

UNIVERSITÁ DEGLI STUDI DI CATANIA

FACOLTÁ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Dipartimento di Biomedicina Clinica e Molecolare

Dottorato di Ricerca in Scienze Endocrinologiche:

Basi molecolari dell'azione ormonale, XXIII Ciclo

Coordinatore: Prof. Riccardo Vigneri

Dr.ssa ADELE LATINA

LA MONOTERAPIA CON LEVOTIROXINA NON GARANTISCE L'EUTIROIDISMO IN TUTTI I PAZIENTI ATIREOTICI

—————
TESI DI DOTTORATO
—————

Relatore:

Chiar.mo Prof. Riccardo Vigneri

ANNO ACCADEMICO 2010-2011

INTRODUZIONE

Il trattamento di elezione per i pazienti ipotiroidei suggerito dalle linee guida ^{1,2,3,4} è la somministrazione orale di L-tiroxina (L-T4). Sebbene la tiroide normale secerna sia T4 che T3, si ritiene che la conversione periferica della L-T4 in T3 riesca a coprire il fabbisogno di ormoni tiroidei necessario al raggiungimento dell'eutiroidismo, come indicato da livelli di TSH nel range di normalità. E' tuttavia noto che, per ottenere livelli di TSH nei limiti della norma, la dose di L-T4 somministrata deve essere tale da mantenere livelli di FT4 ai limiti alti della norma ^{5,6}. Inoltre, è esperienza comune fra gli endocrinologi la condizione di non perfetto benessere lamentata da alcuni pazienti ipotiroidei in terapia con L-T4, che pertanto preferiscono una terapia combinata con T3 e T4 ^{7,8}.

Queste osservazioni suggeriscono che alcuni pazienti ipotiroidei trattati con L-T4 potrebbero presentare un'insufficiente produzione di T3 ed i loro tessuti periferici potrebbero dunque essere esposti ad una combinazione non equilibrata fra i due ormoni. Le conseguenze di questa condizione non sono note.

Nei tessuti periferici viene prodotta T3 a partire dal pro-ormone T4 ma ciascun tessuto ha una differente capacità di produrre T3 a livello intracellulare, per presenza di sistemi differenti (in termini di qualità e quantità) di trasporto e trasformazione della T4 ^{9,10}. A causa di questa eterogeneità, la secrezione ipofisaria di TSH potrebbe non riflettere una condizione di eutiroidismo nei tessuti periferici ^{11,12,13}. Ciò è stato dimostrato in ratti tiroidectomizzati che, trattati con sola L-T4 endo vena, non raggiungevano l'eutiroidismo nei tessuti periferici⁵. Sebbene simili studi non siano stati condotti sull'essere umano, è ipotizzabile che alcuni pazienti ipotiroidei in terapia con L-T4, anche se ben compensati in termini di livelli di TSH ^{14,15}, potrebbero avere insufficiente disponibilità di T3 a livello periferico.

Nei pazienti atireotici, che non dispongono di ormoni tiroidei endogeni, la T4 e la T3 circolanti derivano esclusivamente dal trattamento con L-T4, per cui questi pazienti costituiscono un modello ideale per valutare la capacità dei tessuti periferici di sintetizzare l'ormone attivo T3 a partire dal pro-ormone T4.

Cenni di fisiologia delle desiodasi.

Nell'essere umano, in condizioni fisiologiche, la tiroide produce prevalentemente il pro-ormone T4 (90-110 µg/die), insieme ad una piccola percentuale di T3 (10-22 µg/die), l'ormone biologicamente attivo¹⁶. Normalmente, circa 1/3 della T4 viene convertito nei tessuti periferici (compresa la tiroide) in T3, attraverso la deiodinazione dell'anello esterno (ORD) che costituisce circa l'80% (40 nmoli) della produzione giornaliera di T3 circolante (50 nmoli)^{17, 18, 19}, mentre 1/3 viene convertito in rT3, un metabolita inattivo, attraverso la deiodinazione dell'anello interno (IRD).

La generazione di rT3 ha lo scopo di modulare negativamente la produzione dell'ormone attivo T3, attraverso la sottrazione del substrato (T4) necessario alla sua sintesi.

T3 ed rT3 vengono sottoposte ad ulteriore deiodinazione, rispettivamente dell'anello interno (IRD) ed esterno (ORD), che in entrambi i casi porta alla formazione del metabolita inattivo 3,3-T2 (a sua volta desiodato a T1 tramite ORD).

La biodisponibilità dell'ormone tiroideo è determinata dunque da vari fattori, che includono: a) la secrezione tiroidea di T4 e T3; b) l'attivazione del pro-ormone T4 in T3 ad opera dell'attività ORD; c) l'inattivazione della T4 in rT3 e della T3 in 3,3-T2, ad opera dell'attività IRD.

Quindi, l'ORD è una via di attivazione, attraverso la quale il pro-ormone T4 viene convertito nel metabolita attivo T3, mentre l'IRD può definirsi una via di inattivazione,

attraverso la quale la T4 e la T3 sono convertite rispettivamente nei metaboliti inattivi rT3 e 3,3-T2.

Le reazioni di deiodinazione degli ormoni tiroidei e dei loro metaboliti sono catalizzate da tre selenio-enzimi, detti appunto “Desiodasi”, dotati ciascuno di un’attività desiodasica prevalente od esclusiva (ORD o IRD) e localizzati in tessuti diversi dell’organismo.

La *Desiodasi I* (D1) è localizzata principalmente nel parenchima epatico, nei tubuli renali e nei follicoli tiroidei e possiede un’attività desiodasica prevalente di tipo ORD, attraverso la quale catalizza la conversione della rT3 in 3,3-T2 e della T4 in T3, con affinità maggiore per il metabolita inattivo (rT3). La localizzazione epatica e renale e l’azione ORD sulla T4 la rendono l’enzima principalmente responsabile della produzione periferica della T3 plasmatica. La conversione della rT3, invece, le conferisce importanza nella clearance della rT3 e nel recupero dello iodio da tale metabolita inattivo. La T3 plasmatica rappresenta la principale fonte di ormone biologicamente attivo per i tessuti periferici (tranne cervello, ipofisi e tessuto adiposo bruno), rimarcando l’importanza dell’enzima che la produce.

Nel fegato e nei reni, durante lo stato ipertiroideo, l’attività della D1 è regolata positivamente a livello trascrizionale ad opera dell’ormone T3²⁰ ed inibita durante l’ipotiroidismo. Nella tiroide, l’attività della D1 è stimolata, oltre che dalla T3, anche da TSH^{21, 22} e anticorpi anti-recettore del TSH. Il controllo positivo esercitato dalla T3 nei confronti dell’attività della desiodasi 1 si manifesta anche nel fatto che la somministrazione di T4 a ratti ipotiroidei, per raggiungere normali livelli plasmatici di T4, si associa a livelli plasmatici di T3 al di sotto della norma, non solo per la ridotta secrezione di T3, ma anche a causa della sua diminuita produzione ad opera della D1 nei tessuti periferici²³.

La D1 possiede anche una debolissima attività IRD nei confronti della T3 e della T4, responsabile dell’inattivazione degli ormoni tiroidei rispettivamente a 3,3-T2 ed rT3.

La *Desiodasi 2* (D2) è espressa principalmente nel cervello, nell'ipofisi anteriore e nel tessuto adiposo bruno, ma la sua azione è stata dimostrata anche nel tessuto muscolare scheletrico ²⁴, nella tiroide ^{25,26,27} e probabilmente anche nel cuore ²⁸. Essa possiede esclusivamente attività ORD, quindi è in grado di catalizzare la deiodinazione della T4 (substrato preferenziale) a T3 e della rT3 a T2. La D2 è la principale responsabile della produzione locale della T3 nei tessuti periferici che la esprimono, nonché la principale fonte di T3 per tali tessuti, mentre non contribuisce molto alla formazione della T3 plasmatica. La produzione locale D2-mediata della T3 può costituire un processo autocrino, nel quale la T3 viene prodotta dalle stesse cellule nelle quali agisce, o un meccanismo paracrino, dove la produzione e l'azione della T3 hanno luogo in cellule vicine. Quest'ultima modalità appare molto importante per l'azione della T3 nel cervello, dove i neuroni costituiscono il bersaglio cellulare primario della T3 prodotta dalla D2 espressa negli astrociti vicini ^{29,30}. Qui la funzione regolatrice esercitata dalla D2 sui livelli tissutali di T3 assume dunque particolare importanza. L'espressione della D2 mostra cambiamenti adattativi in risposta alle alterazioni dello stato della tiroide, che servono a mantenere costanti i livelli tissutali di T3, a fronte delle variazioni dei livelli plasmatici di T4 e T3 indotte da tali alterazioni. Per tale motivo, la sua attività è regolata all'opposto di quella della D1, essendo aumentata nell'ipotiroidismo, dove i livelli di T3 plasmatici sono ridotti, e diminuita nell'ipertiroidismo, dove invece T4, T3 ed rT3 plasmatici sono presenti in quantità eccessiva. In quest'ultimo caso, il controllo negativo è spiegato dall'inattivazione substrato-indotta dell'enzima da parte di T4 ed rT3^{17,18}: la reazione con questi substrati induce infatti "ubiquitinazione" dell'enzima, prima tappa verso la degradazione nei proteasomi. Comunque, la D2 può essere recuperata tramite "de-ubiquitinazione". Il processo di ubiquitinazione / de-ubiquitinazione costituisce un importante meccanismo dinamico di regolazione dell'attività della D2 ^{31, 32, 33, 34, 35}.

Nella tiroide, l'attività della D2, come quella della D1, è fortemente stimolata dal TSH e dagli anticorpi anti-recettore del TSH nei pazienti con morbo di Graves-Basedow ^{26,27}.

Anche il carcinoma follicolare tiroideo può esprimere elevati livelli di D2. In presenza di grandi masse tumorali (metastatiche), si possono pertanto osservare livelli sierici elevati di T3³⁶.

La *Desiodasi 3* (D3) è espressa prevalentemente nel cervello, nella placenta, nell'utero gravido e nei tessuti fetali, ma anche nella cute, nell'intestino e nel fegato^{32,33,34}. L'attività della D3 è altamente espressa anche in certi tumori come l'epatocarcinoma, l'emangioma ed il carcinoma a cellule basali³⁷. A causa della sua elevata presenza nei tessuti fetali e nei tumori, la desiodasi 3 è stata chiamata "proteina oncofetale".

Ruolo della T3.

L'ormone tiroideo direttamente responsabile del feedback inibitorio su ipofisi ed ipotalamo è la T3, mentre la T4 necessita di solito della sua conversione in T3 per esercitare il proprio feedback, anche se una minima frazione di essa esercita una lieve azione inibente diretta³⁸.

La T3 responsabile del feedback inibitorio sul rilascio ipofisario di TSH, nello stadio eutiroideo, deriva per circa 1/3 dal plasma e per 2/3 dalla conversione intra-ipofisaria della T4 da parte della desiodasi 2; pertanto, circa il 75% della regolazione ipofisaria è influenzato dalla concentrazione della T4 sierica piuttosto che da quella della T3, rendendo il sistema di desiodazione ipofisario il principale meccanismo regolatore della produzione di TSH da parte dell'ipofisi.

La conversione della T4 in T3, mediata dalla Desiodasi 2, avviene nelle cellule tireotrope, a livello dell'ipofisi, e nei tenociti, a livello ipotalamico. Gli effetti degli ormoni tiroidei a livello ipofisario consistono nella inibizione "precoce" della secrezione del TSH (effetto probabilmente indiretto, dovuto all'inibizione dell'azione stimolatoria del TRH sull'ipofisi, da cui deriva caduta rapida dei livelli sierici di TSH, nonostante quelli intraipofisari siano

normali o lievemente aumentati), e nella soppressione “tardiva” della sintesi delle catene alfa e (soprattutto) beta del gene del TSH, previo legame della T3 ai propri recettori nucleari TR e successiva interazione del complesso T3-TR a specifiche sequenze promotrici di DNA chiamate “Thyroid Responsive Elements” (TRE), sulle quali il T3-TR esercita un’azione soppressiva.

STUDIO SPERIMENTALE

Pazienti e Metodi

Abbiamo valutato retrospettivamente TSH, FT4 e FT3 in una serie continua di 3473 pazienti atireotici seguiti presso il nostro Centro Tiroide (Università di Catania, Ospedale Garibaldi-Nesima) negli anni 2000-2007, dopo essere stati sottoposti a tiroidectomia totale per carcinoma tiroideo. Tutti erano trattati con monoterapia con L-T4, a dosaggio stabile da almeno tre mesi. Venivano esclusi i pazienti mantenuti in terapia “soppressiva” (n=1662, TSH <0,4 mU/L) in considerazione della loro categoria di rischio oncologico. Venivano dunque inclusi nello studio 1881 pazienti con TSH nei limiti della norma (0,4-4,0 mU/L). Il 33% di essi (n=598) era stato sottoposto a trattamento radiometabolico con Iodio-131 a scopo ablativo. I pazienti venivano suddivisi per sesso (F=1530 e M=281) ed età (1298 <60 anni e 513 ≥60 anni). Tutti i pazienti erano in remissione dal cancro come documentato da valori di Tireoglobulina indosabili durante la sospensione della terapia con L-T4, da ecografie del collo negative e da scintigrafie totali corporee negative, nel caso in cui fossero state eseguite. I pazienti assumevano la terapia con L-T4 al mattino a digiuno e con acqua. Gli ormoni erano stati dosati su prelievo eseguito al mattino e prima dell’ingestione della terapia. Quando erano disponibili più prelievi per lo stesso paziente, veniva scelto il più recente.

TSH, FT4 e FT3 venivano valutati retrospettivamente anche in una serie continua di 3875 soggetti eutiroidei, tutti residenti in aree a sufficiente apporto iodico, visitati presso il nostro Centro Tiroide nello stesso periodo per il riscontro di noduli di diametro inferiore a 20 mm e non iperfunzionanti, in assenza di segni clinici o di laboratorio di alterata funzione tiroidea. I soggetti clinicamente eutiroidei ma con TSH $<0,4$ mU/L o $>4,0$ mU/L venivano esclusi nel sospetto di iper- o ipotiroidismo subclinico. Venivano inoltre esclusi i soggetti con positività per anticorpi anti-tireoperossidasi e/o anti-tireoglobulina o con un quadro ecografico suggestivo di tiroidite cronica autoimmune. Come per i soggetti atireotici, anche in questo gruppo i pazienti venivano suddivisi per sesso (F=3224, M=651) e per età (2927 <60 anni e 948 ≥ 60 anni). Nessuno dei soggetti di controllo era mai stato trattato con ormoni tiroidei o farmaci anti-tiroidei.

In entrambi i gruppi, i pazienti con altre patologie d'organo (insufficienza renale o epatica) o interventi chirurgici maggiori o ricoveri recenti (meno di 6 mesi prima) o patologie tiroidee familiari o trattati con farmaci noti per interferire con il metabolismo degli ormoni tiroidei venivano esclusi. In particolare, venivano esclusi i pazienti in terapia con amiodarone, propranololo, steroidi o che erano stati esposti di recente (meno di un anno) a mezzi di contrasto iodati, per evitare possibili interferenze con l'attività delle desiodasi.

Dosaggi ormonali.

Tutti i dosaggi erano stati eseguiti presso il Laboratorio Centrale del nostro Presidio Ospedaliero. TSH, FT3 e FT4 venivano dosati mediante dosaggio immunologico (Abbott AxSYM-MEIA, Abbott Park, IL, USA) con coefficiente di variazione inferiore al 10% oltre il range analitico di 1,7-46,0 pmol/L per FT3, 5,15-77,0 pmol/L per FT4 e 0,03-10,0 mU/L per TSH.

Analisi statistica.

Sono stati usati test non-parametrici ed i risultati sono stati riportati come mediana e range interquartile (IQR, 25°-75° quartile). Per determinare la significatività statistica è stato usato il test non-parametrico Mann-Whitney per dati non appaiati. Per calcolare i coefficienti di regressione lineare, i valori di TSH sono stati trasformati in valori logaritmici per normalizzare la distribuzione non-Gaussiana. I dati sono stati analizzati utilizzando il software Prism (GraphPad, USA). Le differenze fra i gruppi sono state valutate mediante analisi della covarianza (ANCOVA) usando SPSS (versione 15.0; SPSS; Chicago, IL, USA).

Risultati

Nella nostra serie di 3875 adulti eutiroidei la mediana dei valori di TSH era 1,40 mU/L (IQR=0.90-2.10); la mediana dei valori di FT4 era 13,8 pmoli/L (IQR=12,0-15,4); la mediana dei valori di FT3 era 4,47 pmoli/L (IQR=3,85-4,94) (Tabella 1). In questa popolazione di eutiroidei il range di normalità (2,5°-97,5° percentile) era 9,0-20,6 pmoli/L per FT4 e 2,9-6,0 pmoli/L per FT3. La mediana individuale del rapporto FT3/FT4 era 0,32 (IQR=0,27-0,37) (Figura 1).

I livelli ormonali erano influenzati sia dal genere che dall'età. I livelli di FT3 erano più bassi e i livelli di TSH più alti nelle donne rispetto agli uomini di età corrispondente (Tabella 1). Anche i valori di FT4 erano più bassi nelle donne di età < 60 anni rispetto agli uomini e alle donne di età >60 anni (P<0.001 in entrambi i casi) (Tabella 1). Queste osservazioni sono in accordo con dati precedenti sull'effetto di età e genere sui livelli ormoni tiroidei^{39,40}. Inoltre, negli eutiroidei il rapporto FT3/FT4 era più alto nei maschi rispetto alle femmine e negli individui di età inferiore a 60 anni rispetto ai soggetti più anziani dello stesso genere

(Tabella 1). Eseguendo una regressione lineare, nei soggetti eutiroidei i livelli di TSH correlavano inversamente con i valori di FT4 ($r^2=0.0087$, slope -1.1 , $P<0.0001$) ma non con i valori di FT3 ($r^2=0.0001$, slope -0.0029 , $P=0.536$) (Figura 2).

TSH, FT3 e FT3 in pazienti atireotici in terapia con L-T4.

In 1811 pazienti atireotici con normali valori di TSH (0,4-4,0 mU/L) in monoterapia con L-T4, la mediana dei valori di TSH era 1,20 mU/L (IQR=0,69-2,20), dei valori di FT4 15,4 pmoli/L (IQR=14,2-17,6, $P<0.001$ rispetto ai controlli eutiroidei) e dei valori di FT3 3,70 pmoli/L (IQR=3,73-4,31, $P<0.001$ rispetto ai controlli). La mediana del rapporto FT3/FT4 nei singoli pazienti era 0,24 (0,20-0,28, $P<0.001$) (Tabella 1). Tali significative differenze si osservavano anche quando i pazienti venivano suddivisi per età e sesso e poi paragonati a controlli di pari età e genere.

Nei pazienti atireotici trattati con L-T4, l'effetto di età e genere sui livelli ormonali era differente rispetto agli eutiroidei. Come atteso, nei tiroidectomizzati i livelli di FT4, dipendenti dalla L-T4 assunta, erano simili per tutte le età e nei due generi. Differentemente, i livelli di FT3, che dipendono dalla desiodazione periferica della L-T4 assunta, erano significativamente più alti negli uomini di età inferiore a 60 anni rispetto ai più anziani e alle donne, come osservato anche nei controlli eutiroidei (Tabella 1).

Fra i pazienti atireotici, nonostante livelli di TSH normali, il 15,2% presentava livelli di FT3 al di sotto del range di normalità ed il 7,2% aveva livelli di FT4 superiori al range normale (Figura 1). La percentuale di tiroidectomizzati con livelli di FT3 inferiori al range normale era dell'8,6% nei maschi e del 16,4% nelle femmine ($P=0,044$). La percentuale di pazienti con FT3 inferiore alla norma era maggiore nei pazienti di età superiore ai 60 anni (17,4%) rispetto ai più giovani (14,3%), ma la differenza non era statisticamente significativa. Infine,

il 29,6% dei pazienti in terapia con L-T4 presentava un rapporto FT3/FT4 inferiore al range di normalità (<2,5° percentile di soggetti eutiroidei) (Figura 1). La percentuale di pazienti con un rapporto FT3/FT4 <2,5° percentile aumentava progressivamente all'aumentare della dose di L-T4, raggiungendo il 37,7% nei 319 pazienti trattati con una dose superiore a 2,0 g/Kg/die di L-T4 (figura 3).

Feedback tiroide-ipofisi nei pazienti atireotici.

Quando i 1811 pazienti atireotici trattati con L-T4 con normali valori di TSH venivano suddivisi in gruppi, in base ai livelli di TSH, e paragonati a soggetti eutiroidei con livelli di TSH simili, i valori mediani di FT4 erano significativamente più alti e i valori mediani di FT3 significativamente più bassi in ciascun gruppo di trattati con L-T4 rispetto agli eutiroidei di controllo con simili livelli di TSH (Tabella 2). Queste differenze restavano significative dopo che i dati venivano corretti per età, sesso e valori di TSH ($P < 0.001$, ANCOVA test). Per valori mediani simili di FT4 i livelli di TSH erano molto più bassi negli eutiroidei che nei trattati con L-T4 (Tabella 2). Inoltre, la retta di regressione lineare (Figura 2) tra TSH e FT4 mostrava una pendenza più ripida nei pazienti trattati con L-T4 che, dunque, necessitavano di un maggiore cambiamento dei livelli di FT4 per ottenere lo stesso effetto di feedback sulla secrezione ipofisaria di TSH. Queste differenze possono essere spiegate dai diversi livelli di FT3 nelle due condizioni; nei soggetti trattati con L-T4 sono infatti inferiori (Tabella 2). Al decrescere dei livelli di FT4, i soggetti eutiroidei riescono a compensare e a mantenere pressoché costanti i livelli di FT3 (Figura 2), probabilmente in conseguenza di un incremento della sintesi di T3 a livello tiroideo. Viceversa, nei pazienti trattati con L-T4, i livelli di FT3 decrescono parallelamente a quelli di FT4 ma l'entità del cambiamento del TSH è inferiore, suggerendo una ridotta sensibilità delle cellule tiroptrope agli ormoni tiroidei.

Discussione

In una numerosa serie di pazienti atireotici abbiamo osservato che, per ottenere l'eutiroidismo, indicato dalla normalizzazione del TSH, i livelli di FT4 devono essere significativamente più elevati rispetto agli eutiroidi. Invece, nonostante livelli di FT4 superiori, i livelli di FT3 sono significativamente più bassi che nei soggetti normali, suggerendo che la conversione periferica della T4 in T3 potrebbe non essere sufficiente a mantenere un normale rapporto FT3/FT4 nei pazienti in monoterapia con L-T4. La riduzione del rapporto FT3/FT4 è maggiore in un sottogruppo di pazienti (circa un terzo nel nostro studio), che presentano un rapporto inferiore al range di riferimento calcolato negli eutiroidi. (Figura 1). Questi pazienti, dunque, vivono cronicamente in una condizione di anomala disponibilità di ormoni tiroidei per i tessuti periferici, anche se la dose di L-T4 somministrata riesce a mantenere il TSH nel range di normalità. Questa condizione è più frequente nelle donne e nei pazienti anziani, indicando una significativa influenza di genere ed età nella capacità individuale di produrre T3 dalla L-T4 esogena.

Queste anomalie sono state già descritte in letteratura^{5,6,41} ma la loro rilevanza è stata ridimensionata, mancando una chiara evidenza di conseguenze cliniche. Dunque, tenendo presente che: 1) tutti i pazienti ipotiroidei possono raggiungere normali livelli di TSH aggiustando la dose di L-T4; 2) la maggior parte dei pazienti (sebbene non tutti) mantiene generali condizioni di benessere in monoterapia con L-T4; 3) in molti studi un breve periodo di terapia combinata T4-T3 non ha determinato un significativo miglioramento di una serie di sintomi, la conclusione è stata che il trattamento standard per tutti i pazienti ipotiroidei è la L-T4⁴². Dovrebbe essere sottolineato che, comunque, non esiste nessuno studio a lungo termine che dimostri che un anomalo rapporto fra i due ormoni tiroidei non determini effetti sfavorevoli; inoltre, perfino studi a breve termine indicano che alcuni ipotiroidei non

raggiungono una condizione di benessere in monoterapia con L-T4 ⁴³. La loro condizione potrebbe migliorare con una terapia combinata ^{7, 44,45,46}.

Studiando una sufficientemente numerosa serie di pazienti tiroidectomizzati senza tessuto tiroideo residuo osserviamo che, nonostante livelli normali di TSH, in monoterapia con L-T4 circa un quinto di essi presenta livelli di FT3 o FT4 fuori dal range di riferimento dei soggetti eutiroidei. Inoltre, anche tra i soggetti trattati con L-T4 che presentano ormoni nei limiti della norma, la normalità è talvolta discutibile. Nello studio di Jonklaas et al ⁴⁷, volto a dimostrare che livelli di T3 normali possono essere ottenuti in tutti i pazienti tiroidectomizzati in terapia sostitutiva con L-T4, i “normali” livelli di T3, considerati simili ai valori pre-intervento, sono in realtà valori medi, che comprendono valori cambiati di più del 30% rispetto a quelli pre-intervento e, per di più, associati ad un incremento medio del 50% dei livelli di TSH e del 30% per quanto riguarda la FT4. Pazienti che, nonostante valori di ormoni tiroidei nel range normale, mostrano così grandi cambiamenti nei livelli di TSH, di FT3 e di FT4 rispetto ai valori pre-intervento, possono essere considerati realmente eutiroidei ⁴⁸?

La principale fonte di T3 per i tessuti periferici è costituita dal pool di T3 circolante e la produzione locale ottenuta dalla desiodazione della T4 potrebbe non essere sempre adeguata, come dimostrato in studi su animali ⁵. Gli effetti a lungo termine di questa anomala condizione non sono noti e la prova che dalla terapia combinata con T4 e T3 non derivi alcun beneficio non può essere fornita da studi a breve termine.

Analizzando la correlazione tra TSH e ormoni tiroidei in una numerosa serie di pazienti tiroidectomizzati in monoterapia con L-T4, osserviamo che in questi pazienti la risposta ipofisaria è significativamente diversa dal normale, risultando l'ipofisi molto meno sensibile che nei soggetti eutiroidei di controllo (Figura 2). Questa evidenza indica che l'effetto degli ormoni tiroidei a livello ipofisario è alterato negli atireotici in monoterapia con L-T4. Una

conseguenza pratica di questo dato è che la normalizzazione del TSH non può essere considerata un marker appropriato di eutiroidismo nei pazienti trattati con L-T4.

Individui atireotici mostrano una notevole eterogeneità nella capacità di produrre T3 mediante desiodazione della L-T4 esogena, come indicato dalla variabilità delle concentrazioni sieriche di FT3 in pazienti con simili livelli di FT4. Mentre molti pazienti in monoterapia con L-T4 raggiungono normali livelli di TSH, un normale rapporto FT3/FT4 ed anche una condizione di benessere, un sottogruppo di pazienti non è in grado di convertire la L-T4 assunta nell'adeguata quantità di T3. Questo può accadere per varie ragioni, incluso un deficit della funzione desiodasica, congenito o acquisito ^{49,50,51} e anche anomalie del metabolismo degli ormoni tiroidei indipendenti dalla desiodazione ⁵². Un limite del nostro studio è che non è stato valutato il benessere o il livello di soddisfazione dei pazienti. Trattandosi di uno studio retrospettivo osservazionale, non possono inoltre essere esclusi fattori confondenti. Infine, la mancanza di misurazione delle desiodasi nei tessuti e dei metaboliti degli ormoni tiroidei (come la rT3) lasciano aperte speculazioni sul meccanismo e sulle vie metaboliche coinvolte nella variabilità del rapporto FT3/FT4 nei pazienti trattati con L-T4.

L'insufficiente produzione periferica di T3 non può essere appropriatamente corretta incrementando la dose di L-T4, poiché l'effetto inibitorio degli elevati livelli di T4 sulla D2^{17,19} aumenterebbe ulteriormente lo sbilanciamento nel rapporto fra FT3 e FT4 circolanti (Figura 3).

In conclusione, i pazienti atireotici in monoterapia con L-T4 mostrano una capacità di produrre T3 molto eterogenea e circa un quinto di essi, nonostante normali livelli di TSH, non mantiene FT3 o FT4 nel range di normalità. Nei pazienti trattati con L-T4 è presente una ridotta sensibilità dell'ipofisi agli ormoni tiroidei. Queste osservazioni mettono in dubbio la conclusione, derivata da studi a breve termine, che la monoterapia con L-T4 sia

adeguata per tutti i pazienti ipotiroidei ⁴², considerando che perfino piccole anomalie potrebbero avere importanti conseguenze a lungo termine. Per stabilire se un sottogruppo di pazienti ipotiroidei richieda una terapia più fisiologica sono necessari ulteriori studi ^{53,54,55}.

BIBLIOGRAFIA

¹ www.thyroidguidelines.org/hypothyroidism/guidelines

² jama.ama-assn.org/content

³ www.aace.com/sites/default/files/hypo_hyper.pdf

⁴ bestpractice.bmj.com/best-practice

⁵ Woeber KA (2002) Levothyroxine therapy and serum free thyroxine and free triiodothyronine concentrations. *J Endocrinol Invest* 25: 106-9

⁶ Iverson JF, Mariash CN (2008) Optimal free thyroxine levels for thyroid hormone replacement in hypothyroidism. *Endocr Pract* 14: 550-5

⁷ Bunevicius R, Kazanavicius G, Zalinkevicius R, Prange AJ Jr (1999) Effects of thyroxine as compared with thyroxine plus triiodothyronine in patients with hypothyroidism. *N Engl J Med* 340:424-9

⁸ Appelhof BC, Fliers E, Wekking EM, Schene AH, Huyser J, Tijssen JG, Endert E, van Weert HC, Wiersinga WM (2005) Combined therapy with levothyroxine and liothyronine in two ratios, compared with levothyroxine monotherapy in primary hypothyroidism: a double-blind, randomized, controlled clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 2666-74

⁹ Escobar-Morreale HF, Obregón MJ, Escobar del Rey F, Morreale de Escobar G (1995) Replacement therapy for hypothyroidism with thyroxine alone does not ensure euthyroidism in all tissues, as studied in thyroidectomized rats. *J Clin Invest* 96: 2828-38

¹⁰ Dayan CM, Panicker V (2009) Novel insights into thyroid hormones from the study of common genetic variation. *Nat Rev Endocrinol* 5: 211-8

¹¹ Meier C, Trittibach P, Guglielmetti M, Staub JJ, Müller B (2003) Serum thyroid stimulating hormone in assessment of severity of tissue hypothyroidism in patients with overt primary thyroid failure: cross sectional survey. *BMJ* 326: 311-2

¹² Zulewski H, Müller B, Exer P, Miserez AR, Staub JJ (1997) Estimation of tissue hypothyroidism by a new clinical score: evaluation of patients with various grades of hypothyroidism and controls. *J Clin Endocrinol Metab* 82: 771-6

-
- ¹³ Alevizaki M, Mantzou E, Cimponeriu AT, Alevizaki CC, Koutras DA (2005) TSH may not be a good marker for adequate thyroid hormone replacement therapy. *Wien Klin Wochenschr* 117: 636-40
- ¹⁴ Saravanan P, Chau WF, Roberts N, Vedhara K, Greenwood R, Dayan CM (2002) Psychological well-being in patients on 'adequate' doses of l-thyroxine: results of a large, controlled community-based questionnaire study. *Clin Endocrinol (Oxf.)* 57: 577-85
- ¹⁵ Samuels MH, Schuff KG, Carlson NE, Carello P, Janowsky JS (2007) Health status, psychological symptoms, mood, and cognition in L-thyroxine-treated hypothyroid subjects. *Thyroid* 17: 249-58
- ¹⁶ Fisher, DA, Oddie TH, Thompson CS (1971) Thyroidal thyronine and non-thyronine iodine secretion in euthyroid subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 33, 647-652.
- ¹⁷ Bianco AC, Kim BW. (2006). Deiodinases: implications of the local control of thyroid hormone action. *J Clin Invest* 116, 2571-2579.
- ¹⁸ Bianco AC, Reed Larsen P. (2005). Werner & Ingbar's the Thyroid: a fundamental and clinical text. Cap. 7: Intracellular pathways of iodothyronine metabolism. *Lippincot Williams & Wilkins*.
- ¹⁹ Bianco AC, Salvatore D, Gereben B, Berry MJ, Larsen PR. (2002). Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocr Rev* 23, 38-89.
- ²⁰ O'Mara BA, Dittrich VV, Lauterio TJ, St.Germain DL (1993). Pretranslational regulation of type I 5'-deiodinase by thyroid hormones and in fasted and diabetic rats. *Endocrinology* 133, 1715-1723.
- ²¹ Laurberg, P. (1976). T4 and T3 release from the perfused canine thyroid isolated in situ. *Acta Endocrinologica* 83, 105-113.
- ²² Toyoda N, Nishikawa M, Mori Y, Gondon A, Ogawa Y, Yonemoto T, Yoshimura M, Masaki H, Inada M (1992). Thyrotropin and triiodothyronine regulate iodothyronine 5'-deiodinase messenger ribonucleic acid levels in FRTL-5 rat thyroid cells. *Endocrinology* 131, 389-394.
- ²³ Escobar-Morreale HF, Escobar del Rey F, Obregón MJ, Morreale de Escobar G (1996). Only the combined treatment with thyroxine and triiodothyronine ensures euthyroidism in all tissues of the thyroidectomized rat. *Endocrinology* 137, 2490-2502.
- ²⁴ Hosoi Y, Murakami M, Mizuma H, Ogiwara T, Imamura M, Mori M (1999). Expression and regulation of type II iodothyronine deiodinase in cultured human skeletal muscle cells. *J Clin Endocrinol Metab* 84, 3293-3300.
- ²⁵ Salvatore D, Tu H, Harney JW, Reed Larsen P (1996). Type 2 iodothyronine deiodinase is highly expressed in human thyroid. *J Clin Invest* 98, 962-968.
- ²⁶ Imai Y, Toyoda N, Maeda A, Kadobavashi T, Fangzheng G, Nishikawa M, Iwasaka T (2001). Type 2 iodothyronine deiodinase expression is upregulated by the protein kinase A-dependent pathway and is downregulated by the protein kinase C-dependent pathway in cultured human thyroid cells. *Thyroid* 11, 899-907.

-
- ²⁷ Murakami M, Araki O, Hosoi Y, Kamiya Y, Morimura T, Ogiwara T, Mizuma H, Mori M (2001). Expression and regulation of type II iodothyronine deiodinase in human thyroid gland. *Endocrinology* 142, 2961-2967.
- ²⁸ Dentice M, Morisco C, Vitale M, Rossi G, Fenzi G, Salvatore D (2003). The different cardiac expression of the type 2 iodothyronine deiodinase gene between human and rat is related to the differential response of the Dio2 genes to Nkx-2.5 and GATA-4 transcription factors. *Molecular Endocrinology* 17, 1508-1521.
- ²⁹ Bernal J. (2005). Thyroid hormones and brain development. *Vitam Horm* 71, 95-122.
- ³⁰ Heuer H, Maier MK, Iden S, Mittag J, Friesema ECH, Visser TJ, Bauer K (2005). The monocarboxylate transporter 8 linked to human psychomotor retardation is highly expressed in thyroid hormone-sensitive neuron populations. *Endocrinology* 146, 1701-1706.
- ³¹ Bianco AC, Larsen PR (2005). Cellular and structural biology of the deiodinases. *Thyroid* 15, 777-786.
- ³² Curcio-Morelli C, Zavacki AM, Christofollete M, Gereben B, de Freitas BC, Harney JW, Li Z, Wu G, Bianco AC (2003). Deubiquitination of type 2 iodothyronine deiodinase by von Hippel-Lindau protein-interacting deubiquitinating enzymes regulates thyroid hormone activation. *J Clin Invest* 112, 189-196.
- ³³ Dentice M, Bandyopadhyay A, Gereben B, Callebaut I, Christofollete MA, Kim BW, Nissim S, Mornon J-P, Zavacki AM, Zeöld A, Capelo LP, Curcio-Morelli C, Ribeiro R, Harney JW, Tabin CJ, Bianco AC (2005). The Hedgehog-inducible ubiquitin ligase subunit WSB-1 modulates thyroid hormone activation and PTHrP secretion in the developing growth plate. *Nature Cell Biology* 7, 698-705.
- ³⁴ Kim BW, Zavacki AM, Curcio-Morelli C, Dentice M, Harney JW, Reed Larsen P, Bianco AC (2003). Endoplasmic reticulum-associated degradation of the human type 2 iodothyronine deiodinase (D2) is mediated via an association between mammalian UBC7 and the carboxyl region of D2. *Molecular Endocrinology* 17, 2306-2312.
- ³⁵ Sagar GDV, Gereben B, Callebaut I, Mornon J-P, Zeöld A, da Silva WS, Luongo C, Dentice M, Tente SM, Freitas BCG, Harney JW, Zavacki AM, Bianco AC (2007). Ubiquitination-induced conformational change within the deiodinase dimer is a switch regulating enzyme activity. *Molecular and Cellular Biology* 27, 4774-4783.
- ³⁶ Miyauchi A, Takamura Y, Ito Y, Miya A, Kobayashi K, Matsuzuka F, Amino N, Toyoda N, Nomura E, Nishikawa M (2008). 3,5,3'-Triiodothyronine thyrotoxicosis due to increased conversion of administered levothyroxine in patients with massive metastatic follicular thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab* 93, 2239-2242.
- ³⁷ Dentice M, L. C. (2007). Sonic hedgehog-induced type 3 deiodinase blocks thyroid hormone action enhancing proliferation of normal and malignant keratinocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104, 14466-71.

-
- ³⁸ Sawin, C.T., Geller, A., Kaplan, M.M., Bacharach, P., Wilson, P.W. & Hershman, J.M. (1991). Low serum thyrotropin (thyroid-stimulating hormone) in older persons without hyperthyroidism. *Arch Intern Med*, 151, 165-168.
- ³⁹ Davey R (1997) Thyroxine, thyrotropin, and age in a euthyroid hospital patient population. *Clin Chem* 43: 2143–8.
- ⁴⁰ Kratzsch J, Fiedler GM, Leichtle A, Brügge M, Buchbinder S, et al. (2005) New reference intervals for thyrotropin and thyroid hormones based on National Academy of Clinical Biochemistry criteria and regular ultrasonography of the thyroid. *Clin Chem* 51: 1480–6.
- ⁴¹ Fadeyev VV, Morgunova TB, Sytch JP, Melnichenko GA (2005) TSH and thyroid hormones concentrations in patients with hypothyroidism receiving replacement therapy with L-thyroxine alone or in combination with L-triiodothyronine. *Hormones (Athens)* 4: 101–7.
- ⁴² Grozinsky-Glasberg S, Fraser A, Nahshoni E, Weizman A, Leibovici L (2006) Thyroxine-triiodothyronine combination therapy versus thyroxine monotherapy for clinical hypothyroidism: meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 2592–9.
- ⁴³ Wekking EM, Appelhof BC, Fliers E, Schene AH, Huyser J, et al. (2005) Cognitive functioning and well-being in euthyroid patients on thyroxine replacement therapy for primary hypothyroidism. *Eur J Endocrinol* 153: 747–53.
- ⁴⁴ Ma C, Xie J, Huang X, Wang G, Wang Y, et al. (2009) Thyroxine alone or thyroxine plus triiodothyronine replacement therapy for hypothyroidism. *Nucl Med Commun* 30: 586–93.
- ⁴⁵ Nygaard B, Jensen EW, Kvetny J, Jarløv A, Faber J (2009) Effect of combination therapy with thyroxine (T4) and 3,5,39-triiodothyronine versus T4 monotherapy in patients with hypothyroidism, a double-blind, randomised cross-over study. *Eur J Endocrinol* 161: 895–902.
- ⁴⁶ Panicker V, Saravanan P, Vaidya B, Evans J, Hattersley AT, et al. (2009) Common variation in the DIO2 gene predicts baseline psychological well-being and response to combination thyroxine plus triiodothyronine therapy in hypothyroid patients. *J Clin Endocrinol Metab* 94: 1623–9.
- ⁴⁷ Jonklaas J, Davidson B, Bhagat S, Soldin SJ (2008) Triiodothyronine levels in athyreotic individuals during levothyroxine therapy. *JAMA* 299: 769–77.
- ⁴⁸ Cooper DS (2008) Thyroxine monotherapy after thyroidectomy: coming full circle. *JAMA* 299: 817–9.
- ⁴⁹ Köhrle J, Jakob F, Contempre B, Dumont JE (2005) Selenium, the thyroid, and the endocrine system. *Endocr Rev* 26: 944–84.
- ⁵⁰ De Jong FJ, Peeters RP, Den Heijer T, Van der Deure WM, Hofman A, et al. (2007) The association of polymorphisms in the type 1 and 2 deiodinase genes with circulating thyroid hormone parameters and atrophy of the medial temporal lobe. *J Clin Endocrinol Metab* 92: 636–40.

-
- ⁵¹ Panicker V, Cluett C, Shields B, Murray A, Parnell KS, et al. (2008) A common variation in deiodinase 1 gene DIO1 is associated with the relative levels of free thyroxine and triiodothyronine. *J Clin Endocrinol Metab* 93: 3075–81.
- ⁵² Visser TJ, van Buuren JC, Rutgers M, Eelkman Rooda SJ, de Herder WW (1990) The role of sulfation in thyroid hormone metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 1: 211–8. *J Clin Invest* 116: 2571–9.
- ⁵³ Wiersinga WM (2001) Thyroid hormone replacement therapy. *Horm Res* 56 Suppl 1: 74–81.
- ⁵⁴ Hennemann G, Docter R, Visser TJ, Postema PT, Krenning EP (2004) Thyroxine plus low-dose, slow-release triiodothyronine replacement in hypothyroidism: proof of principle. *Thyroid* 14: 271–5.
- ⁵⁵ Acosta BM, Bianco AC (2010) New insights into thyroid hormone replacement therapy. *F1000 Med Rep* May 11; 2 pii: 34.

Table 1
TSH, FT4, FT3 levels in studied subjects by age and gender.

	F/M	no.	Age (yrs)	TSH (mU/L)	FT4 (pmol/L)	FT3 (pmol/L)	FT3/FT4 ratio
Euthyroid controls	4.9:1	3875	49 (37–61)	1.40 (0.90–2.10)	13.8 (12.0–15.4)	4.47 (3.85–4.94)	0.32 (0.27–0.37)
Females	all	3224	49 (37–61)	1.40 (0.90–2.10)	13.6 (11.8–15.4)	4.40 (3.85–4.93)	0.32 (0.27–0.37)
	≤60 yr	2457	45 (36–53)	1.41 (0.90–2.17)	13.4 (11.6–15.4) [†]	4.44 (3.85–4.93)	0.32 (0.27–0.37)
	>60 yr	767	68 (64–72)	1.29 (0.80–1.96)	14.2 (12.2–15.4)	4.31 (3.85–4.91)	0.30 (0.26–0.36) [§]
Males	all	651	51 (35–64)	1.29 (0.80–1.94)	14.2 (12.5–15.9)	4.62 (4.16–5.30)	0.33 (0.28–0.39) [‡]
	≤60 yr	470	45 (37–52)	1.30 (0.85–2.00) [*]	14.2 (12.5–16.0)	4.79 (4.24–5.40) [*]	0.33 (0.28–0.39)
	>60 yr	181	68 (64–73)	1.20 (0.75–1.80) [*]	14.2 (12.4–15.6)	4.47 (4.00–5.08) [*]	0.31 (0.26–0.36) [§]
L-T4 treated pts	5.4:1	1811	51 (42–61)	1.20 (0.69–2.20)	15.4 (14.2–17.6)	3.70 (3.23–4.31)	0.24 (0.20–0.28)
Females	all	1530	52 (42–61)	1.20 (0.69–2.20)	15.4 (14.2–17.5)	3.70 (3.23–4.29)	0.24 (0.20–0.27)
	≤60 yr	1088	46 (39–53)	1.12 (0.60–2.10)	15.4 (14.2–17.0)	3.70 (3.23–4.31)	0.24 (0.21–0.28)
	>60 yr	442	66 (63–72)	1.20 (0.70–2.31) [§]	15.4 (14.2–18.0)	3.70 (3.16–4.16)	0.23 (0.20–0.26) [§]
Males	all	281	48 (35–64)	1.20 (0.69–2.40)	15.4 (14.2–18.0)	3.87 (3.47–4.40)	0.25 (0.21–0.28) [‡]
	≤60 yr	210	45 (36–52)	1.10 (0.64–2.40)	15.4 (14.2–18.0)	4.00 (3.54–4.47)	0.25 (0.21–0.29)
	>60 yr	71	67 (63–73)	1.40 (0.80–2.60)	15.5 (14.2–17.0)	3.70 (3.39–4.14) [§]	0.24 (0.20–0.27)

Values indicate median and interquartile ranges (IQR). FT3 = free triiodothyronine; FT4 = free thyroxine; TSH = thyroid-stimulating hormone; L-T4 = levothyroxine.

*p<0.001: males vs. females in the same age groups.

†p<0.001: females≤60 yr vs. females>60 yr and males, both age groups.

‡p = 0.027: males vs. females.

§p<0.001: ≤60 yr vs. >60 yr of the same gender.

|| p<0.001: L-T4 treated athyreotic patients vs. euthyroid controls.

¶p<0.001: males ≤60 yr vs. females in the same age range.

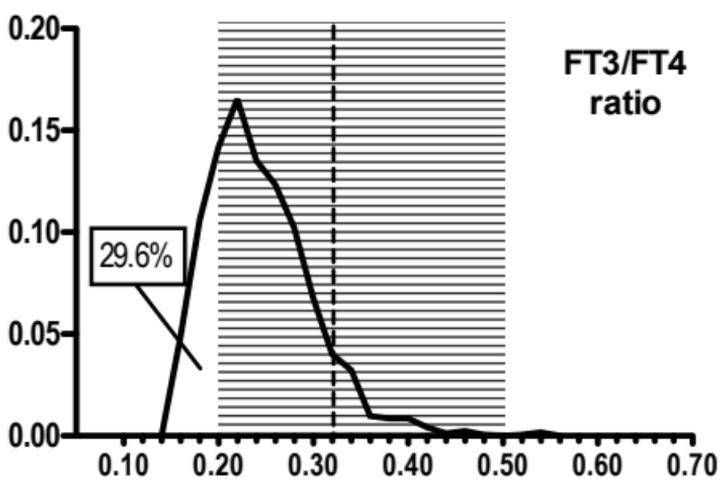
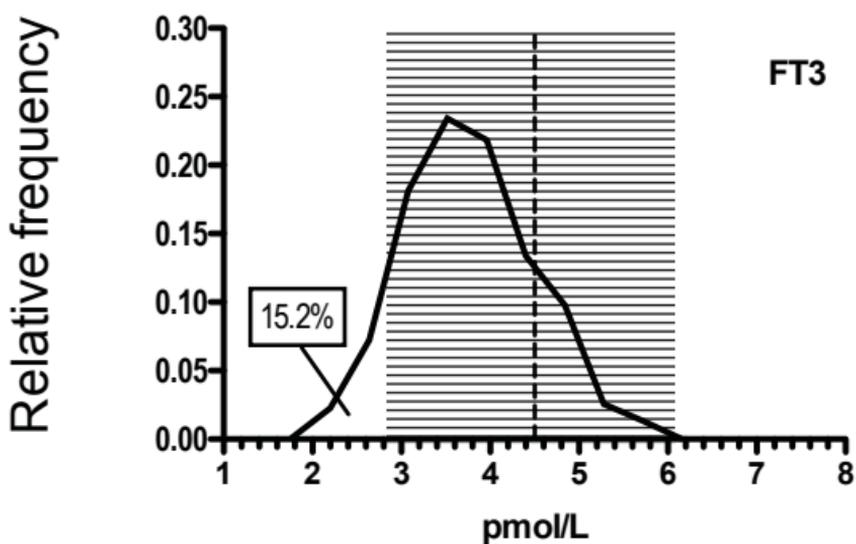
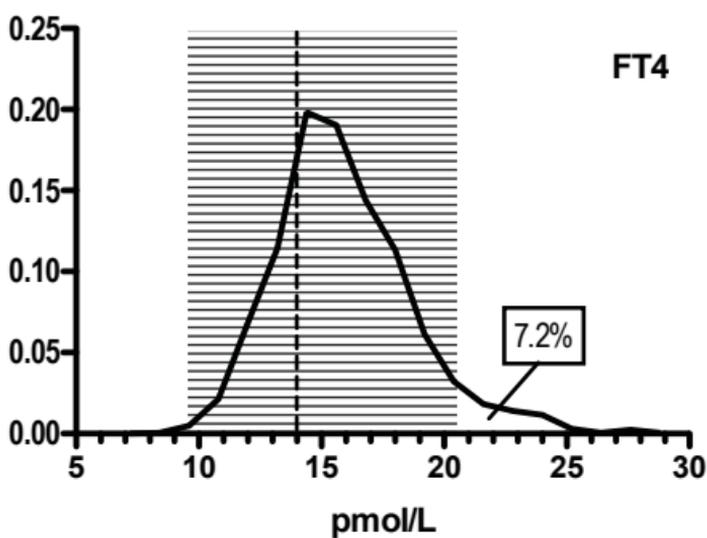


Figure 1

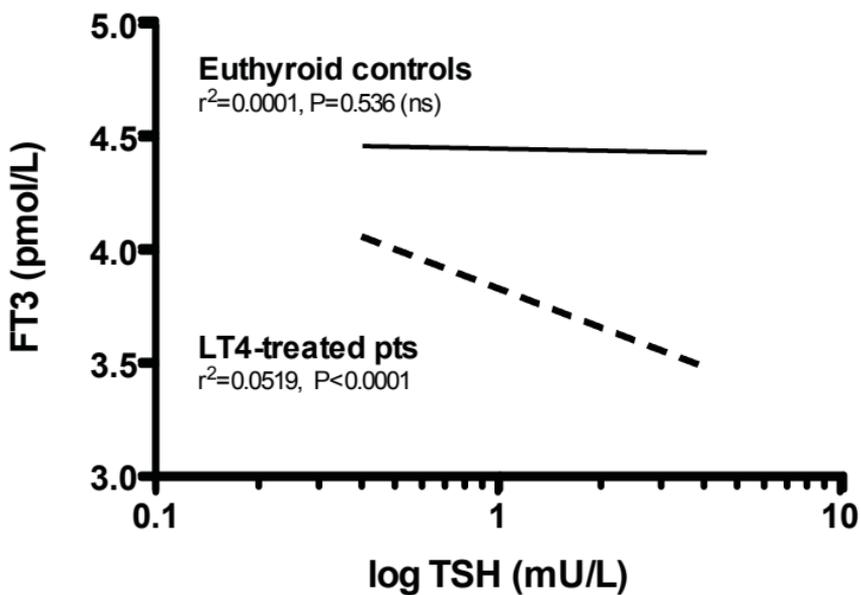
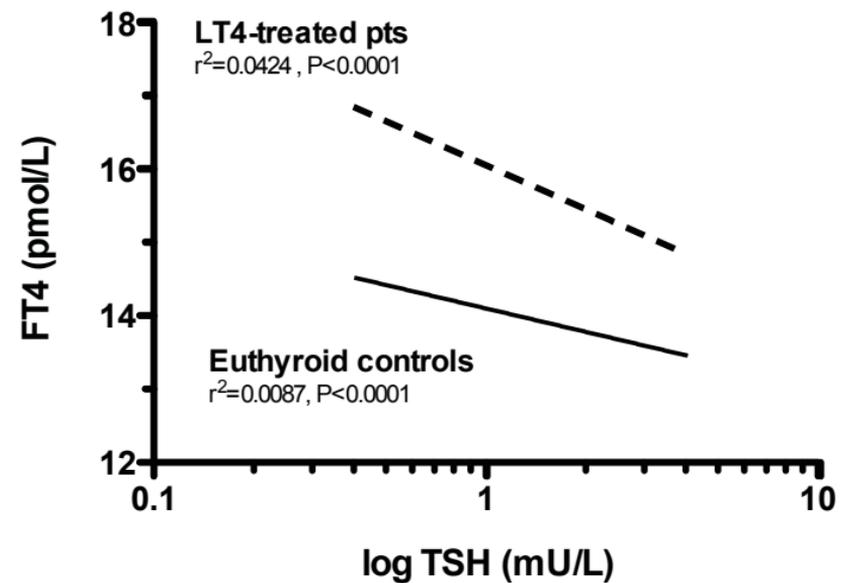


Figure 2

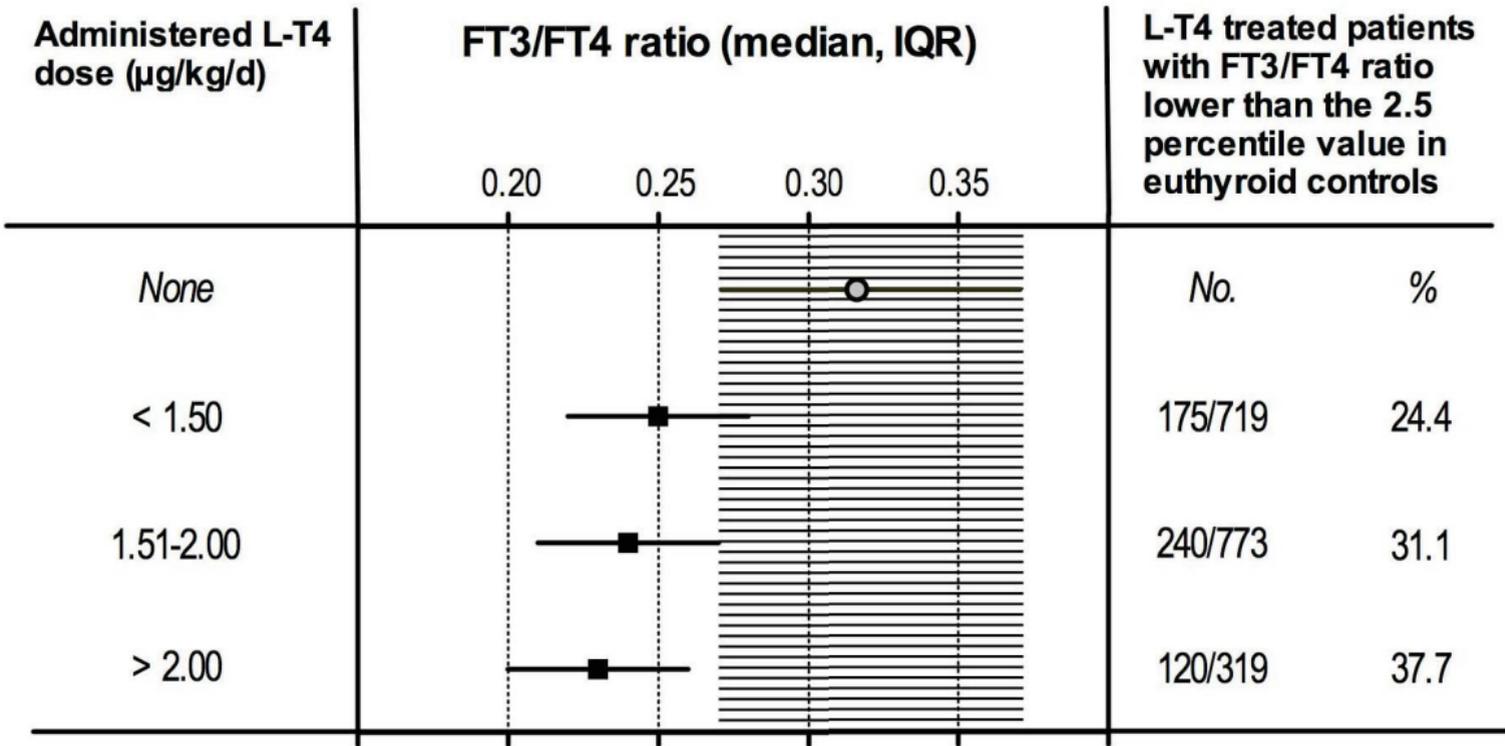


Figure 3

Table 2**TSH, FT4, FT3 levels in euthyroid controls and in levothyroxine-treated athyreotic patients subdivided according to TSH levels.**

TSH levels (mU/L)	Euthyroid controls (n = 3875)				
	n.	TSH (mU/L)	FT4 (pmol/L)	FT3 (pmol/L)	FT3/FT4 ratio
0.40–1.00	1306	0.70 (0.57–0.90)	14.2 (12.5–15.7)	4.47 (3.85–5.00)	0.31 (0.27–0.36)
1.01–1.50	878	1.30 (1.16–1.40)	13.9 (12.1–15.4)	4.34 (3.85–4.93)	0.31 (0.27–0.37)
1.51–2.00	625	1.79 (1.62–1.90)	13.8 (12.0–15.4)	4.47 (3.85–4.93)	0.31 (0.27–0.37)
2.01–2.50	402	2.26 (2.11–2.40)	13.4 (11.6–15.4)	4.47 (3.85–4.94)	0.32 (0.27–0.37)
2.51–4.00	664	3.10 (2.70–3.70)	12.9 (11.6–15.0)	4.47 (3.85–5.00)	0.33 (0.28–0.39)
	Athyreotic patients (n = 1811)				
	n.	TSH (mU/L)	FT4 (pmol/L)	FT3 (pmol/L)	FT3/FT4 ratio
0.40–1.00	793	0.60 (0.47–0.80)	15.7 (14.2–18.0)*	3.96 (3.39–4.47)*	0.24 (0.21–0.27)*
1.01–1.50	326	1.20 (1.12–1.40)	16.2 (14.2–18.0)*	3.85 (3.39–4.37)*	0.24 (0.20–0.27)*
1.51–2.00	183	1.80 (1.67–1.90)	15.4 (14.2–16.7)*	3.65 (3.13–4.15)*	0.23 (0.20–0.28)*
2.01–2.50	135	2.30 (2.16–2.38)	14.9 (13.3–17.6)*	3.60 (3.13–4.04)*	0.24 (0.20–0.28)*
2.51–4.00	374	3.32 (2.90–4.07)	14.2 (12.9–15.4)*	3.39 (2.96–3.90)*	0.23 (0.20–0.28)*

Values indicate median and interquartile ranges (IQR). FT3 = free triiodothyronine; FT4 = free thyroxine; TSH = thyroid-stimulating hormone; L-T4 = levothyroxine.

*p<0.001: L-T4-treated athyreotic patients vs. euthyroid controls with similar serum TSH levels.