



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS

ARNALDO MOURA NETO

**Relação entre anormalidades nas concentrações séricas de hormônios
tireoidianos e atividade inflamatória subclínica em pacientes com
diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2**

CAMPINAS

2016

ARNALDO MOURA NETO

**Relação entre anormalidades nas concentrações séricas de hormônios
tireoidianos e atividade inflamatória subclínica em pacientes com diabetes
mellitus tipo 1 e tipo 2**

Tese apresentada à Faculdade de Ciências Médicas da
Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos
exigidos para a obtenção do título de Doutor em Ciências na
área de concentração Clínica Médica

ORIENTADOR: Profa Dra DENISE ENGELBRECHT ZANTUT-WITTMANN

COORIENTADOR: Profa Dra Maria Candida Ribeiro Parisi

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA [DISSERTAÇÃO/TESE] DEFENDIDA PELO
ALUNO ARNALDO MOURA NETO E ORIENTADO PELA
PROFa. DRa. DENISE ENGELBRECHT ZANTUT-WITTMANN

CAMPINAS

2016

Agência(s) de fomento e nº(s) de processo(s): FAPESP, 2010/08854-0; FAPESP, 2013/03295-1

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Ciências Médicas
Ana Paula de Moraes e Oliveira - CRB 8/8985

M865r Moura Neto, Arnaldo, 1981-
Relação entre anormalidades nas concentrações séricas de hormônios tireoidianos e atividade inflamatória subclínica em pacientes com diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2 / Arnaldo Moura Neto. – Campinas, SP : [s.n.], 2016.

Orientador: Denise Engelbrecht Zantut Wittmann.
Coorientador: Maria Candida Ribeiro Parisi.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas.

1. Glândula tireoide. 2. Triiodotironina. 3. Triiodotironina reversa. 4. Citocinas. 5. Diabetes mellitus. I. Zantut Wittmann, Denise Engelbrecht, 1959-. II. Parisi, Maria Candida Ribeiro. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Ciências Médicas. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Relation of thyroid hormone abnormalities with subclinical inflammatory activity in patients with type and type 2 diabetes mellitus

Palavras-chave em inglês:

Thyroid gland
Triiodothyronine
Triiodothyronine, Reverse
Cytokines
Diabetes mellitus

Área de concentração: Clínica Médica

Titulação: Doutor em Clínica Médica

Banca examinadora:

Denise Engelbrecht Zantut Wittmann [Orientador]
Maria Lucia Cardillo Corrêa Gianella
Heraldo Mendes Garmes
Elza Olga Ana Muscelli Berardi
Glaucia Maria Ferreira da Silva Mazeto

Data de defesa: 04-02-2016

Programa de Pós-Graduação: Clínica Médica

BANCA EXAMINADORA DA DEFESA DE DOUTORADO

ARNALDO MOURA NETO

ORIENTADOR: DENISE ENGELBRECHT ZANTUT WITTMANN

COORIENTADOR: MARIA CANDIDA RIBEIRO PARISI

MEMBROS:

1. PROFA. DR. MARIA LUCIA CARDILLO CORREA GIANELLA

2. PROFA. DRA. GLAUCIA MARIA FERREIRA DA SILVA MAZETO

3. PROFA. DRA. ELZA OLGA ANA MUSCELLI BERARDI

4. PROF. DR. HERALDO MENDES GARMES

5. PROF. DR. DENISE ENGELBRECHT ZANTUT WITTMANN

Programa de Pós-Graduação em Clínica Médica da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas.

A ata de defesa com as respectivas assinaturas dos membros da banca examinadora encontra-se no processo de vida acadêmica do aluno.

Data: 04/02/2016

Aos meus pais, Arnaldo e Vera

Agradecimentos

À Profa. Dra. Denise Engelbrecht Zantut-Wittmann pela disponibilidade em todos os momentos, paciência e ensinamentos valiosos. Uma verdadeira referência de docência e orientadora.

À Dra. Maria Candida Ribeiro Parisi, minha co-orientadora e companheira de jornada, meu muito obrigado por tudo.

À Profa Dra. Elizabeth Joao Pavin pelo carinho e acolhimento.

Aos demais professores da Disciplina de Endocrinologia, Prof Marcos Antonio Tambascia, Profa Ligia Vera Montalli da Assumpção, Dr Heraldo Mendes Garmes e Dr Walter Minicucci, pelos conhecimentos e apoio.

A Profa. Dra. Sarah Monte Alegre e todo pessoal do laboratório de Unidade Metabólica pela imprescindível ajuda na parte laboratorial.

À Conceição e Beth Ficher pelo apoio sem o qual este projeto não haveria terminado.

A todos os residentes e alunos dos ambulatórios da Endocrinologia

Aos pacientes e voluntários que gentilmente consentiram em participar deste projeto de pesquisa.

À FAPESP, pelo financiamento concedido em forma de bolsa de doutorado e auxílio regular de apoio à pesquisa.

Um agradecimento mais que especial à Raquel, por toda compreensão, apoio e amor neste momento tão importante e delicado. Juntos, somos romanos!

Aos meus pais, pelo amor infinito e incentivo a sempre superar meus limites.

RESUMO

Introdução:

A síndrome do Eutireoidiano doente (SED) caracteriza-se por uma concentração sérica diminuída de triiodotironina e, por vezes, tiroxina. Pode ser observada principalmente em pacientes com doenças agudas e graves, onde se relaciona a uma atividade inflamatória aumentada. Foi descrita mais recentemente em uma variedade de condições clínicas ambulatoriais, inclusive o Diabetes Mellitus (DM). Nestes casos, é relacionada ao mau controle glicêmico.

Objetivos:

Comparar as características clínicas, perfil hormonal tireoidiano e de inflamação sistêmica entre pacientes portadores de DM tipo 1 e tipo 2 e grupos de indivíduos hígidos sem DM, pareados por sexo, idade e índice de massa corporal (IMC).

Metodologia:

Estudo transversal avaliando um total de 258 indivíduos assim divididos: 70 pacientes com DM2, 55 pacientes com DM1 e dois grupos de controle com 70 e 63 indivíduos sem DM para os pacientes com DM2 e DM1 respectivamente, pareados por sexo, idade e IMC. Avaliaram-se dados clínicos e antropométricos nos 4 grupos, bem como concentrações séricas de hormônios tireoidianos, TSH, T3 reverso; e proteína C reativa, interleucina-6 (IL-6) e proteína amiloide sérica (SAA) como marcadores inflamatórios. As relações T4 livre/T3 livre, T3 livre/T3 reverso e T4 livre/T3 reverso foram usadas como marcadores alternativos para a atividade das desidases.

Resultados:

O T3 total e livre mostrou-se diminuído nos pacientes com DM1 e DM2 quando comparados aos seus respectivos grupos de controle (todos $p < 0,001$). O grupo DM1 mostrou concentrações de TSH e T4 total menores que seu grupo de controle ($p = 0,001$ para ambos) e o grupo DM2 concentrações de T4 livre maior que seu grupo de controle ($p < 0,001$). Nos dois grupos de pacientes com DM houve correlação positiva entre a IL-6 e o T3 reverso ($p < 0,05$). A IL-6 revelou-se como preditor independente das relações T3 livre/T3 reverso ($B = -0.193$; 95%CI = -0.31 ; -0.076 ; $P = 0.002$) e T4 livre/T3 reverso $rT3$ ($B = -0.107$; 95%CI = -0.207 ; -0.006 ; $P = 0.039$) no grupo DM1. No grupo DM2, a SAA ($B = 0.18$; 95%CI = 0.089 ; 0.271 ;

P<0.001) e proteína C reativa (B= -0.069; 95%CI= -0.132; -0.007; P=0.03) foram preditores independentes das concentrações séricas de T3 livre. A SAA (B -0.16; 95%CI= -0.26; -0.061; P=0.002) e IL-6 (B=0.123; 95%CI=0.005; 0.241; P=0.041) mostraram relação independente com T4 livre/T3 livre.

Conclusões:

Em pacientes com DM1 e DM2, as concentrações séricas de T3 livre são menores que em indivíduos não diabéticos, pareados por sexo, idade e IMC. As concentrações inferiores de T3 em diabéticos não são acompanhadas de aumento nas de TSH, achado compatível com a síndrome do eutireoideo doente. Citocinas pró-inflamatórias correlacionaram-se de forma positiva com as concentrações de T3 reverso, demonstrando que há papel importante da atividade inflamatória subclínica do DM nas alterações do metabolismo periférico dos hormônios. Os marcadores inflamatórios analisados foram preditores da atividade das desidases e das concentrações de T3 livre, mesmo quando ajustados por sexo, idade, IMC e hemoglobina glicada. Este resultado foi encontrado apenas nos grupos de pacientes com DM. Estes achados sugerem que indivíduos portadores de DM apresentam alterações no metabolismo periférico dos hormônios tireoidianos, causados por interferência da inflamação subclínica na atividade das desidases.

Palavras chave: Tireoide. Triiodotironina. Triiodotironina reversa. Citocinas. Diabetes Mellitus.

ABSTRACT

Introduction:

The non-thyroidal illness is characterized by low serum levels of triiodothyronine and, sometimes, thyroxine. It is mainly observed in patients with severe acute diseases, where it is linked to an increased inflammatory activity. Recently, it has been described in a variety of chronic ambulatory conditions, including diabetes mellitus (DM). In these cases, it is related to poor glycemic control.

Objectives:

Compare the clinical characteristics, thyroid hormone profile e systemic inflammatory markers between patients with type 1 and type 2 diabetes and healthy, non-diabetic individuals, paired by sex, age and body mass index (BMI).

Methodology:

This was a cross-sectional study involving 258 subjects divided in four groups: 70 patients with T2DM, 55 with T1DM and two control groups with 70 and 63 individuals without DM paired by age, sex and MBI with the T2DM and T1DM patients, respectively. Clinical and anthropometrical data were evaluated in all groups, as well as serum thyroid hormones TSH, reverse T3, C-reactive protein, interleukin-6 (IL-6) and serum amyloid protein (SAA) as markers of inflammation. The relations free T4/ free T3, free T3/ reverse T3 and free T4/ reverse T3 were used as surrogate markers of deiodinase activities.

Results:

Total and free T3 were lower in patients with T1DM and T2DM compared to their respective control groups ($p < 0.001$ for all). The T1DM group showed lower serum total T4 and TSH than the control group ($P = 0.001$ for both) e and the T2DM group presented higher free T4 than the control group ($p < 0.001$). In both groups of patients with DM there was a positive correlation between IL-6 and reverse T3 ($p < 0.05$). IL-6 was an independent predictor of the relations free T3/ reverse T3 ($B = -0.193$; 95%CI = -0.31 ; -0.076 ; $P = 0.002$) and free T4/ reverse T3 ($B = -0.107$; 95%CI = -0.207 ; -0.006 ; $P = 0.039$) in the T1DM group. In the T2DM group, SAA ($B = 0.18$; 95%CI = 0.089 ; 0.271 ; $P < 0.001$) and C-reactive protein ($B = -0.069$; 95%CI = -0.132 ; -0.007 ; $P = 0.03$) were independent predictors of serum free T3 concentrations. SAA (B

-0.16; 95%CI= -0.26; -0.061; P=0.002) and IL-6 (B=0.123; 95%CI=0.005; 0.241; P=0.041) showed an independent relationship with free T4/free T3 in this group.

Conclusions:

In patients with T1DM and T2DM, the serum free T3 concentrations were lower than in non-diabetic individuals paired by sex, age and BMI. The lower serum T3 in patients with DM was not accompanied by an increase in serum TSH, a finding that is compatible with the non-thyroidal illness. Pro-inflammatory cytokines correlated positively with serum reverse T3, demonstrating that there is an important role of the subclinical inflammatory activity of DM in the abnormalities of peripheral thyroid hormone metabolism. The inflammatory markers analyzed were predictors of deiodinase activity and free T3 concentrations even after adjustment for age, sex and BMI and glycated hemoglobin. This result was exclusive of patients with DM. These findings suggest that patients with DM present abnormalities in the peripheral metabolism of thyroid hormones that are probably caused by the interference of the increased inflammation in deiodinase activity.

Keywords: Thyroid. Triiodothyronine. Reverse triiodothyronine. Cytokines. Diabetes Mellitus.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Esquema ilustrando a possível ligação entre diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2, atividade inflamatória e alterações hormonais tireoidianas.	52
Figura 2: Esquema ilustrando a seleção e exclusão de pacientes com diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2 para o presente estudo.	56
Figura 3. Correlações entre IL6 e T3r (A), T3L/T3r (B) e T4L/T3L (C) em pacientes com diabetes mellitus tipo 1.	66
Figura 4. Correlações entre IL-6 e T3r (A), T3L/T3r (B) e T4L/T3r (C). Correlações entre SAA e T3r (D), T4L/T3r (E) e T3L (F).	69
Figura 5. Valores de T4 total (A), T3 total (B), T4 livre (C), T3 livre (D), T3 reverso (E), TSH (F), T3L/T3r (G), T4L/T3r (H), T4L/T3L (I), interleucina 6 (J), proteína amiloide sérica (L) e proteína C reativa (M) nos grupos de pacientes com diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2 e ambos grupos de controle. Os valores são de mediana e as barras representam o intervalo de confiança de 95%.	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características clínicas e epidemiológicas dos pacientes com diabetes tipo 1 e tipo 2. Os dados estão fornecidos na forma de mediana (intervalo interquartil) e frequência (porcentagem).63

Tabela 2. Comparação dos pacientes com diabetes tipo 1 e tipo 2 e seus respectivos grupos de controle. Valores são mostrados em mediana (intervalo interquartil) e frequência (porcentagem). Após aplicação de teste post-hoc de Bonferroni, os valores de P considerados significativos foram aqueles $< 0,008$ (em negrito).64

Tabela 3. Coeficientes de correlação entre as variáveis hormonais e inflamatórias nos pacientes com DM1 e DM2. * $P<0.05$. ** $P<0.01$65

Tabela 4. Regressão multivariada mostrando os fatores independentes preditores de variáveis hormonais em pacientes com DM1. Demonstra-se o coeficiente B da relação, seu intervalo de confiança 95% e o valor p para cada resultado.67

Tabela 5. Regressão multivariada mostrando os fatores independentes preditores de variáveis hormonais em pacientes com DM1. Demonstra-se o coeficiente B da relação, seu intervalo de confiança 95% e o valor p para cada resultado.....70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SED – síndrome do eutireoidiano doente
GH – hormônio do crescimento
T3 - triiodotironina
T4 - tiroxina
T3r – triiodotironina reversa
TRH – hormônio liberador de tireotrofina
D2 – desidase tipo 2
POMC – pró-opiomelanocortina
CART – transcrito regulado por catecolaminas e anfetaminas
 α -MSH – hormônio alfa-melanocítico
MC3 – melanocortina 3
MC4 – melanocortina 4
AgRP – peptídeo relacionado ao Agouti
NPY – neuropetídeo Y
MCT8 – transportador de monocarboxilados tipo 8
TR – receptor do hormônio tireoidiano
SRC – co-ativador relacionado aos esteróides
D1 – desidase tipo 1
D3 – desidase tipo 3
IL-1 – interleucina 1
IL-6 – interleucina 6
TNF- α - fator de necrose tumoral α
LPS – lipopolissacarídeo
IL-12 – interleucina 12
IL-18 – interleucina 18
INF- γ - interferon γ
HIV – vírus da imunodeficiência humana
DM – diabetes mellitus

PCR – proteína C reativa

SAA – proteína amilóide A

DM2c – grupo de controle pareado para os pacientes com DM tipo 2

DM1c – grupo de controle pareado para os pacientes com DM tipo 1

IMC – índice de massa corporal

C/Q – índice cintura/quadril

IQ – intervalo interquartil

SUMÁRIO

Introdução.....	17
1. Alterações hormonais tireoidianas: a síndrome do eutireoidiano doente	17
2. Regulação fisiológica do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide ...	18
3. Fisiopatologia da síndrome do eutireoidiano doente	28
4. Síndrome do Eutireoidiano doente em pacientes criticamente enfermos	36
5. Síndrome do Eutireoidiano doente em pacientes com doenças não críticas	38
6. Marcadores de resposta inflamatória, <i>Diabetes Mellitus</i> tipo 2 e doença cardiovascular	45
Objetivos.....	51
Metodologia.....	52
Resultados.....	60
Discussão.....	73
Conclusões.....	81
Referências.....	82
Anexos.....	111

INTRODUÇÃO

1. Alterações hormonais tireoidianas: a síndrome do eutireoidiano doente

A síndrome do eutireoidiano doente (SED) pode ser definida como um conjunto de alterações dos hormônios tireoidianos presente em quadros de doenças sistêmicas que não afetam diretamente o eixo hipotálamo-hipófise-tireoide. Faz parte de uma série de anormalidades sistêmicas encontradas principalmente em pacientes com doenças agudas e graves. Anormalidades em outros eixos hormonais, como os responsáveis pela produção de hormônios sexuais, do crescimento (GH) e cortisol, frequentemente acompanham as alterações no eixo tireoidiano (1).

A principal característica da SED é a queda da concentração sérica de triiodotironina (T3) e, em casos de maior gravidade, da tiroxina (T4). Na maioria dos casos há aumento da concentração da forma inativa do T3, o T3 reverso (T3r). A concentração de TSH se mantém dentro dos limites de normalidade na maioria dos casos, revelando anormalidades no mecanismo de retroalimentação negativa característico do eixo tireoidiano (2). A etiologia destas alterações é multifatorial e nem todos os seus mecanismos fisiopatológicos foram elucidados com clareza. O padrão laboratorial relacionado ao TSH e hormônios tireoidianos pode variar de modo significativo dependendo da natureza aguda ou crônica da doença de base e de quais sistemas orgânicos são afetados (3).

A intensidade da queda do T3 em casos de SED se correlaciona muito bem com o prognóstico da doença de base, inclusive no caso de doenças crônicas e em pacientes sob cuidado ambulatorial. As alterações hormonais tireoidianas são resolvidas com a melhora da doença de base (4).

Assim como em casos de doenças agudas e graves, há estreita relação entre as concentrações séricas de hormônios tireoidianos e níveis de marcadores inflamatórios em pacientes com doença crônica sob cuidado ambulatorial (5).

Para a adequada compreensão da fisiopatologia da SED é necessário o conhecimento da fisiologia da produção de TSH e dos hormônios tireoidianos, bem como do seu metabolismo periférico.

2. Regulação fisiológica do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide

2.1 Fisiologia central do eixo hormonal tireoidiano

A secreção de TSH, a exemplo de outros hormônios hipofisários, ocorre de forma pulsátil, com aproximadamente 6 a 18 pulsos por 24 horas (6). O aumento de amplitude e frequência destes picos se dá no início da madrugada, entre 0 e 4 horas (7). Esta pulsatilidade do TSH está provavelmente relacionada a uma secreção também pulsátil do hormônio liberador de tireotrofina (TRH), que por sua vez é regulado por impulsos provenientes do núcleo supraquiasmático do hipotálamo, responsável por integrar informações provenientes do ciclo dia-noite e assim regular múltiplos ritmos circadianos do organismo (8). Em situações de doença onde se observa SED e em jejum prolongado, a pulsatilidade e secreção predominantemente noturna do TSH diminuem (9).

2.1.1 O papel do hormônio liberador de tireotrofina

A produção de TRH se dá pelos núcleos paraventriculares do hipotálamo. Modelos animais onde há perda dos genes responsáveis pela síntese de TRH desenvolvem quadro de hipotireoidismo central em que as concentrações séricas de TSH estão ligeiramente elevadas, mas com atividade biológica muito reduzida, devido à glicosilação anormal (10). Em humanos, a deficiência de TRH leva a um quadro laboratorial idêntico (11), assim como ocorre na presença de mutações inativadoras do receptor de TRH (12).

A regulação da expressão do gene do TRH no hipotálamo é dinamicamente regulada para fazer com que a produção de hormônios tireoidianos seja adequada para as situações de frio, estresse, calor, jejum, entre outras. Os neurônios produtores de TRH recebem aferências de diversas partes do encéfalo. Destacam-se as aferências provenientes de neurônios catecolaminérgicos do tronco encefálico e do núcleo arqueado (13). As sinalizações provenientes destas conexões têm importância na regulação de expressão do gene do TRH em situações de exposição ao frio e durante jejum prolongado, respectivamente (14). Além de conexões neuronais, os núcleos paraventriculares dependem de células gliais para adequada captação de T3. Células da glia especializadas chamadas de tanócitos, situam-se ao

redor do terceiro ventrículo e expressam a desidrase tipo 2 (D2), responsável pela conversão de T4 a T3 em órgãos alvo (15). A expressão de D2 nestas células é estimulada por vias pró-inflamatórias, sugerindo que a expressão de TRH na SED pode ser suprimida devido ao aumento local na conversão de T4 a T3 (16), apesar de ainda ser incerto a exata via que conduz o T3 produzido nos tanócitos a alcançar os núcleos paraventriculares.

Uma vez que o TRH atinge a hipófise, age para aumentar a síntese e secreção de TSH (17). Esta ação é mediada por receptores específicos localizados na membrana celular (18) que fazem parte do grupo de receptores ligados a proteína G (19). Desativação destes receptores leva a hipotireoidismo central (20). A ligação do TRH ao receptor leva à ativação da fosfolipase C, produção de inositol 1,4,5-trifosfato e aumento da concentração intracelular de cálcio, o que por sua vez ativa a proteína quinase C (21). Uma importante ação do TRH, além da estimulação na expressão de genes relacionados às subunidades do TSH, é a contribuição para a glicosilação pós-translacional do TSH, o que aumenta significativamente sua atividade biológica (22). Alguns pacientes com hipotireoidismo central apresentam TSH sérico ligeiramente elevado, mas com diminuída atividade biológica (10).

2.1.2 Regulação por vias envolvidas no gasto energético

Em animais, a privação calórica resulta em rápida queda nas concentrações séricas de hormônios tireoidianos e TSH (23), que em parte é explicada pela diminuição na expressão de TRH (24). Durante o jejum, há uma queda na concentração sérica de leptina devido à diminuição da massa adiposa, sendo que a administração deste hormônio é capaz de prevenir a queda na expressão de RNA mensageiro do TRH (25). As ações da leptina no hipotálamo são mediadas pelo receptor Ob-Rb, associado à via da JAK2-STAT3. Há grande expressão de receptores de leptina no núcleo arqueado, assim como nos núcleos paraventriculares, mas de maneira menos expressiva (26). Desta forma, a leptina pode modular a produção de TRH de forma direta e indireta (27). Lesões no núcleo arqueado, envolvido no controle do gasto energético basal, impedem os efeitos da leptina na expressão do gene de TRH (28). Dois grupos principais de neurônios do núcleo arqueado se projetam para as áreas produtoras de TRH do núcleo paraventricular. Uma delas contém neurônios produtores de pró-opiomelanocortina

(POMC) e cochain and amphetamine regulated transcript (CART) (29). No núcleo arqueado, a POMC é processada a hormônio a-estimulador dos melanócitos (a-MSH), que é um potente hormônio anorexígeno e sinaliza por seus receptores MC4, presentes nas células produtoras de TRH (30). Administração de a-MSH, assim como a de leptina, é capaz de impedir a diminuição da expressão de TRH (27). O segundo grupo de neurônios a se projetar para o núcleo arqueado e que também influencia diretamente o controle do peso corporal e a secreção de TRH é produtor do peptídeo relacionado ao Agouti (AgRP) e neuropeptídeo Y (NPY). De forma oposta a POMC e ao CART, o AgRP e NPY são potentes orexígenos e têm sua expressão aumentada durante a privação calórica (31). Ambos causam um quadro compatível com hipotireoidismo central através da diminuição da produção de TRH no núcleo arqueado (32). Assim, o núcleo arqueado integra sinais da leptina, controla a produção de TRH e o apetite e gasto energético basal (33). Embora a maioria dos estudos que identificou estas inter-relações tenha sido feita em animais, há evidências de que mecanismos muito parecidos ocorrem em humanos. Por exemplo, pacientes com mutações no gene do receptor de leptina apresentam hipotireoidismo central (34). Além disso, restrições calóricas controladas em humanos são capazes de levar a redução nas concentrações séricas de hormônios tireoidianos e diminuição da frequência e amplitude dos pulsos de TSH, efeitos que podem ser revertidos com administração de leptina (35, 36). Por outro lado, a forma genética mais comum de obesidade, mutação no gene do receptor do MC4, não cursa com alterações no TSH sérico (37).

2.1.3 O papel dos hormônios tireoidianos

T3 é o principal regulador da secreção de TRH e TSH no hipotálamo e hipófise, respectivamente (38). O T3 é produzido localmente a partir do T4 pela D2 (39). Em modelos animais, ratos com inativação do gene da D2, e portanto capacidade diminuída de produzir T3 localmente, mantém secreção de TSH em presença de altas concentrações séricas de T4 (40). O T3 produzido localmente no hipotálamo ganha acesso aos neurônios produtores de TRH provavelmente através do transportador de monocarbolixilados 8 (MCT8), que é expresso nos núcleos paraventriculares (41). O T3 então controla a expressão do gene do TRH por sua ação em receptores nucleares específicos, os receptores de hormônio tireoidianos

(TR) (42), os quais são classificados em 3 isoformas: a1, b1 e b2. As isoformas predominantemente expressas no sistema nervoso central, incluindo hipotálamo e hipófise, são as do tipo b, o que foi demonstrado em estudos com ratos incapazes de expressar TRb, os quais apresentavam altas concentrações séricas de TSH, T4 e T3 (43). Normalmente o T3 se liga ao seu receptor nuclear e este complexo por sua vez liga-se a regiões do DNA que são ativadoras da transcrição gênica (44). A maneira pela qual o TR pode exercer repressão da expressão de genes é menos clara. No caso da supressão de expressão de TRH e TSH, os estudos sugerem haver ligação do T3 ao TRb e o recrutamento de co-reguladores, como, por exemplo, os membros da família dos co-ativadores do receptor esteróide (SRC) (45). Deleções no SRC causam uma síndrome parecida com a resistência ao hormônio tireoidiano, com secreção de TSH inapropriadamente mantida em vigência de concentrações séricas de T3 e T4 elevadas (46).

Pequenas mudanças nas concentrações séricas de T3 e T4 são capazes de provocar amplas respostas na secreção de TSH, sendo esta relação não linear, mas logarítmica (47). Os hormônios produzidos pela tireoide são sem sombra de dúvida os mais potentes e importantes reguladores da secreção de TSH em humanos. De modo similar ao que foi apresentado para o TRH, o T3 é capaz de modular a expressão dos genes envolvidos na síntese das subunidades de TSH e possivelmente também no gene do receptor de TRH expressado na hipófise (48). Assim como no hipotálamo, modelos animais sugerem que a isoforma de maior importância nesta regulação hipofisária é o TRb (49). Mutações no sítio de ligação do TRb foram encontradas em tumores hipofisários produtores de TSH e em pacientes com resistência ao hormônio tireoidiano (50, 51).

A inibição promovida pelo T3 na secreção de TSH parece ocorrer da seguinte forma: na ausência de T3, o TR se liga a um complexo repressor contendo moléculas co-repressoras e deacetilases de histonas, levando a ativação da transcrição. Ao contrário, a ligação do T3 impede o complexo repressor de se ligar ao TR, fazendo com que o complexo se mantenha ligado ao promotor do gene. Em algumas situações, como a que envolve o gene da subunidade b do TSH, o T3 parece se ligar diretamente a regiões do gene que apresentam repressão da expressão (52).

A ação do T3 em inibir a secreção de TRH e TSH *in vivo* parece ser prolongada, uma vez que a secreção de TSH pode permanecer suprimida por muito

tempo após um período de elevação do T3. O mecanismo molecular exato responsável por esta prolongada inibição é incerto mas pode envolver alterações epigenéticas (53).

2.1.4 Outros reguladores centrais do eixo hormonal tireoidiano

Outros importantes reguladores do eixo hormonal tireoidiano que têm ação central e que merecem destaque são: os retinóides, glicocorticóides, somatostatina e catecolaminas.

O papel dos retinóides (análogos da vitamina A) na regulação da produção de TSH foi primeiramente notado quando estes agentes foram utilizados para tratamento de linfomas cutâneos de células T. Os pacientes desenvolveram um quadro de hipotireoidismo central que era reversível com a retirada da droga (54). Para seu funcionamento adequado, os TRs formam complexos heterodiméricos com receptores do ácido retinóico e, nos casos em questão, o agente bexaroteno era capaz de inibir a expressão do gene do TSH-b nos tireotrofos (55). Ligantes do receptor de ácido retinóico em forma homodimérica provavelmente se ligam a regiões promotoras do gene do TSH-b, uma vez que em ratos com inativação do gene do TRb os ligantes do receptor do ácido retinóico mantêm sua capacidade de inibir a produção de TSH-b (56). Administração de antagonistas do receptor do ácido retinóico em roedores resulta em elevação do RNA mensageiro do TSH e das concentrações séricas de hormônios tireoidianos (57).

A ação dos glicocorticóides resulta em inibição da secreção de TSH na hipófise, através da sua ação nos núcleos paraventriculares do hipotálamo levando a inibição da expressão de TRH (58). Este resultado é observado também em culturas de células hipofisárias isoladas, sugerindo que provavelmente há ação direta dos glicocorticóides em inibir a produção de TSH (59). Em indivíduos normais, pequenas perturbações na produção de glicocorticóides podem produzir alterações na secreção de TSH. Em indivíduos saudáveis, a administração de metirapona, um potente inibidor da síntese esteróide adrenal, resulta em um aumento na concentração sérica de TSH e reduzida pulsatilidade noturna de TSH (60). Em pacientes com doença de Addison e deficiência completa de corticosteróides, administração de hidrocortisona em doses que mimetizam o ritmo circadiano de produção de cortisol foi capaz de restaurar as concentrações séricas de TSH bem

como os pulsos noturnos de TSH (61). Muito embora doses altas de corticóides possam suprimir o TSH em humanos, hipotireoidismo raramente é observado. Acredita-se que o potente efeito na queda do T4 e T3 em elevar a produção de TSH seja suficiente para superar o efeito inibitório dos glicocorticóides. O mesmo padrão de ausência de hipotireoidismo com produção diminuída de TSH é observado com outros inibidores da produção de TSH que são discutidos a seguir.

A somatostatina, um inibidor da produção de hormônio de crescimento (GH) produzido pelos neurônios periventriculares e núcleo arqueado, bem como no pâncreas, é capaz de regular negativamente a produção de TSH (62). Em humanos, administração de somatostatina intravenosa em altas doses foi capaz de inibir a secreção de TSH e bloquear a estimulação do mesmo pelo TRH (63). O próprio GH é capaz de inibir a secreção de TSH, provavelmente por aumentar a liberação de somatostatina (64). De maneira similar ao que acontece com uso de corticosteróides sintéticos, o uso de análogos da somatostatina em pacientes com acromegalia não causa hipotireoidismo, mas é capaz de bloquear a produção de TSH por tumores hipofisários produtores de TSH, resultando inclusive em redução de seu tamanho (65) e tais fármacos são hoje a principal arma farmacológica para pacientes com essa doença (66).

Os núcleos paraventriculares produtores de TRH recebem aferências de múltiplos neurônios produtores de catecolaminas como neurotransmissores, sendo que a maioria se origina do tronco cerebral (67). Estimulação do sistema α -adrenérgico e sua inibição com agentes farmacológicos aumenta e diminui, respectivamente, a produção de TSH (68). O melhor exemplo fisiológico desta interrelação é a exposição ao frio, que eleva a produção de TSH (69). Esta resposta é mediada por receptores α -adrenérgicos e pode ser bloqueada por antagonistas desta via (14). Ativação desta via por baixas temperaturas provavelmente explica o aumento da secreção de TSH que ocorre em humanos logo após o nascimento, sendo que seu efeito diminui muito em adultos (70). Neurônios dopaminérgicos do núcleo arqueado se projetam para eminência média onde exercem importante efeito regulatório sobre a secreção não apenas de prolactina, mas também de TSH (71). A dopamina bloqueia a secreção de TSH na hipófise, provavelmente pelo receptor DA2 (72). Administração intravenosa de dopamina inibe a produção de TSH e tem parte importante nas reduzidas concentrações séricas de TSH vistas em pacientes com SED. Os antagonistas da dopamina como metoclopramida e domperidona, por

sua vez, levam a aumentos na secreção de TSH, enquanto a bromocriptina, um agonista do receptor DA₂, a diminui (73), mas assim como no caso dos glicocorticóides e somatostatina, esse efeito não tem relevância clínica.

2.2 Regulação periférica do metabolismo dos hormônios tireoidianos

O T₄ secretado pela tireoide é considerado na verdade um pró-hormônio, devendo ser convertido em T₃ pela desiodação de seu anel externo. Aproximadamente 80% do T₃ produzido no organismo é derivado de conversão extra-tireoidiana de T₄ (74). Essa desiodação ativadora se dá pela ação das desidases tipo 1 (D1) e 2. Em indivíduos saudáveis, acredita-se que a D2 contribua mais para a reserva de T₃ plasmático que a D1 (74), motivo pelo qual a concentração sérica de T₃ cai apenas modestamente após tratamento com propiltiouracil, um inibidor da D1 (74). O T₄ e o T₃ podem ser inativados através da desiodação do anel interno, reação facilitada pela desidase tipo 3 (D3). Esta interconversão entre as várias formas de hormônios tireoidianos permite ao organismo humano uma maior capacidade de adaptação, uma vez que a meia vida do T₃ é menor do que 24 horas. Assim, sua concentração sérica pode flutuar dependendo da necessidade, a partir de uma reserva sérica de T₄ que sofrerá maior ou menor desiodação, dependendo das condições externas e internas (75). Também permite, através da modulação tecidual local da geração de T₃, que tecidos ajustem suas concentrações de T₃ de forma independente a partir do T₄ plasmático (76). As atividades das desidases podem ser influenciadas por diversos fatores fisiológicos ou farmacológicos, em estados de saúde e de doença.

2.2.1 – A desidase tipo 1

A conversão de T₄ a T₃ pela D1 é responsável por aproximadamente 20% do T₃ sérico em humanos saudáveis e é a única das enzimas capazes de promover desiodação tanto do anel interno como externo (77). A D1 está presente principalmente no fígado, rim, hipófise, tireoide e intestinos (78). Localiza-se preferencialmente na membrana celular (79). Diversos estímulos parecem capazes de regular a expressão e atividade da D1.

Os hormônios tireoidianos induzem a um aumento na atividade e expressão do gene da D1 (80). Há regiões responsivas ao hormônio tireoidiano a montante do gene da D1 (81) e esta estimulação é dependente do TR- β (82). Assim, a atividade de D1 é maior em pacientes com tireotoxicose e o conteúdo sérico de D1 em células sanguíneas é proporcional ao grau de tireotoxicose (83). Isso pode explicar a queda abrupta da concentração sérica de T3 nos pacientes com tireotoxicose tratados com propiltiouracil.

Outros importantes reguladores da atividade da D1 são as interleucinas. A interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral α (TNF- α) são mediadores de algumas alterações nos hormônios tireoidianos vistas durante SED (84). O TNF- α e a IL-1 β são capazes de diminuir a atividade de D1 em ratos (85). A IL-1 e IL-6 bloqueiam o estímulo à atividade da D1 induzido pelo T3 (86). O efeito da IL-1 pode ser bloqueado pelo SRC-1, provavelmente ao competir com o T3 pelos eventos de transcrição em vigência de quantidades limitadas de SRC-1 (86).

Fatores nutricionais também são capazes de alterar a atividade da D1. É descrita a capacidade do jejum prolongado em diminuir a concentração sérica de T3 e aumentar a de T3 reverso (87). Como a produção direta de T3 pela tireoide contabiliza apenas um quinto da produção diária em humanos, essa queda resulta muito provavelmente de alterações na conversão de T4 a T3 pela D1 e D2 ou metabolismo aumentado pela D3. Estudos em roedores sugerem que a queda na conversão do T4 a T3 pode dever-se a diminuições nos co-fatores necessários a atividade da D1 (88). Contudo, apesar da atividade hepática de D1 diminuída, a conversão total de T4 a T3 em ratos não se reduz (89). Essa redução dos hormônios tireoidianos séricos em ratos durante privação calórica pode estar relacionada a diminuição da produção de leptina (90). A alimentação com uma dieta rica em gordura com intuito de induzir obesidade antes da privação calórica resulta em uma menor queda das concentrações séricas de hormônios tireoidianos durante o jejum (91). Em humanos, durante jejum prolongado, observa-se queda acentuada do T3, mas o T4 e TSH alteram-se pouco na maioria dos casos (92).

O selênio é um mineral crítico para adequada função da D1 (93). Os efeitos da deficiência de selênio na síntese de selenoproteínas, como as desidases, depende do tecido em questão. Em roedores, a deficiência de selênio diminui muito a síntese de D1 no fígado mas não na tireoide (86). A deficiência deste mineral também afeta negativamente a quantidade renal desta desidase (94). Em

humanos, a deficiência de selênio ocorre mais frequentemente em pacientes submetidos a dietas com restrição de proteínas (95) e nos idosos. Nestes pacientes, a relação T4/T3 apresenta-se ligeiramente aumentada, embora com concentrações séricas normais de TSH (96).

2.2.2 A desidase tipo 2

A D2, diferentemente da D1, é uma desidase com atividade exclusiva no anel externo dos hormônios tireoidianos, sendo responsável pela conversão de T4 em T3 e tem sua atividade predominante em tecidos como osso, músculo esquelético, cérebro, coração, tecido adiposo marrom e na pele (97). Em contraste a D1, localiza-se no retículo endoplasmático (98), o que pode explicar porque a D2 é a grande responsável pelo T3 intranuclear (99). O T4, diferentemente do caso da D1, causa uma diminuição da síntese de D2 (100), mas a atividade da D2 está aumentada na tireoide de pacientes com doença de Graves (101).

A exposição ao frio aumenta a expressão da D2 no tecido adiposo marrom, efeito que pode ser bloqueado pela administração de agentes bloqueadores adrenérgicos (102). De maneira análoga, agentes β -agonistas podem induzir a expressão da D2 no tecido adiposo marrom, assim como a insulina e o glucagon (103).

Os ácidos biliares podem atuar através de receptores transmembrana conhecidos como TGR5, e aumentar a atividade da D2 em tecido adiposo marrom e no músculo esquelético (104). Este efeito aumenta a termogênese e protege contra o ganho de peso induzido por dieta. Certos flavonóides também exibem o mesmo efeito (105).

A regulação tecidual da atividade de D2 é essencial a sua função principal de geradora de T3 intracelular (106). Sua meia-vida, usualmente de 40 minutos, pode ser reduzida para aproximadamente 25 minutos pela exposição ao T4 ou aumentada para até 300 minutos quando da falta deste (107). Essa regulação através do principal substrato confere uma eficiente capacidade à D2 de controlar as concentrações teciduais de T3.

A degradação da D2 normalmente ocorre através da ligação a ubiquitina (108). Esse mecanismo de degradação é, contudo, reversível até certo ponto e constitui outro mecanismo fisiológico que permite rápido ajuste das concentrações

intracelulares de T3, tendo sido demonstrado em vários tecidos humanos como cérebro, coração e músculo esquelético (109).

2.2.3 A desiodase tipo 3

A D3, através da sua ação catalítica de desiodação do anel interno, é a principal inativadora dos hormônios tireoidianos T3 e T4 (110). É capaz de converter o T4 a T3r e T3 a diiodotironina, ambos desprovidos de atividade biológica, fato ilustrado em casos de hipotireoidismo consumptivo que ocorre em pacientes com hemangiomas nos quais há a expressão aumentada da D3 (111). O papel fisiológico da D3 é a proteção dos tecidos contra concentrações excessivas de hormônio tireoidiano. Em humanos a D3 está presente no cérebro, pele e placenta (112). Assim, protege o feto contra exposição excessiva ao hormônio tireoidiano materno, o que poderia resultar em malformações.

Nos casos de alguns hemangiomas infantis em humanos, altas concentrações de D3 foram descritas, o que pode resultar em hipotireoidismo devido a inativação de T4 a T3 (111). Esta síndrome também foi descrita em adultos com hemangiopericitomas hepáticos (113). Na pele, a aplicação de T4 tópico resulta em conversão quase total a T3r (114). Em mulheres, as concentrações mais altas de D3 estão no endométrio. Pode ser encontrada ainda em gestantes, no âmnio e corium (115).

A regulação da síntese de D3 é feita pelos próprios hormônios tireoidianos, hormônios sexuais e pela presença de doenças orgânicas (SED). Em estudos animais, os hormônios tireoidianos aumentam a expressão da D3 no sistema nervoso central e o hipotireoidismo a diminui (116). A expressão de D3 aumentou até 50 vezes em ratos tireotóxicos, principalmente no cerebelo (117). O mesmo efeito foi demonstrado em cultura de células gliais humanas isoladas (118). O conteúdo uterino de D3 aumenta durante a gestação, logo após a implantação do feto e é dependente das concentrações de estradiol e progesterona (112).

Em pacientes críticos com SED, o T3 sérico é baixo e o T3r alto. Nesses pacientes, a atividade da D3 no músculo esquelético está elevada (119), reforçando a hipótese de alteração local na conversão de hormônios tireoidianos que ocorre nesta síndrome. De maneira similar, a atividade da D3 está aumentada no coração de indivíduos com insuficiência ou hipertrofia cardíaca (120). É possível que essa

ativação da D3 no coração destes pacientes seja benéfica, uma vez que reduz a concentração local de T3, o trabalho cardíaco e ajuda a manter a compensação fisiológica (121).

2.2.4 Metabolismo dos hormônios tireoidianos por vias independentes das desidases

Embora a maior parte dos hormônios tireoidianos seja metabolizada pelas desidases, existem outras vias pelas quais esse metabolismo pode ocorrer. A sulfoconjugação é dentre todas a de maior destaque. As sulfotransferases hepáticas normalmente estão envolvidas em reações de desintoxicação e têm preferência por substratos lipofílicos (122). A sulfatação dos hormônios tireoidianos facilita a desidatação do anel interno pela D1, mas não pela D3 (123). Eliminação biliar e renal dos hormônios tireoidianos constitui uma via menor para eliminação destes (124).

A importância fisiológica das vias alternativas para o metabolismo dos hormônios tireoidianos é que elas podem ser ativadas por alguns compostos xenobióticos, levando assim à metabolização não apenas das substâncias externas e potencialmente lesivas, mas também dos hormônios tireoidianos (125). Deste modo, substâncias externas podem levar a alterações na regulação do eixo tireoidiano, levando a maior conjugação e eliminação biliar e renal dos hormônios tireoidianos. Drogas comumente usadas que se encaixam nesta categoria são fenobarbital, benzodiazepínicos, bloqueadores do canal de cálcio e espironolactona (125). O uso de tais drogas pode requerer um aumento de dose de levotiroxina em pacientes com hipotireoidismo.

3 Fisiopatologia da síndrome do eutireoidiano doente

Várias doenças podem resultar em profundas mudanças no metabolismo dos hormônios tireoidianos. A principal característica laboratorial da SED é a reduzida concentração sérica de T3 acompanhada de elevação do T3r. O TSH apresenta-se normal ou mesmo inapropriadamente baixo, o que evidencia alterações no mecanismo de retroalimentação negativa da hipófise e do hipotálamo (126). A produção do T3 e degradação diminuída do T3r no fígado se combinam ao quadro central. A produção dos hormônios pela tireoide encontra-se diminuída pela

atividade de interleucinas pró-inflamatórias (127) e as mesmas podem ainda levar à expressão diminuída do receptor de TSH (128).

Os mecanismos envolvidos na fisiopatologia da SED vêm sendo estudados há décadas utilizando-se de modelos *in vivo* e *in vitro*. Diversos modelos em roedores foram descritos, como doenças agudas induzidas pela administração de lipopolissacarídeo (LPS) (128), inflamação crônica induzida por turpentina (129), sepse bacteriana (130) e queimaduras graves em fase crônica (131). Ratos transgênicos abrem a possibilidade para estudo do papel de genes específicos envolvidos no metabolismo dos hormônios tireoidianos, assim como ocorre para modelos usando uma gama variada de células isoladas.

3.1 Alterações na expressão hipotalâmica de TRH

A combinação de baixa concentração sérica de hormônios tireoidianos e TSH inapropriadamente normal ou baixo sugere uma alteração do ponto de controle central do eixo tireoidiano. Esta hipótese é sustentada por evidências de diminuída expressão do gene do TRH em hipotálamos de pacientes que faleceram após doença prolongada. Além disso, a quantidade de RNA mensageiro do TRH em hipotálamo destes pacientes se correlacionou com as concentrações séricas de TSH e T3 antes do falecimento (132). Estudos em animais igualmente corroboraram este dado, mostrando que a inflamação aguda reduziu o TRH hipotalâmico (133).

Os mecanismos responsáveis por esta alteração não são totalmente compreendidos. A disponibilidade local de T3 parece ter um papel importante, porque se observou que ratos com inativação do gene do TR-b demonstraram menor redução do TRH hipotalâmico durante doenças agudas (134). Um ponto importante ligado à queda do TRH no sistema nervoso central foi a verificação de aumento da atividade da D2 local nos tanócitos que circundam o III ventrículo (135). Em culturas de células *in vitro*, a indução de D2 em células gliais resultou em aumento da disponibilidade de T3 nos neurônios (136).

Adicionalmente, a IL-1 e a corticosterona demonstram capacidade de afetar diretamente a expressão do gene do TRH, contribuindo para a diminuição durante os estados pró-inflamatórios (137). Embora seja observada redução das concentrações do TRH durante o jejum prolongado, este mecanismo parece não ter importância em modelos de inflamação crônica (133).

3.2 Alterações na expressão do gene do TSH na hipófise

A ausência do esperado aumento do TSH frente a concentrações diminuídas de T3 sérico é uma das principais características da SED. A redução do TSH sérico é observada concomitantemente à menor expressão do RNA mensageiro do gene da subunidade b do TSH (138). Assim como ocorre para o TRH hipotalâmico, a queda nas concentrações do TSH hipofisário parece dependente do TR-b (139). Contudo, na hipófise, diferentemente do que ocorre no hipotálamo, tanto o aumento quanto a diminuição da expressão de D2 foram reportados (16, 128). Administração de LPS a ratos resultou em aumento da D2, o que depende da magnitude da queda dos hormônios tireoidianos (134).

Além da D2, a atividade de D1 na hipófise encontra-se aumentada em estados pró-inflamatórios (139). Este quadro é mediado por citocinas durante a fase aguda de inflamação, observando-se que estudos em animais deficientes em IL-12 e IL-18 não demonstraram o aumento normalmente observado com a administração de LPS (140).

Estudos *in vitro* em culturas de células hipofisárias mostraram que as citocinas exercem efeitos importantes na síntese de TSH. A IL-1 e o TNF- α diminuem a secreção de TSH independente das concentrações de T3 no meio (141). A diminuição da ingesta calórica parece não ter efeito na síntese de TSH por estas células, dado que é consistente com os achados *in vivo* durante inflamação crônica (133).

3.3 Os efeitos das citocinas na síntese de hormônios tireoidianos

Diversos elementos da síntese de hormônios tireoidianos são expressos de forma menos abundante quando expostos a concentrações elevadas de certas citocinas diretamente nas células tireoidianas, culminando em queda das concentrações séricas de T4 e T3 (127). Podemos tomar como exemplo a citocina pró-inflamatória IL-1, a qual inibe a transcrição induzida pelo TSH da proteína tireoglobulina (142). A IL-1 é capaz ainda de inibir a organificação de iodo e secreção de T4 e T3, bem como a expressão da enzima tireoperoxidase pelas células tireoidianas mesmo na presença de TSH (143, 144).

Entretanto, o papel da IL-6 não está tão bem estabelecido. Um estudo mostrou que a IL-6 inibe o aumento da expressão da tireoperoxidase induzida fisiologicamente pelo TSH e a produção de T3 em células tireoidianas de pacientes com doença de Graves (145). Apresenta, contudo, apenas efeito mínimos em culturas de células tireoidianas de pacientes sadios (146).

O interferon- γ (INF- γ), citocina pró-inflamatória envolvida principalmente no combate a infecções virais, é capaz de produzir uma série de alterações em células tireoidianas em cultura. Inibe a secreção de tireoglobulina e hormônios tireoidianos (147), assim como a expressão do RNA mensageiro de tireoglobulina (143) e a expressão da tireoperoxidase (148). Adicionalmente, o aumento da expressão de receptores de TSH induzido pelo próprio TSH também se encontra comprometido (149), bem como o aumento da expressão do co-transportador de sódio-iodo (150). A superexpressão de INF- γ em células tireoidianas de camundongos transgênicos leva a hipotireoidismo primário por uma redução deste co-transportador (151).

O TNF- α , citocina igualmente pró-inflamatória que possui um papel importante na resposta inflamatória de fase aguda, é capaz de inibir a produção de tireoglobulina (152) e a expressão do co-transportador sódio-iodo (150).

3.4 Alterações envolvendo o transporte de hormônios tireoidianos

O transporte celular de hormônios tireoidianos revela-se como elemento fundamental que ocorre previamente à conversão protagonizada pelas diversas desidases e à ligação ao receptor de hormônios tireoidianos no núcleo celular. Duas categorias principais de transportadores de hormônios tireoidianos foram descritos: os de ânions orgânicos e os de aminoácidos.

Os primeiros consistem em uma família de proteínas homólogas dentre as quais o principal exemplo é o OATP1C1, expresso em capilares do cérebro e astrócitos, e envolvido na captação de T4 através da barreira hemato-encefálica (153).

Os transportadores de aminoácido são representados pelos MCT8 e MCT10. O MCT8 transporta T4 e T3 e se expressa no fígado, rim e em várias áreas cerebrais (154). O MCT10 transporta preferencialmente T3, sendo expresso em rim, fígado e músculo esquelético (155).

Em modelos animais de doenças críticas e prolongadas, a expressão hipotalâmica de OATP1C1 e MCT10 aumentou, enquanto que não houve alteração na expressão de MCT8 (138). Modelos de sepse em roedores revelaram que tanto MCT8 quanto D3 eram expressos em neutrófilos presentes no infiltrado do abscesso induzido por turpentina (156). Contudo, as consequências fisiológicas destas alterações funcionais nos transportadores de hormônios tireoidianos ainda são incertas.

3.5 Alterações envolvendo as desidases

A expressão e a atividade das três desidases estão afetadas durante doenças sistêmicas. A combinação da expressão das três diferentes desidases em determinado tecido determinará a disponibilidade de T3 para as células e a função do tecido (157).

3.5.1 A desidase tipo 1

O papel da D1 na fisiopatologia da SED foi extensivamente estudado devido à sua capacidade de catalisar desidatação tanto do anel interno quanto externo dos hormônios tireoidianos, promovendo produção de T3 e redução da depuração de T3r. Sua localização na membrana celular a coloca como uma reguladora em potencial das concentrações séricas dos hormônios tireoidianos.

Doenças sistêmicas levam à redução importante da atividade da D1 em doentes críticos e modelos animais (119, 158). A expressão hepática de TR-b encontra-se reduzida nestas situações e, devido à atividade de D1 ser induzida pela interação do T3 com este subtipo de TR, este mecanismo provavelmente desempenha função relevante na queda da expressão da enzima (159). Estudos *in vitro* sugerem um papel preponderante para o efeito das citocinas. A IL-1 foi capaz de reduzir a expressão do gene do TR-b em células isoladas (160) e IL-1 e IL-6 diminuíram a capacidade de ligação do T3 ao TR-b (161). Embora o papel do TR-b seja importante na fisiopatologia das alterações da SED, roedores com inativação do gene do TR-b submetidos à infusão de LPS apresentaram igualmente redução da expressão e atividade de D1 (162).

Alguns autores demonstraram que a diminuição da atividade de D1 pode ser atenuada pela adição de SRC-1, um coativador do TR- β , no fígado (86). Assim, a competição por quantidades limitantes de coativadores simultâneos do TR- β e de interleucina, como o SRC-1 pode ser um dos mecanismos responsáveis pela menor expressão da D1 (163).

Muitas citocinas pró-inflamatórias apresentam como via de sinalização intracelular a do fator nuclear kappa B, ressaltando-se que a interação do TNF- α com esta via foi capaz de impedir a indução de D1 que normalmente ocorre com a exposição ao T3 (164).

Um outro co-fator importante implicado nesta alteração de expressão da D1 é a glutatona, que é requerida para atividade catalítica da D1 (165). A adição de N-acetil-cisteína, um antioxidante que restaura os estoques celulares de glutatona pode prevenir a supressão da D1 induzida pela IL-6 (166).

Apesar de todos os mecanismos demonstrando menor expressão de D1 na SED, a resposta de ratos com inativação dos genes de D3 ou D1/D2 à administração de LPS não difere daquela de ratos normais (167). Por outro lado, em modelos animais a supressão da D1 hepática se correlacionou fortemente com a queda na concentração intra-hepática de T3 (168).

3.5.2 A desidase tipo 2

Diferentemente da D1, a D2 localiza-se no retículo endoplasmático e é responsável pela desiodação de T4 a T3, sendo a principal enzima envolvida na produção local de T3 e negativamente regulada pelo mesmo (106).

Muitos estudos se focaram no papel da D2 no sistema nervoso central durante a SED, dada a falta de resposta do eixo hipotálamo-hipofisário frente à diminuição das concentrações séricas de T3. Alguns estudos mostraram ativação da D2 nos tanicitos, o que aumentaria a concentração local de T3 (16). Em ratos com inativação do gene do TR- β não foi demonstrada redução de expressão do TRH (139).

A indução de D2 no hipotálamo parece ser dependente da atividade de citocinas pró-inflamatórias. Administração de LPS resulta em aumento da IL-1, IL-6 e TNF- α . O gene da D2 possui regiões sensíveis ao fator nuclear kappa B e este poderia ser o elemento mediador da indução da enzima frente a estímulos

inflamatórios (169). Assim, o efeito poderia ser bloqueado quando a transcrição do fator nuclear kappa B fosse inibida (135).

Durante o jejum, observa-se aumento na atividade de D2, ainda que de menor magnitude quando comparada à vista durante estados inflamatórios (170). O mecanismo envolvido na indução da D2 durante o jejum difere daquele da inflamação, pois parece estar relacionado a mudanças nas concentrações de neuropeptídeos e leptina (170).

No músculo esquelético, um dos principais sítios de expressão da D2 (Bianco 2006), a atividade local da enzima aumenta em pacientes internados em unidades de terapia intensiva (171). No entanto, encontra-se diminuída em pacientes em choque séptico (172).

No pulmão, após administração de LPS em modelos animais, a expressão da D2 aumenta (173). O consequente aumento local de T3 pode constituir um mecanismo de proteção do pulmão para proteger-se contra danos durante a inflamação, já que a inativação da D2 agrava lesões pulmonares em modelos animais de dano por ventilação mecânica (174). Durante este dano, há aumento das interleucinas pró-inflamatórias com ativação da via do fator nuclear kappa B (175) e a inibição desta via protege os roedores do dano pulmonar (176).

Por fim, não há evidência de que a ubiquitinação da D2 tenha um papel importante durante inflamação sistêmica (177).

3.5.3 A desidase tipo 3

A D3 é a grande responsável pela inativação dos hormônios tireoidianos (157). Doenças sistêmicas alteram a expressão e atividade da D3, mas os resultados de estudos conduzidos em animais variam bastante. Durante inflamação aguda e crônica, bem como durante sepse, a atividade hepática da D3 encontra-se diminuída (158), mas estudos em coelhos e humanos mostraram aumento durante doença crítica prolongada (119).

Durante doenças mais prolongadas, a redução da ingesta calórica pode ter uma função importante, principalmente na regulação das desidases hepáticas. Jejum de 36 horas leva a aumento significativo na atividade da D3 hepática (178). Então, o efeito de diferentes variações no tempo de jejum ou na diminuição da ingesta de alimentos poderia explicar parcialmente as diferenças encontradas nos

resultados dos estudos descritos acima. Adicionalmente, a queda da concentração sérica de leptina durante privação calórica leva a aumento na atividade da D3 em ratos (179).

No músculo esquelético as mudanças na expressão e atividade da D3 parecem depender do tempo e tipo da doença de base. Enquanto que nas inflamações agudas observa-se menor expressão da enzima (162), a sepse parece não afetá-la, podendo ocorrer até mesmo aumento no caso de inflamações crônicas (172). Em pacientes críticos, a atividade muscular de D3 parece aumentada (119). Tais mudanças provavelmente não dependem de vias inflamatórias (172).

Nos miócitos cardíacos, a atividade basal de D3 é pequena, mas o infarto miocárdico induz a aumento da D3 local e hipertrofia (120). Foi postulado que o aumento da D3 em órgãos periféricos seria induzido por hipóxia (119), constituindo assim um mecanismo adaptativo para situações de estresse metabólico, em que menor concentração local de T3 evitaria aumento do dano e catabolismo proteico (180).

Contudo, as alterações teciduais na atividade da D3 aparentemente não geram implicações para as concentrações séricas de hormônios tireoidianos, pois foi verificado que ratos com inativação do gene da D3 mostraram padrão laboratorial semelhante aos normais durante inflamação sistêmica (181).

3.6 Alterações no metabolismo dos hormônios tireoidianos por vias independentes das desidases

Um dos principais mecanismos alternativos de metabolismo dos hormônios tireoidianos se dá através da sulfatação no fígado (182). Pouco se conhece sobre as possíveis alterações neste processo durante doenças sistêmicas.

Em um estudo, as concentrações séricas de T4 sulfatado em pacientes que faleceram em UTI estavam aumentadas, provavelmente devido a uma diminuição da depuração pela D1 e não a um aumento na atividade de sulfatação (183).

Outro processo importante é o de glucorinidação (184). Não foram descritas até a atualidade alterações neste processo em doenças sistêmicas, ressaltando-se a existência de um viés pois ocorre a administração de múltiplas drogas nestas situações, o que pode induzir o processo de glucorinidação e reduzir ainda mais as concentrações séricas de T4 (123).

4. Síndrome do Eutireoidiano doente em pacientes criticamente enfermos

4.1 Diagnóstico diferencial entre SED e doenças tireoidianas

O diagnóstico da SED em pacientes internados em UTI é dificultado pela alta prevalência da síndrome nesta situação e por sua semelhança em muitos casos com o hipotireoidismo primário não tratado. Pacientes em uso de levotiroxina previamente devem ter sua medicação mantida (185). Este fato, embora pareça trivial, é de essencial importância, uma vez que um estudo demonstrou que quase 18% dos pacientes internados em UTI tiveram sua medicação descontinuada por mais de 7 dias e em 2% dos casos ela foi suspensa (185).

Diagnóstico de hipotireoidismo em pacientes críticos sem conhecimento prévio desta condição pode ser extremamente difícil, pois os hormônios tireoidianos estão diminuídos devido a SED, especialmente o T3. A maneira mais prática de diferenciar as duas situações é a dosagem do TSH, uma vez que um TSH normal exclui hipotireoidismo primário.

Em pacientes com hipotireoidismo primário e SED simultaneamente, o TSH se mantém elevado e responsivo à administração de levotiroxina. Em alguns pacientes hipotireoideos, contudo, o TSH pode decair devido a SED, especialmente se estiverem recebendo infusões de dopamina ou glicocorticóides. Uma razão T3/T4 alta e T3r baixo geralmente favorecem o diagnóstico de hipotireoidismo, mas a acurácia diagnóstica desta proporção é baixa (186). O mesmo acontece em casos de T4 baixo com elevação de TSH, com a ressalva de que tal padrão também é visto em pacientes que estão se recuperando de SED.

Em pacientes com hipotireoidismo sem diagnóstico prévio, doenças críticas podem precipitar quadro de coma mixedematoso, ou hipotireoidismo grave, condição com mortalidade de 50% (187). Assim, a presença de hipotermia e alteração do nível de consciência, bem como TSH elevado e/ou T4 e T3 baixos ou indetectáveis devem chamar a atenção do médico para necessidade de tratamento imediato com reposição de hormônios tireoidianos e corticoides (188).

O diagnóstico de hipertireoidismo em pacientes críticos é menos problemático, uma vez que o T4 e o T3 geralmente estão elevados, fato que não

ocorre na SED. A combinação de TSH suprimido associado a T4 alto e T3 normal apontam para concomitância de tireotoxicose e SED, conhecida como “T4 tireotoxicose” (186). Presença de exoftalmo ou anticorpos anti-tireoide podem ajudar no diagnóstico de hipertireoidismo primário.

4.2 Tratamento da síndrome do Eutireoidiano doente em pacientes criticamente enfermos.

Permanece incerto se são benéficas intervenções com o objetivo de normalizar as concentrações séricas de hormônios tireoidianos em pacientes criticamente doentes. Há poucos estudos, geralmente pequenos, do tipo ensaio clínico randomizado tentando esclarecer este ponto, e boa parte envolve uma gama variada de idades, tipos de doença e gravidade. Ainda, há pouca consistência no tipo de droga empregada no tratamento, com relatos de uso de T3 e T4.

O estudo de Brent e Hershman (1986) realizou reposição com 1,5µg/kg peso de levotiroxina por via endovenosa por dia em 12 pacientes, restaurando rapidamente as concentrações de T4 à normalidade, mas foi incapaz de normalizar o T3 após 3 semanas de tratamento. A mortalidade nos grupos tratados e não tratados, contudo, não diferiu (189). Especula-se que a falha em demonstrar benefício no tratamento foi devida a utilização de levotiroxina e não de T3.

Estudos de curta duração em humanos utilizando reposição de T3 mostraram discretos benefícios na função cardiovascular sem afetar a mortalidade. Particularmente importantes foram as avaliações de pacientes portadores de doenças cardíacas, submetidos à cirurgia de revascularização coronariana, revelando melhora do débito cardíaco e menor necessidade de drogas vasopressoras, mas sem outros efeitos (190). Portadores de falência cardíaca crônica terminal responderam com diminuição da concentração plasmática de norepinefrina, frequência cardíaca, concentrações de aldosterona e peptídeo natriurético atrial, além de melhora do desempenho de ventrículo esquerdo, sem efeitos colaterais (191).

Importante ressaltar que a normalização das concentrações séricas de hormônios tireoidianos nem sempre reflete a normalização das concentrações teciduais (192). Isso talvez ajude a explicar porque, na sua grande maioria, os

ensaios utilizando ambos os hormônios têm sido ineficazes em termos de benefício clínico.

Em situações de UTI, é de destaque a utilização de peptídeos hipotalâmicos. A administração de TRH, principalmente em combinação ao peptídeo 2 liberador de hormônio de crescimento, é capaz de restabelecer as concentrações séricas de TSH e hormônios tireoidianos (193). Contudo, em termos de morbidade e mortalidade, o benefício deste tratamento continua incerto (194). Alguns estudos mostraram inclusive pior prognóstico com este tipo de tratamento em pacientes com insuficiência renal (195).

Outra possibilidade seria o tratamento com TSH humano recombinante. Estudo piloto mostrou que uma dose baixa diária de 30mcg em pacientes com hipotireoidismo central foi suficiente para normalizar as concentrações séricas de TSH (196). Neste estudo, houve ainda melhora da qualidade de vida e do sono dos pacientes tratados (196). Será de grande interesse avaliar se em pacientes com SED resultados similares podem ser alcançados e se haverá benefício em termos de diminuição da morbi-mortalidade.

5. Síndrome do Eutireoidiano doente em pacientes com doenças não críticas

Nas últimas décadas, a SED vem sendo descrita em uma variedade de condições crônicas sob cuidado ambulatorial. A importância de reconhecer esta condição nestes pacientes é de suma importância para profissionais de várias especialidades, para que se evitem diagnósticos errôneos e tratamentos que geralmente não têm benefício reconhecido.

5.1 Jejum prolongado

A privação de calorias reduz a atividade do eixo hormonal tireoidiano, levando a queda nas concentrações séricas de hormônios tireoidianos (197). Este fenômeno é classicamente interpretado como uma tentativa por parte do organismo de conservar energia e diminuir o metabolismo basal e de proteínas, uma vez que os estudos mostram aumento do catabolismo proteico quando T3 é administrado neste cenário (198). Há ainda aumento do T3r sérico, que ocorre devido à diminuição do

seu *clearance* pelas desiodases (186). Normalmente não se observa alterações do T4.

No sistema nervoso central ocorre diminuição da produção de TRH, com alterações na glicosilação do TSH e redução de sua atividade biológica (199). A diminuição da produção de leptina característica do jejum prolongado tem papel importante nestas anormalidades (25).

A composição da dieta e não somente o balanço energético influencia as alterações da SED no jejum. Menor consumo de carboidratos leva à queda do T3, da tireoglobulina e ao aumento do T3r (200). A reintrodução de pequenas quantidades de carboidratos normaliza o T3 sérico, efeito não observado com suplementação de proteínas (201).

5.2 Em portadores do vírus da imunodeficiência humana

A principal infecção crônica estudada com relação às anormalidades hormonais da SED é a causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV).

Em pacientes infectados pelo HIV, as concentrações séricas de hormônios tireoidianos estão inalteradas, a não ser que haja infecção por algum agente oportunista (202). Um pequeno aumento na concentração de TBG foi relatado, mas sua causa permanece incerta, podendo estar relacionada à diminuição do seu catabolismo (203).

Em pacientes infectados por *P. carinii*, diminuição na concentração de hormônios tireoidianos geralmente significam pior prognóstico (204). Fato interessante é que concentrações de T3r que comumente estão baixas nos infectados por HIV, se normalizam após internação por doença grave (204). Quase 15% dos pacientes que recebem terapia antirretroviral apresentam menores concentrações de T4L e elevação do TSH, o que provavelmente deve-se ao desmascaramento de tireoidite de Hashimoto no contexto de reconstituição imunológica e não à SED (205).

5.3 Doenças cardíacas

Os hormônios tireoidianos são importantes reguladores da função cardíaca e vascular periférica (206). SED pode ser observada em casos de isquemia

miocárdica, insuficiência cardíaca congestiva e após cirurgia de revascularização coronariana.

Nos casos de infarto do miocárdio, há diminuição do T3, TSH e T4, com concomitante aumento do T3r, com a relação T3r/T3 guardando estreita correlação com a gravidade do caso (207). Pacientes que sofreram parada cardíaca prolongada atingem concentrações de T3 e T3L mais baixas que os com tempo menor de ressuscitação e os testes de função tireoidiana se normalizam após recuperação da doença (208).

Na insuficiência cardíaca, a prevalência de SED gira ao redor de 20% (209). Pacientes de maior gravidade apresentam alterações hormonais mais pronunciadas do que os menos sintomáticos e o T3L sérico mostrou-se um ótimo marcador de mortalidade em análise de casos de insuficiência cardíaca de diversas etiologias (210).

5.4 Doenças renais

O rim tem importante interação com os hormônios tireoidianos, uma vez que doenças do sistema renal têm impacto em suas concentrações séricas e, ao mesmo tempo, o rim exerce importante papel no metabolismo e excreção dos mesmos (211).

Na síndrome nefrótica a concentração de T3 está reduzida, provavelmente devido à perda urinária de TBG, pois nos pacientes com função renal preservada a TBG encontra-se em níveis normais (212). O T3r geralmente está dentro dos limites de referência (212). Não se observam alterações do T3L e T4L, a não ser em situações de uso de altas doses de glicocorticoide (212).

A doença renal terminal provoca anormalidades no eixo hormonal tireoidiano (211). Há diminuição da conversão de T4 a T3, com consequente queda do T3 plasmático. A acidose metabólica também contribui para o processo (213). A associação entre T3 diminuído e pior prognóstico vista em outras doenças igualmente é válida nos casos de insuficiência renal, especialmente para pacientes em hemodiálise (214). O T4 livre pode estar em concentrações elevadas na vigência de uso de heparina (215). Embora não se demonstrem alterações nas concentrações de TSH, sua glicosilação encontra-se alterada, o que pode diminuir

sua meia vida plasmática (211). A hemodiálise, ao contrário do transplante renal, não corrige as alterações hormonais tireoidianas (211).

5.5 Doenças hepáticas

De modo similar ao que acontece com o sistema renal, o fígado é importante para o adequado metabolismo dos hormônios tireoidianos. Trata-se do principal órgão responsável pela atividade da D1 em converter o T4 a T3, realizar síntese de tireoglobulina, captação de T4 e liberação secundária de T4 e T3 na circulação. As principais doenças do fígado que cursam com alterações típicas de SED são a cirrose hepática, hepatites agudas e doença hepática crônica.

Em casos de cirrose, o achado mais comum é a redução das concentrações do T3 e T3L, acompanhado por elevação do T3r. Nesse caso, mais uma vez a relação T3/T3r está inversamente relacionada ao prognóstico (216). O T4L pode aumentar e o T4 total diminuir devido à queda na síntese de tireoglobulina e albumina. O TSH eventualmente se apresenta ligeiramente aumentado, mas os pacientes geralmente mantêm-se eutireoidianos (186).

Em casos de hepatites agudas, a apresentação da SED é diferente das demais doenças hepáticas. Verifica-se aumento da concentração sérica de tireoglobulina devido ao aumento da liberação hepática levando a elevações nas formas totais de T3 e T4, sem alterações nas formas livres e no TSH (217). A relação T3/T3r permanece útil como avaliação de gravidade da doença de base (218).

As doenças hepáticas crônicas se assemelham sobretudo às hepatites agudas do que aos casos de cirrose hepática, no que toca à apresentação da SED. Algumas doenças crônicas do fígado em que são observadas alterações dos hormônios tireoidianos são a cirrose biliar primária e hepatite autoimune, nas quais a concentração de tireoglobulina se eleva, assim como as de T3 e T4. Todavia, nestes casos o T3L e T4L estão geralmente diminuídos (219). Algumas dificuldades em particular ocorrem pelo fato que ambas as doenças têm origem autoimune (220) e assim as alterações hormonais não mostram relação com o prognóstico (186).

5.6 Doenças pulmonares

Alguns estudos demonstraram a presença de SED em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica. Um estudo envolveu pacientes em condições clínicas estáveis, outros com exacerbações agudas e um grupo de controle sem doença pulmonar (221). Aqueles com doença estável apresentaram T3L inferior ao grupo de controle. Quedas maiores no T3L nos pacientes com exacerbações agudas se correlacionaram a aumentos da IL-6 e TNF- α e retornaram ao nível de base depois de resolvido o quadro agudo.

6. Peso corporal, diabetes mellitus e o eixo hormonal tireoidiano

Obesidade e doenças tireoidianas são muito comuns e ocorrem com frequência no mesmo paciente. Além da chance de associação, relação direta entre a tireoide e obesidade vem sendo descrita com frequência cada vez maior (222, 223). Os hormônios tireoidianos são importantes reguladores do gasto energético e contribuem para regulação do apetite. Por outro lado, moléculas secretadas pelo tecido adiposo informam ao sistema nervoso central sobre os estoques de energia e podem ter repercussão na atividade do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide (223).

Um ganho de peso médio de aproximadamente 3kg é observado em pacientes com hipotireoidismo, sendo reversível com a administração de hormônio tireoidiano (224). De maneira análoga, perda de peso classicamente associa-se a estados de hipertireoidismo (225).

6.1 Alimentação e hormônios tireoidianos

Em pacientes magros, a produção de T3, mas não a de T4, aumenta significativamente durante a superalimentação (226). De maneira contrária, como descrito anteriormente, a produção de T3 diminui durante restrição alimentar, com aumento das concentrações de T3r (227). Estudos antigos justificaram a ideia de que o hipotireoidismo seria o causador de obesidade pelo fato de que com o diagnóstico de uma doença metabólica, tanto médicos quanto pacientes estariam

eximidos de culpa em relação ao ganho de peso, ao mesmo tempo em que permitiriam alguma forma de tratamento farmacológico (228).

Alguns estudos evidenciaram um papel importante dos hormônios tireoidianos e das desiodases na regulação do apetite. Em mamíferos, administração em circulação periférica de T3 produz efeitos catabólicos e perda de peso. No entanto, quando a administração é feita no hipotálamo, o efeito resultante é anabólico, com aumento do apetite e favorecimento ao ganho de peso (229). Em ratos, o jejum estimula a atividade da D2 e produção local de T3 no núcleo arqueado, promovendo proliferação mitocondrial e estimulação neurônios orexigênicos (229). O T3 exerce retroalimentação negativa na expressão hipotalâmica do receptor 4 da melanocortina, que é um importante efector dos efeitos anorexigênicos da leptina (230). Alterações nas atividades hipotalâmicas da D2 e D3 e consequentemente na disponibilidade local de T3 foram previamente demonstradas como importantes reguladores das variações sazonais de peso em mamíferos hibernantes (231).

6.2 Regulação do peso corporal e o eixo hormonal tireoidiano

O principal regulador do peso corporal é a leptina, um hormônio derivado do tecido adiposo e que tem ação inibitória sobre a ingesta alimentar e positiva sobre o gasto energético basal (232). O jejum caracteriza-se por queda na concentração periférica de leptina devido à redução da massa adiposa (233).

Em modelos animais, administração de leptina reverte a diminuição na expressão hipotalâmica de TRH e aumenta a expressão da D2 (90). Em indivíduos saudáveis e magros, os ritmos circadianos de leptina e de TSH são superponíveis (234) e o mesmo efeito observado em animais durante o jejum é visto com a administração subcutânea de leptina (35). Estes dados indicam que há um efeito da leptina na secreção de TSH.

Assim, uma redução nas concentrações séricas de leptina atua como sinal periférico capaz de inibir diretamente o eixo hipotálamo-hipófise-tireoide, pela diminuição da produção de TRH. Esta ação tem sido relacionada a uma capacidade evolutiva de conservar energia em situações de carência alimentar.

Pacientes com deficiência congênita de leptina apresentam hipotireoidismo central parcial (235), mas não está claro até que ponto a reposição de leptina afetaria a função tireoidiana destes pacientes.

Uma relação bidirecional entre leptina e hormônios tireoidianos é sugerida pela presença de receptores de TSH em adipócitos (236). O uso de TSH humano recombinante em altas doses provoca a liberação de pequenas quantidades de leptina pelo tecido adiposo (237). Isso levou à investigação da capacidade do TSH em ativar os seus receptores do tecido adiposo marrom e consequentemente prevenir uma queda excessiva de temperatura nos casos de hipotireoidismo e do seu papel na termogênese em humanos (238, 239).

6.3 Diabetes Mellitus e alterações do eixo hormonal tireoidiano

Diabetes Mellitus e doenças tireoidianas são as doenças endócrinas mais comuns na prática clínica e muito frequentemente encontradas no mesmo paciente.

A frequência de doença tireoidiana em pacientes com DM é bem maior do que na população geral (240). Um estudo mostrou que a prevalência de anormalidades hormonais tireoidianas em pacientes com DM foi de 13,4%, chegando a um pico de 31,4% em mulheres com DM1 e com menor incidência em homens portadores de DM2 (241). Uma metanálise envolvendo cerca de 10.000 pacientes com DM revelou prevalência de doença tireoidiana de 11%, com diferenças apenas entre sexos, sendo maior nas mulheres, mas sem diferenças na comparação entre DM1 e DM2 (242). A maior frequência encontrada em pacientes do sexo feminino e nos portadores de DM1 se deve à coexistência de diabetes e doença tireoidiana autoimune. Além da maior frequência de doença tireoidiana em portadores de DM, pacientes com tireoidite de Hashimoto apresentam DM1 em 3-8% dos casos e aqueles com doença de Graves em 1-5% dos casos (240).

Nos pacientes com DM2, doenças tireoidianas parecem ser tão comuns quanto nos portadores de DM1, provavelmente devido à idade mais avançada dos primeiros (243). Novamente, o hipotireoidismo é a forma mais comum, afetando cerca de 6% (241). Um estudo analisando esta associação evidenciou que a frequência de hipotireoidismo em diabéticos acima de 65 anos de idade foi maior em mulheres, em pacientes não obesos e naqueles com anticorpos anti-tireoide presentes (244). Por sua vez, o hipertireoidismo, incluindo doença subclínica, exibe prevalência nos pacientes com DM2 de 4,3% em mulheres e 3,6% em homens, sendo os maiores fatores de risco para esta associação a presença de bócio e idade mais avançada (245).

Contudo, parece não haver relação entre doença tireoidiana e parâmetros clínicos relacionados ao DM como tempo de diabetes, controle glicêmico e presença de complicações.

Outra forma de alterações hormonais tireoidianas bem descritas em pacientes com DM é a SED. Alguns estudos verificaram diminuição da concentração sérica de T3 total e em alguns casos, do T4 total, frente a concentrações inapropriadamente normais de TSH e T3r aumentado (246). Padrão similar foi visto em pacientes com DM tipo 1 (DM1), especialmente naqueles com estados agudos de descompensação metabólica ou controle glicêmico ruim (247, 248). Em pacientes com DM tipo 2 (DM2), o mesmo padrão foi descrito nos pacientes com hemoglobina glicada acima de 12%. (246).

Um interessante estudo revelou que pacientes portadores de DM2 e HbA1c acima de 10,8%, recém diagnosticados, apresentavam concentrações séricas aumentadas de T3r e diminuídas de T3 (249). Tais alterações foram revertidas após melhora do controle glicêmico. O mesmo estudo encontrou ainda menor resposta do TSH à administração de TRH exógeno, o que se reverteu após o controle metabólico. (249).

Tanto a SED quanto o DM são conhecidos por sua associação com estados inflamatórios subclínicos, com importante participação de diversas citocinas pró-inflamatórias. Um estudo encontrou aumento significativo de T3r em pacientes com DM2 apenas nos casos com antecedente de doença macrovascular e concentrações séricas de PCR mais elevadas (250). Embora a relação entre SED e DM esteja bem estabelecida, não está clara a relação causal entre pior controle glicêmico e alterações hormonais tireoidianas ou sua intensidade.

6. Marcadores de resposta inflamatória, *Diabetes Mellitus* tipo 2 e doença cardiovascular

Nas últimas décadas, estudos revelaram que doenças ligadas ao desenvolvimento de aterosclerose exibem um processo inflamatório como base. No caso específico da tríade obesidade, resistência à insulina e *Diabetes Mellitus*, um estado inflamatório subclínico estabelece a ligação com as doenças cardiovasculares.

Diversos marcadores inflamatórios refletem o grau de inflamação, apresentando-se como preditores de risco cardiovascular.

O TNF- α é uma citocina de atuação na célula adiposa, tendo papel de destaque na regulação do acúmulo de gordura (252). Essa citocina é capaz de inibir a lipogênese diminuindo a expressão da lipoproteína lipase, da acetil-CoA sintetase e do canal de glicose GLUT 4 (253). Em humanos obesos, o aumento do TNF- α está associado a pior sensibilidade à insulina (254). Tal associação ocorre porque o TNF- α tem a capacidade de interferir com a cascata de sinalização celular da insulina, reduzindo a captação muscular e adiposa de glicose (255). Faz parte do grupo de citocinas pró-inflamatórias, uma vez que é capaz de estimular a síntese de outras citocinas e tem papel significativo na cascata de interleucinas inflamatórias (251).

O TNF- α é produzido por células adiposas, macrófagos, células musculares e endoteliais (251). Além disso, induz a produção de IL-6 no tecido adiposo e promove a expressão de moléculas endoteliais de adesão (256). O TNF- α demonstra correlações positivas com componentes da síndrome metabólica (257) e é marcador independente para o risco de doenças cardiovasculares e infarto do miocárdio (251, 258).

A IL-1 é produzida por monócitos e macrófagos, assim como células endoteliais e plaquetas ativadas. Da mesma forma como ocorre com o TNF- α , a IL-1 é capaz de induzir a produção de moléculas endoteliais de adesão (251). Atua conjuntamente com o TNF- α estimulando a produção de IL-6 e aumenta a produção de fator de crescimento derivado de plaquetas pelos macrófagos, ambos associados ao processo de aterosclerose (251).

A adiponectina apresenta-se como outro fator importante na cascata inflamatória relacionada ao DM. Produzida por adipócitos, assim como a leptina, é considerada um hormônio e não uma citocina (259). Possui propriedades anti-inflamatórias e comporta-se como um bom marcador para síndrome metabólica, pois sua diminuição se relaciona ao aumento das concentrações de citocinas pró-inflamatórias (259). Ainda, aumenta a expressão de interleucina-10, que possui atividade anti-inflamatória (259).

Estudos mostram concentrações séricas de adiponectina diminuídas em pacientes com síndrome metabólica quando comparados a indivíduos saudáveis (259). Há associação entre sua concentração sérica e componentes individuais da síndrome metabólica, como circunferência de cintura, pressão arterial sistólica e

diastólica, concentrações séricas de triglicérides e colesterol HDL (259). Adicionalmente, verifica-se relação com o IMC e índices de resistência à insulina (260). Outro trabalho mostrou que mulheres sem síndrome metabólica possuíam adiponectina e interleucina-10 aumentadas simultaneamente a concentrações séricas mais baixas de IL-6 e PCR do que aquelas com síndrome metabólica (259).

A IL-6 é uma citocina com atividade pró-inflamatória, envolvida nos estados de resistência à insulina e secretada pelo tecido adiposo. Desempenha papel fisiopatológico na síndrome metabólica, aumentando a lipólise, inibindo a lipase-lipoprotéica, com resultante aumento na liberação de ácidos graxos livres e glicerol e redução da expressão do GLUT-4 no tecido muscular, principal responsável pela captação de glicose mediada por insulina neste tecido. Apresenta-se, portanto, em níveis elevados em indivíduos obesos, sendo um bom preditor do aparecimento de resistência à insulina (261).

A IL-6 funciona como um mediador de fase aguda em respostas inflamatórias (251). Determina, no fígado, a secreção de outras proteínas de fase aguda como a PCR. Níveis muito aumentados são encontrados em indivíduos com doença cardíaca, sendo preditor acurado para evolução a óbito (258). De forma análoga, apresenta-se como fator preditor de mortalidade em pessoas saudáveis ou com eventos cardiovasculares prévios (251). A IL-6 é secretada por muitos tipos celulares, sobretudo pelo tecido adiposo, especialmente o compartimento visceral de adipócitos, correlacionando-se de forma positiva com a circunferência da cintura (261). A IL-6 se correlacionou com muitos dos componentes observados na resistência à insulina em pessoas sem comorbidades, como glicemia, circunferência de cintura, pressão diastólica, triglicérides e HDL séricos. Adicionalmente, os níveis séricos de IL-6 se associaram a resistência à insulina de forma independente do índice de massa corporal (IMC) (262).

A proteína C reativa é uma proteína de fase aguda inflamatória sintetizada pelo fígado em resposta a citocinas pró-inflamatórias, principalmente a IL-6, IL-1b e TNF-a (263). A elevação da PCR é detectada em processos de infecção aguda ou ativa e em menor escala em processos inflamatórios subclínicos, como a aterosclerose (251). Um estudo demonstrou a triplicação de seus níveis séricos na doença vascular periférica (263). Assim, essa proteína é reconhecida por sua capacidade em prever eventos cardiovasculares (264). Alguns trabalhos corroboraram esta característica após mostrar que indivíduos com níveis mais

elevados de PCR apresentavam maior risco para infarto do miocárdio mesmo após ajuste para os demais fatores de risco (265).

Recomenda-se a avaliação de PCR para definição de risco cardiovascular em pacientes classificados como de risco intermediário, nas decisões clínicas em investigação de isquemia miocárdica (266). Indivíduos com resistência à insulina e DM apresentaram níveis de PCR mais elevados do que aqueles sem essas características (265). Indivíduos saudáveis apresentaram correlação da PCR com circunferência de cintura, pressão arterial, IMC e níveis séricos de triglicérides, HDL, insulina basal, colesterol total e LDL. A PCR relacionou-se ao número de alterações laboratoriais características da síndrome metabólica e mostrou-se um bom preditor de eventos cardiovasculares, inclusive de forma independente da sensibilidade insulínica (267). Dentre todos os marcadores de inflamação, a PCR apresentou maior significância em prever eventos cardiovasculares, considerando-se fatores de risco comprovados (251).

A proteína amiloide sérica (SAA) é uma proteína de fase aguda sintetizada pelos hepatócitos em resposta ao estímulo de citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e TNF- α (268). Alguns autores sugerem que a SAA seja considerada como marcador de risco da atividade inflamatória e eventos cardiovasculares, uma vez que seus níveis estão correlacionados com o grau de inflamação, resistência à insulina, obesidade e DM2 (269), de forma similar a PCR (270). A SAA pode apresentar um efeito de promoção da instabilidade da placa aterosclerótica (271) e encontra-se muito mais aumentada em indivíduos diabéticos com história de infarto agudo do miocárdio (IAM) do que nos diabéticos não complicados, sendo sugerida como um marcador complementar a PCR (268, 271).

Dentre os diversos marcadores inflamatórios, os de maior destaque são a IL-6, a proteína C reativa (PCR), a proteína amiloide sérica (SAA) e o TNF- α (251).

Dado o papel relevante das citocinas pró-inflamatórias na fisiopatologia tanto da SED quanto do DM, é possível se pensar em uma possível ligação entre estes três elementos, conforme ilustra a Figura 1.

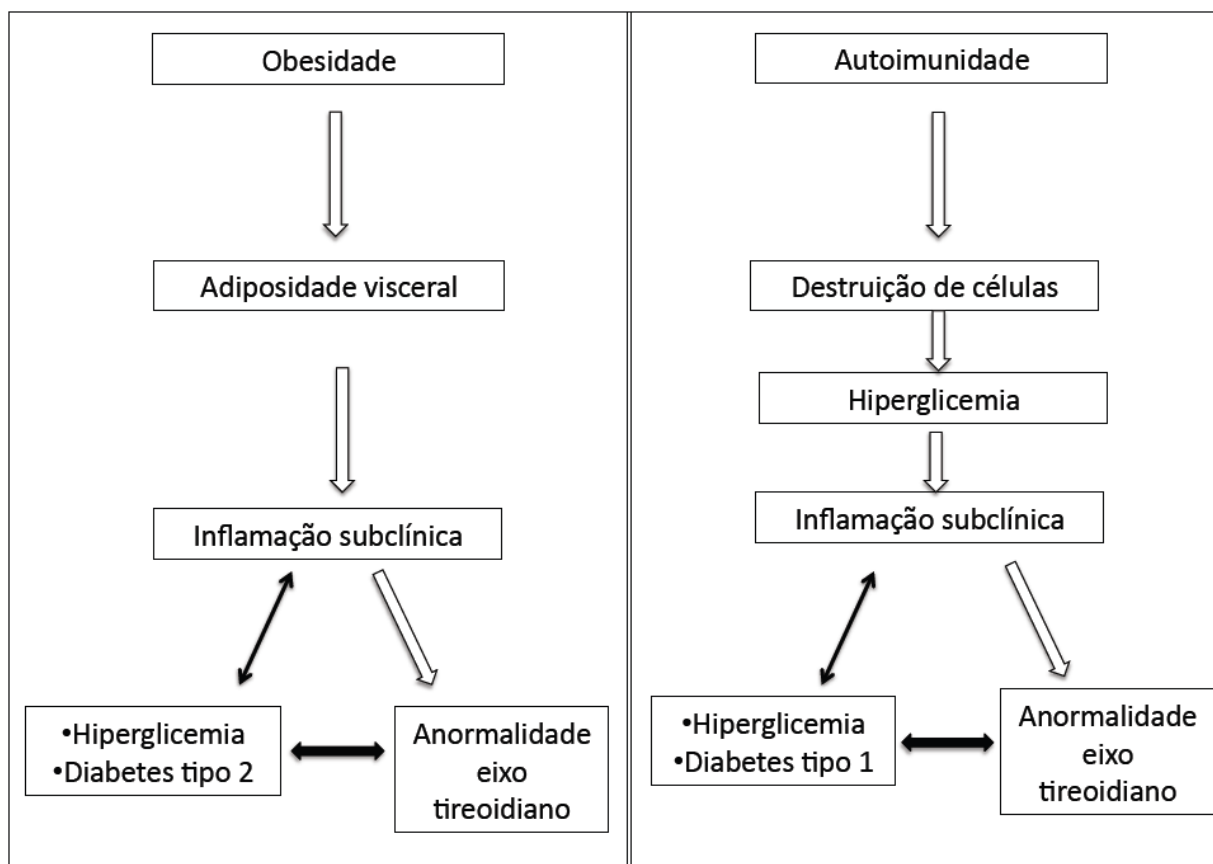


Figura 1. Esquema ilustrando a possível ligação entre diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2, atividade inflamatória e alterações hormonais tireoidianas.

Justificativa

A incidência de SED em portadores de DM, bem como seu perfil de hormônios tireoidianos e sua correlação com as complicações do DM e estado inflamatório são pouco conhecidos. Embora haja muitos dados em pacientes portadores de doenças agudas, há carência de informações em pacientes com doenças crônicas e sob cuidado ambulatorial. A ocorrência de um padrão hormonal característico de SED, bem como a queda no valor sérico de T_3T e T_3L poderia, assim, detectar pacientes que de outro modo não seriam identificados como de risco para pior evolução e que desse modo necessitariam de cuidados intensivos para obtenção de melhor controle da doença de base. A verificação de SED em portadores de DM em seguimento

ambulatorial poderia ainda auxiliar na identificação de explicações para alterações dos perfis de hormônios tireoidianos nesse grupo de pacientes.

Com o constante aumento na incidência de Diabetes Mellitus no Brasil e no mundo, assim como do montante de recursos investidos no tratamento de complicações desta doença, a seleção de quais pacientes se apresentam sob maior risco de complicações crônicas é essencial para um manejo não só adequado, mas financeiramente responsável. A dosagem do perfil hormonal tireoidiano em pacientes selecionados pode se revelar um potencial marcador laboratorial para estes casos, fato ressaltado pela fácil disponibilidade e baixo custo de tais exames.

A presença da SED em pacientes diabéticos, embora já constatada e associada aos níveis de hemoglobina glicada, ainda não foi avaliada de forma aprofundada e relacionada ao número de complicações presentes, controle metabólico do DM e marcadores inflamatórios, sobretudo em pacientes sob cuidado ambulatorial, justificando a realização do presente projeto de pesquisa.

OBJETIVOS

1. Geral

- Comparar as características clínicas, perfil hormonal tireoidiano e de inflamação sistêmica entre pacientes portadores de DM1 e de DM2 e indivíduos hígidos sem DM.

2. Específicos

- Avaliar a presença de alterações hormonais tireoidianas nos pacientes com DM baseando-se na medida de concentrações séricas de TSH, T4 livre, T3r T4, T3 e T3L.

- Avaliar a associação entre os valores dos hormônios tireoidianos supracitados e características clínicas e níveis séricos de marcadores inflamatórios (PCR, IL-6 e SAA) nos pacientes com DM e grupo de controle

- Avaliar a associação entre os valores dos hormônios tireoidianos supracitados e o controle glicêmico (HbA1c) nos pacientes com DM.

METODOLOGIA

1 – Desenho do estudo

Este foi um estudo transversal incluindo 258 pessoas, sendo 70 pacientes com DM2 e 55 com DM1 acompanhados em ambulatorios especializados do Serviço de Endocrinologia do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, 70 indivíduos sem DM selecionados entre os acompanhantes dos pacientes e funcionários do hospital, como grupo de controle, pareados por sexo, idade e IMC em relação ao grupo de pacientes com DM2 (grupo DM2c) e 63 indivíduos sem DM pareados para o grupo de pacientes com DM1 (grupo DM1c).

Convidou-se para participar do estudo os pacientes e indivíduos sem DM que se encaixavam nos critérios de inclusão e exclusão, realizando-se medidas antropométricas de peso, altura e medidas de cintura e quadril. Os demais dados sobre idade, tempo de diagnóstico de diabetes, tipo de terapia em uso, tabagismo, hipertensão arterial, histórico de eventos cardiovasculares e complicações crônicas microvasculares do DM foram retirados dos prontuários dos pacientes, no mesmo dia da avaliação.

Realizou-se coleta de sangue de todos os indivíduos participantes visando à dosagem dos parâmetros laboratoriais hormonais (TSH, T4 total e livre, T3 total e livre e T3 reverso), controle metabólico do DM (glicemia de jejum e HbA1c) e de marcadores inflamatórios (PCR, IL-6 e SAA) objetivando a verificação de diferenças relevantes entre tais parâmetros nos grupos de pacientes e indivíduos sem DM.

2 - Pacientes

Todos os pacientes, bem como os indivíduos sem DM, leram e assinaram um termo de consentimento livre esclarecido, devidamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas, número 1044/2009.

O projeto recebeu financiamentos da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), programa de auxílio regular à pesquisa, número 2010/08854-0 e bolsa, 2013/03295-1.

2.1- Critérios de inclusão

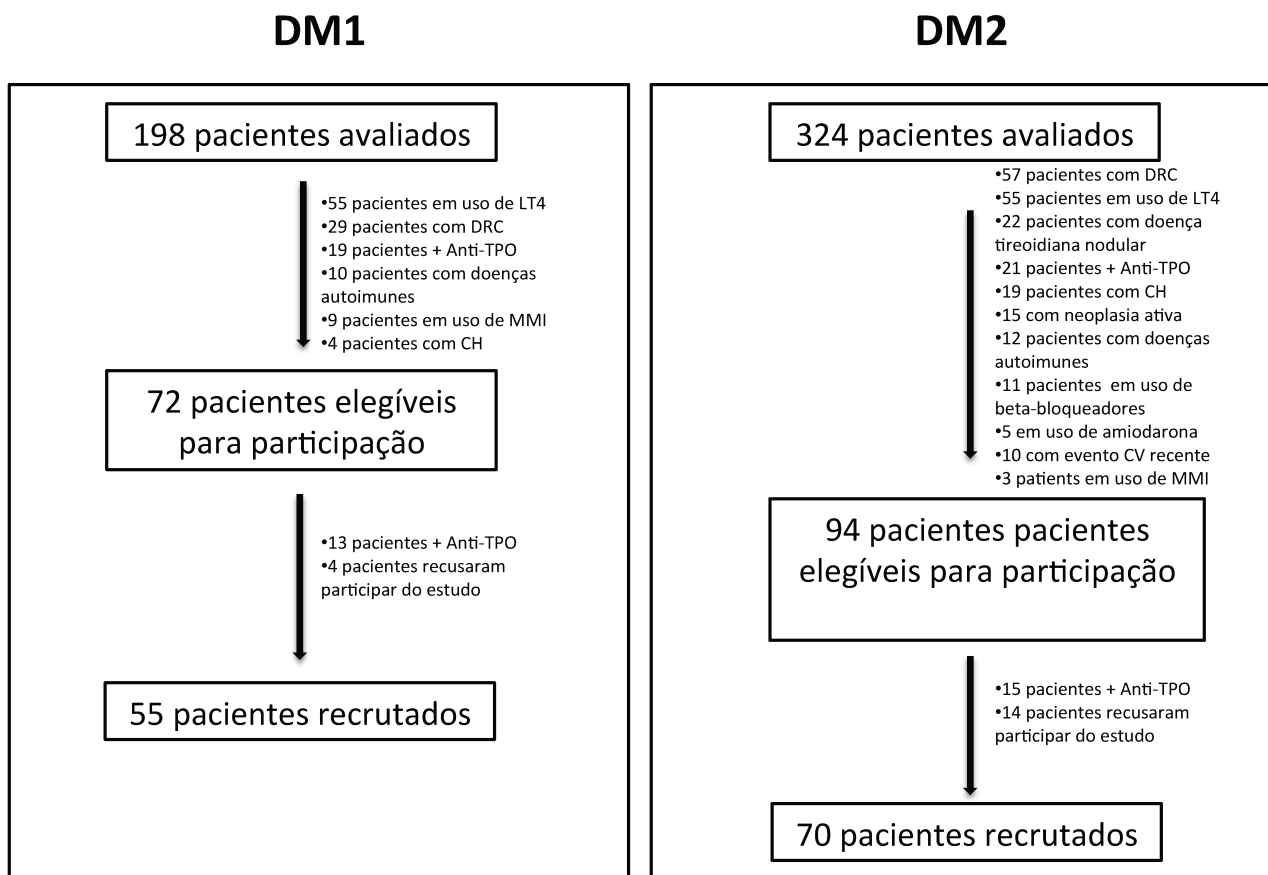
Incluiu-se pacientes com diabetes tipo 1 e 2 e indivíduos sem DM entre 40 e 75 anos de idade que concordaram em participar do estudo, após leitura e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

2.2- Critérios de exclusão

- Pacientes agudamente enfermos.
- Disfunção tireoidiana primária conhecida
- Presença de nódulos tireoidianos
- Presença de anticorpos anti-tireoidianos séricos (anti-tireoperoxidase e anti-tireoglobulina).
- Evento cardiovascular ou manifestação clínica que evidenciasse doença aterosclerótica, a saber: infarto agudo do miocárdio, angina instável, acidente vascular cerebral ou obstrução arterial crônica em membros inferiores há menos de 6 meses.
- Uso de amiodarona ou glicocorticóide
- Uso de propranolol iniciado em período inferior a 6 meses.
- Uso de contraste iodado há menos de 6 meses antes do início do estudo.
- Insuficiência cardíaca (classe III ou IV da New York Heart Association), doença hepática grave (albumina reduzida ou aumento de RNI), doença renal avançada (depuração de creatinina < 60ml/min/m²), pacientes em hemodiálise.
- Pacientes com neoplasia ativa ou em acompanhamento com remissão há menos de 5 anos.
- Pacientes com doença inflamatória ou autoimune.
- Pacientes portadores de infecções crônicas tais como tuberculose ativa ou com cura há menos de 1 ano, portadores de HIV ou hepatites B e C (mesmo após tratamento e evolução para cura).

A seleção dos pacientes nos grupos de pacientes com DM1 e DM2 se deu de forma contínua, conforme o esquema da Figura 2.

Figura 2: Esquema ilustrando a seleção e exclusão de pacientes com diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2 para o presente estudo.



3 – Grupos de controle

Constituídos por indivíduos sem DM, conforme próprio relato, selecionados entre acompanhantes dos pacientes e funcionários do Hospital das Clínicas da Universidade Estadual de Campinas, pertencentes a estrato sócio-econômico-cultural semelhante ao dos pacientes com diabetes, obedecendo-se aos mesmos critérios de inclusão e exclusão definidos para os pacientes com DM.

4 – Critérios laboratoriais de controle metabólico-glicêmico

Para avaliação do controle glicêmico nos pacientes com DM utilizou-se a porcentagem de hemoglobina glicada, dosada por meio do método de cromatografia líquida de alta *performance* (HPLC), sendo que valores menores que 7% correspondiam a controle glicêmico ideal (valor de referência do método: 4%-5,7%). A glicemia de jejum foi dosada por meio do método da hexoquinase, com valor de referência entre 70 – 100mg/dL, sendo considerado ideal para os pacientes com DM níveis inferiores a 110mg/dL, como recomendado pela Sociedade Brasileira de Diabetes.

5 - Parâmetros clínicos

A determinação de complicações microvasculares do diabetes respeitou os seguintes critérios:

-retinopatia: baseou-se em exame de fundo de olho realizado rotineiramente a cada ano pelo Serviço de Oftalmologia do HC-UNICAMP, conforme anotado em prontuário médico.

-neuropatia periférica: considerada presente nos pacientes que apresentavam 2 ou mais pontos de insensibilidade ao monofilamento de 10g (Semmes-Weinstein).

-nefropatia: considerada presente quando havia histórico de tratamento para esta condição ou duas ou mais amostras de urina demonstrando concentrações de albuminúria/g creatina superior a 30mg/g.

Foram coletados os seguintes dados por meio de entrevista e recuperação em prontuário médico:

- Sexo
- Idade
- Tempo de diagnóstico do diabetes

- Tipo de terapia em uso (somente drogas orais, somente insulina ou terapia combinada)
- Presença/ausência de antecedente de tabagismo
- Presença/ausência de antecedente de hipertensão arterial
- Presença/ausência de antecedente de eventos cardiovasculares prévios
- Presença/ausência de antecedente de complicações microvasculares do DM (retinopatia, nefropatia, neuropatia)

6 - Variáveis antropométricas

- Índice de Massa Corporal (IMC):

Realizaram-se medidas de peso e altura com o paciente em posição ortostática, em balanças calibradas (Filizola ®) e o cálculo de IMC pela divisão do peso em kg pelo quadrado da altura em metros. O IMC foi classificado como:

- Abaixo de $18,5 \text{ kg/m}^2$: baixo peso
- Entre $18,5$ e 25 kg/m^2 : normal
- Entre 25 e 30 kg/m^2 : sobrepeso
- Entre 30 - 35 kg/m^2 : obesidade leve ou grau 1
- Entre 35 - 40 kg/m^2 : obesidade moderada ou grau 2
- Maior do que 40 kg/m^2 : obesidade grave ou grau 3

- Índice cintura/quadril (ICQ):

Realizou-se medida de cintura com fita métrica, de forma perpendicular ao solo e ao nível da cicatriz umbilical e medida de quadril da mesma forma, na altura dos trocânteres femorais maiores. Calculou-se o índice cintura/quadril através da divisão simples entre os valores destas medidas, em centímetros.

O ICQ foi considerado normal quando menor ou igual a 0,95 para homens e 0,8 para mulheres.

7 – Coleta de amostra sanguínea

Realizou-se coleta única de 20ml de sangue periférico para dosagens laboratoriais no mesmo dia da avaliação clínica. O sangue foi coletado pela punção

de veia antecubital, sendo em seguida imediatamente centrifugado e estocado a -80°C para análise posterior.

8 – Parâmetros bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos avaliados e seus respectivos métodos de dosagem e valores de referência foram:

- Anticorpo anti-tireoperoxidase - imunoensaio de eletroquimioluminescência - Roche Hitachi-Elecsys Cobas - valor de referência < 35mUI/L
- Anticorpo anti-tireoglobulina - imunoensaio de eletroquimioluminescência - Roche Hitachi-Elecsys Cobas - valor de referência <115mUI/L

9 – Dosagens hormonais

Realizou-se avaliação do perfil hormonal tireoidiano por meio dos seguintes métodos:

- TSH – Roche Hitachi-Elecsys Cobas E.411; imunoensaio de eletroquimioluminescência - valor de referência 0,41 - 4,5mUI/L; sensibilidade 0,014mUI/L; precisão intra-ensaio: coeficiente de variação de 5%; precisão inter-ensaio: coeficiente de variação de 20%.
- T4 Livre – Roche Hitachi-Elecsys Cobas E.411; imunoensaio de eletroquimioluminescência - valor de referência 0,9 – 1,8m/dL; precisão intra-ensaio: coeficiente de variação de 5%; precisão inter-ensaio: coeficiente de variação de 20%.
- T4 Total – Siemens Medical Solutions Diagnostics (Los Angeles, CA); radioimunoensaio – valor de referência 4,5 – 12,5mg/dL; sensibilidade 0,25mg/dL; precisão intra-ensaio: coeficiente de variação 2,7% em concentração média de 7,4mg/dL; precisão inter-ensaio: coeficiente de variação de 8,1% em concentração média de 7,2mg/dL.
- T3 Total – Siemens Medical Solutions Diagnostics (Los Angeles, CA); radioimunoensaio – valor de referência 86 - 187ng/dL; sensibilidade: 7ng/dL; precisão intra-ensaio: coeficiente de variação 6,5% em concentração média de 79ng/dL; precisão inter-ensaio: coeficiente de variação de 9,5% em concentração média de 95ng/dL.
- T3 Livre – Siemens Medical Solutions Diagnostics (Los Angeles, CA); radioimunoensaio – valor de referência 1,4 – 4,4pg/mL; sensibilidade: 0,2pg/mL;

precisão intra-ensaio: coeficiente de variação 6,1% em concentração média de 1,3pg/mL; precisão inter-ensaio: coeficiente de variação de 8,8% em concentração média de 2,4pg/mL.

- T3 reverso – RIAZEN, ZenTech S.A. (Liège, Bélgica); radioimunoensaio - valor de referência 0,090 – 0,350 ng/mL; sensibilidade 0,009ng/mL; precisão intra-ensaio: coeficiente de variação 8,54% em concentração média de 0,24ng/mL; precisão inter-ensaio: coeficiente de variação de 8,66% em concentração média de 0,152ng/mL.

- T3 Livre/ T3 reverso – medida indireta do metabolismo periférico de T3 por desidases.

- T4 Livre / T3 reverso – medida indireta da inativação de T4 Livre a T3 reverso pelas desidases.

- T4 Livre / T3 Livre – medida indireta da ativação do pró-hormônio T4 a hormônio biologicamente ativo T3, na periferia, pelas desidases.

10 – Dosagem de marcadores inflamatórios

- PCR ultrasensível – ELISA – Cusabio Biotech Co, Ltd (Wuhan, Hubei, China) – sensibilidade (limite mínimo de detecção): menor concentração de proteína que pode ser diferenciada de zero; ausência de reatividade cruzada conhecida. Não há valores de referência padronizados para este marcador. Resultados em mg/dL.

- IL-6 – ELISA – R&D Systems Inc (Minneapolis, EUA) – sensibilidade: 0,016-0,11pg/mL

- SAA – ELISA – Usen Life Science Inc, (Wuhan, China) – sensibilidade (limite mínimo de detecção): menor concentração de proteína que pode ser diferenciada de zero.

11 – Análise Estatística

Calculo amostral mínimo para os 4 grupos foi realizado em grupos preliminares de 10 indivíduos cada. Objetivou-se ter uma probabilidade de 80% para detecção de uma diferença de 10ng/mL para o T3 total e 0,2pg/mL para o T3L. Os desvios-padrão encontrados para o T3 total nos grupos DM2, DM1, controle DM2 e controle DM1 foram de 5,1; 5,2; 6,2 e 4,6ng/dL; e para o T3L de 0,93; 0,88; 0,85 e 0,82pg/mL. Assim, seriam necessários pelo menos 63 pacientes no grupo DM2 e 46

pacientes no grupo DM1. O número de indivíduos nos grupos de controle foi definido para que fosse pelo menos igual ao do respectivo grupo de pacientes com DM.

Análise de normalidade dos dados numéricos coletados foi feita através do método de Kolgomorov-Smirnov.

Realizou-se análise descritiva dos dados por meio de medidas de posição e dispersão para as variáveis contínuas e tabelas de frequência para variáveis categóricas. Utilizou-se mediana e intervalo interquartil (IQ) para as variáveis contínuas e contagem absoluta e porcentagem para as categóricas.

Avaliou-se associação entre duas variáveis contínuas com o teste de correlação de Spearman e entre variáveis categóricas pelo teste de Qui-quadrado ou teste exato de Fisher, quando uma ou mais das frequências estudadas era igual ou menor a 5. Analisaram-se diferenças entre os grupos com o teste de ANOVA-Kruskal-Wallis com correção post-hoc de Bonferroni para múltiplas comparações (considerado p significativo se $<0,008$).

Análise de influência dos fatores pró-inflamatórios nas concentrações de hormônios tireoidianos e suas relações foi realizada por regressão linear multivariada, com os valores sem distribuição normal transformados para logaritmo. Todas as análises foram ajustadas por sexo, idade, IMC, C/Q e HbA1c.

Para todos os testes adotou-se um valor de significância estatística de 0,05. Foi utilizado para todas as análises estatísticas o programa SPSS (Statistical Package for Social Sciences, IBM, EUA) versão 20.0 para MacOS.

RESULTADOS

1 Pacientes com DM1 e seu grupo de controle

Os pacientes com DM1 apresentavam mediana de idade e de tempo de diabetes de 21 (24-42) anos e 15 (9-21) anos, respectivamente. Quase dois terços, 63,6% (35/55) eram do sexo feminino, contra 20/55 (36,4%) do sexo masculino. A mediana de peso foi de 67,2 (61,5-75) kg, a de IMC 24,8 (22,7-27,9) kg/m² e a de C/Q 0,83 (0,79-0,89). Em relação ao controle glicêmico, a mediana de HbA1c foi 9,2% (7,9-10,5%), sendo que 100% dos pacientes estavam sob uso de insulina. A prevalência de hipertensão neste grupo foi de 5/55 (14,2%) e a de tabagismo de 2/55 (5,7%). Quanto às complicações crônicas do diabetes, 18/55 (32,7%) apresentavam nefropatia, 20/55 (36,4%) retinopatia e 11/55 (20%) neuropatia. Apenas 2/55 (5,7%) tinham antecedente de doença macrovascular.

As características clínicas e epidemiológicas dos pacientes com DM estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Características clínicas e epidemiológicas dos pacientes com diabetes tipo 1 e tipo 2. Os dados estão fornecidos na forma de mediana (intervalo interquartil) e frequência (porcentagem).

	DM1 (n=55)	DM2 (n=70)
Idade (anos)	31 (24-42)	60 (53-63.2)
Sexo (Feminino)	35 (63.6%)	44 (62.9%)
Tempo de diabetes (anos)	15 (9-21)	12 (5.7-18)
Peso (kg)	67.2 (61.5-75)	76.5 (67-92)
IMC (kg/m ²)	24.8 (22.7-27.9)	30 (25.8-34.5)
Cintura (cm)	82 (75-91)	102 (89-112)
Cintura/Quadril	0.83 (0.79-0.89)	0.99 (0.93-1.06)
HbA1c (%)	9.2 (7.9-10.5)	8.3 (7.3-10)
Apenas drogas orais	0	21 (30%)
Apenas insulina	55 (100%)	10 (14.3%)
Combinação	0	39 (55.7%)
Tabagismo (sim)	2 (5.7%)	7 (10%)
Hipertensão	5 (14.2%)	53 (75.7%)
Nefropatia	18 (32.7%)	37 (52.9%)
Retinopatia	20 (36.4%)	42 (60%)
Neuropatia	11 (20%)	32 (45.7%)
Doença macrovascular	2 (5.7%)	18 (25.7%)

O grupo DM1, quando comparado ao grupo DM1c, apresentou ICQ semelhante (0,83 vs 0,86; $p=0,97$). As concentrações de TSH (1,46 vs 2,01 UI/L; $p=0,001$), T4 total (5,53 vs 7,27mg/dL; $p<0,001$), T3 total (74,11 vs 91,91ng/dL; $p<0,001$) e T3L (2,13 vs 2,54pg/mL; $p<0,001$) foram menores no grupo DM1. Não houve diferença para as concentrações de T4L (1,13 vs 1,10ng/dL; $p=0,58$) e T3r (0,257 vs 0,282; $p=0,17$). A relação T3L/T3r (8,53 vs 11,46; $p<0,001$) foi menor no grupo de pacientes com DM1, enquanto a T4L/T3L (0,59 vs 0,47; $p<0,001$) foi maior. Não houve diferença com relação a T4L/T3r (4,71 vs 5,52; $p=0,11$). Em relação aos marcadores inflamatórios, a PCR mostrou-se mais elevada no grupo de pacientes com DM1 (0,87 vs 0,36mg/mL; $p=0,001$), não havendo diferença para as

concentrações de IL-6 (0,89 vs 0,79pg/mL; $p=0,17$) e SAA (9,92 vs 10,38ng/mL; $p=0,86$).

Na Tabela 2 é mostrado um resumo das comparações entre os grupos de pacientes com DM e seus grupos de controle.

Tabela 2. Comparação dos pacientes com diabetes tipo 1 e tipo 2 e seus respectivos grupos de controle. Valores são mostrados em mediana (intervalo interquartil) e frequência (porcentagem). Após aplicação de teste post-hoc de Bonferroni, os valores de P considerados significativos foram aqueles $< 0,008$ (em negrito).

	DM1 (n=55)	DM1c (n=63)	P	DM2 (n=70)	DM2c (n=70)	P
Idade (anos)	31 (24-42)	36 (29-45)	0.1	60 (53-63.2)	54.5 (50-61)	0.11
Sexo (F)	35 (63.6%)	46 (73%)	0.27	44 (62.9%)	44 (62.9%)	1.0
Peso (kg)	67.2 (61.5-75)	67.5 (59-77)	0.92	76.5 (67-92)	73.5 (66.7-86.2)	0.29
IMC (kg/m ²)	24.8 (22.7-27.9)	25.53 (22.8-28.35)	0.69	30 (25.8-34.5)	29.2 (25.6-33.3)	0.3
Cintura (cm)	82 (75-91)	85 (75-94)	0.29	102 (89-112)	95 (86-106)	0.01
C/Q	0.83 (0.79-0.89)	0.86 (0.79-0.9)	0.97	0.99 (0.93-1.06)	0.89 (0.84-0.95)	<0.001
TSH (IU/L)	1.46 (0.96-2.3)	2.06 (1.57-2.64)	0.001	2.25 (1.53-3.44)	1.98 (1.35-3.32)	0.62
T4T (mg/dl)	5.53 (4.04-6.79)	7.27 (6.29-8.32)	<0.001	6.45 (5.37-7.53)	7.15 (6.24-7.98)	0.01
T4L (ng/dl)	1.13 (1.03-1.3)	1.10 (1.0-1.28)	0.582	1.26 (1.13-1.44)	1.08 (0.98-1.29)	<0.001
T3T (ng/dl)	74.11 (62.8-88.6)	91.91 (83.4-101.9)	<0.001	77.28 (68.55-91.75)	89.97 (83.3-104.5)	<0.001
T3L (pg/ml)	2.13 (1.57-2.3)	2.54 (2.04-2.92)	<0.001	1.94 (1.59-2.34)	2.41 (1.93-2.76)	<0.001
T3r (ng/ml)	0.257 (0.17-0.304)	0.282 (0.148-0.31)	0.17	0.23 (0.155-0.291)	0.212 (0.14-0.315)	0.53
T3L/T3r	8.53 (6.7-11.72)	11.46 (8.7-16.26)	<0.001	8.53 (6.91-12.19)	10.75 (8.32-15.52)	0.001
T4L/T3L	0.59 (0.5-0.71)	0.47 (0.38-0.55)	<0.001	0.62 (0.51-0.86)	0.48 (0.39-0.59)	<0.001
T4L/T3r	4.71 (3.89-6.73)	5.52 (4.06-7.47)	0.11	6.05 (4.32-8.07)	5.81 (3.95-7.15)	0.51
PCR (mg/ml)	0.87 (0.34-2.3)	0.36 (0.14-0.85)	0.001	0.7 (0.32-2.11)	0.67 (0.38-1.22)	0.67
IL-6 (pg/ml)	0.89 (0.59-1.49)	0.79 (0.33-1.37)	0.17	1.39 (0.77-2.24)	0.88 (0.4-1.65)	0.007
SAA (ng/ml)	9.92 (1.45-21.94)	10.38 (2.05-22.8)	0.86	14.68 (5.92-26.04)	10.72 (3.67-19.11)	0.04

No grupo de pacientes com DM1 encontrou-se correlação significativa entre ICQ e PCR ($r=0,36$; $p=0,007$). A relação entre HbA1c e T3L/T3r ($r=0,24$; $p=0,07$) e T4L/T3L ($r=0,24$; $p=0,08$) foram próximas mas não atingiram significância estatística. Houve associação positiva entre IL-6 e rT3 ($r=0,29$; $p=0,03$) e inversa entre a mesma e T3L/T3r ($r= -0,4$; $p=0,003$) e T4L/T3r ($r= -0,34$; $p=0,01$) – Figura 3.

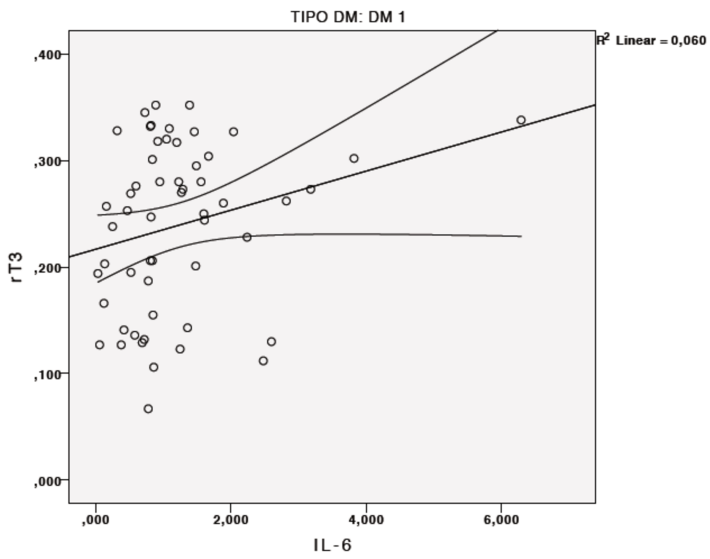
No grupo DM1c houve associação direta entre IMC e SAA ($r=0,29$; $p=0,02$) e PCR ($r=0,31$; $p=0,01$). Houve correlação inversa entre idade e T4 total ($r= -0,5$; $p<0,001$) e T3 total ($r= -0,3$; $p=0,01$) e entre ICQ e T4 total ($r=0,28$; $p=0,02$). O TSH associou-se ao peso ($r=0,27$; $p=0,03$). Não se verificou correlação entre nenhuma das variáveis hormonais com dados inflamatórios no grupo DM1c.

A Tabela 3 mostra um resumo das correlações entre variáveis inflamatórias e hormonais em nos pacientes com DM1 e DM2.

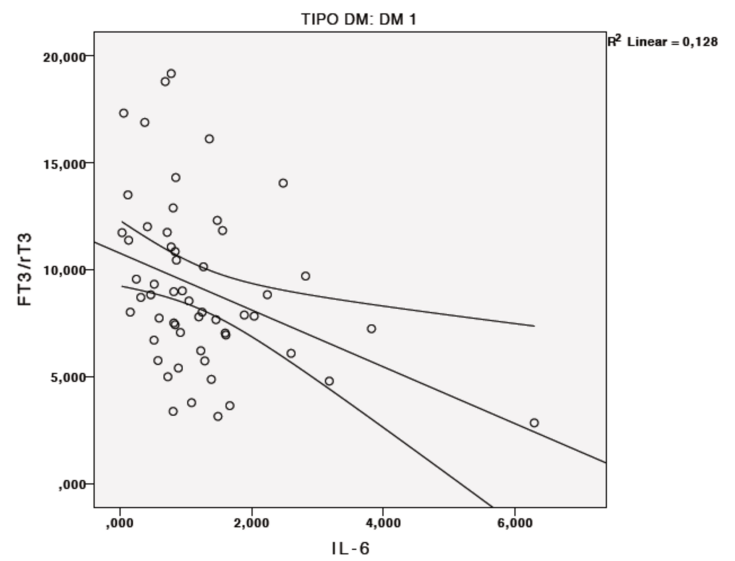
Tabela 3. Coeficientes de correlação entre as variáveis hormonais e inflamatórias nos pacientes com DM1 e DM2. * $P<0.05$. ** $P<0.01$

		T4T	T4L	T3T	T3L	T3r	TSH	T3L/T3r	T4L/T3L	T4L/T3r
DM1	IL-6	0.12	-0.07	-0.17	-0.16	0.29*	0.03	-0.4**	0.14	-0.34*
	SAA	0.02	-0.07	-0.02	-0.15	0.12	-0.04	-0.19	0.08	-0.13
	CRP	0.18	-0.06	-0.09	-0.22	0.05	0.12	-0.15	0.14	0.01
DM2	IL-6	-0.3*	0.06	-0.21	-0.11	0.25*	0.03	-0.36**	0.14	-0.24*
	SAA	0.01	0.11	0.05	0.25*	0.45**	-0.13	-0.1	-0.18	-0.43**
	CRP	-0.27*	0.02	-0.23	-0.12	0.12	0.01	-0.21	0.14	-0.14

A.



B.



C.

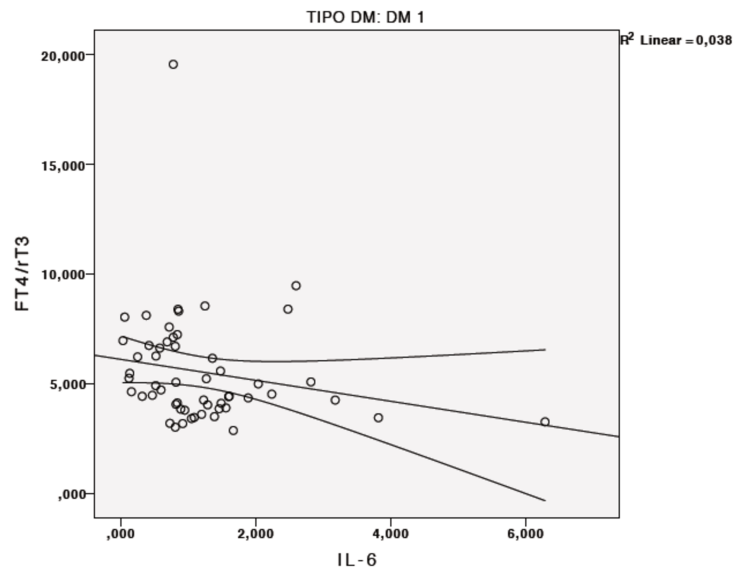


Figura 3. Correlações entre IL6 e T3r (A), T3L/T3r (B) e T4L/T3L (C) em pacientes com diabetes mellitus tipo 1.

No grupo DM1, a IL-6 foi um fator preditor independente da relação T3L/T3r (B= -0,193; 95%CI = -0,31 - -0,076; p=0,002) e T4L/T3r (B= -0,107; 95%CI= -0,207 - -0,006; p=0,039). HbA1c foi preditor independente da relação T4L/T3L (B= 0,018; 95%CI=0,004 - 0.033; p=0,014) – Tabela 4.

Nenhum resultado significativo foi encontrado no grupo DM1c.

Tabela 4. Regressão multivariada mostrando os fatores independentes preditores de variáveis hormonais em pacientes com DM1. Demonstra-se o coeficiente B da relação, seu intervalo de confiança 95% e o valor p para cada resultado.

Preditor	Var. hormonal	B	IC 95%	p
IL-6	T3L/T3r	-0.193	-0.31; -0.076	0.002
IL-6	T4L/T3r	-0.107	-0.207; -0.006	0.039
HbA1c	T4L/T3L	0.018	0.004; 0.033	0.014

2. Pacientes com DM2 e seu grupo de controle

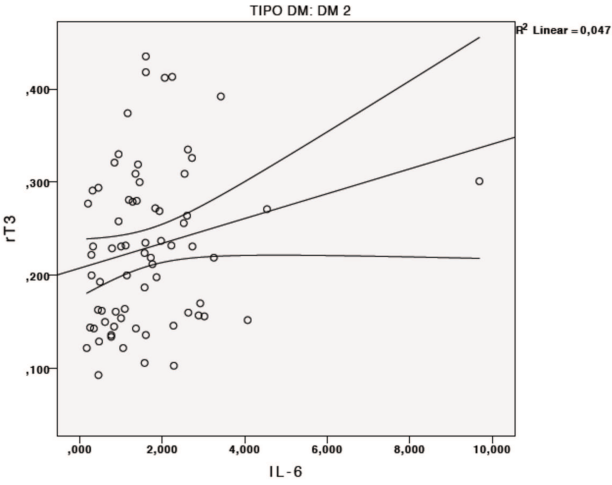
O grupo de pacientes com DM2 apresentou mediana de idade e tempo de doença de 60 (53-63,2) anos e 12 (5,7-18) anos, respectivamente. Assim como no grupo DM1, a maioria era composta por mulheres, sendo 44/70 (62,9%) do sexo feminino. A mediana de peso foi 76,5 (67-92) kg, a de IMC 30 (25,8-34,5) kg/m² e a de C/Q 0,99 (0,93-1,06). O controle glicêmico neste grupo apresentou mediana de HbA1c de 8,3% (7,3-10%), sendo que 21/70 (30%) estavam em uso de drogas orais apenas, 10/70 (14,3%) em uso apenas de insulina e 39/70 (55,7%) em combinação de insulina e pelo menos um agente oral. Um em cada 10 pacientes (10%) era tabagista e 53/70 (75,7%) hipertensos. Quanto às complicações crônicas, 37/70 (

52,9%) apresentavam nefropatia, 42/70 (60%) retinopatia e 32/70 (45,7%) neuropatia, enquanto que pouco mais que um quarto dos pacientes ou 18/70 (25,7%) tinham história de doença macrovascular (Tabela 1).

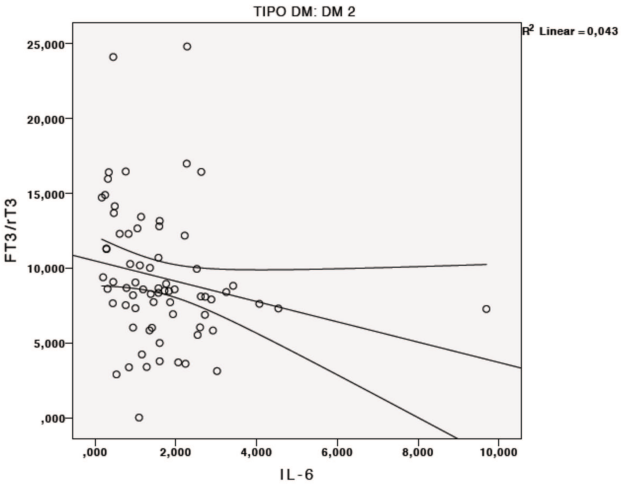
A comparação do grupo de pacientes com DM2 com o grupo DM2c revelou que os primeiros apresentavam ICQ maior (0,99 vs 0,89; $p < 0,001$), apesar de valores comparáveis de IMC (30 vs 29,2; $p = 0,3$). As concentrações séricas de T3 total (77,28 vs 89,97ng/dL; $p < 0,001$) e T3L (1,94 vs 2,41pg/mL; $p < 0,001$) foram menores nos pacientes com DM2, enquanto as de T4L foram superiores (1,26 vs 1,08; $p < 0,001$). O T4 total (6,45 vs 7,15mg/mL; $p = 0,01$), o TSH (2,25 vs 1,98UI/L; $p = 0,62$) e o T3r (0,230 vs 0,212ng/mL; $p = 0,53$) foram similares entre os dois grupos. A relação T3L/T3r (8,53 vs 10,75; $p = 0,001$) foi menor no grupo de pacientes com DM2, enquanto que a T4L/T3L (0,62 vs 0,48; $p < 0,001$) foi maior. Não houve diferença significativa para a relação T4L/T3r (6,05 vs 5,81; $p = 0,51$). Com relação aos marcadores inflamatórios, a IL-6 mostrou-se mais elevada no grupo de pacientes com DM2 (1,39 vs 0,88pg/mL; $p = 0,007$), não havendo diferenças para PCR (0,7 vs 0,67mg/mL; $p = 0,67$) e SAA (14,68 vs 10,72ng/mL; $p = 0,04$).

Encontrou-se associações inversas no grupo de pacientes com DM2 entre TSH e ICQ ($r = -0,35$; $p = 0,003$) e entre IMC e T3 total ($r = -0,28$; $p = 0,02$). O ICQ associou-se positivamente com a IL-6 ($r = 0,23$; $p = 0,04$) e SAA ($r = 0,24$; $p = 0,04$). De maneira similar, o IMC associou-se a IL-6 ($r = 0,23$; $p = 0,048$) e PCR ($r = 0,27$; $p = 0,02$). Houve correlação negativa entre IL-6 e T4 total ($r = -0,3$; $p = 0,01$), T3L/T3r ($r = -0,36$; $p = 0,003$) e T4L/T3r ($r = -0,24$; $p = 0,04$) e positiva entre IL-6 e T3r ($r = 0,25$; $p = 0,04$). A SAA associou-se positivamente com T3L ($r = 0,35$; $p = 0,003$) e T3r ($r = 0,45$; $p < 0,001$) e inversamente com T4L/T3r ($r = -0,43$; $p < 0,001$) – Figura 4. Encontrou-se ainda associação inversa da PCR com o T4 total ($r = -0,27$; $p = 0,02$) – Tabela 3. No grupo DM2c, houve associação entre ICQ e PCR ($r = 0,26$; $p = 0,03$) e entre IMC e SAA ($r = 0,35$; $p = 0,003$) e PCR ($r = 0,47$; $p < 0,001$). A idade correlacionou-se diretamente a T4L/T3L ($r = 0,27$; $p = 0,02$). Neste grupo, não houve associações entre as variáveis hormonais e inflamatórias.

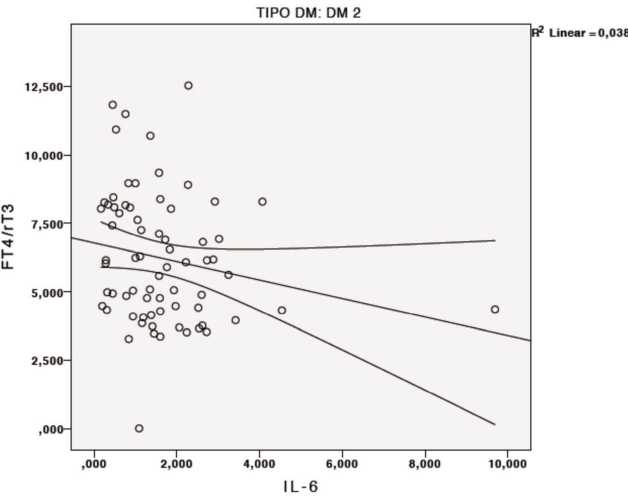
A.



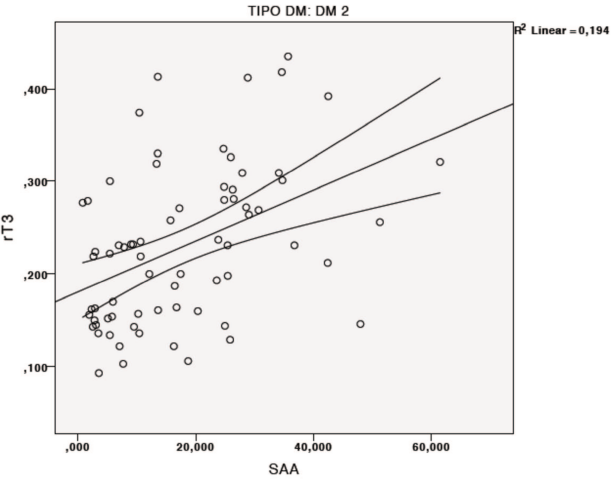
B.



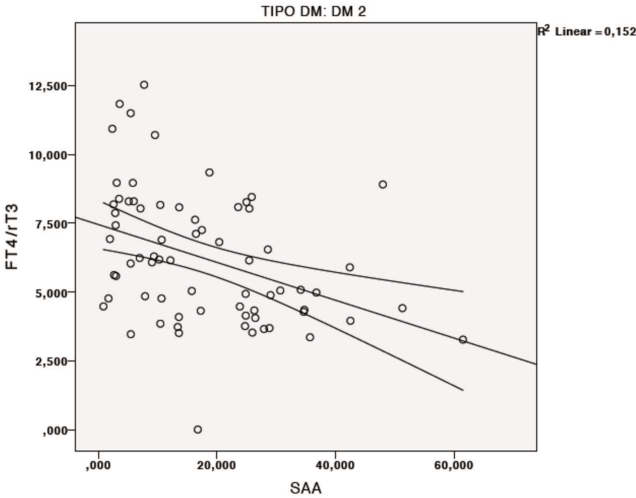
C.



D.



E.



F.

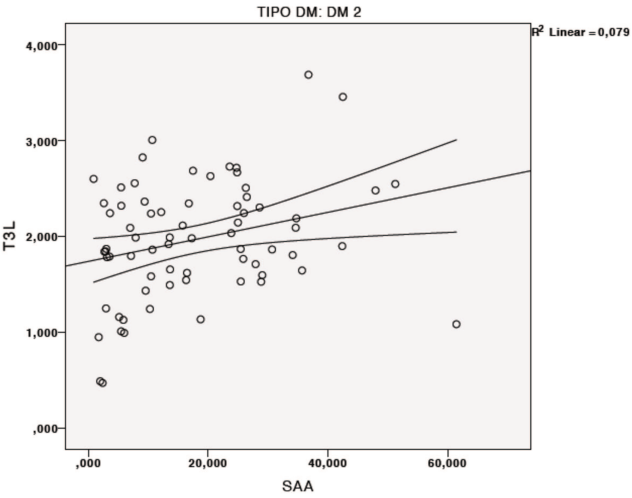


Figura 4. Correlações entre IL-6 e T3r (A), T3L/T3r (B) e T4L/T3r (C). Correlações entre SAA e T3r (D), T4L/T3r (E) e T3L (F).

No grupo DM2, SAA (B= 0,18; 95%CI= 0,089 - 0,271; $p<0,001$) e PCR (B= -0,069; 95%CI= -0,132 - -0,007; $p=0,03$) foram fatores preditores para T3L. SAA (B= -0,16; 95%CI= -0,26 - -0,061; $p=0,002$) e IL-6 (B= 0,123; 95%CI= 0,005 - 0,241; $p=0,041$) foram preditores independentes para T4L/T3L. IMC foi fator preditor para concentrações séricas de T3T (B= -0,006; 95%CI= -0,01 - -0,002; $p=0,003$) – Tabela 5.

Nenhum resultado significativo foi encontrado no grupo DM2c.

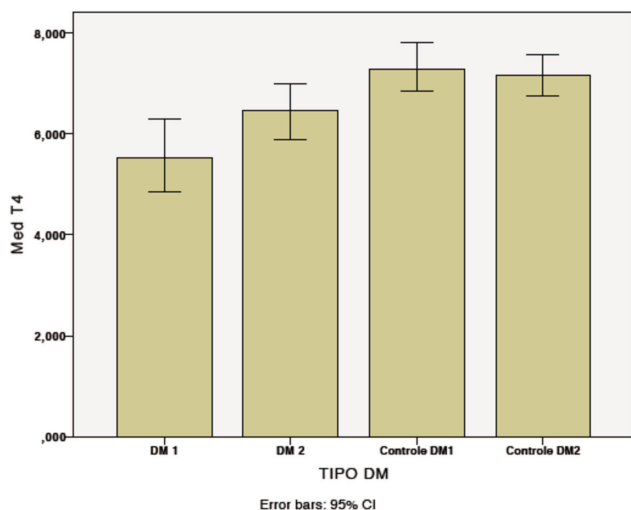
Tabela 5. Regressão multivariada mostrando os fatores independentes preditores de variáveis hormonais em pacientes com DM2. Demonstra-se o coeficiente B da relação, seu intervalo de confiança 95% e o valor p para cada resultado.

Preditor	Var. hormonal	B	IC 95%	p
SAA	T3L	0.18	0.089; 0.271	<0.001
SAA	T4L/T3L	-0.16	-0.26; -0.061	0.002
PCR	T3L	-0.069	-0.132; -0.007	0.03
IL-6	T4L/T3L	0.123	0.005; 0.241	0.041
IMC	T3T	-0.006	-0.01; -0.002	0.003

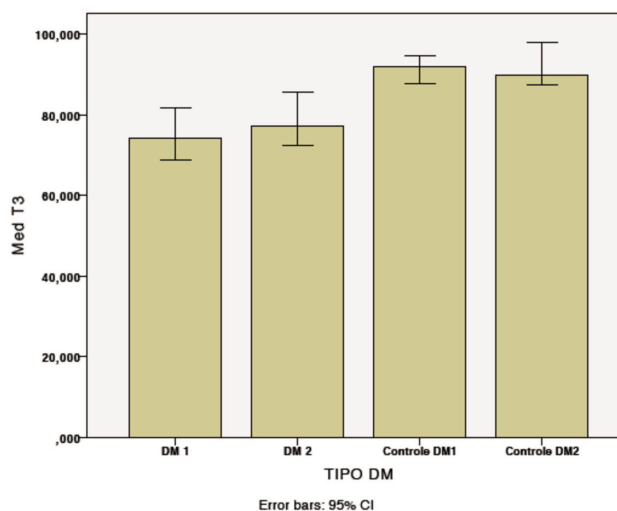
3. Comparação entre os grupos de pacientes com diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2

Os pacientes com DM2 tiveram maior idade (60 vs 31 anos; $p<0,001$), maior ICQ (0,99 vs 0,83; $p<0,001$) e IMC (30 vs 24,8kg/m²; $p<0,001$). Não houve diferença na frequência de gêneros entre os dois grupos. Pacientes com DM1 apresentaram concentrações menores de T4 total (5,53 vs 6,45mg/dL; $p=0,048$), T4L (1,13 vs 1,26ng/dL; $p=0,02$) e TSH (1,46 vs 2,25UI/L; $p=0,002$). Não foram encontradas diferenças em relação as concentrações séricas de T3 total e livre ou em relação aos marcadores inflamatórios. A Figura 5 ilustra as concentrações séricas do TSH, hormônios tireoidianos, suas relações e dos marcadores inflamatórios nos 4 grupos do estudo.

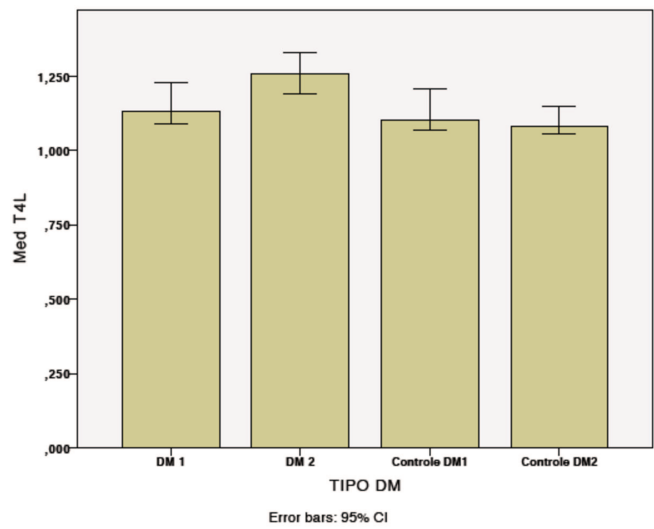
A.



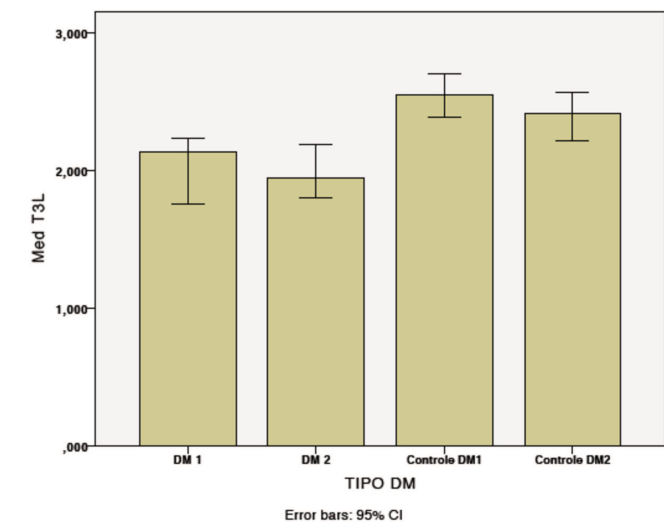
B.



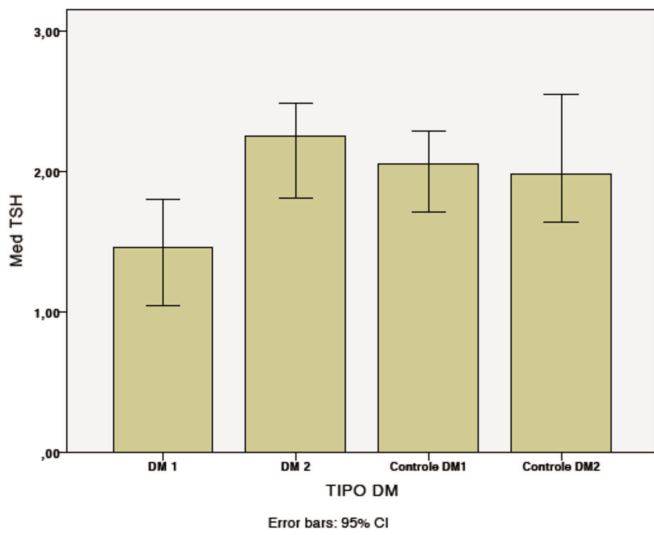
C.



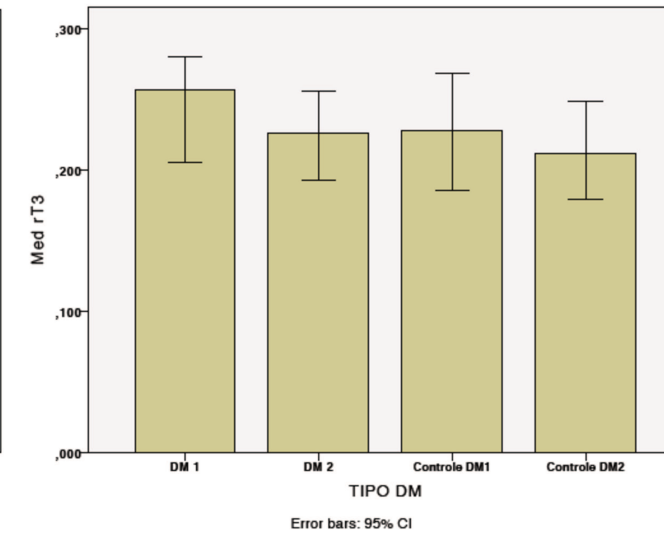
D.



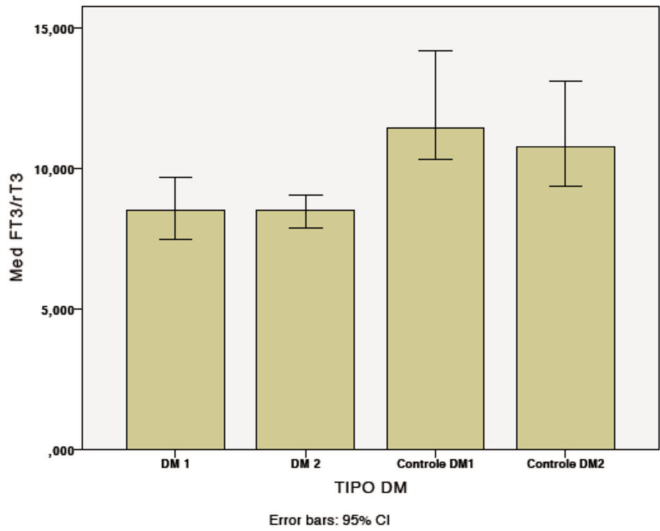
E.



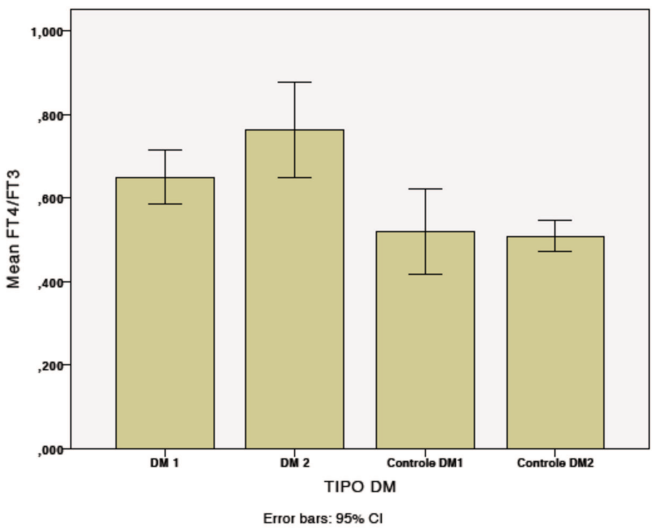
F.



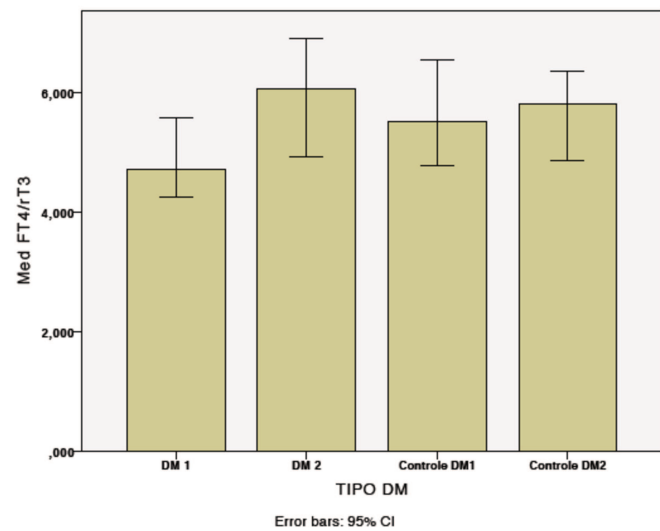
G.



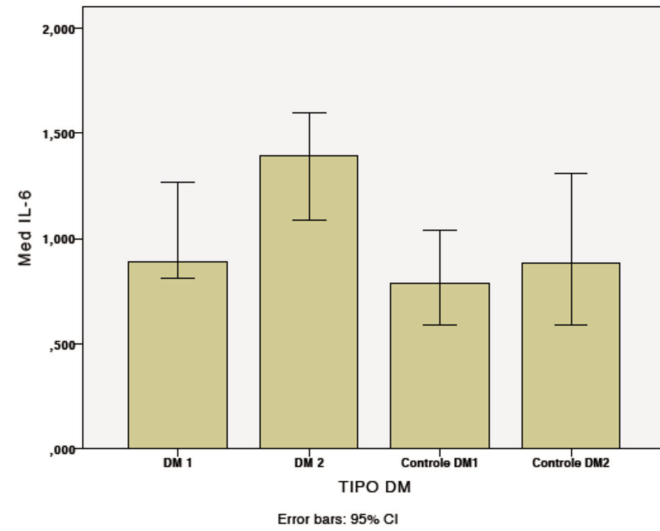
H.



I.



J.



L.

M.

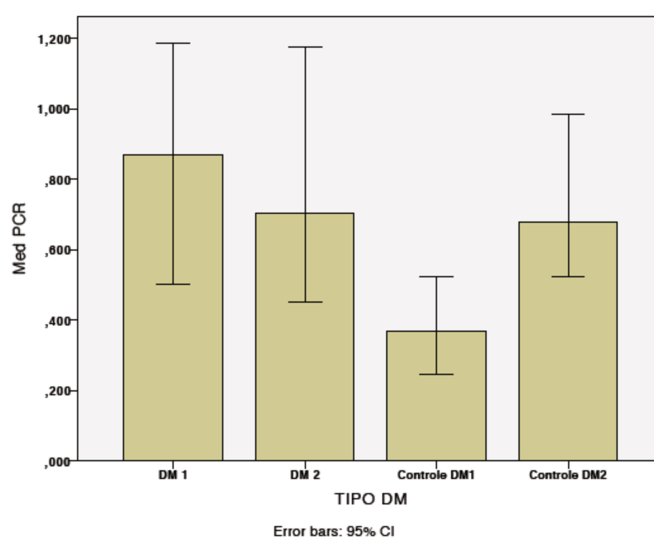
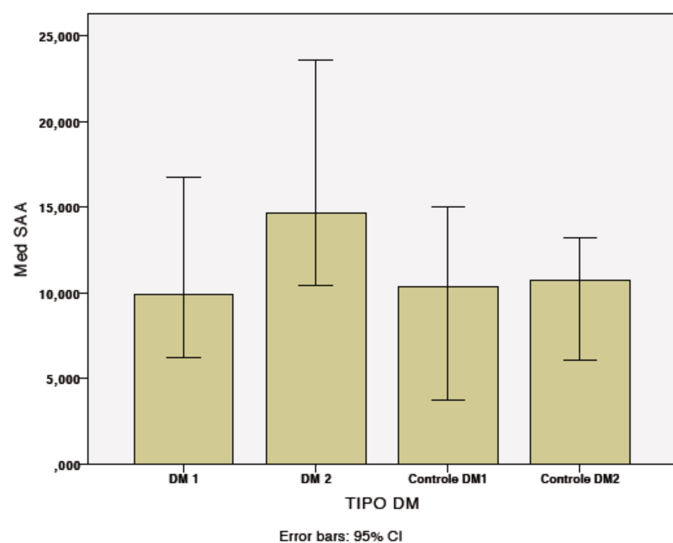


Figura 5. Valores de T4 total (A), T3 total (B), T4 livre (C), T3 livre (D), T3 reverso (E), TSH (F), T3L/T3r (G), T4L/T3r (H), T4L/T3L (I), interleucina 6 (J), proteína amiloide sérica (L) e proteína C reativa (M) nos grupos de pacientes com diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2 e ambos grupos de controle. Os valores são de mediana e as barras representam o intervalo de confiança de 95%.

DISCUSSÃO

O principal achado do presente trabalho evidenciou que pacientes com DM1 e DM2 apresentaram alterações similares nos hormônios tireoidianos quando comparados aos seus grupos de controle e, ainda, que estes achados foram relacionados a anormalidades na atividade das desidases, as quais por sua vez se relacionaram à atividade inflamatória subclínica. Fato de importância foi que uma cuidadosa avaliação desta atividade inflamatória revelou que a IL-6 e a SAA, que são citocinas pró-inflamatórias caracteristicamente em concentrações aumentadas em pacientes com DM, tiveram um papel de destaque nestes resultados. Ambos os grupos de pacientes apresentaram concentrações séricas de T3 total e livre mais baixas do que indivíduos sem DM pareados por idade, sexo e IMC. Trabalhos prévios na literatura associaram as menores concentrações séricas de T3 total em diabéticos ao controle glicêmico inadequado.

O estudo de Kabadi (249), mostrou que pacientes com DM2 recém-diagnosticado e portanto com controle metabólico ruim apresentavam menor T3L e maior T3r do que indivíduos sem DM. Além disso, avaliação da resposta do TSH à administração de TRH exógeno evidenciou que esta era menor do que em indivíduos saudáveis. A reavaliação de todos os parâmetros após algumas semanas de tratamento e após obtenção de bom controle metabólico do DM mostrou que todas as anormalidades inicialmente verificadas foram revertidas. Outro estudo com pequeno número de casos (272) envolvendo 26 pacientes com DM2 metabolicamente descompensado observou achados semelhantes, em que pacientes com DM2 mostravam valores de T3 mais baixos e de T3r mais altos do que os não diabéticos. Após 3 meses de controle glicêmico mais intensivo, houve melhora nas concentrações de T3 total e livre, mas sem variação significativa do T3r. Neste estudo não foram vistas correlações significativas entre parâmetros glicêmicos e hormonais tireoidianos, achados que são parecidos com os do presente estudo em relação ao grupo DM2. Por outro lado, o interessante estudo de Iervasi et al (210), avaliou cerca de 1000 pacientes internados em enfermaria de cardiologia por insuficiência cardíaca de diversas etiologias. Foi medido o TSH, T3L e T4L séricos destes pacientes no momento da internação e todos foram acompanhados por cerca de 1 ano. Os pacientes que foram a óbito apresentavam valores de T3

sérico mais baixos do que os do grupo de sobrevida maior. A análise dos fatores preditores de óbito nestes pacientes revelou que o T3L baixo foi um excelente marcador de risco, superior inclusive a outros marcadores consagrados como a classificação clínica de dispneia pela New York Heart Association e a fração de ejeção do ventrículo esquerdo avaliada por ecocardiografia. Em outro estudo, as concentrações mais baixas de T3 encontradas nos pacientes com DM2 foram relacionadas apenas ao controle glicêmico, não tendo a idade influência nestes achados (273).

Contudo, em pacientes críticos (274-276), assim como em outras condições crônicas (210, 221, 249), a SED está relacionada à atividade inflamatória. Rodrigues-Perez et al (274) avaliaram a atividade das três desidases e diversos outros parâmetros envolvidos no metabolismo dos hormônios tireoidianos em biópsias de músculo esquelético e tecido adiposo subcutâneo em pacientes com choque séptico e em indivíduos de um grupo de controle. Os primeiros mostraram valores mais baixos de TSH e T3L e mais altos de T3r dos que os do grupo de controle. Nos pacientes com choque séptico e SED os parâmetros analisados mostravam que no músculo esquelético havia menor produção e maior degradação de T3 e no tecido adiposo subcutâneo encontrou-se menor captação local de T3. O estudo de Davies et al (275) avaliou 270 pacientes internados em hospital devido a 5 grupos diferentes de doenças, sem doença tireoidiana prévia. Foram encontradas correlações inversas significativas entre IL-6 e T3L e T4L, mas não com o TSH. As concentrações séricas elevadas de IL-6 foram consideradas como os fatores preponderantes relacionados às alterações nos hormônios tireoidianos. Nos pacientes com doença renal, contudo, parecia haver outros fatores mais importantes.

Em condições ambulatoriais, o estudo de Karadag et al (221) mostrou achados semelhantes, mas de forma longitudinal, permitindo melhor avaliação causal entre as variáveis hormonais e inflamatórias. Um total de 133 indivíduos foram avaliados, sendo 83 com doença pulmonar obstrutiva crônica estável, outros 20 com exacerbações agudas e 30 indivíduos saudáveis que serviram como grupo de controle. O T3L apresentava-se menor em ambos os grupos de paciente sem relação com o grupo de controle, sendo ainda menores no grupo de doença aguda. Havia correlação inversa entre a IL-6 e o T3 total em pacientes com doença estável. As alterações hormonais neste grupo se resolveram em até um mês após a alta

hospitalar, mas estes achados levaram os autores a não recomendar a avaliação de doença tireoidiana durante períodos de exacerbação da doença devido a possibilidade de resultados alterados pela presença de SED nesta fase.

O próprio DM é uma condição classicamente associada à atividade inflamatória, especialmente o DM2 (277-279). Diversos trabalhos relacionaram as adipocitocinas produzidas pelo tecido adiposo de pacientes obesos à ocorrência de DM futuramente nestes pacientes. Esses achados fizeram com que o tecido adiposo deixasse de ser visto apenas como um órgão destinado à função de estoque de energia e passasse a ser considerado como uma glândula endócrina (278). O tecido adiposo é capaz de secretar IL-6 e TNF- α , citocinas que estimulam a atividade inflamatória e produção de diversas outras moléculas desta cascata, incluindo moléculas de adesão endotelial e a PCR, pelo fígado (279). No presente estudo, a relação entre resposta inflamatória e alterações hormonais tireoidianas não foi evidenciada nos grupos de controle, a despeito de valores comparáveis de IMC.

O grupo de pacientes com DM2 apresentou concentrações maiores de IL-6 concomitantemente a obesidade visceral evidente, representada por um ICQ maior que o grupo DM2c. No grupo DM2, o T3r e a relação T3L/T3r se associaram ao aumento da atividade inflamatória, implicando em geração periférica diminuída de T3 e/ou inativação aumentada de T4 a T3r. As concentrações mais altas de T4L no grupo de pacientes com DM2 comparadas às do grupo DM2c favorecem a hipótese de diminuição da atividade de D1, uma vez que a conversão para T3 é a principal via de metabolismo do T4 (75). Como verificado na análise de regressão linear multivariada, SAA e PCR foram os principais determinantes do T3L e foram preditores independentes da relação T4L/T3L. A proteína amiloide sérica é uma proteína de fase aguda pró inflamatória produzida pelo fígado em resposta à IL-6 e se relaciona à PCR, encontrando-se maiores concentrações séricas em indivíduos de alto risco cardiovascular (268, 271). Seu papel como mediador inflamatório na doença aterosclerótica foi considerado complementar àquele da PCR, uma vez que concentrações mais altas deste marcador são vistas em pacientes com antecedente de evento cardiovascular prévio (268).

Um achado surpreendente foi a associação direta de SAA com as concentrações de T3L e inversa com a relação T4L/T3L, o que sugere formação periférica aumentada de T3. Este fato poderia explicar ao menos parcialmente, a indução da atividade da D2 no sistema nervoso central, e manutenção de

concentrações de TSH dentro da faixa de normalidade em pacientes com T3L mais baixo em situações de SED. A consequente maior concentração intra-hipotalâmica e hipofisária de T3, gerado pela D2, levaria a um estado de eutireoidismo tecidual local, inibindo assim o aumento do TSH que seria de outra maneira esperado (280). Estudo de Sanchez et al (280) mostrou que a indução da D2 no hipotálamo médio-basal ocorre de forma independente do aumento de glicocorticoides observado em situações de estresse. Administração de LPS em ratos mostrou que as alterações da D2 no sistema nervoso central aconteciam em paralelo ao aumento da IL-6 sérica induzido pelo LPS.

Assim, é possível que algumas citocinas possam ser responsáveis por aumentar a formação de T3 e não participar exclusivamente da inibição desta conversão (171), explicando, em parte, porque os pacientes com DM2 deste estudo apresentaram concentrações de TSH comparáveis ao do grupo de controle. Além disso, não está claro se algumas citocinas exerceriam efeitos diferentes na atividade das desidases. Os estudos pregressos relacionam as citocinas pró-inflamatórias à diminuição da concentração de T3 sérico e menor atividade de D1 e D2 na periferia (85, 166, 281). Não há estudos em humanos mostrando a relação da SAA com a SED ou com as concentrações séricas de hormônios tireoidianos. Contudo é importante ressaltar que estes achados foram encontrados somente no grupo de pacientes com DM, não sendo replicados no grupo de controle. No caso da PCR, encontramos associações inversas com o T3L, resultados que estão de acordo com os previamente reportados (282, 283).

Anormalidades genéticas que resultam na diminuição da expressão e atividade da D2 foram previamente relacionadas ao aumento da resistência à insulina (284, 285). No estudo de Marsili et al (284), ratos com deleção artificial da D2 desenvolveram maior resistência à insulina e eram mais susceptíveis a obesidade induzida por dieta hipercalórica do que ratos sem esta deleção. O estudo de Leiria et al (285) observou que todos os pacientes analisados com DM2 e maiores índices de resistência à insulina eram homozigotos para um polimorfismo do gene da D2, o qual era capaz de interagir com o polimorfismo Thr92Ala, levando a quadro metabólico ainda mais alterado.

Um dos estudos avaliando presença de polimorfismos do gene da D2 e foi conduzido em população brasileira e investigou o polimorfismo Thr92Ala da D2, mostrando que esta anormalidade foi mais comum em pacientes com DM2 do que

na população em geral (286). A metanálise conduzida no mesmo estudo verificou que o mesmo polimorfismo investigado em 3 outros países apresentou resultado similar entre a associação de DM com alterações de atividade da D2 (286). Por outro lado, acredita-se que a D2 tenha um papel limitado em relação às concentrações séricas de T3 em humanos, uma vez que se localiza no citoplasma das células (287), sendo assim responsável pelo controle local de produção de T3 a partir do T4 sérico e das necessidades celulares e teciduais locais de T3. O estudo de Heemstra et al (287) avaliou de forma longitudinal 11 pacientes tireoidectomizados devido a carcinoma de tireoide e mostrou que a modulação da atividade muscular da D2 dependia de jejum e da insulina, mas não foi modificado pelo hipotireoidismo.

Achados similares relacionados a maior atividade inflamatória foram encontrados nos pacientes com DM1, evidenciados por uma concentração de PCR maior do que no grupo DM1c, mesmo com IMC comparável. No grupo de pacientes com DM1, a IL-6 se relacionou diretamente ao T3r e foi um preditor independente das relações T3L/T3r e T4L/T3r, sugerindo diminuição da conversão periférica de T4 a T3, achado comum em pacientes com SED (166, 288). A IL-6 é uma citocina frequentemente associada à SED, mostrando estreita correlação com os níveis decrescentes de T3 em vários estudos (275, 282, 289). O controle glicêmico mostrou-se como um fator preditor independente da relação T4L/T3L no grupo de pacientes com DM1. Glicemias mais altas ou mesmo, deficiência maior de insulina, característica dos indivíduos com DM1, poderia levar à diminuição da atividade de D1 no fígado, causando uma queda mais profunda da conversão de T4 a T3. Adicionalmente, pior controle glicêmico poderia atuar através de aumento da atividade inflamatória, sendo as citocinas pró-inflamatórias, neste cenário, os mediadores entre controle glicêmico ruim e alterações dos hormônios tireoidianos na SED. O papel do controle glicêmico na SED em DM, descrito em vários outros estudos (248, 249, 290-292), foi visto neste trabalho apenas no grupo de indivíduos com DM1. Uma possível explicação poderia se basear no fato de que a HbA1c apresentou maior amplitude de valores, bem como maior variabilidade glicêmica dos pacientes com DM1 em relação ao grupo com DM2.

Não é possível descartar ainda um efeito da glicemia via maior glicação de proteínas séricas ou intracelulares. É sabido que um dos mecanismos pelo qual o diabetes mellitus promove complicações microvasculares é através da glicação não enzimática de proteínas, alterando sua estrutura e função (293). Tal evento se

evidencia por exemplo em células endoteliais e mesangiais, permitindo a ocorrência de disfunção endotelial e passagem de proteínas como albumina pela membrana basal glomerular, contribuindo para o processo de aterosclerose e lesão renal no diabetes, respectivamente (293). É plausível conceber que este processo poderia atingir também enzimas como as desidases, contribuindo para alteração em sua expressão ou atividade e assim explicando a ligação entre mau controle glicêmico e alterações hormonais tireoidianas em pacientes diabéticos. Todavia, não foram encontrados estudos na literatura avaliando a ocorrência de glicação de desidases em pacientes com DM.

Quanto às concentrações séricas de T3 total e T3L mais baixas no grupo de pacientes com DM, os achados estão em linha com os apresentados pelos estudos averiguando SED em pacientes com DM (246, 247, 249). Apesar de valores similares de idade e IMC, o processo inflamatório subclínico foi mais evidente nos pacientes com DM1 e DM2, um fato que poderia explicar diferenças entre as correlações encontradas quando comparados aos grupos de controle e também em comparação a estudos envolvendo indivíduos com síndrome metabólica mas sem DM (294, 295). Nestes últimos, pacientes com síndrome metabólica mas sem DM apresentaram maiores concentrações de T4L e uma correlação inversa entre T4L e IMC, achados semelhantes aos vistos no grupo DM2 do presente estudo. Meheran et al (294) avaliaram 3755 pacientes eutireoidianos com relação a presença de critérios para síndrome metabólica e sua associação com hormônios tireoidianos séricos. Após ajuste para fatores de viés, o T4L associou-se ao colesterol HDL, triglicérides, circunferência da cintura e pressão arterial sistólica e diastólica, mesmo depois de ajuste por IMC. Em relação a índices de resistência à insulina, o T4L associou-se negativamente e o TSH, positivamente. A prevalência de síndrome metabólica no grupo avaliado aumentava conforme diminuíam os terços de T4L. Os autores concluíram que em pacientes eutireoideos, o T4L foi melhor marcador para síndrome metabólica do que o TSH. Tarcin et al (295) avaliaram 211 pacientes obesos dentre os quais 122 apresentavam critérios para síndrome metabólica. Todos estes critérios, exceto o HDL, se correlacionaram com o T3 total, T4L e T3L/T4L. As concentrações de T4L se associaram à obesidade e síndrome metabólica independentemente dos índices de resistência à insulina, enquanto que o T3 total relacionou-se com ambos. Os autores especulam que estas diferenças

hormonais tireoidianas em relação aos pacientes não obesos provavelmente se associam a compensações no metabolismo basal gerados pelo sobrepeso.

Contudo, no presente trabalho os pacientes com DM2 apresentaram associação independente e negativa do IMC com o T3 total. Tal fato talvez esteja relacionado à hiperinsulinemia característica dos pacientes com DM2, que poderia levar a síntese menor de globulina ligadora de tiroxina pelo fígado, de modo similar ao que é frequentemente observado para a proteína ligadora de hormônios sexuais (296).

Os pontos fortes deste estudo incluem a presença de grupos de controle que foram pareados por IMC, que representa um potencial fator de confundimento quando da análise de hormônios tireoidianos em pacientes com DM. Além disso, indivíduos em estresse metabólico agudo, como cetoacidose diabética, não foram incluídos. Ainda, foram analisados pacientes com DM1 e DM2 e todos estavam eutireoidianos e apresentavam valores indetectáveis de anticorpos anti-tireoidianos.

Há, todavia, algumas limitações ao estudo que merecem menção. O desenho do estudo, de formato transversal, não permite conclusões sobre causalidade. O tamanho da amostra, relativamente pequeno em cada grupo, pode ter levado à impossibilidade de achados adicionais, mas vale ressaltar que o tamanho da amostra foi baseado em cálculo amostral prévio, com o objetivo de encontrar-se diferença clinicamente significativa de valores de T3 entre os grupos de pacientes e de controle. Reforçando esse raciocínio, a análise cuidadosa dos valores dos coeficientes de correlação verificados entre as variáveis inflamatórias e hormonais revelou que, enquanto uma amostra maior poderia ter levado a outras correlações estatisticamente significativas, a relevância clínica destes achados adicionais seria muito pequena. Finalmente, as inferências sobre atividade das desidases foram indiretas, uma vez que não se mediu a atividade destas em biópsias de músculo ou fígado. Estes procedimentos não foram considerados éticos pelos autores nas circunstâncias clínicas em que o estudo realizou-se. Entretanto, na literatura estas mensurações indiretas mostram boas correlações com as atividades diretas das desidases (297). Por razões semelhantes, não foi possível confirmar que concentrações séricas inferiores de hormônios tireoidianos se traduziam em hipotireoidismo tecidual.

Assim, este estudo mostrou que anormalidades dos hormônios tireoidianos em pacientes com DM estão relacionadas não apenas ao controle glicêmico, como

previamente descrito, mas também ao aumento da atividade inflamatória visto nestes pacientes. Estas anormalidades estão ainda, relacionadas à alteração na atividade das desidases. Estes achados foram independentes de sexo idade, IMC e HbA1c.

Um estudo recente mostrou que medicações anti-inflamatórias previnem a ocorrência de SED em pacientes com infarto agudo do miocárdio (298). Deste modo, frente aos achados do presente trabalho, estudos adicionais serão necessários para clarificar se a melhora dos parâmetros inflamatórios do DM poderia reverter as anormalidades hormonais tireoidianas e se a restauração do T3 sérico aos padrões normais poderia trazer algum impacto benéfico durante o curso do diabetes.

CONCLUSÕES

- Indivíduos portadores de DM apresentaram concentrações séricas de T3 total e livre inferiores a indivíduos sem DM de mesmo sexo, idade e IMC.
- As concentrações séricas de T3 total e livre, as relações entre os hormônios tireoidianos bem como os marcadores inflamatórios foram semelhantes em pacientes com DM1 e DM2.
- Em pacientes com DM1 e DM2 houve relação entre a IL-6 e o T3r, T3L/T3r e T4L/T3r.
- As relações entre os hormônios tireoidianos e os marcadores de inflamação subclínica, foram observados apenas em pacientes com diabetes, não sendo replicadas em indivíduos não diabéticos de mesmo sexo, idade e IMC.
- Indivíduos com DM1, mas não aqueles com DM2, apresentaram concentrações séricas de TSH inferiores às de pessoas não diabéticas de mesmo sexo, idade e IMC.
- O efeito do controle glicêmico, na forma da HbA1c, sobre as concentrações séricas de hormônios tireoidianos foi significativo apenas no grupo de pacientes com DM1, onde influenciou a relação T4L/T3L.
- Pacientes com DM2, mas não os com DM1, apresentaram concentrações séricas de T4L maiores do que não-diabéticos de mesmo sexo, idade e IMC.
- Em pacientes com DM2, houve associação entre SAA e T3r, bem como T4L/T3r.
- A SAA se relacionou positivamente às concentrações séricas de T3L em pacientes com DM2, havendo a possibilidade que esta citocina esteja envolvida em maior geração de T3 na SED.
- Em pacientes com DM2 o IMC se relacionou negativamente às concentrações séricas de T3 total.
- Este trabalho sugere que a inflamação sistêmica subclínica atua provavelmente em pacientes com DM alterando a atividade das desidases e este seria um dos principais mecanismos para explicar a presença de SED nestes pacientes.

REFERÊNCIAS

1. Mebis L, Van den Berghe G. Thyroid axis function and dysfunction in critical illness. Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism. 2011;25(5):745-57.
2. Adler SM, Wartofsky L. The nonthyroidal illness syndrome. Endocrinology and metabolism clinics of North America. 2007;36(3):657-72, vi.
3. Van den Berghe G. The neuroendocrine response to stress is a dynamic process. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism. 2001;15(4):405-19.
4. Peeters RP, Wouters PJ, van Toor H, Kaptein E, Visser TJ, Van den Berghe G. Serum 3,3',5'-triiodothyronine (rT3) and 3,5,3'-triiodothyronine/rT3 are prognostic markers in critically ill patients and are associated with postmortem tissue deiodinase activities. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 2005;90(8):4559-65.
5. Pappa Ta, Vagenakis AG, Alevizaki M. The nonthyroidal illness syndrome in the non-critically ill patient. European journal of clinical investigation. 2011;41(2):212-20.
6. Patel YC, Alford FP, Burger HG. The 24-hour plasma thyrotrophin profile. Clinical science. 1972;43(1):71-7.
7. Brabant G, Ranft U, Ocran K, Hesch RD, von zur Mühlen A. Thyrotropin--an episodically secreted hormone. Acta endocrinologica. 1986;112(3):315-22.
8. Romijn JA, Adriaanse R, Brabant G, Prank K, Endert E, Wiersinga WM. Pulsatile secretion of thyrotropin during fasting: a decrease of thyrotropin pulse amplitude. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. 1990;70(6):1631-6.
9. Romijn JA, Wiersinga WM. Decreased Nocturnal Surge of Thyrotropin in Nonthyroidal Illness*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 1990;70(1):35-42.
10. Yamada M, Saga Y, Shibusawa N, Hirato J, Murakami M, Iwasaki T, et al. Tertiary hypothyroidism and hyperglycemia in mice with targeted disruption of the thyrotropin-releasing hormone gene. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1997;94(20):10862-7.

11. Beck-Peccoz P, Amr S, Menezes-Ferreira MM, Faglia G, Weintraub BD. Decreased Receptor Binding of Biologically Inactive Thyrotropin in Central Hypothyroidism. *New England Journal of Medicine*. 1985;312(17):1085-90.
12. Bonomi M, Busnelli M, Beck-Peccoz P, Costanzo D, Antonica F, Dolci C, et al. A family with complete resistance to thyrotropin-releasing hormone. *The New England journal of medicine*. 2009;360(7):731-4.
13. Harris M, Aschkenasi C, Elias CF, Chandrankunnel A, Nillni EA, Bjørbaek C, et al. Transcriptional regulation of the thyrotropin-releasing hormone gene by leptin and melanocortin signaling. *The Journal of clinical investigation*. 2001;107(1):111-20.
14. Arancibia S, Rage F, Astier H, Tapia-Arancibia L. Neuroendocrine and autonomous mechanisms underlying thermoregulation in cold environment. *Neuroendocrinology*. 1996;64(4):257-67.
15. Lechan RM, Fekete C. Role of thyroid hormone deiodination in the hypothalamus. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association*. 2005;15(8):883-97.
16. Fekete C, Gereben B, Doleschall M, Harney JW, Dora JM, Bianco AC, et al. Lipopolysaccharide Induces Type 2 Iodothyronine Deiodinase in the Mediobasal Hypothalamus: Implications for the Nonthyroidal Illness Syndrome. *Endocrinology*. 2004;145(4):1649-55.
17. Faglia G, Beck-Peccoz P, Ferrari C, Travaglini P, Ambrosi B, Spada A. Plasma Growth Hormone Response to Thyrotropin-Releasing Hormone in Patients with Active Acromegaly. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1973;36(6):1259-62.
18. Straub RE, Frech GC, Joho RH, Gershengorn MC. Expression cloning of a cDNA encoding the mouse pituitary thyrotropin-releasing hormone receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1990;87(24):9514-8.
19. Sun Y, Lu X, Gershengorn MC. Thyrotropin-releasing hormone receptors -- similarities and differences. *Journal of molecular endocrinology*. 2003;30(2):87-97.
20. Lechan RM, Wu P, Jackson IM, Wolf H, Cooperman S, Mandel G, et al. Thyrotropin-releasing hormone precursor: characterization in rat brain. *Science (New York, NY)*. 1986;231(4734):159-61.

21. Carr FE, Shupnik MA, Burnside J, Chin WW. Thyrotropin-releasing hormone stimulates the activity of the rat thyrotropin beta-subunit gene promoter transfected into pituitary cells. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md)*. 1989;3(4):717-24.
22. Taylor T, Gesundheit N, Gyves PW, Jacobowitz DM, Weintraub BD. Hypothalamic hypothyroidism caused by lesions in rat paraventricular nuclei alters the carbohydrate structure of secreted thyrotropin. *Endocrinology*. 1988;122(1):283-90.
23. Spencer CA, Lum SM, Wilber JF, Kaptein EM, Nicoloff JT. Dynamics of serum thyrotropin and thyroid hormone changes in fasting. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1983;56(5):883-8.
24. Blake NG, Eckland DJA, Foster OJF, Lightman SL. Inhibition of Hypothalamic Thyrotropin-Releasing Hormone Messenger Ribonucleic Acid during Food Deprivation*. *Endocrinology*. 1991;129(5):2714-8.
25. Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E, et al. Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting. *Nature*. 1996;382(6588):250-2.
26. Mercer JG, Hoggard N, Williams LM, Lawrence CB, Hannah LT, Morgan PJ, et al. Coexpression of leptin receptor and preproneuropeptide Y mRNA in arcuate nucleus of mouse hypothalamus. *Journal of neuroendocrinology*. 1996;8(10):733-5.
27. Fekete C, Légrádi G, Mihály E, Huang QH, Tatro JB, Rand WM, et al. alpha-Melanocyte-stimulating hormone is contained in nerve terminals innervating thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus and prevents fasting-induced suppression of prothyrotropin-releasing hormone gene. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2000;20(4):1550-8.
28. Legradi G, Emerson CH, Ahima RS, Rand WM, Flier JS, Lechan RM. Arcuate nucleus ablation prevents fasting-induced suppression of ProTRH mRNA in the hypothalamic paraventricular nucleus. *Neuroendocrinology*. 1998;68(2):89-97.
29. Schwartz MW, Seeley RJ, Campfield LA, Burn P, Baskin DG. Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *The Journal of clinical investigation*. 1996;98(5):1101-6.
30. Kielar D, Clark JS, Ciechanowicz A, Kurzawski G, Sulikowski T, Naruszewicz M. Leptin receptor isoforms expressed in human adipose tissue. *Metabolism: clinical and experimental*. 1998;47(7):844-7.

31. Stephens TW, Basinski M, Bristow PK, Bue-Valleskey JM, Burgett SG, Craft L, et al. The role of neuropeptide Y in the antiobesity action of the obese gene product. *Nature*. 1995;377(6549):530-2.
32. Mihály E, Fekete C, Tatro JB, Liposits Z, Stopa EG, Lechan RM. Hypophysiotropic thyrotropin-releasing hormone-synthesizing neurons in the human hypothalamus are innervated by neuropeptide Y, agouti-related protein, and alpha-melanocyte-stimulating hormone. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2000;85(7):2596-603.
33. Bjørbaek C, Hollenberg AN. Leptin and melanocortin signaling in the hypothalamus. *Vitamins and hormones*. 2002;65:281-311.
34. Clément K, Vaisse C, Lahlou N, Cabrol S, Pelloux V, Cassuto D, et al. A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature*. 1998;392(6674):398-401.
35. Chan JL, Heist K, DePaoli AM, Veldhuis JD, Mantzoros CS. The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaptation to short-term starvation in healthy men. *The Journal of clinical investigation*. 2003;111(9):1409-21.
36. Rosenbaum M, Murphy EM, Heymsfield SB, Matthews DE, Leibel RL. Low Dose Leptin Administration Reverses Effects of Sustained Weight-Reduction on Energy Expenditure and Circulating Concentrations of Thyroid Hormones. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002;87(5):2391-.
37. Farooqi IS, Yeo GS, Keogh JM, Aminian S, Jebb SA, Butler G, et al. Dominant and recessive inheritance of morbid obesity associated with melanocortin 4 receptor deficiency. *The Journal of clinical investigation*. 2000;106(2):271-9.
38. Segerson TP, Kauer J, Wolfe HC, Mobtaker H, Wu P, Jackson IM, et al. Thyroid hormone regulates TRH biosynthesis in the paraventricular nucleus of the rat hypothalamus. *Science (New York, NY)*. 1987;238(4823):78-80.
39. Kakucska I, Rand W, Lechan RM. Thyrotropin-releasing hormone gene expression in the hypothalamic paraventricular nucleus is dependent upon feedback regulation by both triiodothyronine and thyroxine. *Endocrinology*. 1992;130(5):2845-50.
40. Schneider MJ, Fiering SN, Pallud SE, Parlow AF, St Germain DL, Galton VA. Targeted disruption of the type 2 selenodeiodinase gene (DIO2) results in a phenotype of pituitary resistance to T4. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md)*. 2001;15(12):2137-48.

41. Dumitrescu AM, Liao X-H, Best TB, Brockmann K, Refetoff S. A novel syndrome combining thyroid and neurological abnormalities is associated with mutations in a monocarboxylate transporter gene. *American journal of human genetics*. 2004;74(1):168-75.
42. Sugrue ML, Vella KR, Morales C, Lopez ME, Hollenberg AN. The Thyrotropin-Releasing Hormone Gene Is Regulated by Thyroid Hormone at the Level of Transcription in Vivo. *Endocrinology*. 2010;151(2):793-801.
43. Cook CB, Kakucska I, Lechan RM, Koenig RJ. Expression of thyroid hormone receptor beta 2 in rat hypothalamus. *Endocrinology*. 1992;130(2):1077-9.
44. Alland L, Muhle R, Hou H, Potes J, Chin L, Schreiber-Agus N, et al. Role for N-CoR and histone deacetylase in Sin3-mediated transcriptional repression. *nature*. 1997;387(6628):49-55.
45. Weiss RE, Xu J, Ning G, Pohlenz J, O'Malley BW, Refetoff S. Mice deficient in the steroid receptor co-activator 1 (SRC-1) are resistant to thyroid hormone. *The EMBO journal*. 1999;18(7):1900-4.
46. Weiss RE, Gehin M, Xu J, Sadow PM, O'Malley BW, Chambon P, et al. Thyroid Function in Mice with Compound Heterozygous and Homozygous Disruptions of SRC-1 and TIF-2 Coactivators: Evidence for Haploinsufficiency. *Endocrinology*. 2002;143(4):1554-.
47. Spencer CA, LoPresti JS, Patel A, Guttler RB, Eigen A, Shen D, et al. Applications of a new chemiluminometric thyrotropin assay to subnormal measurement. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1990;70(2):453-60.
48. Hinkle PM, Perrone MH, Schonbrunn A. Mechanism of thyroid hormone inhibition of thyrotropin-releasing hormone action. *Endocrinology*. 1981;108(1):199-205.
49. Forrest D, Erway LC, Ng L, Altschuler R, Curran T. Thyroid hormone receptor β is essential for development of auditory function. *Nature Genetics*. 1996;13(3):354-7.
50. Ando S, Sarlis NJ, Krishnan J, Feng X, Refetoff S, Zhang MQ, et al. Aberrant alternative splicing of thyroid hormone receptor in a TSH-secreting pituitary tumor is a mechanism for hormone resistance. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md)*. 2001;15(9):1529-38.

51. Ando S, Sarlis NJ, Oldfield EH, Yen PM. Somatic mutation of TRbeta can cause a defect in negative regulation of TSH in a TSH-secreting pituitary tumor. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2001;86(11):5572-6.
52. Sasaki S. Ligand-induced recruitment of a histone deacetylase in the negative-feedback regulation of the thyrotropin beta gene. *The EMBO Journal*. 1999;18(19):5389-98.
53. Gordon DF, Tucker EA, Tundwal K, Hall H, Wood WM, Ridgway EC. MED220/thyroid receptor-associated protein 220 functions as a transcriptional coactivator with Pit-1 and GATA-2 on the thyrotropin-beta promoter in thyrotropes. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md)*. 2006;20(5):1073-89.
54. Sherman SI, Gopal J, Haugen BR, Chiu AC, Whaley K, Nowlakha P, et al. Central hypothyroidism associated with retinoid X receptor-selective ligands. *The New England journal of medicine*. 1999;340(14):1075-9.
55. Haugen BR, Brown NS, Wood WM, Gordon DF, Ridgway EC. The Thyrotrope-Restricted Isoform of the Retinoid-X Receptor- γ 1 Mediates 9- cis -Retinoic Acid Suppression of Thyrotropin- β Promoter Activity. *Molecular Endocrinology*. 1997;11(4):481-9.
56. Macchia PE, Jiang P, Yuan Y-D, Chandarardna RAS, Weiss RE, Chassande O, et al. RXR receptor agonist suppression of thyroid function: central effects in the absence of thyroid hormone receptor. *American Journal of Physiology - Endocrinology And Metabolism*. 2002;283(2):E326-E31.
57. Janssen JS, Sharma V, Pugazhenthir U, Sladek C, Wood WM, Haugen BR. A rexinoid antagonist increases the hypothalamic–pituitary–thyroid set point in mice and thyrotrope cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2011;339(1-2):1-6.
58. Kakucska I, Qi Y, Lechan RM. Changes in adrenal status affect hypothalamic thyrotropin-releasing hormone gene expression in parallel with corticotropin-releasing hormone. *Endocrinology*. 1995;136(7):2795-802.
59. John CD, Christian HC, Morris JF, Flower RJ, Solito E, Buckingham JC. Kinase-dependent regulation of the secretion of thyrotrophin and luteinizing hormone by glucocorticoids and annexin 1 peptides. *Journal of neuroendocrinology*. 2003;15(10):946-57.
60. Samuels MH. Effects of metyrapone administration on thyrotropin secretion in healthy subjects--a clinical research center study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2000;85(9):3049-52.

61. Samuels MH. Effects of variations in physiological cortisol levels on thyrotropin secretion in subjects with adrenal insufficiency: a clinical research center study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2000;85(4):1388-93.
62. Vale W, Brazeau P, Rivier C, Brown M, Boss B, Rivier J, et al. Somatostatin. Recent progress in hormone research. 1975;31:365-97.
63. Ferland L, Labrie F, Jobin M, Arimura A, Schally AV. Physiological role of somatostatin in the control of growth hormone and thyrotropin secretion. *Biochemical and biophysical research communications*. 1976;68(1):149-56.
64. Roelfsema F, Biermasz NR, Frolich M, Keenan DM, Veldhuis JD, Romijn JA. Diminished and Irregular Thyrotropin Secretion with Preserved Diurnal Rhythm in Patients with Active Acromegaly. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009;94(6):1945-50.
65. Lamberts SW, Krenning EP, Reubi JC. The role of somatostatin and its analogs in the diagnosis and treatment of tumors. *Endocrine reviews*. 1991;12(4):450-82.
66. Beck-Peccoz P, Brucker-Davis F, Persani L, Smallridge RC, Weintraub BD. Thyrotropin-secreting pituitary tumors. *Endocrine reviews*. 1996;17(6):610-38.
67. Sawchenko PE. Toward a new neurobiology of energy balance, appetite, and obesity: the anatomists weigh in. *The Journal of comparative neurology*. 1998;402(4):435-41.
68. Krulich L, Giachetti A, Marchlewska-Koj A, Hefco E, Jameson HE. On the role of the central noradrenergic and dopaminergic systems in the regulation of TSH secretion in the rat. *Endocrinology*. 1977;100(2):496-505.
69. Arancibia S, Tapia-Arancibia L, Astier H, Assenmacher I. Physiological evidence for alpha 1-adrenergic facilitatory control of the cold-induced TRH release in the rat, obtained by push-pull cannulation of the median eminence. *Neuroscience letters*. 1989;100(1-3):169-74.
70. Fisher DA, Odell WD. Acute release of thyrotropin in the newborn. *The Journal of clinical investigation*. 1969;48(9):1670-7.
71. Cooper DS, Klibanski A, Ridgway EC. Dopaminergic modulation of TSH and its subunits: in vivo and in vitro studies. *Clinical endocrinology*. 1983;18(3):265-75.
72. Shupnik MA, Greenspan SL, Ridgway EC. Transcriptional regulation of thyrotropin subunit genes by thyrotropin-releasing hormone and dopamine in pituitary cell culture. *The Journal of biological chemistry*. 1986;261(27):12675-9.

73. Scanlon MF, Weightman DR, Shale DJ, Mora B, Heath M, Snow MH, et al. Dopamine is a physiological regulator of thyrotrophin (TSH) secretion in normal man. *Clinical endocrinology*. 1979;10(1):7-15.
74. Oppenheimer JH, Schwartz HL, Surks MI. Propylthiouracil inhibits the conversion of L-thyroxine to L-triiodothyronine. An explanation of the antithyroxine effect of propylthiouracil and evidence supporting the concept that triiodothyronine is the active thyroid hormone. *The Journal of clinical investigation*. 1972;51(9):2493-7.
75. Bianco AC, Salvatore D, Gereben B, Berry MJ, Larsen PR. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocrine reviews*. 2002;23(1):38-89.
76. Gereben B, Zavacki AM, Ribich S, Kim BW, Huang SA, Simonides WS, et al. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. *Endocrine reviews*. 2008;29(7):898-938.
77. Koenig RJ. Thyroid hormone receptor coactivators and corepressors. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association*. 1998;8(8):703-13.
78. Campos-Barros A, Hoell T, Musa A, Sampaolo S, Stoltenburg G, Pinna G, et al. Phenolic and tyrosyl ring iodothyronine deiodination and thyroid hormone concentrations in the human central nervous system. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1996;81(6):2179-85.
79. Leonard JL, Visser TJ, Leonard DM. Characterization of the Subunit Structure of the Catalytically Active Type I Iodothyronine Deiodinase. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;276(4):2600-7.
80. Berry MJ, Banu L, Larsen PR. Type I iodothyronine deiodinase is a selenocysteine-containing enzyme. *Nature*. 1991;349(6308):438-40.
81. Toyoda N, Zavacki AM, Maia AL, Harney JW, Larsen PR. A novel retinoid X receptor-independent thyroid hormone response element is present in the human type 1 deiodinase gene. *Molecular and cellular biology*. 1995;15(9):5100-12.
82. Amma LL, Campos-Barros A, Wang Z, Vennström B, Forrest D. Distinct Tissue-Specific Roles for Thyroid Hormone Receptors β and $\alpha 1$ in Regulation of Type 1 Deiodinase Expression. *Molecular Endocrinology*. 2001;15(3):467-75.
83. Nishikawa M, Toyoda N, Yonemoto T, Ogawa Y, Tabata S, Sakaguchi N, et al. Quantitative measurements for type 1 deiodinase messenger ribonucleic acid in human peripheral blood mononuclear cells: mechanism of the preferential increase of

T3 in hyperthyroid Graves' disease. *Biochemical and biophysical research communications*. 1998;250(3):642-6.

84. Chopra IJ, Sakane S, Teco GN. A study of the serum concentration of tumor necrosis factor-alpha in thyroidal and nonthyroidal illnesses. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1991;72(5):1113-6.

85. Pekary AE, Berg L, Santini F, Chopra I, Hershman JM. Cytokines modulate type I iodothyronine deiodinase mRNA levels and enzyme activity in FRTL-5 rat thyroid cells. *Molecular and cellular endocrinology*. 1994;101(1-2):R31-5.

86. Yu J. Regulation of Hepatocyte Thyroxine 5'-Deiodinase by T3 and Nuclear Receptor Coactivators as a Model of the Sick Euthyroid Syndrome. *Journal of Biological Chemistry*. 2000;275(49):38296-301.

87. Portnay GI, O'Brian JT, Bush J, Vagenakis AG, Azizi F, Arky RA, et al. The Effect of Starvation on the Concentration and Binding of Thyroxine and Triiodothyronine in Serum and on the Response to TRH. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1974;39(1):191-4.

88. Harris AR, Fang SL, Vagenakis AG, Braverman LE. Effect of starvation, nutriment replacement, and hypothyroidism on in vitro hepatic T4 to T3 conversion in the rat. *Metabolism: clinical and experimental*. 1978;27(11):1680-90.

89. Kinlaw WB, Schwartz HL, Oppenheimer JH. Decreased serum triiodothyronine in starving rats is due primarily to diminished thyroidal secretion of thyroxine. *Journal of Clinical Investigation*. 1985;75(4):1238-41.

90. Légrádi G, Emerson CH, Ahima RS, Flier JS, Lechan RM. Leptin prevents fasting-induced suppression of prothyrotropin-releasing hormone messenger ribonucleic acid in neurons of the hypothalamic paraventricular nucleus. *Endocrinology*. 1997;138(6):2569-76.

91. Goodman MN, Larsen PR, Kaplan MM, Aoki TT, Young VR, Ruderman NB. Starvation in the rat. II. Effect of age and obesity on protein sparing and fuel metabolism. *The American journal of physiology*. 1980;239(4):E277-E86.

92. Vignati L, Finley RJ, Hagg S, Aoki TT. Protein conservation during prolonged fast: a function of triiodothyronine levels. *Transactions of the Association of American Physicians*. 1978;91:169-79.

93. Beckett GJ, Beddows SE, Morrice PC, Nicol F, Arthur JR. Inhibition of hepatic deiodination of thyroxine is caused by selenium deficiency in rats. *The Biochemical journal*. 1987;248(2):443-7.

94. DePalo D, Kinlaw WB, Zhao C, Engelberg-Kulka H, St Germain DL. Effect of selenium deficiency on type I 5'-deiodinase. *The Journal of biological chemistry*. 1994;269(23):16223-8.
95. Calomme M, Vanderpas J, François B, Van Caillie-Bertrand M, Vanovervelt N, Van Hoorebeke C, et al. Effects of selenium supplementation on thyroid hormone metabolism in phenylketonuria subjects on a phenylalanine restricted diet. *Biological trace element research*. 47(1-3):349-53.
96. Vanderpas JB, Contempré B, Duale NL, Goossens W, Bebe N, Thorpe R, et al. Iodine and selenium deficiency associated with cretinism in northern Zaire. *The American journal of clinical nutrition*. 1990;52(6):1087-93.
97. Salvatore D, Bartha T, Harney JW, Larsen PR. Molecular biological and biochemical characterization of the human type 2 selenodeiodinase. *Endocrinology*. 1996;137(8):3308-15.
98. Baqui MM, Gereben B, Harney JW, Larsen PR, Bianco AC. Distinct subcellular localization of transiently expressed types 1 and 2 iodothyronine deiodinases as determined by immunofluorescence confocal microscopy. *Endocrinology*. 2000;141(11):4309-12.
99. Silva JE, Larsen PR. Contributions of plasma triiodothyronine and local thyroxine monodeiodination to triiodothyronine to nuclear triiodothyronine receptor saturation in pituitary, liver, and kidney of hypothyroid rats. Further evidence relating saturation of pituitary nuclei. *The Journal of clinical investigation*. 1978;61(5):1247-59.
100. Gereben B, Goncalves C, Harney JW, Larsen PR, Bianco AC. Selective proteolysis of human type 2 deiodinase: a novel ubiquitin-proteasomal mediated mechanism for regulation of hormone activation. *Molecular endocrinology (Baltimore, Md)*. 2000;14(11):1697-708.
101. Bartha T, Kim S-W, Salvatore D, Gereben B, Tu HM, Harney JW, et al. Characterization of the 5'-Flanking and 5'-Untranslated Regions of the Cyclic Adenosine 3',5'-Monophosphate-Responsive Human Type 2 Iodothyronine Deiodinase Gene 1. *Endocrinology*. 2000;141(1):229-37.
102. Silva JE, Larsen PR. Adrenergic activation of triiodothyronine production in brown adipose tissue. *Nature*. 305(5936):712-3.

103. Silva JE, Larsen PR. Hormonal regulation of iodothyronine 5'-deiodinase in rat brown adipose tissue. *The American journal of physiology*. 1986;251(6 Pt 1):E639-43.
104. Watanabe M, Houten SM, Matakaki C, Christoffolete MA, Kim BW, Sato H, et al. Bile acids induce energy expenditure by promoting intracellular thyroid hormone activation. *Nature*. 2006;439(7075):484-9.
105. da-Silva WS, Harney JW, Kim BW, Li J, Bianco SDC, Crescenzi A, et al. The Small Polyphenolic Molecule Kaempferol Increases Cellular Energy Expenditure and Thyroid Hormone Activation. *Diabetes*. 2007;56(3):767-76.
106. Burmeister LA, Pachucki J, St Germain DL. Thyroid hormones inhibit type 2 iodothyronine deiodinase in the rat cerebral cortex by both pre- and posttranslational mechanisms. *Endocrinology*. 1997;138(12):5231-7.
107. Leonard JL, Kaplan MM, Visser TJ, Silva JE, Larsen PR. Cerebral cortex responds rapidly to thyroid hormones. *Science (New York, NY)*. 1981;214(4520):571-3.
108. Coux O, Tanaka K, Goldberg AL. Structure and functions of the 20S and 26S proteasomes. *Annual review of biochemistry*. 1996;65:801-47.
109. Li Z, Na X, Wang D, Schoen SR, Messing EM, Wu G. Ubiquitination of a novel deubiquitinating enzyme requires direct binding to von Hippel-Lindau tumor suppressor protein. *The Journal of biological chemistry*. 2002;277(7):4656-62.
110. Moreno M, Berry MJ, Horst C, Thoma R, Goglia F, Harney JW, et al. Activation and inactivation of thyroid hormone by type I iodothyronine deiodinase. *FEBS letters*. 1994;344(2-3):143-6.
111. Huang SA, Tu HM, Harney JW, Venihaki M, Butte AJ, Kozakewich HP, et al. Severe hypothyroidism caused by type 3 iodothyronine deiodinase in infantile hemangiomas. *The New England journal of medicine*. 2000;343(3):185-9.
112. Richard K, Hume R, Kaptein E, Sanders JP, van Toor H, De Herder WW, et al. Ontogeny of iodothyronine deiodinases in human liver. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1998;83(8):2868-74.
113. Huang SA, Fish SA, Dorfman DM, Salvatore D, Kozakewich HPW, Mandel SJ, et al. A 21-year-old woman with consumptive hypothyroidism due to a vascular tumor expressing type 3 iodothyronine deiodinase. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2002;87(10):4457-61.

114. Santini F, Vitti P, Chiovato L, Ceccarini G, Macchia M, Montanelli L, et al. Role for inner ring deiodination preventing transcutaneous passage of thyroxine. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2003;88(6):2825-30.
115. Fay M, Roti E, Fang SL, Wright G, Braverman LE, Emerson CH. The effects of propylthiouracil, iodothyronines, and other agents on thyroid hormone metabolism in human placenta. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1984;58(2):280-6.
116. Kaplan MM, Yaskoski KA. Phenolic and Tyrosyl Ring Deiodination of Iodothyronines in Rat Brain Homogenates. *Journal of Clinical Investigation*. 1980;66(3):551-62.
117. Tu HM, Legradi G, Bartha T, Salvatore D, Lechan RM, Larsen PR. Regional expression of the type 3 iodothyronine deiodinase messenger ribonucleic acid in the rat central nervous system and its regulation by thyroid hormone. *Endocrinology*. 1999;140(2):784-90.
118. Esfandiari A, Courtin F, Lennon AM, Gavaret JM, Pierre M. Induction of type III deiodinase activity in astroglial cells by thyroid hormones. *Endocrinology*. 1992;131(4):1682-8.
119. Peeters RP, Wouters PJ, Kaptein E, van Toor H, Visser TJ, Van den Berghe G. Reduced activation and increased inactivation of thyroid hormone in tissues of critically ill patients. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2003;88(7):3202-11.
120. Wassen FWJS, Schiel AE, Kuiper GGJM, Kaptein E, Bakker O, Visser TJ, et al. Induction of thyroid hormone-degrading deiodinase in cardiac hypertrophy and failure. *Endocrinology*. 2002;143(7):2812-5.
121. Pol CJ, Muller A, Zuidwijk MJ, van Deel ED, Kaptein E, Saba A, et al. Left-ventricular remodeling after myocardial infarction is associated with a cardiomyocyte-specific hypothyroid condition. *Endocrinology*. 2011;152(2):669-79.
122. Sekura RD, Sato K, Cahnmann HJ, Robbins J, Jakoby WB. Sulfate transfer to thyroid hormones and their analogs by hepatic aryl sulfotransferases. *Endocrinology*. 1981;108(2):454-6.
123. Visser TJ. Role of sulfation in thyroid hormone metabolism. *Chemico-biological interactions*. 1994;92(1-3):293-303.

124. Rooda SJE, Kaptein E, Visser TJ. Serum Triiodothyronine Sulfate in Man Measured by Radioimmunoassay. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1989;69(3):552-6.
125. Curran PG, DeGroot LJ. The effect of hepatic enzyme-inducing drugs on thyroid hormones and the thyroid gland. *Endocrine reviews*. 1991;12(2):135-50.
126. Docter R, Krenning EP, de Jong M, Hennemann G. The sick euthyroid syndrome: changes in thyroid hormone serum parameters and hormone metabolism. *Clinical endocrinology*. 1993;39(5):499-518.
127. Bartalena L, Bogazzi F, Brogioni S, Grasso L, Martino E. Role of cytokines in the pathogenesis of the euthyroid sick syndrome. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 1998;138(6):603-14.
128. Boelen A, Kwakkel J, Thijssen-Timmer DC, Alkemade A, Fliers E, Wiersinga WM. Simultaneous changes in central and peripheral components of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in lipopolysaccharide-induced acute illness in mice. *The Journal of endocrinology*. 2004;182(2):315-23.
129. Chopra IJ, Huang TS, Boado R, Solomon DH, Chua Teco GN. Evidence against benefit from replacement doses of thyroid hormones in nonthyroidal illness (NTI): studies using turpentine oil-injected rat. *Journal of endocrinological investigation*. 1987;10(6):559-64.
130. Knapp S, Leemans JC, Florquin S, Branger J, Maris NA, Pater J, et al. Alveolar Macrophages Have a Protective Antiinflammatory Role during Murine Pneumococcal Pneumonia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2003;167(2):171-9.
131. Weekers F, Van Herck E, Coopmans W, Michalaki M, Bowers CY, Veldhuis JD, et al. A novel in vivo rabbit model of hypercatabolic critical illness reveals a biphasic neuroendocrine stress response. *Endocrinology*. 2002;143(3):764-74.
132. Fliers E, Guldenaar SE, Wiersinga WM, Swaab DF. Decreased hypothalamic thyrotropin-releasing hormone gene expression in patients with nonthyroidal illness. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1997;82(12):4032-6.
133. Boelen A, Kwakkel J, Wiersinga WM, Fliers E. Chronic local inflammation in mice results in decreased TRH and type 3 deiodinase mRNA expression in the hypothalamic paraventricular nucleus independently of diminished food intake. *The Journal of endocrinology*. 2006;191(3):707-14.

134. Fekete C, Sarkar S, Christoffolete MA, Emerson CH, Bianco AC, Lechan RM. Bacterial lipopolysaccharide (LPS)-induced type 2 iodothyronine deiodinase (D2) activation in the mediobasal hypothalamus (MBH) is independent of the LPS-induced fall in serum thyroid hormone levels. *Brain research*. 2005;1056(1):97-9.
135. de Vries EM, Kwakkel J, Eggels L, Kalsbeek A, Barrett P, Fliers E, et al. NF κ B Signaling Is Essential for the Lipopolysaccharide-Induced Increase of Type 2 Deiodinase in Tanycytes. *Endocrinology*. 2014;155(5):2000-8.
136. Freitas BCG, Gereben B, Castillo M, Kalló I, Zeöld A, Egri P, et al. Paracrine signaling by glial cell-derived triiodothyronine activates neuronal gene expression in the rodent brain and human cells. *Journal of Clinical Investigation*. 2010;120(6):2206-17.
137. Kakucska I, Romero LI, Clark BD, Rondeel JM, Qi Y, Alex S, et al. Suppression of thyrotropin-releasing hormone gene expression by interleukin-1-beta in the rat: implications for nonthyroidal illness. *Neuroendocrinology*. 1994;59(2):129-37.
138. Mebis L, Debaveye Y, Ellger B, Derde S, Ververs E-J, Langouche L, et al. Changes in the central component of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in a rabbit model of prolonged critical illness. *Critical Care*. 2009;13(5):R147-R.
139. Boelen A, Kwakkel J, Chassande O, Fliers E. Thyroid hormone receptor β mediates acute illness-induced alterations in central thyroid hormone metabolism. *Journal of neuroendocrinology*. 2009;21(5):465-72.
140. Fekete C, Freitas BCG, Zeöld A, Wittmann G, Kádár A, Liposits Z, et al. Expression Patterns of WSB-1 and USP-33 Underlie Cell-Specific Posttranslational Control of Type 2 Deiodinase in the Rat Brain. *Endocrinology*. 2007;148(10):4865-74.
141. Harel G, Shamoun DS, Kane JP, Magner JA, Szabo M. Prolonged effects of tumor necrosis factor-alpha on anterior pituitary hormone release. *Peptides*. 1995;16(4):641-5.
142. Rasmussen AK, Kayser L, Feldt-Rasmussen U, Bendtzen K. Influence of tumour necrosis factor-alpha, tumour necrosis factor-beta and interferon-gamma, separately and added together with interleukin-1 beta, on the function of cultured human thyroid cells. *The Journal of endocrinology*. 1994;143(2):359-65.
143. Sato K, Satoh T, Shizume K, Ozawa M, Han DC, Imamura H, et al. Inhibition of ¹²⁵I organification and thyroid hormone release by interleukin-1, tumor necrosis

factor-alpha, and interferon-gamma in human thyrocytes in suspension culture. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1990;70(6):1735-43.

144. Asakawa H, Miyagawa J, Kobayashi T, Hanafusa T, Kuwajima M, Matsuzawa Y. Effects of interleukin-1 beta on scanning electron microscopic appearance and thyroid peroxidase content of human thyrocytes in monolayer culture. *Immunopharmacology*. 1996;34(2-3):131-7.

145. Tominaga T, Yamashita S, Nagayama Y, Morita S, Yokoyama N, Izumi M, et al. Interleukin 6 inhibits human thyroid peroxidase gene expression. *Acta endocrinologica*. 1991;124(3):290-4.

146. Krogh Rasmussen A, Kayser L, Bech K, Feldt-Rasmussen U, Perrild H, Bendtzen K. Influence of interleukin 6 on the function of secondary cultures of human thyrocytes. *Acta endocrinologica*. 1991;124(5):577-82.

147. Kung AW, Ma L, Lau KS. The role of interferon-gamma in lymphocytic thyroiditis: its functional and pathological effect on human thyrocytes in culture. *Clinical and experimental immunology*. 1992;87(2):261-5.

148. Ashizawa K, Yamashita S, Nagayama Y, Kimura H, Hirayu H, Izumi M, et al. INTERFERON- γ INHIBITS THYROTROPIN-INDUCED THYROIDAL PEROXIDASE GENE EXPRESSION IN CULTURED HUMAN THYROCYTES. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1989;69(2):475-7.

149. Nishikawa T, Yamashita S, Namba H, Usa T, Tominaga T, Kimura H, et al. Interferon-gamma inhibition of human thyrotropin receptor gene expression. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1993;77(4):1084-9.

150. Ajjan RA, Watson PF, Findlay C, Metcalfe RA, Crisp M, Ludgate M, et al. The sodium iodide symporter gene and its regulation by cytokines found in autoimmunity. *The Journal of endocrinology*. 1998;158(3):351-8.

151. Caturegli P, Hejazi M, Suzuki K, Dohan O, Carrasco N, Kohn LD, et al. Hypothyroidism in transgenic mice expressing IFN-gamma in the thyroid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2000;97(4):1719-24.

152. Deuss U, Buscema M, Schumacher H, Winkelmann W. In vitro effects of tumor necrosis factor-alpha on human thyroid follicular cells. *Acta endocrinologica*. 1992;127(3):220-5.

153. Sugiyama D, Kusuhara H, Taniguchi H, Ishikawa S, Nozaki Y, Aburatani H, et al. Functional characterization of rat brain-specific organic anion transporter (Oatp14)

at the blood-brain barrier: high affinity transporter for thyroxine. *The Journal of biological chemistry*. 2003;278(44):43489-95.

154. Alkemade A, Friesema EC, Unmehopa UA, Fabriek BO, Kuiper GG, Leonard JL, et al. Neuroanatomical Pathways for Thyroid Hormone Feedback in the Human Hypothalamus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005;90(7):4322-34.

155. Visser WE, Friesema ECH, Visser TJ. Minireview: thyroid hormone transporters: the knowns and the unknowns. *Molecular endocrinology* (Baltimore, Md). 2011;25(1):1-14.

156. Boelen A, Kwakkel J, Alkemade A, Renckens R, Kaptein E, Kuiper G, et al. Induction of Type 3 Deiodinase Activity in Inflammatory Cells of Mice with Chronic Local Inflammation. *Endocrinology*. 2005;146(12):5128-34.

157. Köhrle J. The deiodinase family: selenoenzymes regulating thyroid hormone availability and action. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. 2000;57(13-14):1853-63.

158. Boelen A, Boorsma J, Kwakkel J, Wieland CW, Renckens R, Visser TJ, et al. Type 3 deiodinase is highly expressed in infiltrating neutrophilic granulocytes in response to acute bacterial infection. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association*. 2008;18(10):1095-103.

159. Beigneux AP, Moser AH, Shigenaga JK, Grunfeld C, Feingold KR. Sick euthyroid syndrome is associated with decreased TR expression and DNA binding in mouse liver. *American journal of physiology Endocrinology and metabolism*. 2003;284(1):E228-36.

160. Kwakkel J. Differential involvement of nuclear factor- κ B and activator protein-1 pathways in the interleukin-1 α -mediated decrease of deiodinase type 1 and thyroid hormone receptor 1 mRNA. *Journal of Endocrinology*. 2006;189(1):37-44.

161. Jakobs TC, Schmutzler C, Meissner J, Köhrle J. The promoter of the human type I 5'-deiodinase gene--mapping of the transcription start site and identification of a DR+4 thyroid-hormone-responsive element. *European journal of biochemistry / FEBS*. 1997;247(1):288-97.

162. Kwakkel J, Chassande O, van Beeren HC, Fliers E, Wiersinga WM, Boelen A. Thyroid Hormone Receptor α Modulates Lipopolysaccharide-Induced Changes in Peripheral Thyroid Hormone Metabolism. *Endocrinology*. 2010;151(4):1959-69.

163. Yu J, Koenig RJ. Induction of type 1 iodothyronine deiodinase to prevent the nonthyroidal illness syndrome in mice. *Endocrinology*. 2006;147(7):3580-5.
164. Nagaya T, Fujieda M, Otsuka G, Yang JP, Okamoto T, Seo H. A potential role of activated NF-kappa B in the pathogenesis of euthyroid sick syndrome. *The Journal of clinical investigation*. 2000;106(3):393-402.
165. Goswami A, Rosenberg IN. Thioredoxin stimulates enzymatic outer ring monodeiodination of reverse triiodothyronine. *Endocrinology*. 1987;121(6):1937-45.
166. Wajner SM, Goemann IM, Bueno AL, Larsen PR, Maia AL. IL-6 promotes nonthyroidal illness syndrome by blocking thyroxine activation while promoting thyroid hormone inactivation in human cells. *The Journal of clinical investigation*. 2011;121(5):1834-45.
167. St Germain DL, Galton VA, Hernandez A. Minireview: Defining the roles of the iodothyronine deiodinases: current concepts and challenges. *Endocrinology*. 2009;150(3):1097-107.
168. Debaveye Y, Ellger B, Mebis L, Visser TJ, Darras VM, Van den Berghe G. Effects of substitution and high-dose thyroid hormone therapy on deiodination, sulfoconjugation, and tissue thyroid hormone levels in prolonged critically ill rabbits. *Endocrinology*. 2008;149(8):4218-28.
169. Zeöld A, Doleschall M, Haffner MC, Capelo LP, Menyhért J, Liposits Z, et al. Characterization of the nuclear factor-kappa B responsiveness of the human *dio2* gene. *Endocrinology*. 2006;147(9):4419-29.
170. Diano S, Naftolin F, Goglia F, Horvath TL. Fasting-Induced Increase in Type II Iodothyronine Deiodinase Activity and Messenger Ribonucleic Acid Levels Is Not Reversed by Thyroxine in the Rat Hypothalamus 1. *Endocrinology*. 1998;139(6):2879-84.
171. Mebis L, Langouche L, Visser TJ, Van den Berghe G. The type II iodothyronine deiodinase is up-regulated in skeletal muscle during prolonged critical illness. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2007;92(8):3330-3.
172. Kwakkel J, van Beeren HC, Ackermans MT, Platvoet-Ter Schiphorst MC, Fliers E, Wiersinga WM, et al. Skeletal muscle deiodinase type 2 regulation during illness in mice. *The Journal of endocrinology*. 2009;203(2):263-70.
173. Ma S-F, Xie L, Pino-Yanes M, Sammani S, Wade MS, Letsiou E, et al. Type 2 Deiodinase and Host Responses of Sepsis and Acute Lung Injury. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 2011;45(6):1203-11.

174. Barca-Mayo O, Liao XH, DiCosmo C, Dumitrescu A, Moreno-Vinasco L, Wade MS, et al. Role of type 2 deiodinase in response to acute lung injury (ALI) in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011;108(49):E1321-E9.
175. Lentsch AB, Czermak BJ, Bless NM, Ward PA. NF-kappaB activation during IgG immune complex-induced lung injury: requirements for TNF-alpha and IL-1beta but not complement. *The American journal of pathology*. 1998;152(5):1327-36.
176. Wang G, Huang X, Li Y, Guo K, Ning P, Zhang Y. PARP-1 inhibitor, DPQ, attenuates LPS-induced acute lung injury through inhibiting NF-kB-mediated inflammatory response. *PloS one*. 2013;8(11):e79757-e.
177. 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. *The Journal of clinical investigation*. 2015;125(2):769-81.
178. de Vries EM, Eggels L, van Beeren HC, Ackermans MT, Kalsbeek A, Fliers E, et al. Fasting-Induced Changes in Hepatic Thyroid Hormone Metabolism in Male Rats Are Independent of Autonomic Nervous Input to the Liver. *Endocrinology*. 2014;155(12):5033-41.
179. Boelen A, van Beeren M, Vos X, Surovtseva O, Belegri E, Saaltink D-J, et al. Leptin Administration Restores the Fasting-Induced Increase of Hepatic Type 3 Deiodinase Expression in Mice. *Thyroid*. 2012;22(2):192-9.
180. Simonides WS, Mulcahey MA, Redout EM, Muller A, Zuidwijk MJ, Visser TJ, et al. Hypoxia-inducible factor induces local thyroid hormone inactivation during hypoxic-ischemic disease in rats. *The Journal of clinical investigation*. 2008;118(3):975-83.
181. Boelen A, Kwakkel J, Wieland CW, St Germain DL, Fliers E, Hernandez A. Impaired bacterial clearance in type 3 deiodinase-deficient mice infected with *Streptococcus pneumoniae*. *Endocrinology*. 2009;150(4):1984-90.
182. Visser TJ, Kaptein E, Glatt H, Bartsch I, Hagen M, Coughtrie MW. Characterization of thyroid hormone sulfotransferases. *Chemico-biological interactions*. 1998;109(1-3):279-91.
183. Peeters RP, Kester MHA, Wouters PJ, Kaptein E, van Toor H, Visser TJ, et al. Increased thyroxine sulfate levels in critically ill patients as a result of a decreased hepatic type I deiodinase activity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2005;90(12):6460-5.

184. Taurog A, Briggs FN, Chaikoff IL. I131-labeled 1-thyroxine. II. Nature of the excretion product in bile. *The Journal of biological chemistry*. 1952;194(2):655-68.
185. Barrett NA, Jones A, Whiteley C, Yassin S, McKenzie CA. Management of long-term hypothyroidism: a potential marker of quality of medicines reconciliation in the intensive care unit. *International Journal of Pharmacy Practice*. 2012;20(5):303-6.
186. Wartofsky L, Burman KD. Alterations in thyroid function in patients with systemic illness: the "euthyroid sick syndrome". *Endocrine reviews*. 1982;3(2):164-217.
187. Ringel MD. Management of hypothyroidism and hyperthyroidism in the intensive care unit. *Critical care clinics*. 2001;17(1):59-74.
188. Fliers E, Wiersinga WM. Myxedema coma. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*. 2003;4(2):137-41.
189. Brent GA, Hershman JM. Thyroxine Therapy in Patients with Severe Nonthyroidal Illnesses and Low Serum Thyroxine Concentration*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1986;63(1):1-8.
190. Klemperer JD, Klein I, Gomez M, Helm RE, Ojamaa K, Thomas SJ, et al. Thyroid hormone treatment after coronary-artery bypass surgery. *The New England journal of medicine*. 1995;333(23):1522-7.
191. Pingitore A, Galli E, Barison A, Iervasi A, Scarlattini M, Nucci D, et al. Acute effects of triiodothyronine (T3) replacement therapy in patients with chronic heart failure and low-T3 syndrome: a randomized, placebo-controlled study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2008;93(4):1351-8.
192. Kaptein EM, Beale E, Chan LS. Thyroid Hormone Therapy for Obesity and Nonthyroidal Illnesses : A Systematic Review. *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009;94(October):3663-75.
193. Koenig RJ. Modeling the nonthyroidal illness syndrome. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity*. 2008;15(5):466-9.
194. Holland FW, Brown PS, Weintraub BD, Clark RE. Cardiopulmonary bypass and thyroid function: a "euthyroid sick syndrome". *The Annals of thoracic surgery*. 1991;52(1):46-50.
195. Acker CG, Singh AR, Flick RP, Bernardini J, Greenberg A, Johnson JP. A trial of thyroxine in acute renal failure. *Kidney international*. 2000;57(1):293-8.
196. Van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, Mohan S, Baxter RC, Veldhuis JD, et al. Reactivation of pituitary hormone release and metabolic improvement by

infusion of growth hormone-releasing peptide and thyrotropin-releasing hormone in patients with protracted critical illness. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1999;84(4):1311-23.

197. Suda AK, Pittman CS, Shimizu T, Chambers JB. The production and metabolism of 3,5,3'-triiodothyronine and 3,3',5-triiodothyronine in normal and fasting subjects. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1978;47(6):1311-9.

198. Gardner DF, Kaplan MM, Stanley CA, Utiger RD. Effect of tri-iodothyronine replacement on the metabolic and pituitary responses to starvation. *The New England journal of medicine*. 1979;300(11):579-84.

199. Weintraub BD, Gesundheit N, Taylor T, Gyves PW. Effect of TRH on TSH glycosylation and biological action. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1989;553:205-13.

200. Danforth E, Burger AG. The impact of nutrition on thyroid hormone physiology and action. *Annual review of nutrition*. 1989;9:201-27.

201. Azizi F. Effect of dietary composition on fasting-induced changes in serum thyroid hormones and thyrotropin. *Metabolism: clinical and experimental*. 1978;27(8):935-42.

202. Grunfeld C, Pang M, Doerrler W, Jensen P, Shimizu L, Feingold KR, et al. Indices of thyroid function and weight loss in human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. *Metabolism: clinical and experimental*. 1993;42(10):1270-6.

203. Sellmeyer DE, Grunfeld C. Endocrine and metabolic disturbances in human immunodeficiency virus infection and the acquired immune deficiency syndrome. *Endocrine reviews*. 1996;17(5):518-32.

204. LoPresti JS, Fried JC, Spencer CA, Nicoloff JT. Unique alterations of thyroid hormone indices in the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Annals of internal medicine*. 1989;110(12):970-5.

205. Madeddu G, Spanu A, Chessa F, Calia GM, Lovigu C, Solinas P, et al. Thyroid function in human immunodeficiency virus patients treated with highly active antiretroviral therapy (HAART): a longitudinal study. *Clinical endocrinology*. 2006;64(4):375-83.

206. Polikar R, Burger AG, Scherrer U, Nicod P. The thyroid and the heart. *Circulation*. 1993;87(5):1435-41.

207. Pavlou HN, Kliridis PA, Panagiotopoulos AA, Goritsas CP, Vassilakos PJ. Euthyroid sick syndrome in acute ischemic syndromes. *Angiology*. 53(6):699-707.
208. Iltumur K, Olmez G, Ariturk Z, Taskesen T, Toprak N. Clinical investigation: thyroid function test abnormalities in cardiac arrest associated with acute coronary syndrome. *Critical care (London, England)*. 2005;9(4):R416-24.
209. Opasich C, Pacini F, Ambrosino N, Riccardi PG, Febo O, Ferrari R, et al. Sick euthyroid syndrome in patients with moderate-to-severe chronic heart failure. *European heart journal*. 1996;17(12):1860-6.
210. Iervasi G, Pingitore A, Landi P, Raciti M, Ripoli A, Scarlattini M, et al. Low-T3 syndrome: a strong prognostic predictor of death in patients with heart disease. *Circulation*. 2003;107(5):708-13.
211. Kaptein EM. Thyroid hormone metabolism and thyroid diseases in chronic renal failure. *Endocrine reviews*. 1996;17(1):45-63.
212. Gavin LA, McMahon FA, Castle JN, Cavalieri RR. Alterations in serum thyroid hormones and thyroxine-binding globulin in patients with nephrosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1978;46(1):125-30.
213. Wiederkehr MR, Kalogiros J, Krapf R. Correction of metabolic acidosis improves thyroid and growth hormone axes in haemodialysis patients. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2004;19(5):1190-7.
214. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G, Cutrupi S, Pizzini P. Low triiodothyronine and survival in end-stage renal disease. *Kidney international*. 2006;70(3):523-8.
215. Silverberg DS, Ulan RA, Fawcett DM, Dossetor JB, Grace M, Bettcher K. Effects of chronic hemodialysis on thyroid function in chronic renal failure. *Canadian Medical Association journal*. 1973;109(4):282-6.
216. Güven K, Kelestimur F, Yücesoy M. Thyroid function tests in non-alcoholic cirrhotic patients with hepatic encephalopathy. *The European journal of medicine*. 1993;2(2):83-5.
217. Gardner DF, Carithers RL, Utiger RD. Thyroid function tests in patients with acute and resolved hepatitis B virus infection. *Annals of internal medicine*. 1982;96(4):450-2.
218. Kano T, Kojima T, Takahashi T, Muto Y. Serum thyroid hormone levels in patients with fulminant hepatitis: usefulness of rT3 and the rT3/T3 ratio as prognostic indices. *Gastroenterologia Japonica*. 1987;22(3):344-53.

219. Schussler GC, Schaffner F, Korn F. Increased serum thyroid hormone binding and decreased free hormone in chronic active liver disease. *The New England journal of medicine*. 1978;299(10):510-5.
220. Elta GH, Sepersky RA, Goldberg MJ, Connors CM, Miller KB, Kaplan MM. Increased incidence of hypothyroidism in primary biliary cirrhosis. *Digestive diseases and sciences*. 1983;28(11):971-5.
221. Karadag F, Ozcan H, Karul AB, Yilmaz M, Cildag O. Correlates of non-thyroidal illness syndrome in chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory medicine*. 2007;101(7):1439-46.
222. Biondi B. Thyroid and obesity: an intriguing relationship. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2010;95(8):3614-7.
223. Duntas LH, Biondi B. The Interconnections Between Obesity, Thyroid Function, and Autoimmunity: The Multifold Role of Leptin. *Thyroid*. 2013;23(6):646-53.
224. Baron DN. Hypothyroidism; its aetiology and relation to hypometabolism, hypercholesterolaemia, and increase in body-weight. *Lancet (London, England)*. 1956;271(6937):277-81.
225. Johnson W. SYMPTOMS OF HYPERTHYROIDISM OBSERVED IN EXHAUSTED SOLDIERS. *British medical journal*. 1919;1(3038):335-7.
226. Danforth E, Horton ES, O'Connell M, Sims EA, Burger AG, Ingbar SH, et al. Dietary-induced alterations in thyroid hormone metabolism during overnutrition. *The Journal of clinical investigation*. 1979;64(5):1336-47.
227. Spaulding SW, Chopra IJ, Sherwin RS, Lyall SS. Effect of caloric restriction and dietary composition of serum T3 and reverse T3 in man. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1976;42(1):197-200.
228. Rimm AA, Werner LH, Yserloo BV, Bernstein RA. Relationship of obesity and disease in 73,532 weight-conscious women. *Public health reports (Washington, DC : 1974)*. 90(1):44-51.
229. Coppola A, Liu Z-W, Andrews ZB, Paradis E, Roy M-C, Friedman JM, et al. A Central Thermogenic-like Mechanism in Feeding Regulation: An Interplay between Arcuate Nucleus T3 and UCP2. *Cell Metabolism*. 2007;5(1):21-33.
230. Decherf S, Seugnet I, Kouidhi S, Lopez-Juarez A, Clerget-Froidevaux MS, Demeneix BA. Thyroid hormone exerts negative feedback on hypothalamic type 4

melanocortin receptor expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(9):4471-6.

231. Murphy M, Ebling FJP. The role of hypothalamic tri-iodothyronine availability in seasonal regulation of energy balance and body weight. *Journal of thyroid research*. 2011;2011:387562-.

232. Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature*. 1998;395(6704):763-70.

233. Nillni EA. Regulation of the hypothalamic thyrotropin releasing hormone (TRH) neuron by neuronal and peripheral inputs. *Frontiers in neuroendocrinology*. 2010;31(2):134-56.

234. Mantzoros CS, Ozata M, Negrao AB, Suchard MA, Ziotopoulou M, Caglayan S, et al. Synchronicity of Frequently Sampled Thyrotropin (TSH) and Leptin Concentrations in Healthy Adults and Leptin-Deficient Subjects: Evidence for Possible Partial TSH Regulation by Leptin in Humans. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2001;86(7):3284-91.

235. Farooqi IS, Matarese G, Lord GM, Keogh JM, Lawrence E, Agwu C, et al. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *Journal of Clinical Investigation*. 2002;110(8):1093-103.

236. Sorisky A, Bell A, Gagnon A. TSH receptor in adipose cells. *Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme*. 32(11-12):468-74.

237. Santini F, Galli G, Maffei M, Fierabracci P, Pelosini C, Marsili A, et al. Acute exogenous TSH administration stimulates leptin secretion in vivo. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2010;163(1):63-7.

238. Murakami M, Kamiya Y, Morimura T, Araki O, Imamura M, Ogiwara T, et al. Thyrotropin receptors in brown adipose tissue: thyrotropin stimulates type II iodothyronine deiodinase and uncoupling protein-1 in brown adipocytes. *Endocrinology*. 2001;142(3):1195-201.

239. Endo T, Kobayashi T. Thyroid-stimulating hormone receptor in brown adipose tissue is involved in the regulation of thermogenesis. *AJP: Endocrinology and Metabolism*. 2008;295(2):E514-E8.

240. Mouradian M, Abourizk N. Diabetes mellitus and thyroid disease. *Diabetes care*. 6(5):512-20.

241. Perros P, McCrimmon RJ, Shaw G, Frier BM. Frequency of thyroid dysfunction in diabetic patients: value of annual screening. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 1995;12(7):622-7.
242. Kadiyala R, Peter R, Okosieme OE. Thyroid dysfunction in patients with diabetes: clinical implications and screening strategies. *International journal of clinical practice*. 2010;64(8):1130-9.
243. Radaideh A-RM, Nusier MK, Amari FL, Bateiha AE, El-Khateeb MS, Naser AS, et al. Thyroid dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus in Jordan. *Saudi medical journal*. 2004;25(8):1046-50.
244. Díez JJ, Iglesias P. An analysis of the relative risk for hypothyroidism in patients with Type 2 diabetes. *Diabetic Medicine*. 2012;29(12):1510-4.
245. Díez JJ, Iglesias P. Subclinical hyperthyroidism in patients with type 2 diabetes. *Endocrine*. 2012;42(1):157-63.
246. Schlienger JL, Anceau A, Chabrier G, North ML, Stephan F. Effect of diabetic control on the level of circulating thyroid hormones. *Diabetologia*. 1982;22(6):486-8.
247. Radetti G, Drei F, Franzellin F, Pasquino B, Mengarda G. Thyroid function in type 1 juvenile diabetes mellitus: tendency to the low T3 syndrome. *Helvetica paediatrica acta*. 1985;40(6):461-6.
248. Dorchy H, Bourdoux P, Lemiére B. Subclinical thyroid hormone abnormalities in type I diabetic children and adolescents. Relationship to metabolic control. *Acta paediatrica Scandinavica*. 1985;74(3):386-9.
249. Kabadi UM. Impaired pituitary thyrotroph function in uncontrolled type II diabetes mellitus: normalization on recovery. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1984;59(3):521-5.
250. Moura Neto A, Parisi MCR, Tambascia MA, Pavin EJ, Alegre SM, Zantut-Wittmann DE. Relationship of thyroid hormone levels and cardiovascular events in patients with type 2 diabetes.1. Moura Neto A, Parisi MCR, Tambascia MA, Pavin EJ, Alegre SM, Zantut-Wittmann DE 2013 [cited 2013 Sep 20] Relationship of thyroid hormone levels and cardio. *Endocrine*. 2013.
251. Francisco G, Hernández C, Simó R. Serum markers of vascular inflammation in dyslipemia. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2006;369(1):1-16.

252. Ruan H, Lodish HF. Insulin resistance in adipose tissue: direct and indirect effects of tumor necrosis factor- α . *Cytokine & growth factor reviews*. 2003;14(5):447-55.
253. Montague CT, Prins JB, Sanders L, Zhang J, Sewter CP, Digby J, et al. Depot-related gene expression in human subcutaneous and omental adipocytes. *Diabetes*. 1998;47(9):1384-91.
254. Winkler G, Kiss S, Keszthelyi L, Sápi Z, Ory I, Salamon F, et al. Expression of tumor necrosis factor (TNF)- α protein in the subcutaneous and visceral adipose tissue in correlation with adipocyte cell volume, serum TNF- α , soluble serum TNF-receptor-2 concentrations and C-peptide level. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2003;149(2):129-35.
255. Hsueh WA, Law R. The central role of fat and effect of peroxisome proliferator-activated receptor- γ on progression of insulin resistance and cardiovascular disease. *The American journal of cardiology*. 2003;92(4A):3J-9J.
256. Darvall KAL, Sam RC, Silverman SH, Bradbury AW, Adam DJ. Obesity and thrombosis. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2007;33(2):223-33.
257. Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 1999;19(4):972-8.
258. Rauchhaus M, Doehner W, Francis DP, Davos C, Kemp M, Liebenthal C, et al. Plasma cytokine parameters and mortality in patients with chronic heart failure. *Circulation*. 2000;102(25):3060-7.
259. Choi KM, Ryu OH, Lee KW, Kim HY, Seo JA, Kim SG, et al. Serum adiponectin, interleukin-10 levels and inflammatory markers in the metabolic syndrome. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2007;75(2):235-40.
260. Mohan V, Deepa R, Pradeepa R, Vimalaswaran KS, Mohan A, Velmurugan K, et al. Association of low adiponectin levels with the metabolic syndrome—the Chennai Urban Rural Epidemiology Study (CURES-4). *Metabolism*. 2005;54(4):476-81.
261. Rexrode KM, Pradhan A, Manson JE, Buring JE, Ridker PM. Relationship of total and abdominal adiposity with CRP and IL-6 in women. *Annals of epidemiology*. 2003;13(10):674-82.

262. Hung J, McQuillan BM, Chapman CML, Thompson PL, Beilby JP. Elevated interleukin-18 levels are associated with the metabolic syndrome independent of obesity and insulin resistance. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2005;25(6):1268-73.
263. Abdellaoui A, Al-Khaffaf H. C-reactive protein (CRP) as a marker in peripheral vascular disease. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery*. 2007;34(1):18-22.
264. Duncan BB, Schmidt MI. Chronic activation of the innate immune system may underlie the metabolic syndrome. *São Paulo medical journal = Revista paulista de medicina*. 2001;119(3):122-7.
265. Bahia L, Aguiar LG, Villela N, Bottino D, Godoy-Matos AF, Geloneze B, et al. Relationship between adipokines, inflammation, and vascular reactivity in lean controls and obese subjects with metabolic syndrome. *Clinics (São Paulo, Brazil)*. 2006;61(5):433-40.
266. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation*. 2002;106(25):3143-421.
267. Festa A, D'Agostino R, Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation*. 2000;102(11). Festa A, D'Agostino R, Howard G, Mykkanen L, Tracy RP, Haffner SM. Chronic subclinical inflammation as part of the insulin resistance syndrome: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study (IRAS). *Circulation [Internet]*. 2000 Jul 4 [cited 2012 Jun 19];42-7.
268. Wu JT, Wu LL. Linking inflammation and atherogenesis: Soluble markers identified for the detection of risk factors and for early risk assessment. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2006;366(1-2):74-80.
269. Leinonen E, Hurt-Camejo E, Wiklund O, Hultén LM, Hiukka A, Taskinen M-R. Insulin resistance and adiposity correlate with acute-phase reaction and soluble cell adhesion molecules in type 2 diabetes. *Atherosclerosis*. 2003;166(2):387-94.
270. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *The New England journal of medicine*. 1999;340(2):115-26.
271. Wu T-L, Tsai IC, Chang P-Y, Tsao K-C, Sun C-F, Wu LL, et al. Establishment of an in-house ELISA and the reference range for serum amyloid A (SAA):

- complementarity between SAA and C-reactive protein as markers of inflammation. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2007;376(1-2):72-6.
272. Custro N, Scafidi V, Borsellino T. [Changes in the thyroid hormone picture that may be found in severely decompensated type II diabetics]. *Minerva medica*. 82(1-2):9-14.
273. Kabadi UM, Premachandra BN. Low triiodothyronine and raised reverse triiodothyronine levels in patients over fifty years of age who have type II diabetes mellitus: influence of metabolic control, not age. *Journal of the American Geriatrics Society*. 1984;32(5):375-9.
274. Rodriguez-Perez A, Palos-Paz F, Kaptein E, Visser TJ, Dominguez-Gerpe L, Alvarez-Escudero J, et al. Identification of molecular mechanisms related to nonthyroidal illness syndrome in skeletal muscle and adipose tissue from patients with septic shock. *Clinical endocrinology*. 2008;68(5):821-7.
275. Davies PH, Black EG, Sheppard MC, Franklyn JA. Relation between serum interleukin-6 and thyroid hormone concentrations in 270 hospital in-patients with non-thyroidal illness. *Clinical endocrinology*. 1996;44(2):199-205.
276. Boelen A, Kwakkel J, Fliers E. Beyond low plasma T3: local thyroid hormone metabolism during inflammation and infection. *Endocrine reviews*. 2011;32(5):670-93.
277. Rasouli N, Kern Pa. Adipocytokines and the metabolic complications of obesity. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2008;93(11 Suppl 1):S64-73.
278. Antuna-Puente B, Fève B, Fellahi S, Bastard JP. Adipokines: the missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes & metabolism*. 2008;34(1):2-11.
279. Calle MC, Fernandez ML. Inflammation and type 2 diabetes. *Diabetes & metabolism*. 2012;38(3):183-91.
280. Sánchez E, Singru PS, Fekete C, Lechan RM. Induction of type 2 iodothyronine deiodinase in the mediobasal hypothalamus by bacterial lipopolysaccharide: role of corticosterone. *Endocrinology*. 2008;149(5):2484-93.
281. Abo-Zenah HA, Shoeb SA, Sabry AA, Ismail HA. Relating circulating thyroid hormone concentrations to serum interleukins-6 and -10 in association with non-thyroidal illnesses including chronic renal insufficiency. *BMC endocrine disorders*. 2008;8:1-.

282. Boelen A, Platvoet-Ter Schiphorst MC, Wiersinga WM. Association between serum interleukin-6 and serum 3,5,3'-triiodothyronine in nonthyroidal illness. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1993;77(6):1695-9.
283. Lubrano V, Pingitore A, Carpi A, Iervasi G. Relationship between triiodothyronine and proinflammatory cytokines in chronic heart failure. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomédecine & pharmacothérapie*. 2010;64(3):165-9.
284. Marsili A, Aguayo-Mazzucato C, Chen T, Kumar A, Chung M, Lunsford EP, et al. Mice with a targeted deletion of the type 2 deiodinase are insulin resistant and susceptible to diet induced obesity. *PloS one*. 2011;6(6):e20832-e.
285. Leiria LB, Dora JM, Wajner SM, Estivalet AAF, Crispim D, Maia AL. The rs225017 polymorphism in the 3'UTR of the human DIO2 gene is associated with increased insulin resistance. *PloS one*. 2014;9(8):e103960-e.
286. Dora JM, Machado WE, Rheinheimer J, Crispim D, Maia AL. Association of the type 2 deiodinase Thr92Ala polymorphism with type 2 diabetes: case-control study and meta-analysis. *European Journal of Endocrinology*. 2010;163(3):427-34.
287. Heemstra KA, Soeters MR, Fliers E, Serlie MJ, Burggraaf J, van Doorn MB, et al. Type 2 Iodothyronine Deiodinase in Skeletal Muscle: Effects of Hypothyroidism and Fasting. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2009;94(6):2144-50.
288. Olivares EL, Marassi MP, Fortunato RS, da Silva ACM, Costa-e-Sousa RH, Araújo IG, et al. Thyroid function disturbance and type 3 iodothyronine deiodinase induction after myocardial infarction in rats a time course study. *Endocrinology*. 2007;148(10):4786-92.
289. Boelen A, Maas MA, Lowik CW, Platvoet MC, Wiersinga WM. Induced illness in interleukin-6 (IL-6) knock-out mice: a causal role of IL-6 in the development of the low 3,5,3'-triiodothyronine syndrome. *Endocrinology*. 1996;137(12):5250-4.
290. Bernasconi S, Vanelli M, Nori G, Siracusano MF, Marcellini C, Butturini A, et al. Serum TSH, T4, T3, FT4, FT3, rT3, and TBG in youngsters with non-ketotic insulin-dependent diabetes mellitus. *Hormone research*. 1984;20(4):213-7.
291. Chubb SAP, Davis WA, Davis TME. Interactions among thyroid function, insulin sensitivity, and serum lipid concentrations: the Fremantle diabetes study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2005;90(9):5317-20.

292. MacFarlane IA, Sheppard MC, Black EG, Gilbey S, Wright AD. The hypothalamic-pituitary-thyroid axis in type 1 diabetes: influence of diabetic metabolic control. *Acta endocrinologica*. 1984;106(1):92-6.
293. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*. 2005;54(6):1615-25.
294. Mehran L, Amouzegar A, Tohidi M, Moayedi M, Azizi F. Serum free thyroxine concentration is associated with metabolic syndrome in euthyroid subjects. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association*. 2014;24(11):1566-74.
295. Tarcin O, Abanonu GB, Yazici D, Tarcin O. Association of metabolic syndrome parameters with TT3 and FT3/FT4 ratio in obese Turkish population. *Metabolic syndrome and related disorders*. 2012;10(2):137-42.
296. Moran LJ, Teede HJ, Noakes M, Clifton PM, Norman RJ, Wittert GA. Sex hormone binding globulin, but not testosterone, is associated with the metabolic syndrome in overweight and obese women with polycystic ovary syndrome. *Journal of endocrinological investigation*. 2013;36(11):1004-10.
297. Debaveye Y, Ellger B, Mebis L, Darras VM, Van den Berghe G. Regulation of tissue iodothyronine deiodinase activity in a model of prolonged critical illness. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association*. 2008;18(5):551-60.
298. Vidart J, Wajner SM, Leite RS, Manica A, Schaan BD, Larsen PR, et al. N-Acetylcysteine Administration Prevents Nonthyroidal Illness Syndrome in Patients With Acute Myocardial Infarction: A Randomized Clinical Trial. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2014;99(12):4537-45.

ANEXOS

Anexo I. Termo de consentimento livre e esclarecido.

Projeto:

Síndrome do Eutireoidiano Doente em portadores de Diabetes Mellitus: padrão laboratorial e relação com controle glicêmico, complicações e atividade inflamatória.

Responsáveis pela pesquisa : Profa. Dra. Denise Engelbrecht Zantut Wittmann

Dr. Arnaldo Moura Neto

Eu,....., HC n°, anos,
portador do RG n°, residente à, n°,
Bairro, cidade de, Estado de,
telefone....., ou através de.....,
..... anos, RG n°, residente à, n°
....., Bairro, cidade de, Estado
....., telefone, grau de parentesco,
responsável por mim, concordo em participar da realização deste protocolo, observados
os itens abaixo.

OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA: Avaliar a prevalência da síndrome do eutireoidiano doente em pacientes portadores de DM sob cuidado ambulatorial. A verificação de síndrome do eutireoidiano doente (e particularmente baixos níveis de T_3 e T_3L) em portadores de DM pode ajudar na identificação de causas que alterem os perfis de hormônios tireoidianos e, sobretudo, apontar pacientes que estejam sob estado pró-inflamatório mais pronunciado e conseqüentemente sob maior risco de apresentar complicações e/ou maior mortalidade futura.

PROCEDIMENTOS A SEREM REALIZADOS Não haverá alteração na rotina de seguimento ambulatorial nem do tratamento do paciente que participar do estudo. Além dos exames de rotina do nosso ambulatório, os serão dosados T_3 , T_3L , T_4 , T_4L , TSH, rT_3 , globulina ligadora da tiroxina (TBG), anticorpo anti tireoperoxidase (AcTPO), anticorpo anti tireoglobulina (AcTG), anticorpo anti receptor de TSH (TRAB), IL-6 e PCR no início do estudo e após 1 ano de seguimento. Os pacientes serão tratados e seguidos por um período de 1 ano após início do estudo durante intervenção médica de rotina visando controle metabólico adequado do DM. A presença de complicações será relacionada a evolução e gravidade do perfil da síndrome do eutireoidiano doente. Não haverá estoque de material biológico para uso posterior neste estudo ou em outros futuros.

ESCLARECIMENTOS A equipe responsável pela pesquisa estará sempre pronta e preparada para esclarecer quaisquer dúvidas das pacientes a cerca de assuntos relacionados à pesquisa e ao tratamento, e compromete-se a proporcionar informação atualizada sobre o assunto em estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando da pesquisa.

O NÃO CONSENTIMENTO em participar do estudo ou a desistência de participar da pesquisa a qualquer tempo, não irá alterar o atendimento da paciente no ambulatório. Todos os dados referentes ao indivíduo no estudo serão mantidos em sigilo e a identificação do paciente em estudo não será exposta em conclusões ou publicações posteriores.

Telefone da secretaria da Disciplina de Endocrinologia: (019)3521-7703

Telefone da secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa: (019)3521-8936

Campinas, de de

.....
RESPONSÁVEL PELO ESTUDO

.....
PACIENTE OU RESPONSÁVEL

Anexo II. Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa com seres humanos da FDM-UNICAMP.



FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

www.fcm.unicamp.br/pesquisa/etica/index.html

CEP, 24/11/09.
(Grupo III)

PARECER CEP: Nº 1044/2009 (Este nº deve ser citado nas correspondências referente a este projeto)
CAAE: 0787.0.146.000-09

I - IDENTIFICAÇÃO:

PROJETO: "SÍNDROME DO EUTIREOIDIANO DOENTE EM PORTADORES DE DIABETES MELLITUS: PADRÃO LABORATORIAL E RELAÇÃO COM CONTROLE GLICÊMICO, COMPLICAÇÕES E ATIVIDADE INFLAMATÓRIA".

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: Arnaldo Moura Neto

INSTITUIÇÃO: Hospital das Clínicas/UNICAMP

APRESENTAÇÃO AO CEP: 09/11/2009

APRESENTAR RELATÓRIO EM: 24/11/10 (O formulário encontra-se no site acima)

II - OBJETIVOS

Avaliar a prevalência de síndrome do eutireoideo doente (SED) em pacientes portadores de Diabetes Mellitus(DM) sob cuidado ambulatorial.

III - SUMÁRIO

Verificação de SED em portadores de DM, de modo a identificar as causas da alteração dos perfis de hormônios tireoidianos e, apontar pacientes que estejam sob maior risco de apresentar complicações e/ou maior mortalidade futura.

IV - COMENTÁRIOS DOS RELATORES

Projeto bem redigido com Termo de Consentimento Livre e Esclarecido está adequado. Sem problemas éticos.

V - PARECER DO CEP

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP, após acatar os pareceres dos membros-relatores previamente designados para o presente caso e atendendo todos os dispositivos das Resoluções 196/96 e complementares, resolve aprovar sem restrições o Protocolo de Pesquisa, o Termo do Consentimento Livre e Esclarecido, bem como todos os anexos incluídos na pesquisa supracitada.

O conteúdo e as conclusões aqui apresentados são de responsabilidade exclusiva do CEP/FCM/UNICAMP e não representam a opinião da Universidade Estadual de Campinas nem a comprometem.



VI - INFORMAÇÕES COMPLEMENTARES

O sujeito da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (Res. CNS 196/96 – Item IV.1.f) e deve receber uma cópia do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, na íntegra, por ele assinado (Item IV.2.d).

Pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou (Res. CNS Item III.1.z), exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao sujeito participante ou quando constatar a superioridade do regime oferecido a um dos grupos de pesquisa (Item V.3.).

O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo (Res. CNS Item V.4.). É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas. Em caso de projeto do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial (Res. 251/97, Item III.2.e)

Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, de acordo com os prazos estabelecidos na Resolução CNS-MS 196/96.

VII – DATA DA REUNIÃO

Homologado na XI Reunião Ordinária do CEP/FCM, em 24 de novembro de 2009.

Profa. Dra. Carmen Silvia Bertuzzo
VICE-PRESIDENTE do COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FCM / UNICAMP

Anexo III. Artigo científico publicado.

RightsLink Printable License

03/03/16 19:09

SPRINGER LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Mar 03, 2016

This is a License Agreement between Arnaldo Moura Neto ("You") and Springer ("Springer") provided by Copyright Clearance Center ("CCC"). The license consists of your order details, the terms and conditions provided by Springer, and the payment terms and conditions.

All payments must be made in full to CCC. For payment instructions, please see information listed at the bottom of this form.

License Number	3821550110777
License date	Mar 03, 2016
Licensed content publisher	Springer
Licensed content publication	Endocrine
Licensed content title	Relation of thyroid hormone abnormalities with subclinical inflammatory activity in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus
Licensed content author	Arnaldo Moura Neto
Licensed content date	Jan 1, 2015
Volume number	51
Issue number	1
Type of Use	Thesis/Dissertation
Portion	Full text
Number of copies	1
Author of this Springer article	Yes and you are a contributor of the new work
Order reference number	None
Title of your thesis / dissertation	Relation of Thyroid Hormone Abnormalities with Subclinical Inflammatory Activity in Patients with Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus
Expected completion date	Mar 2016
Estimated size(pages)	132
Total	0.00 USD
Terms and Conditions	

Introduction

The publisher for this copyrighted material is Springer. By clicking "accept" in connection with completing this licensing transaction, you agree that the following terms and conditions apply to this transaction (along with the Billing and Payment terms and conditions established by Copyright Clearance Center, Inc. ("CCC"), at the time that you opened your Rightslink account and that are available at any time at <http://myaccount.copyright.com>).

Limited License

With reference to your request to reuse material on which Springer controls the copyright, permission is granted for the use indicated in your enquiry under the following conditions:

- Licenses are for one-time use only with a maximum distribution equal to the number stated in your request.

- Springer material represents original material which does not carry references to other sources. If the material in question appears with a credit to another source, this permission is not valid and authorization has to be obtained from the original copyright holder.

- This permission

- is non-exclusive

- is only valid if no personal rights, trademarks, or competitive products are infringed.

- explicitly excludes the right for derivatives.

- Springer does not supply original artwork or content.

- According to the format which you have selected, the following conditions apply accordingly:

- **Print and Electronic:** This License include use in electronic form provided it is password protected, on intranet, or CD-Rom/DVD or E-book/E-journal. It may not be republished in electronic open access.

- **Print:** This License excludes use in electronic form.

- **Electronic:** This License only pertains to use in electronic form provided it is password protected, on intranet, or CD-Rom/DVD or E-book/E-journal. It may not be republished in electronic open access.

For any electronic use not mentioned, please contact Springer at permissions.springer@spi-global.com.

- Although Springer controls the copyright to the material and is entitled to negotiate on rights, this license is only valid subject to courtesy information to the author (address is given in the article/chapter).

- If you are an STM Signatory or your work will be published by an STM Signatory and you are requesting to reuse figures/tables/illustrations or single text extracts, permission is granted according to STM Permissions Guidelines: <http://www.stm-assoc.org/permissions-guidelines/>

For any electronic use not mentioned in the Guidelines, please contact Springer at permissions.springer@spi-global.com. If you request to reuse more content than stipulated in the STM Permissions Guidelines, you will be charged a permission fee for the excess content.

Permission is valid upon payment of the fee as indicated in the licensing process. If permission is granted free of charge on this occasion, that does not prejudice any rights we might have to charge for reproduction of our copyrighted material in the future.

- If your request is for reuse in a Thesis, permission is granted free of charge under the following conditions:

This license is valid for one-time use only for the purpose of defending your thesis and with a maximum of 100 extra copies in paper. If the thesis is going to be published, permission needs to be reobtained.

- includes use in an electronic form, provided it is an author-created version of the thesis on his/her own website and his/her university's repository, including UMI (according to the definition on the Sherpa website: <http://www.sherpa.ac.uk/romeo/>);

- is subject to courtesy information to the co-author or corresponding author.

Geographic Rights: Scope

Licenses may be exercised anywhere in the world.

Altering/Modifying Material: Not Permitted

Figures, tables, and illustrations may be altered minimally to serve your work. You may not

alter or modify text in any manner. Abbreviations, additions, deletions and/or any other alterations shall be made only with prior written authorization of the author(s).

Reservation of Rights

Springer reserves all rights not specifically granted in the combination of (i) the license details provided by you and accepted in the course of this licensing transaction and (ii) these terms and conditions and (iii) CCC's Billing and Payment terms and conditions.

License Contingent on Payment

While you may exercise the rights licensed immediately upon issuance of the license at the end of the licensing process for the transaction, provided that you have disclosed complete and accurate details of your proposed use, no license is finally effective unless and until full payment is received from you (either by Springer or by CCC) as provided in CCC's Billing and Payment terms and conditions. If full payment is not received by the date due, then any license preliminarily granted shall be deemed automatically revoked and shall be void as if never granted. Further, in the event that you breach any of these terms and conditions or any of CCC's Billing and Payment terms and conditions, the license is automatically revoked and shall be void as if never granted. Use of materials as described in a revoked license, as well as any use of the materials beyond the scope of an unrevoked license, may constitute copyright infringement and Springer reserves the right to take any and all action to protect its copyright in the materials.

Copyright Notice: Disclaimer

You must include the following copyright and permission notice in connection with any reproduction of the licensed material:

"Springer book/journal title, chapter/article title, volume, year of publication, page, name(s) of author(s), (original copyright notice as given in the publication in which the material was originally published) "With permission of Springer"

In case of use of a graph or illustration, the caption of the graph or illustration must be included, as it is indicated in the original publication.

Warranties: None

Springer makes no representations or warranties with respect to the licensed material and adopts on its own behalf the limitations and disclaimers established by CCC on its behalf in its Billing and Payment terms and conditions for this licensing transaction.

Indemnity

You hereby indemnify and agree to hold harmless Springer and CCC, and their respective officers, directors, employees and agents, from and against any and all claims arising out of your use of the licensed material other than as specifically authorized pursuant to this license.

No Transfer of License

This license is personal to you and may not be sublicensed, assigned, or transferred by you without Springer's written permission.

No Amendment Except in Writing

This license may not be amended except in a writing signed by both parties (or, in the case of Springer, by CCC on Springer's behalf).

Objection to Contrary Terms

Springer hereby objects to any terms contained in any purchase order, acknowledgment, check endorsement or other writing prepared by you, which terms are inconsistent with these terms and conditions or CCC's Billing and Payment terms and conditions. These terms and conditions, together with CCC's Billing and Payment terms and conditions (which are incorporated herein), comprise the entire agreement between you and Springer (and CCC) concerning this licensing transaction. In the event of any conflict between your obligations established by these terms and conditions and those established by CCC's Billing and Payment terms and conditions, these terms and conditions shall control.

Jurisdiction

All disputes that may arise in connection with this present License, or the breach thereof, shall be settled exclusively by arbitration, to be held in the Federal Republic of Germany, in accordance with German law.

Other conditions:

V 12AUG2015

Questions? customercare@copyright.com or +1-855-239-3415 (toll free in the US) or +1-978-646-2777.



Relation of thyroid hormone abnormalities with subclinical inflammatory activity in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus

Arnaldo Moura Neto¹ · Maria Candida Ribeiro Parisi¹ ·
Sarah Monte Alegre² · Elizabeth Joao Pavin¹ ·
Marcos Antonio Tambascia¹ · Denise Engelbrecht Zantut-Wittmann¹

Received: 8 April 2015 / Accepted: 1 June 2015
© Springer Science+Business Media New York 2015

Abstract Thyroid hormone (TH) abnormalities are common in patients with diabetes mellitus (DM). These thyroid hormone abnormalities have been associated with inflammatory activity in several conditions but this link remains unclear in DM. We assessed the influence of subclinical inflammation in TH metabolism in euthyroid diabetic patients. Cross-sectional study involving 258 subjects divided in 4 groups: 70 patients with T2DM and 55 patients with T1DM and two control groups of 70 and 63 non-diabetic individuals, respectively. Groups were paired by age, sex, and body mass index (BMI). We evaluated the association between clinical and hormonal variables [thyrotropin, reverse T3 (rT3), total and free thyroxine (T4), and triiodothyronine (T3)] with the inflammation markers C-reactive protein (hs-CRP), serum amyloid A (SAA), and interleukin-6 (IL-6). Serum T3 and free T3 were lower in patients with diabetes (all $P < 0.001$) compared to the control groups. Interleukin-6 showed positive correlations with rT3 in both groups ($P < 0.05$). IL-6 was independently associated to FT3/rT3 ($B = -0.193$; 95 % CI -0.31 ; -0.076 ; $P = 0.002$) and FT4/rT3 ($B = -0.107$; 95 % CI -0.207 ; -0.006 ; $P = 0.039$) in the T1DM group. In the

T2DM group, SAA ($B = 0.18$; 95 % CI 0.089 ; 0.271 ; $P < 0.001$) and hs-CRP ($B = -0.069$; 95 % CI -0.132 ; -0.007 ; $P = 0.03$) predicted FT3 levels. SAA ($B = -0.16$; 95 % CI -0.26 ; -0.061 ; $P = 0.002$) and IL-6 ($B = 0.123$; 95 % CI 0.005 ; 0.241 ; $P = 0.041$) were related to FT4/FT3. In DM, differences in TH levels compared to non-diabetic individuals were related to increased subclinical inflammatory activity and BMI. Altered deiodinase activity was probably involved. These findings were independent of sex, age, BMI, and HbA1c levels.

Keywords Diabetes mellitus · Low T3 · Thyroid hormone metabolism · Inflammation · Non-thyroidal illness

Introduction

The non-thyroidal illness syndrome (NTIS), also known as the euthyroid sick syndrome or the low T3 syndrome, was initially described in the 1970s. It represents a state of alterations in thyroid hormone (TH) economy that, by definition, are not related to intrinsic diseases of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis but rather represent imbalances in thyroid hormone production, metabolism, and action [1].

Serum thyroid hormone (TH) abnormalities are common in patients with Diabetes Mellitus (DM), especially in those with type 1 DM (T1DM) because of the possible coexistence of thyroid and pancreatic autoimmunity [2, 3]. In T1DM, thyrotropin levels were related to differences in lipid profile, even in the euthyroid range, but this association was dependent on insulin resistance [4]. Subclinical thyroid dysfunction is common among patients with type 2 diabetes and although hypothyroidism is seen more often,

✉ Denise Engelbrecht Zantut-Wittmann
zantutw@fcm.unicamp.br

¹ Division of Endocrinology, Clinical Medicine Department, Faculty of Medical Sciences, University of Campinas, UNICAMP, Rua Tessalia Vieira de Camargo, 126 - Barão Geraldo, CEP 13084-971 Campinas, São Paulo, Brazil

² Division of Internal Medicine, Clinical Medicine Department, Faculty of Medical Sciences, University of Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil

there have been reports of increased prevalence of sub-clinical hyperthyroidism in this setting, especially in older patients with goiter [5]. In addition, patients with obesity, metabolic syndrome, and type 2 diabetes (T2DM) also show differences in serum TH when compared to lean and healthy individuals [6–8]. Therefore, recognizing NTIS is important to avoid misdiagnosis with primary thyroid dysfunctions that would otherwise indicate treatments that have not been proven beneficial in patients with low T3 secondary to systemic illnesses [9] and also to be aware of the possibility that interplay between diabetes mellitus and thyroid axis could explain the abnormalities found in these patients.

In cases with poor metabolic control, a state of low serum triiodothyronine (T3) concentration has been described for more than three decades in patients with both types of diabetes [10, 11]. These patients are often evaluated in the setting of acute metabolic decompensation or in the presence of diabetic ketoacidosis [11]. Similar changes in TH have been shown in other chronic conditions such as heart failure [12], chronic obstructive pulmonary disease [13], liver and kidney failure [14, 15], among others. In these situations, the low T3 syndrome is associated to an increased inflammatory activity and becomes more evident during acute exacerbations, returning to baseline values upon recovery [10, 13]. Moreover, they are intimately connected to prognosis [12, 16]. In intensive care units, clearly identifiable alterations can be found in serum TH levels, which have been linked to the amplified inflammatory activity characteristic of acutely infirm patients [17, 18]. Our group has previously found an association of C-reactive protein (CRP) and reverse T3 in patients with T2DM [19], while differences in rT3 levels were apparent only in those with previous cardiovascular events, who also showed a more pronounced subclinical inflammatory pattern [20].

Despite DM being increasingly characterized as an inflammatory disease in recent years, TH abnormalities remain related only to poor glycemic control [8, 10, 11]. Moreover, the pathophysiology of these abnormalities remains not well understood and it is not known whether patients with T1DM and T2DM share the same pathophysiological processes. Also, cytokines other than CRP that are closely related to NTIS and DM, such as interleukin-6 (IL-6), have not been extensively studied in patients with DM, especially T1DM. Thus, our aims were to (a) show the presence of a low T3 state in patients with both T1DM and T2DM under outpatient care and no clinical or laboratorial evidence of thyroid autoimmunity; and (b) verify the association of TH abnormalities seen in this state to the subclinical, low-grade systemic inflammation of DM (Fig. 1).

Subjects and methods

This was a cross-sectional study involving 258 individuals, divided into 4 groups: 70 patients with T2DM, 55 patients with T1DM, and two groups of 70 and 63 non-diabetic individuals as control groups for patients with T2DM and T1DM (T2DMc and T1DMc groups), respectively. Control groups were paired by age, sex, and body mass index (BMI). All individuals were aged between 18 and 70 years. Exclusion criteria were any conditions associated to low T3 states such as acute illnesses, recent caloric restriction (loss equal or more than 5 % body weight in the previous 3 months), renal (creatinine clearance <60 ml/min/m² calculated by the Cockcroft-Gault formula) or hepatic (Child-Pugh classification B or C) impairment, heart failure (class III or IV NYHA), active neoplastic or inflammatory illnesses and myocardial infarction or stroke occurring less than 6 months previously to study recruitment. Additionally, patients with any history of thyroid disease, thyroid nodules, detectable serum anti-thyroid antibodies (anti-thyroperoxidase or anti-thyroglobulin antibodies) and prescription for medications that could affect thyroid hormone levels (levothyroxine, anti-thyroid medication, corticosteroids, amiodarone, initiation of beta-blockers less than 6 months previous to study recruitment and exposure to iodine containing contrast agents less than 1 year previous to study evaluation) were also excluded. All individuals selected for this study were required to have serum thyrotropin (TSH) levels within the normal range. All lived in an iodine-sufficient area.

Patients were recruited from the Type 1 and Type 2 Diabetes Outpatient Clinics of our Tertiary University Hospital. Patients were enrolled continuously, respecting exclusion criteria (Fig. 2). Control subjects were recruited from the patients' family members or accompanying personnel and were from the same socio-economical population. Data were collected between July 2012 and April 2014. Blood was drawn during routine appointments at each clinic, immediately centrifuged and stored at -80°C for subsequent analysis.

Diagnosis of diabetes followed ADA criteria [21]. Patients were considered to have type 1 diabetes if 3 or more of the following characteristics were present at diagnosis: age <30 years, peptide C at first evaluation <0.1 ng/ml, detectable serum anti-GAD65 antibodies, presence of weight loss >5 % of usual body weight, BMI <27, no family history of diabetes in first degree relatives, or presence of diabetic ketoacidosis [22].

Clinical data studied consisted of age, sex, time since diabetes diagnosis (disease duration), current therapy (oral drugs, insulin alone, or combination therapy), waist (measured at the midline between the inferior border of

Fig. 1 Schematic for study hypothesis on the relation of type 1 (*right*) and type 2 (*left*) diabetes, inflammation and low T3 (*black arrows*)

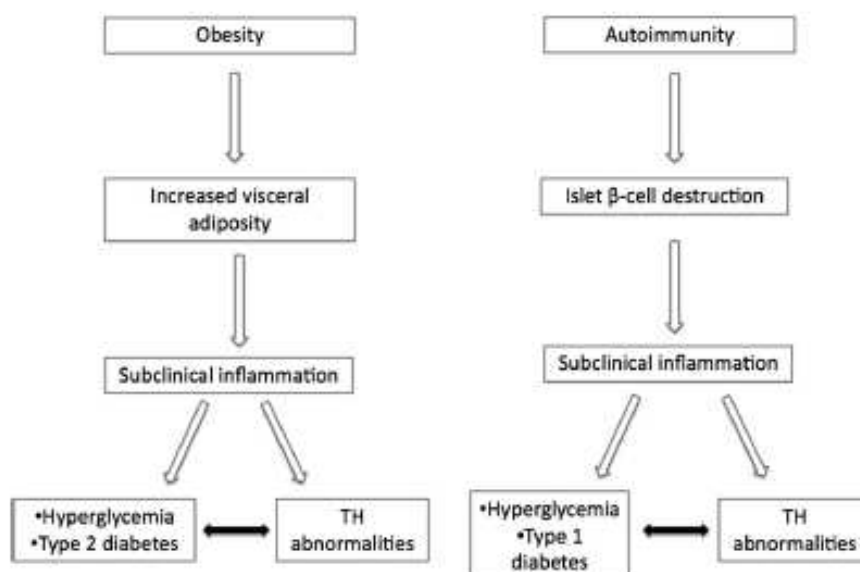
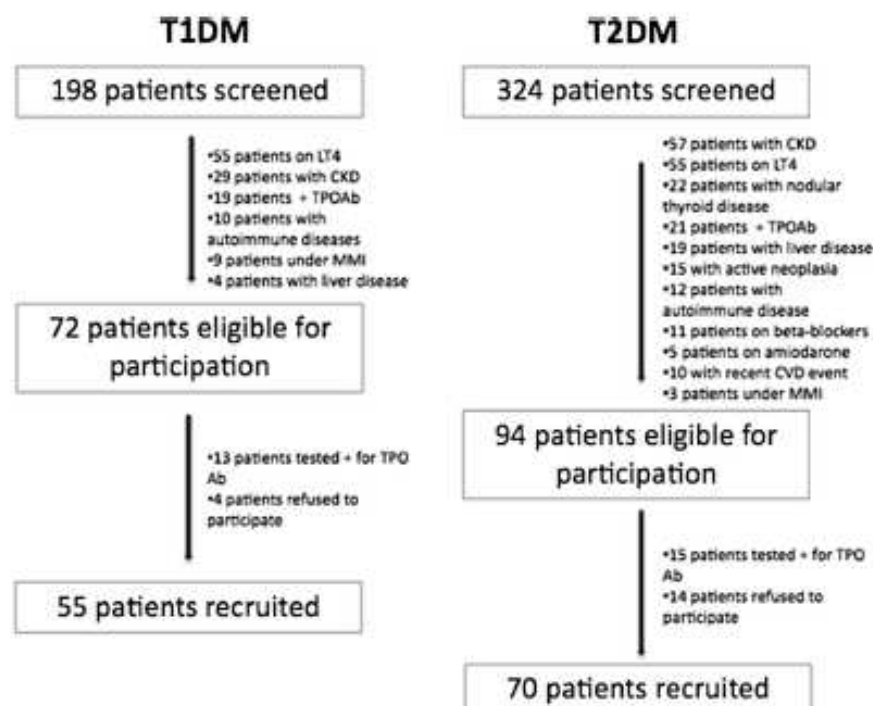


Fig. 2 Flowchart of patient recruitment. T1DM: type 1 diabetes; T2DM type 2 diabetes, LT4 levothyroxine, CKD chronic kidney disease, TPOAb anti-thyroperoxidase antibodies, MMI methimazole, CVD recent-onset cardiovascular disease



ribcage and the superior iliac crest) to hip ratio (WHR), BMI, presence of hypertension (blood pressure >130/80 mmHg or treatment for this condition), smoking and presence of microvascular (diabetic nephropathy, retinopathy, or neuropathy) and macrovascular (angina,

previous myocardial infarction, or stroke) complications. Diabetic nephropathy was diagnosed on the basis of at least 2 abnormal albumin/creatinine ratio in urine (>30 mg/g); retinopathy was considered positive on the basis of characteristic findings on fundoscopy, as reported by the

ophthalmology service of the same University Hospital; neuropathy was considered present if the patient was incapable of feeling the 10g Semmes–Weinstein monofilament test on 2 or more sites.

Laboratory measurements consisted of TSH, total (T) and free (F) thyroxine (T4), T3 and reverse T3 (rT3). Sample size calculations (described below) were done with results in original mass units. Conversion formulas from SI to mass units are provided at the bottom of Table 2. Inflammatory activity was measured by high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), IL-6 and serum amyloid A (SAA). As surrogate measures of deiodinase activity we calculated the FT3/rT3, FT4/FT3, and FT4/rT3 relations by simple division of values.

TSH and FT4 were measured by electro-chemiluminescence (Roche Hitachi-Elecsys Cobas, USA—reference values—RV: TSH 0.45–4.5iu/l; FT4: 11.6–23.2 pmol/l). Total T4 (RV: 57.9–160.9 nmol/l), TT3 (RV: 1.32–2.87 nmol/l), FT3 (RV: 2.15–6.76 pmol/l) and rT3 (RV: 0.14–0.54 nmol/l) were measured by radioimmunoassay (Siemens Medical Solution Diagnostics, Los Angeles, USA). All intra and inter-assay coefficient of variation were <10 %. Anti-thyroperoxidase and anti-thyroglobulin antibodies were measured by electro-chemiluminescence (Roche Hitachi-Elecsys Cobas, USA—RV <34 IU/ml and <115 IU/ml, respectively). High-sensitivity CRP (Cusabio Biotech Co, Wuhan, China; sensitivity: the least amount that can be differentiated from zero), IL-6 (R&D Systems Inc Minneapolis, USA; sensitivity 0.016–0.11 pg/ml) and SAA (Uscn Life Science Inc., Wuhan, China; sensitivity: the least amount that can be differentiated from zero) were measured by ELISA. HbA1c was measured by high performance liquid chromatography (RV: 4–5.7 %).

The study was approved by the University Ethics in Research Committee and functioned according to the 3rd edition of the Guidelines on the Practice of Ethical Committees in Medical Research issued by the Royal College of Physicians of London.

Statistical methods

We conducted a pilot study to estimate the minimum sample size required to have an 80 % probability of detecting a difference of 10 ng/ml (0.15 nmol/l) in TT3 levels and 0.2 pg/ml (0.3 pmol/l) in FT3 levels. This pilot study included 10 subjects in each group. The standard deviations found for TT3 were 5.1, 5.2, 6.2, and 4.6 ng/dl and for FT3 0.93, 0.88, 0.85, and 0.62 pg/ml in groups T2DM, T1DM, T2DMc, and T1DMc, respectively. Thus, we estimated that at least 63 patients with T2DM and 46 patients with T1DM would be required. The control group

numbers were set to match the number of patients with DM in each group.

Descriptive analysis was made by providing measures of position and dispersion; median and interquartile range (IQR) for continuous data and frequencies and percentages for categorical variables. Normality was assessed by the Kolmogorov–Smirnov test. Data on TH, their relations and inflammatory markers as well as HbA1c were not normally distributed ($P < 0.001$ for all), except for FT3 and FT4 ($P = 0.2$ for both). Non-parametric tests were preferred for all variables as even FT3 and FT4 had relatively skewed distributions ($P < 0.3$). Comparisons of serum TH levels and inflammatory markers between groups were done by Kruskal–Wallis one-way ANOVA with post hoc Bonferroni corrections for multiple comparisons (P for differences between groups considered significant only if <0.008). Comparison of gender frequency between groups was done by the Chi Square test. Associations between TH, inflammatory markers and clinical variables were assessed by the Spearman correlation coefficient.

To evaluate the influence of inflammatory markers on TH levels, multivariate linear regression analyses were conducted with all non-normally distributed variables log-transformed. The model was adjusted for age, sex, BMI, WHR and HbA1c. All analyses were checked for colinearity by tolerance analysis and values were considered significant if <0.2 .

Results were considered significant if P value was <0.05 . All tests were two-tailed. Calculations were done with SPSS (IBM Inc) version 20.0.

Results

Characteristics of patients with diabetes

Characteristics of patients with DM are shown in Table 1. Noteworthy, when comparing patients with DM below and above median HbA1c of the respective group, we found no differences in thyroid hormone levels. In the T2DM group, patients with HbA1c above the median had higher hs-CRP (1.17 vs 0.45 mg/l; $P = 0.04$). No other differences for inflammatory variables were found in both groups.

Of interest, there were no differences in total and free T3 levels or between FT3/rT3, FT4/FT3, and FT4/r in patients with T1DM compared to the T2DM group. Also, we observed no differences in TH levels between patients with and without microvascular complications.

Patients with type 2 diabetes and control group

Compared to the T2DMc group, patients with T2DM had higher WHR (0.99 vs 0.89; $P < 0.001$). The T2DM group

Table 1 Clinical and epidemiological characteristics of patients with type 1 (T1DM) and type 2 (T2DM) diabetes

	T1DM (n = 55)	T2DM (n = 70)
Age (years)	31 (24–42)	60 (53–63.2)
Gender (female)	35 (63.6 %)	44 (62.9 %)
Time since diagnosis (years)	15 (9–21)	12 (5.7–18)
Weight (kg)	67.2 (61.5–75)	76.5 (67–92)
BMI (kg/m ²)	24.8 (22.7–27.9)	30 (25.8–34.5)
Waist (cm)	82 (75–91)	102 (89–112)
WHR	0.83 (0.79–0.89)	0.99 (0.93–1.06)
HbA1c (%)	9.2 (7.9–10.5)	8.3 (7.3–10)
Oral drugs only	0	21 (30 %)
Insulin only	55 (100 %)	10 (14.3 %)
Combination	0	39 (55.7 %)
Smoking	2 (5.7 %)	7 (10 %)
Hypertension	5 (14.2 %)	53 (75.7 %)
Nephropathy	18 (32.7 %)	37 (52.9 %)
Retinopathy	20 (36.4 %)	42 (60 %)
Neuropathy	11 (20 %)	32 (45.7 %)
Macrovascular disease	2 (5.7 %)	18 (25.7 %)

Numbers represent median (interquartile range) or frequency (percentage)

BMI body mass index, WHR waist/hip ratio

showed lower T3 (1.19 vs 1.38 nmol/l; $P < 0.001$) and FT3 (2.99 vs 3.71 pmol/l; $P < 0.001$) than the T2DMc group. Free T4 (16.22 vs 13.91 pmol/l; $P < 0.001$) and IL-6 (1.40 vs 0.88 pg/ml; $P = 0.007$) levels were higher in the T2DM group. FT3/rT3 was lower (8.51 vs 10.7; $P = 0.001$) and FT4/FT3 was higher (5.27 vs 4.08; $P < 0.001$) in the T2DM group. No differences were observed in TSH or rT3 levels (Table 2).

We found inverse associations between TSH and WHR ($r = -0.35$; $P = 0.003$) and between BMI and TT3 ($r = -0.28$; $P = 0.02$). The WHR was positively associated with IL-6 ($r = 0.24$; $P = 0.04$) and SAA ($r = 0.24$; $P = 0.04$). Similarly, BMI also showed a direct association to IL-6 ($r = 0.23$; $P = 0.048$) and hs-CRP ($r = 0.27$; $P = 0.02$). Table 3 summarizes correlation coefficients between serum TH levels and inflammatory markers. In the T2DMc group, WHR was correlated to hs-CRP ($r = 0.26$; $P = 0.03$). BMI was related to SAA ($r = 0.35$; $P = 0.003$) and hs-CRP ($r = 0.47$; $P < 0.001$). Age was correlated to FT4/FT3 ($r = 0.27$; $P = 0.02$). No associations between hormonal and inflammatory variables were found.

Multivariate linear regression analyses revealed that SAA ($B = 0.18$; 95 % CI 0.089; 0.271; $P < 0.001$) and hs-CRP ($B = -0.069$; 95 % CI -0.132 ; -0.007 ; $P = 0.03$) were independent predictors of FT3 levels. SAA ($B = -0.16$; 95 % CI -0.26 ; -0.061 ; $P = 0.002$) and IL-

6 ($B = 0.123$; 95 % CI 0.005; 0.241; $P = 0.041$) were independent predictors of FT4/FT3. BMI was independently associated to TT3 levels ($B = -0.006$; 95 % CI -0.01 ; -0.002 ; $P = 0.003$).

No significant results were found in the T2DMc in this model.

Patients with type 1 diabetes and control group

Patients with T1DM had lower serum T4 (71.18 vs 93.63 nmol/l), T3 (1.14 vs 1.41 nmol/l) and FT3 (3.28 vs 3.91 pmol/l); all $P < 0.001$ compared to the T1DMc group. TSH levels were also lower (1.46 vs 2.06 iu/l; $P = 0.002$). High-sensitivity CRP was higher in the T1DM group (0.87 vs 0.36 mg/l; $P < 0.001$). FT3/rT3 was lower (8.51 vs 11.4) and FT4/FT3 higher (4.97 vs 4.0) in patients with T1DM ($P < 0.001$ for both). No differences were found in FT4 or rT3 levels (Table 2).

In the T1DM group, we found a positive association between WHR and hs-CRP ($r = 0.36$; $P = 0.007$). The relation of HbA1c with FT3/rT3 ($r = -0.24$; $P = 0.07$) and FT4/FT3 ($r = 0.24$; $P = 0.08$) approached but did not reach statistical significance. Correlations between TH levels and inflammatory markers are shown in Table 3. In the T1DMc group, BMI was directly associated to SAA ($r = 0.29$; $P = 0.02$) and hs-CRP ($r = 0.31$; $P = 0.01$). There were inverse correlations of age with TT4 ($r = -0.5$; $P < 0.001$) and TT3 ($r = -0.3$; $P = 0.01$), and between WHR and TT4 ($r = -0.28$; $P = 0.02$). TSH was associated to weight ($r = 0.27$; $P = 0.03$) and waist circumference ($r = 0.3$; $P = 0.01$). We observed no associations between inflammatory and hormonal variables in this group.

In multivariate linear regression, IL-6 was an independent predictor of FT3/rT3 ($B = -0.193$; 95 % CI -0.31 ; -0.076 ; $P = 0.002$) and FT4/rT3 ($B = -0.107$; 95 % CI -0.207 ; -0.006 ; $P = 0.039$). HbA1c was independently associated to FT4/FT3 ($B = 0.018$; 95 % CI 0.004; 0.033; $P = 0.014$).

No predictors of TH levels were found with this model in the T1DMc group.

Discussion

In this study, the main novel findings were that patients with T1DM and T2DM share similar hormone abnormalities and also that the latter arise from imbalances in deiodinase activity, which were associated to subclinical inflammatory activity. Of note, a more thorough evaluation of inflammatory activity revealed that IL-6 and SAA, which are pro-inflammatory cytokines characteristically increased in patients with DM, played a major role in these

Table 2 Comparison of patients with diabetes and their respective control group

	T1DM (n = 55)	T1DMc (n = 63)	P	T2DM (n = 70)	T2DMc (n = 70)	P
Age (years)	31 (24–42)	36 (29–45)	0.1	60 (53–63.2)	54.5 (50–61)	0.11
Gender (F)	35 (63.6 %)	46 (73 %)	0.27	44 (62.9 %)	44 (62.9 %)	1.0
Weight (kg)	67.2 (61.5–75)	67.5 (59–77)	0.92	76.5 (67–92)	73.5 (66.7–86.2)	0.29
BMI (kg/m ²)	24.8 (22.7–27.9)	25.53 (22.83–28.35)	0.69	30 (25.8–34.5)	29.2 (25.6–33.3)	0.3
WHR	0.83 (0.79–0.89)	0.86 (0.79–0.9)	0.97	0.99 (0.93–1.06)	0.89 (0.84–0.95)	<0.001
TSH (iu/l)	1.46 (0.96–2.3)	2.06 (1.57–2.64)	0.001	2.25 (1.53–3.44)	1.98 (1.35–3.32)	0.62
TT4 (nmol/l)	71.2 (52.1–87.5)	93.6 (81–107.1)	<0.001	83 (69.2–97)	92 (80.3–102.8)	0.01
FT4 (pmol/l)	14.5 (13.6–16.7)	14.2 (12.9–16.5)	0.582	16.2 (14.6–18.5)	13.9 (12.7–16.6)	<0.001
TT3 (nmol/l)	1.14 (0.96–1.36)	1.41 (1.28–1.57)	<0.001	1.18 (1.05–1.41)	1.38 (1.28–1.60)	<0.001
FT3 (pmol/l)	3.28 (2.42–3.55)	3.92 (3.14–4.49)	<0.001	2.99 (2.44–3.61)	3.71 (2.97–4.24)	<0.001
rT3 (nmol/l)	0.396 (0.256–0.468)	0.351 (0.228–0.476)	0.17	0.354 (0.24–0.449)	0.327 (0.22–0.485)	0.53
FT3/rT3	8.51 (6.7–11.7)	11.43 (8.7–16.22)	<0.001	8.51 (6.89–12.17)	10.72 (8.3–15.49)	0.001
FT4/FT3	4.97 (4.21–5.95)	4.0 (3.25–4.65)	<0.001	5.27 (4.28–7.21)	4.08 (3.29–5.02)	<0.001
FT4/rT3	39.4 (32.5–56.3)	46.2 (34–62.5)	0.11	50.6 (36.2–67.5)	48.6 (33–59.8)	0.51
CRP (mg/l)	0.87 (0.34–2.3)	0.36 (0.14–0.85)	0.001	0.7 (0.32–2.11)	0.67 (0.38–1.22)	0.67
IL-6 (pg/ml)	0.89 (0.59–1.49)	0.79 (0.33–1.37)	0.17	1.39 (0.77–2.24)	0.88 (0.4–1.65)	0.007
SAA (ng/ml)	9.92 (1.45–21.94)	10.38 (2.05–22.8)	0.86	14.68 (5.92–26.04)	10.72 (3.67–19.11)	0.04

Data are shown as frequency (percentage) or median (interquartile range)

Conversion from mass to SI units: TT4: $\mu\text{g/dl} \times 12.87 = \text{nmol/l}$; FT4: $\text{ng/dl} \times 12.87 = \text{pmol/l}$; TT3: $\text{ng/dl} \times 0.01536 = \text{nmol/l}$; FT3: $\text{pg/ml} \times 1.536 = \text{pmol/l}$; rT3: $\text{ng/ml} \times 1.54 = \text{nmol/l}$

T1DM patients with type 1 diabetes, T2DM patients with type 2 diabetes, T1DMc T1DM control group, T2DMc T2DM control group, BMI body mass index, WHR waist/hip ratio, CRP high-sensitivity C-reactive protein, SAA serum amyloid A

P values highlighted in bold represent significant differences between two groups ($P < 0.008$)

Table 3 Correlation coefficients between hormonal and inflammatory variables in patients with type 1 (T1DM) and type 2 (T2DM) diabetes

	TT4	FT4	TT3	FT3	rT3	TSH	FT3/rT3	FT4/FT3	FT4/rT3
T1DM									
IL-6	0.12	-0.07	-0.17	-0.16	0.29*	0.03	-0.4**	0.14	-0.34*
SAA	0.02	-0.07	-0.02	-0.15	0.12	-0.04	-0.19	0.08	-0.13
CRP	0.18	-0.06	-0.09	-0.22	0.05	0.12	-0.15	0.14	0.01
T2DM									
IL-6	-0.3*	0.06	-0.21	-0.11	0.25*	0.03	-0.36**	0.14	-0.24*
SAA	0.01	0.11	0.05	0.25*	0.45**	-0.13	-0.1	-0.18	-0.43**
CRP	-0.27*	0.02	-0.23	-0.12	0.12	0.01	-0.21	0.14	-0.14

IL-6 interleukin-6, SAA serum amyloid A, CRP high-sensitivity C-reactive protein

* $P < 0.05$

** $P < 0.01$

results. All patients had lower serum concentrations of TT3 and FT3 than non-diabetic individuals paired by age, sex, and BMI. In previous works, the low T3 state in patients with T1DM and T2DM has been mainly associated to poor glycemic control [10, 23, 24]. However, in critically ill patients [25–27] as well as in other chronic conditions [10, 12, 13], this syndrome has been related to inflammatory activity. Diabetes itself is a condition that has been increasingly linked to pro-inflammatory activity, especially

T2DM [28–30]. In our study, the relationship between inflammatory response and TH levels was not replicated in the control groups, despite similar BMI values.

The T2DM group had higher serum levels of IL-6 alongside more evident central adiposity, represented by the larger WHR. In the T2DM group, rT3 levels and a lower FT3/rT3 ratio were associated to an increased inflammatory response, implying decreased peripheral T3 generation and/or increased T4 inactivation to rT3. The

increased FT4 concentration when compared to the T2DMc group favors the hypothesis of inhibited type 1 deiodinase activity, as conversion to T3 is the main pathway of T4 metabolism [31]. In multivariate adjusted regression, SAA and hs-CRP were the main determinants of FT3 and independently predicted FT4/FT3 levels. Serum amyloid A is an acute-phase pro-inflammatory cytokine produced in the liver in response to IL-6 and is related to hs-CRP, with higher levels encountered in patients of higher cardiovascular risk [32, 33]. A surprising finding was the direct association of SAA with FT3 and inverse with the FT4/FT3 ratio, which suggests increased peripheral formation of T3. This may help explain the intra-pituitary induction of type 2 deiodinase, which is held as one possible explanation for the normal serum TSH levels often found in patients with NTIS. The increased intra-pituitary concentration of T3 could render the gland tissue euthyroid, preventing the otherwise expected rise in TSH [34]. Therefore, it is possible that some cytokines could be responsible for enhancing T3 formation [35], which could help explain why our patients had TSH levels comparable to the control groups despite lower serum FT3 concentrations. Genetic abnormalities undermining the expression and activity of type 2 deiodinase have been associated to increased insulin resistance [36, 37]. In fact, a case-control study of Brazilian patients with type 2 diabetes demonstrated a higher prevalence the Thr92Ala polymorphism in patients with type 2 diabetes compared to nondiabetic subjects [38]. The following meta-analysis pooling other 3 studies from other countries confirmed the association between this polymorphism and T2DM [38]. On the other hand, type 2 deiodinase is believed to have a rather low contribution to circulating T3 in humans [39]. Whether some cytokines may have different effects on deiodinase activity from others is not clear to us at this point, but deserves confirmation and further investigation in future basic as well as clinical studies. We found no other works assessing the relation of SAA and TH in NTIS or DM. Another point worthy of note is that these associations were found exclusively in patients with DM. Higher hs-CRP levels, however, showed opposite results and were associated to lower serum FT3 concentrations.

Comparable findings regarding increased inflammatory markers were encountered in patients with T1DM, represented by higher hs-CRP levels than the T1DMc group, even with comparable WHR measures. In this group, interleukin-6 correlated positively with rT3 and was an independent predictor of the relations FT3/rT3 and FT4/rT3, suggesting decreased peripheral conversion of T4 to T3, a common finding in non-thyroidal illness (NTIS) [40, 41]. Interleukin-6 is a cytokine closely associated to NTIS, showing a tight correlation with the falling T3 in several studies [17, 26, 42]. As for glycemic control, it was the

major predictor of FT4/FT3 in the T1DM group. Higher blood glucose or even the insulin deficiency characteristic of T1DM could decrease type 1 deiodinase activity in the liver, further reducing peripheral activation of T4 to T3. Alternatively, poorer glycemic control could act through the action of increased pro-inflammatory mediators. This already established role of glycemic control in TH metabolism was confirmed only in this group of patients. We believe this could be due to the more heterogeneous HbA1c levels in the T1DM group and the more manifest glycemic variability that is usually found in patients with T1DM. In addition, the inflammatory response was more evident in patients with T2DM, an effect that could have predominated over glycemic levels in that group.

The lower serum TT3 and FT3 levels are in line with previous works showing decreased levels of T3 in patients with diabetes [8, 10, 11]. Notwithstanding comparable age and BMI, the subclinical inflammation process was more prominent in the groups of patients with T1DM and T2DM, a fact that could explain differences regarding the correlations found when compared to the control groups and also in comparison to studies involving individuals with metabolic syndrome but no DM [43, 44]. In such, patients with metabolic syndrome presented higher FT4 levels, as well as an inverse association between FT4 and BMI [45], findings that are similar to those in our patients with T2DM. However, in our T2DM group, BMI was independently and negatively associated to TT3. We believe that this could be due to the hyperinsulinemia characteristic of these patients, which could decrease thyroid hormone binding globulin synthesis by the liver, similarly to what is often observed for SHBG [46].

The strengths of the current study include the presence of control groups paired by BMI, which is an established confounding factor when analyzing thyroid hormone levels in patients with diabetes, and the fact that individuals under acute metabolic stress were not included. In addition, both type 1 and type 2 diabetes were analyzed and all patients were euthyroid, with undetectable serum anti-thyroid antibodies. Nevertheless, the study has some limitations. Firstly, the cross-sectional design may limit conclusions on causality. Moreover, the relatively small sample size in each group may have precluded additional findings, despite the fact that we based our numbers in a minimal sample size calculation, which was estimated in a pilot study. Finally, the inference of abnormal deiodinase activity was indirect, as we did not measure the enzymes' activity in liver or muscle, because biopsies were deemed unethical in our present clinical situation. For similar reasons, we were not able to confirm that lower serum levels of TH translate into actual tissue hypothyroidism. These indirect estimations have, nonetheless, shown a good correlation with the enzymes' activities [47].

In conclusion, we have shown that the TH abnormalities described in patients with type 1 and type 2 diabetes were related not only to glycemic control as previously described, but also to the increased inflammatory activity seen in both groups of patients with DM, which in turn were associated to imbalances in deiodinase activity. These findings were independent of sex, age, BMI, and HbA1c levels. One recent study showed that anti-inflammatory medications could prevent the occurrence of NTIS in the setting of acute myocardial infarction [48]. Further research is warranted to clarify if ameliorating inflammation can reverse TH abnormalities in either type of diabetes and if T3 replacement shows any beneficial impact on the course of the disease.

Acknowledgments The authors wish to thank the biologist Conceição Aparecida da Silva for her inestimable help in collecting blood samples and laboratory analysis. This study was received financial support of FAPESP (Sao Paulo Research Support Foundation—Grants 2010/08854-0 and 2013/03295-1).

Conflict of interest The authors have no conflict of interest to declare.

References

1. B. McIver, C.A. Gorman, Euthyroid sick syndrome: an overview. *Thyroid* **7**, 125–132 (2007)
2. L.H. Duntas, J. Orgiazzi, G. Braham, The interface between thyroid and diabetes mellitus. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* **75**, 1–9 (2011)
3. G.E. Umperetz, K.A. Latif, M.B. Murphy, H.C. Lambeth, F. Stentz, A. Bush, A.E. Kitabchi, Thyroid dysfunction in patients with type 1 diabetes: a longitudinal study. *Diabetes Care* **26**, 1181–1185 (2003)
4. T. Bulum, B. Kolaric, L. Duvnjak, Insulin sensitivity modifies the relationship between thyroid function and lipid profile in euthyroid type 1 diabetic patients. *Endocrine* **42**, 139–145 (2012)
5. J.J. Díez, P. Iglesias, Subclinical hyperthyroidism in patients with type 2 diabetes. *Endocrine* **42**, 157–163 (2012)
6. A. Roos, S.J.L. Bakker, T.P. Links, R.O.B. Gans, B.H.R. Wolfenbuttel, Thyroid function is associated with components of the metabolic syndrome in euthyroid subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **92**, 491–496 (2007)
7. N. Knudsen, P. Laurberg, L.B. Rasmussen, I. Bülow, H. Perrild, L. Ovesen, T. Jørgensen, Small differences in thyroid function may be important for body mass index and the occurrence of obesity in the population. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **90**, 4019–4024 (2006)
8. J.L. Schlienger, A. Anceau, G. Charbrier, M.L. North, F. Stephan, Effect of diabetic control on the level of circulating thyroid hormones. *Diabetologia* **22**, 486–488 (1982)
9. N. Stathatos, L. Wartofsky, The euthyroid sick syndrome: is there a physiologic rationale for thyroid hormone treatment? *J. Endocrinol. Invest.* **26**, 1174–1179 (2003)
10. U.M. Kahadi, Impaired pituitary thyrotroph function in uncontrolled type II diabetes mellitus: normalization on recovery. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **59**, 521–525 (1984)
11. R. Naeije, J. Golstein, N. Clumeck, H. Meinhold, K.W. Wenzel, L. Vanhaelst, A low T3 syndrome in diabetic ketoacidosis. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* **8**, 467–472 (1978)
12. G. Iervasi, A. Pingitore, P. Landi, M. Raciti, A. Ripoli, M. Scarlattini, A. L'Abbate, L. Donato, Low-T3 syndrome: a strong prognostic predictor of death in patients with heart disease. *Circulation* **107**, 708–713 (2003)
13. F. Karadag, H. Ozcan, A.B. Karul, M. Yilmaz, O. Cildag, Correlates of non-thyroidal illness in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir. Med.* **101**, 1439–1446 (2007)
14. M. Borzio, R. Caldara, F. Borzio, V. Piepoli, P. Rampini, C. Ferrari, Thyroid function tests in chronic liver disease: evidence for multiple abnormalities despite clinical euthyroidism. *Gut* **24**, 631–636 (1983)
15. C. Zocalli, F. Mallamaci, G. Tripepi, S. Cutrupi, P. Pizzini, Low triiodothyronine and survival in end-stage renal disease. *Kidney Int.* **70**, 523–528 (2006)
16. E. Scosia, S. Baglioni, A. Eskami, G. Iervasi, S. Monti, T. Todisco, Low triiodothyronine (T3) state: a predictor of outcome in respiratory failure? Results of a clinical pilot study. *Eur. J. Endocrinol.* **151**, 557–560 (2004)
17. A. Boelen, M.C. Platvoet Schiphorst, W.M. Wiersinga, Association between serum interleukin-6 and serum 3,5,3'-triiodothyronine in non-thyroidal illness. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **77**, 1695–1699 (1993)
18. M. Michalaki, A.G. Vagenakis, M. Makri, F. Kalfarentzos, V. Kyriazopoulou, Dissociation of the early decline in serum T3 concentration and serum IL-6 rise and TNF- α in non-thyroidal illness syndrome induced by abdominal surgery. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **86**, 4198–4205 (2001)
19. A. Moura Neto, M.C. Parisi, M.A. Tambascia, S.M. Alegre, E.J. Pavin, D.E. Zantut-Wittmann, The influence of body mass index and low-grade systemic inflammation on thyroid hormone abnormalities in patients with type 2 diabetes. *Endocr. J.* **60**, 877–884 (2013)
20. A. Moura Neto, M.C. Parisi, M.A. Tambascia, S.M. Alegre, E.J. Pavin, D.E. Zantut-Wittmann, Relationship of thyroid hormone levels and cardiovascular events in patients with type 2 diabetes. *Endocrine* **45**, 84–91 (2014)
21. American Diabetes Association, Standards of medical care in diabetes—2012. *Diabetes Care* **35**, S11–S63 (2012)
22. American Diabetes Association, Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* **35**, S65–S71 (2012)
23. N. Castro, V. Scafidi, T. Borsellino, Changes in the thyroid hormone picture that may be found in severely decompensated type II diabetes. *Minerva Med.* **82**, 9–14 (1991)
24. U.M. Kahadi, B.N. Premachandra, Low triiodothyronine and raised reverse triiodothyronine levels in patients over fifty years of age who have type II diabetes mellitus: influence of metabolic control, not age. *J. Am. Geriatr. Soc.* **32**, 375–379 (1984)
25. A. Rodriguez-Perez, F. Palos-Paz, E. Kaptein, T.J. Visser, L. Dominguez-Gerpe, J. Alvarez-Escudero, J. Lado-Abeal, Identification of molecular mechanisms related to nonthyroidal illness syndrome in skeletal and adipose tissue from patients with septic shock. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* **68**, 821–827 (2008)
26. P.H. Davies, E.G. Black, M.C. Sheppard, J.A. Franklyn, Relation between serum interleukin-6 and thyroid hormone concentrations in 270 hospital in-patients with non-thyroidal illness. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* **44**, 199–205 (1996)
27. A. Boelen, J. Kwakkel, E. Fliers, Beyond low plasma T3: local thyroid hormone metabolism during inflammation and infection. *Endocr. Rev.* **32**, 670–693 (2011)
28. N. Rasouli, P. Kern, Adipocytokines and the metabolic complications of obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **93**, S64–S73 (2008)

29. B. Antuna-Puente, B. Feve, S. Fellahi, J.P. Bastard, Adipokines: the missing link between insulin resistance and obesity. *Diabetes Metab.* **34**, 2–11 (2008)
30. M.C. Calle, M.L. Fernandez, Inflammation and type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* **38**, 183–191 (2012)
31. A.C. Bianco, D. Salvatore, B. Gereben, M.J. Berry, P.R. Larsen, Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocr. Rev.* **23**, 38–89 (2002)
32. T.L. Wu, I. Chen Tsai, P.Y. Chang, K.C. Tsao, C.F. Sun, L.L. Wu, J.T. Wu, Establishment of an in-house ELISA and the reference range for serum amyloid A (SAA): complimentary between SAA and C-reactive protein as markers of inflammation. *Clin. Chim. Acta* **376**, 72–76 (2007)
33. J.T. Wu, L.L. Wu, Linking inflammation and atherogenesis: soluble markers identified for the detection of risk factors and for early risk assessment. *Clin. Chim. Acta* **366**, 74–80 (2006)
34. E. Sánchez, P.S. Singru, C. Fekete, R.M. Lechan, Induction of type 2 iodothyronine deiodinase in the mediobasal hypothalamus by bacterial lipopolysaccharide: role of corticosterone. *Endocrinology* **149**, 2484–2493 (2008)
35. L. Mehis, L. Langouche, T.J. Visser, G. Van den Berghe, The type II iodothyronine deiodinase is up-regulated in skeletal muscle during prolonged critical illness. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **92**, 3330–3333 (2007)
36. A. Marsili, C. Aguayo-Mazzucato, T. Chen, M. Kumar, E.P. Chung, J.W. Lunsford, T. Harney, E. Van-Tran, W. Gianetti, C. Ramadan, S. Chou, P.R. Bonner Weir, J.E. Larsen, A.M. Silva, M. Zavacki, Mice with a targeted deletion of the type 2 deiodinase are insulin resistant and susceptible to diet induced obesity. *PLoS One* **6**, e20832 (2006)
37. L.B. Leiria, J.M. Dora, S.M. Wajner, A.A. Estivalet, D. Crispim, A.L. Maia, The rs225017 polymorphism in the 3'UTR of the human DIO2 gene is associated with increased insulin resistance. *PLoS One* **9**, e103960 (2014)
38. J.M. Dora, W.E. Machado, J. Rheinheimer, D. Crispim, A.L. Maia, Association of the type 2 deiodinase Thr92Ala polymorphism with type 2 diabetes: case-control study and meta-analysis. *Eur. J. Endocrinol.* **163**, 427–434 (2010)
39. K.A. Heemstra, M.R. Soeters, E. Fliers, M.J. Serlie, J. Burggraaf, M.B. van Doorn, A.A. van der Klaauw, J.A. Romijn, J.W. Smit, E.P. Corssmit, T.J. Visser, Type 2 iodothyronine deiodinase in skeletal muscle: effects of hypothyroidism and fasting. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **94**, 2144–2150 (2009)
40. E.L. Olivares, M.P. Marasi, R.S. Fortunato, A.C. da Silva, R.H. Costa-e-Souza, I.G. Araújo, E.C. Mattos, M.O. Masada, M.A. Mukahey, S.A. Huang, A.C. Bianco, D.P. Carvalho, Thyroid function disturbance and type 3 iodothyronine deiodinase induction after myocardial infarction in rats a time course study. *Endocrinology* **148**, 4786–4792 (2007)
41. S.M. Wajner, I.M. Goemann, A.L. Bueno, P.R. Larsen, A.L. Maia, IL-6 promotes nonthyroidal illness syndrome by blocking thyroxine activation while promoting thyroid hormone inactivation in human cells. *J. Clin. Invest.* **121**, 1834–1845 (2011)
42. A. Boelen, M.A. Maas, C.W. Lowik, M.C. Platvoet, W.M. Wiersinga, Induced illness in interleukin-6 (IL-6) knock-out mice: a causal role of IL-6 in the development of the low 3,5,3'-triiodothyronine syndrome. *Endocrinology* **137**, 5250–5254 (1996)
43. L. Mehran, A. Amouzegar, M. Tohidi, M. Moayed, F. Azizi, Serum free thyroxine concentration is associated with metabolic syndrome in euthyroid subjects. *Thyroid* **24**(14), 1566–1574 (2014)
44. O. Tarcin, G.B. Abanonu, D. Yazici, O. Tarcin, Association of metabolic syndrome parameters with TT3 and FT3/FT4 ratio in obese Turkish population. *Metab. Syndr. Relat. Disord.* **10**, 137–142 (2012)
45. G. Roef, B. Lapauw, S. Goemaere, H.G. Zmierzczak, K. Toye, J.M. Kaufman, Y. Taes, Body composition and metabolic parameters are associated with variation in thyroid hormone levels among euthyroid young men. *Eur. J. Endocrinol.* **167**, 718–726 (2012)
46. L.J. Moran, H.J. Teede, M. Moakes, P.M. Clifton, R.J. Norman, G.A. Wittert, Sex hormone binding globulin, but not testosterone, is associated with the metabolic syndrome in overweight and obese women with polycystic ovary syndrome. *J. Endocrinol. Invest.* **36**, 1004–1010 (2013)
47. Y. Debaveye, B. Elger, L. Mehis, V.M. Darras, G. Van den Berghe, Regulation of tissue iodothyronine deiodinase activity in a model of prolonged critical illness. *Thyroid* **18**, 551–560 (2008)
48. J. Vidart, S.M. Wajner, R.S. Leite, A. Manica, B.D. Schaen, P.R. Larsen, A.L. Maia, N-acetylcysteine administration prevents nonthyroidal illness syndrome in patients with acute myocardial infarction: a randomized clinical trial. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **99**, 4537–4545 (2014)