

Maša Gergar^{1*}, Ana Mihor^{2*}, Simona Gaberšček³, Helena Lenasi⁴

Ocena pookluzivne reaktivne hiperemije pri bolnikih s hipotirozo

Evaluation of Postocclusive Reactive Hyperemia in Patients with Hypothyroidism

IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: hipotiroza, mikrožilje kože, funkcija endotelija, pookluzivna reaktivna hiperemija, laserska doplerska metoda

IZHODIŠČA. S pojmom hipotiroza označujemo sklop kliničnih, patofizioloških in biokemičnih ugotovitev, ki so posledica nezadostne sinteze ščitničnih hormonov. Hipotiroza poveča tveganje za srčno-žilna obolenja, ki se v predimptomatski fazi lahko izrazijo s spremembami na mikrožilju. Pri bolnikih s hipotirozo smo želeli odkriti morebitne spremembe v delovanju mikrožilja kože, kar lahko nudi vpogled v funkcijo endotelija. Pričakovali smo spremenjeno reaktivnost mikrocirkulacije kože na račun zmanjšane endotelijsko odvisne vazodilatacije. **METODE.** Z uporabo laserske doplerske metode smo ocenjevali pretoke krvi na reprezentativnih mestih (volarna stran podlakti ter blazinica sredinca) pri bolnikih s hipotirozo (N = 13) in pri zdravih (N = 15). Za oceno reaktivnosti smo kot provokacijski test uporabili triminutni zažem leve nadlaktne arterije, s katerim ocenimo pookluzivno reaktivno hiperemijo. Hkrati smo merili tudi temperaturo kože merilnih mest, trikanalni EKG ter s pomočjo *finapress* metode sistolični in diastolični krvni tlak na digitalnih arterijah prstanca desnice. **REZULTATI.** Pretoki, izmerjeni z lasersko doplersko metodo v mirovanju, arterijski tlak na digitalnih arterijah ter frekvenca srca so bili primerljivi med skupinama. Trajanje pookluzivne reaktivne hiperemije na blazini prsta je bilo značilno daljše pri bolnikih ($p < 0,05$), pri ploščini pod krivuljo pookluzivne reaktivne hiperemije pa smo opazili trend povečanja pri bolnikih na obeh merilnih mestih. **ZAKLJUČKI.** Sklepamo, da pri hipotirozi najverjetneje pride do težko zaznavnih funkcionalnih sprememb mikrožilja kože, ki so lahko posledica spremenjene reaktivnosti endotelija. Parametri pookluzivne reaktivne hiperemije pri bolnikih s hipotirozo nakazujejo povečano vazodilatatorno sposobnost v primerjavi z zdravimi, kar ni v skladu z našo hipotezo. Rezultati pa so v skladu s študijami o povečani vazodilatatorni sposobnosti žilja pri visokih vrednostih serumskega tirotropina, neodvisno od ravni ščitničnih hormonov.

^{1*} Maša Gergar, dr. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; masa.gergar@gmail.com

^{2*} Ana Mihor, štud. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

³ Doc. dr. Simona Gaberšček, dr. med., Klinika za nuklearno medicino, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Zaloška cesta 7, 1525 Ljubljana

⁴ Doc. dr. Helena Lenasi, dr. med., Inštitut za fiziologijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana

* Avtorici si delita mesto prvega avtorja.

ABSTRACT

KEY WORDS: hypothyroidism, skin microvascular system, endothelial function, postocclusive reactive hyperemia, laser Doppler flowmetry

BACKGROUND. Hypothyroidism is a condition in which clinical, pathophysiological and biochemical changes are found due to thyroid hormone deficiency. Hypothyroidism is associated with an increased risk of cardiovascular diseases and an impairment of microvascular function before manifest clinical signs. Our research aimed to detect potential changes in skin microvascular function in patients with hypothyroidism which may be indicative of endothelial dysfunction. We hypothesized that hypothyroidism causes alterations in skin microvascular reactivity due to a decrease in vasodilator capacity. **METHODS.** Using laser Doppler flowmetry we measured skin blood flow in two representative measuring sites (volar aspect of the forearm and the finger pulp) in patients with hypothyroidism (N = 13) and healthy controls (N = 15). Skin microvascular reactivity was evaluated by inducing postocclusive reactive hyperemia obtained by a three-minute occlusion of the left brachial artery. Throughout the experiment, we measured skin temperature at the measuring sites. Simultaneously, a three-channel ECG was recorded, as well as systolic and diastolic blood pressure of *aa. digitales* in the fourth finger of the right hand using finapress device. **RESULTS.** Baseline laser Doppler flowmetry, blood pressure of *aa. digitales* and heart rate were comparable between both groups. The duration of postocclusive reactive hyperemia at the finger pulp was significantly ($p < 0.05$) longer in the group of patients. We also noticed a trend toward an increase in area under the postocclusive reactive hyperemia curve in patients. **CONCLUSIONS.** Results suggest that hypothyroidism induces hardly detectable functional changes in skin microcirculation, possibly due to altered endothelial function. Postocclusive reactive hyperemia parameters of patients indicate an increased vasodilator capacity compared to healthy subjects, which is in contrast with our hypothesis. Yet, our results speak in favour of isolated effects of elevated serum thyroid stimulating hormone.

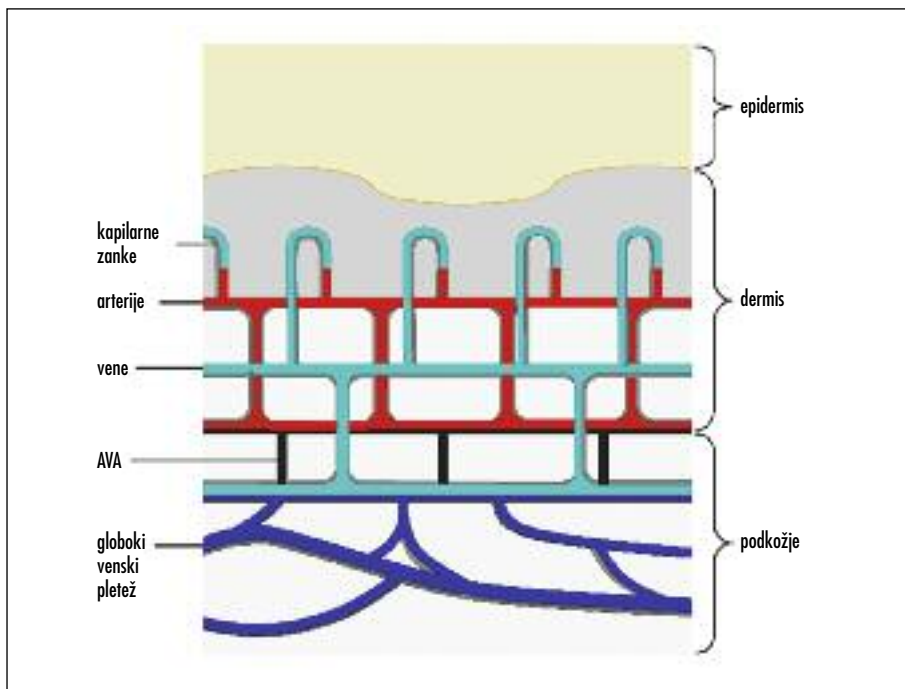
UVOD

Mikrocirkulacija kože je v zadnjih letih postala dostopen in reprezentativen žilni model za raziskovanje fiziološke in patološke mikrocirkulacije (1). Spremembe mikrožilja kože lahko nudijo vpogled v generalizirano stanje mikrožilja, zato so uporabne za preučevanje žilnih mehanizmov pri različnih bolezenskih stanjih, kot so hiperholesterolemija, hipertenzija, periferna žilna bolezen, koronarna žilna bolezen, sladkorna bolezen tipa 2, ledvične bolezni in tudi bolezni ščitnice (2–5). Hkrati pa nam minimalno invazivne metode za oceno odzivnosti mikrožilja kože omogočajo odkrivanje predkliničnih sprememb mikrocirkulacije pri populaciji, ki nosi visoko tveganje za srčno-žilno obolenje (6, 7).

Mikrocirkulacija kože

Mikrocirkulacija predstavlja kompleks žil med arterijskim in venskim sistemom s premerom do 300 μm . To so arteriole, kapilare, venule in prekapilarne zapiralke (sfinktri) (8, 9).

Najpomembnejši funkciji mikrocirkulacije kože sta prehrana kožnega tkiva in uravnavanje telesne temperature (10). Drobno žilje kože delimo glede na funkcijo na dva pretoka: nutritivni, ki omogoča prehranjevanje kože in znaša v mirovanju le 20 % celokupnega pretoka, ter termoregulacijski, ki omogoča izmenjavo toplote med telesom in okolico. Ti dve različni funkciji pogojujeta dve različni strukturi kožnega mikrožilja. Nutritivni pretok sestavljajo nutritivne arterije, kapilare in vene. Termoregulacijski pretok pa sestoji pretežno



Slika 1. Struktura mikrožilja kože na blazinici prsta. AVA – arteriovenske anastomoze.

iz podkožnega venskega pleteža, ki lahko zadrži veliko količino krvi. V nekaterih predelih so v termoregulacijski nadzor vključene tudi arteriovenske anastomoze (AVA), ki neposredno povezujejo arterije z venskimi pleteži (10). AVA so najpomembnejša posebnost mikrocirkulacije kože. Nahajajo se na akralnih predelih kože brez dlak (volarna stran dlani, blazinice prstov, stopala, ustnice, nos, ušesa). To so predeli, ki so največkrat izpostavljeni mrazu. AVA pa so redke na predelih, porasčenih z dlako (npr. hrbtišče roke, volarna stran podlakti), kjer prevladuje nutritivno žilje (11). Zaradi dvojnosti v strukturi mikrožilja je pri oceni mikrocirkulacije kože treba zajeti obe reprezentativni mesti na koži. Na sliki 1 je prikazana struktura mikrožilja kože na blazinici prsta, kjer so prisotne AVA.

Upravljanje pretoka v koži poteka na več ravneh; ker je pretok skozi kožo namenjen predvsem uravljanju telesne temperature, to funkcijo pa nadzoruje simpatični živčni sistem, pri nadzoru pretoka skozi kožo prevladuje živčni refleksni nadzor. Na mikrocirkulacijo pa vplivajo tudi lokalni in humoralni

dejavniki. Pretok skozi kožo je torej uravnavan preko centralnih in lokalnih mehanizmov (12, 13). Pri uravljanju mikrožilja kože preko lokalnih mehanizmov verjetno najpomembnejšo vlogo igra endotelij s sproščanjem vazodilatatorjev in vazokonstriktorjev.

Endotelij in vazodilatacija

Endotelij aktivno prispeva k uravljanju žilnega tonusa z izločanjem vazoaktivnih snovi, sodeluje pri vnetju, angiogenezi, trombozi in uravljanju žilne prepustnosti. Ker je okvara teh funkcij eden najpomembnejših zgodnjih dejavnikov v procesu aterogeneze, je ocena funkcije endotelija pomembna tudi s kliničnega vidika (14).

Endotelij pod vplivom različnih humoralnih in hemodinamskih dražljajev sprošča številne vazoaktivne snovi, ki lokalno uravnavajo žilni tonus. Okrnjenost endotelijske funkcije z neravnotežjem med vazokonstriktornimi in vazodilatatornimi snovmi poruši homeostazo in predstavlja eno najzgodnejših sprememb v patogenezi srčno-žilnih bolezni (15). Med pomembne vazodilatatorje sodi

jo dušikov oksid (NO), prostaciklin (PGI₂) in endotelijski hiperpolarizirajoči dejavnik (angl. *endothelium-derived hyperpolarizing factor*, EDHF). Ker te vazoaktivne snovi delujejo na gladkomišične celice žil in torej vzdržujejo žilni tonus, govorimo o endotelijsko odvisni vazodilataciji.

V endotelijskih celicah nastaja NO s pretvorbo L-arginina v citrulin s pomočjo encima endotelijske sintaze NO (angl. *endothelial nitric oxide synthase*, eNOS). Aktivacijo eNOS in sproščanje NO povzročijo agonisti receptorjev na endotelijski celici, in sicer histamin, acetilholin, adrenalin, noradrenalin, vazopresin, bradikinin, adenozin difosfat, trombin, serotonin in ženski spolni hormoni ter mehaniski dražljaji (strižna sila toka krvi, pulziranje žilne stene) (15). Nedavne raziskave kažejo, da sta funkcija endotelija in posledično žilna reaktivnost pri hipertirozi in hipotirozi spremenjeni (4, 16, 17).

Ščitnični hormoni in hipotiroza

Ščitnica je endokrina žleza, ki preko hormonov trijodtironina (T₃) in tiroksina (T₄) uravnava presnovno aktivnost organizma ter vpliva na rast in razvoj celic in organov (18). Bolezni ščitnice spadajo med najpogostejše endokrine motnje. Vzdrževanje primerne funkcije ščitnice ima zato izjemen biološki, medicinski in socialni pomen (18).

Sproščanje T₃ in T₄ iz ščitnice nadzira os hipotalamus-hipofiza-ščitnica, s čimer se vzdržuje stalna serumska koncentracija prostih ščitničnih hormonov (19). V obliki T₄ je 93 % sproščenega ščitničnega hormona in le 7 % predstavlja T₃, vendar se v tkivih večina T₄ s pomočjo encimov dejodaz dejodira v T₃, ki predstavlja aktivno obliko hormona (19). Pomembna je torej predvsem serumska koncentracija prostega T₃.

Strukturne ali funkcionalne napake v hormonski osi povzročijo pri hipotirozi nezadostno proizvodnjo ščitničnih hormonov. Hipotiroza se pri odraslih izrazi z različnimi kombinacijami simptomov: utrujenost, miksedem, apatičnost, mentalna upočasnenost, zmanjšana toleranca za mraz, povečanje telesne teže, hripavost, zaprtje, bradikardija, redko perikardialni izliv (20). Najdemo tudi nekatere neznačilne znake, kot so povišana serumska koncentracija holesterola in skelet-

nomišične kreatin-kinaze (21). Za hipotirozo je značilna povišana serumska vrednost tirotropina (angl. *thyroid-stimulating hormone*, TSH), medtem ko so vrednosti prostih ščitničnih hormonov v mejah normale ali znižane.

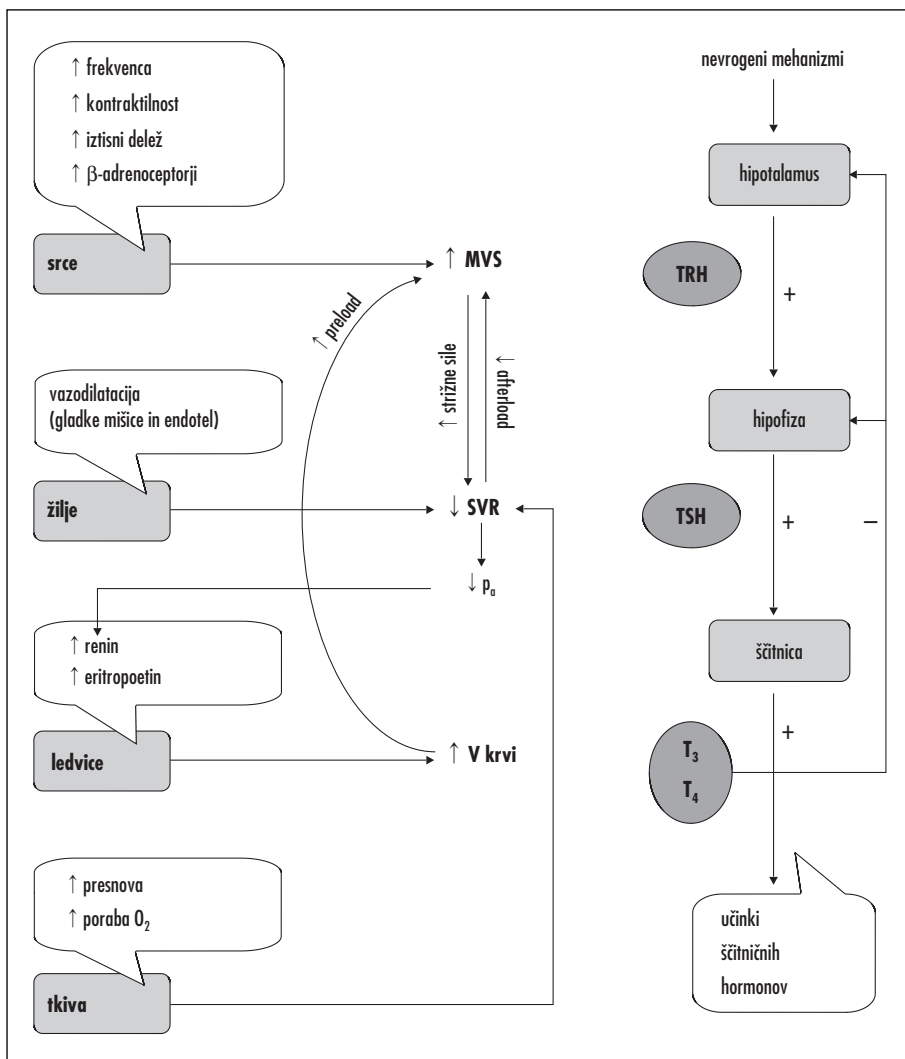
Učinki ščitničnih hormonov na srčno-žilni sistem

Vpliv ščitničnih hormonov na srčno-žilni sistem je posledica genomskih in nengenomskih učinkov T₃ (21). Prikazuje ga slika 2.

Medtem ko je vpliv T₃ na srce dobro raziskan, pa je malo podatkov o vplivu T₃ na žilje, še posebej na mikrocirkulacijo in endotelijsko funkcijo. Nedavne raziskave kažejo pri hipertirozi povečano žilno reaktivnost zaradi povečane endotelijsko odvisne vazodilatacije, pri hipotirozi pa okvaro endotelijske funkcije (4, 16, 17). Pri dolgotrajni hipertirozi ugotavljajo povečano žilno reaktivnost, posredovano z acetilholinom, in povečano bazalno tvorbo NO. Občutljivost gladkih mišic na NO ni spremenjena, torej je vpletena le endotelijska komponenta reaktivnosti (16). Na splošno dokazujejo do sedaj zbrani podatki vlogo T₃ pri nadzoru endotelijske funkcije in žilne homeostaze na dolgi rok, vendar je prav tako nekaj podatkov, ki govorijo o akutnih, neposrednih (nengenomskih) učinkih T₃ na endotelij. Ugotovili so na primer akuten padec žilne upornosti po infuziji T₃ do hipertirotičnega stanja, kar pripisujejo mehanizmu, odvisnemu od endotelija (22). Natančni mehanizmi kroničnega in akutnega delovanja T₃ na endotelij še niso dognani. Endotelij proizvaja tri vazodilatatorje, ki bi lahko bili tarča delovanja T₃: NO, PGI₂ in EDHF (23). Izsledki študij kažejo na večjo vlogo NO v uporovnih žilah ter EDHF v mikrocirkulaciji (24).

Vpliv hipotiroze na srčno-žilni sistem

Pri pomanjkanju T₃ so spremembe srčno-žilnega sistema nasprotne spremembam zaradi povišanega T₃ pri hipertirozi. To pomeni, da se zmanjšajo utripni volumen, krčljivost in frekvenca srca, zato se zmanjša minutni volumen srca, medtem ko se sistemska žilna upornost ter krvni tlak povečata (21, 25). Nekateri ugotavljajo pri bolnikih s hipotirozo pospešen nastanek ateroskleroze, kar pove-



Slika 2. Shema sproščanja in delovanja ščitničnih hormonov na srčno-žilni sistem. TRH – tiroiberin (angl. thyrotropin-releasing hormone), TSH – tirotropin (angl. thyroid-stimulating hormone), T_3 – trijodtironin, T_4 – tiroksin, MVS – minutni volumen srca, SVR – sistemska žilna upornost (angl. systemic vascular resistance), p_a – arterijski tlak, V – volumen.

zujejo z višjimi vrednostmi holesterola in krvnega tlaka, novejša raziskava pa pripisujejo večjo vlogo pri nastanku in razvoju ateroskleroze okvari endotelija zaradi pomanjkanja ščitničnih hormonov (26, 27).

Za našo raziskavo so pomembni vplivi pomanjkanja T_3 na endotelijsko komponento žilne reaktivnosti v kožni mikrocirkulaciji. Mehanizmi še niso povsem pojasnjeni. Prevladuje hipoteza o zmanjšani endotelijski odvi-

sni vazodilataciji pri hipotirozi. Večina ugotovitev temelji na raziskovanju večjih uporovnih žil. Ker je endotelij del žilne stene celotnega srčno-žilnega sistema, verjetno velja podobno tudi za mikrocirkulacijo kože.

NAMEN IN HIPOTEZA

Pri bolnikih s hipotirozo smo želeli odkriti morebitne spremembe v delovanju mikroži-

lja kože. Primerjali smo reaktivnost mikrocirkulacije kože pri bolnikih s hipotirozo in zdravih. Za oceno reaktivnosti mikrožilja smo izbrali zažem brahialne arterije, s katerim ocenjujemo pookluzivno reaktivno hiperemijo (PRH), in s tem lokalno pogojene mehanizme žilne reaktivnosti. Pričakovali smo, da bo pri bolnikih s hipotirozo reaktivnost mikrocirkulacije manjša kot pri zdravih. Nedavni izsledki namreč dokazujejo okvaro endotelija in gladkomišičnih celic pri hipotirozi, kar se lahko kaže s spremenjeno žilno reaktivnostjo. Predpostavljali smo, da bodo imeli bolniki zmanjšano od endotelija odvisno vazodilatacijo, kar lahko posredno ocenimo s pomočjo kazalcev PRH. Želeli smo tudi opredeliti uporabnost naše raziskave kot pomožnega kliničnega orodja za zgodnje odkrivanje hipotiroze.

METODE

Preiskovanci

Vzorec 28 prostovoljcev smo razdelili v dve skupini. Prvo so sestavljali bolniki, ki so imeli novoodkrita hipotirozo različne etiologije. Med njimi je bilo deset žensk in trije moški (srednja starost $44,5 \pm 4,5$ let), od tega dva redna in en občasni kadilec. Dva bolnika sta prejemale redno terapijo (Crestor®, Claritine®), ki ne vpliva pomembno na predmet naše študije, medtem ko je eden že prejemal nadomestno hormonsko terapijo (Euthyrox®), vendar je bil še vedno izrazito hipotirotičen.

Drugo, kontrolno skupino je sestavljalo 11 žensk in 4 moški (srednja starost $33,9 \pm 2,5$ let), med katerimi sta dva prejemale redno terapijo (Sulfasalazin®, Ciprallex®), ki ne vpliva pomembno na naše rezultate. Vsi so bili nekadilci. Raziskavo je odobrila Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko.

Metode za oceno mikrocirkulacije kože in njene reaktivnosti

Z lasersko doplersko (LD) metodo merimo pretoke v kožni mikrocirkulaciji. Poleg bazalnih pretokov nas zanima predvsem odzivnost mikrožilja kože po standardnih provokacijskih testih, saj je primerjava odzivnosti bolj občutljiva ocena okvare mikrožilja kot primerjava bazalnih pretokov. Za prikaz morebitne razlike odzivnosti mikrožilja kože pri zdravih in

bolnikih s hipotirozo smo izbrali zažem arterije. Gre za neinvaziven provokacijski maneuver, s katerim lahko ocenjujemo funkcijo endotelija.

Laserska doplerska metoda za merjenje pretokov v koži

Gre za semikvantitativno metodo merjenja pretoka v koži. Temelji na Dopplerjevem premiku, ki je sprememba valovne dolžine svetlobnega žarka po odboju od gibajočih se tkivnih elementov, zlasti znotrajžilnih eritrocitov (28). LD-merilnik pošlje preko sonde, pritrjene na kožo, šibek laserski žarek določene valovne dolžine približno 1 mm v globino kože (29–31). V tkivu se žarki od gibajočih delcev odbijejo z nespremenjeno valovno dolžino, pri odboju od gibajočih delcev pa pride do Dopplerjevega premika. Delež vrnjenih žarkov, ki kaže Dopplerjev premik, je sorazmeren volumnskemu deležu oz. številu premikajočih se eritrocitov, medtem ko je velikost spremembe valovne dolžine sorazmerna njihovi hitrosti (29–32). Zmnožek števila in hitrosti eritrocitov je sorazmeren pretoku v preiskovanem volumnu tkiva in je izražen v arbitrarnih perfuzijskih enotah (PE).

Uporabili smo LD-merilnik pretokov Periflux 4001 Master/4002 Satellite podjetja Perimed (Järfälla, Švedska). Valovna dolžina je bila 780 nm. LD-sonde smo z obližem pričvrstili na dve reprezentativni mesti kože in jih med meritvami nismo premikali. Zajem podatkov je bil 500/s. Sočasno smo jih shranjevali na osebni računalnik za nadaljnjo analizo. S kožnim termometrom Peritemp PF4005 podjetja Perimed, ki smo ga namestili med kožo in nosilec LD-sonde, smo hkrati s pretokom merili tudi temperaturo kože.

Pookluzivna reaktivna hiperemija

Za oceno žilne reaktivnosti, ki je kazalec funkcije endotelija, uporabimo PRH (7, 33, 34). K tej metodi v večji meri prispevajo lokalni dejavniki, zato je dober pokazatelj stanja perifernega žilja (28). PRH enostavno izzovemo s kratkotrajnim zažemom brahialne arterije, po sprostitvi katerega se v koži pojavi strm dvig pretoka (reaktivna hiperemija), ki nato v drugi fazi pada proti vrednostim pred zažemom (35). Pomen tega pojava je plačilo pre-

snovnega dolga, ki je nastal med zažemom zaradi prekinitve pretoka (36). V grobem lahko pojav pripišemo miogenim in metaboličnim mehanizmom. Pri kratkotrajnem zažemu prevladuje hiter miogeni mehanizem, pri daljši zavori pa prevlada presnovni mehanizem, ki ga pripisujemo vplivu nakopičenih lokalnih presnovkov in mediatorjev (laktat, ogljikov dioksid, vodikov ion) (35). Pri slednjem sodeluje tudi endotelijsko odvisna vazodilatacija (7, 34). Med najpomembnejšimi metaboličnimi mediatorji je NO (30). Pri boleznih, kjer je endotelij poškodovan, je endotelijsko odvisna vazodilatacija okrnjena in so parametri PRH spremenjeni (37).

Za analizo odziva žilja po popustitvi zažema smo določili naslednje parametre:

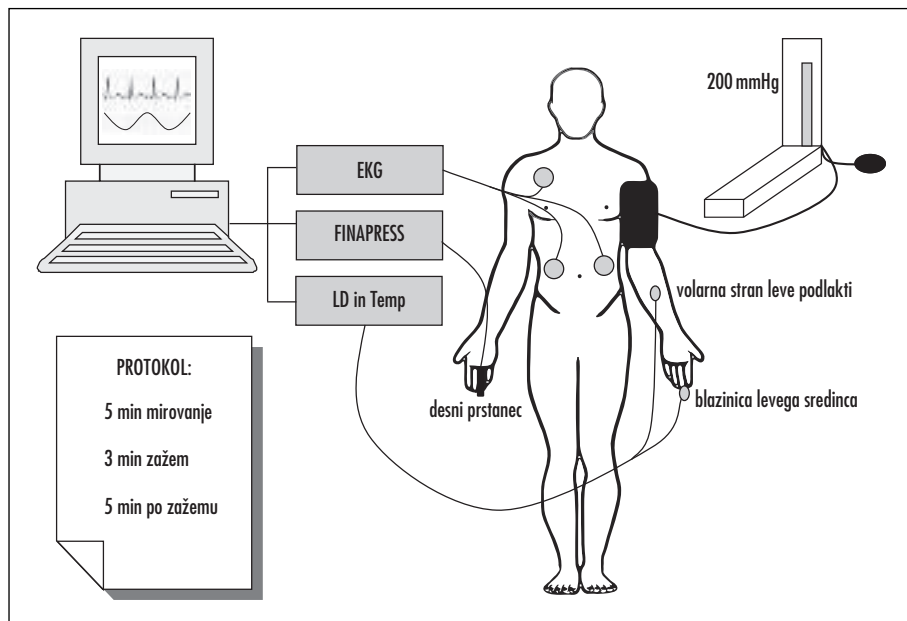
- maksimalni pretok po popustitvi zažema (LD_{max}),
- absolutni prirastek pretoka ($LD_{amplituda}$), ki se izračuna kot razlika med LD_{max} in $LD_{pretokom}$ v mirovanju (LD_{basal}),
- relativni prirastek ($LD_{relativni_prirastek}$), ki se izračuna kot $LD_{amplituda}/LD_{basal}$,
- čas od popustitve zažema do LD_{max} (t_{peak}),
- čas od popustitve zažema do povrnitve bazalnih vrednosti $LD_{pretoka}$ (t_{dur}) in

- ploščina/površina pod krivuljo PRH (angl. *area under the curve*, AUC), ki smo jo izračunali po formuli: $\sum LD_n - (n \cdot LD_{basal})$, kjer n predstavlja število na 0,1 s zajetih vrednosti $LD_{pretoka}$ znotraj t_{dur} .

Protokol meritev

Protokol smo določili glede na podatke, zbrane v preteklih študijah (33, 34, 38). Meritve so potekale na Inštitutu za fiziologijo Medicinske fakultete v Ljubljani v laboratoriju s stalno sobno temperaturo (24–25 °C) med 9. in 13. uro v zimsko-pomladnem obdobju, vsaj 20 minut po aklimatizaciji v ležečem položaju. Preiskovanci so med meritvami mirno ležali in niso govorili. Pred začetkom in po koncu preiskave smo jim izmerili arterijski tlak po Riva-Rocciju. Shematični prikaz protokola meritev je prikazan na sliki 3.

Preiskovancem smo zaželi brahialno arterijo na levi roki. Uporabili smo manšeto za merjenje krvnega tlaka, ki smo jo namestili na levo nadlaket, 3 cm nad komolčno kotanjo. Prvo LD -sondo smo namestili na blazinico sredinca leve roke, kjer prevladuje funkcionalno, z AVA bogato žilje, drugo pa na volarno stran leve podlakti, kjer prevladuje nutritiv-



Slika 3. Shematični prikaz protokola meritev. LD – laserska doplerska metoda, Temp – temperatura.

ni pretok, pri čemer smo pazili, da smo se izognili večjim povrhnjim venam. Hkrati smo na teh mestih merili temperaturo kože. Na prsni koš preiskovancev smo namestili trikanalni EKG. Z aparatom Finapres® BP monitor (Ohmeda 2300, Englewood, Združene države Amerike) smo na digitalnih arterijah prstanca desnice ves čas meritve spremljali sistolični in diastolični krvni tlak ter srčno frekvenco. Preiskavo smo začeli s petminutnim merjenjem LD-pretoka v mirovanju, nato smo za tri minute napihili manšeto do suprasistolične vrednosti 200 mmHg. LD-pretok smo spremljali še pet minut po popustitvi zažema.

Laboratorijske krvne preiskave

Merili smo serumsko koncentracijo TSH, prostega T_4 (pT_4) in prostega T_3 (pT_3). Meritve so potekale v laboratoriju Klinike za nuklearno medicino Univerzitetnega kliničnega centra Ljubljana s testi TSH3-Ultra, fT_4 in fT_3 na analizatorju ADVIA Centaur (Siemens Medical Solutions Diagnostics). Metoda določanja je kemiluminiscenčna, imunometrična in kompetitivna.

Statistična obdelava podatkov

Srednje vrednosti LD-pretoka, sistoličnega in diastoličnega krvnega tlaka, frekvence in temperature kože v mirovanju smo izračunali s pomočjo programske opreme Nevrokard (Medistar, Slovenija) iz povprečja petminutnega posnetka pred zažemom. Parametre PRH smo določili s pomočjo programske opreme Nevrokard (Medistar, Slovenija).

Absolutne in relativne vrednosti smo pri skupinah preiskovancev primerjali s Studentovim neparnim t-testom. Če porazdelitev ni bila normalna, smo uporabili Mann-Whitneyjev test. Za primerjavo podatkov znotraj skupin smo uporabili parni t-test. Vsi podatki so izraženi kot srednje vrednosti $\pm$ standardna napaka (SN).

REZULTATI

Značilnosti preiskovancev

Tabela 1 prikazuje splošne podatke o preiskovancih v obeh skupinah. Med skupinama so bile statistično značilne razlike v starosti ter sistoličnem in diastoličnem tlaku (vsi $p < 0,05$).

V tabeli 2 so navedeni podatki o serumskih vrednostih TSH, pT_3 in pT_4 v obeh sku-

Tabela 1. Splošni podatki o preiskovancih. Podane so srednje vrednosti $\pm$ standardna napaka. p_{sistol} , $p_{diastol}$ – sistolični in diastolični tlak na brahialni arteriji po metodi Riva-Rocci, N – število preiskovancev, SN – standardna napaka.

	Bolniki s hipotirozo (N = 13)	Zdravi (N = 15)
Starost (leta)	44,5 $\pm$ 4,5 ^a	33,9 $\pm$ 2,5
Telesna višina (cm)	166,6 $\pm$ 1,2	170,1 $\pm$ 1,5
Telesna teža (kg)	64,8 $\pm$ 3,0	70,3 $\pm$ 3,2
p_{sistol} (mmHg)	131,7 $\pm$ 4,3 ^a	117,6 $\pm$ 3,1
$p_{diastol}$ (mmHg)	83,2 $\pm$ 2,8 ^a	76,1 $\pm$ 1,7

^a $p < 0,05$

Tabela 2. Podatki o serumski koncentraciji TSH, pT_3 in pT_4 ter njihove referenčne vrednosti. Podane so srednje vrednosti $\pm$ standardna napaka. S-TSH – koncentracija serumskega tirotropina, $S-pT_3$ – koncentracija serumskega trijodotironina, $S-pT_4$ – koncentracija serumskega tetrajodotironina, N – število preiskovancev, SN – standardna napaka.

	Bolniki s hipotirozo (N = 13)	Zdravi (N = 15)	Referenčne vrednosti
S-TSH (mE/L)	39,05 $\pm$ 15,22	1,97 $\pm$ 0,35 ^a	0,35–5,5
$S-pT_3$ (pmol/L)	3,95 $\pm$ 0,20	4,82 $\pm$ 0,11 ^a	3,5–6,5
$S-pT_4$ (pmol/L)	9,22 $\pm$ 0,71	14,21 $\pm$ 0,47 ^a	11,5–22,7

^a $p < 0,001$

Tabela 3. Podatki o vrednostih merjenih parametrov v mirovanju obeh skupin. Podane so srednje vrednosti $\pm$ standardna napaka. LD_{basal} – LD-pretok kože obeh merilnih mest v mirovanju, PE – perfuzijske enote, T_{basal} – temperatura kože obeh merilnih mest v mirovanju, 1. mesto – blazinica prsta levega sredinca, 2. mesto – volarna stran leve podlakti, p_{sistol} , $p_{diastol}$ – sistolični in diastolični tlak na digitalnih arterijah prstanca desnice, N – število preiskovancev.

	Bolniki s hipotirozo (N = 13)		Zdravi (N = 15)	
	1. mesto	2. mesto	1. mesto	2. mesto
LD_{basal} (PE)	237 ± 42	$7,3 \pm 0,7^a$	201 ± 27	$8,1 \pm 1,1^a$
T_{basal} ($^{\circ}C$)	$31,5 \pm 1,1$	$33 \pm 0,2$	$33,2 \pm 0,6$	$32,8 \pm 0,4$
p_{sistol} (mmHg)	$120,7 \pm 7,2$		$113,5 \pm 8,8$	
$p_{diastol}$ (mmHg)	$79,1 \pm 5,9$		$77,5 \pm 4,1$	
Srčna frekvenca (s^{-1})	$67,6 \pm 3,3$		$63,2 \pm 2,1$	

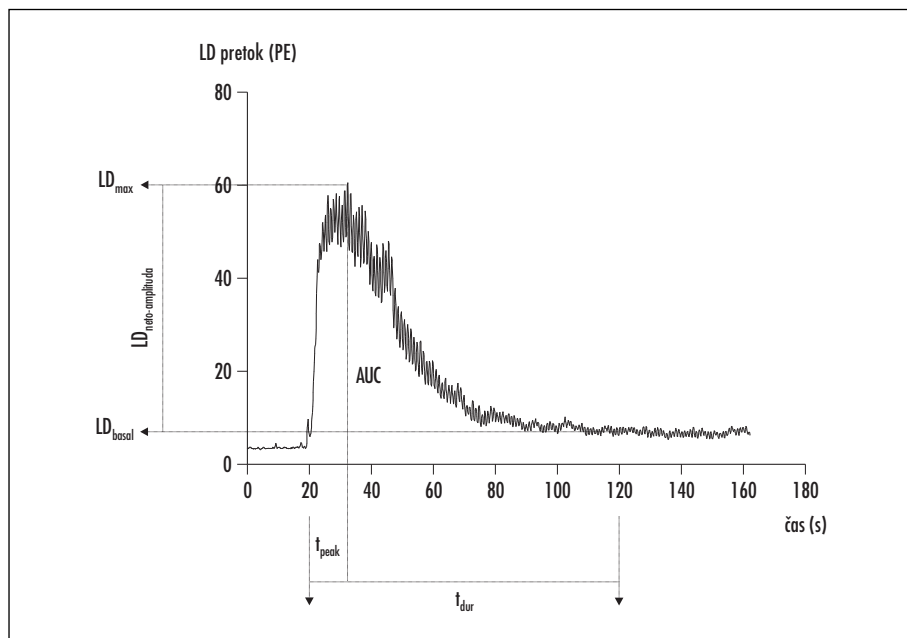
^a $p < 0,0001$ (razlika med 1. in 2. mestom)

pinah ter njihove referenčne vrednosti. Med skupinama so bile statistično značilne razlike v vrednostih serumskega TSH, pT_3 in pT_4 (vsi $p < 0,001$).

Vrednosti v mirovanju

V mirovanju smo ocenjevali LD-pretok in temperaturo kože na obeh merilnih mestih,

sistolični in diastolični tlak na digitalnih arterijah (lat. *aa. digitales*) prstanca desnice in srčno frekvenco (dobljeno z analizo intervala R-R EKG-posnetka). Vrednosti predstavljamo v tabeli 3. Med skupinama ni bilo statistično značilnih razlik. Znotraj skupin pa je bila statistično značilna razlika v LD-pretokih



Slika 4. Nativni posnetek LD-pretoka na volarni strani leve podlakti po popustitvi zažema brahialne arterije pri enem od zdravih preiskovancev. LD_{basal} – LD-pretok v mirovanju pred zažetom, LD_{max} – največji LD-pretok po popustitvi zažema, $LD_{neto-amplituda}$ – prirastek pretoka, t_{peak} – čas od popustitve zažema do LD_{max} , t_{dur} – čas od popustitve zažema do vzpostavitve LD_{basal} , AUC – ploščina pod krivuljo pookluzivne reaktivne hiperemije (angl. area under the curve), PE – perfuzijske enote.

v mirovanju med obema merilnima mestoma ($p < 0,0001$).

Pookluzivna reaktivna hiperemija

Popustitev zažema je povzročila statistično značilen porast LD-pretoka nad bazalnim na obeh merilnih mestih znotraj obeh skupin ($p < 0,0001$). Tipičen potek LD-pretokov ter prikaz parametrov PRH po popustitvi zažema prikazuje slika 4.

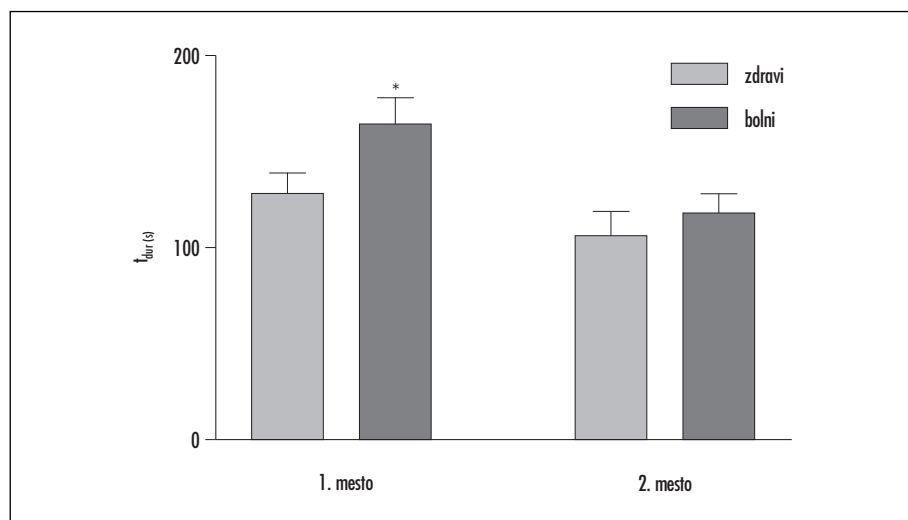
Tabela 4, slika 5 in slika 6 prikazujejo vrednosti parametrov PRH na obeh merilnih mestih pri skupini zdravih in bolnih preiskovancev.

Med skupinama je bila statistično značilna razlika le pri t_{dur} blazinice levega sredinca ($p < 0,05$), pri ostalih parametrih PRH obeh na merilnih mestih pa med skupinama ni bilo statistično značilnih razlik, vendar je bil opazen trend večje AUC pri bolnikih. Prav tako ni bilo statističnih razlik med skupinama in znotraj obeh skupin v vrednostih

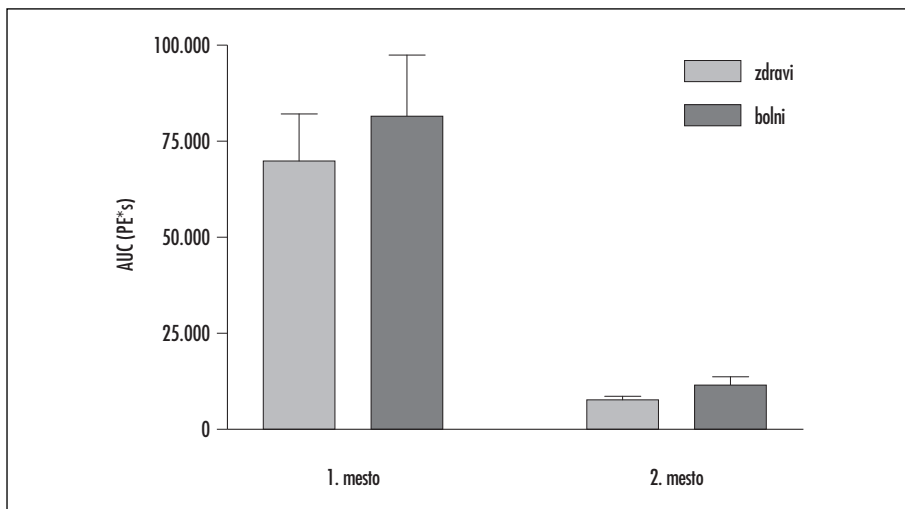
Tabela 4. Vrednosti nekaterih parametrov pookluzivne reaktivne hiperemije 1. in 2. merilnega mesta pri zdravih in bolnih. Podane so srednje vrednosti $\pm$ standardna napaka. 1. mesto – blazinica prsta levega sredinca, 2. mesto – volarna stran leve podlakti, LD_{basal} – LD pretok v mirovanju pred zažetom, LD_{max} – največji LD-pretok po popustitvi zažema, $LD_{relativni_prirastek} = (LD_{max} - LD_{basal}) / LD_{basal}$, $LD_{amplituda}$ – prirastek pretoka, t_{peak} – čas od popustitve zažema do LD_{max} , N – število preiskovancev, PE – perfuzijske enote.

	1. mesto		2. mesto	
	Bolniki s hipotirozo (N = 13)	Zdravi (N = 15)	Bolniki s hipotirozo (N = 13)	Zdravi (N = 15)
LD_{basal} (PE)	237 $\pm$ 42	201 $\pm$ 27	7,3 $\pm$ 0,7	8,1 $\pm$ 1,1
LD_{max} (PE)	357,2 $\pm$ 30,5 ^a	368,3 $\pm$ 26,7 ^a	48,4 $\pm$ 8,4 ^a	46,7 $\pm$ 3,7 ^a
$LD_{amplituda}$ (PE)	134,5 $\pm$ 18,5	165,5 $\pm$ 24,1	41,1 $\pm$ 7,9	38,6 $\pm$ 3,4
$LD_{relativni_prirastek}$ (%)	287,2 $\pm$ 160	145,7 $\pm$ 39	557,8 $\pm$ 70,3	545,8 $\pm$ 50,7
t_{peak} (s)	41,9 $\pm$ 6,3	31,7 $\pm$ 5,3	14,5 $\pm$ 0,6	11,4 $\pm$ 1

^a $p < 0,0001$ (razlika med LD_{basal} in LD_{max} obeh merilnih mest znotraj obeh skupin)



Slika 5. Čas od popustitve zažema leve brahialne arterije do vzpostavitve LD pretoka v mirovanju pred zažetom na 1. in 2. merilnem mestu pri zdravih in bolnih. Podatki so predstavljeni kot srednje vrednosti $\pm$ standardna napaka. 1. mesto – blazinica prsta levega sredinca, 2. mesto – volarna stran leve podlakti, * – $p < 0,05$, t_{dur} – čas od popustitve zažema do vzpostavitve LD_{basal}



Slika 6. Ploščina pod krivuljo pookluzivne reaktivne hiperemije 1. in 2. merilnega mesta pri zdravih in bolnih. Podatki so predstavljeni kot srednje vrednosti $\pm$ standardna napaka. 1. mesto – blazinica prsta levega sredinca, 2. mesto – volarna stran leve podlakti, AUC – ploščina pod krivuljo (angl. area under the curve), PE – perfuzijske enote.

temperature kože, tlaka na digitalnih arterijah in srčne frekvenca pred, med in po zažemu.

RAZPRAVLJANJE

Želeli smo ugotoviti vpliv hipotiroze na reaktivnost mikrožilja kože, zato smo opazovali dve skupini preiskovancev: zdrave osebe in bolnike s hipotirozo. Pričakovali smo spremenjeno odzivnost mikrožilja kože pri bolnikih s hipotirozo. Glede na razlike v statusu ščitničnih hormonov med obema skupinama je bil izbor preiskovancev ustrezen. Pri bolnikih s hipotirozo smo v primerjavi z zdravimi opazili razlike v nekaterih parametrih PRH, ki lahko kažejo na povečano vazodilatatorno sposobnost mikrožilja kože.

Značilnosti preiskovancev in vrednosti v mirovanju

Pri bolnikih s hipotirozo smo ugotovili statistično značilno višje vrednosti krvnega tlaka, izmerjenega po metodi Riva-Rocci na brahialni arteriji na začetku meritev po aklimatizaciji. Hkrati pa smo ves čas meritve s *finapress* aparatom na digitalnih arterijah prstanca desnice spremljali sistolični in diastolični krvni tlak ter srčno frekvenco. S to metodo pa razlike v tlaku med skupinama niso bile sta-

tistično značilne. Tudi pri primerjavi vrednosti srčne frekvenca med skupinama nismo ugotovili statistično značilnih razlik.

Prav tako med skupinama nismo ugotovili statistično značilnih razlik v bazalnih LD-pretokih in temperaturi kože na blazinici prsta roke in volarne strani podlakti. Pri bolnikih s hipotirozo bi pričakovali nižji LD-pretok in temperaturo kože v mirovanju kot pri zdravih. Ščitnični hormoni namreč zmanjšajo gladkomišični tonus prevodnih in uporovnih arteriol ter vzdržujejo bazalno razpoložljivost NO v endotelijskih celicah, kar oboje privede do vazodilatacije in s tem padca sistemske žilne upornosti (angl. *systemic vascular resistance*, SVR) (16, 39). Zato pri pomanjkanju ščitničnih hormonov opazajo porast SVR in nižje bazalne pretoke v koži ter nižjo temperaturo kože (5, 25). Razlog za odstopanje naših rezultatov je lahko velika prostorska variabilnost LD-metode, torej bi lahko minimalne razlike v postavitvi LD-sonde povzročile velike razlike v LD-pretokih. Drugi razlog je lahko, da je bilo v skupini bolnikov več pomenopavzalnih žensk. Pri predmenopavzalnih ženskah so namreč dokazali nižje bazalne pretoke v koži prstov kot pri moških ali pomenopavzalnih ženskah, za kar naj bi bili odgovorni ženski spolni hormoni (40).

Čeprav ni bilo statistično značilnih razlik v bazalnih LD-pretokih, smo pri rezultatih opazili obraten trend od pričakovanega, torej da imajo bolniki s hipotirozo nekoliko večje povprečne vrednosti pretokov v mirovanju. Možno razlago nudijo nedavne raziskave, ki ugotavljajo neposreden vpliv TSH na povečanje endotelijsko odvisne vazodilatacije v uporovnih in prevodnih arterijah. Ta vpliv je neodvisen od ščitničnih hormonov (41, 42). Pri bolnikih po tiroidektomiji so opazili znatno povečano bazalno razpoložljivost NO po dodajanju humanega rekombinantnega TSH (angl. *recombinant human thyroid-stimulating hormone*, rhTSH) (42). Ker je večina naših bolnikov imela povišan serumski TSH, pT_3 pa v spodnjem območju normalnih vrednosti, lahko sklepamo, da bazalni pretoki v mirovanju pri bolnikih kažejo trend povečanja v primerjavi z zdravimi na račun povišanega TSH, hkrati pa se vpliv pomanjkanja ščitničnih hormonov na endotelij ni izrazil, saj ni bil znaten.

Pookluzivna reaktivna hiperemija

Pri bolnikih s hipotirozo smo glede na rezultate nekaterih raziskav pričakovali podaljšanje časa do maksimalnega pretoka pri PRH ter znižanje vrednosti nekaterih (če ne vseh) standardnih parametrov PRH na obeh merilnih mestih, vendar so bile naše ugotovitve nasprotno (17, 43–45). Statistično značilno podaljšan t_{dur} in trend večje AUC v skupini bolnikov lahko kažeta na povečano vazodilatatorno sposobnost mikrožilja pri bolnikih, ki jo lahko delno pripišemo endoteliju. Nakazano večjo vazodilatatorno sposobnost bolnikov s hipotirozo si lahko razložimo s povišanimi serumskimi vrednostmi TSH in serumskimi vrednostmi pT_3 blizu normale. Le en bolnik je imel izrazito znižan serumski pT_3 .

Dokazano je, da imajo endotelijske celice receptorje za TSH (41, 46, 47). Vprašanje je, ali ima vezava TSH na te receptorje v resnici kakšen fiziološki pomen. Pri *in vitro* raziskavah na kulturah človeških endotelijskih celic so ugotovili hiter porast koncentracije NO in padec koncentracije vazokonstriktorja endotelina po izpostavljenosti visokim koncentracijam TSH (48). Poleg tega več *in vitro* ter *in vivo* študij dokazuje, da TSH spodbuja proizvodnjo vnetnih citokinov tumorje nekro-

tizirajočega dejavnika (angl. *tumor necrosis factor alpha*, TNF- α) in interleukina-6 (IL-6), ki povzročita vazodilatacijo, odvisno od endotelija (49, 50). Te ugotovitve nasprotujejo vlogi TSH kot pospeševalca aterogeneze ter mu, nasprotno, pripisujejo vlogo v vzdrževanju žilne homeostaze. Napoli in sodelavci navajajo hiter in dolgotrajen neposreden učinek rhTSH, neodvisen od T_3 , na endotelijsko odvisno vazodilatacijo. Ugotavljajo namreč, da je po intraarterijski infuziji rhTSH žilna reaktivnost na acetilholin večja. Menijo, da vazodilatacija zaradi vpliva TSH ni posledica sistemskih hemodinamskih sprememb, saj so hemodinamski parametri med preiskavo ostali nespremenjeni (46).

Možno je torej, da je v naši raziskavi trend povečane reaktivnosti žilja bolnikov pri PRH posledica neposrednega vpliva TSH na endotelij, saj so imeli naši bolniki pT_3 v spodnjem območju normalnih vrednosti, TSH pa je bil znatno povišan. Tudi mi med provokacijo nismo opazili statističnih razlik v krvnem tlaku, merjenem na digitalnih arterijah, in srčni frekvenci znotraj skupin in med skupinama. Vendar težko primerjamo rezultate naše študije z zgoraj omenjenimi, ker so slednje temeljile na raziskovanju prevodnih in uporovnih arterij z uporabo drugačnih metod, zato ne smemo prehitro sklepati, da podobno velja za mikrožilje kože.

Najverjetneje med skupinama nismo našli statistično značilnih razlik v ostalih parametrih PRH, ker sprememb sploh ni bilo ali pa so bile spremembe v reaktivnosti mikrožilja tako majhne, da jih s funkcijskim testom nismo zaznali. Druga, prav tako verjetna možnost pa je, da je do okvar endotelija vendarle prišlo. Ugotovili so, da se pri boleznih, ki okvarijo endotelij in torej zmanjšajo razpoložljivost NO, v zgodnji fazi okvare kompenzatorno poveča sproščanje ostalih vazodilatatorjev, med katerimi glavno vlogo igra EDHF. To dokazujejo raziskave na živalskih modelih in na ljudeh (51, 52).

Rezultati naše raziskave niso v skladu s številnimi ostalimi. Z metodo pletizmografije za merjenje pretokov v podlakti so pri bolnikih s hipotirozo ugotovili znižano endotelijsko odvisno vazodilatacijo po infuziji acetilholina (43). Z uporabo ultrazvočne tehnike so pri bolnikih s subklinično hipotirozo merili pretok brahialne arterije po predhodnem zaže-

mu le-te in ugotovili zmanjšano odzivnost endotelija (17). Pri ženskah s hipotirozo so z metodo pletizmografije preiskovali odzivnost uporovnih arterij v koži podlakti in ugotovili značilno premosorazmerno povezanost med trajanjem PRH in serumskimi ščitničnimi hormoni (44). Naši rezultati lahko odstopajo od zgoraj navedenih, ker so pri slednjih preiskovali prevodne arterije (lat. *a. brachialis*) ali uporovne arterije, nas pa je zanimala predvsem mikrocirkulacija kože, kjer so regulacija pretoka in metode merjenja pretokov drugačne.

Po drugi strani obstajajo nejasnosti glede vpliva T_3 na vazodilatatorno sposobnost žilja. Pri podganah s hipertirozo so namreč v nasprotju z drugimi raziskovalci ugotovili zmanjšano vazodilatatorno sposobnost aorte (53). Ugotovitev bi bila lahko v prid našim rezultatom, vendar pa jo težko posplošimo na mikrožilje človeka.

Prednosti in slabosti naše raziskave

Koža je lahko dostopen organ ter omogoča oceno mikrožilja z neinvazivnimi metodami (7). Prav tako nam lahko omogoča vpogled v generalizirano stanje mikrožilja (2, 13). Hkrati pa na kožno mikrocirkulacijo vplivajo živčni, humoralni ter lokalni dejavniki, in ni metode, ki bi izolirano ocenjevala prispevek posameznih dejavnikov, kar predstavlja omejitev pri vrednotenju rezultatov (54).

Največja pomanjkljivost naše študije je heterogenost med skupinama glede starosti. Skupina bolnih je bila namreč statistično značilno starejša. Vendar bi v skladu z ugotovitvami o zmanjšani endotelijsko odvisni vazodilataciji pri staranju pričakovali, da bi bile razlike v parametrih PRH med starostno homogenima skupinama bolnih in zdravih še večje.

Slabost naše študije je tudi, da sta bili skupini verjetno heterogeni glede ravni ženskih spolnih hormonov. Nihanju spolnih hormonov, ki je prisotno pri ženskah, bi se lahko izognili, če bi bili vsi preiskovanci moškega spola. Skupino bolnikov s hipotirozo so sicer sestavljale pretežno ženske v pomenopavzalnem obdobju, vendar je bilo v skupini zdravih veliko predmenopavzalnih žensk.

Prednosti in slabosti najdemo tudi v uporabljenih metodah. Glavne prednosti LD-me-

tode so neinvazivnost, preprostost uporabe ter zajem izključno povrhnjega dela kože brez globlje ležečih tkiv. Ima tudi nekaj pomanjkljivosti, saj je zaradi anatomije in fiziologije mikrocirkulacije kože precej prostorsko in časovno variabilna, poleg tega pa ne meri absolutnih vrednosti pretoka (11, 29–32). Pomanjkljivostim se izognemo z uporabo provokacijskih testov, s katerimi merimo relativne spremembe pretoka, kar omogoča primerljivost (7, 29). Pomanjkljivosti PRH so, da z njo težko zaznamo majhne okvare mikrožilja, da je precej variabilna in da je ocena funkcije endotelija le posredna, saj gre na lokalni ravni za kompleksno prepletanje metaboličnih kot tudi miogenih mehanizmov. Kljub temu se metoda pogosto uporablja, saj je neinvazivna in omogoča oceno lokalno pogojenih mehanizmov (7, 28, 30, 33, 34). Nenazadnje moramo poudariti, da bi za večjo zanesljivost rezultatov potrebovali večje število preiskovancev.

ZAKLJUČKI

Želeli smo primerjati reaktivnost mikrožilja kože pri bolnikih z novoodkriti hipotirozo in zdravih prostovoljcih. Reaktivnost smo ocenjevali s standardnim provokacijskim testom (triminutni zažem brahialne arterije), s katerim ocenjujemo predvsem lokalno pogojene mehanizme žilne reaktivnosti.

Bolniki so imeli značilno višje serumske koncentracije TSH kot zdravi in nižje koncentracije pT_3 in pT_4 , vendar so bile vrednosti pT_3 znotraj območja normalnih vrednosti. Omenjene vrednosti lahko opredelimo kot blago hipotirozo.

Med skupinama ni bilo statistično značilnih razlik v bazalnih LD-pretokih, srčni frekvenci ali arterijskem tlaku, izmerjenem na digitalnih arterijah. Nasprotno so imeli bolniki višje vrednosti arterijskega tlaka, izmerjenega na brahialni arteriji ($p < 0,05$).

Dokazali smo statistično značilno podaljšan čas trajanja PRH na blazinici prsta ($p < 0,05$) in nakazano višje vrednosti AUC, kar potrjuje našo hipotezo o spremenjeni lokalno pogojeni reaktivnosti mikrožilja kože pri bolnikih. Vendar omenjene spremembe kažejo na povečano vazodilatatorno sposobnost, kar ni v skladu s predpostavko o endotelijski disfunkciji pri bolnikih. Rezultati pa so v skla-

du s študijami o povečani vazodilatatorni sposobnosti žilja pri visokih vrednostih serumskega TSH, neodvisno od ravni pT_3 in pT_4 .

Sklepamo, da pride pri blagi hipotirozi do minimalnih, težko zaznavnih funkcionalnih

sprememb v mikrožilju kože, ki so lahko posledica spremenjene reaktivnosti endotelija. Dodatne raziskave so potrebne za osvetlitev mehanizmov spremenjene reaktivnosti in uporabo metode v klinične namene.

LITERATURA

1. Abularrage CJ, Sidawy AN, Aidinian G, et al. Evaluation of the microcirculation in vascular disease. *J Vasc Surg*. 2005; 42 (3): 574–81.
2. Holowatz LA, Thompson-Torgerson CS, Kenney WL. The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function. *J Appl Physiol*. 2008; 105 (1): 370–2.
3. Kahn F, Litchfield SJ, Stonebridge PA, et al. Lipid-lowering and skin vascular responses in patients with hypercholesterolaemia and peripheral arterial obstructive disease. *Vasc Med*. 1999; 4 (4): 233–8.
4. Lekakis J, Papamichael C, Alevizaki M, et al. Flow-mediated, endothelium-dependent vasodilation is impaired in subjects with hypothyroidism, borderline hypothyroidism, and high-normal serum thyrotropin (TSH) values. *Thyroid*. 1997; 7 (3): 411–4.
5. Weiss M, Milman B, Rosen B, et al. Quantitation of thyroid hormone effect on skin perfusion by laser Doppler flowmetry. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993; 76 (3): 680–2.
6. Cohuet G, Struijker-Boudier H. Mechanisms of target organ damage caused by hypertension: therapeutic potential. *Pharmacol Therap*. 2006; 111 (1): 81–98.
7. Cracowski JL, Minson CT, Salvat-Melis M, et al. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol Sci*. 2006; 27 (9): 503–8.
8. Poredoš P. Struktura mikrocirkulacije. *Med Razgl*. 1996; 35 Suppl 2: 1–8.
9. Braverman IM. The cutaneous microcirculation: ultrastructure and microanatomical organization. *Microcirculation*. 1997; 4 (3): 329–40.
10. Rowell LB, ed. *Human cardiovascular control*. 1st ed. New York: Oxford University Press; 1993.
11. Gardner-Medwin JM, Taylor JY, Macdonald IA, et al. An investigation into variability in microvascular skin blood flow and the responses to transdermal delivery of acetylcholine at different sites in the forearm and hand. *Br J Clin Pharmacol*. 1997; 43 (4): 391–7.
12. Johnson JM, Kellogg DL Jr. Local thermal control of the human cutaneous circulation. *J Appl Physiol*. 2010; 109 (4): 1229–38.
13. Minson CT. Thermal provocation to evaluate microvascular reactivity in human skin. *J Appl Physiol*. 2010; 109 (4): 1239–46.
14. Adams MR. Clinical assessment of endothelial function. *Endothelium*. 2006; 13 (6): 367–74.
15. Vanhoutte PM, Scott-Burden T. The endothelium in health and disease. *Tex Heart Inst J*. 1994; 21 (1): 62–7.
16. Napoli R, Biondi B, Guardasole V, et al. Impact of hyperthyroidism and its correction on vascular reactivity in humans. *Circulation*. 2001; 104 (25): 3076–80.
17. Cikim AS, Oflaz H, Ozbey N, et al. Evaluation of endothelial function in subclinical hypothyroidism and subclinical hyperthyroidism. *Thyroid*. 2004; 14 (8): 605–9.
18. Yen PM. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiol Rev*. 2001; 81 (3): 1097–142.
19. Guyton AC, Hall JE, eds. *Textbook of medical physiology*. 12th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005.
20. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, et al., eds. *Robbins and Cotran pathologic basis of disease*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005.
21. Klein I, Ojamaa K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. *N Engl J Med*. 2001; 344 (7): 501–9.
22. Napoli R, Guardasole V, Angelini V, et al. Acute effects of triiodothyronine on endothelial function in human subjects. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92 (1): 250–4.
23. Büessemaker E, Popp R, Fisslthaler B, et al. Hyperthyroidism enhances endothelium-dependent relaxation in the rat renal artery. *Cardiovasc Res*. 2003; 59 (1): 181–8.

24. Brandes RP, Schmitz-Winnenthal FH, Félétou M, et al. An endothelium-derived hyperpolarizing factor distinct from NO and prostacyclin is a major endothelium-dependent vasodilator in resistance vessels of wild-type and endothelial NO synthase knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000; 97 (17): 9747–52.
25. Toft AD, Boon NA. Thyroid disease and the heart. *Heart*. 2000; 84 (4): 455–60.
26. Braverman LE, Utiger RD, eds. Werner and Ingbar's *The Thyroid: a fundamental and clinical text*. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2005.
27. Hak AE, Pols HAP, Visser TJ, et al. Subclinical hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: The Rotterdam Study. *Ann Intern Med*. 2000; 132 (4): 270–8.
28. Maver J. Vpliv centralnih in lokalnih dejavnikov na odzivnost drobnega žilja kože pri normotonikih, družinsko obremenjenih s hipertenzijo [doktorsko delo]. Ljubljana: Univerza v Ljubljani; 2001.
29. Agache PG, Dupond AS. Recent advances in non-invasive assessment of human skin blood flow. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)*. 1994; 185: 47–51.
30. Lenasi H. Vpliv redne telesne aktivnosti na vazodilatacijsko odzivnost mikrožilja v koži [magistrsko delo]. Ljubljana: Univerza v Ljubljani; 2001.
31. Finderle Ž. Merjenje pretokov v mikrocirkulaciji z laser-Doplerskimi merilci. *Med Razgl*. 1992; 31 Suppl 1: 23–7.
32. Tenland T, ed. *On laser Doppler flowmetry, methods and microvascular applications*. Linköping: VTT-Gräfska; 1982.
33. Tee GB, Rasool AH, Halim AS, et al. Dependence of human forearm skin postocclusive reactive hyperemia on occlusion time. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2004; 50 (1): 73–8.
34. Yvonne-Tee GB, Rasool AH, Halim AS, et al. Method optimization on the use of postocclusive hyperemia model to assess microvascular function. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2008; 38 (2): 119–33.
35. Berne RM, Levy MN, eds. *Principles of physiology*. 3rd ed. St. Louis: Mosby Inc.; 2000.
36. Starc V. Regulacija mikrocirkulacije. *Med Razgl*. 1992; 31 Suppl 1: 1–15.
37. Gidlöf A, Lewis DH, Hammersen F. The effect of prolonged total ischemia on the ultrastructure of human skeletal muscle capillaries. A morphometric analysis. *Int J Microcirc Clin Exp*. 1988; 7 (1): 67–86.
38. Bornmyr S, Castenfors J, Evander E, et al. Effect of local cold provocation on systolic blood pressure and skin blood flow in the finger. *Clin Physiol*. 2001; 21 (5): 570–5.
39. Vargas F, Moreno JM, Rodríguez-Gómez I, et al. Vascular and renal function in experimental thyroid disorders. *Eur J Endocrinol*. 2006; 154 (2): 197–212.
40. Bollinger A, Schlumpf M. Finger blood flow in healthy subjects of different age and sex and in patients with Raynaud's disease. *Acta Chir Scand Suppl*. 1974; 465: 42–7.
41. Napoli R, Biondi B, Guardasole V, et al. Enhancement of vascular endothelial function by recombinant human thyrotropin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008; 93 (5): 1959–63.
42. Giusti M, Valenti S, Guazzini B, et al. Circulating nitric oxide is modulated by recombinant human TSH administration during monitoring of thyroid cancer remnant. *J Endocrinol Invest*. 2003; 26 (12): 1192–7.
43. Taddei S, Caraccio N, Virdis A, et al. Impaired endothelium dependent vasodilation in subclinical hypothyroidism. Beneficial effect of levothyroxine therapy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88 (8): 3731–7.
44. Dagne AG, Lekakis JP, Protogerou AD, et al. Abnormal endothelial function in female patients with hypothyroidism and borderline thyroid function. *Int J Cardiol*. 2007; 114 (3): 332–8.
45. Pazos-Moura CC, Moura EG, Breitenbach M, et al. Nailfold capillaroscopy in hypothyroidism and hyperthyroidism: blood flow velocity during rest and postocclusive reactive hyperemia. *Angiology*. 1998; 49 (6): 471–6.
46. Napoli R, Apuzzi V, Bosso G, et al. Recombinant human thyrotropin enhances endothelial-mediated vasodilation of conduit arteries. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009; 94 (3): 1012–6.
47. Milgrom E, de Roux N, Ghinea N, et al. Gonadotropin and thyrotropin receptors. *Horm Res*. 1997; 48 Suppl 4: 33–7.
48. Donnini D, Ambesi-Impiombato FS, Curcio F. Thyrotropin stimulates production of procoagulant and vasodilative factors in human aortic endothelial cells. *Thyroid*. 2003; 13 (6): 5117–521.
49. Wang HC, Drago J, Zhou Q, et al. An intrinsic thyrotropin-mediated pathway of TNF- α production by bone marrow cells. *Blood*. 2003; 101 (1): 119–23.
50. Dardano A, Ghiadoni L, Plantiga Y, et al. Recombinant human thyrotropin reduces endothelium-dependent vasodilation in patients monitored for differentiated thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006; 91 (10): 4175–8.
51. Gaubert ML, Siguado-Roussel D, Tartas M, et al. Endothelium-derived hyperpolarizing factor as an in vivo back-up mechanism in the cutaneous microcirculation in old mice. *J Physiol*. 2007; 585 (Pt 2): 617–26.
52. Nishikawa Y, Stepp DW, Chilian WM. Nitric oxide exerts feedback inhibition on EDHF-induced coronary arteriolar dilation in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2000; 279 (2): H459–65.
53. Lockette W, Otsuka Y, Hirt E. The endothelium and cyclic guanosine monophosphate in hyperthyroid-induced hypertension. *Agents Actions Suppl*. 1987; 22: 125–32.
54. Štručl M. Posebnosti kožne mikrocirkulacije. *Med Razgl*. 1996; 35 Suppl 2: 31–8.