hormoni štitnjače pasivnom difuzijom ulaze u stanicu, danas je poznato to da su za ulazak hormona štitnjače u stanicu odgovorni transmembranski prijenosni proteini kao što je monokarboksilatni transporter 8 (engl. *monocarboxylate transporter 8*, MCT8)(21), a na isti se način prenose sintetizirani hormoni iz stanice u plazmu (22). Vezanjem na nuklearne receptore T3 regulira transkripciju gena i dovodi do sinteze glasničke RNA (Slika 4.). Postoji nekoliko izoformi receptora za hormone štitnjače, dvije osnovne su  $\alpha$  i  $\beta$  (engl. *thyroid hormone receptor*, TR $\alpha$ , TR $\beta$ ). Iako su različito zastupljeni u tkivima osnovna im je struktura slična, imaju visok afinitet i specifičnost za hormone štitnjače, uz 10-ak puta veći afinitet za T3 u odnosu na T4 (23). Unutar jezgre TR su vezani na određene regulatorne regije ciljnih gena (engl. *thyroid hormone response elements*, TRE), ovisno o vrsti stanice. Strukturno su slični receptorima steroidnih hormona, sadrže centralnu domenu koja se veže na DNA i građena je od dva cinkova prsta (17, 24).



**Slika 4.** Unutarstanično djelovanje T3. Vezanje hormona na nuklearni receptor potiče transkripciju gena i sintezu glasničke RNA te dalje sintezu proteina. RXR - retinoid X receptor; TR - receptor za hormone štitnjače; mRNA - glasnička RNA. Preuzeto i prilagođeno (17).

Nadalje, danas su ustanovljeni i brojni drugi negenomski procesi koje hormoni štitnjače potiču unutar stanice, a nastaju vezanjem hormona na različite proteine u citoplazmi koji predstavljaju citoplazmatske tireoidne receptore (25). Negenomski učinak hormona dovodi do porasta unutarstanične razine kalcija, dušikovog oksida i cikličkog gvanozin monofosfata (engl. *cyclic guanine monophosphate*, cGMP) te sudjeluje u regulaciji važnih fizioloških funkcija kao što su razina glukoze u krvi, razina triglicerida, tjelesna temperatura i frekvencija pulsa (26). Također, hormoni štitnjače djeluju i na aktivnost mitohondrija čime utječu na proizvodnju energije unutar stanice (27).

Hormoni štitnjače, osim rasta i razvoja, reguliraju važne metaboličke funkcije pa tako utječu na srčanu funkciju, povećavaju srčani minutni volumen, smanjuju sistemni vaskularni otpor, reguliraju razvoj i funkciju masnog tkiva, u jetri stimuliraju lipolizu i lipogenezu, reguliraju sintezu hormona hipofize (28). Iznimno je važna njihova uloga u razvoju mozga, u slučaju endemske gušavosti (nedostatak joda u prehrani) manjak hormona štitnjače tijekom embrionalnog i neonatalnog razdoblja dovodi do mentalne retardacije, neurološkog deficita i zastoja rasta, što je poznato pod pojmom endemski kretinizam (29).

### **1.5. Autoimune bolesti štitnjače**

Autoimune bolesti nastaju gubitkom tolerancije na vlastite antigene, uz genetsku predispoziciju značajna je uloga i čimbenika okoliša (9, 30). Posljednjih nekoliko desetljeća bilježi se porast incidencije, a najučestalije su autoimune bolesti štitnjače koje danas obuhvaćaju oko 5% svjetske populacije (31, 32).

Organ specifične autoimune bolesti otkrivene su 1956. g. upravo na modelu štitnjače koja je ujedno i najčešće sijelo organ-specifične autoimunosti (33). Autoimune bolesti štitnjače čine oko 30% svih autoimunih bolesti, uključuju Gravesovu bolest (Mb Basedow, difuzna toksična struma) i kronični limfocitni tireoiditis (kronični tireoiditis, limfomatozna struma, Hashimotov tireoiditis, HT) (34).

### 1.5.1. Hashimotov tireoiditis

Godine 1912. japanski je liječnik Hakaru Hashimoto po prvi put opisao limfomatoznu strumu štitnjače koja se razlikovala od već poznate koloidne strume i karcinoma štitnjače te je prihvaćena kao moguć početni oblik tada učestalog Riedelovog tireoiditisa (35, 36). Nekoliko godina kasnije Graham i suradnici su opisali limfomatoznu strumu kao zaseban entitet i u čast prvom istraživaču nazvali su bolest Hashimotov tireoiditis (37). Učestalost kroničnog limfocitnog tireoiditisa raste s dobi, s vršnom incidencijom oko 50 godina, no javlja se u svim dobnim skupinama pa je tako HT najučestaliji tireoiditis i u dječjoj dobi. Godišnja incidencija HT-a iznosi oko 0,3 – 1,5/1000, učestaliji je u žena, 5 - 20 puta (35, 38). Histološki, karakterizira ga infiltracija limfocita i plazma stanica u parenhimu štitnjače, a razlikuje se nekoliko kliničko-patoloških oblika: klasični oblik, fibrozni oblik, IgG4 tireoiditis, juvenilni oblik, hashitoksikoza te bezbolni ili tihi tireoiditis koji se može javiti sporadično ili postpartalno.

Fibrozni oblik HT-a učestaliji je u žena, javlja se u kasnijoj dobi u odnosu na klasični oblik, u početku je prisutna asimptomatska struma, a vremenom dolazi do atrofije žlijezde i hipotireoze.

IgG4 tireoiditis ima manju razliku u učestalosti u odnosu na spol, tri puta je učestaliji u žena nego u muškaraca, nešto je agresivnijeg tijeka s bržom progresijom hipotireoze, vršne incidencije u 50-im godinama (39).

Juvenilni oblik HT-a se javlja do 18 godina, za razliku od klasičnog oblika nešto je manja razlika u spolnoj pojavnosti, u djevojčica je učestaliji 6 puta u odnosu na dječake (40). Najčešće se javlja oko 11. godine, različitog je kliničkog tijeka, s remisijom i recidivima te povremenom ili trajnom hipotireozom, ali za razliku od klasičnog oblika ne karakterizira ga fibroza.

Hashitoksikozni oblik HT se najčešće javlja u dobi od 40 - 60 godina, pet puta je učestaliji u žena, razdoblje tireotoksikoze može trajati od 3 do 24 mjeseca, nakon čega uglavnom nastupi hipotireoza (41).

Bezbolni ili tihi tireoiditis može se javiti sporadično ili u postpartalnom razdoblju, učestaliji je u područjima s višim unosom joda (42).

### 1.5.1.1. Etiologija Hashimotovog tireoiditisa

Prema novijoj literaturi danas se HT etiološki može podijeliti na primarni i sekundarni. Primarni HT je učestaliji, nastaje spontano, bez jasnog kliničkog uzroka, dok je sekundarni HT induciran jatrogeno, najčešće kao posljedica liječenja imunomodulatorima (43). Sekundarni oblik HT-a je noviji entitet u literaturi, uvođenjem imunomodulatorne terapije u onkološkom liječenju sve je učestalija pojava induciranog tireoiditisa koji nastaje kao posljedica moduliranja imunog odgovora i pokretanja autoimunosti, pa su tako poremećaji štitnjače najučestalija endokrinološka nuspojava imunoterapije (44).

Već 1960.-ih godina otkriveno je da u nastanku bolesti sudjeluje genetska predispozicija (45), a tome u prilog govore i brojne studije koje opisuju povećanu učestalost HT-a u monozigotičnih blizanaca u odnosu na dizigotične (46, 47). Genetska predispozicija za HT uključuje različite skupine gena među kojima se izdvajaju glavni antigeni tkivne snošljivosti (engl. *human leukocyte antigens*, HLA-DR), geni T staničnog imunog odgovora (engl. *cytotoxic T-lymphocyte antigen-4*, CTLA-4), geni koji kodiraju antigene štitnjače i geni koji reguliraju imuni odgovor (CD 40, CD 226) te brojni drugi (48, 49). Brojni genski polimorfizmi uključeni su u nastanak HT-a, a heterogenost je genetičke pozadine prisutna među različitim etničkim i spolnim skupinama (50, 51). Kako je prethodno spomenuto, učestaliji je u žena (52), a učestalost raste s dobi (53). Genetički čimbenici čine oko 70% etiologije bolesti dok preostali dio čine okolišni čimbenici (54), od kojih su mnogi još neistraženi.

Okolišni čimbenici uključuju nutritivne čimbenike među kojima se izdvaja jod, selen, vitamin D i željezo.

Organizam odraslog čovjeka sadrži 25 - 50 mg joda, od čega je 50 - 70% u ekstratiroidnom tkivu, uglavnom u gastrosalivarnom sustavu (11). Funkcija štitnjače je ovisna o optimalnom unosu joda koji iznosi oko 150 mcg/dan, nešto su veće potrebe u trudnoći, oko 200 mcg/dan. Jod se u organizam unosi putem namirnica, apsorbira se u tankom crijevu te se svakim prolaskom krvi kroz žlijezdu otprilike 20% joda akumulira u štitnjači. Smanjen unos ili nedostatak joda dovodi do endemske gušavosti, koja je bila prisutna i na našim područjima. Godine 1953. u Hrvatskoj započela zakonska regulacija jodiranja kuhinjske soli čime je 40-ak godina kasnije uspješno eradicirana endemska gušavost te je danas osiguran optimalan unos joda kroz svakodnevne namirnice (55). U područjima s dostatnim unosom joda povećana je

učestalost HT-a te on postaje vodeći uzrok hipotireoze (56). Povećan unos joda povećava oksidativni stres i inducira apoptozu tireocita, čime dovodi do oštećenja parenhima žlijezde. Također, velika količina joda dovodi do povećane imunogenosti molekule Tg-a (57), otkrivanja novih epitopa i poticanja autoimunog odgovora (58). Povećane količine joda potiču aktivnost TPO i razinu oksidativnog stresa, nastaje oštećenje mebrane tireocita i dolazi do otpuštanja unutarstaničnih antigena. Nadalje, povišena razina joda potiče sazrijevanje dendritičkih stanica, limfocita T, limfocita B te proizvodnju protutijela i citokina čime se potiče upalna reakcija unutar parenhima (59).

Selen je sastavni dio dejodinaza, ali i katalitičkih enzima koji štite tireocite od djelovanja slobodnih radikala te nedostatak selena povećava učestalost HT-a (60). Štitnjača sadrži veliku količinu selena, oko 0,2 – 2 µg/g, uglavnom u obliku selenoproteina (61). Selen je važan mikronutrijent koji se unosi uglavnom hranom, u obliku selenocisteina u mesnim namirnicama, u obliku selenometionina u povrću; dok je u dodacima prehrani prisutan u anorganskom obliku (62). Unos selena razlikuje se po geografskim područjima, a snižena je razina među pušačima i u starijoj dobi. Preporučena dnevna količina unosa selena je oko 30 - 40 mcg/dan, a danas je sve više studija koje navode povoljne učinke povećanog unosa selena u dozi od 100 - 200 mcg/dan kod autoimunih bolesti štitnjače, uz napomenu da razina preko 400 mcg dnevno može biti toksična te dovesti do selenoze (63, 64). Među okolišnim čimbenicima važnu ulogu ima i vitamin D koji sudjeluje u homeostazi kalcija, no ima i pleotropni hormonski učinak. Sudjeluje u regulaciji imunog odgovora i nedostatak vitamina D povezan je s brojnim autoimunim bolestima, pa tako i s HT-om (65), ali prema nekim je autorima danas dvojbeno je li nedostatak vitamina D uzrok ili posljedica autoimunog tireoiditisa (66).

Nadalje, u nastanku HT-a sudjeluju i okolišni toksini kao što su pesticidi, poliaromatski ugljikovodici, poliklorirani bifenili (67) ali i niske doze zračenja, pojačane higijenske mjere, mutiparitet, stres i brojni drugi, još nedovoljno istraženi čimbenici (45).

Teorija molekularne mimikrije naglašava ulogu patogena u nastanku autoimunog kroničnog tireoiditisa, izloženost određenim peptidnim epitopima u okolišu dovodi do poticanja proizvodnje protutijela na endogene, vlastite antigene koji sadržavaju iste slijedove aminokiselina (68). Hashimotov se tireoiditis povezuje s brojnim okolišnim patogenima među

kojima se izdvajaju *Candida albicans*, *Yersinia enterocolitica*, *Borrelia burgdorferi*, humani parvovirus B19, virus hepatitisa C, *Helicobacter pylori* i brojni drugi (69). Upravo *Yersinia enterocolitica* i *Borrelia burgdorferi* sadrže proteine homologne antigenima štitnjače što dovodi do nastanka molekularne mimikrije (70). Bakterijska ili virusna infekcija može biti okidač HT-a, dovodi do porasta citokina koji dalje potiču autoreaktivne limfocite T koji su inače prisutni u štitnjači, ali je u fiziološkim uvjetima njihova aktivnost suprimirana. Važnu ulogu u autoreaktivnosti ima polimorfizam CTLA4 pa tako smanjena ekspresija CTLA4 dovodi do gubitka supresije autoreaktivnih limfocita T (71).

### 1.5.2. Autoimuni procesi u Hashimotovom tireoiditisu

Osnova autoimunog odgovora u HT-u je prezentacija antigena, oštećena funkcija supresorskih limfocita T dovodi do gubitka tolerancije na vlastite antigene, dolazi do stvaranja autoimunih protutijela koja su usmjerena na tireoglobulin (tireoglobulinska protutijela, TgAt) i tireoidnu peroksidazu (protutijela na tireoidnu peroksidazu, TPOAt) (9).

U bolesnika s HT-om povišena je razina citokina, između ostalog i interleukina 17 i 23. Citokini kao regulatori imunog odgovora potiču upalnu reakciju stimulacijom limfocita T i B. Moduliranjem rasta, razvoja i funkcije epitelnih stanica, citokini utječu na imunogenost folikularnih stanica i potiču prekid tolerancije na antigene štitnjače što je jedan od mogućih inicijalnih procesa u HT-u (72). Antigen prezentirajuće stanice (makrofazi i dendritičke stanice) izražavaju MHC II molekule, ali u HT-u dolazi do izražaja MHC II (engl. *major histocompatibility complex class II*) molekula i na tireocitima, čime se tireoidni antigeni pogrešno prezentiraju imunom sustavu (73). Poliklonalni limfociti B su glavni izvor autoimunih protutijela unutar štitnjače u HT-u. Povećano stvaranje citokina oštećuje čvrste međustanične veze u folikularnom epitelu što dovodi do izlaganja inače skrivenih antigena. Interleukin 1 (IL1) dovodi do prekida veze među folikularnim stanicama čime se TPO prezentira kao antigen i potiče imuni odgovor, preko oslabljenih međustaničnih veza TPOAt dolaze do TPO koja se nalazi na apikalnoj membrani tireocita. Antigen prezentirajuće stanice potiču aktivaciju i proliferaciju autoreaktivnih limfocita T i B. Pomoćnički limfociti T CD4+ potiču stvaranje citotoksičnih CD8+ stanica i aktivaciju limfocita B koji proizvode protutijela, napredovanjem upalnog odgovora dolazi do oštećenja folikularnog epitela i posljedičnog

oštećenja funkcije štitnjače (74). Osim humoralnog, u HT-u sudjeluje i stanično posredovani imuni odgovor. Osobito je važna uloga limfocita T, pomoćničke Th2 (pomoćnički limfociti T tipa 2, eng. *T2 helper cells*, Th2) stanice stimuliraju B limfocite na proizvodnju protutijela, dok Th1 (pomoćnički limfociti T tipa 1, eng. *T1 helper cells*, Th1) stanice aktiviraju citotoksične limfocite i makrofage. Pojačan Th1 imuni odgovor u HT-u potiče stanično posredovane imune reakcije i apoptozu folikularnih stanica (75, 76). Citokini povećavaju izražajnost ICAM 1 (intracelularna adhezijska molekula 1, engl. *intercellular adhesion molecule-1*, ICAM) molekule na membrani tireocita čime se potiče citotoksičnost posredovana limfocitima T. U HT-u, povećana je ekspresija proapoptotskog FAS liganda, a smanjena je ekspresija antiapoptotskog proteina Bcl-2, dok je obrnuta ekspresija prisutna u infiltrirajućim limfocitima, što u konačnici dovodi do povećane apoptoze folikularnih stanica i povećane otpornosti upalnih stanica (77). Programirana stanična smrt ili apoptoza je važan čimbenik homeostaze, prema novim istraživanjima povećanju apoptoze u HT-u doprinosi i smanjena ekspresija IL34 na stanicama folikularnog epitela štitnjače i u serumu bolesnika s HT-om, negativna korelacija tkivne ekspresije povezana je s povišenom razinom oba protutijela, a u serumu s povišenom razinom TgAt (78).

Kako je prethodno već spomenuto, dva su osnovna antigena u HT-u: TPO se nalazi unutar stanice i izložen je imunitetu tek nakon destrukcije tireocita; Tg je smješten unutar lumena folikula, solubiln je te je u maloj količini prisutan i u cirkulaciji. Antitireoidna protutijela odgovarajuće IgG klase imaju sposobnost fiksacije komplementa pa upravo komplement-ovisna protutijelima-posredovana citotoksičnost u većoj mjeri dovodi do oštećenja tkiva u odnosu prema T staničnoj i citokinima uzrokovanoj apoptozi (79). Iako su glavni antigeni u HT-u različiti, protutijela imaju nekoliko zajedničkih karakteristika, pretežno su IgG klase. Prema *in vitro* studijama s eksperimentalnim modelima inducirano g tireoiditisa, pojava TgAt prethodi pojavi TPOAt, sličan slijed prisutan je i obitelji bolesnika s juvenilnim oblikom HT-a (10). Strukturna razlika u Tg i TPO te solubilnost Tg-a može biti razlog ranijeg razvoja imunogenosti Tg-a u odnosu na TPO koji je dulje vremena zaštićen od prezentiranja imunom sustavu, stoga iako je prevalencija TgAb i TPOAt u HT slična, povišen titar TgAt može biti raniji prediktor bolesti (10). Upravo su TgAt prva otkrivena u HT-u, 1956. g. (80), a dvije godine kasnije otkrivena su i TPOAt, prethodnog naziva mikrosomalna protutijela (MsAt) (81). Limfociti B unutar parenhima štitnjače glavni su izvor autoimunih protutijela u HT-u, u



prilog tome govori značajno sniženje njihove razine nakon totalne tireoidektomije, ali manjim dijelom proizvode ih i ekstratireoidna limfna tkiva (82). Osim limfocita, u HT-u je povećan broj i plazma stanica što je histološki vidljivo osobito u područjima oštećenih folikula i tireocita.

#### *1.5.2.1. Protutijela na tireoidnu peroksidazu*

Protutijela na tireoidnu peroksidazu su poliklonalne vrste, s jednom imunodominantnom domenom, uglavnom klase IgG1, IgG4, IgG3 i vrlo malo IgA. Prisutna su u 10% opće populacije, ali kod bolesnika s HT-om imaju sposobnost fiksacije komplementa, destrukcije tireocita i kompetitivno inhibiraju enzimatsku aktivnost TPO te dovode do povećane razine oksidativnog stresa (83, 84). Aktivacijom komplementa dolazi i do subletalnog oštećenja stanice što uzrokuje metabolički poremećaj i neprimjeren odgovor na TSH (85). Titar TPOAt u korelaciji je s limfocitnom infiltracijom i hipoehogenošću ultrazvučnog prikaza parenhima štitnjače (86). Također, prediktor je oštećenja funkcije štitnjače, povišen titar TPOAt povećava učestalost progresije subkliničke u manifestnu hipotireozu s 2,6% na 4,3% (87-89).

#### *1.5.2.2. Protutijela na tireoglobulin*

Protutijela na Tg su uglavnom klase IgG1, IgG2, IgG4, IgG3 te vrlo malo IgA, a u općoj populaciji zabilježena su i protutijela IgM klase. Prisutna su u oko 10% zdravih ispitanika i u tom slučaju se vežu na različite epitope na molekuli Tg-a u odnosu na TgAt u bolesnika s HT-om (11, 90). Molekula Tg-a ima 40 epitopa, od kojih su 6 imunogeni (88). Povišena razina Tg-a, strukturna promjena molekule Tg-a kod povećanog sadržaja joda i povišene vrijednosti TSH dovode do porasta razine TgAt. Povećan sadržaj joda u molekuli Tg-a dovodi do stvaranja novih epitopa i strukturne izmjene molekule čime se također potiče imunogenost i to je jedan od razloga povećane učestalosti HT-a u zemljama s dostatnim ili povećanim unosom joda (57). Protutijela na Tg nemaju sposobnost fiksacije komplementa zbog prevelike prostorne razlike među epitopima (11).

Kod bolesnika s autoimunim bolestima štitnjače, pa tako i kod bolesnika s HT-om, prisutna su još i protutijela na različite tireoidne antigene kao što je natrij-jodni simporter, pendrin i TSH

receptor, međutim njihova uloga u HT-u za sada još nije dokazana te nisu klinički primjenjiva (91).

### **1.5.3. Utjecaj TPOAt i TgAt na druge organske sustave**

Protutijela na TPO prema *in vitro* istraživanjima imaju sposobnost vezanja na astrocite u moždanom parenhimu (92). Hashimotov encefalitis (HE) je rijedak, ali životno ugrožavajući neurološki poremećaj, koji se javlja u bolesnika s autoimunim bolestima štitnjače i visokim titrom tireoidnih protutijela u likvoru, ali unatoč brojnim studijama do danas nije razjašnjena uloga TPOAt i TgAt u etiologiji HE (93, 94). Također, novija istraživanja su otkrila izmjene u moždanoj perfuziji kod eutiroidnih bolesnika s HT-om, uz nepravilan obrazac kortikalne perfuzije u usporedbi s kontrolnim ispitanicima i hipoperfuziju u frontalnim režnjevima nalik na promjenama u sklopu HE-a, što dodatno ide u prilog utjecaju tireoidne autoimunosti na središnji živčani sustav (95).

Povišen titar tireoidnih protutijela povećava učestalost vestibularnih tegoba, neovisno o funkciji štitnjače, što također sugerira da autoimuni poremećaj u HT-u može imati učinak i na druge organske sustave (96, 97). Kod eutiroidnih bolesnika s HT-om povišen titar protutijela povezan je sa slušnim oštećenjima, pogotovo u nižim frekvencijama (98). *In vitro* studijama dokazan je učinak TPOAt na poremećaj moždanih funkcija, čime se mogu objasniti kognitivni i afektivni poremećaji koji su prisutni kod eutiroidnih bolesnika s HT-om (92, 99).

Tireoglobulinski receptori pronađeni su u tkivima izvan štitnjače: u koži, timusu i u mozgu, iako njihova uloga nije razjašnjena. Imunohistokemijskim metodama dokazana je prisutnost Tg-a u moždanom tkivu, točnije u glatkim mišićima žila, u limbičkom sustavu i u određenim neuronima (100). Nove spoznaje o prisutnosti glavnog proteina štitnjače, Tg-a, u mozgu i u limbičkom sustavu mogu pomoći u razumijevanju nastanka kognitivnih i drugih psihičkih promjena kod eutiroidnih bolesnika s HT-om te su potrebna dodatna istraživanja u tom području. Kod žena generativne dobi povišen titar TPOAt utječe na smanjenu plodnost (101). Tijekom trudnoće protutijela prelaze placentalnu barijeru i mogu poremetiti funkciju štitnjače u novorođenčadi (102). Nadalje, TPOAt mogu dovesti do komplikacija kao što su preeklampsija i abrupcija posteljice, povećavaju učestalost prijevremenog poroda te rizik spontanog pobačaja za 3 - 5 puta (103). Brojna su istraživanja ustanovila povezanost

tireoidnih protutijela i karcinoma dojke, a danas je poznato da je TPO prisutna u tkivu dojke iako njezina uloga nije u potpunosti razjašnjena (104, 105). Kod žena s karcinomom dojke, pozitivan titar TPOAt povezan je s boljim preživljenjem i duljim vremenom do progresije bolesti (106), a u novootkrivenom karcinomu povezani su s manjom učestalosti metastatske bolesti (107). Također, među bolesnicama s agresivnim i uznapredovalim karcinomom dojke, povišen titar TPOAt i TgAt ima povoljan učinak na preživljenje (108). Povišena razina TPOAt tijekom trudnoće povećava rizik za razvoj postpartalne depresije (109, 110). Kod bolesnika s HT-om povećana je učestalost glomerulopatija pa je tako mikroproteinurija prisutna u 45% slučajeva (111), a jedan od mogućih mehanizama oštećenja glomerularne membrane može biti odlaganje tireoglobulinskih imunokompleksa (112). Poznata je povezanost autoimunih bolesti štitnjače i kronične urtikarije (113), no prema novim istraživanjima protutijela na antigene štitnjače, točnije TPOAt, sudjeluju u etiologiji kronične urtikarije aktivacijom mastocita u koži (114), ali dovode do pojačane autoreaktivnosti kože i kod bolesnika bez kronične urtikarije (115). Povišen titar TPOAt i TgAt povećava učestalost sindroma fibromialgije te su na uzorcima tkiva skeletnih mišića eutiroidnih ispitanika s HT-om pronađene su histološke promjene u kapilarama s infiltratima upalnih stanica (116, 117, 118).

#### **1.5.4. HT i pridružene bolesti**

Autoimune bolesti nastaju zbog gubitka tolerancije na vlastite antigene, što dovodi do poremećaja sistemskog imuniteta. Pojava jedne autoimune bolesti povećava rizik i za druge autoimune bolesti koje su kod 25% bolesnika koegzistentno prisutne. Prije 30-ak godina definiran je pojam „multipli autoimuni sindrom“ (engl. *multiple autoimmune syndrome*, MAS) koji podrazumijeva koegzistenciju triju ili više autoimunih bolesti, s porastom učestalosti (119). Brojni MAS uključuju i autoimune bolesti štitnjače, pa je tako HT dio multiplog autoimunog sindroma uz vitiligo i ulcerozni kolitis (120) ili sistemski eritematoidni lupus i celijakiju (121). Nadalje, neki autori smatraju da su autoimune bolesti štitnjače pokazatelji narušene sistemske autoimunosti, tome u prilog ide činjenica da se antitireoidna protutijela manifestiraju i nekoliko godina prije drugih sistemskih autoimunih protutijela (122). Kod bolesnika s HT-om povećana je učestalost autoimunih bolesti kao što su Sjögrenov

sindrom, sistemska skleroza, reumatoidni artritis, astma, kronični atrofični gastritis, šećerna bolest tip I, alopecija, vitiligo i brojne druge (123). Antinuklearna antitijela (ANA) su markeri sistemskih autoimunih bolesti i prisutna su u oko 20 - 40% bolesnika s autoimunom bolesti štitnjače (49, 124). Kako je prethodno spomenuto, kod 30 - 40% bolesnika s HT-om prisutan je sindrom fibromialgije (118). U žena s HT-om povećana je učestalost sindroma policističnih jajnika (125). Među eutiroidnim bolesnicima s HT-om povećan je rizik aterosklerotskih komplikacija, čemu doprinosi i povećan prosječan volumen trombocita (eng. *mean platelet volume*, MPV) u bolesnika s HT-om (126, 127).

#### **1.5.5. Klinička slika Hashimotovog tireoiditisa**

Hashimotov tireoiditis je vodeći uzrok hipotireoze u zemljama s dostatnim unosom joda, ali oštećenje funkcije štitnjače nastaje postupno. Subklinička hipotireoza podrazumijeva blago povišene vrijednosti TSH uz uredne vrijednosti hormona štitnjače, prisutna je u oko 10% slučajeva (128), dok je učestalost manifestne hipotireoze niža i na području Europe iznosi oko 0,2 - 5,3% (129). Ukoliko se ne liječi, subklinička postupno prelazi u manifestnu hipotireozu, uz godišnju incidenciju i do 6% (130). Oštećenje funkcije štitnjače utječe na kliničku sliku HT-a pa su kod bolesnika s manifestnom hipotireozom vodeći simptomi umor, pospanost, nepodnošenje hladnoće, opstipacija, porast tjelesne težine, sniženo raspoloženje, letargija, suhoća kože, pojačano ispadanje kose i brojni drugi znakovi koji su posljedica usporenja metaboličkih funkcija. Neliječena hipotireoza ima značajne posljedice na zdravlje, krajnji stadij je životno ugrožavajuće stanje miksedemske kome sa smrtnošću od oko 40%, unatoč suportivnoj i nadomjesnoj terapiji (131). U bolesnika s blago povišenim vrijednostima TSH i urednim vrijednostima hormona štitnjače, također mogu biti prisutni simptomi hipotireoze kao što su letargija, umor, slabost mišića, kognitivne smetnje, a porastom vrijednosti TSH, osobito preko >10 mIU/L, povećava se i rizik za koronarnu bolest srca (132). Sve je više studija koje istražuju utjecaj autoimune komponente bolesti na kliničku sliku u bolesnika s HT-om, uz urednu funkciju štitnjače pa je tako danas poznato da kliničke tegobe kod bolesnika s HT-om nisu vezane isključivo za smanjenu funkciju štitnjače. Prema rezultatima istraživanja Otta i suradnika eutiroidnih žena s HT-om, povišen titar TPOAt povezan je s povećanom učestalošću nespecifičnih simptoma kao što su kronični umor,

ubrzano zamaranje, suhoća kose, disfagija, kronična iritabilnost i nervoza pa tako povišena razina TPOAt snižava kvalitetu života (133). Slična studija istraživala je kohortu ispitanika koji su upućeni na operativni zahvat zbog benignih bolesti štitnjače. Prema njihovim rezultatima, kod bolesnika s HT-om nakon operativnog zahvata štitnjače dolazi do poboljšanja kvalitete života i smanjene ekspresije simptoma hipotireoze koji su bili prisutni preoperativno, unatoč očuvanoj funkciji štitnjače (134). Posljednjih nekoliko godina brojna istraživanja potvrđuju gore navedene rezultate, temeljene na standardiziranim multidimenzionalnim upitnicima za procjenu kvalitete života (135-137).

U bolesnika s HT-om povećana je učestalost fibromiagije i sindroma kronične boli, kao i kod drugih autoimunih bolesti u pozadini može biti povišena razina citokina i ostalih proupalnih faktora (138). No, iako je etiologija i dalje nerazjašnjena, pojedini autori smatraju da fibromialgija i povećana učestalost reumatskih tegoba u bolesnika s HT-om mogu biti jedna od ekstratiroidnih manifestacija HT-a, odnosno posljedica tireoidne autoimunosti (116, 117, 139). Nadalje, HT utječe na kognitivne funkcije u eutiroidnih bolesnika, uz povećanu učestalost depresije i anksioznosti (137, 140).

Kod 3 - 5% bolesnika s HT-om dolazi do razvoja infiltrativne orbitopatije, a rijede i dermopatije. U podlozi nastanka je sličnost antigena štitnjače (TPO, Tg) s orbitalnim i dermalnim fibroblastima što dovodi do križne reaktivnosti i infiltrativnih promjena u mišićima i mekim tkivima (141, 142). Također, kod malog broja bolesnika s HT-om može doći do razvoja hashitoksikoze, najčešće u početnom stadiju bolesti, kada u kliničkoj slici prevladavaju simptomi tireotoksikoze kao što su tahikardija, tremor, pojačano znojenje, povećan apetit, nepodnošenje topline i nervoza (143). Hashitoksikoza nastaje kao posljedica upalnog oštećenja folikula i oslobađanja prethodno sintetiziranih, uskladištenih hormona. Uglavnom je brzo prolazno stanje, u trajanju od 1 do 2 mjeseca, iako su zabilježeni i dugotrajniji slučajevi (143, 144).

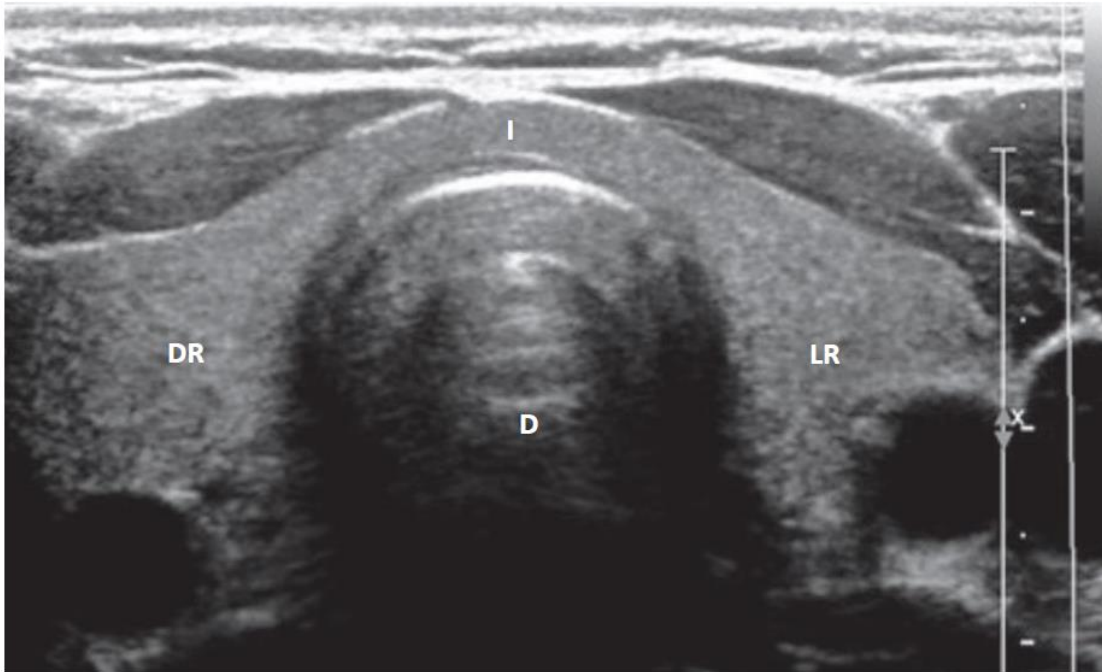
U slučaju povećanog volumena žlijezde mogući su simptomi lokalne kompresije, uglavnom kod strume volumena >75 mL (145), a daljnjim porastom volumena može doći do promuklosti i disfagije (146). Kod bolesnika s HT-om mogu biti prisutni simptomi kao što su nelagoda u vratu, osjećaj stezanja i pritiska u području štitnjače i bez povećanja volumena žlijezde što se pripisuje lokalnim autoimunim upalnim reakcijama (134).

### 1.5.6. Dijagnoza Hashimotovog tireoiditisa

Dijagnostička obrada bolesnika s HT-om uključuje klinički pregled, laboratorijsku analizu razine hormona i protutijela te ultrazvučni pregled štitnjače. Dijagnoza HT-a postavlja se uglavnom na temelju nalaza povišenog titra tireoidnih protutijela i karakterističnog ultrazvučnog izgleda štitnjače (43, 129). Prilikom kliničkog pregleda mogu se ustanoviti znaci hipotireoze ukoliko je prisutna: suha i hladna koža, bradikardija, blijeda koža, slaba i suha kosa, pojačan gubitak dlaka, tjestasti edemi mekih tkiva. Inspekcijom i palpacijom štitnjače utvrđuje se stupanj strume. U početnom stadiju štitnjača je povećanog volumena, tvrdo-elastične konzistencije, difuzno ili čvorasto izmijenjena pri čemu bolesnici mogu imati kompresijske simptome u vratu, kako je prethodno već spomenuto. U slučaju atrofičnog tireoiditisa, volumen štitnjače je smanjen i štitnjača nije palpacijski dostupna.

Povišen titar TPOAt prisutan je kod 80 - 95% bolesnika, a TgAt kod oko 80% bolesnika (43, 147, 148). Pozitivan titar protutijela prethodi kliničkoj manifestaciji bolesti, prema rezultatima nekih studija u prosjeku i 5 do 7 godina (149).

Ultrazvučni pregled štitnjače je neinvazivna, brza i lako dostupna dijagnostička metoda, obavlja se pomoću visokofrekventne linearne sonde duljine 4 - 5 cm, frekvencije 8 - 12 Hz. U klasičnom B-načinu prikaza, parenhim štitnjače je u fiziološkim uvjetima homogenog izgleda. Ehogenost prikaza određena je strukturom tkiva pa tako pri normalnoj funkciji štitnjače veličina i koloidni sadržaj folikula formiraju normo ili izoehogenost pri čemu je parenhim štitnjače izgleda mliječnog stakla, više ehogenosti, tj. svjetliji od okolnih mišićnih struktura, glatkih kontura režnjeva, volumena 10 - 15 ml kod žena i 12 - 18 ml kod muškaraca (150) (Slika 5).



**Slika 5.** Ultrazvučni izgled normalne štitnjače, transverzalni presjek. DR - desni režanj štitnjače, LR - lijevi režanj štitnjače, I - isthmus, D - dušnik. Preuzeto i prilagođeno (150).

Stanična infiltracija i oštećenje folikula u HT-u dovode do stvaranja odjeka nižih amplituda pri čemu je ultrazvučni prikaz karakteriziran nehomogenošću i hipoehogenim odjecima difuzno ili žarišno u parenhimu (151) (Slika 6). Ovisno o stadiju bolesti prisutna je i pseudolobulacija pri čemu režnjevi postaju neravnih kontura, a kod fibroznih promjena vidljivi su i tračci hiperehogenih odjeka. Izrazita hipoehogenost karakteristična je za IgG4 tireoiditis (39), dok je u atrofičnom obliku štitnjača smanjenih volumena režnjeva, uz izrazite hiperehogene trakaste promjene unutar parenhima. Karakterističan ultrazvučni izgled ima visoku osjetljivost u dijagnostici HT-a i procjeni funkcije štitnjače (152, 153).



**Slika 6.** Ultrazvučni izgled štitnjače u Hashimotovom tireoiditisu, transverzalni presjek. DR - desni režanj štitnjače, LR - lijevi režanj štitnjače, I - isthmus, D - dušnik. Preuzeto i prilagođeno (150).

Uz klasični ehografski pregled, danas su u primjeni i dodatne metode kao što su elastografija i *color doppler* (154). Elastosonografija je korisna u procjeni stupnja fibroze u parenhimu te u evaluaciji nodoznih promjena (155). U početnom stadiju HT-a može biti pojačana prokrvljenost parenhima. U fazi tireotoksikoze osobito je važna *color doppler* analiza jer se na temelju normalne vršne sistoličke brzine (engl. *peak systolic velocity*, PSV) u aferentnim arterijama može razlikovati hashitoksikoza od Gravesove hipertireoze (156). Također, kod žarišnih promjena analiza protoka *color dopplerom* može olakšati odluku o daljnim postupcima (157, 158).

Citološka punkcija pod kontrolom ultrazvuka indicirana je kod nodoznih promjena štitnjače, zbog invazivnosti postupka rijetko se koristi za postavljanje dijagnoze difuzne bolesti štitnjače. Kod kroničnog limfocitnog tireoiditisa u citološkom razmazu vidljiva je infiltracija polimorfnih limfocita uz Hurthleove ili onkocitne stanice eozinofilne citoplazme bogate mitohondrijima (159).



Kako je prethodno već spomenuto, HT je vodeći uzrok hipotireoze u područjima s dostatnim unosom joda te je analiza hormona štitnjače nužna u kliničkoj obradi HT-a. Tireotropin je osjetljivi pokazatelj funkcije štitnjače i koristan je u primarnoj obradi HT-a. Blago povišene vrijednosti TSH uz urednu razinu hormona štitnjače prisutne su u oko 3% muškaraca te u oko 8% žena, a nakon 55 g. i preko 10% (160). U klinički manifestnoj hipotireozu snižena je razina T3 i T4, dok su u slučaju hashitoksikoze povišene vrijednosti hormona štitnjače uz snižene ili potpuno suprimirane vrijednosti TSH.

Također, u sklopu dijagnostičke obrade koriste se i nuklearno-medicinske dijagnostičke metode kao što su scintigrafija štitnjače (pomoću Tc-99m pertehnetata ili I-123) te mjerenje akumulacije joda u štitnjači (I-131).

#### **1.5.7. Liječenje Hashimotovog tireoiditisa**

Nepotpuno razjašnjena etiologija bolesti onemogućava ispravan terapijski pristup u HT-u te se danas terapija zasniva na liječenju posljedično oštećene funkcije štitnjače. Suvremeni standard u liječenju hipotireoze je primjena sintetičkog oblika levotiroksina (levotiroksin-natrij, LT4). Liječenje se provodi titiranjem terapije prema ciljnim vrijednostima TSH. U odraslih supstitucijska doza iznosi oko 1,6 - 1,8 mcg po kilogramu tjelesne težine. U stanju trudnoće, u starijih osoba i u slučaju komorbiditeta potrebna je korekcija doze. Učinak terapije monitorira se kontrolom TSH, u početku liječenja nakon 4 - 6 tjedana kao i kod promjene doze ili promjene proizvođača lijeka, a kod stabilne terapije jednom godišnje. Monoterapija LT4 je primarni terapijski pristup liječenja hipotireoze prema preporukama svih vodećih stručnih društava iz područja tireoidologije, karakterizira ga jednostavnost primjene, učinkovitost, dostupnost i ekonomičnost (87, 161-164). Za primjer, godišnja cijena dnevne doze od 112 mcg LT4 iznosi oko 120 USD (43). Levotiroksin je prvi put sintetiziran 1915. g., a u kliničkoj upotrebi je komercijalno od 1950-ih godina (165). Primjenjuje se peroralno, u jednoj dnevnoj dozi, najčešće ujutro na tašte, 30 - 60 minuta prije prvog obroka ili navečer, 2 sata nakon posljednjeg obroka. Poluživot LT4 iznosi oko 7 dana što pruža stabilnu razinu T3. Nakon oralne primjene apsorbira se 70 - 80% doze, uglavnom u proksimalnom tankom crijevu (166). Na apsorpciju utječu poremećaji gastrointestinalnog sustava kao što je *Helicobacter pylori* gastritis, kronični atrofični gastritis i celijakija te

primjena lijekova pa je tako inhibitore protonske pumpe, preparate kalcija i željeza potrebno uzimati u vremenskom odmaku 4 sata od LT4. Danas su dostupne nove forme LT4 s poboljšanom apsorpcijom, u tekućem stanju ili u obliku mekanih gel kapsula, što omogućava uzimanje terapije uz obrok čime se poboljšava adherencija bolesnika (167, 168).

U liječenju hipotireoze primjenjuje se i sintetički trijodtironin ili liotironin (LT3), najčešće u kombinaciji s LT4. Vrijeme poluživota LT3 u cirkulaciji je kraće, iznosi oko jednog dana, apsorbira se brzo i gotovo 100%. Vršne koncentracije T3 u serumu postižu se već 2 - 4 sata nakon primjene lijeka, a doza od 25 mcg rezultira supranormalnim vrijednostima plazmatskog T3 tijekom 6 - 8 sati (169). Brza apsorpcija i kratko vrijeme poluživota dovodi do varijabilne razine hormona i zahtijeva višekratnu primjenu tijekom dana, zbog čega monoterapija LT3 nije preporučena u liječenju hipotireoze. Bolesnicima koji tijekom monoterapije LT4 ne postižu kliničko poboljšanje unatoč optimalnim vrijednostima TSH može se ordinirati kombinacija LT4 i LT3, što nikako nije preporuka za primarni način liječenja i ne preporuča se kao dugoročna terapija ukoliko nije došlo do poboljšanja unutar prvih nekoliko tjedana primjene (163).

Prvi primjer nadomjesne terapije u endokrinologiji je primjena ekstrakta životinjske štitnjače kod bolesnika s hipotireozom, što je bio jedini način liječenja prije uspješne sinteze pročišćenog preparata T4 (170). U današnje vrijeme pojavljuje se novi trend u liječenju hipotireoze ekstraktom sasušenog tkiva štitnjače životinjskog porijekla (engl. *desiccated thyroid extract*, DTE) (171). Nedostatak takvog načina liječenja je lošija kontrola sadržaja hormona, nepročišćenost preparata te odnos T4:T3 od oko 4 - 2:1 što predstavlja značajno veću količinu T3 u odnosu na fiziološke omjere u humanoj štitnjači koji iznose oko 14:1 (162) radi čega takav način liječenja nije preporučen od strane stručnih organizacija.

Povoljan učinak terapije LT4 u bolesnika s HT-om očituje se i u smanjenju oksidativnog stresa koji nastaje u sklopu upalnih i autoimunih procesa (172). Također, uvođenje LT4 u terapiju smanjuje razinu protutijela, a prema nekim autorima dovodi i do smanjenja upalnog procesa (173, 174). Povoljan učinak u liječenju ima i primjena selena koji dovodi do značajnog sniženja razine protutijela (63, 175), iako je još uvijek nedovoljno istražen njegov klinički doprinos u bolesnika s HT-om (176). Sličan učinak na sniženje razine protutijela ima i primjena vitamina D (177). U bolesnika s HT-om i subkliničkom hipotireozom primjena selena

i mioinozitola može dovesti do normalizacije vrijednosti TSH i sniženja titra protutijela (178, 179).

Kod manjeg broja bolesnika s HT-om indicirano je i kirurško liječenje, u slučaju strume koja dovodi do lokalnih simptoma kompresije, disfagije i promuklosti te kod malignih promjena (180, 181).

### **1.6. Problematika istraživanja**

Iako je HT kao entitet poznat više od sto godina sve do danas nije u potpunosti razjašnjena etiologija bolesti kao ni učinak bolesti izvan ciljnog organa te su nužna dodatna istraživanja koja će pripomoći boljem razumijevanju kliničke manifestacije i ranijoj dijagnozi bolesti. Kako je prethodno već spomenuto, u nastanku HT-a, uz genetičku predispoziciju, vrlo je važna uloga okolišnih čimbenika, od kojih su mnogi još neistraženi. Rezultati brojnih studija dokazuju da HT dovodi do smanjenja kvalitete života i utječe na kognitivne funkcije bolesnika, neovisno o funkciji štitnjače (92, 182). Nadalje, u mladih žena povišen titar tireoidnih protutijela utječe na generativnu funkciju, povezan je s lošijim ishodom postupaka potpomognute oplodnje i može dovesti do opstetričkih komplikacija (183). Hashimotov je tireoiditis ujedno i vodeći uzrok smanjene funkcije štitnjače u trudnica, a poznato je da smanjena funkcija majčine štitnjače ima ozbiljne posljedice na razvoj ploda (184). Protutijela na antigene štitnjače prisutna su kod 15% trudnica i prelaze posteljicu, a osim spomenutog učinka na funkciju štitnjače ploda, kod novorođenčadi eutiroidnih majki s visokim titrom TPOAt zabilježeni su manji opseg glave i manji omjer veličine mozga u odnosu na tijelo (185, 186).

Unatoč visokoj učestalosti HT-a i mnogim istraživanjima na području autoimunih bolesti štitnjače i dalje nije u potpunosti razjašnjena etiologija bolesti kao ni utjecaj HT-a na organizam i zdravlje čovjeka (182, 187).

Autoimune bolesti, pa tako i HT, u značajnom su porastu pa je danas HT vodeći uzrok hipotireoze u zapadnim zemljama. Unatoč jednostavnom i uspješnom liječenju kod oko 5 - 10% bolesnika i dalje su prisutni klinički simptomi uz uredne biokemijske parametre funkcije

štitnjače (188), zbog čega se dodatno istražuje uloga autoimunog poremećaja u kliničkoj manifestaciji HT-a.

U skladu s gore navedenim rezultatima koji ukazuju na smanjenu kvalitetu života kod eutiroidnih bolesnika s HT-om i mogućem utjecaju tireoidnih protutijela na druge organe i organske sustave, nužno je postaviti dijagnozu u ranom stadiju bolesti, a ukoliko je moguće i prije oštećenja funkcije štitnjače. Učestalost HT-a i dulji vremenski period u kojem dolazi do razvoja klinički manifestne hipotireoze često dovodi do kasnog početka liječenja što ostavlja značajne posljedice na zdravlje bolesnika. Cilj našeg istraživanja je opširna fenotipska karakterizacija bolesnika s HT-om u svrhu boljeg dijagnostičkog i terapijskog pristupa, po principu personalizirane medicine i otkrivanju bolesti u ranom stadiju. U skladu s tim proveli smo znanstveno-istraživački projekt „Cjelogenomska analiza povezanosti Hashimotovog tireoiditisa“ u sklopu kojeg smo formirali opsežnu biobanku ispitanika s HT-om (*Hrvatska biobanka bolesnika s Hashimotovim tireoiditisom*, „CROHT“) koja uz biološke uzorke sadrži i preko 200 fenotipova za 500 ispitanika s HT-om.

Glavni cilj ovog istraživanja, koje je provedeno u sklopu navedenog znanstveno-istraživačkog projekta, je detaljna analiza svih kliničkih fenotipova zabilježenih u ispitanika s HT-om, s posebnim naglaskom na otkrivanje uloge autoimunosti u kliničkoj manifestaciji bolesti.

## **2. CILJEVI RADA I HIPOTEZA**

## Ciljevi:

1. Utvrditi postoje li razlike u medijanima fenotipova karakterističnih za HT (TSH, T3, T4, FT4, TgAt, TPOAt, volumen štitnjače i duljina trajanja bolesti) između ispitanika koji primaju terapiju levotiroksinom i onih koji ne primaju terapiju.
2. Utvrditi postojanje korelacija između fenotipskih karakteristika ispitanika (dob, ukupna površina tijela, broj simptoma, arterijski tlak) s kliničkim karakteristikama kojima se definira HT (TSH, T3, T4, FT4, TgAt, TPOAt, volumen štitnjače).
3. Utvrditi moguće prediktore za pojavnost svakog pojedinog simptoma (autoimunost štitnjače i/ili hipotireoza) u skupini ispitanika koji ne primaju terapiju LT4.
4. Utvrditi razlike u pojavnosti simptoma između ispitanika koji primaju terapiju levotiroksinom i onih koji ne primaju terapiju.

## Hipoteza:

Postoje nove, dosad nepoznate, povezanosti između različitih kliničkih fenotipova u ispitanika oboljelih od HT-a.

### **3. ISPITANICI I POSTUPCI**

### 3.1. Ispitanici

U istraživanje je uključen ukupno 491 ispitanik s HT-om, od čega je 455 žena (93%) i 36 muškaraca (7%). Ispitanici su regrutirani u sklopu Ambulante za bolesti štitnjače Kliničkog zavoda za nuklearnu medicinu u Kliničkom bolničkom centru Split, u vremenskom razdoblju od 2013. do 2017. g. (189-191). Istraživanje je provedeno u sklopu znanstveno-istraživačkog projekta pod nazivom „Cjelogenomska analiza povezanosti Hashimotovog tiroiditisa“ (engl. *Genome-wide association analysis of Hashimoto's thyroiditis*), voditeljica projekta je izv. prof. dr. sc. Vesna Boraska Perica, koji je financiran od Hrvatske zaklade za znanost (HRZZ) pod brojem: 4950.

U sklopu redovnog rada u Ambulanti za bolesti štitnjače potencijalne ispitanike je o istraživanju informirao nadležni liječnik te im je ponuđena mogućnost sudjelovanja. U istraživanje su uključeni bolesnici s novootkrivenim HT-om koji su upućeni na pregled u sklopu rutinske ili ciljane obrade, zbog subjektivnih tegoba ili zbog odstupanja u laboratorijskim nalazima, pretežno u sklopu latentne hipotireoze. Također, u istraživanje su uključeni i bolesnici s već prethodno ustanovljenim HT-om koji se kontroliraju redovitim kliničkim praćenjem, sa ili bez supstitucijske terapije levotiroksinom.

Dijagnostički algoritam postavljen je sukladno smjernicama Europskog udruženja za štitnjaču (engl. *European Thyroid Association, ETA*) (164) i Hrvatskog društva za štitnjaču (192).

Dijagnoza HT-a je postavljena je na temelju karakterističnog ultrazvučnog izgleda kojim se utvrđuje difuzna bolest štitnjače uz nehomogenu strukturu žlijezde s odjecima niskih amplituda, kako je to prihvaćeno u kliničkoj praksi prema rezultatima brojnih istraživanja (151, 193-195), a dodatno je nadopunjena biokemijskom analizom hormona (povišene vrijednosti TSH i snižene/uredne vrijednosti T3, T4) i/ili pozitivnim titrom tireoidnih protutijela. U eutiroidnih ispitanika dijagnoza je postavljena na temelju karakteristične ultrazvučne slike i povišenog titra protutijela. Važno je napomenuti da su svi ispitanici stanovnici Republike Hrvatske (područje Split) koja ima status regije s dostatnim unosom joda (196).

Istraživanje je odobrilo Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta u Splitu (Klasa: 003-08/14-03/0001; Ur. br. 2181-198-03-04-14-0028) (Dodatak 1.) i Etičko povjerenstvo KBC-a Split



(Klasa: 530-02/13-01/11; Ur. br. 2181-147-01/06/J.B.-14-2) (Dodatak 2.). Svi ispitanici koji su uključeni u istraživanje potpisali su Informirani pristanak u pisanom obliku (Dodatak 3.).

### 3.2. Materijali i postupci

Svim ispitanicima učinjeni su istovjetni postupci u sklopu regrutacije i kliničkog pregleda, što uključuje uzimanje uzoraka krvi i ultrazvučni pregled štitnjače.

Svakom ispitaniku izmjerene su vrijednosti hormona (T3, T4, FT4, TSH) i protutijela (TgAt, TPOAt) iz uzoraka venske krvi u biokemijskom laboratoriju Kliničkog zavoda za nuklearnu medicinu, imunoesej metodom na potpuno automatiziranom instrumentu marke „Liason“ Biomedica Chemiluminescence Analyzer, s referentnim vrijednostima validiranim među istovjetnom populacijom koje su prikazane u Tablici 1.

**Tablica 1.** Referentne vrijednosti biokemijskog laboratorija Kliničkog zavoda za nuklearnu medicinu KBC-a Split.

Parametar	Referentni raspon
TSH	0,3 - 3,6 mIJ/L
T3	1,3 - 3,6 nmol/L
T4	57,4 - 161 nmol/L
FT4	10,1 - 22,3 pmol/L
TgAt	5 - 100 IJ/mL
TPOAt	1 - 16 IJ/mL

Nadalje, u svrhu istraživanja formirani su posebni upitnici: upitnik kojeg ispunjava liječnik s kliničkim podacima o ispitaniku (liječnički upitnik) i anketni upitnik za ispitanika s pitanjima o životnom stilu ispitanika.

U liječnički upitnik zabilježeni su svi podaci prikupljeni tijekom kliničkog pregleda: antropometrijske karakteristike, arterijski tlak, klinički i ultrazvučni nalaz štitnjače, anamnestički podaci o bolesti štitnjače u osobnoj i obiteljskoj anamnezi te prisutnost najučestalijih simptoma hipotireoze. Uključeno je 16 simptoma hipotireoze (prisutni DA ili NE): slabost, porast tjelesne težine, konstipacija, osjetljivost na hladnoću, hladna koža, suha i hrapava koža, blijeda koža, gubitak dlaka, lomljivost kose, otečenost očnih kapaka, edem lica, periferni edemi, promuklost, usporen govor, dispneja, poremećaj pamćenja.

U liječnički upitnik zabilježena je klinička klasifikacija strume temeljem palpacije i inspekcije štitnjače, podijeljena u stupnjeve (podjela prema Svjetskoj zdravstvenoj organizaciji):

- Stupanj 0: Štitnjača nije vidljiva ni palpabilna;
- Stupanj 1a: Štitnjača je palpabilna, ali se ne vidi ni pri istezanju vrata;
- Stupanj 1b: Štitnjača je palpabilna, vidi se pri istezanju vrata;
- Stupanj 2: Štitnjača je uvećana, vidljiva iz blizine pri normalnom položaju vrata;
- Stupanj 3: Velika struma (guša) vidljiva iz veće udaljenosti.

Ehografski pregled štitnjače je učinjen pomoću visokofrekventne linearne sonde za površinska tkiva (8 -12 Hz) ultrazvučnim aparatom marke Medison Accuvix V10 (Samsung medison Co., Ltd, Seoul 135 - 280, Korea). Postupak je standardiziran u skladu s ustaljenom kliničkom praksom uz mjerenje dimenzija režnjeva i isthmusa, evaluaciju strukture parenhima žlijezde s opisom ehografskih odjeka tkiva i eventualno prisutnih žarišnih promjena. U sklopu upitnika formirana je posebna rubrika za sistematičan unos ultrazvučnog nalaza štitnjače, sa zaključnom kategorizacijom u jednu od četiriju skupina:

- 0 - normalan nalaz;
- 1 - difuzna bolest štitnjače;
- 2 - difuzna bolest uz nodularne promjene;

- 3 - nodularne promjene bez difuzne bolesti.

Volumen štitnjače izračunat je na temelju ultrazvučnih dimenzija režnjeva i isthmusa prema formuli:

$$V\check{S} \text{ (volumen štitnjače)} = (\text{duljina, cm}) \times (\text{širina, cm}) \times (\text{debljina, cm}) \times 0.479$$

Na temelju antropometrijskih karakteristika izračunata je ukupna površina tijela (engl. *body surface area*, BSA) prema formuli:

$$BSA = (\text{težina, kg})^{0.425} \times (\text{visina, cm})^{0.725} \times 0.007184$$

Anketnim upitnicima za ispitanike prikupljeni su podaci o osobnoj anamnezi, pušačkom statusu, konzumaciji alkohola, fizičkoj aktivnosti i prehrambenim navikama.

### **3.2.1. Statistička raščlamba podataka**

#### *3.2.1.1. Analiza kliničkih karakteristika ispitanika s HT-om*

Metodama deskriptivne statistike opisali smo kliničke karakteristike ispitanika (razina hormona i protutijela, volumen štitnjače, duljina trajanja bolesti, dob, BSA, broj simptoma hipotireoze, sistolički i dijastolički arterijski tlak). Za kvantitativne fenotipove je prikazan medijan te donji i gornji kvartil, dok je za kategorijske fenotipove prikazan broj i udio ispitanika.

Ispitali smo razlike između dviju skupina ispitanika podijeljene u grupe ovisno o uzimanju supstitucijske terapije LT4 (skupina ispitanika bez terapije uključuje ispitanike kojima je prvi put dijagnosticiran HT prilikom uključivanja u studiju i bolesnike koji su u kliničkom praćenju s očuvanom funkcijom štitnjače ili latentnom hipotireozom). Usporedili smo vrijednosti medijana između dviju skupina, za svaki klinički fenotip, koristeći Mann-Whitney test.

### *3.2.1.2. Korelacije između fenotipskih karakteristika ispitanika i kliničkih karakteristika kojima se definira HT*

Ispitali smo korelacije fenotipskih karakteristika ispitanika (dob ispitanika, BSA, broj simptoma hipotireoze, sistolički i dijastolički arterijski tlak) s kliničkim karakteristikama kojima se definira HT (TSH, T3, T4, FT4, TgAt, TPOAt, volumen štitnjače) unutar tri skupine ispitanika: svim ispitanicima s HT-om, ali također i unutar dviju skupina ispitanika koje se razlikuju ovisno uzimaju li ili ne uzimaju terapiju LT4. Za provjeru normalnosti distribucije ispitivanih fenotipova/kliničkih karakteristika koristili smo Kolmogorov-Smirnovljev test. Nijedan od fenotipova nije imao normalnu distribuciju, stoga smo pomoću Spearmanovog testa korelacije analizirali međusobne korelacije među različitim fenotipovima.

Bonferronijeva korigirana p-vrijednost 0,0071 (0,05/7) uzeta je kao prag značajnosti. U prikladnim slučajevima smo testirali i povezanost više nezavisnih fenotipova sa zavisnim fenotipom korištenjem modela linearne regresije, gdje su sve nezavisne varijable bile transformirane prije analize s ciljem postizanja normalne distribucije.

### *3.2.1.3. Analiza prediktora simptoma hipotireoze*

Prikupili smo informaciju o prisutnosti/odsutnosti 16 najučestalijih simptoma hipotireoze u trenu uključivanja svakog ispitanika u studiju. S obzirom na to da smo prikupljali informacije o simptomima koji su bili prisutni kod ispitanika unutar 4 tjedna prije uključivanja u studiju, posebno smo se orijentirali na skupinu ispitanika s HT-om koji nisu na terapiji LT4, imajući u vidu činjenicu da terapija može imati utjecaj na pojavnost simptoma.

S ciljem utvrđivanja mogućih prediktora pojave simptoma (uzrokovanih pojavom autoimunosti i/ili hipotireozom) upotrijebili smo model logističke regresije pri čemu je pojavnost simptoma (ima/nema) bila zavisna binarna varijabla, a razine TgAt, TPOAt, TSH i T3 nezavisne varijable, za svaki simptom pojedinačno. Bonferronijeva korigirana p-vrijednost od 0,003125 (0,05/16) je uzeta kao granica značajnosti.

*3.2.1.3.1. Analiza razlike u pojavnosti simptoma između dvije skupine ispitanika (sa i bez terapije LT4)*

S ciljem utvrđivanja razlika u pojavnosti simptoma između ispitanika sa i bez terapije, analizirali smo razlike u udjelima ispitanika sa svakim od pojedinih simptoma između dvije skupine koristeći  $\chi^2$ -test.

## **4. REZULTATI**

#### **4.1. Kliničke karakteristike ispitanika s Hashimotovim tireoiditisom**

Glavne kliničke karakteristike svih ispitanika s HT-om te dviju subgrupa koje su podijeljene ovisno o uzimanju terapije LT4 prikazane su u Tablici 2.

Od ukupno 491 ispitanika njih 176 je na terapiji LT4, dok je 290 ispitanika bez terapije (podatak o uzimanju terapije nije bio dostupan za 25 ispitanika te su oni isključeni iz komparativne analize između dvije skupine). Ispitanici koji nisu na terapiji LT4 uglavnom su eutiroidni ili u blagoj latentnoj hipotireozu (83%), a manji dio ispitanika ima vrijednosti TSH>10 (17%).

Dvije skupine ispitanika značajno se razlikuju u nekoliko fenotipova. Ispitanici koji su na terapiji LT4 imaju višu razinu T4, FT4, dulji vremenski period trajanja bolesti i veći broj simptoma hipotireoze, uz značajno nižu razinu TSH i manji volumen štitnjače u odnosu na ispitanike koji su bez terapije (Tablica 2). Između dviju skupina ispitanika nismo pronašli statistički značajnu razliku u razini titra protutijela kao ni u sistoličkom i dijastoličkom arterijskom tlaku.

**Tablica 2.** Kliničke karakteristike ispitanika s HT-om.

<b>Varijabla</b>	<b>SVI (N=491)</b> <b>Median (Q1-Q3)</b>	<b>NT (N=176*)</b> <b>Median (Q1-Q3)</b>	<b>BT (N=290*)</b> <b>Median (Q1-Q3)</b>	<b>P</b>
TSH, mIU/L	3,31 (1,76-5,6)	2,56 (1,33-4,26)	3,71 (2,08-6,19)	<b>&lt;0,0001</b>
T3, nmol/L	1,6 (1,3-1,8)	1,6 (1,4-1,8)	1,55 (1,3-1,8)	0,5254
T4, nmol/L	105 (89,03-118)	112 (93,47-125)	101 (85,65-115)	<b>&lt;0,0001</b>
FT4, pmol/L	12,05 (10,2-13,2)	12,3 (10,9-13,95)	11,9 (10,1-12,8)	<b>&lt;0,0001</b>
TgAb, IJ/ml	134 (36,4-420)	131,85 (40,08-409,17)	131 (31,9-439)	0,8866
TPOAb, IJ/ml	212 (27-629)	163 (34,78-631,25)	224 (23,4-654)	0,7967
Volumen štitnjače, cm <sup>3</sup>	10,02 (7,33-13,99)	8,79 (6,28-12,55)	10,58 (7,96-14,58)	<b>0,0005</b>
Duljina trajanja bolesti, dani	159,5 (0-1845,25)	1798 (785-3364,25)	0 (0-198,25)	<b>&lt;0,0001</b>
Dob, godine	38,45 (28,38-48,7)	40,89 (30,25-50,95)	37,89 (28,34-47,97)	0,0972
BSA, m <sup>2</sup>	1,81 (1,7-1,93)	1,83 (1,7-1,94)	1,81 (1,7-1,93)	0,7730
Broj simptoma, N	4 (1-7)	5 (2-8)	3 (1-7)	<b>0,0017</b>
Sistolički arterijski tlak, mmHg	120 (110-130)	117,5 (110-130)	118 (110-130)	0,6499
Dijastolički arterijski tlak, mmHg	70 (65-80)	70 (65-80)	70 (65-80)	0,3478

Q1-prvi kvartil, Q3-treći kvartil, P-p-vrijednost.

SVI-svi ispitanici, NT-ispitanici koji su na terapiji LT4, BT- ispitanici bez terapije.

\*Za 25 ispitanika informacija o LT4 terapiji nije dostupna.



#### **4.2. Korelacije između fenotipskih karakteristika ispitanika i kliničkih karakteristika kojima se definira HT**

Korelacije između fenotipskih karakteristika ispitanika (dob ispitanika, BSA, broj simptoma hipotireoze, sistolički i dijastolički arterijski tlak) i kliničkih karakteristika kojima se definira HT (TSH, T3, T4, FT4, TgAt, TPOAt, volumen štitnjače) prikazane su u Tablici 3.

**Tablica 3.** Korelacije fenotipskih karakteristika ispitanika (dob ispitanika, BSA, broj simptoma hipotireoze, sistolički i dijastolički arterijski tlak) i kliničkih karakteristika kojima se definira HT (TSH, T3, T4, FT4, TgAt, TPOAt, volumen štitnjače).

		Dob			BSA			Broj simptoma		
		SVI	NT	BT	SVI	NT	BT	SVI	NT	BT
TSH	r	0,03	-0,15	0,17	0,11	0,03	0,17	0,01	-0,07	0,11
	P	0,4662	0,0426	<b>0,0054</b>	0,0222	0,6669	<b>0,0062</b>	0,8819	0,3798	0,0932 <sup>a</sup>
T3	r	0,05	0,12	0,02	-0,02	0,05	-0,06	-0,11	-0,02	-0,15
	P	0,2552	0,1184	0,7812	0,6260	0,5070	0,2887	0,0357	0,7645	0,0238 <sup>a</sup>
T4	r	0,10	0,25	0,00	-0,03	-0,03	-0,03	-0,05	-0,02	-0,11
	P	0,0352	<b>0,0009</b>	0,9520	0,4926	0,7059	0,5696	0,3519	0,8481	0,0880
FT4	r	-0,10	0,08	-0,21	-0,13	-0,16	-0,12	-0,03	0,02	-0,10
	P	0,0354	0,3163	<b>0,0004</b>	<b>0,0057</b>	0,0414	0,0573	0,5314	0,7990	0,1314
TgAt	r	0,02	0,03	0,01	0,04	-0,02	0,07	0,14	-0,05	0,25
	P	0,6280	0,6503	0,8108	0,3415	0,8129	0,2190	<b>0,0046</b>	0,5320	<b>0,0001<sup>a</sup></b>
TPOAt	r	0,06	-0,02	0,10	0,05	0,05	0,06	0,12	-0,02	0,19
	P	0,1963	0,8283	0,0956	0,2891	0,5566	0,2939	0,0198	0,8087	<b>0,0034<sup>a</sup></b>
Volumen štitnjače	r	-0,06	-0,15	0,01	0,18	0,21	0,18	0,11	0,11	0,16
	P	0,1904	0,0611	0,8800	<b>0,0002</b>	0,0100	<b>0,0028</b>	0,0299	0,1993	0,0193 <sup>a</sup>

		Sistolički arterijski tlak			Dijastolički arterijski tlak		
		SVI	NT	BT	SVI	NT	BT
TSH	r	0,14	-0,01	0,23	0,16	0,06	0,22
	P	0,0102	0,9368	<b>0,0013</b>	<b>0,0035</b>	0,5175	<b>0,0030</b>
T3	r	0,04	0,12	0,00	0,06	0,04	0,08
	P	0,4383	0,1890	0,9518	0,2642	0,6646	0,2793
T4	r	0,01	0,13	-0,05	-0,03	0,00	-0,01
	P	0,8651	0,1661	0,5417	0,5816	0,9649	0,8472
FT4	r	-0,12	-0,10	-0,14	-0,13	-0,12	-0,08
	P	0,0349	0,2840	0,0629	0,0212	0,2086	0,2665
TgAt	r	-0,03	-0,07	-0,05	0,05	0,07	0,03
	P	0,5781	0,4309	0,4700	0,4216	0,4875	0,7080
TPOAt	r	0,10	0,09	0,10	0,14	0,18	0,12
	P	0,0884	0,3537	0,1603	0,011 <sup>b</sup>	0,0564	0,1106
Volumen štitnjače	r	0,02	0,03	0,03	0,09	0,05	0,08
	P	0,6906	0,7686	0,6709	0,1382	0,5812	0,3117

P vrijednosti manje od Bonferronijeve korekcije za višestruka testiranja od 0.0071 (0.05/7) su podebljane.

r-Spearmanov koeficijent korelacije, SVI- grupa svih 491 ispitanika s HT-om, NT- 176 ispitanika s HT-om koji su na LT4 terapiji. BT- 290 ispitanika s HT-om koji nisu na LT4 terapiji (25 ispitanika je isključeno iz korelacijske analize zbog nedostatka informacije o LT4 terapiji).

<sup>a</sup>Nakon uključivanja ovih pet fenotipova u model linearne regresije za broj simptoma, jedino je razina TgAt-a ostala značajno povezana s brojem simptoma ( $\beta=0.66$ ,  $SE=0.3$ ,  $P=0.0299$ ), dok razina TPOAt, razina T3, razina TSH i volumen štitnjače nisu pokazale značajnu povezanost s brojem simptoma.

<sup>b</sup>Nakon prilagodbe za razinu TSH u linearnoj regresiji, razina TPOAt-a nije pokazala značajnu povezanost s dijastoličkim arterijskim tlakom ( $\beta=0.095$ ,  $SE=0.055$ ,  $P=0.086$ ).

Uočili smo nekoliko značajnih korelacija, od kojih su neke novootkrivene, a neke su već prethodno ustanovljene.

#### *4.2.1. Značajne korelacije u skupini ispitanika bez terapije*

S kliničkog stajališta osobito je zanimljiva i prvi put ustanovljena pozitivna korelacija između TgAt, a u manjoj mjeri i TPOAt, s brojem simptoma ( $r = 0,25$ ,  $P = 0,0001$ ;  $r = 0,19$ ,  $P = 0,0034$ ). Razina T3 je pokazala nominalno značajnu negativnu korelaciju s brojem simptoma, dok volumen štitnjače ima nominalno značajnu pozitivnu korelaciju s brojem simptoma. S ciljem otkrivanja mogućih prediktora broja simptoma modelom linearne regresije ispitali smo povezanost razine TgAt, TPOAt, T3, TSH i volumena štitnjače s brojem simptoma, nakon čega je samo razina TgAt ostala statistički značajno povezana s brojem simptoma ( $\beta = 0,66$ ,  $SE = 0,3$ ,  $P = 0,0299$ ).

Pronašli smo nekoliko statistički značajnih pozitivnih korelacija između razine TSH i nekoliko fenotipova: dob ( $r = 0,17$ ,  $P = 0,0054$ ), BSA ( $r = 0,17$ ,  $P = 0,0062$ ), sistolički arterijski tlak ( $r = 0,23$ ,  $P = 0,0013$ ) i dijastolički arterijski tlak ( $r = 0,22$ ,  $P = 0,0030$ ).

Statistički je značajna negativna korelacija FT4 ( $r = -0,21$ ,  $P = 0,0004$ ) s dobi, dok je granično značajna negativna korelacija FT4 s BSA ( $r = -0,12$ ,  $P = 0,0573$ ).

Volumen štitnjače ima pozitivnu korelaciju s BSA ( $r = 0,18$ ,  $P = 0,0028$ ).

#### *4.2.2. Značajne korelacije u skupini ispitanika koji su na terapiji LT4*

Prisutna je nominalno značajna korelacija TSH s dobi ( $r = -0,15$ ,  $P = 0,0426$ ), razina T4 ima statistički značajnu pozitivnu korelaciju s dobi ( $r = 0,25$ ,  $P = 0,0009$ ).

Volumen štitnjače ima pozitivnu korelaciju s BSA ( $r = 0,21$ ,  $P = 0,01$ ).

#### *4.2.3. Značajne korelacije u skupini svih ispitanika*

Uočili smo nominalno značajnu pozitivnu korelaciju između razine TPOAt i dijastoličkog arterijskog tlaka ( $r = 0,14$ ,  $P = 0,011$ ), koja se gubi nakon prilagodbe za razinu TSH u modelu linearne regresije ( $\beta = 0,095$ ,  $SE = 0,055$ ,  $P = 0,086$ ). Nadalje, prisutna je korelacija između TSH i dijastoličkog arterijskog tlaka ( $r = 0,16$ ,  $P = 0,0035$ ).

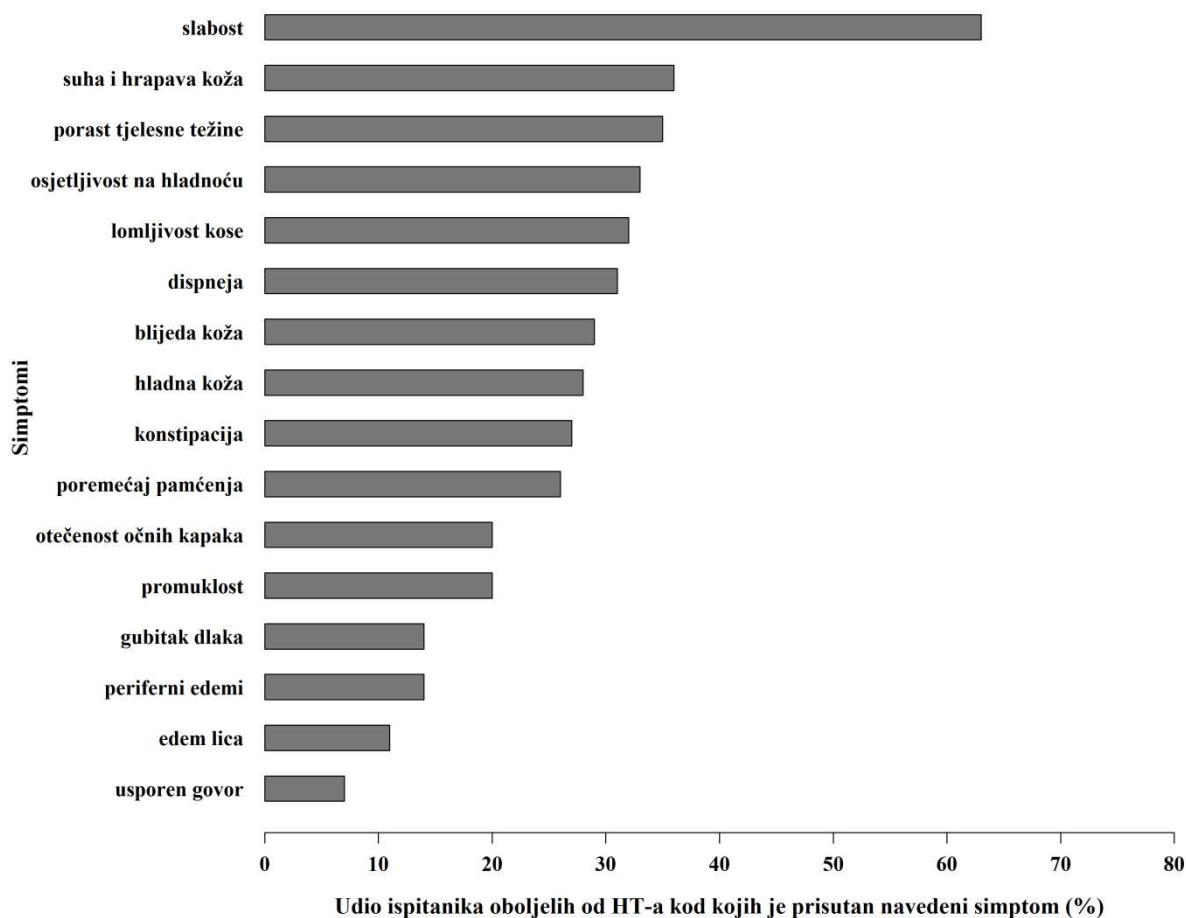
Uočili smo negativnu korelaciju između broja simptoma i razine T3 ( $r = -0,11$ ,  $P = 0,0357$ ) te pozitivnu korelaciju između broja simptoma i volumena štitnjače ( $r = 0,11$ ,  $P = 0,029$ ).

Volumen štitnjače ima pozitivnu korelaciju s BSA ( $r = 0,18$ ,  $P = 0,0002$ ), dok je negativna korelacija FT4 s BSA ( $r = -0,13$ ,  $P = 0,0057$ ).

### **4.3. Analiza prediktora svih analiziranih simptoma**

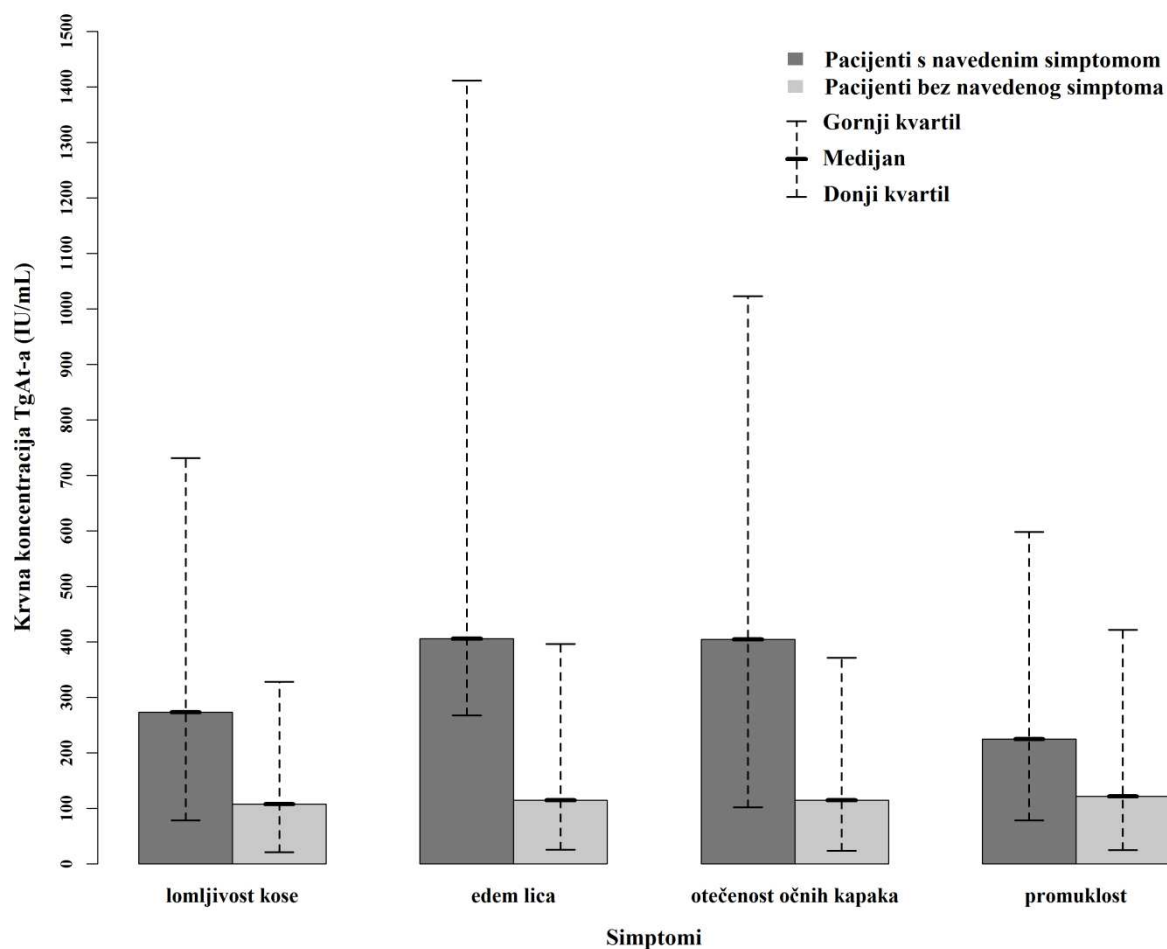
#### *4.3.1. Učestalost simptoma u skupini ispitanika bez terapije*

Prikazali smo učestalost pojavnosti svakog od 16 simptoma hipotireoze u skupini ispitanika koji nisu na terapiji LT4 (Slika 7.). Od svih navedenih simptoma, slabost je najčešće prisutna (63% ispitanika), dok je najrjeđe prisutan usporen govor (7% ispitanika).



**Slika 7.** Učestalost pojavnosti svakog od 16 simptoma hipotireoze u skupini ispitanika koji nisu na terapiji LT4.

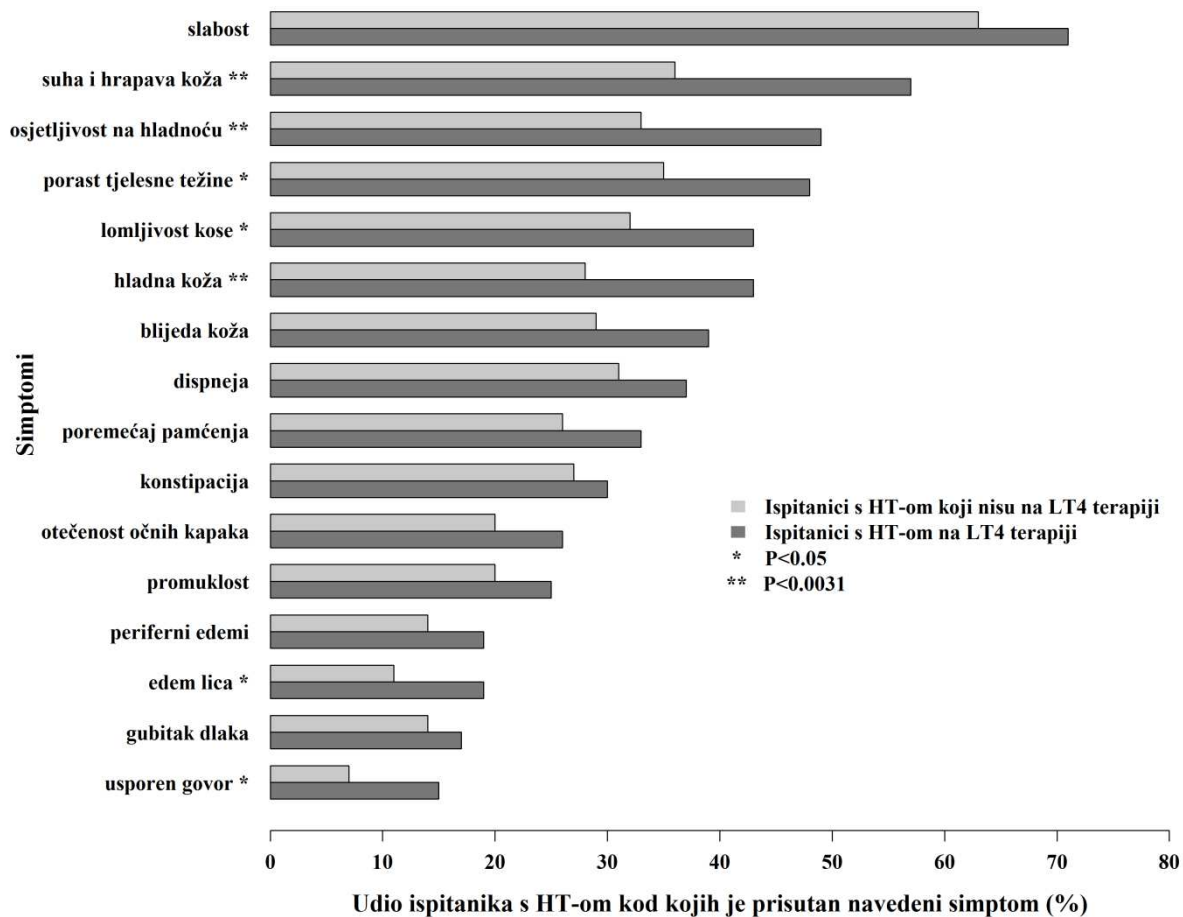
Nadalje, s ciljem ispitivanja jesu li protutijela mogući prediktori pojave simptoma u skupini ispitanika koji su bez terapije LT4, za svaki od 16 simptoma upotrijebili smo model logističke regresije gdje su razine TgAt, TPOAt, TSH i T3 (s obzirom na to da je T3 u korelaciji s brojem simptoma) nezavisne varijable. Pronašli smo statistički značajnu povezanost razine TgAt sa sljedećim simptomima: lomljivost kose (OI = 1,7, 95% IP = 1,2-2,4, P = 0,0043), edem lica (OI = 2,2, 95% IP = 1,3-3,8, P = 0,0061), otečenost očnih kapaka (OI = 1,6, 95% IP = 1,1-2,4, P = 0,0293), promuklost (OI = 1,5, 95% IP = 1,0-2,3, P = 0,0349), dok TPOAt nije prediktor nijednog od ispitivanih simptoma. Također, usporedili smo medijane razine TgAt među ispitanicima kod kojih su prisutna ova četiri simptoma u odnosu na ispitanike kod kojih simptomi nisu prisutni (Slika 8).



**Slika 8.** Usporedba medijana razine TgAt među ispitanicima s navedenim simptomima (četiri simptoma koja su u pozitivnoj korelaciji s razinom TgAt) u odnosu na ispitanike kod kojih simptomi nisu prisutni, u skupini ispitanika koji su bez terapije LT4.

#### 4.3.2. Analiza razlike u pojavnosti simptoma između dvije skupine ispitanika (sa i bez terapije LT4)

Nadalje, s ciljem utvrđivanja koji simptomi se razlikuju između dvije skupine ispitanika (sa i bez terapije), dodatno smo ispitali i usporedili razlike u broju ispitanika koji imaju pojedine simptome između dviju navedenih skupina. U skupini ispitanika koji su na terapiji LT4, statistički je značajno povećana učestalost ovih simptoma: suha i hrapava koža, osjetljivost na hladnoću i hladna koža ( $P < 0,0001$ ;  $P = 0,0022$ ;  $P = 0,0029$ ) (Slika 9.). Preostali simptomi s nominalnom asocijacijom su prikazani na Slici 9.



**Slika 9.** Usporedba učestalosti simptoma hipotireoze između dvije skupine ispitanika s HT-om koje se razlikuju s obzirom na uzimanje terapije LT4.

## **5. RASPRAVA**



Proveli smo opsežnu fenotipsku analizu uključujući 491 ispitanika s HT-om, s ciljem otkrivanja novih znanja o etiologiji i simptomatologiji ove autoimune bolesti. Našu kohortu čine dvije skupine ispitanika: ispitanici s HT-om koji su na terapiji LT4 i ispitanici s HT-om koji nisu na terapiji LT4 (uglavnom uz još očuvanu funkciju štitnjače ili blagu latentnu hipotireozu), što nam je omogućilo detaljniju analizu kliničke manifestacije HT-a.

### **5.1. Pozitivna korelacija TgAt i broja simptoma u skupini ispitanika koji nisu na terapiji LT4**

Najvažniji rezultat koji je proizašao iz naše studije jest pronalazak statistički značajne povezanosti protutijela na antigene štitnjače (TgAt) s brojem simptoma u skupini ispitanika s HT-om koji nisu na terapiji LT4 (Tablica 3.) Prema rezultatima velike populacijske studije Canarisa i suradnika koja je provedena 2000. g. ispitanici s latentnom hipotireozom imaju veći broj simptoma u odnosu na eutiroidne ispitanike, no u studiji nije ispitana povezanost protutijela sa simptomima (128). Brojni radovi ukazuju na smanjenu kvalitetu života u eutiroidnih ispitanika s HT-om (197, 198), što upućuje na to da tireoidna autoimunost može imati ulogu u nastanku simptoma, a prema dosadašnjim rezultatima sugerirano je da povišen titar TPOAt, uz normalnu razinu hormona štitnjače, može imati takav utjecaj. Povećan broj simptoma uglavnom se povezuje sa smanjenom razinom hormona štitnjače kod bolesnika sa subkliničkom hipotireozom (128), no prema rezultatima naše studije razina TgAt je značajno povezana s brojem simptoma u skupini ispitanika s HT-om koji su bez terapije, a koji su uglavnom eutiroidni ili u subkliničkoj hipotireozu. Također smo pronašli korelaciju T3, TPOAt i volumena štitnjače s brojem simptoma, međutim, multivarijantnom analizom linearne regresije koja je uključila TSH, T3, TPOAt, TgAt i volumen štitnjače otkrili smo da samo TgAt značajno utječe na varijaciju broja simptoma. Pozitivnu korelaciju s brojem simptoma je pokazala i razina TPOAt, no statistički s manjom značajnosti. Naši rezultati naglašavaju ulogu autoimunosti u simptomatologiji HT, što je u skladu s rezultatima Otta i suradnika koji su među eutiroidnim ispitanicima s HT-om otkrili povezanost razine TPOAt s brojnim zdravstvenim tegobama kao što su kronični umor, suha kosa, kronična nervoza i iritabilnost, uz veću učestalost karcinoma dojke i ranog spontanog abortusa u anamnezi (197). Nedostatak navedene studije je neuključivanje TgAt u analizu. Nadalje, ista istraživačka skupina u longitudinalnoj studiji, koja je nastavak prethodno spomenutog istraživanja,

potvrdila je utjecaj povišene razine TPOAt na smanjenu kvalitetu života u eutiroidnih žena s HT-om (198), također bez analize TgAt. Prema rezultatima drugih autora povišena razina TPOAt povezana je s depresijom (199) i fibromialgijom što također upućuje na ulogu autoimunosti u kliničkoj manifestaciji i pojavnosti simptoma u ispitanika s HT-om (117, 162).

Prema modelu linearne regresije u kojeg smo uključili TgAt, TPOAt, T3, TSH i volumen štitnjače, samo razina TgAt je prediktor povećane učestalosti simptoma. U skladu s tim i s obzirom na umjerenu zajedničku korelaciju između TgAt i TPOAt ( $r=0,39$ ) pozitivna korelacija TPOAt i broja simptoma može biti posljedica utjecaja TgAt na povećanu učestalost simptoma u našoj ispitivanoj skupini.

Zaključno, iako je TPOAt do sada prihvaćen kao najosjetljiviji dijagnostički test za HT i značajan prognostički kriterij progresije hipotireoze (88, 200), rezultati našeg istraživanja ukazuju da povišen titar TgAt također ima značajan utjecaj u kliničkoj manifestaciji HT-a jer je povezan s većim brojem simptoma.

## **5.2. Analiza prediktora simptoma hipotireoze**

Kako je već spomenuto, s obzirom na to da smo uočili utjecaj povišene razine TgAt na povećan broj simptoma, dodatno smo istražili koji su specifični simptomi značajno povezani s visokim titrom TgAt u skupini ispitanika koji nisu na terapiji LT4, a to su: lomljivost kose, edem lica, otečenost očnih kapaka i promuklost glasa. Navedeni rezultati sugeriraju da je povišen titar TgAt povezan s izraženijom kliničkom manifestacijom hipotireoze. Moguće objašnjenja za ove povezanosti se može naći u novijim studijama koje su otkrile prisutnost receptora za Tg izvan parenhima štitnjače, u tkivu kože i u moždanom parenhimu, što upućuje na moguću ulogu Tg-a i u drugim tkivima (100). Navedene uloge Tg-a izvan štitnjače bi također mogla narušiti prisutnost, odnosno, povišene razine TgAt. Poznata je povezanost autoimune bolesti štitnjače i kožnih oboljenja kao što su kronična urtikarija (201), vitiligo (202) i povećana autoreaktivnost kože (115). Također, prethodno je već zabilježena povezanost TgAt i otečenosti lica u prikazu slučaja eutiroidnog bolesnika s HT-om (203) što govori u prilog našim rezultatima. Prema nekim studijama tkivni fibroblasti mogu biti sijelo križne reaktivnosti kod autoimunih bolesti štitnjače, s obzirom na to da dijele antigensku

sličnost s Tg i TPO, kako je to ustanovljeno kod bolesnika s HT-om kod kojih je došlo do razvoja orbitopatije i dermopatije (141, 142).

Rezultati naše studije ukazuju na to da simptomatologija HT-a nije isključivo posljedica hipotireoze, već je moguća i uloga autoimunosti, osobito TgAt protutijela, u kliničkoj manifestaciji HT-a, kao što su neki autori prethodno već i spomenuli za TPOAt protutijela (135, 137, 197). Pri tome je važno napomenuti da bolesnici s HT-om imaju povećanu učestalost i drugih autoimunih bolesti koje, iako se klinički jasno mogu diferencirati tek nakon određenog vremena, mogu utjecati na kliničku sliku, osobito u bolesnika kojima je još očuvana funkcija štitnjače (skupina naših ispitanika bez terapije) (11). Kako je prethodno već spomenuto, prema nekim autorima, koegzistencija HT-a i drugih autoimunih bolesti nastaje zbog razvoja poliklonalnog autoimunog odgovora na razne organ-specifične antigene pa tako povišen titar TPOAt može biti pokazatelj oštećenog imunog odgovora (198, 204, 205).

U skladu s našim rezultatima, analiza TgAt, uz TPOAt, je nužna u dijagnostičkoj obradi HT-a, osobito kod bolesnika s povećanom učestalošću simptoma, što može utjecati na klinički pristup i ranije započinjanje supstitucijske terapije. Prethodno je već utvrđeno da uvođenje terapije LT4 dovodi do smanjenja upalne reakcije u parenhimu štitnjače i sniženja titra protutijela (172), što sugerira da terapija LT4 može ublažiti simptome koji su povezani s povišenim titrom TgAt. Također, nužno je dodatno istražiti i razlučiti etiološki koji simptomi nastaju kao posljedica nedostatka hormona štitnjače, a koji od simptoma mogu biti izravna posljedica autoimunosti.

#### 5.2.1. Analiza razlike u pojavnosti simptoma između dvije skupine ispitanika (sa i bez terapije LT4)

Uspoređujući dvije skupine naših ispitanika, uočili smo povećan broj simptoma hipotireoze u skupini ispitanika koji su na terapiji LT4, u odnosu na skupinu ispitanika koji su bez terapije, unatoč višoj razini T4, FT4 te značajno nižoj razini TSH. Ispitanici koji su na terapiji LT4 imaju značajno duže trajanje bolesti što može utjecati na pogrešku prijave simptoma koji su bili priutni i prije započinjanja terapije. No, prema rezultatima brojnih dosadašnjih studija oko 5 - 10% bolesnika na LT4 monoterapiji, uz uredne biokemijske pokazatelje funkcije štitnjače, i

dalje ima perzistirajuće simptome hipotireoze te mentalne poteškoće, što ide u prilog našim rezultatima (188, 206, 207). Važno je naglasiti da su simptomi hipotireoze nespecifični, prema rezultatima velike populacijske „Colorado“ studije prisutni su i u osoba bez bolesti štitnjače (128), no ipak je moguće nekoliko objašnjena navedenog nesrazmjera laboratorijskih pokazatelja i kliničke slike u bolesnika koji su na monoterapiji LT4. U fiziološkom stanju dio T3 je tireoidnog porijekla (oko 20%), a u bolesnika na punoj supstitucijskoj monoterapiji LT4 ukupna količina T3 nastaje perifernom konverzijom iz T4 što zahtijeva veću aktivnost dejodinaza u perifernim tkivima (208). Kod 20% bolesnika na supstitucijskoj terapiji ne dolazi do zadovoljavajućih vrijednosti FT3 i FT4, unatoč normalnim vrijednostima TSH, što upućuje na heterogenu aktivnost dejodinaza u različitim tkivima (209). Među našim ispitanicima koji su na terapiji LT4 povećana je učestalost suhoće i hrapavosti kože, osjetljivosti na hladnoću i hladne kože. Navedeni simptomi mogu biti posljedica tkivne hipotireoze, odnosno smanjene biološke dostupnosti T3 u određenim tkivima, kako je to potvrđeno na animalnom modelu u studiji koju su proveli Werneck de Castro i suradnici (210). Naime, prema njihovim rezultatima, primjena LT4 dovodi do smanjenja aktivnosti dejodinaze tip 2 u perifernim tkivima, dok aktivnost u hipotalamusu ostaje očuvana čime se postiže brža normalizacija razine T3 u hipotalamusu i normalizacija lučenja TSH iz hipofize, unatoč nižoj razini hormona u perifernim tkivima.

### **5.3. Ostale pronađene korelacije fenotipskih karakteristika ispitanika i kliničkih karakteristika kojima se definira HT**

*Povezanosti TSH/hormona štitnjače s dobi:* Ustanovili smo nekoliko očekivanih i već prethodno utvrđenih korelacija, kao što je utjecaj dobi na funkciju štitnjače (211) pa smo tako u skupini ispitanika koji nisu na terapiji LT4 pronašli pozitivnu korelaciju dobi s TSH i negativnu korelaciju dobi s FT4, u skladu s brojnim prethodnim studijama (164, 212, 213). Suprotno tome, u skupini ispitanika s HT-om koji su na terapiji LT4 pronašli smo značajnu negativnu korelaciju dobi i TSH te pozitivnu korelaciju dobi i T4 što upućuje da supstitucijska terapija modulira fiziološki utjecaj dobi na funkciju štitnjače. Naime, poznato je da starenjem dolazi do smanjenja biološkog učinka TSH kao i do smanjenja konverzije T4 u T3 (212, 214).

*Povezanost TSH s BSA:* U skupini ispitanika koji nisu na terapiji pronašli smo značajnu povezanost TSH s BSA što, s kliničkog stajališta, nije neočekivano obzirom na to da je jedan od vodećih simptoma neliječene hipotireoze pa i subkliničke, porast tjelesne težine (215). Rezultati naše studije su u skladu s prethodnim publikacijama koje opisuju pozitivnu korelaciju TSH s BMI, tjelesnom težinom i drugim pokazateljima adipoznosti (216-219). Zanimljivo, sličnu povezanost nismo pronašli u skupini ispitanika koji su na terapiji LT4 što može biti posljedica sniženja TSH uvođenjem terapije i posljedične stabilizacije tjelesne težine, kao što je to već prethodno opisano (220). Nadalje, pronađena negativna korelacija FT4 i BSA kod ispitanika koji su na terapiji LT4 može biti posljedica suboptimalne hormonske supstitucije.

*Povezanost TSH s arterijskim tlakom:* Pozitivna korelacija koju smo pronašli između TSH i arterijskog tlaka u skupini ispitanika bez terapije je u skladu s rezultatima opsežne populacijske studije Asvolda i sur. koji su opisali linearni porast arterijskog tlaka s porastom vrijednosti TSH u eutiroidnih ispitanika (221). Slični rezultati opisani su u studiji Sieminske i sur. prema kojima porast TSH i povišen titar protutijela na antigene štitnjače povećava učestalost metaboličkog sindroma, koji uključuje i hipertenziju (222). Subklinička hipotireoza utječe na dijasoličku funkciju srca, no utjecaj se gubi uvođenjem supstitucijske terapije LT4 (223). U skladu s tim, u skupini ispitanika koji su na terapiji LT4 nismo uočili korelaciju TSH s arterijskim tlakom (Tablica 3.), što može biti pokazatelj povoljnog djelovanja terapije na arterijski tlak. Iako, važno je napomenuti da je prosječna vrijednost arterijskog tlaka unutar normalnog raspona u obje skupine naših ispitanika, što je u skladu s njihovom prosječno mlađom dobi (Tablica 2.). Obzirom da brojne dosadašnje studije potvrđuju utjecaj subkliničke hipotireoze na kardiovaskularne bolesti (221, 224, 225), moguće je da ranije započinjanje terapije LT4 može imati povoljan dugoročni učinak na kardiovaskularni sustav bolesnika s HT-om (226).

*Povezanost volumena štitnjače i BSA:* Prema dosadašnjim istraživanjima volumen štitnjače se povećava sukladno porastu BSA i BMI (227) te je BSA važan antropometrijski parametar volumena štitnjače (228). Tome u prilog idu i rezultati naše studije s obzirom na to da smo uočili pozitivnu korelaciju volumena štitnjače s BSA u skupini svih ispitanika te onima koji su na početku bolesti. Zanimljivo je vidjeti da se značajnost korelacije između volumena

štitnjače i BSA smanjuje u skupini ispitanika na terapiji, što može odražavati i smanjenje volumena štitnjače (atrofiju štitnjače) uslijed progresije bolesti (229, 230).

#### **5.4. Ograničenja i prednosti studije**

U studiju smo uključili ukupno 491 ispitanika s HT-om, od čega smo posebno istraživali simptomatologiju u skupini od 290 ispitanika bez terapije LT4 s ciljem preciznijeg utvrđivanja kliničke manifestacije bolesti. Nedostatak studije je u tome što je dio ispitanika u skupini bez terapije bio u subkliničkoj hipotireozu, a manjim dijelom i s vrijednostima TSH>10 mIU/L (17%). Navedena odstupanja proizlaze iz činjenice da dio ispitanika uključuje bolesnike koji su upućeni na obradu zbog povišenih vrijednosti TSH te im je dijagnoza HT prvi put postavljena u sklopu kliničkog pregleda prilikom uključivanja u studiju.

Uzimajući u obzir skupinu ispitanika koji su na terapiji LT4 moramo napomenuti da je prilikom ispitivanja simptoma hipotireoze otežavajući čimbenik bio duljina trajanja bolesti, u prosjeku 4,9 g. (Tablica 2.), što može utjecati na ispravnost prijave prisutnosti simptoma u vremenu prije započinjanja terapije LT4. Zbog toga smo se osobito usmjerili na ispitivanje prediktora simptoma hipotireoze u skupini ispitanika koji nisu na terapiji LT4. Također, nedostatak studije je nemogućnost kvantifikacije izraženosti 16 ispitivanih simptoma, obzirom da smo istraživali samo pojavnost simptoma, što svakako namjeravano nadopuniti u istraživanju koje slijedi u nastavku.

No, prednost studije je da su svi ispitanici obrađeni od strane iskusnih tireoidologa, uniformiranim standardiziranim postupcima te je dijagnoza HT-a postavljena s vrlo visokom specifičnošću. Također, dobar dizajn studije potvrđuju i dobiveni rezultati koji su u skladu s već prethodno utemeljenim činjenicama, kao što je utjecaj dobi na funkciju štitnjače, korelacije između TSH, T4, volumena štitnjače s BSA kao i korelacija TSH i arterijskog tlaka.

Nadalje, prednost naše studije je uniformnost populacije s obzirom na to da su svi ispitanici iz područja regije s dostatnim unosom joda (grad Split). Također, omjer ženskih i muških ispitanika u našoj studiji (Ž:M = 12,6:1) je u skladu s incidencijom HT u odnosu na spol, kao i prosječna dob naših ispitanika.

## **6. ZAKLJUČCI**

1. Utvrdili smo postojanje razlika u medijanima nekoliko fenotipova karakterističnih za HT između dvije skupine ispitanika koje se razlikuju ovisno o uzimanju terapije LT4. Ispitanici koji su na terapiji LT4 imaju višu razinu T4, FT4, dulji vremenski period trajanja bolesti i veći broj simptoma hipotireoze uz značajno nižu razinu TSH i manji volumen štitnjače u odnosu na ispitanike koji su bez terapije.

2. Utvrdili smo postojanje poznatih i, za svjetsku znanost, nepoznatih korelacija između fenotipskih karakteristika ispitanika s kliničkim karakteristikama kojima se definira HT, od kojih posebno izdvajamo povezanost TgAt s brojem simptoma u skupini ispitanika bez terapije LT4.

3. U skupini ispitanika koji ne primaju terapiju LT4 utvrdili smo da je TgAt prediktor pojavnosti, odnosno statistički značajno povezan s četiri simptoma (lomljivost kose, edem lica, otečenost očnih kapaka, promuklost).

4. Utvrdili smo razlike u pojavnosti simptoma između ispitanika koji primaju terapiju LT4 i onih koji ne primaju terapiju. U skupini ispitanika koji su na terapiji LT4 statistički je značajno povećan broj simptoma, što se osobito odnosi na ove simptome: suha i hrapava koža, osjetljivost na hladnoću i hladna koža.

5. Ovo istraživanje upućuje da je klinička slika HT složena, odnosno da je, uz smanjenu funkciju štitnjače, značajna i uloga autoimunosti u kliničkoj manifestaciji i simptomatologiji bolesti. Stoga su potrebna dodatna istraživanja kako bi detaljnije razlučili na koji način ova organ-specifična protutijela, osobito TgAt, mogu djelovati izvan ciljnog organa.



## **7. LITERATURA**

1. Cook HJ. Thomas Wharton's Adenographia, first published in London in 1656: *Med Hist.* 1998 Jul;42(3):411-2.
2. LaFranchi S. Thyroid function in the preterm infant. *Thyroid.* 1999;9(1):71-8.
3. Santangelo G, Pellino G, De Falco N, Colella G, D'Amato S, Maglione MG, et al. Prevalence, diagnosis and management of ectopic thyroid glands. *Int J Surg.* 2016;28(1):18.
4. Lee J, Yi S, Kang YE, Kim HW, Joung KH, Sul HJ, et al. Morphological and Functional Changes in the Thyroid Follicles of the Aged Murine and Humans. *J Pathol Transl Med.* 2016;50(6):426-35.
5. Toda S, Aoki S, Uchihashi K, Matsunobu A, Yamamoto M, Ootani A, et al. Culture models for studying thyroid biology and disorders. *ISRN Endocrinol.* 2011;275782(10):12.
6. Mohebati A, Shaha AR. Anatomy of thyroid and parathyroid glands and neurovascular relations. *Clin Anat.* 2012;25(1):19-31.
7. Nilsson M, Fagman H. Development of the thyroid gland. *Development.* 2017;144(12):2123-40.
8. Jukic T, Zimmermann MB, Granic R, Prpic M, Krilic D, Juresa V, et al. Sufficient Iodine Intake in Schoolchildren from the Zagreb Area: Assessment with Dried Blod Spot Thyroglobulin as a New Functional Biomarker for Iodine Deficiency. *Acta Clin Croat.* 2015;54(4):424-31.
9. McLachlan SM, Rapoport B. Breaking tolerance to thyroid antigens: changing concepts in thyroid autoimmunity. *Endocr Rev.* 2014;35(1):59-105.
10. Chen CR, Hamidi S, Braley-Mullen H, Nagayama Y, Bresee C, Aliesky HA, et al. Antibodies to thyroid peroxidase arise spontaneously with age in NOD.H-2h4 mice and appear after thyroglobulin antibodies. *Endocrinology.* 2010;151(9):4583-93.
11. Frohlich E, Wahl R. Thyroid Autoimmunity: Role of Anti-thyroid Antibodies in Thyroid and Extra-Thyroidal Diseases. *Front Immunol.* 2017;8(521).
12. Giovanella L, Imperiali M, Ferrari A, Palumbo A, Furlani L, Graziani MS, et al. Serum thyroglobulin reference values according to NACB criteria in healthy subjects with normal thyroid ultrasound. *Clin Chem Lab Med.* 2012;50(5):891-3.
13. Pacini F, Pinchera A. Serum and tissue thyroglobulin measurement: clinical applications in thyroid disease. *Biochimie.* 1999;81(5):463-7.

14. Stinca S, Andersson M, Weibel S, Herter-Aeberli I, Fingerhut R, Gowachirapant S, et al. Dried Blood Spot Thyroglobulin as a Biomarker of Iodine Status in Pregnant Women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102(1):23-32.
15. Groen AH, Klein Hesselink MS, Plukker JT, Sluiter WJ, van der Horst-Schrivers AN, Brouwers AH, et al. Additional value of a high sensitive thyroglobulin assay in the follow-up of patients with differentiated thyroid carcinoma. *Clin Endocrinol.* 2017;86(3):419-24.
16. Galton VA. The ups and downs of the thyroxine pro-hormone hypothesis. *Mol Cell Endocrinol.* 2017;458:105-11.
17. Yen PM. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiol Rev.* 2001;81(3):1097-142.
18. Kelly GS. Peripheral metabolism of thyroid hormones: a review. *Altern Med Rev.* 2000;5(4):306-33.
19. van der Spek AH, Fliers E, Boelen A. The classic pathways of thyroid hormone metabolism. *Mol Cell Endocrinol.* 2017;458:29-38.
20. Huang SA. Physiology and pathophysiology of type 3 deiodinase in humans. *Thyroid.* 2005;15(8):875-81.
21. Bernal J, Guadano-Ferraz A, Morte B. Thyroid hormone transporters--functions and clinical implications. *Nat Rev Endocrinol.* 2015;11(7):406-17.
22. Braun D, Schweizer U. Thyroid Hormone Transport and Transporters. *Vitam Horm.* 2018;106:19-44.
23. Brent GA. Mechanisms of thyroid hormone action. *J Clin Invest.* 2012;122(9):3035-43.
24. Sinha R, Yen PM. Cellular Action of Thyroid Hormone.
25. Davis PJ, Leonard JL, Lin HY, Leinung M, Mousa SA. Molecular Basis of Nongenomic Actions of Thyroid Hormone. *Vitam Horm.* 2018;106:67-96.
26. Hones 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(52):E11323-E32.
27. Lanni A, Moreno M, Goglia F. Mitochondrial Actions of Thyroid Hormone. *Compr Physiol.* 2016;6(4):1591-607.
28. International Consortium for Blood Pressure Genome-Wide Association S, Ehret GB, Munroe PB, Rice KM, Bochud M, Johnson AD, et al. Genetic variants in novel pathways influence blood pressure and cardiovascular disease risk. *Nature.* 2011;478(7367):103-9.

29. Boyages SC, Halpern JP. Endemic cretinism: toward a unifying hypothesis. *Thyroid*. 1993;3(1):59-69.
30. Ma WT, Chang C, Gershwin ME, Lian ZX. Development of autoantibodies precedes clinical manifestations of autoimmune diseases: A comprehensive review. *J Autoimmun*. 2017;83:95-112.
31. Simmonds MJ. GWAS in autoimmune thyroid disease: redefining our understanding of pathogenesis. *Nat Rev Endocrinol*. 2013;9(5):277-87. Epub 2013/03/27.
32. Wang L, Wang FS, Gershwin ME. Human autoimmune diseases: a comprehensive update. *J Intern Med*. 2015;278(4):369-95.
33. Witebsky E, Rose NR. Studies on organ specificity. IV. Production of rabbit thyroid antibodies in the rabbit. *J Immunol*. 1956;76(6):408-16.
34. Hayter SM, Cook MC. Updated assessment of the prevalence, spectrum and case definition of autoimmune disease. *Autoimmun Rev*. 2012;11(10):754-65.
35. Hiromatsu Y, Satoh H, Amino N. Hashimoto's thyroiditis: history and future outlook. *Hormones*. 2013;12(1):12-8.
36. Wemeau JL. Hashimoto's thyroiditis (hypertrophic chronic lymphocytic thyroiditis): the centennial of a discovery. *Presse Med*. 2012;41(12 P 2):22.
37. McClintock JC, Wright AW. Riedel's Struma and Struma Lymphomatosa (Hashimoto): A Comparative Study. *Ann Surg*. 1937;106(1):11-32.
38. Pearce EN, Farwell AP, Braverman LE. Thyroiditis. *N Engl J Med*. 2003;348(26):2646-55.
39. Li Y, Nishihara E, Hirokawa M, Taniguchi E, Miyauchi A, Kakudo K. Distinct clinical, serological, and sonographic characteristics of hashimoto's thyroiditis based with and without IgG4-positive plasma cells. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(3):1309-17.
40. Demirbilek H, Kandemir N, Gonc EN, Ozon A, Alikasifoglu A, Yordam N. Hashimoto's thyroiditis in children and adolescents: a retrospective study on clinical, epidemiological and laboratory properties of the disease. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2007;20(11):1199-205.
41. Wasniewska M, Corrias A, Salerno M, Lombardo F, Aversa T, Mussa A, et al. Outcomes of children with hashitoxicosis. *Horm Res Paediatr*. 2012;77(1):36-40.
42. Nishimaki M, Isozaki O, Yoshihara A, Okubo Y, Takano K. Clinical characteristics of frequently recurring painless thyroiditis: contributions of higher thyroid hormone levels,

- younger onset, male gender, presence of thyroid autoantibody and absence of goiter to repeated recurrence. *Endocr J.* 2009;56(3):391-7.
43. Caturegli P, De Remigis A, Rose NR. Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnostic criteria. *Autoimmun Rev.* 2014;13(4-5):391-7.
  44. Gonzalez-Rodriguez E, Rodriguez-Abreu D. Immune Checkpoint Inhibitors: Review and Management of Endocrine Adverse Events. *Oncologist.* 2016;21(7):804-16.
  45. Weetman AP. The immunopathogenesis of chronic autoimmune thyroiditis one century after hashimoto. *Eur Thyroid J.* 2013;1(4):243-50.
  46. Brix TH, Hegedus L. Twin studies as a model for exploring the aetiology of autoimmune thyroid disease. *Clin Endocrinol.* 2012;76(4):457-64.
  47. Brix TH, Kyvik KO, Hegedus L. A population-based study of chronic autoimmune hypothyroidism in Danish twins. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(2):536-9.
  48. Weetman AP. The genetics of autoimmune thyroid disease. *Horm Metab Res.* 2009;41(6):421-5.
  49. Stathatos N, Daniels GH. Autoimmune thyroid disease. *Curr Opin Rheumatol.* 2012;24(1):70-5.
  50. Walsh JP, Berry J, Liu S, Panicker V, Dayan CM, Brix TH, et al. The clinical presentation of autoimmune thyroid disease in men is associated with IL12B genotype. *Clin Endocrinol.* 2011;74(4):508-12.
  51. Park Y, Lee HS, Min D, Yang S, Kim D, Cho B. Evidence for the role of STAT4 as a general autoimmunity locus in the Korean population. *Diabetes Metab Res Rev.* 2011;27(8):867-71.
  52. Merrill SJ, Mu Y. Thyroid autoimmunity as a window to autoimmunity: An explanation for sex differences in the prevalence of thyroid autoimmunity. *J Theor Biol.* 2015;375:95-100.
  53. Morganti S, Ceda GP, Sacconi M, Milli B, Ugolotti D, Prampolini R, et al. Thyroid disease in the elderly: sex-related differences in clinical expression. *J Endocrinol Invest.* 2005;28(11 Suppl Proceedings):101-4.
  54. Effraimidis G, Wiersinga WM. Mechanisms in endocrinology: autoimmune thyroid disease: old and new players. *Eur J Endocrinol.* 2014;170(6):14-0047.
  55. Kusic Z, Jukic T. History of endemic goiter in Croatia: from severe iodine deficiency to iodine sufficiency. *Coll Antropol.* 2005;29(1):9-16.

56. Duntas LH. The Role of Iodine and Selenium in Autoimmune Thyroiditis. *Horm Metab Res.* 2015;47(10):721-6.
57. Rasooly L, Rose NR, Saboori AM, Ladenson PW, Burek CL. Iodine is essential for human T cell recognition of human thyroglobulin. *Autoimmunity.* 1998;27(4):213-9.
58. Rayman MP. Multiple nutritional factors and thyroid disease, with particular reference to autoimmune thyroid disease. *Proc Nutr Soc.* 2019;78(1):34-44.
59. Zaletel K, Gaberscek S. Hashimoto's Thyroiditis: From Genes to the Disease. *Curr Genomics.* 2011;12(8):576-88. Epub 2012/06/02.
60. Guastamacchia E, Giagulli VA, Licchelli B, Triggiani V. Selenium and Iodine in Autoimmune Thyroiditis. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2015;15(4):288-92.
61. Duntas LH, Benvenga S. Selenium: an element for life. *Endocrine.* 2015;48(3):756-75.
62. Ventura M, Melo M, Carrilho F. Selenium and Thyroid Disease: From Pathophysiology to Treatment. *Int J Endocrinol.* 2017;1297658(10):31.
63. Wichman J, Winther KH, Bonnema SJ, Hegedus L. Selenium Supplementation Significantly Reduces Thyroid Autoantibody Levels in Patients with Chronic Autoimmune Thyroiditis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Thyroid.* 2016;26(12):1681-92.
64. Kachouei A, Rezvanian H, Amini M, Aminorroaya A, Moradi E. The Effect of Levothyroxine and Selenium versus Levothyroxine Alone on Reducing the Level of Anti-thyroid Peroxidase Antibody in Autoimmune Hypothyroid Patients. *Adv Biomed Res.* 2018;7(1):2277-9175.
65. Kim D. Low vitamin D status is associated with hypothyroid Hashimoto's thyroiditis. *Hormones.* 2016;15(3):385-93.
66. Hu S, Rayman MP. Multiple Nutritional Factors and the Risk of Hashimoto's Thyroiditis. *Thyroid.* 2017;27(5):597-610.
67. Burek CL, Talor MV. Environmental triggers of autoimmune thyroiditis. *J Autoimmun.* 2009;33(3-4):183-9.
68. Wolf MW, Misaki T, Bech K, Tvede M, Silva JE, Ingbar SH. Immunoglobulins of patients recovering from *Yersinia enterocolitica* infections exhibit Graves' disease-like activity in human thyroid membranes. *Thyroid.* 1991;1(4):315-20.
69. Merrill SJ, Pandiyan B. Untangling thyroid autoimmunity through modeling and simulation. *Front Biosci.* 2018;23:1889-901.

70. Benvenega S, Santarpia L, Trimarchi F, Guarneri F. Human thyroid autoantigens and proteins of *Yersinia* and *Borrelia* share amino acid sequence homology that includes binding motifs to HLA-DR molecules and T-cell receptor. *Thyroid*. 2006;16(3):225-36.
71. Chikuma S. CTLA-4, an Essential Immune-Checkpoint for T-Cell Activation. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2017;410:99-126.
72. Konca Degertekin C, Aktas Yilmaz B, Balos Toruner F, Kalkanci A, Turhan Iyidir O, Fidan I, et al. Circulating Th17 cytokine levels are altered in Hashimoto's thyroiditis. *Cytokine*. 2016;80:13-7.
73. Davies TF, Roman SH, Mackenzie WA, Goldsmith N, Dower SM, Piccinini LA. Thyroid cell MHC class II antigens: a perspective on the aetiology of autoimmune thyroid disease. *Acta Endocrinol Suppl*. 1987;281:13-20.
74. Jacobson EM, Huber A, Tomer Y. The HLA gene complex in thyroid autoimmunity: from epidemiology to etiology. *J Autoimmun*. 2008;30(1-2):58-62.
75. Khan FA, Al-Jameil N, Khan MF, Al-Rashid M, Tabassum H. Thyroid dysfunction: an autoimmune aspect. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(5):6677-81.
76. Wang SH, Baker JR. The role of apoptosis in thyroid autoimmunity. *Thyroid*. 2007;17(10):975-9.
77. Giordano C, Richiusa P, Bagnasco M, Pizzolanti G, Di Blasi F, Sbriglia MS, et al. Differential regulation of Fas-mediated apoptosis in both thyrocyte and lymphocyte cellular compartments correlates with opposite phenotypic manifestations of autoimmune thyroid disease. *Thyroid*. 2001;11(3):233-44.
78. Wang S, Liu Y, Zhao N, Cui X, Huang M, Li Y, et al. IL-34 Expression Is Reduced in Hashimoto's Thyroiditis and Associated With Thyrocyte Apoptosis. *Front Endocrinol*. 2018;9(629).
79. Chiovato L, Bassi P, Santini F, Mammoli C, Lapi P, Carayon P, et al. Antibodies producing complement-mediated thyroid cytotoxicity in patients with atrophic or goitrous autoimmune thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;77(6):1700-5.
80. Roitt IM, Doniach D, Campbell PN, Hudson RV. Auto-antibodies in Hashimoto's disease (lymphadenoid goitre). *Lancet*. 1956;271(6947):820-1.
81. Belyavin G, Trotter WR. Investigations of thyroid antigens reacting with Hashimoto sera; evidence for an antigen other than thyroglobulin. *Lancet*. 1959;1(7074):648-52.

82. Pyzik A, Grywalska E, Matyjaszek-Matuszek B, Rolinski J. Immune disorders in Hashimoto's thyroiditis: what do we know so far? *J Immunol Res.* 2015;979167(10):27.
83. Ruggeri RM, Vicchio TM, Cristani M, Certo R, Caccamo D, Alibrandi A, et al. Oxidative Stress and Advanced Glycation End Products in Hashimoto's Thyroiditis. *Thyroid.* 2016;26(4):504-11.
84. Kaczur V, Vereb G, Molnar I, Krajczar G, Kiss E, Farid NR, et al. Effect of anti-thyroid peroxidase (TPO) antibodies on TPO activity measured by chemiluminescence assay. *Clin Chem.* 1997;43(8 Pt 1):1392-6.
85. Blanchin S, Estienne V, Durand-Gorde JM, Carayon P, Ruf J. Complement activation by direct C4 binding to thyroperoxidase in Hashimoto's thyroiditis. *Endocrinology.* 2003;144(12):5422-9.
86. Pandit AA, Vijay Warde M, Menon PS. Correlation of number of intrathyroid lymphocytes with antimicrosomal antibody titer in Hashimoto's thyroiditis. *Diagn Cytopathol.* 2003;28(2):63-5.
87. Garber JR, Cobin RH, Gharib H, Hennessey JV, Klein I, Mechanick JI, et al. Clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults: cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association. *Thyroid.* 2012;22(12):1200-35.
88. Huber G, Staub JJ, Meier C, Mitrache C, Guglielmetti M, Huber P, et al. Prospective study of the spontaneous course of subclinical hypothyroidism: prognostic value of thyrotropin, thyroid reserve, and thyroid antibodies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(7):3221-6. Epub 2002/07/11.
89. Vanderpump MP, Tunbridge WM, French JM, Appleton D, Bates D, Clark F, et al. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Wickham Survey. *Clin Endocrinol.* 1995;43(1):55-68.
90. Prentice L, Kiso Y, Fukuma N, Horimoto M, Petersen V, Grennan F, et al. Monoclonal thyroglobulin autoantibodies: variable region analysis and epitope recognition. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(3):977-86.
91. Czarnocka B. Thyroperoxidase, thyroglobulin, Na(+)/I(-) symporter, pendrin in thyroid autoimmunity. *Front Biosci.* 2011;16:783-802.
92. Leyhe T, Mussig K. Cognitive and affective dysfunctions in autoimmune thyroiditis. *Brain Behav Immun.* 2014;41:261-6.



93. Payer J, Petrovic T, Lisy L, Langer P. Hashimoto encephalopathy: a rare intricate syndrome: *Int J Endocrinol Metab.* 2012 Spring;10(2):506-14. doi: 10.5812/ijem.4174. Epub 2012 Apr 20.
94. Kirshner HS. Hashimoto's encephalopathy: a brief review. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2014;14(9):014-0476.
95. Piga M, Serra A, Deiana L, Loi GL, Satta L, Di Liberto M, et al. Brain perfusion abnormalities in patients with euthyroid autoimmune thyroiditis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2004;31(12):1639-44.
96. Chiarella G, Russo D, Monzani F, Petrolo C, Fattori B, Pasqualetti G, et al. Hashimoto Thyroiditis and Vestibular Dysfunction. *Endocr Pract.* 2017;23(7):863-8.
97. Chiarella G, Tognini S, Nacci A, Sieli R, Costante G, Petrolo C, et al. Vestibular disorders in euthyroid patients with Hashimoto's thyroiditis: role of thyroid autoimmunity. *Clin Endocrinol.* 2014;81(4):600-5.
98. Arduc A, Isik S, Allusoglu S, Iriz A, Dogan BA, Gocer C, et al. Evaluation of hearing functions in patients with euthyroid Hashimoto's thyroiditis. *Endocrine.* 2015;50(3):708-14.
99. Mussig K, Kunle A, Sauberlich AL, Weinert C, Ethofer T, Saur R, et al. Thyroid peroxidase antibody positivity is associated with symptomatic distress in patients with Hashimoto's thyroiditis. *Brain Behav Immun.* 2012;26(4):559-63.
100. Naicker M, Naidoo S. Expression of thyroid-stimulating hormone receptors and thyroglobulin in limbic regions in the adult human brain. *Metab Brain Dis.* 2018;33(2):481-9.
101. Wang X, Ding X, Xiao X, Xiong F, Fang R. An exploration on the influence of positive simple thyroid peroxidase antibody on female infertility. *Exp Ther Med.* 2018;16(4):3077-81.
102. Busnelli A, Paffoni A, Fedele L, Somigliana E. The impact of thyroid autoimmunity on IVF/ICSI outcome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2016;22(6):775-90.
103. Seror J, Amand G, Guibourdenche J, Ceccaldi PF, Luton D. Anti-TPO antibodies diffusion through the placental barrier during pregnancy. *PLoS One.* 2014;9(1).
104. Muller I, Giani C, Zhang L, Grennan-Jones FA, Fiore E, Belardi V, et al. Does thyroid peroxidase provide an antigenic link between thyroid autoimmunity and breast cancer? *Int J Cancer.* 2014;134(7):1706-14.

105. Godlewska M, Arczewska KD, Rudzinska M, Lyczkowska A, Krasuska W, Hanusek K, et al. Thyroid peroxidase (TPO) expressed in thyroid and breast tissues shows similar antigenic properties. *PLoS One*. 2017;12(6).
106. Smyth PP, Shering SG, Kilbane MT, Murray MJ, McDermott EW, Smith DF, et al. Serum thyroid peroxidase autoantibodies, thyroid volume, and outcome in breast carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83(8):2711-6.
107. Kemal Y, Demirag G, Ekiz K, Yucel I. Antithyroid peroxidase antibody positivity is associated with lower incidence of metastasis in breast cancer. *Mol Clin Oncol*. 2015;3(3):629-32.
108. Fiore E, Giustarini E, Mammoli C, Fragomeni F, Campani D, Muller I, et al. Favorable predictive value of thyroid autoimmunity in high aggressive breast cancer. *J Endocrinol Invest*. 2007;30(9):734-8.
109. Dama M, Steiner M, Lieshout RV. Thyroid peroxidase autoantibodies and perinatal depression risk: A systematic review. *J Affect Disord*. 2016;198:108-21.
110. Groer MW, Vaughan JH. Positive thyroid peroxidase antibody titer is associated with dysphoric moods during pregnancy and postpartum. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs*. 2013;42(1):1552-6909.
111. Gao YM, Gao Y, Lu GZ. [The changes of urine protein and serum beta 2-microglobulin in autoimmune thyroid disease]. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*. 1994;33(9):605-7.
112. Jordan SC, Buckingham B, Sakai R, Olson D. Studies of immune-complex glomerulonephritis mediated by human thyroglobulin. *N Engl J Med*. 1981;304(20):1212-5.
113. Kasumagic-Halilovic E, Beslic N, Ovcina-Kurtovic N. Thyroid Autoimmunity in Patients with Chronic Urticaria. *Med Arch*. 2017;71(1):29-31.
114. Altrichter S, Peter HJ, Pisarevskaja D, Metz M, Martus P, Maurer M. IgE mediated autoallergy against thyroid peroxidase--a novel pathomechanism of chronic spontaneous urticaria? *PLoS One*. 2011;6(4):0014794.
115. Turkoglu Z, Zindanci I, Turkoglu O, Can B, Kavala M, Tamer G, et al. Skin autoreactivity in Hashimoto's thyroiditis patients without urticaria: autologous serum skin test positivity correlation with thyroid antibodies, sonographical volume and grading. *Eur J Dermatol*. 2012;22(3):345-50.

116. Bazzichi L, Rossi A, Zirafa C, Monzani F, Tognini S, Dardano A, et al. Thyroid autoimmunity may represent a predisposition for the development of fibromyalgia? *Rheumatol Int.* 2012;32(2):335-41.
117. Dardano A, Bazzichi L, Bombardieri S, Monzani F. Symptoms in euthyroid Hashimoto's thyroiditis: is there a role for autoimmunity itself?: *Thyroid.* 2012 Mar;22(3):334-5. doi: 10.1089/thy.2011.0100. Epub 2012 Feb 2.
118. Haliloglu S, Ekinci B, Uzkeser H, Sevimli H, Carlioglu A, Macit PM. Fibromyalgia in patients with thyroid autoimmunity: prevalence and relationship with disease activity. *Clin Rheumatol.* 2017;36(7):1617-21.
119. Cojocaru M, Cojocaru IM, Silosi I. Multiple autoimmune syndrome. *Maedica.* 2010;5(2):132-4.
120. Topal F, Senel E, Akbulut S, Dolek Y. A new combination of multiple autoimmune syndrome? Coexistence of vitiligo, autoimmune thyroid disease and ulcerative colitis: *Dermatol Reports.* 2011 Sep 15;3(2):e19. doi: 10.4081/dr.2011.e19. eCollection 2011 Aug 3.
121. Latif S, Jamal A, Memon I, Yasmeen S, Tresa V, Shaikh S. Multiple autoimmune syndrome: Hashimoto's thyroiditis, coeliac disease and systemic lupus erythematosus (SLE). *J Pak Med Assoc.* 2010;60(10):863-5.
122. Siriwardhane T, Krishna K, Ranganathan V, Jayaraman V, Wang T, Bei K, et al. Exploring Systemic Autoimmunity in Thyroid Disease Subjects. *J Immunol Res.* 2018;17(6895146).
123. Fallahi P, Ferrari SM, Ruffilli I, Elia G, Biricotti M, Vita R, et al. The association of other autoimmune diseases in patients with autoimmune thyroiditis: Review of the literature and report of a large series of patients. *Autoimmun Rev.* 2016;15(12):1125-8.
124. Lazurova I, Benhatchi K, Rovensky J, Kozakova D, Wagnerova H, Tajtakova M, et al. Autoimmune thyroid disease and autoimmune rheumatic disorders: a two-sided analysis. *Ann N Y Acad Sci.* 2009.
125. Garelli S, Masiero S, Plebani M, Chen S, Furmaniak J, Armanini D, et al. High prevalence of chronic thyroiditis in patients with polycystic ovary syndrome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2013;169(2):248-51.
126. Carlioglu A, Timur O, Durmaz SA, Ayhan ME. Mean platelet volume in euthyroid patients with Hashimoto's thyroiditis. *Blood Coagul Fibrinolysis.* 2015;26(3):282-4.

127. Liu J, Duan Y, Fu J, Wang G. Association Between Thyroid Hormones, Thyroid Antibodies, and Cardiometabolic Factors in Non-Obese Individuals With Normal Thyroid Function. *Front Endocrinol*. 2018;9(130).
128. Canaris GJ, Manowitz NR, Mayor G, Ridgway EC. The Colorado thyroid disease prevalence study. *Arch Intern Med*. 2000;160(4):526-34.
129. Garmendia Madariaga A, Santos Palacios S, Guillen-Grima F, Galofre JC. The incidence and prevalence of thyroid dysfunction in Europe: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(3):923-31.
130. Vanderpump MP, Tunbridge WM, French JM, Appleton D, Bates D, Clark F, et al. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Wickham Survey. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1995;43(1):55-68. Epub 1995/07/01.
131. Beynon J, Akhtar S, Kearney T. Predictors of outcome in myxoedema coma: *Crit Care*. 2008;12(1):111. doi: 10.1186/cc6218. Epub 2008 Jan 23.
132. Tng EL. The debate on treating subclinical hypothyroidism. *Singapore Med J*. 2016;57(10):539-45.
133. Dichgans M, Malik R, König IR, Rosand J, Clarke R, Gretarsdottir S, et al. Shared genetic susceptibility to ischemic stroke and coronary artery disease: a genome-wide analysis of common variants. *Stroke*. 2014;45(1):24-36.
134. Zivaljevic VR, Bukvic Bacotic BR, Sipetic SB, Stanisavljevic DM, Maksimovic JM, Diklic AD, et al. Quality of life improvement in patients with Hashimoto thyroiditis and other goiters after surgery: A prospective cohort study. *Int J Surg*. 2015;21:150-5.
135. Watt T, Hegedus L, Bjorner JB, Groenvold M, Bonnema SJ, Rasmussen AK, et al. Is Thyroid Autoimmunity per se a Determinant of Quality of Life in Patients with Autoimmune Hypothyroidism? *Eur Thyroid J*. 2012;1(3):186-92.
136. Bektas Uysal H, Ayhan M. Autoimmunity affects health-related quality of life in patients with Hashimoto's thyroiditis. *Kaohsiung J Med Sci*. 2016;32(8):427-33.
137. Yalcin MM, Altinova AE, Cavnar B, Bolayir B, Akturk M, Arslan E, et al. Is thyroid autoimmunity itself associated with psychological well-being in euthyroid Hashimoto's thyroiditis? *Endocr J*. 2017;64(4):425-9.
138. Ahmad J, Tagoe CE. Fibromyalgia and chronic widespread pain in autoimmune thyroid disease. *Clin Rheumatol*. 2014;33(7):885-91.

139. Tagoe CE, Zezon A, Khattri S, Castellanos P. Rheumatic manifestations of euthyroid, anti-thyroid antibody-positive patients. *Rheumatol Int.* 2013;33(7):1745-52.
140. Giynas Ayhan M, Uguz F, Askin R, Gonen MS. The prevalence of depression and anxiety disorders in patients with euthyroid Hashimoto's thyroiditis: a comparative study. *Gen Hosp Psychiatry.* 2014;36(1):95-8.
141. Walia R, Bhansali A, Shanmugasundar G, Upreti V, Dutta P. Primary hypothyroidism with infiltrative ophthalmopathy and dermopathy. *BMJ Case Rep.* 2010;10(08):19.
142. Singh SK, Singh KK, Sahay RK. Images in medicine: Hashimoto's thyroiditis with orbitopathy and dermopathy. *J Postgrad Med.* 2000;46(4):286-7.
143. Shahbaz A, Aziz K, Umair M, Sachmechi I. Prolonged Duration of Hashitoxicosis in a Patient with Hashimoto's Thyroiditis: A Case Report and Review of Literature: *Cureus.* 2018 Jun 14;10(6):e2804. doi: 10.7759/cureus.2804.
144. Jaroudi S, Gavin M, Boylan K, Peiris AN. Transient T3 toxicosis associated with Hashimoto's disease: *Proc (Bayl Univ Med Cent).* 2018 Oct 19;32(1):80-81. doi: 10.1080/08998280.2018.1503480. eCollection 2019 Jan.
145. Banks CA, Ayers CM, Hornig JD, Lentsch EJ, Day TA, Nguyen SA, et al. Thyroid disease and compressive symptoms. *Laryngoscope.* 2012;122(1):13-6.
146. Wormer BA, McHenry CR. Hashimoto's thyroiditis: outcome of surgical resection for patients with thyromegaly and compressive symptoms. *Am J Surg.* 2011;201(3):416-9.
147. Kasagi K, Kousaka T, Higuchi K, Iida Y, Misaki T, Alam MS, et al. Clinical significance of measurements of antithyroid antibodies in the diagnosis of Hashimoto's thyroiditis: comparison with histological findings. *Thyroid.* 1996;6(5):445-50.
148. Carle A, Laurberg P, Knudsen N, Perrild H, Ovesen L, Rasmussen LB, et al. Thyroid peroxidase and thyroglobulin auto-antibodies in patients with newly diagnosed overt hypothyroidism. *Autoimmunity.* 2006;39(6):497-503.
149. Hutfless S, Matos P, Talor MV, Caturegli P, Rose NR. Significance of prediagnostic thyroid antibodies in women with autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(9):2011-0228.
150. Dighe M, Barr R, Bojunga J, Cantisani V, Chammas MC, Cosgrove D, et al. Thyroid Ultrasound: State of the Art Part 1 - Thyroid Ultrasound reporting and Diffuse Thyroid Diseases. *Med Ultrason.* 2017;19(1):79-93.

151. Wu G, Zou D, Cai H, Liu Y. Ultrasonography in the diagnosis of Hashimoto's thyroiditis. *Front Biosci.* 2016;21:1006-12.
152. Pedersen OM, Aardal NP, Larssen TB, Varhaug JE, Myking O, Vik-Mo H. The value of ultrasonography in predicting autoimmune thyroid disease. *Thyroid.* 2000;10(3):251-9.
153. Jeong SH, Hong HS, Lee JY. The association between thyroid echogenicity and thyroid function in pediatric and adolescent Hashimoto's thyroiditis. *Medicine.* 2019;98(14):000000000015055.
154. Magri F, Chytiris S, Chiovato L. The role of elastography in thyroid ultrasonography. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2016;23(5):416-22.
155. Kandemirli SG, Bayramoglu Z, Caliskan E, Sari ZNA, Adaletli I. Quantitative assessment of thyroid gland elasticity with shear-wave elastography in pediatric patients with Hashimoto's thyroiditis. *J Med Ultrason.* 2001;45(3):417-23.
156. Blank W, Braun B. [Sonography of the thyroid--part 2: thyroid inflammation, impairment of thyroid function and interventions]. *Ultraschall Med.* 2008;29(2):128-49.
157. Fu X, Guo L, Zhang H, Ran W, Fu P, Li Z, et al. "Focal thyroid inferno" on color Doppler ultrasonography: a specific feature of focal Hashimoto's thyroiditis. *Eur J Radiol.* 2012;81(11):3319-25.
158. Fu XS, Li ZQ, Zhang HB, Wang JR. Sonographic features of focal Hashimoto's thyroiditis. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao.* 2014;36(3):291-5.
159. Harvey AM, Truong LD, Mody DR. Diagnostic pitfalls of Hashimoto's/lymphocytic thyroiditis on fine-needle aspirations and strategies to avoid overdiagnosis. *Acta Cytol.* 2012;56(4):352-60.
160. Vanderpump MP, Tunbridge WM. Epidemiology and prevention of clinical and subclinical hypothyroidism. *Thyroid.* 2002;12(10):839-47.
161. Okosieme O, Gilbert J, Abraham P, Boelaert K, Dayan C, Gurnell M, et al. Management of primary hypothyroidism: statement by the British Thyroid Association Executive Committee. *Clin Endocrinol.* 2016;84(6):799-808.
162. Jonklaas J, Bianco AC, Bauer AJ, Burman KD, Cappola AR, Celi FS, et al. Guidelines for the treatment of hypothyroidism: prepared by the american thyroid association task force on thyroid hormone replacement. *Thyroid.* 2014;24(12):1670-751.

163. Wiersinga WM, Duntas L, Fadeyev V, Nygaard B, Vanderpump MP. 2012 ETA Guidelines: The Use of L-T4 + L-T3 in the Treatment of Hypothyroidism. *Eur Thyroid J.* 2012;1(2):55-71.
164. Pearce SH, Brabant G, Duntas LH, Monzani F, Peeters RP, Razvi S, et al. 2013 ETA Guideline: Management of Subclinical Hypothyroidism. *Eur Thyroid J.* 2013;2(4):215-28.
165. Hennessey JV. Historical and Current Perspective in the Use of Thyroid Extracts for the Treatment of Hypothyroidism. *Endocr Pract.* 2015;21(10):1161-70.
166. Hays MT. Localization of human thyroxine absorption. *Thyroid.* 1991;1(3):241-8.
167. Vita R, Saraceno G, Trimarchi F, Benvenga S. A novel formulation of L-thyroxine (L-T4) reduces the problem of L-T4 malabsorption by coffee observed with traditional tablet formulations. *Endocrine.* 2013;43(1):154-60.
168. Scavone C, Sportiello L, Cimmaruta D, Sullo MG, Vitelli B, Rafaniello C, et al. Medication adherence and the use of new pharmaceutical formulations: the case of levothyroxine. *Minerva Endocrinol.* 2016;41(2):279-89.
169. Jonklaas J, Burman KD, Wang H, Latham KR. Single-dose T3 administration: kinetics and effects on biochemical and physiological parameters. *Ther Drug Monit.* 2015;37(1):110-8.
170. McAninch EA, Bianco AC. The History and Future of Treatment of Hypothyroidism. *Ann Intern Med.* 2016;164(1):50-6.
171. Hoang TD, Olsen CH, Mai VQ, Clyde PW, Shakir MK. Desiccated thyroid extract compared with levothyroxine in the treatment of hypothyroidism: a randomized, double-blind, crossover study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(5):1982-90.
172. Ates I, Altay M, Yilmaz FM, Topcuoglu C, Yilmaz N, Berker D, et al. The impact of levothyroxine sodium treatment on oxidative stress in Hashimoto's thyroiditis. *Eur J Endocrinol.* 2016;174(6):727-34.
173. Schmidt M, Voell M, Rahlff I, Dietlein M, Kobe C, Faust M, et al. Long-term follow-up of antithyroid peroxidase antibodies in patients with chronic autoimmune thyroiditis (Hashimoto's thyroiditis) treated with levothyroxine. *Thyroid.* 2008;18(7):755-60.
174. Guclu F, Ozmen B, Kirmaz C, Kafesciler SO, Degirmenci PB, Taneli F, et al. Down-regulation of the auto-aggressive processes in patients with hypothyroid Hashimoto's thyroiditis following substitutive treatment with L-thyroxine. *Eur Cytokine Netw.* 2009;20(1):27-32.

175. Yu L, Zhou L, Xu E, Bi Y, Hu X, Pei X, et al. Levothyroxine monotherapy versus levothyroxine and selenium combination therapy in chronic lymphocytic thyroiditis. *J Endocrinol Invest*. 2017;40(11):1243-50.
176. Winther KH, Wichman JE, Bonnema SJ, Hegedus L. Insufficient documentation for clinical efficacy of selenium supplementation in chronic autoimmune thyroiditis, based on a systematic review and meta-analysis. *Endocrine*. 2017;55(2):376-85.
177. Wang S, Wu Y, Zuo Z, Zhao Y, Wang K. The effect of vitamin D supplementation on thyroid autoantibody levels in the treatment of autoimmune thyroiditis: a systematic review and a meta-analysis. *Endocrine*. 2018;59(3):499-505.
178. Nordio M, Basciani S. Myo-inositol plus selenium supplementation restores euthyroid state in Hashimoto's patients with subclinical hypothyroidism. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2017;21(2 Suppl):51-9.
179. Ferrari SM, Elia G, Ragusa F, Paparo SR, Caruso C, Benvenga S, et al. The protective effect of myo-inositol on human thyrocytes. *Rev Endocr Metab Disord*. 2018;19(4):355-62.
180. Shimizu K, Nakajima Y, Kitagawa W, Akasu H, Takatsu K, Ishii R, et al. Surgical therapy in Hashimoto's thyroiditis. *J Nippon Med Sch*. 2003;70(1):34-9.
181. McManus C, Luo J, Sippel R, Chen H. Should patients with symptomatic Hashimoto's thyroiditis pursue surgery? *J Surg Res*. 2011;170(1):52-5.
182. Tomer Y. Mechanisms of autoimmune thyroid diseases: from genetics to epigenetics. *Annu Rev Pathol*. 2014;9:147-56.
183. Thangaratinam S, Tan A, Knox E, Kilby MD, Franklyn J, Coomarasamy A. Association between thyroid autoantibodies and miscarriage and preterm birth: meta-analysis of evidence. *Bmj*. 2011;9(342).
184. Klein RZ, Haddow JE, Faix JD, Brown RS, Hermos RJ, Pulkkinen A, et al. Prevalence of thyroid deficiency in pregnant women. *Clin Endocrinol*. 1991;35(1):41-6.
185. Cleary-Goldman J, Malone FD, Lambert-Messerlian G, Sullivan L, Canick J, Porter TF, et al. Maternal thyroid hypofunction and pregnancy outcome. *Obstet Gynecol*. 2008;112(1):85-92.
186. Wilson RE, Salihu HM, Groer MW, Dagne G, O'Rourke K, Mbah AK. Impact of maternal thyroperoxidase status on fetal body and brain size. *J Thyroid Res*. 2014;872410(10):29.



187. Li M, Liu B, Li L, Zhang C, Zhou Q. Association studies of SEPS1 gene polymorphisms with Hashimoto's thyroiditis in Han Chinese. *J Hum Genet.* 2015;60(8):427-33.
188. Saravanan P, Chau WF, Roberts N, Vedhara K, Greenwood R, Dayan CM. Psychological well-being in patients on 'adequate' doses of l-thyroxine: results of a large, controlled community-based questionnaire study. *Clin Endocrinol.* 2002;57(5):577-85.
189. Brcic L, Baric A, Gracan S, Brdar D, Torlak Lovric V, Vidan N, et al. Association of established thyroid peroxidase autoantibody (TPOAb) genetic variants with Hashimoto's thyroiditis. *Autoimmunity.* 2016;49(7):480-5.
190. Brcic L, Gracan S, Baric A, Gunjaca I, Torlak Lovric V, Kolcic I, et al. Association of Established Thyroid-stimulating Hormone and Free Thyroxine Genetic Variants with Hashimoto's Thyroiditis. *Immunol Invest.* 2017;46(6):625-38.
191. Brcic L, Baric A, Gracan S, Brekalo M, Kalicanin D, Gunjaca I, et al. Genome-wide association analysis suggests novel loci for Hashimoto's thyroiditis. *J Endocrinol Invest.* 2019;42(5):567-76.
192. Kusic Z, Jukic T, Franceschi M, Dabelic N, Roncevic S, Lukinac L, et al. [Croatian Thyroid Society guidelines for rational detection of thyroid dysfunction]. *Lijec Vjesn.* 2009;131(11-12):328-38.
193. Vitti P, Rago T. Thyroid ultrasound as a predictor of thyroid disease. *J Endocrinol Invest.* 2003;26(7):686-9.
194. Rago T, Chiovato L, Grasso L, Pinchera A, Vitti P. Thyroid ultrasonography as a tool for detecting thyroid autoimmune diseases and predicting thyroid dysfunction in apparently healthy subjects. *J Endocrinol Invest.* 2001;24(10):763-9.
195. Schiemann U, Avenhaus W, Konturek JW, Gellner R, Hengst K, Gross M. Relationship of clinical features and laboratory parameters to thyroid echogenicity measured by standardized grey scale ultrasonography in patients with Hashimoto's thyroiditis. *Med Sci Monit.* 2003;9(4):MT13-7.
196. Lazarus JH. Iodine status in Europe in 2014. *Eur Thyroid J.* 2014;3(1):3-6.
197. Ott J, Promberger R, Kober F, Neuhold N, Tea M, Huber JC, et al. Hashimoto's thyroiditis affects symptom load and quality of life unrelated to hypothyroidism: a prospective case-control study in women undergoing thyroidectomy for benign goiter. *Thyroid.* 2011;21(2):161-7.

198. Promberger R, Hermann M, Pallikunnel SJ, Seemann R, Meusel M, Ott J. Quality of life after thyroid surgery in women with benign euthyroid goiter: influencing factors including Hashimoto's thyroiditis. *Am J Surg.* 2014;207(6):974-9.
199. Pop VJ, Maartens LH, Leusink G, van Son MJ, Knottnerus AA, Ward AM, et al. Are autoimmune thyroid dysfunction and depression related? *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(9):3194-7.
200. Beever K, Bradbury J, Phillips D, McLachlan SM, Pegg C, Goral A, et al. Highly sensitive assays of autoantibodies to thyroglobulin and to thyroid peroxidase. *Clin Chem.* 1989;35(9):1949-54.
201. Czarnecka-Operacz M, Sadowska-Przytocka A, Jenerowicz D, Szeliga A, Adamski Z, Lacka K. Thyroid function and thyroid autoantibodies in patients with chronic spontaneous urticaria. *Postepy Dermatol Alergol.* 2017;34(6):566-72.
202. Baldini E, Odorisio T, Sorrenti S, Catania A, Tartaglia F, Carbotta G, et al. Vitiligo and Autoimmune Thyroid Disorders. *Front Endocrinol.* 2017;8(290).
203. Miralles JC, Soriano J, Negro JM. Facial edema associated with thyroid autoimmunity. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2002;30(1):47-50. Epub 2002/03/13.
204. Tektonidou MG, Anapliotou M, Vlachoyiannopoulos P, Moutsopoulos HM. Presence of systemic autoimmune disorders in patients with autoimmune thyroid diseases. *Ann Rheum Dis.* 2004;63(9):1159-61.
205. Bliddal S, Nielsen CH, Feldt-Rasmussen U. Recent advances in understanding autoimmune thyroid disease: the tallest tree in the forest of polyautoimmunity. *F1000Res.* 2000;6(1776).
206. Chaker L, Bianco AC, Jonklaas J, Peeters RP. Hypothyroidism. *Lancet.* 2017;390(10101):1550-62.
207. Perros P. A decade of thyroidology. *Hormones.* 2018;17(4):491-5.
208. Abdalla SM, Bianco AC. Defending plasma T3 is a biological priority. *Clin Endocrinol.* 2014;81(5):633-41.
209. Gullo D, Latina A, Frasca F, Le Moli R, Pellegriti G, Vigneri R. Levothyroxine monotherapy cannot guarantee euthyroidism in all athyreotic patients. *PLoS One.* 2011;6(8):1.

210. Werneck de Castro JP, Fonseca TL, Ueta CB, McAninch EA, Abdalla S, Wittmann G, et al. Differences in hypothalamic type 2 deiodinase ubiquitination explain localized sensitivity to thyroxine. *J Clin Invest*. 2015;125(2):769-81.
211. Jasim S, Gharib H. Thyroid and Aging. *Endocr Pract*. 2018;24(4):369-74.
212. Bremner AP, Feddema P, Leedman PJ, Brown SJ, Beilby JP, Lim EM, et al. Age-related changes in thyroid function: a longitudinal study of a community-based cohort. *J Clin Endocrinol Metab*. 2012;97(5):1554-62.
213. Duntas LH. Thyroid Function in Aging: A Discerning Approach. *Rejuvenation Res*. 2017. Epub 2017/07/01.
214. Strich D, Karavani G, Edri S, Gillis D. TSH enhancement of FT4 to FT3 conversion is age dependent. *Eur J Endocrinol*. 2016;175(1):49-54.
215. Knudsen N, Laurberg P, Rasmussen LB, Bulow I, Perrild H, Ovesen L, et al. Small differences in thyroid function may be important for body mass index and the occurrence of obesity in the population. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(7):4019-24.
216. de Moura Souza A, Sichieri R. Association between serum TSH concentration within the normal range and adiposity. *Eur J Endocrinol*. 2011;165(1):11-5. Epub 2011/05/06.
217. Bastemir M, Akin F, Alkis E, Kaptanoglu B. Obesity is associated with increased serum TSH level, independent of thyroid function. *Swiss Med Wkly*. 2007;137(29-30):431-4. Epub 2007/08/21.
218. Kitahara CM, Platz EA, Ladenson PW, Mondul AM, Menke A, Berrington de Gonzalez A. Body fatness and markers of thyroid function among U.S. men and women. *PLoS One*. 2012;7(4):e34979. Epub 2012/04/19.
219. 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(6):587-92. Epub 2008/03/26.
220. Reinehr T, Isa A, de Sousa G, Dieffenbach R, Andler W. Thyroid hormones and their relation to weight status. *Horm Res*. 2008;70(1):51-7.
221. Asvold BO, Bjoro T, Nilsen TI, Vatten LJ. Association between blood pressure and serum thyroid-stimulating hormone concentration within the reference range: a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(3):841-5. Epub 2007/01/04.
222. Sieminska L, Wojciechowska C, Walczak K, Borowski A, Marek B, Nowak M, et al. Associations between metabolic syndrome, serum thyrotropin, and thyroid antibodies status

in postmenopausal women, and the role of interleukin-6. *Endokrynol Pol.* 2015;66(5):394-403.

223. Biondi B, Fazio S, Palmieri EA, Carella C, Panza N, Cittadini A, et al. Left ventricular diastolic dysfunction in patients with subclinical hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84(6):2064-7.

224. Hassan A, Altamirano-Ufion A, Zulfiqar B, Boddu P. Sub-Clinical Hypothyroidism and Its Association With Increased Cardiovascular Mortality: Call for Action. *Cardiol Res.* 2017;8(2):31-5. Epub 2017/05/19.

225. Rodondi N, den Elzen WP, Bauer DC, Cappola AR, Razvi S, Walsh JP, et al. Subclinical hypothyroidism and the risk of coronary heart disease and mortality. *JAMA.* 2010;304(12):1365-74. Epub 2010/09/23.

226. Razvi S, Weaver JU, Butler TJ, Pearce SH. Levothyroxine treatment of subclinical hypothyroidism, fatal and nonfatal cardiovascular events, and mortality. *Arch Intern Med.* 2012;172(10):811-7. Epub 2012/04/25.

227. Barrere X, Valeix P, Preziosi P, Bensimon M, Pelletier B, Galan P, et al. Determinants of thyroid volume in healthy French adults participating in the SU.VI.MAX cohort. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2000;52(3):273-8. Epub 2000/03/16.

228. Turcios S, Lence-Anta JJ, Santana JL, Pereda CM, Velasco M, Chappe M, et al. Thyroid volume and its relation to anthropometric measures in a healthy cuban population. *Eur Thyroid J.* 2015;4(1):55-61. Epub 2015/05/12.

229. Bulow Pedersen I, Laurberg P, Knudsen N, Jorgensen T, Perrild H, Ovesen L, et al. A population study of the association between thyroid autoantibodies in serum and abnormalities in thyroid function and structure. *Clin Endocrinol.* 2005;62(6):713-20.

230. Carle A, Pedersen IB, Knudsen N, Perrild H, Ovesen L, Jorgensen T, et al. Thyroid volume in hypothyroidism due to autoimmune disease follows a unimodal distribution: evidence against primary thyroid atrophy and autoimmune thyroiditis being distinct diseases. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(3):833-9.

## **8. SAŽETAK**

Hashimotov tireoiditis (HT) je najčešća autoimuna endokrinološka bolest, obuhvaća do 10% populacije te je danas vodeći uzrok hipotireoze. Karakterizira ga povišen titar protutijela na tireoidnu peroksidazu (TPOAt) i tireoglobulin (TgAt). Obzirom na rastuće dokaze o utjecaju tireoidnih protutijela na kliničku manifestaciju bolesti, proveli smo opširnu fenotipsku karakterizaciju bolesnika s HT-om, s posebnim naglaskom na autoimunost, kako bismo bolje razumjeli etiologiju i simptomatologiju ove bolesti.

Ispitanici su regrutirani u sklopu Ambulante za bolesti štitnjače Kliničkog zavoda za nuklearnu medicinu u Kliničkom bolničkom centru Split, u razdoblju od 2013. do 2017. g. Ukupno smo uključili 491 ispitanika kojima je dijagnoza HT-a postavljena na temelju kliničkog pregleda uz ultrazvučni pregled štitnjače s ehografskim karakteristikama difuzne bolesti te biokemijsko mjerenje razine hormona i protutijela.

Prikupili smo informacije o kliničkim karakteristikama kojima se definira HT (TSH, T3, T4, FT4, TgAt, TPOAt, volumen štitnjače) i fenotipskim karakteristikama ispitanika (dob ispitanika, BSA, broj simptoma hipotireoze, sistolički i dijastolički arterijski tlak) s ciljem ispitivanja korelacija među njima. Posebno smo se usredotočili na analiziranje skupine koja uključuje 290 ispitanika koji nisu na terapiji LT4, s ciljem detaljnijeg ispitivanja utjecaja autoimunosti na kliničku manifestaciju bolesti. Također, dodatno smo analizirali i razlike između dviju podskupina ispitanika koje smo podijelili u odnosu na uzimanje terapije levotiroksinom (LT4). Najznačajniji rezultat naše studije je po prvi put ustanovljena pozitivna korelacija TgAt s brojem simptoma u skupini ispitanika koji nisu na terapiji LT4 ( $r = 0,25$ ,  $P = 0,0001$ ), koja ostaje značajna i nakon prilagodbe za razinu TPOAt, T3, TSH i volumena štitnjače ( $\beta = 0,66$ ,  $SE = 0,3$ ,  $P = 0,0299$ ). Pronašli smo statistički značajnu povezanost razine TgAt sa sljedećim simptomima: lomljivost kose ( $P = 0,0043$ ), edem lica ( $P = 0,0061$ ), otečenost očnih kapaka ( $P = 0,0293$ ), promuklost glasa ( $P = 0,0349$ ). Prema rezultatima naše studije, povišena razina TgAt povezana je s povećanim brojem simptoma kod bolesnika s HT-om, što ukazuje na ulogu tireoidne autoimunosti u kliničkoj manifestaciji bolesti. U skladu s tim, preporučujemo ispitivanje razine TgAt kod bolesnika s HT-om koji imaju izraženije kliničke tegobe te smatramo da su nužna daljnja istraživanja kako bismo razlučili koji simptomi su posljedica smanjene funkcije štitnjače; a koji od simptoma su autoimune etiologije.

## **9. SUMMARY**

Hashimoto's thyroiditis (HT) is the most common form of autoimmune endocrine disorders, affecting up to 10% of population and it is leading cause of hypothyroidism today. HT is characterized by positivity to autoantibodies to thyroglobulin (TgAb) and thyroid peroxidase (TPOAb). Intrigued by the rising evidence of the role of thyroid antibodies on disease manifestation, we performed a comprehensive phenotypic characterization of patients with HT, with specific focus on thyroid autoimmunity, to get better understanding of disease manifestation.

Patients were recruited at the Outpatient clinic for thyroid disorders in Nuclear Medicine Department at the University Hospital of Split in the period from 2013 to 2017. Our cohort included 491 subjects whom diagnosis of HT has been established with clinical examination including thyroid ultrasound with typical echographic pattern of diffuse thyroid disease, complemented with biochemical measurements of hormones and thyroid antibodies.

We collected information on HT related clinical parameters (TSH, T3, T4, FT4, TgAb, TPOAb, thyroid volume) and patients's phenotypes (age, BSA, number of hypothyroidism symptoms, blood pressure) with aim to test for correlations between them. We especially investigated data from 290 patients with HT without levothyroxine (LT4) therapy with the aim to evaluate possible association of autoimmunity on clinical manifestation. Moreover, we have analyzed differences between two subgroups of HT patients depending on levothyroxine (LT4) therapy-intake.

Our key and novel finding is the existence of significant positive correlation between TgAb levels and the number of symptoms ( $r = 0.25$ ,  $P = 0.0001$ ) in HT patients without LT4 therapy, that remained significant after adjustment for TPOAb, T3, TSH levels and thyroid volume ( $\beta = 0.66$ ,  $SE = 0.3$ ,  $P = 0.0299$ ). Increased TgAb levels are significantly associated with fragile hair ( $P = 0.0043$ ), face edema ( $P = 0.0061$ ), edema of the eyes ( $P = 0.0293$ ) and harsh voice ( $P = 0.0349$ ). According to the results of our study elevated TgAb levels are associated with symptom burden in HT patients, suggesting a role of thyroid autoimmunity in clinical manifestation of HT. Based on these results; we recommend screening for TgAb antibodies in HT patients with symptom burden. We also suggest that further work on understandings of symptoms appearance due to their autoimmune or hypothyroid causation is needed.



## **10. ŽIVOTOPIS**

Rođena sam 04.03.1985. u Splitu. Živim u Solinu gdje sam završila osnovnu školu „Don Lovre Katić“. Nakon završene II jezične gimnazije u Splitu, upisujem Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu gdje sam 2009. diplomom stekla titulu doktora medicine, a 2012. upisala poslijediplomski doktorski studij „Biologija novotvorina“.

2010. g. odradila sam pripravnički staž u KBC-u Split, a potom sam se 2011. g. zaposlila na Zavodu za hitnu medicinu SDŽ. Od 2010. do 2013. g. radila sam kao vanjski suradnik u Centru za socijalnu skrb u Splitu.

Od 2012. g. zaposlena sam na Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu KBC-a Split, 2016. g. završila sam poslijediplomski specijalistički studij „Nuklearna medicina“ na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu.

Godine 2017. položila sam specijalistički ispit iz nuklearne medicine na Kliničkom zavodu za nuklearnu medicinu i zaštitu od zračenja KBC-a Zagreb.

Od 2012. g. suradnik sam u nastavi na Medicinskom fakultetu i Sveučilišnom odjelu zdravstvenih studija Sveučilišta u Splitu.

#### **Stipendije i nagrade:**

2004.-2009. stipendija grada Solina za izvrsne studente

2014.-2018. IAEA stipendije za tečajeve trajne edukacije organizirane od strane EANM i IAEA

2019. nacionalna stipendija L'oreal Adria i UNESCO „*Za žene u znanosti*“

#### **Član udruženja:**

Hrvatski liječnički zbor

Hrvatsko društvo za nuklearnu medicinu

Hrvatsko društvo za osteoporozu

Europsko udruženje za nuklearnu medicinu (EANM)

Europsko društvo za štitnjaču (ETA)

Ambasador Europskog društva za hibridno oslikavanje (ESHI) u RH od 01/2019. (mandat na dvije godine)

**Suradnik na projektima:**

2014- 2018 „Cjelogenomska analiza povezanosti Hashimotovog tiroiditisa“, Hrvatska zaklada za znanost, br. 4950, voditelj: izv.prof.dr.sc. Vesna Boraska Perica

2015- “Istraživanje unosa joda u trudnoći i djetinjstvu u svjetlu nacionalne strategije prevencije poremećaja uzrokovanih nedostatkom joda (IPACSTOPIDD)”, Hrvatska zaklada za znanost, br. 6499, voditelj: akademik Zvonko Kusić

**Dodatna obrazovanja i izdvojeni stručni skupovi:**

2019. Kongres Europskog društva za radiologiju (ESR), Beč, Austrija

2018. Kongres Europskog društva za štitnjaču (ETA), Newcastle, Engleska

2017.-2018. ESMIT škola jesen/proljeće/zima

2017. „Regional Training Course in Nuclear Medicine: New Developments in Molecular Imaging and Targeted Radionuclide Therapy“, Beč, Austrija

2018./2017./2016./2013. Kongres Europskog društva za nuklearnu medicinu (EANM)

2017./2015. međunarodni tečaj trajnog usavršavanja (osnovni i napredni) PET/CT, Debrecen, Mađarska

2015. Međunarodni simpozij “Fellows in science”, CSPRAS kongres, Hrvatska

2014. Kongres Hrvatskog društva za nuklearnu medicinu s međunarodnim sudjelovanjem, Hrvatska

2014. ESNM tečaj trajne edukacije PET/CT u onkologiji, Beč, Austrija

2013.-2016. Europska škola nuklearne medicine/EANM

2013. Poslijediplomski tečaj trajne medicinske edukacije “Masterclass on Differentiated Thyroid Cancer Managment”, Pisa, Italija

2013. Tečaj "Biopsija limfnog čvora čuvara u ranom stadiju karcinoma dojke", Zagreb, Hrvatska

### **Oralne prezentacije:**

2015.- Zajednički kongres hrvatskog i slovenskog društva za ultrazvuk u medicini, "Ultrazvučna prezentacija lingvalne štitnjače", Split, Hrvatska

**Jezi:** hrvatski (materinji), engleski (napredno), talijanski (osnovno)

### **Objavljeni znanstveni radovi:**

1. **Barić A**, Brčić L, Gračan S, Škrabić V, Brekalo M, Šimunac M, Lovrić VT, Anić I, Barbalić M, Zemunik T, Punda A, Boraska Perica V. Thyroglobulin Antibodies are Associated with Symptom Burden in Patients with Hashimoto's Thyroiditis: A Cross-Sectional Study. *Immunol Invest.* 2018 Oct 17:1-12.

2. **Barić A**, Marković V, Eterović D, Bedeković V, Kontić M, Kuščić LJ, Pisac VP, Punda A. CYCLIN D1, RET AND P27 EXPRESSION IN PAPILLARY THYROID MICROCARCINOMA. *Acta Clin Croat.* 2017 Mar;56(1):15-20.

3. **Barić A**, Brčić L, Gračan S, Torlak Lovrić V, Gunjača I, Šimunac M, Brekalo M, Boban M, Polašek O, Barbalić M, Zemunik T, Punda A, Boraska Perica V. Association of established hypothyroidism-associated genetic variants with Hashimoto's thyroiditis. *J Endocrinol Invest.* 2017 Oct;40(10):1061-1067. doi: 10.1007/s40618-017-0660-8.

4. **Barić A**, Marković V, Arapović A, Prgomet S, Saraga M. Gastrointestinal Lymphorrhea Diagnosed by Exercise Lymphoscintigraphy. *Clin Nucl Med.* 2016 Dec;41(12):e520-e521.

5. Brčić L, Gračan S, **Barić A**, Gunjača I, Torlak Lovrić V, Kolčić I, Zemunik T, Polašek O, Barbalić M, Punda A, Boraska Perica V. Association of Established Thyroid-stimulating Hormone and Free Thyroxine Genetic Variants with Hashimoto's Thyroiditis. *Immunol Invest.* 2017 Aug;46(6):625-638.

6. Marković V, Eterović D, Punda A, Gračan S, **Barić A**, Piljić Burazer M. Is it possible to determine the origin of cyst in empty thyroid bed in patient with lingual thyroid? *Pathologica.* 2017 Jun;109(2):126-130.

7. Brčić L, **Barić A**, Gračan S, Brdar D, Torlak Lovrić V, Vidan N, Zemunik T, Polašek O, Barbalić M, Punda A, Boraska Perica V. Association of established thyroid peroxidase autoantibody (TPOAb) genetic variants with Hashimoto's thyroiditis. *Autoimmunity*. 2016 Nov;49(7):480-485.
8. Eterović D, Brdar D, **Barić A**, Sladić S, Omrčen T, Punda A. Physiological parameterization of thyroid radioiodine kinetics. *Nucl Med Commun*. 2018 Jul;39(7):593-596.
9. Kaličanin D, Brčić L, **Barić A**, Zlodre S, Barbalić M, Torlak Lovrić V, Punda A, Boraska Perica V. Evaluation of Correlations Between Food-Specific Antibodies and Clinical Aspects of Hashimoto's Thyroiditis. *J Am Coll Nutr*. 2019 Mar-Apr;38(3):259-266.
10. Brčić L, **Barić A**, Gračan S, Torlak V, Brekalo M, Škrabić V, Zemunik T, Barbalić M, Punda A, Boraska Perica V. Genome-wide association analysis suggests novel loci underlying thyroid antibodies in Hashimoto's thyroiditis. *Sci Rep*. 2019 Mar 29;9(1):5360.
11. Brčić L, **Barić A**, Gračan S, Brekalo M, Kaličanin D, Gunjača I, Torlak Lovrić V, Tokić S, Radman M, Škrabić V, Miljković A, Kolčić I, Štefanić M, Glavaš-Obrovac L, Lessel D, Polašek O, Zemunik T, Barbalić M, Punda A, Boraska Perica V. Genome-wide association analysis suggests novel loci for Hashimoto's thyroiditis. *J Endocrinol Invest*. 2019 May;42(5):567-576.
12. Punda A, Bedeković V, **Barić A**, Kontić M, Čolović Z, Vanjaka Rogošić L, Punda H, Kunac N, Grandić L, Pešutić Pisac V. RET EXPRESSION AND ITS CORRELATION WITH CLINICOPATHOLOGIC DATA IN PAPILLARY THYROID CARCINOMA. *Acta Clin Croat*. 2018 Dec;57(4):646-652.

## **11. DODATAK**

## 11.1. Dodatak 1.

MEDICINSKI FAKULTET  
SVEUČILIŠTA U SPLITU  
Etičko povjerenstvo  
Split, 30. svibnja 2014.

Klasa: 003-08/14-03/0001  
Ur. br: 2181-198-03-04-14-0028

### MIŠLENJE

Etičkog povjerenstva povodom prijave istraživanja:  
**Genome-wide association analysis of Hashimoto thyroiditis**

I. Zaprimljen je zahtjev doc. dr. sc. Vesne Boraske za odobrenje znanstvenog istraživanja pod naslovom **Genome-wide association analysis of Hashimoto thyroiditis (hrv: Cjelogenomska analiza povezanosti Hashimotovog tiroiditisa)** – provedba znanstvenog istraživanja na ljudima.

Predviđeno je da ovo istraživanje započne u rujnu 2014. godine i da traje 3 godine, a provodit će se u Laboratoriju za biologiju Medicinskog fakulteta Split i Laboratoriju za biokemiju Zavoda za nuklearnu medicinu KBC Split.

Glavni cilj projekta je pomoći u razumijevanju temeljnih bioloških putova povezanih sa nastankom Hashimotovog tiroiditisa, a sve u cilju poboljšanja liječenja bolesti i razvoja novih preventivskih, dijagnostičkih i terapijskih metoda.

II. Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu je, prilikom raspravljanja o ovom predmetu, uzelo u obzir navod iz zahtjeva podnositelja da su rizici za ispitanika minimalni te da je omjer rizika i koristi u potpunosti na strani koristi za ispitanika. Također je uzeta u obzir izjava da će identitet ispitanika (zdravog ili pacijenta) uvijek ostati anoniman.

III. Sukladno odredbi članka 16. Etičkog kodeksa Medicinskog fakulteta u Splitu Povjerenstvo je zauzelo stajalište kako je predmetno istraživanje **u skladu s odredbama Etičkog kodeksa** koje reguliraju istraživanja na ljudima u znanstvenom, istraživačkom i stručnom radu i etičkim načelima Helsinške deklaracije.

IV. Mišljenje je doneseno jednoglasno.

Predsjednik Povjerenstva:  
  
Prof. dr. sc. Miroslav Šimunić

#### Dostaviti:

- doc. dr. sc. Vesna Boraska x2
- Arhiv Etičkog povjerenstva Fakulteta
- Arhiv Fakulteta

## 11.2. Dodatak 2.

### KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR SPLIT ETIČKO POVJERENSTVO

Klasa: 530-02/13-01/11

Ur.br.: 2181-147-01/06/J.B.-14-2

Split, 4. lipnja 2014.g.

#### IZVOD IZ ZAPISNIKA SA SJEDNICE ETIČKOG POVJERENSTVA KBC SPLIT

**Doc.dr.sc. VESNA BORASKA** s Katedre za Medicinsku biologiju Medicinskog fakulteta u Splitu uputila je Etičkom povjerenstvu KBC Split zahtjev za pregled plana ispitivanja **„Cjelogenomska analiza povezanosti Hashimotovog tiroiditisa“** koji je dobio potporu Hrvatske zaklade za znanost (HRZZ).

Dio ispitivanja planira se provoditi u Zavodu za nuklearnu medicinu u suradnji s prof.dr.sc. A. Pundom i dr.sc. V.Torlak, A.Barić, dr.med. i S.Gračan, dr.med. Ostali suradnici: prof.dr.sc. T. Zemunik i doc.dr.sc. M. Barbalčić s Medicinskog fakulteta u Splitu.

Cilj ispitivanja je :

- utvrditi specifične genske lokuse koji sudjeluju u razvoju Hashimotovog tiroiditisa, jednog od oblika hipotireoze.

Ispitanici:

-ispitanici koji boluju od Hashimotovog tiroiditisa

Metodologija:

-iz uzorka krvi ispitanika, koja se uzima samo jednom, izolirat će se DNA molekula (genom ispitanika) iz koje će se genotipizirati cjelokupni genom uz pomoć Illumina genotipizacijskih čipova i provesti cjelogenomska studija ispitanika i kontrola s ciljem otkrivanja genetskih lokusa koji sudjeluju u etiologiji bolesti Hashimotovog tiroiditisa  
- kontrolni uzorci su uzorci već prikupljeni i pohranjeni tijekom istraživanja pod nazivom „10 001 Dalmatinac – Hrvatska biobanka: Odrednice zdravlja i bolesti u općoj i izoliranim ljudskim populacijama“ kojeg provodi doc.dr.sc. Ozren Polašek na Medicinskom fakultetu u Splitu.

Nakon razmatranja zahtjeva, donijet je sljedeći

#### Z a k l j u č a k

Iz priložene dokumentacije razvidno je da

1. je ispitivanje **„Cjelogenomska analiza povezanosti Hashimotovog tiroiditisa“** podispitivanje koje se planira provesti u sklopu ispitivanja „Otkrivanje genetskih varijanti uključenih u razvoj bolesti štitnjače“ koje je odobreno odlukom ovog Etičkog povjerenstva Klasa: 530-02/13-01/11, Ur.br. 2181-147-01/06/J.B.-13-1 od 21.03.2013.g.
2. se tijekom provođenja ispitivanja štiti identitet i prava ispitanika u skladu sa Zakonom o zaštiti osobnih podataka (NN 103/03-106/12) i Zakonom o zaštiti prava pacijenata (NN169/04, 37/08), te da je ispitivanje usklađeno s odredbama Kodeksa liječničke etike i deontologije (NN 55/08), pravilima dobre kliničke prakse, te pravilima Helsinške deklaracije (1964.-20013.). Etičko povjerenstvo KBC Split je suglasno s provođenjem predloženog ispitivanja u Zavodu za nuklearnu medicinu KBC Split pod uvjetom da troškovi ispitivanja ne idu na teret KBC-a Split te da se prilikom njegovog provođenja poštuju sva navedena etička načela.

Predsjednik Etičkog povjerenstva  
Prof.dr.sc. Jugoslav Bagatin

KLINIČKI BOLNIČKI CENTAR SPLIT  
Etičko povjerenstvo



### 11.3. Dodatak 3.



Sveučilište u Splitu  
Medicinski fakultet  
Universitas Studiorum  
Spalatensis  
Facultas Medica  
Šoltanska 2, 21000 Split  
Hrvatska

Doc. dr. sc. Vesna Boraska  
Katedra za medicinsku biologiju  
Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

**NAZIV PROJEKTA: Otkrivanje genetskih varijanti uključenih u razvoj bolesti štitnjače**

TRAJANJE PROJEKTA: 5 godina

NAZIV USTANOVE: Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

Pozivamo Vas da sudjelujete u znanstvenom istraživanju „**Otkrivanje genetskih varijanti uključenih u razvoj bolesti štitnjače**“. Vaši prikupljeni podaci bit će korišteni u znanstvene svrhe, s ciljem boljeg razumijevanja genetskih odrednica koje sudjeluju u razvoju bolesti štitnjače. Ova obavijest će Vam pružiti podatke čija je svrha pomoći Vam odlučiti da li želite sudjelovati u ovom znanstvenom istraživanju. Prije nego što odlučite, želimo da shvatite zašto se to istraživanje provodi i što ono uključuje. Zato Vas molimo da pažljivo pročitate ovu obavijest. Ukoliko u ovoj obavijesti ne razumijete neke riječi, molimo pitajte liječnika koji sudjeluje u ovom znanstvenom istraživanju.

Bolesti štitnjače pogađaju više od 10% populacije i time predstavljaju važan javnozdravstveni problem. Osnovni cilj ovog projekta je identificirati genetske biljege koji sudjeluju u razvoju bolesti štitnjače. Iz Vaše krvi, koja će biti uzeta samo jedanput, bit će izolirana DNA molekula (Vaš genom) iz koje će se potom odrediti sve genetske varijante (genotipovi i/ili ukupan slijed nukleotida). Usporedbom genetskih varijanti između zdravih i oboljelih pojedinaca u tzv. analizi cjelokupnog genoma pokušati ćemo istražiti njihovu povezanost s nastankom bolesti štitnjače. Analiza cjelokupnog genoma je dokazano pouzdana metoda u istraživanju genetske predispozicije složenih bolesti a bazira se na pretpostavci da sve genomske regije mogu imati jednaki utjecaj na nastanak neke bolesti. U ovom projektu bi se također prikupili Vaši anamnestički podaci, podaci o stilu života i prehrani kroz nekoliko upitnika te fiziološki i biokemijski parametri kroz mjerenja iz seruma, a sve radi sveukupnog boljeg razumijevanja nastanka bolesti štitnjače. Opisano istraživanje ima ulogu pomoći u razumijevanju temeljnih bioloških putova povezanih s funkcijom štitnjače i mehanizama nastanka bolesti štitnjače, a sve u cilju poboljšanja liječenja bolesti, odnosno, za razvoj novih preventivskih, dijagnostičkih i terapijskih metoda.

Rezultati studije će biti javno dostupni tj. objavljavati će se u znanstvenim publikacijama. Vaš identitet će zauvijek ostati anoniman. Bilo kakvi usputni genetski pronalasci proizašli iz ove studije Vam se neće priopćavati. Sudjelovanje u istraživanju je dobrovoljno i ne postoji jamstvo da ćete Vi imati koristi od sudjelovanja u istraživanju. Među koristi ubraja se mogućnost da Vi i ovo istraživanje pomognete u nalaženju bolje terapije za bolesnike s istom bolesti. Rizik zbog sudjelovanja u studiji uglavnom ne postoje, osim moguće blage nelagode prilikom vađenja krvi.

Na Vama je da odlučite želite li sudjelovati ili ne. Ako odlučite sudjelovati dobit ćete na potpis ovu obavijest (jedan primjerak zadržite). Vaše sudjelovanje je dobrovoljno i možete se slobodno i bez ikakvih posljedica povući u bilo koje vrijeme, bez navođenja razloga. Nastavit ćete se dalje liječiti na način koji je uobičajen za Vašu bolest. Ako odlučite prekinuti sudjelovanje, molimo da o tome na vrijeme obavijestite glavnog istraživača i njegove suradnike.

Vaši će se osobni podaci obrađivati elektronički, a glavni istraživač i njegovi suradnici pridržavat će se interne procedure za zaštitu osobnih podataka. U bazu podataka bit ćete uneseni pomoću koda. Vašu medicinsku dokumentaciju će pregledavati glavni istraživač i njegovi suradnici. Vaše ime nikada neće biti otkriveno. Pristup dokumentaciji mogu imati predstavnici Etičkog povjerenstva u Ustanovi u kojoj se liječite (lokalno etičko povjerenstvo) i Etičkog povjerenstva Medicinskog fakulteta.

Ovo ispitivanje pregledalo je Etičko povjerenstvo Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Splitu, koje je nakon uvida u određenu dokumentaciju odobrilo istraživanje. Ispitivanje se provodi u skladu sa svim primjenljivim smjernicama, čiji je cilj osigurati pravilno provođenje i sigurnost osoba koje sudjeluju u ovom znanstvenom istraživanju, uključujući Osnove dobre kliničke prakse i Helsinšku deklaraciju.

Ako imate dodatnih pitanja vezanih uz ovo istraživanje možete se obratiti glavnom istraživaču ili Vašem liječniku:

Ime i prezime glavnog istraživača: doc. dr. sc. Vesna Boraska

Adresa: Katedra za Medicinsku biologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Splitu

Broj telefona: 021-557-873

Ime i prezime glavnog suradnika: Prof. dr. sc. Ante Punda

Adresa: Zavoda za nuklearnu medicinu KBC-a Split,

Broj telefona: 021-556-101

Hvala što ste pročitali ovaj dokument i razmotrili sudjelovanje u ovom znanstvenom istraživanju.

**Ova obavijest je sastavljena u skladu sa Zakonom o zdravstvenoj zaštiti Republike Hrvatske (NN 150/08) i Zakonom o pravima pacijenata Republike Hrvatske (NN 169/04).**

Srdačan pozdrav,



Doc. dr. sc. Vesna Boraska, voditelj projekta

## PRISTANAK NA SUDJELOVANJE U ISTRAŽIVANJU

1. Potvrđujem da sam pročitao/pročitala obavijest za navedeno znanstveno istraživanje te sam imao/imala priliku postaviti pitanja DA / NE
2. Razumijem da je moje sudjelovanje dobrovoljno te se mogu povući iz istraživanja u bilo koje vrijeme, bez navođenja razloga i bez ikakvih posljedica po zdravstvenom ili pravnom pitanju DA / NE
3. Razumijem da mojoj medicinskoj dokumentaciji imaju pristup odgovorni pojedinci tj. glavni istraživač i njegovi suradnici. Dajem dozvolu tim pojedincima za pristup mojoj medicinskoj dokumentaciji. DA / NE
4. Želim sudjelovati u navedenom znanstvenom istraživanju DA / NE
5. Uz općenit pristanak na sudjelovanje, dajem i ove dodatne pristanke:
  - Da se u svrhu budućih znanstvenih istraživanja prikupljeni podaci i uzorci mogu poslati na analizu u inozemstvo, ako u Hrvatskoj ne bude postojala oprema za njihovu analizu, ali bez podataka o mojem imenu i prezimenu DA / NE
  - Da se u svrhu budućeg znanstvenog istraživanja smije očitati moja cjelokupna genetska informacija sadržana u DNA (tzv. sekvencioniranje), ali bez podataka o mojem imenu i prezimenu DA / NE
  - Da se u svrhu budućih istraživanja smije dopustiti uvid drugim skupinama istraživača u ove podatke, ali samo uz uvjet da podaci ostanu anonimni i ne mogu se ni na koji način povezati sa mnom DA / NE
  - Da se u svrhu budućih istraživanja moji genetski podaci (genotipovi i sekvenca) mogu skladištiti u svjetskim genetskim repozitorijima DA / NE

PREZIME : \_\_\_\_\_ IME: \_\_\_\_\_

DATUM ROĐENJA: \_\_\_\_\_ MJESTO ROĐENJA: \_\_\_\_\_

TELEFON (mobitel): \_\_\_\_\_

ADRESA: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Potpis sudionika u istraživanju

\_\_\_\_\_  
Šifra

### Povrđuje liječnik:

Datum dolaska: \_\_\_\_\_

Potpis liječnika: \_\_\_\_\_