

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE „CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI ȘCOALA DOCTORALĂ  
DOMENIUL MEDICINĂ**

**IMPLICAȚIILE METABOLICE ALE SELENIULUI ȘI SELENOPROTEINELOR ÎN  
ORGANISMUL UMAN**

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat: PROF. UNIV. DR. MOHORA MARIA**

**Student-doctorand:**

**TĂNASE-CAȚIANIS ALEXANDRA GABRIELA**

## CUPRINS

INTRODUCERE .....	1
<b>I. PARTEA GENERALĂ .....</b>	<b>3</b>
<b>1. Seleniul și implicațiile sale metabolice în organismul uman .....</b>	<b>3</b>
1.1. Chimia seleniului .....	3
1.2. Selenoproteine .....	6
1.2.1. Biosinteza selenoproteinelor .....	7
1.2.2. Tipuri de selenoproteine .....	8
<b>2. Rolul selenoproteinelor în contextul stresului oxidativ .....</b>	<b>20</b>
2.1. Conceptul de semnalizare redox .....	20
2.2. Stresul oxidativ și modalitățile de contracarare a acestuia .....	24
2.2.1. Stresul oxidativ .....	24
2.2.1.1. Definirea stresului oxidativ .....	24
2.2.1.2. Specii reactive ale oxigenului și azotului .....	25
2.2.2. Modalitățile de contracarare a stresului oxidativ .....	34
2.2.2.1. Antioxidanți enzimatici și neenzimatici .....	34
<b>3. Selenoproteinele în contextul obezității .....</b>	<b>43</b>
3.1. Activitatea și nivelurile GPx în obezitate .....	43
3.2. Nivelurile circulante ale SELENOP (SeIP, SePP) .....	45
3.3. Selenoproteinele adipocitare .....	46
3.3.1. Selenoproteina P (SELENOP, SeIP, SePP) .....	46
3.3.2. Selenoproteina S (SELENOS) .....	46
3.3.3. Glutathion peroxidazele (GPx) .....	47
3.3.4. Tioredoxin reductaze (TXNRD) .....	48
3.3.5. Deiodurazele (DIO) .....	49

3.3.6. Alte selenoproteine .....	50
3.3.7. Proteine implicate în sinteza și degradarea selenoproteinelor la nivelul țesutului adipos .....	50
3.3.8. Selenoproteinele în țesutul adipos brun .....	51
<b>4. Selenoproteinele în patologia tiroidiană .....</b>	<b>53</b>
4.1. Hormonii tiroidieni .....	53
4.1.1. Structura și biosinteza hormonilor tiroidieni .....	53
4.1.2. Transportul hormonilor tiroidieni .....	56
4.1.3. Reglarea secreției hormonilor tiroidieni .....	56
4.1.4. Metabolizarea hormonilor tiroidieni .....	57
4.1.5. Mecanismul de acțiune al hormonilor tiroidieni .....	58
4.2. Markerii tiroidieni și de stres oxidativ. Tiroida și procesele metabolice .....	59
4.2.1. Markerii tiroidieni și de stres oxidativ .....	59
4.3. Implicațiile selenoproteinelor în patologia tiroidiană .....	74
<b>II. CONTRIBUȚII PERSONALE .....</b>	<b>77</b>
<b>5. Ipoteze și obiective generale .....</b>	<b>77</b>
5.1. Date introductive .....	77
5.2. Studiul 1 .....	77
5.3. Studiul 2 .....	77
<b>6. Determinarea seleniului (SE) și a selenoproteinelor la copii obezi cu dismetabolism .....</b>	<b>78</b>
6.1. Ipoteze de lucru și obiective .....	78
6.2. Materiale și metode .....	79
6.3. Rezultate .....	81
6.4. Discuții .....	100
6.5. Concluzii .....	101
<b>7. Studiul selenoproteinelor în afecțiunile tiroidiene .....</b>	<b>103</b>
7.1. Ipoteze de lucru și obiective .....	103

<b>7.2 Materiale si metode .....</b>	<b>103</b>
<b>7.3 Rezultate .....</b>	<b>104</b>
<b>7.4 Discuții .....</b>	<b>118</b>
<b>8. Concluzii clinice .....</b>	<b>120</b>
<b>9. Elemente de originalitate ale studiului .....</b>	<b>121</b>
<b>10. Bibliografie .....</b>	<b>122</b>

## INTRODUCERE

Selenoproteinele participă la procesele biologice cheie, cum ar fi pliarea proteinelor, diferențierea celulară, imunitate și la apărarea celulară față de stresul oxidativ. Dintre cele 20 de tipuri de Selenoproteine, glutationperoxidazele (Gpx), deiodurazele, și tioredoxin reductazele (TrxR), sunt implicate în reglarea redox și în metabolismul hormonilor tiroidieni. Tioredoxina (Trx), o proteină antioxidantă, situată intracelular în mitocondrie, nucleu și citoplasmă, în diverse țesuturi este o proteină implicată în inflamație, apoptoză, embriogeneză, în boli cardiovasculare și în reglarea redox. Trx donează electroni către peroxidaze și ribonucleotid reductaze. Refacerea grupărilor tiol ale Trx necesită NADPH și participarea TrxR. GPx-3 este izoforma serică a enzimei glutation peroxidaza și stopează peroxidarea lipidică, la nivel sistemic. Valorile mari serice ale ambelor proteine, GPx-3 și Trx pot fi induse de stresul oxidativ sistemic crescut și inflamație (LiuQ,2017). Seleniul face parte din categoria micromineralilor și are rol antioxidant, fiind cofactor pentru selenoproteinele implicate în protecția antioxidantă a glandei tiroide. Sursa de seleniu este exogenă, alimentele bogate în seleniu fiind nucile braziliene, unele cereale, ouale, peștele și carnea. Plantele captează seleniul, din sol, în forma sa anorganică (selenit și selenat) și îl transformă în compuși organici: (aminoacizii) selenometionină (SeMet) și selenocisteină (Sec)(Sors,2005). Obezitatea în rândul copiilor și adolescenților este în continuă creștere. Unul din 3 copii cu vârsta de 11 ani este supraponderal sau obez. Sedentarismul și dieta calorică, lipsită de vitamine și minerale contribuie la dezvoltarea comorbidităților din obezitate. Prediabetul, diabetul zaharat și bolile cardiovasculare timpurii au fost asociate cu obezitatea la copii și adolescenți și au fost intens studiate. Relativ recent, ficatul gras nonalcolic (NAFLD non-alcoholic fatty liver disease) și disfuncția tiroidiană completează lista comorbidităților asociate obezității, la copii. Cu alte cuvinte, copilul obez de astăzi, poate deveni pacientul cu disfuncție tiroidiană de maine. Excesul de iod din alimentele fast food, preferate de copiii obezi, în asociere cu deficitul de seleniu și fier, poate conduce la o sinteză anormală de hormoni tiroidieni în glanda tiroidiană. Mai mult, iodul în exces face tireoglobulina mai imunogenă, iar deficitul de seleniu reduce activitatea deiodurazelor din țesuturile periferice, scăzând sinteza de hormon T3 activ. În acest studiu caz-control, retrospectiv, ne-am propus să interpretăm valoarea serică a hormonilor tiroidieni, a TSH-ului și a seleniului la copiii obezi și să observăm asocierea lor cu tioredoxina serică (Trx), cu glutation peroxidaza-3 (GPX-3), cu capacitatea antioxidantă totală serică (TEAC). Bineînțeles că diverși parametrii metabolici (glicemia, profilul lipidic, transaminazele), de inflamație (fibrinogen, leptina) și de stres oxidativ ( NADPH oxidaza monocitară, malonildialdehida versus capacitatea antioxidantă totală serică) au fost determinați. Deoarece nu s-a putut face un studiu prospectiv, de urmărire a evoluției copiilor obezi până la vârsta adultă, am recurs la un al doilea studiu, pe adulți, subîmpărțiți pe grupe, în funcție de patologia tiroidiană: hipertiroidieni, hipotiroidieni și cei cu tiroidită autoimună. La adulți s-au făcut determinări similare cu cele de la copii. Astfel, în ser s-au determinat hormonii tiroidieni, TSHul, GPx-3 serică, Trx serică , capacitatea antioxidantă totală (CAT), markerul de inflamație (interleukina-8), precum și titrul anticorpilor antitireoperoxidaza (ATPO). Sideremia și calcemia, profilul lipidic și glicemia au fost evaluate, de asemenea. Astfel, cunoscând mai multe despre modificările biologice patologice în bolile tiroidiene, putem obține o mai bună înțelegere a disfuncției tiroidiene, o dirijare mai bună a studiilor clinice și, nu în ultimul rând, o gestionare eficientă a bolilor tiroidiene. Acționând responsabil, corectând la timp micile modificări din metabolismul hormonilor tiroidieni la copiii obezi, putem preveni dezvoltarea patologiei tiroidiene la vârsta adultă. Rezultatele acestui studiu ar trebui să fie utile medicului de familie, care va înțelege mai bine

interferențele proceselor patogenice din bolile tiroidiene și va interveni eficient, prin medicina preventivă, pentru prevenirea unor comorbidități endocrine din obezitate. Iodul este un oligoelement esențial pentru sănătate.

Rolul lui variază de la funcții metabolice, la celulare până la hormonale.

Împreună cu iodul acesta trebuie să fie în armonie pentru a evita disfuncțiile tiroidiene.

## Studiul 1-Copii obezi

### Materiale și metode

Studiul cuprinde Un total de 45 de copii obezi (10-16 ani) și 20 de copii normoponderali (grup de control), de aceeași vârstă.

Am determinat Se din plasma-spectrofotometrie de absorbție atomică și proteinele antioxidante dependente de seleniu Trx și Gpx3 prin metoda ELISA.

Am primit consimțământul scris al parinților

Criteria de includere au fost :copii obezi 10-16ani, iar cele de excludere:boli genetice de obezitate,copii sub tratament cu cortizol cu hepatita B sau C,boala Wilson.

## REZULTATE

Table 1. The average values and the standard deviation values for the studied parameters

Parameters	Control group	Obese	<i>p</i>
Cholesterol mg/dL	134.46± 16,39	177.2± 34.3	<0.01
Triglycerides mg/dL	68.4±28.7	110.25±52.6	<0.001
HDL-C mg/dL	51.37±12.9	53.38±12.9	Ns
LDL-C mg/dL	83.7 ± 7.7	104.23±30.4	<0.03
apoA	1.20±0.15	1.34±0.26	Ns
Apo B	0.51±0.03	0.74±0.15	<0.01
apoB/apoAI	0.43±0.04	0.53±0.1	<0.01
Col/HDL	3,23±0,67	3,38±0,803	Ns
Tg/HDL	1,15±0,59	1,90±0,91	0,05
Uric Acid mg/dl	3.48 ± 0.5	5.8±1.44	<0.002
GGT (UI/l)	13.85 ± 1	16.06 ±5.03	Ns
Glycemia mg/dl	85.2 ± 3.4	86.2±7.5	Ns
ALT(UI/l)	13.07 ± 2	18.8±7.5	<0.05
Creatinine mg/dL	0.80±0.15	0.75±0.16	Ns

Bilirubin mg/dL	0.55±0.29	0.5 ±0.31	Ns
Fibrinogen g/l	3.23±0.12	3.26±0.12	Ns
CRP mg/dl	0.95±0.35	2.3±1.02	<0.04
Ceruloplasmin mg/dl	29.82 ± 3	34.02 ±5.33	<0.02
Albumin g/dl	4.21±0.4	3.93±0.31	<0.002
Free T4(pg/mL)	12,94±0,71	14,63±1,44	<0.001
TSH (mIU/mL)	2,27±0,88	2,96±1,57	Ns

## DISCUȚII

Dislipidemia, inflamația și stresul oxidativ sunt mecanisme patogene legate în obezitate și ateroscleroză și acționează într-un cerc vicios (Marchio, 2019). Literatura de specialitate subliniază faptul că dislipidemia este prezentă la mai mult de jumătate dintre copiii obezi și supraponderali, iar tipul dislipidemie este de obicei, cu trigliceride ridicate și HDLc scăzut (Kostner, 2015). În studiul nostru, nivelurile HDLc au fost similare între grupurile studiate, dar trigliceridele serice și fiecare indice aterogen, calculat ca raport (TG / HDLc, colesterol total / HDLc, apoB / apoA-I) au fost crescute la copiii obezi versus control. ApoB transportă toate particulele potențial aterogene: lipoproteine cu densitate foarte mică (VLDL), lipoproteine cu densitate intermediară (IDL) și particulele LDL. ApoA-I transportă și acționează ca proteina antiaterogenă majoră și este prezenta doar pe suprafața particulelor HDL (Walldius,2006). O moleculă de apoB există pentru fiecare lipoproteină, cu excepția HDL. Astfel, pe plasma a jeun, cantitatea de apoB prezice numărul de particule LDL și VLDL (Vega, 1990; Levinson, 1992). De asemenea, apolipoproteina B (apoB) asigură interacțiunea lipoproteinelor LDL cu receptorii tisulari ai LDL (Twisk, 2000). Există cercetători care consideră că nivelurile serice ale apolipoproteinei A-I (ApoA-I), apolipoproteinei B (ApoB) și ale raportului ApoB / ApoA-I sunt indicatori de risc de boală cardiovasculară mai importanți decât valoarea serică a lipidelor serice.

Mai multe studii au sugerat că hormonul tiroidian, triiodotironina, T3 este direct implicat în reglarea expresiei LDL-R și apoB (Ness, 1998; Mukhopadhyay, 2003). De asemenea, se știe că prin deiodare 5', în țesuturile periferice, o cantitate majoră de T3 este produsă din T4 (Vander Geyten, 2005). Enzima



responsabilă de deiodinare este o selenoproteină a cărei activitate scade în condițiile deficitului de seleniu (Beckett, 1998; Dhingra, 2004).

La copiii obezi, TSH a fost în limite normale, iar valoarea medie a fost semnificativ apropiată de valoarea înregistrată la normoponderali.

La copiii obezi, deși tiroxina liberă (FT4) a fost în limite normale, valoarea medie a fost semnificativ crescută față de cea a copiilor normoponderali.

Între obezitate și hipotiroidism există o relație bidirecțională. Hipotiroidismul este recunoscut ca o cauză endocrină de creștere în greutate, de mulți ani, de când s-au pus bazele endocrinologiei umane. Rata redusă a metabolismului bazal la hipotiroidieni este principala cauză a creșterii în greutate la aceștia. Relația inversă, obezitate (cauză) – hipotiroidism (efect), sau cu alte cuvinte, hipotiroidismul drept comorbiditate a obezității este o ipoteză nouă. Explicația derivă din faptul că, obezitatea este asociată cu inflamația și stresul oxidativ și aceste mecanisme perturbă sinteza hormonilor tiroidieni atât la nivelul glandei tiroide cât și în periferie. De asemenea, repetăm faptul că, oligoelementul seleniu, este necesar deiodurazelor drept cofactor, iar deficitul de seleniu este o cauză a conversiei reduse T4 la T3. Studiul nostru este focusat pe selenoproteine. Deiodurazele tisulare sunt selenoproteine, dar studiul clinic al acestora nu este facil. De aceea, ne-am axat pe determinările altor proteine dependente de seleniu, și anume pe cele serice: glutatión peroxidaza 3, cunoscută ca enzimă ce inhibă peroxidarea lipidică și tioredoxina, Trx. Trx nu are seleniu în structură, dar forma ei redusă depinde de tioredoxin reductaza TrxR, care are selenocisteina în structură.

Corelațiile simple liniare au demonstrat o relație pozitivă între valorile serice ale FT4 și cele ale proteinelor antioxidante Trx și GPx-3. Această similaritate este explicată de faptul că ambele proteine pot fi induse de triggeri comuni, și anume hipoxia, inflamația și stresul oxidativ crescut.

Relația directă dintre inflamație și axa tiroido-hipofizară poate fi susținută de corelațiile negative dintre valorile TSH și câțiva markeri de inflamație: raport albumine/globuline, albuminemie precum și de corelația pozitivă cu leptinemia. Leptina și sistemul melancortinei sunt interdependente în reglarea axului hipotalamo-hipofizo-tiroidian. Reglarea feed-back pe această axă este imposibilă în absența leptinei. De asemenea, starea de sațietate sau foamete determină modificări ale leptinei și implicit variații ale hormonilor hipofizari (Flier JS, 2000).

Leptina la obezi are valori crescute, are efecte proinflamatorii și subliniem că în acest studiu s-a corelat pozitiv cu TSH-ul.

Albuminele serice reflectă funcția de sinteză hepatică, sunt proteine de sacrificiu, având efect antioxidant și au valori mai mici în inflamație (proteine negative de fază acută).

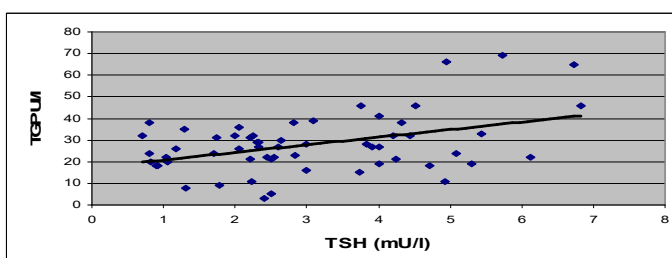
Hormonii tiroidieni cresc activitatea CETP, enzimă care face schimbul de colesterol de la HDL la VLDL și de trigliceride la VLDL la HDL, astfel calitatea lipoproteinelor HDL scade, concentrația HDL3 crește pe seama scăderii HDL2. De asemenea, activitatea crescută a lipazei hepatice face ca degradarea HDL să fie crescută, deci va scădea și cantitatea de HDL. Hormonul T3 induce sinteza de apoA5 care determină un catabolism activ al trigliceridelor. În hipotiroidism activitatea lipoprotein lipazei, enzima de pe peretele vascular din țesutul adipos este scăzută, deci trigliceridemia crește (Rizos, 2011).

Mai mult, în hipotiroidism, valoarea Lp(a) este crescută, ceea ce crește riscul cardiovascular la acești pacienți. În hipotiroidismul subclinic valorile Lp(a) au fost fie normale, fie crescute.

Se știe că GPx și paraoxonaza sunt enzime antioxidante majore asociate HDL (Brites, 2017). În studiile experimentale s-a demonstrat că deficiența de Se induce expresia crescută de apoB (Dhingra, 2005) și, de asemenea, că, valoarea scăzută a GPx și nivelul scăzut de Trx sunt asociate cu tromboza (Jin, 2011; Kirsch, 2016). Ținând cont de cele afirmate, Se are un rol protector împotriva aterosclerozei (Wojcicki, 1991; Lubrano, 2015).

În consens cu mecanismele patogenice de mai sus, în studiul nostru, am demonstrat o corelație pozitivă între TSH și trigliceridemie.

Recent, relația dintre disfuncția tiroidiană și steatoza hepatică din ficatul gras nonalcoolic (NAFLD) este dovedită pe baza mai multor mecanisme. Datorită faptului că, hormonii tiroidieni au efect asupra tuturor căilor metabolice majore, iar hipotiroidismul este asociat cu dislipidemia, obezitatea și rezistența la insulină, toate acestea sumate ar putea contribui la încărcarea grasă a ficatului. În studiul nostru am demonstrat o corelație puternic pozitivă între TSH și severitatea steatozei hepatice, evaluată ecografic. Așa cum orice variație bruscă în profilul lipidic obligă medicul să se gândească la o dislipidemie secundară (de exemplu, secundară unei boli tiroidiene), ficatul gras ecografic la copil este un semnal de alarmă al prezenței unui dismetabolism (dislipidemie, rezistență la insulină) secundat de perturbări hormonale (de exemplu, un hipotiroidism subclinic).



Relația ficat gras – metabolism al hormonilor tiroidieni este susținută și de corelația pozitivă TGP și TSH.

Chiar și la subiecții tineri, obezitatea de tip abdominal se caracterizează prin acumularea de grăsime interviscerală (Lumeng, 2011). Grăsimea viscerală excesivă eliberează citokine, cum ar fi factorul de necroză tumorală-alfa (TNF-alfa) și interleukina 6 (IL-6) și ulterior, stresul oxidativ sistemic și inflamația sunt crescute (Rani, 2016; Roberts, 2009). Adipozitatea viscerală excesivă modifică calea metabolică a lipoproteinelor cu densitate foarte mică (VLDL), rezultând niveluri mai ridicate de particule de lipoproteine cu densitate mică (LDL). Particulele LDL oxidate se formează în mediul de stres oxidativ sistemic și aceste particule sunt mai agresive asupra endoteliului vascular și reprezintă un factor de risc pentru ateroscleroză (Berliner, 1996).

Obezitatea se asociază cu sindrom metabolic, care se caracterizează prin circumferința taliei mare, dislipidemie (HDLc mic și trigliceridemie mare), tensiune arterială mare și glicemii peste 110mg/dl. S-a demonstrat că, la copiii obezi, dintre cele 5 criterii de sindrom metabolic, parametrii cel mai frecvent modificați sunt circumferința taliei și trigliceridemia, care au valori mari (Casariu, 2013).

În studiul nostru, circumferința taliei s-a corelat pozitiv cu valoarea cortizolemiei a jeun (8 am). Se știe că circumferința taliei este marker surogat al rezistenței la insulină, este direct proporțională cu grăsimea viscerală și este un parametru antropometric mai important decât indicele de masă corporală.

Cortizolemia crescută era inițial inclusă în definiția sindromului X metabolic, dar în ultimii ani, criteriile ATP (adult treatment panel) de sindrom metabolic (prediabet) au fost simplificate și la copiii de 10-16 ani criteriile se suprapun peste cele de la adulți, cu diferențe doar pentru valorile circumferinței taliei (la copii aplicându-se percentile).

În studiul nostru, copiii obezi au avut cortizolemia a jeun (8 am) corelată cu severitatea ficatului gras, estimată ecografic și cu valoarea volumului mediu plachetar (MPV). Studii recente demonstrează că MPV-ul mare înseamnă un turnover rapid al plachetelor în condițiile unui stres oxidativ sistemic crescut. Trombocitele cu MPV mare sunt proagregante. Sumând asociațiile pozitive dintre parametrii enumerați mai sus cortizol, TSH, transaminaze, grad severitate ficat gras, circumferința taliei, dislipidemie, putem spune că metabolismul tiroidian își lasă amprenta asupra ficatului gras nonalcoolic (NAFLD). Mai mult, ficatul gras non-alcoolic crește riscul proaterogen, prin creșterea agregării plachetare.

Studiul de față vine cu observații interesante, care susțin efectul sinergic, la unison, al modificărilor de stres oxidativ și de inflamație prezente la copiii obezi. În literatura de specialitate sunt puține studii privind valoarea tioredoxinei serice, proteină indusă de stresul oxidativ, în obezitate. Tioredoxina acționează ca

un donator specific de electroni pentru peroxidaze. Tioredoxin reductaza (TrxR), o selenoproteină aparține categoriei de proteine cu activitate redox și catalizează reacția pentru recuperarea Trx (Nordberg, 2001; Marchio, 2019).

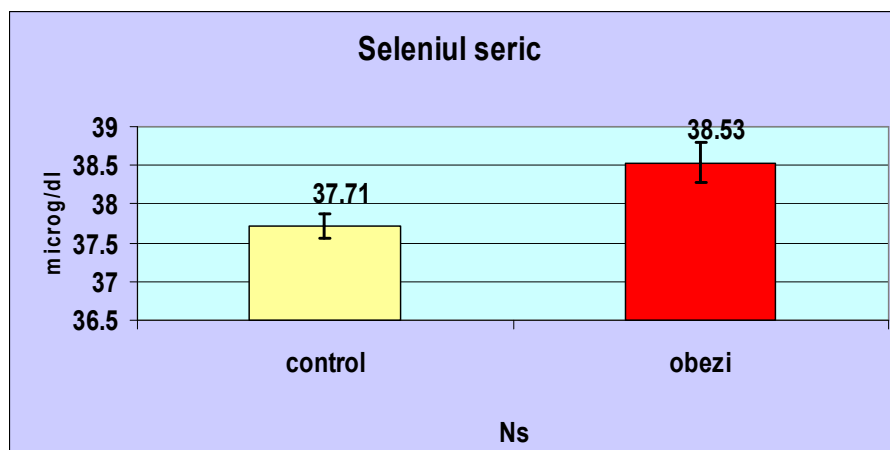
În studiul prezent noi am obținut o corelație simplă, liniară, puternică între indicii de rezistență la insulină, HOMA-IR și valoarea tioredoxinei serice, la copiii obezi.

Hipoxia, ischemia, stresul oxidativ, disfuncția metabolică, iradierile, infecția, inflamația sunt triggeri ai sintezei de Trx. Trx recombinantă (hrTrx), exogenă este propusă în dermatite pentru efectul antiaging (Yodoi, 2017).

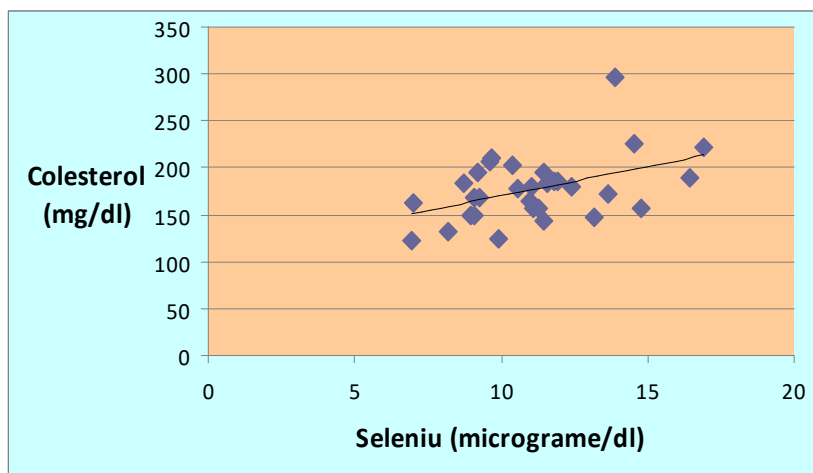
Un antioxidant important din categoria oligoelementelor este seleniul.

Studiile de laborator sugerează că seleniul (Se) joacă un rol important în fiziopatologia obezității datorită proprietăților sale ca factor antioxidant și antiinflamator (Hosseini, 2017; Xu, 2018). Seleniul este un component esențial al mai multor enzime antioxidante necesare sănătății normale, precum glutatation peroxidaza (GPx) și tioredoxin reductaza (TrxR) (Marseglia, 2014). Glutatation peroxidaza-3 este principala izoenzimă extracelulară a familiei glutatation peroxidazei (GPx). Este o enzimă tetramerică și fiecare monomer conține un atom de seleniu sub formă de selenocisteină. Această enzimă antioxidantă, GPx, acționează asupra  $H_2O_2$  și asupra hidroperoxidilor fosfolipidici și le transformă în produse inofensive. Tioredoxina acționează ca un donator specific de electroni pentru peroxidaze

Sistemul de apărare antioxidantă depinde de factorii de mediu și de aportul de nutrienți. Seleniul este cunoscut ca un mineral implicat în scăderea stresului oxidativ și în reducerea leziunilor membranelor celulare. Pe lângă capacitățile sale antiinflamatorii și antioxidante, seleniul poate influența activitatea factorului de transcriere PPAR (peroxisome proliferator activated receptor) (Liu, 2011).



În studiul nostru, seleniul a avut valori similare în grupurile studiate și a fost corelat pozitiv cu apo B ( $r = 0,52$ ,  $p < 0,05$ ) (Figura 1). Influența metabolismului seleniului asupra dislipidemie și stresului oxidativ a fost mai mult studiată în studiile experimentale și mai puțin pe cele clinice. Într-un studiu experimental efectuat pe șobolani Sprague Dawley, cercetătorii au demonstrat că deficiența de Se conduce la reglarea crescută a expresiei apoB în condițiile hipercolesterolemiei experimentale (Dhingra, 2005). La șoarecii obezi, Lee la al. au demonstrat că „expresia deficitară a GPx3 în țesutul adipos este asociată cu o activitate sistemică GPx redusă și cu stres oxidativ crescut” (Lee, 2008). Se pare că hipoxia și inflamația în țesutul adipos au o contribuție importantă la reducerea cantității și implicit activității GPx-3 în interiorul țesutului. În studiul nostru, concentrația serică GPx a avut valori similare în grupurile studiate. Am demonstrat că la copiii obezi concentrația enzimei a fost corelată pozitiv cu raportul TG / HDL ( $r = 0,54$ ,  $p < 0,05$ ) (Figura 2) și cu raportul colesterol / HDL ( $r = 0,34$ ,  $p < 0,05$ ). De asemenea, nivelul apo B a fost corelat pozitiv cu Se seric ( $r = 0,52$ ,  $p < 0,05$ ), în timp ce nivelul apo A1 a fost corelat negativ cu concentrația GPx ( $r = -0,74$ ,  $p < 0,05$ ). De asemenea, în consonanță cu asociațiile anterioare, seleniul seric s-a corelat cu valoarea colesterolului total.

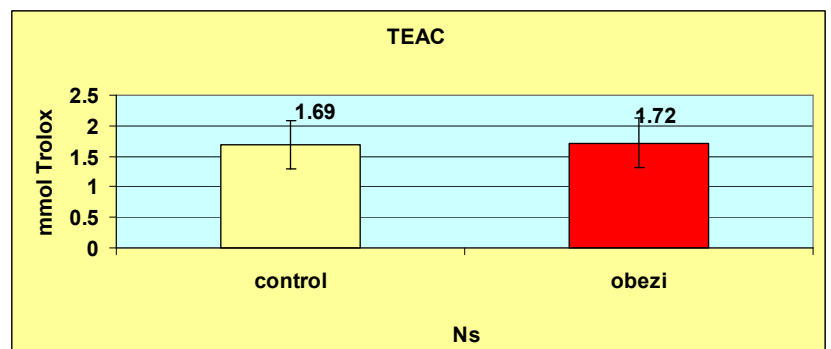
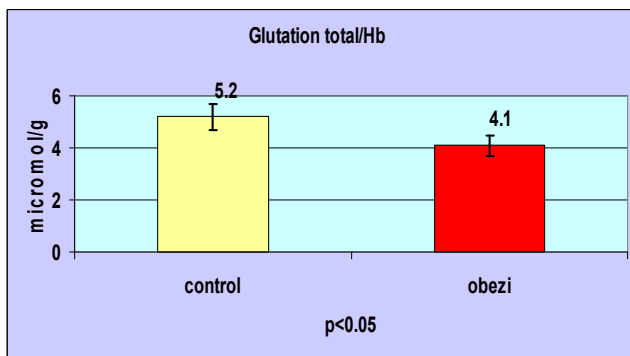


Rezultatele noastre, la copiii obezi sunt similare cu cele observate la adulții obezi și supraponderali ( $n = 133$ ) din centrul Mexicului. În 2012, acesta a fost primul studiu clinic, care a demonstrat că, concentrația GPx-3 a fost corelată cu indicele TG / HDLc și rezistența la insulină. Autorii au considerat că, în obezitate, exprimarea GPx-3 este afectată, dovadă fiind valorile modificate ale ARN mesager (ARNm). De asemenea, stadiul (severitatea) bolii este importantă. În aceste condiții, o interpretare adecvată a valorii GPx necesită mare atenție, enzima este fie indusă, fie reprimată, în funcție de factorii din mediu

(Baez-Duarte, 2012). La copiii supraponderali și obezi, ca și cei implicați în studiul nostru, s-a descris un status inflamator și pro-oxidant sistemic și local (în țesutul adipos) care influențează valoarea GPx (Kostner, 2015).

Literatura de specialitate a arătat că, în bolile severe, caracterizate prin stres oxidativ crescut, precum pacienții cu boală renală în stadiul final, au fost înregistrate valori scăzute ale activității paraoxonazei plasmatice și ale glutatation peroxidazei (GPx), o reducere marcată a apoA-1 serice și o valoare redusă de HDLc (Vaziri, 2009). De asemenea, s-a demonstrat că, o activitate scăzută a enzimei GPx crește riscul de tromboză și reduce nitric oxidul, NO (Jin, 2011).

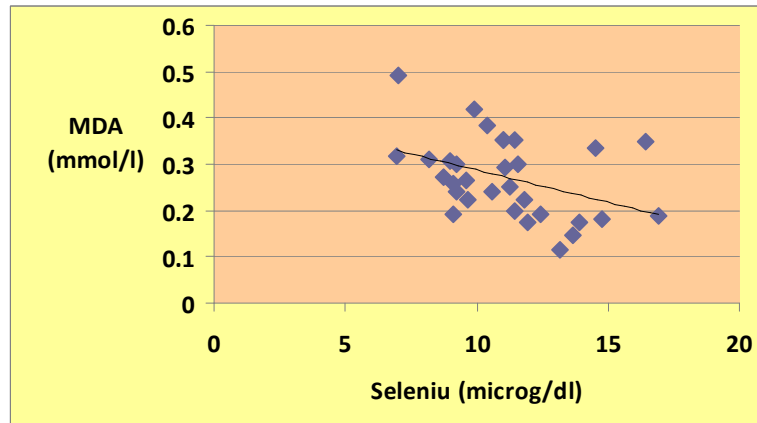
Statusul de stres oxidativ sistemic a fost evaluat la copiii obezi prin determinarea: exploziei monocitare (Respiratory burst sau activitatea NADPH oxidazei monocitare), a capacității antioxidante sistemice totale (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity, TEAC), a malonildilaldehydei plasmatice (MDA), a valorilor serice ale GPx-3, tioredoxinei (Trx) și glutatationul total sangvin (GSH). La copiii obezi, glutatationul total sangvin a avut valori mai mici, iar apărarea antioxidantă totală nu a variat semnificativ statistic. Se știe că acidul uric este o componentă foarte importantă a TEAC, iar copiii obezi au avut uricemia semnificativ crescută față de copiii normoponderali (5,8 mg/dl vs 3,48 mg/dl,  $p < 0,02$ ). Această uricemie crescută reprezintă o explicație pentru valorile nemodificate ale TEAC între loturile studiate.



Un marker des utilizat pentru estimarea peroxidării lipidice sistemice este malonildialdehida serică. Aceasta a avut valori crescute la copiii obezi, ceea ce înseamnă un stres oxidativ crescut. În studiul nostru am obținut o corelație puternic negativă între concentrația serică a seleniului și malonildialdehida serică. Această relație concordă cu rezultatele unor studii de specialitate. De exemplu, Rahayu et al au

administrat seleniu și vitamina E la vaci și au obținut o reducere a peroxidării lipidice sistemice (Rahayu, 2019).

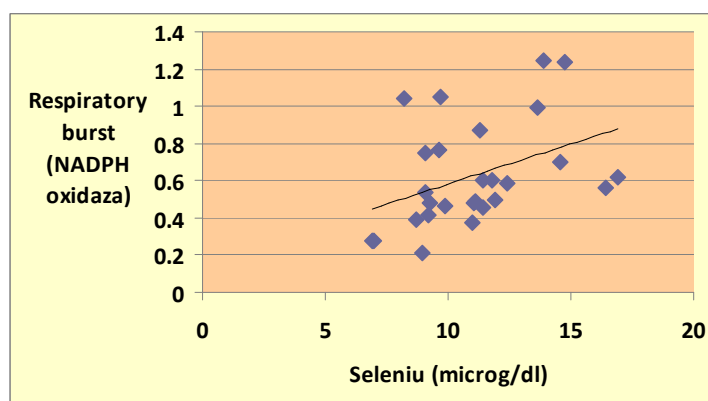
De asemenea, în teza de doctorat, "Seleniul în condiții de efort fizic și hipoxie", doctoranda Violeta Mariana Leuca a demonstrat că administrarea de seleniu la animalele sedentare a determinat reducerea MDA seric (Leuca, 2009).



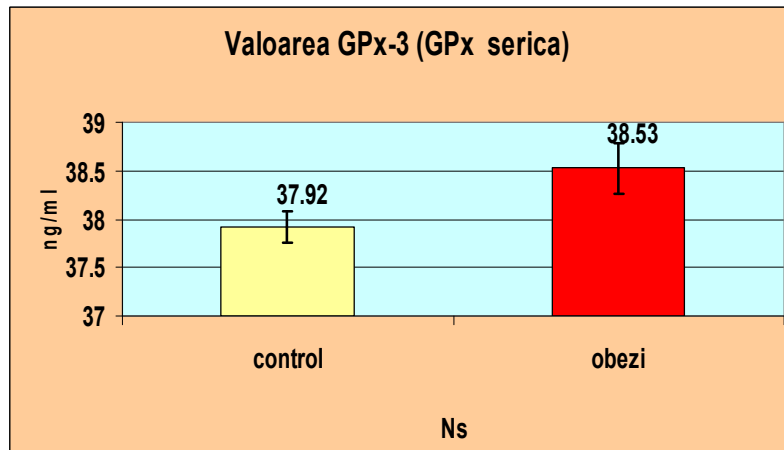
Subliniem că subiecții obezi au avut leptina cu valori mari serice (18,3 mg/dl vs 3,1mg/dl). Leptina induce eliberarea de citokine precum TNF-alpha sau IL-6, având țintă monocitele. Mai mult, determină creșterea proliferării și diferențierii monocitelor. Acționând asupra neutrofilelor, leptina determină o creștere a expresiei CD11b, precum și o creștere a efectului chemotactic și a exploziei monocitare (Guzik, 2006)

Interesant este că leptina nu s-a corelat semnificativ statistic cu RB, dar glutatiunul total sangvin s-a corelat invers cu RB ( $r = -0.45$ ). Ținând cont de valorile obținute, un mecanism patogenetic dublu al stresului oxidativ sistemic este prezent la copiii obezi și anume: o activitatea crescută monocitară de producere de radicali (RB crescută), sursă de radicali liberi și o apărare antioxidantă redusă (glutatiunul total sangvin redus). Relația pozitivă dintre TEAC și seleniu este firească, amândoi parametrii având rol antioxidant. Relația RB cu seleniul, aparent este surprinzătoare. Dar, s-a demonstrat că seleniul stimulează CD16+ NK (de pe celulele natural killer adică limfocite), determinând o creștere a apărării imune (Avery, 2018).

Un studiu experimental pe șoareci a demonstrat că suplimentarea cu seleniu a determinat o creștere a activității citotoxice a limfocitelor (Kiremidjian-Schumacher, 1996).



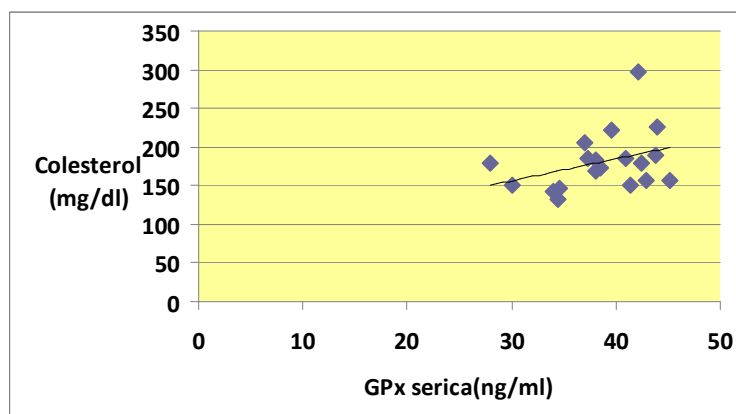
Revenind la valoarea glutation peroxidazei serice, în acest studiu nu s-au înregistrat diferențe semnificative între copiii obezi și normoponderali.



Corelația directă, pozitivă dintre Gpx-3 și seleniu este firească deoarece enzima are selenocisteina în centrul activ. Sistemul de apărare antioxidantă, la nivel sistemic este format din molecule enzimatică și nonenzimatică. GPx aparține proteinelor enzimatică de apărare alături de superoxid dismutază, catalază și glutatión reductază. GPx stopează peroxidarea lipidică și consumă glutatión. Grupările tiolice ale glutatiónului se refac cu ajutorul coenzimei NADPH+H+, sub acțiunea glutatión reductazei. TEACul estimează apărarea antioxidantă sistemică nonenzimatică. Graficul (fig 35) arată că cele 2 mecanisme de apărare lucrează la unison.

Relația pozitivă dintre GPx cu transaminaza TGP înregistrată în acest studiu, a fost descrisă și de alți cercetători, pe cazuri de NAFLD (Kumar, 2013).

Interesant este că, în studiul comparativ, citat mai sus, pe cele 3 loturi de pacienți, cei cu NAFLD, cei cu hepatită virală C și voluntari sănătoși, statusul pro-oxidant a fost cel mai reprezentativ la pacienții cu NAFLD, iar statusul proinflamator a fost pronunțat la cei cu hepatită virală C (Kumar, 2013)..





Valoarea GPx-3 în țesutul adipos se corelează cu vârsta, IMC, distribuția grasimii și sensibilitatea la insulină, dar nu și cu GPx-3 serică. Chirurgia bariatrică din obezitatea morbidă are efecte pe valorile GPx-3 (Langhardt, 2018).

Unii cercetători au propus un scor de risc genetic, în care sunt incluse GPx-3 și PON, iar anumite variante genetice cresc riscul de boală cardiovasculară (Decharatchakul, 2020).

Măsurarea GPx-3 prin PCR real time(RT) la pacienții cu afecțiuni coronariene a demonstrat prezența unor valori mai mari de GPx-3 față de control. Unii cercetători diminuează importanța GPx-3 ca enzimă antioxidantă sistemică deoarece ea este dependentă de glutation, care la nivel seric este redus. Tioredoxina și glutaredoxina sunt donori de electroni pentru GPx-3. Seleniul (Se) din selenoproteine, precum GPx este necesar pentru sănătate. Valorile mici serice ale acestui oligoelement au fost asociate cu boala cardiovasculară (Abaspour, 2017).

O dietă bogată în seleniu, la porci, a determinat o creștere a activității SREBP (sterol regulatory element binding protein) în ficat, deci o sinteză crescută de colesterol, iar pe musculatura skeletică a determinat rezistență la insulină (Zhao, 2016).

Acest studiu are unele limitări din cauza numărului mic de subiecți implicați. Dar subliniază faptul că valorile în intervalul normalului pentru un parametru, la limita superioară sau inferioară, la subiecții obezi pot fi semnificativ diferite față de cele ale copiilor cu greutate normală. Aceste valori de graniță ale unor parametrii pot reprezenta „uvertura” pentru furtuna metabolică din obezitate. Există puține date despre metabolismul seleniului și selenoproteinele la copiii obezi și acesta este un studiu pilot care arată importanța acestui subiect.

## **Studiul 2-Adulți cu patologii tiroidiene**

### **Materiale și metode**

Studiul a fost împărțit în trei grupuri de pacienți :26 cu hipertiroidism (șase bărbați și 20 de femei ), 12 cu tiroidită autoimună (toate femei) și 19 cu hipotiroidism( 2 bărbați și 17 femei ), însumând un total de 57 de pacienți.

Grupul de control a fost reprezentat de 33 de voluntari sănătoși (trei bărbați și 30 de femei), vârsta voluntarilor este similară cu cea a pacienților din acest studiu.

Pacienții și voluntarii au fost preluați de la un laborator de interpretări paraclinice din București.

Am primit consimțământul informat pentru studiu, de la toți pacienții și voluntarii. Studiul este înregistrat de către Comisia de etică cu numărul cu 11 605 / 11 5-a 2021.

Pacienții au fost cu afecțiuni tiroidiene nou descoperite și nu erau sub tratament.

Pentru diagnosticul disfuncțiilor tiroidiene s-au realizat măsurători și investigații clinice pentru TSH ,FT4, FT3, ATPO

Au făcut parte din studiu pacienții ce prezentau tiroidita autoimună, hipotiroidism sau hipertiroidism.

Criteriile de excludere ale studiului nostru au fost ca aceștia să nu prezinte boli inflamatorii cronice, diabet zaharat, să nu aibă infecții virale sau bacteriene cunoscute și aportul de etanol să fie mai mare de 20 de mg pe zi .

Studiul a fost realizat în perioada 2018 decembrie 2019

Am analizat antioxidanții serici: enzima glutatation peroxidază 3 sau GPX 3 , tiredoxina sau Trx, hormonul tiroidian (TSH), anticorpii antitiroidperoxidaza ATPO, interleukina 8 sau IL8 , tiroxină liberă sau FT4 și capacitatea antioxidantă totală sau CAT.

Cu ajutorul analizatorului automat de immuno analiză numit IMMULITE 1000(Siemens Germania) am făcut măsurătorile serice pentru TSH și free T4.

În cazul măsurătorilor TAC, Trx și GPX au fost folosite kiturile Elisa(de la GmbH Achen Germania-ID ABIN nr -64574192, folosit pentru determinarea CAT, nr. 657419, folosit pentru determinarea Trx și cu nr. 6956201 , utilizat pentru determinarea GPX.

Studiul patologiei tiroidiene, rămâne un subiect deschis, deoarece, în prezent, rezultatele determinărilor privind stresul oxidativ și inflamația în bolile tiroidiene sunt relativ controversate. La acest aspect contribuie numărul relativ mic de pacienți înrolați în studii, variabilitatea duratei și severității bolii tiroidiene. Sperăm ca studiul prezent să aducă o contribuție la deslușirea unor mecanisme patogene în bolile tiroidiene, să orienteze educația medicală pentru consolidarea medicinei preventive în patologia tiroidiană și să ridice un semnal de alarmă asupra posibilelor comorbități tiroidiene la copiii obezi.

## REZULTATE

TABEL 1. Date experimentale înregistrate pentru grupul martor și pentru grupul pacienților cu boli tiroidiene

Parametru	Grup control (n=33)	Grup pacienți (n=57)	tTest (p)
varsta(ani)	55 ± 15	54 ± 18	Ns.
CAT (U/ml)	59,8 ± 14	53,7 ± 13	<0,03
Trx (ng/ml)	12,88 ± 1,3	13,43 ± 1,5	<0,05
GPx-3 (ng/ml)	21 ± 3,7	24,4 ± 6,8	<0,01
IL-8 (pg/ml)	18,5 ± 2,6	21,7 ± 9	<0,05
Anticorpi ATPO (IU/ml)	14 ± 6	152,9 ± 69	<0,001
TSH (mU/l)	1,8±0,6	4,58±2,1	<0,001
FT4 (pg/ml)	1,3±0,23	15,8±5,6	<0,001

CAT = Capacitate antioxidantă totală, Trx = Tioredoxină, GPx-3 = Glutation Peroxidază -3, IL-8 = Interleukina 8, anticorpi ATPO = Anticorpi anti-tireoperoxidază, TSH = hormon stimulator tiroidian, FT4 = tiroxină liberă

TABELUL 2. Date experimentale la pacienți, compararea celor trei grupuri de pacienți.

Parameter	Hyperthyroid patients (n=26) Group HT	Hypothyroid patients (n=19) Group hT	Autoimmune thyroiditis patients (n=12) Group AT
Varsta(ani)	50,1 ± 18	58,2 ± 18,9	52 ± 16
CAT (U/ml)	51,1 ± 11,8	63 ± 11	45,4 ± 8,8

Trx (ng/ml)	13,06 ± 1,8	13,46 ± 1,4	14,21 ± 1,3
GPx-3 (ng/ml)	19,24 ± 7,7	20,8 ± 4	25 ± 6
IL-8 (pg/ml)	16,6 ± 3,8	17 ± 2,6	34,4 ± 11,3
Anticorpi ATPO (IU/ml)	101 ± 56	141 ± 98	255 ± 101
TSH (mU/l)	1,19±0,8	10,22±5,4	2,27±1,1
FT4 (pg/ml)	17,1±6,3	12,8±2,3	18±7,8

CAT = Capacitate antioxidantă totală, Trx = Tioredoxină, GPx-3 = Glutation Peroxidază -3, IL-8 = Interleukina 8, anticorpi ATPO = Anticorpi anti-tireoperoxidază, TSH = hormon stimulator tiroidian, FT4 = tiroxină liberă

Rezultatele testului:

grup HT vs grup hT, CAT p <0,001; Trx Ns; GPx-3 Ns; IL-8 Ns; Anticorpii ATPO Ns

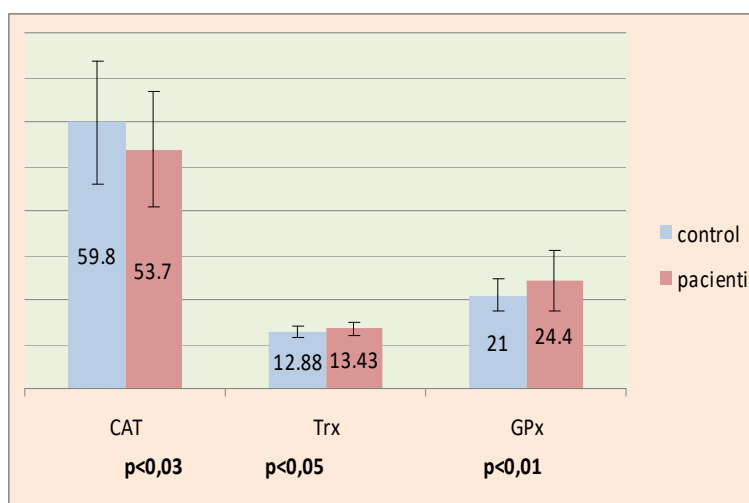
grup HT vs grup AT, CAT Ns; Trx p <0,05; GPx-3 p <0,03; IL-8 p <0,0001; Anticorpi ATPO p <0,001

grup hT vs grup AT, CAT p <0,001; Trx p <0,05; GPx-3 p <0,05; IL-8 p <0,0001; Anticorpi ATPO p <0,01.

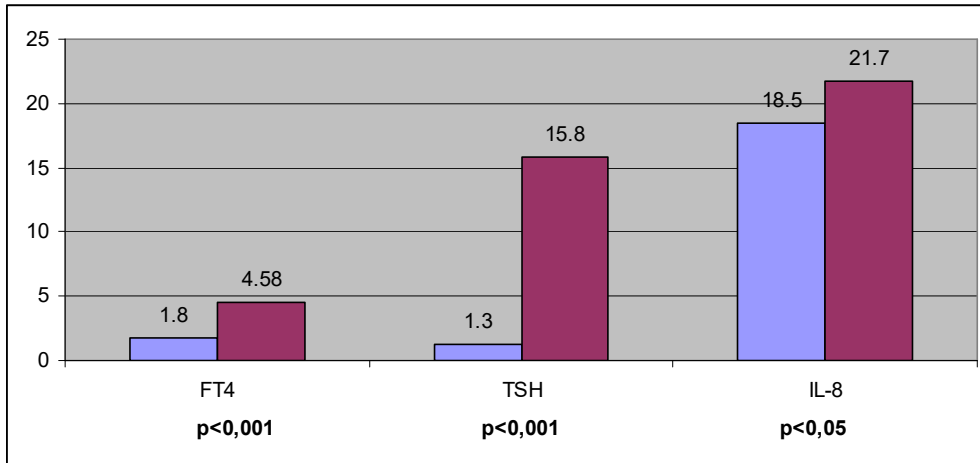
## DISCUȚII

Stresul oxidativ se dezvoltă atunci când radicalii liberi depășesc apărarea antioxidantă. Există cercetători care consideră că în hipertiroidism, producția ridicată de radicali liberi și în hipotiroidism, apărarea antioxidantă scăzută pot reprezenta cele două mecanisme care pot determina stres oxidativ crescut în aceste boli (Mancini, 2016; Wajner, 2015).

În tabelul 1 am comparat antioxidanții serici enzimatici și nonenzimatici, markerul inflamator IL-8, hormonii axei tiroido-hipofizare (TSH și T4 liber) și anticorpii ATPO la pacienții cu disfuncție tiroidiană versus control. Toți parametrii au avut valori mai mari la pacienți, cu excepția CAT, care a fost mai mică decât la martori.



În studiile clinice privind disfuncția tiroidiană, s-au demonstrat niveluri serice mai ridicate pentru IL-8 și se pare că această interleukină are un rol important în patogeneza bolilor tiroidiene (Kobawala, 2011; Sivakanesan, 2014). Kobawala și colab. consideră că nivelul ridicat de IL-8 poate reprezenta” o țintă pentru strategii diagnostice și terapeutice inovatoare” (Sivakanesan, 2014).



În literatura științifică, în bolile tiroidiene, valorile serice mai mari ale IL-8 au fost demonstrate univoc, dar nivelurile serice ale CAT sunt controversate. Măsurarea CAT serice efectuată la pacienții cu eutiroidie, hipotiroidie și hipertiroidie (n = 93) a arătat că statusul antioxidant nu a fost modificat semnificativ în rândul grupelor de pacienți (17). Alte studii au demonstrat că în ambele boli, în hipertiroidism și în hipotiroidism, nivelurile serice de CAT au fost semnificativ mai mici decât la subiecții eutiroidieni (Olia, 2019; Ventura, 2017).

Peroxidaza tiroidiană, enzima implicată în sinteza hormonilor tiroidieni necesită H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, care este indispensabilă oxidării intrafoliculare a iodului. Peroxidul de hidrogen este considerat o specie reactivă de oxigen și în hiperfuncția glandei tiroide este responsabil pentru creșterea peroxidării lipidice locale (Andrade, 2019).

De asemenea, hormonii tiroidieni, prin stimularea ratei metabolice și a activității lanțului respirator, generează anionul superoxid, un radical reactiv de oxigen care va crește în cele din urmă stresul oxidativ sistemic (Song, 2007). Sistemul xantin-oxidază / hipoxantină responsabil de proliferarea retrooculară a fibroblastelor în boala Basedow-Graves (Zarković, 2012), activitățile

crescute ale celulelor Kupffer și ale citocromului P-450 reductază în ficat ar putea fi surse alternative de specii reactive ale oxigenului în hipertiroidism (Boisier, 1999).

Excesul de hormon stimulator tiroidian (TSH) „în sine” (Nanda, 2008), dislipidemia secundară și afecțiunile tiroidiene autoimune ca tiroidita Hashimoto, asociată cu inflamația cronică de grad scăzut (Marchio, 2019), pot contribui la generarea unui stres oxidativ crescut din hipotiroidism. Ambele disfuncții tiroidiene, hipertiroidismul și hipotiroidismul sunt asociate cu stres oxidativ crescut și inflamație. Cercuri vicioase au fost descrise între procesul de stres oxidativ, disfuncția tiroidiană și inflamație. Mancini și colab. (Mancini, 2016) sugerează ipoteza că, în glanda tiroidă, hipotiroidismul poate fi dezvoltat prin nivelul ridicat de citokine și radicali liberi, prin apărarea antioxidantă scăzută, iar ca o consecință hormonii secretați de tiroidă vor fi în cantitate mai mică. Dar, o atenție sporită necesită ” hipotiroidismul tisular” , caracterizat de o reducere a conversiei periferice a hormonului T4 la hormonul T3. Astfel, în țesutul periferic stresul oxidativ crește și, la rândul său, va înrăutăți hipotiroidismul, prin inhibarea deiodinazelor.

În studiul nostru, cei 57 de pacienți au fost împărțiți pe 3 grupe: cei cu hipertiroidism (n=26), cu hipotiroidism (n=19) și cei cu tiroidită autoimună (n=12). Ținând cont de criteriile de includere în loturi, valorile înregistrate în grafice pentru TSH și FT4 sunt evidente. O mențiune este necesară, și anume că, pacienții cu anticorpi ATPO prezenți, este vorba de grupul de pacienți cu tiroidită autoimună, au avut funcția tiroidiană în parametrii normali, dovadă fiind valorile TSH în limite normale.

Hipertiroidismul și hipotiroidismul sunt complet opuse în ceea ce privește valorile tandemului FT4 și TSH. Firesc, am obținut în oglindă și corelațiile colesterolemiei cu FT4 și TSH, adică o corelație pozitivă între TSH și colesterolemie ( $r=0,542638$  ,  $p<0,05$ ) (fig.) și negativă între FT4 și colesterolemie ( $r=-0,2769$  ,  $p<0,05$ ) (fig.). Se știe că hormonii tiroidieni cresc rata metabolismului bazal, iar la adulți au efect catabolic, cresc lipoliza. De asemenea, hipercolesterolemia din hipotiroidism se datorează efectelor TSH-ului (crescut), astfel:

-TSH-ul reglează cantitativ și calitativ activitatea HMGCoA reductazei, enzima cheie din sinteza colesterolului (Zhang, 2015); TSH-ul are efect inductor enzimatic și influențează forma fosfo/defosfo a enzimei via AMPK, deci intervine în reglarea covalentă a enzimei (Zhang, 2015)

-TSH-ul și hormonii tiroidieni influențează numărul de receptori LDL via factor de transcriere SREBP-2 (Shin, 2003)

Hormonii tiroidieni influențează activitatea lipazei hepatice și a lipoprotein lipazei din țesutul adipos prin mecanisme diferite; astfel, modificarea activității primei enzime influențează colesterolemia, iar reducerea activității celei de a doua determină creșterea trigliceridemieii (Shrestha, 2011).

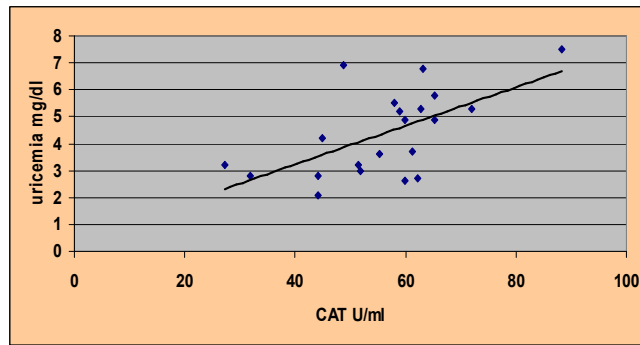
Într-un studiu efectuat pe 6622 copii, cu vârste între 3 to 10 ani și 6134 adolescenți, cu vârste între 11 și 17 ani, TSH-ul a avut valori normale la 95 % dintre subiecți. TSH-ul s-a corelat cu LDLc, cu colesterolul total și cu trigliceridemia. Autorii studiului atrag atenția că, la copiii cu TSH către limita superioară a normalului, acest aparent hipotiroidism să fie tratat, deoarece se asociază cu valori mari ale colesterolului, deci un risc mare cardiovascular în viitorul apropiat (Farwell, 2015).

Interesant este că, în graficele de corelații în care apare capacitatea antioxidantă totală alături de FT4 sau TSH, panta este descendentă, ceea ce concordă cu datele din litera de specialitate, că atat în hipo- cat și în hipertiroidism, CAT este scăzută.

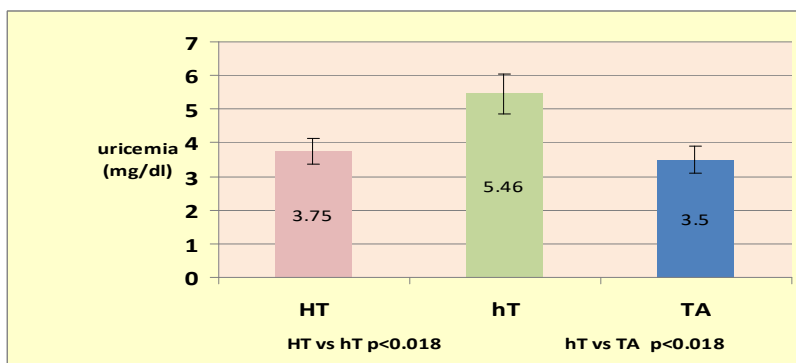
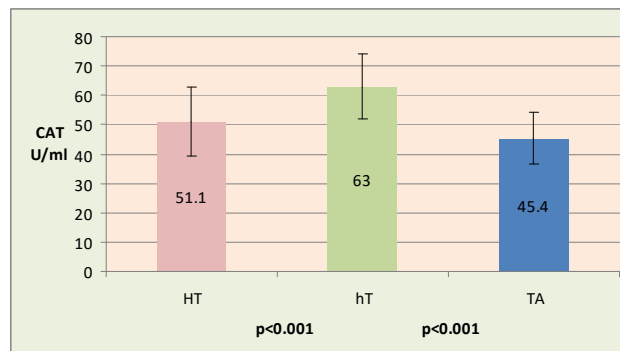
Enzimele GPx, tioredoxin reductaza Trx-R și deiodinazele sunt enzime care au în structura lor selenocisteină, iar activitatea lor depinde de disponibilitatea oligoelementului, seleniul. Aceste enzime au un rol potențial asupra reacțiilor redox și inflamatorii, în procesele autoimune și în modularea concentrațiilor serice de hormoni tiroidieni. GPx catalizează degradarea peroxidului (ROOH) și din cele șase izoforme, GPx-3, cea din plasmă este responsabilă pentru apărarea extracelulară. Trx-R este un senzor pentru speciile reactive de oxigen, la nivel intracelular și, prin intermediul factorilor de transcripție AP-1, NF-κB și p53 poate regla expresia genelor (Köhrle, 2005). Trx-R catalizează reacția pentru recuperarea tioredoxinei (Trx), utilizând NADPH. Tioredoxina acționează ca un donator specific de electroni pentru peroxidaze (Nordberg, 2001).

Cele două proteine antioxidante serice, Trx și GPx-3 sunt induse în mediu de stres oxidativ și/sau în mediu proinflamator și cum, în patologia tiroidiană, indiferent de hipo-sau hiperfuncție, ambele procese sunt prezente la nivel sistemic și ocupă un loc important, ambele proteine vor avea valori crescute față de subiecții control. Stresul oxidativ crescut conduce și la o epuizare a moleculelor mici serice, de sacrificiu care neutralizează radicalii și implicit, în patologia tiroidiană, CAT serică poate fi scăzută. În concluzie, Trx serică și GPx-3 sunt ca două surori gemene, au variații în același sens (se corelează puternic pozitiv între ele,  $r=0,79$ ,  $p<0,05$ ) (fig.) și au aceleași tipuri de corelații, adică pozitivă cu IL-8 și negativă cu CAT.

Deoarece albumina și acidul uric reprezintă un procent important din CAT, corelația pozitivă, puternică, uricemie-CAT este evidentă.



Această relație, uricemie-CAT, poate lămuri aparentul paradox al valorii mai mari a CAT înregistrată la grupul de pacienți cu hipotiroidism față de celelalte 2 grupuri cu patologie tiroidiană. Se pare că, obezitatea, creșterea în greutate, a celor cu hipotiroidism este secundată de uricemii mai mari (5,46 vs 3,5 mg/dl , respectiv 3,75;  $p < 0,018$ ).



Între stresul oxidativ și inflamație există o relație duală, cauză-efect, procesele se întrețin și se potențează reciproc. Moleculele solubile în apă, cum ar fi albumina, bilirubina, acidul ascorbic, acidul uric, glutationul și moleculele liposolubile, cum ar fi vitamina E și coenzima Q, sunt molecule de „sacrificiu” și contribuie la capacitatea antioxidantă totală a serului (Tan, 2018).



Stresul oxidativ întreținut de interleukinele proinflamatorii va epuiza mecanismele defensive. În consens cu cele afirmate, CAT s-a corelat negativ cu IL-8.

Multe studii s-au concentrat pe observarea dezechilibrului dintre peroxidarea lipidelor serice și apărarea antioxidantă. De exemplu, hipotiroizienii față de subiecții eutiroizieni, au avut niveluri serice ridicate de malondialdehidă (MDA), un marker al stresului oxidativ crescut (Dumitriu, 1988; Torun, 2008). Unii autori au propus MDA ca un biomarker util pentru măsurarea și monitorizarea stresului oxidativ la pacienții hipotiroizieni (Chakrabarti, 2016). Majoritatea acestor studii, dar nu toate, au demonstrat o capacitate antioxidantă totală mai mică, în ser, în hipotiroizism. De asemenea, în tiroidita autoimună, s-a observat un dezechilibru mai accentuat dintre MDA serică, cu valori mari și CAT, cu valori mici. Corelația dintre titrul autoanticorpilor tiroidieni cu biomarkerii stresului oxidativ poate reflecta rolul imunității în întreținerea stresului oxidativ (Metwalley, 2016). Tratamente antioxidante au fost propuse în bolile tiroidiene, fie în hipertiroizism, fie în hipotiroizism. Efectul util al unor medicamente antitiroidiene este crescut de efectele lor antioxidante (Petrulea, 2012). Totuși, unii cercetători consideră că efectele benefice ale adăugării de antioxidanți sub formă de seleniu în hipotiroizism au fost neconcludente (Chakrabarti, 2016).

IL-8 a fost propus ca un marker universal al inflamației (Shahzad, 2010). Este un activator important și un chemoatractant pentru neutrofile și a fost implicat într-o varietate de boli inflamatorii, inclusiv în bolile tiroidiene (Hirooka, 1993). Mai multe studii clinice au demonstrat existența unor valori crescute ale IL-8 circulante în hipertiroizism și sinteza anormală a IL-8 în bolile autoimune ale tiroidei (Hirooka, 1993; van der Spek, 2017). S-a demonstrat că interleukina IL-6 crește stresul oxidativ prin mărirea concentrației de specii reactive ale oxigenului, și acestea, la rândul lor, cresc activitatea atât a GPx cât și a Trx-R (Wajner, 2015).

În studiul nostru, interleukina-8 a avut valori duble în tiroidita autoimună față de celălalte două patologii. IL-8 activează leucocitele, are efect chemotactic, amplificând inflamația, iar titrul IL-8 se corelează cu severitatea bolii (Shahzad, 2010).

Recent, s-a demonstrat că există o legătură între hormonii tiroidieni și apărarea imună, și anume că hormonii tiroidieni pot avea ca celule ținte macrofagele și celulele polimorfonucleare. Aceste celule au receptori pentru hormoni tiroidieni, notați RT $\alpha$ 1 și conțin chiar deiodinaze. La pacienții cu hipertiroizism s-au determinat valori mai mari de IL-8 și FT3, iar la subiecții sănătoși cu eutiroizism s-au găsit corelații între valorile T3, T4 și markerii ai inflamației (van der Spek, 2017).

Tiroidita autoimună este o boală autoimună relativ frecventă, iar forma de tiroidită Hashimoto este un exemplu. Susceptibilitatea genetică, factorii de mediu și alterări imune determină dezvoltarea acestei boli. Excesul de iod determină o iodurare crescută a tireoglobulinei care devine mai imunogenă. S-a demonstrat științific, că excesul de sare determină inflamația crescută, apoptoza și o reducere a capacității de reparare a ADNului lezat, în tiroidita autoimună (Fuqiang, 2019). În studiul nostru, IL-8 s-a corelat cu titrul anticorpilor ATPO. Aceeași corelație puternic pozitivă între valorile serice IL-8 și anticorpilor ATPO a fost descrisă de alți cercetători care au făcut determinări serice la pacienții cu lichen oral plan (Alikhani, 2017).

Valorile mari serice atât pentru GPx-3 cât și pentru interleukine, de exemplu, IL-8, sunt considerate markeri de prognostic sever în bolile canceroase și, de obicei variază în același sens. (Worley, 2019, Zhang, 2019)

Foarte important, s-a demonstrat că suplimentele cu vitamină D au redus titrul anticorpilor ATPO. Efectele benefice ale vitaminei D3 au fost observate mai ales la pacienții cu deficit de vitamină, la începutul tratamentului (Simsek, 2016).

Sub aspect histologic, anticorpilor împotriva glandei tiroide produc tiroidită cronică autoimună cu infiltrare limfocitară și fibroze, conducând la gușă sau la atrofia glandei tiroide (Andrade, 2019).

Administrarea de seleniu, prin mecanisme încă necunoscute, ar putea fi benefică în sindromul inflamator sistemic și poate normaliza nivelurile serice ale hormonului tiroidian la pacienții care au avut intervenții chirurgicale și la nou-născuții prematuri (Köhrle, 2005). Mai multe studii au raportat beneficiile tratamentului cu seleniu în boala tiroidiană autoimună și oligoelementul a redus starea inflamatorie la acești pacienți și a îmbunătățit activitatea GPx (Hongyan, 2019).

De asemenea, suplimentarea cu seleniu a pacienților cu tiroidită autoimună este asociată cu o reducere a nivelurilor de anticorpi anti-tireoperoxidază, pacienții dobândesc caracteristici ecografice tiroidiene ameliorate și obțin o calitate a vieții îmbunătățită (Hongyan, 2019).

Selenoproteinele, precum tioredoxin reductaza constituie legătura dintre metabolismul Seleniului și factorii de transcriere reglați redox. Hormonii și factorii de creștere reglează expresia selenoproteinelor, iar seleniul modulează acțiunea hormonilor tiroidieni.

Seleniul plasmatic este localizat în principal în două proteine, pGPx cunoscută sub numele de GPx-3 și glicoproteina plasmatică SePP, cunoscută sub numele de selenoproteină P. GPx detoxifică peroxizii lipidici prin transformarea lor în alcoolul corespunzător (Sankaya, 2020). Izoformele GPx degradează peroxidul de hidrogen și alți hidroperoxizi. În timp ce GPx intracelular acționează asupra hidroperoxizilor acizilor grași liberi, GPx din plasmă transformă hidroperoxizii fosfolipidelor. Merită menționat faptul că supraproducția de radicali liberi din tireotxicoză poate induce enzime antioxidante în hipertiroidismul experimental (Petrulea, 2012).

Complexul tioredoxin reductază-tioredoxină (Trx-R / Trx) acționează ca un mecanism de apărare intracelular, dar tioredoxina (Trx) serică poate fi măsurată pentru studii clinice asupra tiroidei. Kiharo și colab. (23) au demonstrat că Trx este implicată în reglarea producției de hormoni tiroidieni și că sinteza Trx serice este indusă de stresul oxidativ din boala Graves (Nordberg, 2001; Kiharo, 2005).

## **CONCLUZII CLINICE STUDIUL 1 SI 2**

O asociere puternică, pozitivă a fost demonstrată între valorile serice ale Trx și GPx-3 ( $r = 0,79$ ). Trx și GPx-3 sunt proteine induse de stresul oxidativ și CAT poate fi „epuizată” în prezența unui stres oxidativ crescut. Observând cele trei grupuri de pacienți, cel cu tiroidită autoimună a avut cea mai scăzută valoare a CAT și cel mai înalt nivel pentru proteinele antioxidante induse. Aceste rezultate reflectă un stres oxidativ sistemic ridicat în tiroidita autoimună. Rezultatele noastre subliniază faptul că în bolile tiroidiene precum hipertiroidismul, hipotiroidismul și tiroidita autoimună, stresul oxidativ sistemic și inflamația sunt prezente și acționează sinergic. Prezența anticorpilor autoimuni înrăutățește tabloul biologic. Relația cauzăefect a acestor afecțiuni patologice cu funcția axei hipofizare-tiroidiene necesită mai multe studii. La copiii obezi, comorbiditatea tiroidiană se poate dezvolta, iar procesul este lent. Totuși, cunoscând mecanismele patogenice îngemănate, aplicarea unui tratament profilactic care le țintește pe toate, va fi mai eficient. Astfel, evitarea aportului excesiv de sare, consumul de alimente cu sursă naturală de seleniu (nuci, brocoli, pește), administrarea de vitamină D3 (reduce riscul dezvoltării anticorpilor ATPO), o alimentație antioxidantă și antiinflamatorie, scăderea în greutate (scade inflamația și crește sensibilitatea la insulină) sunt deziderate importante la copiii obezi. Educația medicală, informarea părinților și a copiilor poate avea succes pentru reducerea patologiei tiroidiene, în obezitate. Nivelul de seleniu seric, profilul lipidic și valoarea selenoproteinelor sunt interdependente. Seleniul este o piesă dintr-un „puzzle” care

are un loc în stresul oxidativ, în dislipidemie, inflamație și „tromboză”. Relația cauză sau efect nu este bine înțeleasă, dar o relație bidirecțională este certă. În concluzie, în obezitatea infantilă, valorile serice normale ale seleniului sau ale proteinelor dependente de seleniu pot „ascunde” un dismetabolism al seleniului deoarece există diferențe semnificative pentru valorile acestor parametri față de cele de la copii cu greutate normală. În obezitatea infantilă, concentrația serică a GPx și valorile seleniului au fost puternic corelate cu indicii aterosclerotici.

#### **ELEMENTE DE ORIGINALITATE ALE STUDIULUI**

Deși endocrinologia este o specialitate medicală, cu o vechime mai mică de 100 ani, de zeci de ani, se știe că, dacă un pacient este obez, el trebuie investigat și din punct de vedere endocrin, mai ales pe axa tiroideo-hipofizară. Recent, relația obezitate-hipotiroidism a căpătat un dublu sens, adică, obezitatea poate determina sau întreține hipotiroidismul. Se pare că valorile mai mari ale leptinei serice, la obezi, un hormon din țesutul adipos, care induce sațietatea și termogeneza și care influențează secreția de TRH, contribuie la închiderea cercului vicios obezitate-hipotiroidism. Mai mult, leptina și tiroxina sunt cei 2 hormoni decuplanți ai lanțului respirator, prin deschiderea canalului proteic UCP-1 din membrana internă mitocondrială. La copiii obezi, asocierea pozitivă dintre TSH și severitatea ficatului gras (estimată ecografic), este, de asemenea duală. Studiul nostru demonstrează că, un TSH către limita superioară a normalului (ca în hipotiroidismul subclinic, la copiii obezi) se asociază cu dislipidemia și inflamația. Aceste 2 procese întrețin stresul oxidativ hepatic, cu scăderea activității deiodurazei 1 hepatice și reducerea hormonului tiroidian T3. De asemenea, dislipidemia și inflamația contribuie la creșterea rezistenței la insulină. În studiul nostru, indicele de rezistență la insulină, HOMA-IR s-a corelat cu tioredoxina serică. Trx, cu cealaltă selenoproteină, antioxidantă, serică, GPx-3 au variat la unison, atât la copiii obezi cât și la adulții cu patologie tiroidiană și anume negativ cu capacitatea de apărare antioxidantă serică și pozitiv cu markerii de inflamație (leptina, IL-8) și sideremia. Toate aceste asocieri, coroborate, converg către posibilitatea considerării tioredoxinei serice și GPx-3 serice, cu valori mari, ca markeri ai severității bolii. Acești pacienți ar putea răspunde mai bine la administrarea de seleniu, mineral antioxidant, sau la administrarea unor suplimente antioxidante și antiinflamatorii. La copiii obezi, coborbiditatea tiroidiană se poate dezvolta, iar procesul este lent. Totuși, cunoscând mecanismele patogenice îngemănate, aplicarea unui tratament profilactic care le țintește pe toate, va fi mai eficient. Astfel, evitarea aportului excesiv de sare, consumul de alimente cu sursă naturală de seleniu (nuci, brocoli, pește), administrarea de vitamină D3 (reduce riscul dezvoltării anticorpilor ATPO), o alimentație antioxidantă și antiinflamatorie, scăderea în greutate (scade inflamația și crește sensibilitatea la insulină) sunt deziderate importante la copiii obezi. Educația medicală, informarea părinților și a copiilor poate avea succes pentru reducerea patologiei tiroidiene, în obezitate. Studiul nostru a mai demonstrat că în tiroidita autoimună (cu eutiroidism sau cu hipotiroidism subclinic), interleukina-8 serică s-a corelat puternic cu titrul anticorpilor ATPO. Astfel, IL-8 este un marker universal de inflamație și reflectă severitatea tiroiditei autoimune

## Bibliografie selectiva

Aachmann, F. L., Fomenko, D. E., Soragni, A., Gladyshev, V. N., and Dikiy, A. (2007) *J. Biol. Chem.* 282, 37036-37044  
Abaspour, A. , Taghikhani, M. , Parizade, M. , Moohebbati, M. , Ghafoori, F. , Mehramiz, M. , Tayefi, M. , Avan, A. , Ghalandari, M. , Ferns, G. and Ghayour-Mobarhan, M. (2017) Association between Serum Glutathione Peroxidases and Superoxide Dismutases mRNA Level with Coronary Artery Disease. *Health*, 9, 252-260. doi: 10.4236/health.2017.92017.

Boisier X, Schön M, Sepúlveda A et al. Derangement of Kupffer cell functioning and hepatotoxicity in hyperthyroid rats subjected to acute iron overload. *Redox Report*, 1999;4(5): 243-250.

Chugh K, Goyal S, Shankar V, Chugh SN. Thyroid function tests in metabolic syndrome. *Indian journal of endocrinology and metabolism*. 2012 Nov;16(6):958

Gereben B, Zavacki AM, Ribich S, Kim BW, Huang SA, Simonides WS, Zeold A, Bianco AC. Cellular and molecular basis of deiodinase-regulated thyroid hormone signaling. *Endocr Rev* 29: 898 -938, 2008

Kim, C.Y.; Wiacek, J.L.; Kim, G.N.; Kim, K.H. Selenium inhibits adipogenesis through suppression of ER-stress and induction of selenoprotein S. *FASEB J.* 2011, 23, 2882

Wang, N.; Tan, H.Y.; Li, S.; Wang, D.; Xu, Y.; Zhang, C.; Feng, Y. SBP2 deficiency in adipose tissue macrophages drives insulin resistance in obesity. *Sci. Adv.* 2019, 5, eaav0198

## LISTA CU LUCRĂRILE ȘTIINȚIFICE PUBLICATE

Articole publicate ca rezultat al cercetării doctorale

☒ Cațianis, AG., Virgolici, B., Dogaru, CB., Virgolici, HM., Mohora, M., (2020)

From selenium to selenoproteins and their role – minireview. *ACTA MEDICA TRANSILVANICA*

September;25(3):56-59

<http://www.amtsibiu.ro/Arhiva/2020/Nr3-en/Catianis.pdf>

☒ Cațianis, AG., Virgolici, B., Dogaru, CB., Popescu, LA., Miricescu, D., Totan, A.,

Virgolici, HM., Mohora, M., (2020)

The Serum Selenium Level, the Activity of Some Selenodependent Enzymes and the Lipid Profile in Childhood Obesity. *Revista de Chimie (Rev. Chim.)*, 2020, Volume 71, Issue 12, 156-163

<https://revistadechimie.ro/pdf/15%20CATIANIS%2012%2020.pdf>

☒ Cațianis, AG., Virgolici, Totan, A., Virgolici, HM., Greabu, M., Mohora, M., (2021)

Serum levels of some selenodependent proteins in thyroid disorders. *Ref: Ro J Med Pract.*

2021;16(2) DOI: 10.37897/RJMP.2021.2.15