

**UNIVERSITATEA DE ȘTIINȚE AGRONOMICE ȘI MEDICINĂ
VETERINARĂ DIN BUCUREȘTI**

FACULTATEA DE MEDICINĂ VETERINARĂ

VIȘOIU ION GABRIEL

TEZĂ DE DOCTORAT

REZUMAT

**Investigații privind prezența și impactul endocrinozelor
tiroidiene în populația canină din zona Muscelului**

Conducător științific

Prof. univ. dr. VICTOR CRIVINEANU

-2016-

CUPRINS

Partea I – studiu bibliografic

CAP.I. Noțiuni de anatomie și fiziologie tiroidiană	1
1.1. Introducere	1
1.2. Generalități.....	4
1.3. Anatomia glandei tiroide	5
1.4. Ontogeneza glandei tiroide	6
1.5. Sinteza hormonilor tiroidieni	7
1.6. Modul de acțiune a hormonilor tiroidieni.....	8
1.6.1. Structura receptorilor pentru hormonii tiroidieni	8
1.6.2. Elementele răspunsului indus de receptorii hormonilor tiroidieni	11
1.6.3. Mecanismele moleculare ale acțiunii receptorilor pentru hormoni tiroidieni... ..	12
1.7. Efectele hormonilor tiroidieni asupra principalelor țesuturi.....	14
1.7.1. Efectele hormonilor tiroidieni asupra țesutului nervos.....	14
1.7.2. Efectele hormonilor tiroidieni asupra hipofizei	16
1.7.3. Efectele hormonilor tiroidieni asupra țesutului hepatic	17
1.7.4. Influența hormonilor tiroidieni asupra țesutului gras	19
1.7.5. Efectele hormonilor tiroidieni asupra țesutului osos	20
1.7.6. Efectele hormonilor tiroidieni asupra țesutului cardiac	21
CAP.II. Etiopatogeneza tulburărilor funcționale ale glandei tiroide	22
2.1. Generalități.....	22
2.2. Tulburări funcționale determinate de deficitul de iod din alimentație	23
2.3. Situația iodului în alimentație la nivel mondial	25
2.4. Situația iodului în alimentație la nivel național	29
2.5. Date referitoare la statusul iodului la câine	31
2.6. Tulburări funcționale determinate de excesul de iod în alimentație	34
2.7. Goitrogenza determinată de factori gușogeni	35
2.8. Mecanismul patogenic implicat în goitrogenză	40
2.8.1. Hiperplazia celulelor foliculare tiroidiene	42
2.8.2. Factorii stimulatori ai proliferării foliculare tiroidiene	44
2.9. Etiopatogeneza endocrinozelor tiroidiene determinate de defecte genetice.....	49
2.9.1. Anomalii ale transportului iodului în celula foliculară tiroidiană	50

2.9.2. Perturbări ale efluxului de iod la nivelul celulei foliculare tiroidiene	53
2.9.3. Anomalii ale tiroglobulinei	56
2.9.4. Perturbări la nivelul sistemului de generare a peroxidului de hidrogen	57
2.9.5. Hipotiroidismul central (secundar și terțiar)	59
CAP. III. Afecțiunile inflamatorii și neoplazice ale glandei tiroide	61
3.1. Tiroidita autoimună	61
3.2. Tiroidita infecțioasă.....	69
3.3. Afecțiunile neoplazice tiroidiene	70
 Partea a II-a – Cercetări personale	
CAP. IV. Scopul lucrării	74
CAP. V. Materiale și metode	77
5.1. Echipamente și materiale pentru determinarea concentrațiilor serice de TSH, tiroxină și triiodtironină	77
5.2. Echipamente și metode pentru determinarea spectrometrică a concentrațiilor de iod și minerale din probele de ser	78
5.2.1. Spectrometrul ICP- OES.....	78
5.2.1.1. Clasificarea spectrometrelor.....	78
5.2.1.2 Alcătuirea generală a unui spectrometru ICP-OES	80
5.2.1.3. Limitele de detecție ale unui spectrometru ICP-OES.....	83
5.2.1.4. Procese specifice care au loc în plasma spectrometrului	84
5.2.2. Balanța analitică	86
5.3. Materiale folosite	90
5.4. Analiza elementelor minerale	90
5.4.1. Analiza iodului	91
5.5. Alegerea tipului de experiment și a dimensiunilor eșantioanelor de studiu, metode statistice de analiză a datelor obținute în urma analizelor de laborator	95
5.6. Alegerea dimensiunii eșantionului de studiu – nomograma Altman.Puterea statistică a studiului efectuat	100
5.7. Notații utilizate pentru analiza statistică a datelor	103
CAP. VI. Rezultate și discuții	104
6.1 Analiza statistică descriptivă a datelor	104
6.1.1. Reprezentarea grafică a datelor, histograme, mărimi statistice specifice	108
6.1.1.1. Identificarea valorilor outlier (valori aberante)	108

6.1.1.2. Deviația standard	113
6.1.1.3. Eroarea standard a mediei, intervalul de încredere, coeficientul de variație. Intervalele de referință pentru TSH, Iod, hormonii tiroidieni și unele minerale	114
6.1.1.4. Intervalul de toleranță	119
6.2. Analiza multivariată a datelor	119
6.2.1. Analiza discriminantă a datelor. Identificarea a trei grupuri distincte de indivizi denumite A, N, și R pe baza varianței concentrațiilor de Iod, TSH, tiroxină și triiodtironină	120
6.2.2. Analiza clusterelor și analiza componentei principale (PCA)	126
6.2.2.1. Analiza clusterelor pentru concentrațiile tuturor elementelor analizate pentru întregul grup de 92 de indivizi	130
6.2.2.2. Analiza clusterelor și a componentei principale pentru grupul N	132
6.2.2.3. Analiza clusterelor și a componentei principale pentru grupul A	139
6.2.2.4. Analiza clusterelor și a componentelor principale pentru grupul R	145
6.3. Prezentarea comparativă a PCA și a clusterelor pentru cele trei grupuri	151
6.4. Analiza dependenței concentrației TSH de concentrația iodului din ser.....	159
6.5. Studiul influenței apartenenței la grupurile R, N și A asupra concentrațiilor de TSH, triiodtironină și tiroxină.....	164
6.5.1. Studiul influenței apartenenței la grupurile R, N și A asupra concentrațiilor de TSH.....	169
6.5.2. Studiul influenței apartenenței la grupurile R, N și A asupra concentrațiilor de TT4	173
6.5.3. Studiul influenței apartenenței la grupurile R, N și A asupra concentrațiilor de TT3	174
6.5.4. Analiza ANOVA a influenței grupurilor identificate asupra concentrației de iod din sânge	176
6.6. Studiul influenței tipurilor de hrană asupra concentrațiilor de Iod	180
6.7. Analiza statistică descriptivă a datelor pentru lotul considerat.....	184
6.7.1. Quantile, reprezentare boxplot	184
6.7.2. Analiza descriptivă a concentrațiilor de TSH (ng/ml)	186
6.7.3. Analiza descriptivă a concentrațiilor de TT 3 (ng/dl).....	190
6.7.4. Analiza descriptivă a concentrațiilor de TT 4 (μg/dl)	193
6.7.5. Analiza descriptivă a concentrațiilor serice de Iod (ppm)	195
6.7.6. Analiza descriptivă a concentrațiilor serice (ppm) a unor minerale	198

6.7.7. Sinteza analizei descriptive	230
CAP. VII. Concluzii	234
CAP. VIII. Bibliografie	240

Investigații privind prezența și impactul endocrinozelor tiroidiene în populația canină din zona Muscelului

Cuvinte cheie: *tiroidă, câine, iod, hormoni tiroidieni, tiroxină, triiodtironina, hipotiroidism, minerale*

REZUMAT

O serie de factori endogeni și exogeni exercită influențe directe și indirecte asupra sistemului neuroendocrin. Hipotalamusul, ca principal mediator al relației organismului cu mediul înconjurător, menține homeostazia organismului prin intermediul sistemului endocrin. Ca centru de comandă hipotalamusul reglează procesele metabolice din organism (anabolice și catabolice) prin intermediul glandei tiroide, integrarea acestora în sistemul neuroendocrin realizându-se prin interpunerea glandei hipofize, care acționează ca o interfață între sistemul nervos și sistemul endocrin. În cazul tiroidei “mesagerul” ce poartă informația de la glanda hipofiză, cu rol reglator și integrator, este reprezentat de TSH. În funcție de intensitatea stimulării tiroidiene prin TSH, aceasta răspunde printr-o secreție de tiroxină conformă cu gradul de stimulare. La câine s-a observat că descrierea funcției tiroidiene prin intermediul TSH-ului nu duce la rezultate convingătoare. Mai mult, nivelul hormonilor tiroidieni T4 și T3, este puternic influențat de o serie de factori endogeni și exogeni, care determină o dinamică complexă a acestuia. Cel mai important factor de mediu ce influențează statusul tiroidian este reprezentat de iod. Iodul intră în componența tiroxinei și triiodtironinei, astfel că penuria dar și excesul acestuia influențează major activitatea tiroidiană. La om au fost stabilite nivelurile optime de iod ce trebuie asigurate zilnic, în vederea evitării apariției patologiei asociate deficitului de iod. Programele și măsurile aplicate de asigurare a unui nivel optim de iod în alimentația omului au condus la reducerea numărului de cazuri de gușă endemică și cretinism, însă pe de altă parte se suspicionează că pe fondul unor anumite obiceiuri alimentare (adăugarea unui nivel supraoptimal de sare iodată alimentelor) se favorizează apariția unei patologii tiroidiene specifice excesului de iod ce constă în apariția tireotoxicozei și a unor boli autoimune. Spre deosebire de om la câine nu a fost stabilit nivelul optim de iod ce trebuie asigurat în alimentație. Dificultatea stabilirii acestui nivel derivă și din polimorfismul legat de talie, astfel că cel mai corect ingestia de iod ar trebui raportată la energia metabolizabilă a hranei ingerate și nu la masa acesteia. Unele date sugerează existența unor mecanisme de adaptare ale câinelui la niveluri mai scăzute de iod, prin eficientizarea proceselor de reciclare a iodului ingerat.

La câine s-a observat că funcția tiroidiană nu poate fi evaluată doar prin prisma dozării TSH-ului, existând numeroși câini cu un nivel crescut al acestuia fără ca prin alte mijloace de investigație (biochimice și histologice) să se demonstreze existența unei endocrinoze tiroidiene. În mod revers există și cazuri în care nivelul TSH-ului se poziționează în marjele intervalului de referință, dar care prin alte mijloace de diagnostic se conturează existența unei perturbări tiroidiene. În consecință, în momentul de față, se recurge și la dozarea tiroxinei totale și a triiodtironinei totale, și după unele lucrări și dozarea fracțiunii libere a tiroxinei, cu rezultate de multe ori nesatisfăcătoare.

Coroborarea datelor clinice, presupus a fi consecința hipotiroidismului canin, cu screening-ul TSH și al hormonilor tiroidieni, nu duce la rezultate convingătoare mai ales că tabloul clinic asociat hipotiroidismului este destul de necaracteristic. Tabloul clinic caracteristic și “consacrat” în literatura mai veche, cu alopecie bilaterală simetrică și păr uscat, “coada de șobolan”, mixedem facial, apare la un număr extrem de redus de câini afectați de hipotiroidism.

În acest context, scopul acestui studiu a fost de a completa informațiile privind activitatea tiroidiană la câine și în contextul diversificării alimentației, cu sortimente preparate industrial al căror conținut de iod variază destul de mult. De asemenea lucrarea propune o modalitate de dozare a iodului din serul sanguin canin, precum și investigarea relațiilor dintre iod și TSH dar și dintre iod și tiroxină și triiodtironină. Studiul a urmărit și reliefaarea unor posibile interrelații dintre unele minerale, iod, TSH și hormonii tiroidieni. Ca și obiectiv principal studiul urmărește îmbunătățirea informațiilor legate de fiziologia tiroidei la câine, de importanța pe care iodul îl are în menținerea stării de eutiroidism, precum și determinarea cantităților de iod din serul câinilor dintr-o zona caracterizată de deficit de iod.

În prima parte a tezei – *Studiul bibliografic* – sunt prezentate date din literatura de specialitate privind anatomia, histologia, biochimia și fiziologia tiroidei. S-a urmărit și cercetarea datelor privind statusul iodului la om și câine, pe plan național și internațional, având în vedere că de multe ori se constată existența unor suprapuneri ale alimentației umane cu cea a canidelor. Pentru a înțelege mai bine efectele pe care hormonii tiroidieni le exercită asupra organismului a fost studiat rolul pe care îl au asupra unor țesuturi și organe.

Studiile efectuate în cadrul părții a doua a tezei – *Cercetări proprii* – au vizat evaluarea activității tiroidiene la câine în raport cu nivelul iodului seric, al TSH-ului și al unor microelemente. A fost vizată și relația care se stabilește între concentrația serică a iodului și tipul alimentației administrată câinilor (gătită, comercială, gătită + comercială). Prin întocmirea unor *clustere* s-au investigat relațiile care se stabilesc între iod, TSH, tiroxină, triiodtirononă și unele

microelemente precum și gradul de determinare reciprocă. Prin realizarea acestor clustere s-a putut stabili în ce măsură nivelul TSH-ului răspunde, din perspectivă statistică, prin feed-back, la nivelurile tiroxinei și triiodtironinei încercându-se explicarea slabei valori de diagnostic a TSH-ului pentru hipotiroidismul canin. Relațiile care se stabilesc între parametrii luați în studiu sunt complexe, influențele reciproce directe, stabilite prin analiza statistică a *componentelor principale*, neputând fii reduse la un număr minim de variabile, adică oscilația tuturor variabilelor luate în studiu să fie explicată prin intermediul uneia sau a două variabile.

În cadrul acestui studiu o problemă aparte a reprezentat-o realizarea unui protocol care să permită dozarea iodului sanguin prin tehnica ICP-OES. Dozarea iodului seric este destul de dificilă prin prisma proprietăților fizico-chimice ale acestui element. Sublimarea acestui element din probele de ser, în momentul în care acestea sunt încălzite, impune ca probele de ser să fie preparate la rece pentru a reduce la minim pierderile de iod. Metoda propusă în această lucrare permite analiza serului fără preparare chimică și din acest motiv erorile de analiză induse de etapele de preparare sunt mult diminuate. De asemenea această metodă este mult mai ieftină (atât în ceea ce privește costul aparaturii necesare dar și a reactivilor utilizați) și mai rapidă comparativ cu metodele care utilizează prepararea chimică a serului și echipamente de tipul ICP-MS. Dozarea iodului sanguin a reprezentat un obiectiv principal al acestui studiu dorindu-se reliefarea rolului acestui oligoelement în reglarea axei glandă hipofiză – glandă tiroidă.

Variația iodului și a TSH-ului discriminează câinii luați în studiu pe trei grupe distincte ceea ce ridică suspiciuni legate de prezența unor factori interni și externi ce influențează relația hipofiză – tiroidă prin faptul că aceleași niveluri ale iodului seric modulează răspunsuri diferite ale glandei hipofize. Identificarea celor trei grupe de câini, cu o probabilitate foarte ridicată, dar și existența unor câini plasați marginal în cadrul grupului susțin posibilitatea existenței unor subgrupuri sau existența unui alt factor prin care existența acestor grupuri să fie explicată mai fidel din punct de vedere statistic și implicit fiziologic.

Reglarea axei hipofiză – tiroidă poate fi explicată prin influența exercitată de concentrația iodului seric asupra valorii TSH-ului seric, într-un procent cuprins între 46% și 70%, fapt ce demonstrează existența și a unui alt factor, sau cumul de factori, care exercită o influență majoră asupra concentrației de TSH seric. Pe de altă parte, în cazul celor trei grupe identificate, variația valorilor serice ale tiroxinei și triiodtironinei, poate fi explicată într-un procent destul de mic prin variația concentrațiilor serice ale TSH-ului ceea ce înseamnă că numeroși alți factori concură la menținerea unor concentrații serice optime ale celor doi hormoni tiroidieni. O interdependență

atat de mică între TSH și hormonii tiroidieni demonstrează că în cazul câinelui valoarea de diagnostic a endocrinozelor tiroidiene, prin intermediul TSH, este limitată.

Tipurile de hrană comercială, gătită și comercială+gătită influențează foarte semnificativ ($p=0,0002$) concentrația iodului seric. Cele mai mici concentrații ale iodului sanguin sunt înregistrate la câinii hrăniți cu mâncare gătită, spre deosebire de câinii hrăniți cu un amestec de mâncare comercială și mâncare gătită, la care se înregistrează nivelul cel mai ridicat. În urma cercetărilor s-a constatat că diferitele tipuri de alimentație influențează activitatea tiroidiană prin aportul de iod. Din punct de vedere nutrițional tiroida este capabilă să compenseze deficitul de iod, deși este greu de stabilit limita sub care se poate spune că aportul exogen de iod este insuficient. În același context este posibil ca aportul de iod să fie excedentar cu implicații diverse asupra fiziologiei și patologiei tiroidiene. Este greu de cuantificat aportul de iod asigurat nutrițional întrucât se cunoaște faptul că pe durata depozitării hranei cantitatea de iod scade proporțional cu timpul, deci în lipsa unor determinări ale acestuia, efectuate în imediata apropiere a administrării hranei, sau a determinării unor coeficienți de corecție, este greu de cuantificat aportul real de iod.

Mineralele îndeplinesc numeroase funcții metabolice prin prisma integrării unora în cadrul sistemelor enzimactice sau de asigurare a gradientilor electrochimici indispensabili transportului ionilor (inclusiv iodul) la nivel celular. În schimb unele minerale nu îndeplinesc un rol bine definit și pot fi considerați *contaminanți* ce ar putea favoriza sau interfere cu funcția tiroidiană. Ipoteza avansată de această lucrare este că unele minerale ar putea exercita influențe directe și indirecte asupra dinamicii tiroidiene, astfel că a fost măsurată concentrația serică a unor minerale (aluminiiu, bor, calciu, crom, cupru, fier, potasiu, magneziu, mangan, sodiu, stronțiu, zinc) și prin aplicarea metodelor statistice adecvate s-a investigat acest aspect. Alegerea mineralelor menționate mai sus, în lipsa unor date concrete în literatura de specialitate, a fost dictată de baza materială avută la dispoziție (aparatură, reactivi) dar și de unele ipoteze avansate de unii autori. Astfel din studiu reiese că borul are efectul cel mai semnificativ asupra fiziologiei tiroidiene acționând sinergic cu TSH-ul pentru toate cele trei grupe de câini identificate, dar antagonic cu triiodtironina și tiroxina. Investigarea concentrațiilor serice ale aluminiiului a permis stabilirea influenței acestui mineral asupra TSH-ului și a hormonilor tiroidieni și o ierarhizare a celor trei grupuri. Nu a putut fi evidențiată o corelație directă între calciu și TSH, tiroxină și triiodtironină dar se reliefează o relație directă între calciu, stronțiu și magneziu pentru toate grupele identificate. Sodiu și potasiu nu exercită influențe directe asupra TSH-ului și hormonilor tiroidieni. Deși unele studii ridică suspiciuni privind implicarea deficitului de cupru

în apariția hipotiroidismului, prezentul studiu nu a putut surprinde o corelație directă între acesta și hormonii tiroidieni.

Datele colectate de prezenta lucrare nu au scos în evidență existența unor relații semnificativ statistice între talia, sexul și vârsta câinilor și valorile serice ale TSH și ale hormonilor tiroidieni, dar rămâne un mare deziderat analiza complexă a multitudinii de factori ce poate interfera activitatea tiroidiană.