
REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Insulinorezistența -interrelația cu afecțiunile tiroidiene

Doctorand: **Coman Nicoleta (Răcățăianu)**

Conducător de doctorat: **Prof. Dr. Cristina Ghervan**



Insulinorezistența - interrelația cu afecțiunile tiroidiene

Cuprins

Stadiul actual al cunoașterii	3
Studiul I	
Evaluarea relației dintre insulinorezistență și patologia tiroidiană la un eșantion reprezentativ de pacienți obezi.....	5
Studiul 2	
Evaluarea relației între insulinorezistență, MCP-1, dezechilibrul redox și patologia tiroidiană într-un eșantion de pacienți obezi.....	6
Studiul 3	
Evaluarea relației între deficitul de Vitamină D, Insulinorezistență, inflamația sistemică și disfuncția tiroidiană la pacienții obezi	8
Studiul 4	
Cross-talk între parametrii metabolici și cei tiroidieni în cazul copiilor obezi pubertari.....	9
Studiul 5	
Efectul tratamentului cu Metformin la pacienții insulinorezistenți cu gușă nodulară normofuncțională	11
Concluzii generale	12
Originalitatea tezei	14
Aplicații practice:.....	14

Cuvinte cheie

Obezitate
Insulinorezistență
Tiroidă
Inflamație sistemică
Stres oxidativ
Vitamina D

Stadiul actual al cunoașterii

Incidența obezității a crescut exponențial în ultimele decenii și afectează atât populația adultă, cât și copiii de la cele mai mici vârste, reprezentând un factor de risc major pentru creșterea morbidității și a mortalității prin boli cardiovasculare, neoplazii, diabet zaharat tip 2 și complicațiile acestuia. Insulinorezistența (IR) este de cele mai multe ori consecința directă a obezității și este definită de scăderea sensibilității la acțiunea insulinei a țesuturilor țintă (adipos, muscular, hepatic) în contextul nivelului seric normal/crescut al insulinei.

Etiopatogeneza IR nu este pe deplin elucidată, fiind implicați atât factori de mediu (dieta hiperglucidică, medicație, stări fiziologice, disruptori endocrini), cât și factori genetici (mutații ale receptorului insulenic și ale proteinelor implicate în căile de semnalizare ale insulinei).

Numeroase raportări medicale evidențiază o creștere a prevalenței bolilor tiroidiene la pacienții obezi. Se ridică astfel întrebarea dacă IR, factorul determinant central al sindromului metabolic, reprezintă un factor de risc pentru patologia tiroidiană.

Cercetarea noastră își propune să aducă noi informații privind influența IR, dar și a celorlalte tulburări metabolice, asupra funcției și morfologiei tiroidiene, atât la copiii cât și la adulții obezi.

Mecanismele prin care statusul insulinorezistent poate influența morfo-funcția tiroidiană nu sunt pe deplin cunoscute. Una dintre ipoteze este faptul că hiperinsulinismul (secundar IR) reprezintă un factor sistemic de creștere și proliferare celulară și neoangiogeneză la nivel tiroidian, putând induce progresie celulară, acționând direct pe calea de semnalizare R-insulinici/R-IGF1, independent de TSH. În plus, TSH crește atât expresia factorilor de creștere (IGF1,2, EGF) cât și a receptorilor acestora, hiperinsulinismul acționând atât direct, cât și indirect, asupra progresiei celulare tiroidiene. Pe de altă parte, nivelul crescut al insulinei scade sinteza proteinelor de legare a IGF-1, crescând forma liberă circulantă a IGF-1 și legarea acestuia de receptorii specifici - identificați în cantități crescute în majoritatea carcinoamelor, cantitățile excesive de IGF-1 din acromegalie ducând la rata crescută a gușilor nodulare și a carcinoamelor tiroidiene, identificate la acești pacienți. Astfel, IR poate reprezenta un factor de risc pentru dezvoltarea gușii difuze, a nodulilor tiroidieni precum și a neoplaziilor tiroidiene.

IR este corelată cu producția crescută de adipokine (citokine proinflamatorii, chemokine) la nivelul țesutului adipos visceral, acestea fiind incriminate în perturbarea funcționalității axei TRH-TSH. În plus, disfuncția adipocitară asociată insulinorezistenței duce la creșterea sistemică a stresului inflamator și oxidativ, anumite citokine inflamatorii (IL-1, TNF α , INF δ) și specii reactive de oxigen pot cauza direct disfuncție și distrugere a celulelor tiroidiene, constituind un factor trigger în declanșarea tiroiditei autoimune. Stresul oxidativ și

inflamator *low grade* asociate obezității și IR pot avea consecințe și asupra transportului transmembranar al hormonilor tiroidieni și asupra receptivității periferice a acestora putând fi cauza pentru rezistența periferică la hormonii tiroidieni observată în obezitate.

În plus, afectarea metabolică hepatică de tip steatoză hepatică/steatohepatita nonalcoolică (SHNA) poate interfera cu activarea, transportul și feedbackul hormonilor tiroidieni la nivel central.

Hipertonia axei CRH-ACTH-SR evidențiată în obezitate poate de asemenea să influențeze funcționalitatea tireostatului.

Un alt mecanism implicat ar putea fi deficitul de vitamina D asociat obezității, interconționat cu IR, ca factor de risc pentru declanșarea tiroiditei autoimune, având în vedere medierea pe care vitamina D o realizează între țesutul adipos visceral și sistemul imun.

Teza de față își propune să analizeze complex și integrativ relația IR- tiroidă, raportând rezultatele la ipotezele existente actual în literatura de specialitate și este structurată pe cinci direcții de cercetare:

Studiul nr. 1 este de tip observațional, transversal, având drept obiectiv evaluarea complexă, morfo-funcțională tiroidiană și metabolică a unui lot de pacienți obezi adulți, stabilirea corelațiilor între parametrii metabolici și cei tiroidieni, precum și analiza diferențelor între grupul IR vs grup non-IR.

Studiul nr. 2, de tip observațional, transversal, are ca obiectiv analiza conexiunii dintre IR, stresul inflamator (prin dozarea proteinei chemoattractante monocitare-1 - MCP1), stresul oxidativ (prin dozarea malondialdehidei - MDA) și parametrii morfo-funcționali, imunologici, tiroidieni în cazul pacienților obezi adulți.

Este cunoscută interrelația dintre obezitate, IR și deficitul de vitamina D. Recent, există raportări care asociază pe de o parte obezitatea și IR cu disfuncția tiroidiană (incluzând patologia autoimună tiroidiană) și pe de altă parte asocieri între deficitul de vitamina D și afecțiunile tiroidiene autoimune. Stresul inflamator ar putea fi considerat mecanismul patogenetic comun prin care IR, alături de deficitul de vitamina D, poate crește riscul apariției tiroiditei autoimune. Astfel, Studiul nr. 3 a fost conceput pentru a evalua nivelul vitaminei D în rândul pacienților obezi și a analiza corelațiile dintre nivelul vitaminei D, țesutul adipos visceral, IR, stresul inflamator (MCP-1) și tiroidita Hashimoto.

Studiul nr. 4 evaluează complex relația dintre parametrii metabolici (IR, T/S, CA, VFT, MCP-1, MDA, cortizol bazal, vitamina D, morfo-funcție hepatică) și cei tiroidieni, la un grup de 43 copii obezi pubertari cu vârsta cuprinsă între 11 și 18 ani.

Cercetările recente efectuate *in vivo/in vitro*, susțin efectul benefic al tratamentului cu Metfomin asupra scăderii volumului tiroidian și a nodulilor tiroidieni la pacienții IR care asociază gușă difuză/nodulară, efectul antiproliferativ în cazul carcinoamelor tiroidiene diferențiate și adjuvant în cazul celor nediferențiate, precum și asupra funcționalității axei TRH-TSH-tiroidă.

Am demarat astfel Studiul nr.5, de tip experimental, deschis, randomizat, prospectiv, care și-a propus să evalueze impactul tratamentului cu Metformin asupra parametrilor tiroidieni la un grup selectat de pacienți obezi-insulinorezistenți, non-diabetici, cu gușă difuză/nodulară, normofuncțională.

Deși literatura de specialitate internațională oferă articole cu tematică similară, în România, acesta reprezintă un domeniu relativ nou de cercetare, lucrarea noastră încercând să aibă un aport informațional integrativ asupra interrelației insulinorezistență - patologie morfo-funcțională tiroidiană, aceste informații fiind utile în activitatea practică de zi cu zi a medicului clinician, pentru o abordare cât mai exhaustivă din punct de vedere tiroidian a acestor pacienți.

Contribuția personală

Studiul I

Evaluarea relației dintre insulinorezistență și patologia tiroidiană la un eșantion reprezentativ de pacienți obezi

Introducere și obiective

Deși efectul disfuncției tiroidiene asupra metabolismului glucidic este bine cunoscut, atât hipertiroidismul cât și hipotiroidismul putând induce insulinorezistență, efectele obezității și ale insulinorezistenței asupra morfo-funcției tiroidiene nu sunt pe deplin elucidate. Se problematizează insulinorezistența ca fiind un posibil factor de risc pentru patologia tiroidiană, în literatura de specialitate fiind raportată o prevalență crescută a patologiei tiroidiene (hipotiroidism, gușă, noduli tiroidieni, boli autoimune tiroidiene) la pacienții obezi.

Studiul nostru a avut ca scop evaluarea prevalenței patologiei tiroidiene într-un lot reprezentativ de pacienți obezi și analiza relației între insulinorezistență și parametrii tiroidieni. La cut-off HOMA-IR ≥ 2.5 au fost comparate rezultatele grupului de pacienți obezi-insulinorezistenți cu cele ale pacienților obezi non-insulinorezistenți.

În plan secundar, studiul a avut ca obiectiv evaluarea relației între nivelul cortizolului seric matinal pe de o parte cu severitatea insulinorezistenței (cuantificată prin HOMA-IR) și pe de altă parte cu funcția tiroidiană.

Pacienți și metodă

După aplicarea criteriilor de includere (IMC ≥ 30 kg/m²) și excludere (diabet, patologie tiroidiană cunoscută anterior, boli psihice, insuficiență cardiacă, insuficiență renală cronică, insuficiență hepatică), au fost selectați consecutiv 82 de pacienți obezi cu vârsta cuprinsă între 19 și 68 de ani care s-au adresat ambulatorului de endocrinologie. Toți pacienții au fost

evaluați clinic: greutatea (G), indicele de masă corporală (IMC), tensiunea arterială (TA), circumferința taliei (T), circumferința soldului (S), raportul talie / șold (T/S), și paraclinic: glicemie *à jeun*, insulinemie, HOMA-IR (valoare cut-off $\geq 2,5$), trigliceridemie, HDL-colesterol, LDL-colesterol, colesterol total, TGO, TGP, GGT, cortizol ora 8 am, TSH, FT4, AC TPO, AC Anti-TG, ecografia tiroidiană, ecografia abdominală hepatică și măsurarea ultrasonografică a grosimii țesutului adipos subcutanat și visceral (SFT, VFT). Datele au fost prelucrate statistic specific și exprimările grafice s-au efectuat cu ajutorul programului Excel.

Rezultate

Valoarea HOMA-IR s-a corelat pozitiv cu nivelul TSH ($p= 0.028$). Nivelul TSH s-a asociat semnificativ cu nivelul insulinemiei în lotul studiat ($p= 0.037$). La cut-off HOMA-IR de 2.5, valoarea TSH a fost semnificativ mai mare ($p= 0,023$) în grupul pacienților obezi-insulinorezistenți comparativ cu cei non-insulinorezistenți. Pacienții cu SHNA au prezentat un TSH semnificativ mai mare decât cei fără SHNA ($p= 0.04$). Prevalența nodulilor tiroidieni a fost mai frecventă (44,4% vs. 24,3%) la pacienții insulinorezistenți comparativ cu cei non-IR, la limita pragului de semnificație statistică ($p= 0,058$). Nivelul cortizolului seric s-a corelat pozitiv atât cu nivelul HOMA-IR ($p= 0.03$), cât și cu nivelul TSH ($p= 0.02$) și a fost un factor predictiv pentru creșterea HOMA-IR ($p= 0.017$) în regresia multivariată. Factorii asociați semnificativ cu IR în analiza univariată au fost: IMC, TG, TGP, GGT, VFT, SFT, T/S. HOMA-IR a fost singurul factor predictiv asociat cu creșterea TSH în regresia multivariată ($p= 0.035$).

Concluzii

Pacienții obezi, insulinorezistenți, prezintă nu numai o alterare mai severă a parametrilor metabolici, dar și un nivel mai mare al TSH și o frecvență mai mare a nodulilor tiroidieni, comparativ cu pacienții obezi non-insulinorezistenți. Studiul nostru validează valoarea cut-off de 2,5 pentru HOMA-IR în ceea ce privește nivelul TSH, care a fost semnificativ mai mare la pacienții obezi, insulinorezistenți, în comparație cu cei non-insulinorezistenți. În analiza multivariată, HOMA-IR a fost singurul factor predictiv asociat cu creșterea nivelului TSH. Nivelul cortizolului seric matinal s-a corelat pozitiv cu insulinorezistența (cuantificată prin HOMA-IR) și cu nivelul TSH și a fost un factor predictiv asociat cu creșterea HOMA-IR.

Studiul 2

Evaluarea relației între insulinorezistență, MCP-1, dezechilibrul redox și patologia tiroidiană într-un eșantion de pacienți obezi.

Introducere și obiective

Deși există unele studii care au evaluat nivelul seric al proteinei chemoattractante monocitare-1(MCP-1) la pacienții cu afectare metabolică hepatică sau cu patologie tiroidiană, nu există la momentul actual un studiu care să analizeze corelația dintre țesutul

adipos visceral (VAT), insulinorezistență, inflamația sistemică, stresul oxidativ și patologia tiroidiană la pacienții obezi.

Bazându-ne pe ipoteza că MCP-1 și malondialdehida (MDA) ar putea constitui verigi importante între inflamația țesutului adipos, insulinorezistență și disfuncția tiroidiană, am studiat relația dintre nivelurile circulante ale MCP-1, MDA, IR și patologia tiroidiană, pe un eșantion reprezentativ de pacienți obezi adulți. Un alt obiectiv a fost compararea grupurilor obezi-IR/non-IR din punctul de vedere al inflamației, dezechilibrului redox și al patologiei tiroidiene la cut-off HOMA-IR de 2.5.

Pacienți și Metodă

Studiul a fost de tip transversal, observațional și a inclus 160 de pacienți obezi cu vârstă cuprinsă între 18-68 ani după aplicarea criteriilor de includere: IMC \geq 30 kg.m² și de excludere: diabet zaharat/glicemie bazală \geq 125mg/dl, insuficiență hepatică, cardiacă sau renală, boli psihiatrice, patologie tiroidiană cunoscută). S-au dozat parametrii metabolici: glicemie, insulinemie, TGO, TGP, GGT, trigliceride, colesterol total, LDL-colesterol, HDL-colesterol, markerul de stres inflamator- MCP-1 și de stres oxidativ- MDA. Au fost evaluați parametrii tiroidieni: TSH, FT4, FT3, AC TPO, AC Anti-Tg. S-au măsurat ultrasonografic VFT și SFT. Insulinorezistența a fost considerată la un cut-off HOMA-IR \geq 2,5.

Rezultate

Nivelul seric al MCP-1 a crescut semnificativ cu gradul de obezitate (p=0.002) și cu distribuția viscerală a acesteia (CA: p= 0.03, VFT: p< 0.001). Valoarea MCP-1 a fost semnificativ mai mare la pacienții IR (p=0.021) comparativ cu cei non-IR și s-a corelat cu nivelul insulinemiei în cazul pacienților IR (p= 0.0478). Dintre parametrii tiroidieni, nivelul MCP-1 s-a corelat pozitiv cu nivelul AC TPO (p= 0.012) și cu frecvența tiroiditei Hashimoto (p=0.028). MDA s-a corelat pozitiv cu nivelul obezității abdominale (CA: p= 0.02), cu afectarea funcției hepatice (TGO: p= 0.005) și a crescut cu nivelul inflamației sistemice (p= 0.008). Factorii asociați cu insulinorezistența în analiza univariată au fost: VFT (p= 0.04), alterarea funcției hepatice (TGP: p= 0.001, GGT: p= 0.002) dar, în regresia multivariată, doar VFT (p= 0.005) și TGP (p= 0.01) au fost factori predictivi independenți asociați cu creșterea acesteia. Pacienții IR au prezentat un nivel semnificativ mai mare al nivelului FT3 comparativ cu cei non-IR (p= 0.029). Nivelul insulinemiei s-a corelat pozitiv cu nivelul AC TPO (p= 0.0478) doar în cazul pacienților IR. Alterarea funcției hepatice (GGT) s-a asociat pozitiv cu nivelul FT4 (p= 0.0033) și negativ cu FT3/FT4 (p= 0.0139).

Concluzii

Creșterea gradului de obezitate se asociază cu un nivel mai mare al inflamației sistemice. Cauzele creșterii MCP-1 la pacienții obezi pot fi creșterea țesutului adipos visceral (VFT) și a IR. Inflamația sistemică (MCP-1) s-a corelat pozitiv cu severitatea tiroiditei Hashimoto și cu frecvența acesteia, sugerând că MCP-1 ar putea fi implicată în etiopatogeneza tiroiditei autoimune. La pacienții obezi insulinorezistenți, nivelul AC TPO s-a corelat semnificativ pozitiv cu nivelul insulinemiei serice, dar nu și cu HOMA-IR indicând posibila contribuție patogenică a hiperinsulinismului în producția de auto- anticorpi.

Obezitatea se asociază cu creșterea stresului oxidativ dar acesta nu este asociat cu disfuncția tiroidiană, ci numai cu afectarea hepatică și cu inflamația sistemică. În cazul pacienților obezi insulinoresistenți, FT3 ar putea constitui un marker pentru severitatea afectării metabolice. Alterarea funcției hepatice s-a asociat pozitiv cu nivelul FT4 și negativ cu FT3/FT4, indicând afectarea conversiei hepatice a T4/T3 printr-un dublu mecanism posibil: scăderea *thyroxine binding globulin* (TBG) și alterarea activității deiodinazei-1.

Studiul 3

Evaluarea relației între deficitul de Vitamină D, Insulinoresistență, inflamația sistemică și disfuncția tiroidiană la pacienții obezi

Introducere și obiective

Atât polimorfismul receptorilor de vitamina D, al enzimelor implicate în activarea vitaminei D, precum și cel al proteinelor de legare a acesteia sunt asociate cu riscul de a dezvolta tulburări ale metabolismului glucidic pe de o parte și cu boli autoimune tiroidiene, pe de altă parte. Având în vedere interacțiunea vitaminei D atât cu țesutul adipos cât și cu sistemul imun, se problematizează deficitul de vitamina D asociat obezității ca posibil factor de risc pentru tiroidita autoimună, alături de inflamația sistemică și insulinoresistență.

Studiul nostru își propune evaluarea într-un eșantion de pacienți obezi a nivelului de vitamina D și a relației acesteia cu gradul obezității (IMC), cu țesutul adipos visceral (VFT), cu severitatea IR (HOMA-IR), cu nivelul inflamației sistemice (MCP-1) și respectiv cu parametrii tiroidieni.

Pacienți și metodă

Studiul a fost de tip observațional, transversal și a inclus prin eșantionare neprobabilistică, convenientă, 158 de pacienți obezi, non-diabetici, fără istoric de patologie tiroidiană, cu vârstă cuprinsă între 19-58 ani. S-au dozat: 25-oh-vitamina D, parametrii metabolici: glicemie, insulinemie, TGO, TGP, GGT, trigliceride, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol, MCP-1, parametrii tiroidieni: TSH, FT4, FT3, FT3/FT4, AC TPO, AC Anti-Tg. Insulinoresistența a fost considerată la un cut-off HOMA-IR \geq 2,5. S-au măsurat ultrasonografic VFT și SFT și s-a efectuat ecografie abdominală pentru aprecierea steatozei hepatice.

Rezultate

Majoritatea pacienților obezi au prezentat deficit sever (70.25%) sau moderat de vitamina D (25.31%). Deficitul de vitamina D a fost semnificativ mai mare pe sezonul rece comparativ cu sezonul cald ($p=0.026$) și s-a corelat cu nivelul obezității viscerale (VFT) pe sezonul rece ($p=0.009$). La un cut-off de 15 ng/ml, vitamina D s-a asociat negativ cu MCP-1 ($p=0.0006$), iar inflamația sistemică (MCP-1) a fost singurul factor predictiv pentru deficitul de vitamina

D ($p < 0.0001$). Nivelul MCP-1 a crescut semnificativ cu gradul și componenta abdominală a obezității (IMC: $p < 0.001$, CA: $p = 0,026$), cu nivelul HOMA-IR ($p = 0.017$) și s-a asociat pozitiv cu nivelul AC TPO și cu frecvența tiroiditei Hashimoto. Nu au existat corelații semnificative între nivelul vitaminei D și funcția hepatică (TGO, TGP), deși a existat o tendință de asociere negativă a vitaminei D cu GGT în sezonul rece ($p = 0.051$). Deficitul de vitamina D s-a corelat semnificativ cu frecvența tiroiditei Hashimoto pe sezonul cald ($p = 0.046$) și a constituit singurul factor predictiv pentru prezența acesteia în analiza de regresie logistică ($p = 0.021$). Nivelul vitaminei D nu s-a asociat cu funcția tiroidiană sau cu HOMA-IR indiferent de sezon ($p > 0.07$).

Concluzii

În grupul de pacienți obezi studiat, deficitul de vitamina D a fost sever și s-a corelat negativ cu IMC. În timpul sezonului rece, deficitul de vitamina D a fost semnificativ mai mare comparativ cu sezonul cald și s-a corelat cu adipozitatea viscerală (VFT). La o valoare prag de 15 ng/ml, vitamina D s-a corelat negativ cu inflamația sistemică evaluată (MCP-1). Mai mult, MCP-1 a crescut cu gradul HOMA-IR și s-a dovedit a fi singurul factor predictiv pentru deficitul de vitamina D. Acest lucru sugerează că inflamația sistemică poate fi, de asemenea, un factor de risc pentru deficitul de vitamina D, susținând astfel o relație bidirecțională între deficitul de vitamină D și inflamația sistemică. În plus, inflamația sistemică s-a corelat cu severitatea și frecvența tiroiditei autoimune dar deficitul de vitamina D a fost singurul factor independent asociat cu prezența tiroiditei lui Hashimoto în analiza de regresie multivariată.

Studiul 4

Cross-talk între parametrii metabolici și cei tiroidieni în cazul copiilor obezi pubertari

Introducere și obiective

Creșterea exponențială a incidenței obezității în rândul populației pediatrice din ultimele decenii, de la vârste din ce în ce mai mici, a dus la apariția precoce a comorbidităților metabolice și la afectarea severă a calității vieții la vârsta de adult. Mecanismele prin care obezitatea este asociată cu patologia tiroidiană la copiii obezi sunt incomplet elucidate.

Datele din literatură privind inflamația și stresul oxidativ la copiii obezi sunt subiecte puțin studiate, astfel încât, în acest studiu ne-am propus să evaluăm atât relația dintre țesutul adipos visceral, IR și afectarea tiroidiană într-un grup de copii obezi pubertari, cât și dacă stresul inflamator (MCP-1), stresul oxidativ (MDA), cortizolul și deficitul de vitamina D pot fi factori implicați în apariția modificărilor tiroidiene la această categorie de pacienți.

Pacienți și metodă

Un număr de 43 de copii obezi (30 fete și 13 băieți) de vârstă pubertară (11-18 ani, stadiu II-V), au fost înrolați consecutiv pe o perioadă de 18 luni. Au fost excluși copiii cu patologie

tiroidiană, diabet, boli metabolice ereditare, boli hepatice, renale & cardiace, afecțiuni psihiatrice, epilepsie și istoric de prematuritate. Datele antropometrice au fost raportate la normograme specifice pentru vârstă, gen și dezvoltare pubertară: greutate, înălțime, circumferință abdominală, circumferință șold, raportul talie/șold, indicele de masă corporală (IMC), tensiune arterială sistolică/diastolică. Evaluările de laborator au cuprins: glicemie, insulinemie, HOMA-IR (cut-off ≥ 2.6), TGO, TGP, GGT, acid uric, colesterol total, trigliceride, HDL-colesterol, LDL-colesterol, cortizol seric matinal, TSH, FT4, FT3, FT3/FT4, AC TPO, AC Anti-Tg, MDA, MCP-1, 25-oh-vitamina D. Toți pacienții au efectuat ecografie tiroidiană și abdominală (hepatică, pentru măsurarea grosimii țesutului adipos visceral și subcutanat: VFT, SFT).

Rezultate

Majoritatea participanților au fost cu gradul II de obezitate (30/43), cu o prevalență a IR de 39.53%, a sindromului metabolic (SM) de 13,95%, a steatozei hepatice (SH) de 30,32%, fără diferențe raportate la gen sau stadiu pubertar. Majoritatea copiilor au prezentat funcție tiroidiană normală, doar 2/43 copii au avut hipotiroidism (non-imun), și respectiv 2/43 au fost diagnosticați cu tiroidită Hashimoto (cu eutiroidie); 27.9% din copii au prezentat gușă și 16.28% au fost identificați cu noduli tiroidieni. VFT s-a corelat pozitiv atât cu T/S ($p=0,034$), cât și cu frecvența nodulilor tiroidieni ($p=0,036$). Raportul T/S s-a corelat cu nivelul TSH ($p=0,005$), cu nivelul FT3/FT4 ($p=0,033$) și a fost singurul factor predictiv independent asociat cu creșterea FT3/FT4 ($p<0,001$). HOMA-IR a crescut cu gradul obezității viscerale (CA, $p=0,001$; T/S, $p=0,018$), cu alterarea funcției hepatice (TGP, $p=0,019$; prevalența SH, $p=0,036$) și s-a corelat semnificativ cu nivelul FT3 ($p=0,04$), FT3/FT4 ($p=0,03$). TSH a fost semnificativ mai mare la subiecții cu SH comparativ cu cei fără SH ($p=0,007$), iar analiza de regresie logistică a identificat TSH ca factor de risc pentru SH ($p=0,014$). În analiza de regresie liniară, SH a fost de asemenea un factor independent pentru creșterea TSH ($p=0,002$). MDA s-a corelat pozitiv cu MCP-1 ($p=0,021$) și cu nivelul cortizolului seric ($p=0,017$). Nu au existat asocieri între MCP-1, MDA și parametrii tiroidieni. 93,02% dintre copiii obezi au avut deficit moderat sau sever de vitamina D, care s-a accentuat semnificativ cu vârsta ($p=0,0026$), fără corelații semnificative ale acesteia cu parametrii metabolici sau tiroidieni.

Concluzii

Copiii obezi au prezentat predominant obezitate gradul II, fără diferențe semnificative în funcție de gen și stadiu pubertar dar, comparativ cu adulții obezi, au avut afectare metabolică mai ușoară (SM, SH, IR) sugerând faptul că afectarea metabolică depinde și de durata obezității.

Țesutul adipos visceral (VFT, T/S) și IR pot fi responsabili de modificările parametrilor tiroidieni asociate obezității: creșterea TSH, FT3, FT3/FT4 pe de o parte, și respectiv creșterea prevalenței nodulilor tiroidieni, pe de altă parte. Creșterea obezității abdominale (T/S) reprezintă un factor predictiv pentru creșterea raportului FT3/FT4.

Măsurarea ecografică a VFT este un bun indicator al prevalenței nodulilor tiroidieni. Între afectarea hepatică și creșterea TSH există o relație de interdependență. Nivelul stresului oxidativ (MDA) a crescut direct proporțional cu inflamația sistemică (MCP-1) și s-a corelat semnificativ pozitiv cu nivelul cortizolemiei, dar inflamația, stresul oxidativ și cortizolemia nu s-au corelat cu parametrii tiroidieni la copiii obezi. Majoritatea copiilor obezi au prezentat deficit de vitamina D, care s-a corelat cu vârsta, fără alte asocieri semnificative cu IR, inflamația, afectarea hepatică sau tiroidiană.

Studiul 5

Efectul tratamentului cu Metformin la pacienții insulinorezistenți cu gușă difuză/nodulară normo-funcțională

Introducere și obiective

Metforminul este un agent insulino-sensibilizant, antidiabetic, utilizat frecvent în tratamentul pacienților cu prediabet și/sau diabet zaharat de tip 2. Impactul acestuia asupra morfo-funcției tiroidiene în cazul pacienților insulinorezistenți rămâne încă un motiv de controversă.

Obiectivul cercetării noastre este urmărirea efectului tratamentului cu Metformin asupra parametrilor morfo-funcționali tiroidieni în cazul pacienților obezi, insulinorezistenți, non-diabetici, cu gușă difuză sau nodulară și eutiroidie, în contextul în care datele raportate pentru acest eșantion, sunt puține și controversate. Am asociat tratament frenator cu Levothyroxina (LT4) pentru a vedea dacă tratamentul Metformin+LT4 are un efect mai puternic de frenaj asupra TSH pe de o parte, și asupra evoluției gușii nodulare pe de altă parte, comparativ cu frenajul singular cu LT4.

Pacienți și metodă

Studiul a fost de tip experimental, deschis, randomizat, prospectiv. Au fost selectați 53 de pacienți cu vârste între 18 și 68 de ani, după aplicarea criteriilor de includere: obezi-insulinorezistenți (cut-off HOMA-IR \geq 2.5) cu gușă nodulară și eutiroidie (TSH cuprins în intervalul de referință 0.34-5.3 μ UI/mL, și FT4 cuprins în intervalul de referință 0.61-1.12 ng/dl). Au fost excluși pacienții cu glicemia bazală \geq 125mg/dl, istoric de diabet sau cu medicație care poate altera sensibilitatea la insulină, hipotiroidism/hipertiroidism, boli autoimune tiroidiene, afecțiuni psihiatrice, insuficiență hepatică, insuficiență cardiacă.

Pacienții au tras la sorți includerea în grupuri și au primit tratament: grup 1- Metformin 1000mg/zi asociat cu Levothyroxina 25 μ g/zi; grup 0- Levothyroxina 25 μ g/zi.

Pacienții au fost evaluați inițial și după 6 luni de tratament: clinic- greutate, circumferință abdominală (T), circumferință șold (S), raport T/S; paraclinic: TSH, FT4, glicemie (Gli), insulinemie, HOMA-IR, TGO, TGP, GGT, ultrasonografic: ecografie tiroidiană (măsurarea

volumului tiroidian total (VTT), diametru maxim- noduli tiroidieni) și ecografie abdominală (hepatică, măsurarea grosimii țesutului adipos visceral -VFT și subcutanat -SFT)

Rezultate

Grupurile au fost comparabile la momentul inițial. TSH a scăzut semnificativ mai mult în grupul M + LT4 comparativ cu grupul LT4 ($p= 0.039$). FT4 a crescut semnificativ în ambele grupuri (M+LT4; LT4), dar fără să atingă diferențe semnificative între grupuri la momentul final, sugerând că alți factori, în afară de creșterea FT4, contribuie la diferența de scădere a TSH. Scăderea nivelului TSH s-a corelat semnificativ cu scăderea T/S doar în grupul M + LT4 ($p= 0,002$). Grupul M + LT4 a prezentat o scădere semnificativ mai mare a parametrilor metabolici în ceea ce privește obezitatea viscerală reprezentată de CA, T/S, VFT și a nivelurilor de insulină și HOMA-IR. Deși, în final, volumul tiroidian și nodulii tiroidieni au scăzut semnificativ în ambele grupuri, pragul de semnificație statistică între evoluțiile celor două grupuri nu a fost atins ($p > 0.05$). Pentru ambele grupuri, scăderea VTT s-a corelat direct proporțional cu reducerea adipozității viscerale - VFT (M + LT4: $p= 0,002$, LT4: $p < 0,001$) și a insulinei (M + LT4: $p= 0,043$; LT4: $p= 0,004$). VTT la momentul final s-a corelat negativ cu scăderea T/S ($p= 0,041$), doar în grupul M + LT4, la care obezitatea abdominală (T/S) s-a redus mai mult vs. grup LT4. Analiza de regresie multivariată a arătat că scăderea nivelurilor de insulină ($p= 0.031$) și HOMA-IR ($p= 0.033$), au fost factori predictivi independenți asociați cu creșterea FT4 doar în grupul M + LT4. Nu s-a identificat o asociere semnificativă între reducerea VTT sau reducerea nodulilor tiroidieni și tratamentul primit.

Concluzii

Metforminul adăugat pacienților obezi-insulinorezistenți tratați cu Levothyroxină pentru gușă difuză sau nodulară normo-funcțională a produs o scădere semnificativă a nivelului TSH și a parametrilor metabolici, mai mare decât la pacienții tratați numai cu Levothyroxină. Reducerea obezității abdominale (reprezentată de T/S) s-a corelat semnificativ cu scăderea nivelului TSH și cu reducerea volumul tiroidian doar în grupul tratat cu M + LT4. Pragul de semnificație statistică nu a fost atins la compararea evoluției volumului tiroidian și a diametrului maxim al nodulilor tiroidieni în cele două grupuri după 6 luni de tratament, deși s-au înregistrat scăderi semnificative ale acestor parametri între punctul inițial și final în fiecare grup. Mai mult, scăderea volumului tiroidian total s-a corelat semnificativ cu reducerea nivelului țesutului adipos visceral (VFT) și a nivelurilor de insulină în ambele grupuri.

Concluzii generale

Această teză de doctorat a urmărit, pe parcursul a 5 studii distincte dar complementare, evaluarea relației între insulinorezistență și morfo-funcția tiroidiană la pacienții obezi atât adulți, cât și copii de vârstă pubertară, stabilind corelații între noi factori și mecanisme implicate în relația parametrilor metabolici cu cei tiroidieni în obezitate. Rezultatele prezentate în teza de față reprezintă o contribuție importantă în elucidarea unor

aspecte clinice, biochimice, ecografice și patogenetice privind impactul obezității, și în mod particular al IR, asupra morfo-funcției tiroidiene. În continuare sunt prezentate concluziile cercetării personale:

1. Creșterea adipozității viscerale și a IR poate fi responsabilă de modificările parametrilor tiroidieni asociați cu obezitatea: creșterea TSH, FT3/FT4, FT3 pe de o parte și creșterea prevalenței nodulilor tiroidieni pe de altă parte.
2. Creșterea inflamației sistemice (MCP-1) se asociază cu severitatea obezității viscerale și a IR. Inflamația sistemică din obezitate este corelată direct proporțional cu stresul oxidativ și poate fi un factor implicat în etiopatogeneza tiroiditei autoimune, nivelul MCP-1 corelându-se în studiul nostru cu severitatea (nivelul AC TPO) și cu frecvența tiroiditei Hashimoto.
3. La pacienții obezi, deficitul de vitamina D este frecvent și se corelează cu gradul obezității și cu distribuția viscerală a acesteia. Între deficitul de vitamina D și inflamația sistemică (MCP-1) există o relație de intercondiționare. În obezitate, deficitul de vitamina D poate reprezenta un factor independent de risc pentru tiroidita Hashimoto.
4. Afectarea metabolică hepatică (SH, SHNA) se corelează cu gradul IR, cu nivelul inflamației sistemice și al stresului oxidativ; de asemenea, se asociază semnificativ și interdependent cu nivelul TSH, fiind un factor de risc pentru creșterea acestuia și cu alterarea conversiei FT4/FT3.
5. Interacțiunea axei HPA (cortizolului seric matinal) cu tirostatul (TSH) a fost semnificativ pozitivă în lotul de pacienți obezi adulți, dar mecanismul acesteia rămâne încă necunoscut.
6. Deși copiii obezi au prezentat predominant obezitate gradul II, au avut afectare metabolică mai puțin severă vs. adulții obezi (SM, IR, SH, SHNA, stres inflamator/oxidativ) datorită duratei mai mici de evoluție a acesteia.
7. Copiii au prezentat o incidență redusă a disfuncției tiroidiene și a tiroiditei autoimune (similar copiilor normoponderali) dar cu o frecvență mai mare a gușii și a nodulilor tiroidieni.
8. Gradul obezității viscerale (T/S, VFT) și al IR s-a asociat și a fost predictiv pentru modificările parametrilor tiroidieni (creșterea nivelului TSH, FT3, FT3/FT4, frecvența crescută a nodulilor tiroidieni). Frecvența SH a fost relativ mică dar predictivă pentru creșterea TSH la copiii obezi.
9. Tratamentul cu Metformin asociat tiroxinei în cazul pacienților obezi-IR cu gușă difuză/nodulară normofuncțională este eficient atât pentru frenajul TSH, cât și pentru reducerea volumului tiroidian și a diametrului maxim al nodulilor tiroidieni.
10. Pentru ambele grupuri, scăderea volumului tiroidian a fost corelată în mod semnificativ cu reducerea adipozității viscerale (VFT) și a nivelurilor de insulină,

dar doar în grupul tratat cu Metformin ameliorarea obezității abdominale (T/S) a fost predictivă pentru reducerea VTT și a nivelului TSH.

11. Impactul metabolic al tratamentului cu Metformin în ceea ce privește ameliorarea obezității abdominale (CA, T/S, VFT), a insulinemiei și a insulinorezistenței (HOMA-IR) a fost semnificativ mai bun comparativ cu grupul tratat doar cu tiroxină.

Originalitatea tezei

- Primul studiu național și internațional care evaluează complex și integrativ relația dintre IR și tiroidă, încercând să valideze ipotezele că adipozitatea viscerală, IR, inflamația sistemică, stresul oxidativ, deficitul de vitamina D, afectarea metabolică hepatică și hipertonia axei HPA ar putea constitui verigi importante în etiologia patologiei tiroidiene în obezitate, atât la adulți cât și la copii.
- În literatură nu există, după cunoștința noastră, nici un studiu care să evalueze la populația țintă de pacienți obezi - insulinorezistenți non-diabetici cu gușă difuză și/sau nodulară normofuncțională, efectul și beneficiile Metforminului alături de tiroxină asupra parametrilor morfo-funcționali tiroidieni.

Aplicații practice:

1. Subliniază rolul unor metode de diagnostic simple și neinvazive ce pot fi folosite la pacienții obezi, predictive atât pentru severitatea insulinorezistenței cât și pentru modificarea parametrilor morfo-funcționali tiroidieni: calcularea raportului T/S și măsurarea ecografică a țesutului adipos visceral (VFT);
2. Propune validarea creșterii TSH, FT3, FT3/FT4 ca markeri de severitate pentru afectarea metabolică și gradul insulinorezistenței la pacienții obezi atât adulți cât și copii.
3. Având în vedere incidența crescută a deficitului de vitamina D la populația obeză și impactul negativ al acestuia la nivel sistemic, propunem evaluarea de rutină a nivelului de vitamina D la această categorie de pacienți în vederea corecției adecvate; (în mod particular la copiii obezi pubertari, unde deficitul poate fi și mai sever).
4. Managementul activ și consecvent al obezității infantile previne complicațiile metabolice cronice din viața de adult.
5. Propune tratamentul cu Metformin la pacienții obezi-insulinorezistenți cu gușă difuză/nodulară, evidențiind eficiența acestuia atât în ameliorarea parametrilor metabolici, cât și ca frenator al TSH și antiproliferativ tiroidian.

ABSTRACT OF THE

PhD THESIS

Insulin resistance - interference with thyroid disorders

Doctorand: **Coman Nicoleta (Răcățianu)**

PhD supervisor: **Prof. Dr. Cristina Ghervan**



Table of content

Current state of knowledge	17
Study I	
Evaluation of the relationship between insulin resistance and thyroid pathology in a representative sample of obese patients	19
Study 2	
Evaluation of the relationship between insulin resistance, MCP-1, redox imbalance and thyroid pathology in a sample of obese patients.....	20
Study 3	
Evaluation of the relationship between Vitamin D Deficiency, Insulin Resistance, Systemic Inflammation and Thyroid Dysfunction in Obese Patients.....	22
Study 4	
Cross-talk between metabolic and thyroid parameters in obese puberty children.....	23
Study 5	
Effect of Metformin in insulin resistant patients with normo-functional nodular goiter	25
General Conclusions.....	26
Originality of the thesis.....	27
Practical Applications	28

Keywords

Obesity

Insulin resistance

Thyroid

Systemic inflammation

Oxidative stress

Vitamin D

Current state of knowledge

The incidence of obesity has increased exponentially in recent decades and affects both adult and children population, being a major risk factor for increasing morbidity and mortality through cardiovascular disease, neoplasia, type 2 diabetes and its complications. Insulin Resistance (IR) is often the direct consequence of obesity and is defined by the decrease in insulin sensitivity of target tissues (adipose, muscular, hepatic) in the context of normal/increased serum levels of insulin. IR etiopathogenesis has not been fully elucidated, involving both environmental factors (hyperglucidic diet, medication, physiological conditions, endocrine disruptors) as well as genetic factors (mutations of insulin receptor and of proteins involved in insulin signaling pathways).

Numerous medical reports highlight an increase in the prevalence of thyroid disease in obese patients. This raises the question of whether IR, the central determinant of metabolic syndrome, is a risk factor for thyroid pathology, as well.

Our research aims to bring new information on the influence of IR and other metabolic disorders on thyroid function and morphology in both obese children and adults.

The mechanisms through which insulin resistance may influence thyroid morpho-function are not fully known. One hypothesis is that hyperinsulinism (secondary to IR) represents a systemic cell growth and proliferation factor and promotes neoangiogenesis, being capable, at the thyroid level, to induce cellular progression, acting directly on the R-insulin/ R-IGF1 signaling pathway, independent of TSH. In addition, TSH increases both the expression of growth factors (IGF1,2, EGF) and of their receptors, hyperinsulinism acting both directly and indirectly on thyroid cell progression. On the other hand, elevated insulin levels decrease the synthesis of IGF-1 binding proteins, increasing the circulating free form of IGF-1 and its binding to specific receptors - identified in increased amounts in most carcinomas, the excessive amounts of IGF-1 in acromegaly leading to increased rate of nodular goiters and thyroid carcinomas identified in these patients. Thus, IR may be a risk factor for the development of diffuse goiter, of thyroid nodules and thyroid neoplasia.

IR is correlated with increased production of adipokine (proinflammatory cytokines, chemokines) in the visceral adipose tissue, those being incriminated in disturbance of the TRH-TSH axis functionality. In addition, adipocyte dysfunction associated with insulin resistance leads to systemic inflammation and oxidative stress. Certain inflammatory cytokines (IL-1, TNF α , INF δ) and reactive oxygen species can directly cause dysfunction and destruction of thyroid cells, turning into a triggering factor for autoimmune thyroiditis. Oxidative and inflammatory low-grade stress associated with obesity and IR may also have consequences on the transmembrane transport of thyroid hormones and on their peripheral

receptivity, which may be the cause of the peripheral resistance to thyroid hormones noticed in obesity.

In addition, the hepatic metabolic impairment such as hepatic steatosis / nonalcoholic steatohepatitis (SHNA) may interfere with the activation and transport of thyroid hormones and could interfere with their feedback at central level.

The hypertonia of the CRH-ACTH-SR axis revealed in obesity may also influence the functionality of the thyroid gland.

Another mechanism involved could be that of the vitamin D deficiency, associated with obesity, correlated with IR, as a risk factor for triggering autoimmune thyroiditis, given the mediation vitamin D performs between the visceral adipose tissue and the immune system. This thesis aims to analyze, in a complex and integrative way, the IR-thyroid relationship, reporting the results to existing assumptions in the current scientific literature. It is structured on five research directions.

Study 1 is transversal and observational, aiming at a complex, thyroid and metabolic morpho-functional evaluation of a group of adult obese patients, establishing correlations between metabolic and thyroid parameters, as well as analysis of differences between IR group vs non-IR group.

Study 2, also transversal and observational, aims to analyze the connection between IR, oxidative stress (by Malondialdehyde-MDA dosage), inflammatory stress (by Monocyte Chemoattractant Protein-1 (MCP-1) dosage) and morpho-functional, immunological, thyroid parameters for obese adult patients.

The interrelationship between obesity, IR and vitamin D deficiency is well known. Recently, there are reports that associate obesity and IR with thyroid dysfunction (including thyroid autoimmune pathology) and on the other hand, reports associating vitamin D deficiency with autoimmune thyroid disorders. Inflammatory stress could be considered the common pathogenetic mechanism by which IR, along with vitamin D deficiency, may increase the risk for autoimmune thyroiditis. Thus, Study 3 was designed to assess the vitamin D level among obese patients and to analyze the correlations between vitamin D, IR, inflammatory stress (MCP-1) and Hashimoto's thyroiditis.

Study 4 evaluates, in a complex way, the relationship between metabolic parameters (IR, WHR, WC, VFT, MCP-1, MDA, basal cortisol, vitamin D, hepatic markers) and thyroid parameters in a group of 43 obese puberty children between 11 and 18 years of age.

Recent *in vivo* / *in vitro* investigations support the beneficial effect of Metformin therapy on decreasing thyroid volume and thyroid nodules in IR patients who associate diffuse / nodular goiter, also having an antiproliferative effect in differentiated thyroid cancer and adjuvant in non-differentiated ones, as well as on of the TRH-TSH-thyroid axis functionality. We have thus conceived Study 5 as an open, randomized, prospective trial that has been designed to evaluate the impact of Metformin therapy on thyroid parameters in a selected group of obese, insulin resistant, non-diabetic patients, with diffuse/nodular, euthyroid goiter.

Although international literature offers articles with similar themes, in Romania it is a relatively new field of research, our work attempting to have an integrative informative contribution on the interrelationship between insulin resistance and thyroid morpho-functional pathology, our findings being of great use for a clinician doctor's day-to-day work, offering a more comprehensive thyroid approach for these patients.

PERSONAL CONTRIBUTION

Study I

Evaluation of the relationship between insulin resistance and thyroid pathology in a representative sample of obese patients

Introduction and Objectives

Although the effect of thyroid dysfunction on glucose metabolism is well known, both hyperthyroidism and hypothyroidism can induce insulin resistance, the effects of obesity and insulin resistance on thyroid morphology are not being fully elucidated. Insulin resistance is thus questioned as a possible risk factor for the thyroid pathology, an increased prevalence of thyroid pathology in obese patients (hypothyroidism, goiter, thyroid nodules, thyroid autoimmune diseases) being reported in the medical literature.

Our study aimed at assessing the prevalence of thyroid pathology in a representative group of obese patients and at analyzing the relationship between insulin resistance and thyroid parameters. At the HOMA-IR cut-off ≥ 2.5 , the results of the obese insulin resistant versus non-insulin resistant obese patients' group were compared.

Secondarily, the study aimed to evaluate the relationship between serum matinal cortisol with both: insulin resistance (quantified by HOMA-IR) and thyroid function.

Patients and method

After applying the inclusion ($BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$) and the exclusion criteria (diabetes, previously known thyroid pathology, psychiatric disorders, heart & renal failure, hepatic impairment), 82 obese patients aged 19 - 68 years old who addressed the endocrinology ambulatory were included in the study. All patients were clinically evaluated: weight (G), body mass index (BMI), blood pressure (BP), waist circumference (WC), hip circumference (HC), waist / hip (WHR), HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, total cholesterol, AST, ALT, GGT, 8 am cortisol, fasting glucose and insulin, HOMA-IR (cut-off value ≥ 2.5), TSH, FT4, TPO Ab, Anti-TG Ab, ultrasonographic measurement: thyroid ultrasound, liver ultrasound and ultrasonographic measurement of subcutaneous and visceral thickness (SFT, VFT). The data were processed through specific statistical tests and graphical expressions were performed using Excel.

Results

The HOMA-IR value correlated positively with the TSH level ($p = 0.028$). The TSH level significantly associated with the insulin level in the study group ($p = 0.037$). At a HOMA-IR cut-off of 2.5, the TSH value was significantly higher ($p = 0.023$) in the obese-insulin resistant group compared to non-insulin resistant patients. Patients with SHNA showed a significantly higher TSH than those without SHNA ($p = 0.04$). The prevalence of thyroid nodules was more common (44.4% vs. 24.3%) in insulin resistant patients compared to non-IR patients at statistical significance threshold ($p = 0.058$). The serum cortisol level correlated positively with both HOMA-IR ($p = 0.03$) and TSH ($p = 0.02$) and was a predictive factor for HOMA-IR increase ($p = 0.017$) in multivariate regression. Factors significantly associated with IR in univariate analysis were: BMI, TG, ALT, GGT, VFT, SFT, WHR. HOMA-IR was the only predictive factor associated with TSH increase in multivariate regression ($p = 0.035$).

Conclusions

Obese, insulin resistant patients exhibited not only a more severe impairment of metabolic parameters, but also a higher level of TSH and a higher occurrence of thyroid nodules compared to non-insulin-resistant obese patients. Our study validates the cut-off of 2.5 for HOMA-IR in terms of TSH, which was significantly higher in obese, insulin-resistant patients compared to non-insulin-resistant patients. In multivariate analysis, HOMA-IR was the only independent predictive factor associated with increased TSH levels. Matinal serum cortisol levels correlated positively with insulin resistance (measured by HOMA-IR) and with TSH level and was a predictive factor associated with HOMA-IR increase.

Study 2

Evaluation of the relationship between insulin resistance, MCP-1, redox imbalance and thyroid pathology in a sample of obese patients.

Introduction and Objectives

Although there are some studies that have assessed the serum level of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in patients with metabolic liver disease or thyroid pathology, there is currently no research to study the correlation between adipose visceral (VAT), insulin resistance, systemic inflammation, oxidative stress and thyroid pathology in obese patients.

Based on the hypothesis that MCP-1 and malondialdehyde (MDA) could be important links between adipose tissue, insulin resistance and thyroid dysfunction, we studied the relationship between circulating levels of MCP-1, MDA, IR and thyroid pathology on a representative sample of adult obese patients. Another objective was to compare obese-IR to obese non-IR groups, in terms of inflammation, redox imbalance and thyroid pathology at a 2.5 cut-off of HOMA-IR.

Patients and Method

The study was transversal, observational and included 160 obese patients 18-68 years of age after inclusion: IMC ≥ 30 kg.m² and exclusion criteria: diabetes / fasting glucose ≥ 125 mg / dl, liver failure, cardiac or renal failure, psychiatric disorders, known thyroid pathology). Metabolic parameters were dosed: fasting glucose, insulinemia, TGO, TGP, GGT, triglycerides, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, MCP-1 as inflammatory stress marker and MDA-as oxidative stress parameter. Thyroid parameters: TSH, FT4, FT3, TPO Ab and Anti-Tg Ab were evaluated. The thickness of visceral adipose tissue (VFT) and subcutaneous (SFT) was measured ultrasonographical. Insulin resistance (IR) was considered at a cut-off of HOMA-IR ≥ 2.5 .

Results

The serum levels of MCP-1 increased significantly with obesity ($p = 0.002$) and its visceral distribution (WC: $p = 0.03$, VFT: $p < 0.001$). MCP-1 was significantly higher in IR patients ($p = 0.021$) than in non-IR patients and correlated with insulin levels in IR patients ($p = 0.0478$). Among thyroid parameters, the MCP-1 level correlated positively with the TPO Ab level ($p = 0.012$) and with the Hashimoto thyroiditis ($p = 0.028$).

MDA correlated positively with abdominal obesity (WC: $p = 0.02$) with impaired hepatic function (AST: $p = 0.005$) and increased with systemic inflammation ($p = 0.008$).

Factors associated with insulin resistance were VFT ($p = 0.04$), impaired hepatic function (ALT: $p = 0.001$, GGT: $p = 0.002$), but in the multivariate regression only VFT ($p = 0.005$) and ALT were independent predictive factors associated with its increase. IR patients showed a significantly higher level of FT3 compared to non-IR ($p = 0.029$). The insulin level was positively correlated with TPO Ab ($p = 0.0478$) only in IR patients. Impaired hepatic function (GGT) was positively associated with FT4 ($p = 0.0033$) and negatively with FT3 / FT4 ($p = 0.0139$).

Conclusions

Increased obesity is associated with a higher level of systemic inflammation. The increased visceral adipose tissue (VFT) and IR may be the causes of MCP-1's rising in obese patients. Systemic inflammation (MCP-1) positively correlated with the severity of Hashimoto's thyroiditis and its frequency, suggesting that MCP-1 might be involved in the autoimmune thyroiditis' etiopathogenesis. In insulin resistant obese patients, the TPO Ab levels correlated significantly with serum insulin levels but not with HOMA-IR, indicating the possible pathogenetic contribution of hyperinsulinism to autoantibody production. Obesity is associated with increased oxidative stress but it is not associated with thyroid dysfunction, only with hepatic impairment and systemic inflammation. In the case of insulin resistant patients, FT3 could be a marker for the severity of metabolic damage. Impaired hepatic function was positively associated with FT4 level and negatively with FT3 / FT4, indicating the impairment of the T4 / T3 hepatic conversion by a possible double mechanism: the increase of thyroxine-binding globulin (TBG) and the alteration of the deiodinase-1 activity.

Study 3

Evaluation of the relationship between vitamin D deficiency, insulin resistance, systemic inflammation and thyroid dysfunction in obese patients

Introduction and Objectives

Both the vitamin D receptors' polymorphism and the polymorphism of the enzymes involved in the vitamin D activation and binding proteins are associated with the risk of developing disorders of glucose metabolism on the one hand and of thyroid autoimmune diseases on the other. Considering the interaction of vitamin D with both adipose tissue and with the immune system, the vitamin D deficiency associated with obesity is questioned as a possible risk factor for autoimmune thyroiditis, along with systemic inflammation and insulin resistance.

Our study aimed to evaluate the level of vitamin D and its relationship with obesity (BMI), visceral adipose tissue (VFT), IR severity (HOMA-IR), systemic inflammation (MCP-1) and with thyroid parameters.

Patients and method

The study was observational, transversal, and included, by random sampling, 158, aged 19-58, non-diabetic obese patients with no history of thyroid pathology. There were assessed: 25-oh-vitamin D, metabolic parameters: glycemia, insulinemia, AST, ALT, GGT, triglycerides, total cholesterol, HDL cholesterol, LDL cholesterol, MCP-1, thyroid parameters: TSH, FT4, FT3, FT3 / FT4, TPO Ab, Anti-Tg Ab. Insulin resistance was considered at a cut-off of HOMA-IR \geq 2.5. The visceral -VFT and subcutaneous adipose tissue -SFT, also the liver steatosis assessment was done by abdominal ultrasound investigation.

Results

Most obese patients experienced severe (70.25%) or moderate (25.31%) vitamin D deficiency. Vitamin D deficiency was significantly higher over the cold season compared to the warm season ($p = 0.026$) and correlated with visceral obesity (VFT) during the cold season ($p = 0.009$). At a 15 ng / ml cut-off, vitamin D was negatively associated with MCP-1 ($p = 0.0006$) and systemic inflammation (MCP-1) was the only predictive factor for vitamin D deficiency ($p < 0.0001$). The MCP-1 level increased significantly with the degree and abdominal component of obesity (BMI: $p < 0.001$, CA: $p = 0.026$), HOMA-IR ($p = 0.017$) and was positively associated with TPO Ab and with the frequency of Hashimoto's thyroiditis. There was no significant correlation between vitamin D and hepatic function (ALT, AST), although there was a negative association of vitamin D with GGT in the cold season ($p = 0.051$). Vitamin D deficiency significantly correlated with Hashimoto's thyroiditis during the warm season ($p = 0.046$) and was the only predictive factor for its presence in the logistic

regression analysis ($p = 0.021$). Vitamin D levels were not associated with thyroid function or HOMA-IR regardless the season ($p > 0.07$).

Conclusions

In the studied group, vitamin D deficiency was severe and correlated negatively with BMI. During the cold season, the vitamin D deficiency was significantly higher compared to the warm season and correlated with visceral adiposity (VFT). At a threshold of 15 ng / ml, vitamin D correlated negatively with systemic inflammation (MCP-1). Furthermore, MCP-1 increased with HOMA-IR and proved to be the only predictive factor for vitamin D deficiency. This suggests that systemic inflammation can also be a risk factor for vitamin D deficiency, thus sustaining a bidirectional relationship between vitamin D deficiency and systemic inflammation. Additionally, the systemic inflammation correlated with the severity and frequency of autoimmune thyroiditis, but vitamin D deficiency was the only independent factor associated with the presence of Hashimoto's thyroiditis in the multivariate regression analysis.

Study 4

Cross-talk between metabolic and thyroid parameters in obese puberty children

Introduction and Objectives

The exponential increase of the obesity incidence among the pediatric population in recent decades, from younger age, has led to the early occurrence of metabolic comorbidities and severe impairment of adult quality of life. The mechanisms by which obesity is associated with thyroid pathology in obese children are incompletely elucidated. The literature data on inflammation and oxidative stress in obese children are insufficiently studied thus, in this study, we intended to evaluate both the relationship between visceral adipose tissue (VAT), IR and thyroid parameters in a group of obese puberty children and whether the serum level of MCP-1, MDA, cortisol and vitamin D can be factors involved in the occurrence of thyroid changes in this category of patients.

Patients and method

43 obese children (30 girls and 13 boys) of puberty age (11-18 years, stage II-V) were enrolled consecutively for a period of 18 months. Children with thyroid pathology, diabetes, hereditary metabolic diseases, hepatic, renal & cardiac failure, psychiatric, epilepsy, and with a history of prematurity were excluded. Anthropometric data were reported for age, gender and pubertal development norms: weight, height, abdominal circumference, hip circumference, waist / hip ratio, body mass index (BMI), systolic / diastolic blood pressure. Laboratory assessments included: blood glucose, insulinemia, HOMA-IR (cut-off ≥ 2.6), ALT, AST, GGT, total cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol, cholesterol LDL cholesterol, TSH, FT4, FT3 / FT4, TPO Ab, Anti-Tg Ab, MDA, MCP-1, 25-oh-vitamin D. All patients underwent

thyroid and abdominal ultrasound (VFT and SFT thickness measurement for visceral and subcutaneous adipose tissue thickness).

Results

Most participants had obesity grade II (30/43) with an IR prevalence of 39.53%, metabolic syndrome (MS) of 13.95%, hepatic steatosis (HS) of 30.32%, without differences related to gender or pubertal stage. Most children showed normal thyroid function, only 2/43 had hypothyroidism (non-immune), and 2/43 were diagnosed with Hashimoto thyroiditis (euthyroid); 27.9% of children presented goiter and 16.28% were identified with thyroid nodules. VFT correlated positively with both WHR ($p = 0.034$) and the presence of thyroid nodules ($p = 0.036$). The WHR correlated with TSH ($p = 0.005$), FT3 / FT4 ($p = 0.033$) and was the only independent predictive factor associated with FT3 / FT4 increase ($p < 0.001$). HOMA-IR increased with visceral obesity (WC, $p = 0.001$; WHR, $p = 0.018$), with hepatic impairment (ALT, $p = 0.019$, hepatic steatosis -HS; $p = 0.036$) and significantly correlated with FT3 ($p = 0.04$), FT3 / FT4 ($p = 0.03$). TSH was significantly higher in HS subjects than in non-HS patients ($p = 0.007$), and the logistic regression analysis identified TSH as a risk factor for HS ($p = 0.014$). In linear regression analysis, HS was also an independent factor for TSH increase ($p = 0.02$). MDA correlated positively with MCP-1 ($p = 0.021$) and serum cortisol ($p = 0.017$). There were no associations between MCP-1, MDA and thyroid parameters. 93.02% of obese children had moderate or severe vitamin D deficiency that significantly increased with age ($p = 0.0026$), with no significant correlation with metabolic or thyroid parameters.

Conclusions

Obese children showed predominantly grade II obesity, with no significant differences related to gender or pubertal status, but compared with adults, they had less metabolic impairment (metabolic syndrome, hepatic steatosis, IR) suggesting that metabolic damage also depends on the duration of obesity.

Visceral adipose tissue (VFT, WHR) and IR may be responsible for changes in thyroid parameters associated with obesity: the increase in TSH, FT3, FT3 / FT4 on the one hand and the increase in thyroid nodule prevalence on the other. Increased abdominal obesity (WHR) is a predictive factor for increasing FT3/FT4. Ultrasound measurement of VFT is a good indicator for the prevalence of thyroid nodules. There is an interdependence relationship between hepatic impairment and TSH increase. The level of oxidative stress (MDA) increased directly proportional to systemic inflammation (MCP-1) and correlated significantly with cortisol levels, but inflammation, oxidative stress and cortisol levels did not correlate with thyroid parameters in obese children. Most obese children have vitamin D deficiency that correlates with age, with no significant associations with IR, inflammation, hepatic or thyroid function.

Study 5

The effect of Metformin in insulin resistant patients with normo-functional nodular goiter

Introduction and Objectives

Metformin is an insulin-sensitizing, antidiabetic agent commonly used in the treatment of patients with prediabetes and / or type 2 diabetes mellitus. Its impact on thyroid morphology in insulin-resistant patients remains another reason for controversy.

The objective of our research was to monitor the effect of Metformin treatment on thyroid morpho-functional parameters in obese, insulin resistant, non-diabetic patients, with diffuse or nodular euthyroid goiter, given that the data reported for this sample are few and controversial. We have associated Levothyroxine (LT4) suppressive therapy to see if Metformin + LT4 treatment has a more potent effect on TSH decrease on the one hand, and on the evolution of the nodular goiter on the other, as compared to the suppressive effect of FT4 alone.

Patients and method

The study was experimental, open, randomized and prospective. 53 patients aged 18-68 years were selected following the inclusion criteria: obese-insulin resistant (cut-off HOMA-IR \geq 2.5) with diffuse or nodular euthyroid goiter (TSH comprised in the range 0.34-5.3 μ UI/ml, and FT4, within the 0.61-1.12 ng/dl range). Patients with fasting glucose \geq 125 mg/dl, history of diabetes or with medication that may affect insulin sensitivity, hypothyroidism/ hyperthyroidism, thyroid autoimmune diseases, psychiatric disorders, liver failure, heart failure have been excluded. Patients were randomly assigned in two groups and received treatment as follows: Group 1 - Metformin 1000 mg / day associated with Levothyroxine 25 μ g/day; group 0- Levothyroxine 25 μ g/day. Patients were evaluated initially and after 6 months of treatment, clinically: weight, abdominal circumference (WC), hip circumference (HC), WHR, and laboratory: TSH, FT4, glucose (Glu), insulin, HOMA-IR, ALT, AST, GGT, ultrasound: thyroid ultrasonography (total thyroid volume (TTV), maximum thyroid nodule diameter) and abdominal ultrasound (hepatic, visceral - VFT and subcutaneous thickness - SFT).

Results

The two groups were comparable at baseline. TSH significantly decreased more in the M + LT4 group, as compared to the LT4 group ($p = 0.039$). FT4 increased significantly in both groups (M + LT4; LT4) but did not reach significant differences between groups at the end point, suggesting that other factors, in addition to FT4 increase, contributed to the difference in TSH decrease. Decreased TSH levels correlated significantly with WHR decrease only in the M + LT4 group ($p = 0.002$). The M + LT4 group showed a significantly higher decrease of the metabolic parameters concerning the visceral obesity (WC, WHR, VFT) and insulin and

HOMA-IR levels. Although the thyroid volume and thyroid nodules decreased significantly in both groups, the threshold of statistical significance between the two groups was not reached ($p > 0.05$). For both groups, the TTV decrease correlated directly with the visceral adiposity reduction - VFT (M + LT4: $p = 0.002$, LT4: $p < 0.001$) and insulin decrease (M + LT4: $p = 0.043$; LT4: $p = 0.004$). TTV at the end point correlated negatively with WHR decrease ($p = 0.041$), only in the M + LT4 group where abdominal obesity (WHR) decreased more vs. LT4 group. Multivariate regression analysis showed that the decrease in insulin levels ($p = 0.031$) and HOMA-IR ($p = 0.033$) were independent predictive factors associated with FT4 growth only in the M + LT4 group. No significant association was found between the decrease in TTV or in thyroid nodules and the received treatment.

Conclusions

Metformin added to obese-insulin resistant patients treated with Levothyroxine for normo-functional nodular goiter produced a significant decrease in TSH and metabolic parameters, higher than in patients treated with Levothyroxine alone. The reduction of abdominal obesity (represented by WHR) significantly correlated with the decrease of TSH level and reduction of thyroid volume, only in the M + LT4 treated group. The threshold of statistical significance was not reached when comparing the evolution of thyroid volume and the maximum diameter of thyroid nodules in the two groups after 6 months of treatment, although there were significant decreases in these parameters between baseline and end point in each group. Furthermore, the decrease in total thyroid volume was significantly correlated with the reduction in visceral adipose tissue (VFT) and insulin levels in both groups.

General Conclusions

This PhD thesis has aimed, across 5 distinct but complementary studies, at the evaluation of the relationship between insulin resistance and thyroid morpho-function in both adults and puberty obese patients, establishing correlations between new factors and mechanisms involved in the relation between metabolic and thyroid parameters in obesity.

The results presented in this thesis represent an important contribution to the elucidation of some clinical, biochemical, ultrasound and pathogenetic aspects of the impact of obesity and more specifically of IR, on thyroid morphology and function.

The most important conclusions are the following:

1. The increase in visceral adiposity and IR may be responsible for changes in thyroid parameters associated with obesity: the increase of TSH, FT3 FT4, FT3, on the one hand, and increase in thyroid nodule prevalence on the other;
2. The increase of systemic inflammation (MCP-1) was associated with the severity of visceral obesity and IR. In obesity, systemic inflammation correlates directly with oxidative stress and may be a factor involved in the autoimmune thyroid disease, the

MCP-1 level correlating in our study with the severity (TPO Ab levels) and the frequency of Hashimoto's thyroiditis;

3. In obese patients, vitamin D deficiency is common and correlates with obesity and visceral distribution. There is a bidirectional relationship between vitamin D deficiency and systemic inflammation (MCP-1). In obesity, vitamin D deficiency can be an independent risk factor for Hashimoto's thyroiditis;
4. Hepatic metabolic damage (HS, NASH) correlated with IR, with systemic inflammation and with oxidative stress; also, it significantly associated with the TSH level, being a risk factor for its increase and altering of the FT4/FT3 conversion;
5. The interaction of the HPA axis (8 am serum cortisol) with thyrostat (TSH) was significantly positive in the adult obese population, but its mechanism remains unknown;
6. Although obese children presented predominantly grade II obesity, they had less severe metabolic damage compared to the obese adults (MS, IR, HS, inflammatory/oxidative stress) due to the shorter evolution of obesity;
7. Children had a reduced incidence of thyroid dysfunction and autoimmune thyroiditis (like normal-ponderal children), but with a higher incidence of thyroid nodules and thyroid nodules;
8. The visceral obesity (WHR, VFT) and IR levels were associated and predictive of changes in thyroid parameters (elevation of TSH, FT3, FT3/FT4, increased frequency of thyroid nodules). The HS frequency was relatively small but predictive of TSH increase in obese children;
9. Treatment with Metformin associated with thyroxin in obese-IR patients with euthyroid diffuse/nodular goiter is effective for both TSH decrease and for thyroid volume and maximum diameter of thyroid nodules reduction;
10. For both groups, the decrease in thyroid volume was significantly correlated with reduction of visceral adiposity (VFT) and insulin levels, but only in the Metformin group the improvement of abdominal obesity (WHR) was predictive of TTV 's and of the TSH level's reduction;
11. The metabolic impact of Metformin treatment in reducing abdominal obesity (WC, WHR, VFT), insulin and insulin resistance (HOMA-IR) was significantly higher compared to the thyroxine-only treated group.

Originality of the thesis

- The first national and international study that assesses, in a complex and integrative way, the relationship between IR and thyroid, attempting to validate the hypothesis that visceral adiposity, IR, systemic inflammation, oxidative stress, vitamin D deficiency, hepatic

metabolic damage and hypertonia of HPA axis could be important links in the etiology of thyroid pathology in obesity, both in adults and in children;

- In scientific literature, there is no study evaluating the targeted population of obese, non-diabetic, insulin resistant patients with euthyroid diffuse/nodular goiter, the effects and benefits of Metformin, along with thyroxine treatment, on morpho-functional thyroid parameters.

Practical application:

1. Our thesis emphasizes the role of simple and non-invasive diagnostic methods that can be used in obese patients to predict both the severity of insulin resistance and the modulation of thyroid morpho-functional parameters: WHR and ultrasound measurement of visceral adipose tissue (VFT);
2. It proposes validation of TSH, FT3, FT3/FT4 increase as markers of severity for metabolic damage and insulin resistance in obese patients, both adults and children;
3. Given the increased incidence of vitamin D deficiency in the obese population and its negative impact on the systemic level, we suggest a routine evaluation of vitamin D in this category of patients for appropriate correction; (particularly, for obese puberty children, where the deficit may be even more severe);
4. Active and consistent management of infant obesity prevents chronic metabolic complications in adult life;
5. We propose Metformin treatment in obese, insulin-resistant patients with diffuse/nodular euthyroid goiter, highlighting its efficacy in improving metabolic parameters and in lowering TSH and as antiproliferative thyroid treatment.