

基于孟德尔随机化的甲状腺功能减退症与非酒精性脂肪性肝病的因果分析*

王冬冬^{1,2} 高梦瑶¹ 穆华夏¹ 卜伟晓¹ 王蒙³ 孔雨佳^{1△} 王素珍^{1△}

【摘要】目的 通过两样本孟德尔随机化方法探索甲状腺功能减退和非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 之间的因果关系。**方法** 利用全基因组关联研究数据, 确定与甲状腺功能减退相关遗传变异数据为工具变量 (IV), 使用 MR-Egger 回归、逆方差加权法 (IVW) 和加权中位数法 (WME) 检验甲状腺功能减退和非酒精性脂肪性肝病之间的因果效应, 用 OR 对因果关系进行评价。**结果** 研究共纳入 334 个 SNP 位点作为工具变量, 工具变量不存在异质性和多效性。IVW 估计中, 基于两个数据集分别得到暴露的 OR 值 [OR (95% CI): 21.30 (3.61 ~ 125.50)] 和 [OR (95% CI): 5.79 (1.03 ~ 32.47)], 均表明甲状腺功能减退与 NAFLD 之间存在显著的因果关联 ($P < 0.05$), 且孟德尔随机化结果稳健。**结论** 甲状腺功能减退与 NAFLD 之间存在潜在的因果关系。

【关键词】 甲状腺功能减退 非酒精性脂肪性肝病 孟德尔随机化 因果关系

【中图分类号】 R581 **【文献标识码】** A **DOI** 10.11783/j.issn.1002-3674.2024.03.014

A Causal Analysis of Hypothyroidism and Nonalcoholic Fatty Liver Disease based on Mendelian Randomization

Wang Dongdong, Gao Mengyao, Mu Huaxia, et al (School of public health, Shandong Second Medical University (201053), Weifang)

【Abstract】Objectives To explore the causal relationship between hypothyroidism and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) by two-sample Mendelian randomization. **Methods** Genome-wide association study (GWAS) data was used to identify genetic variation data associated with hypothyroidism as instrumental variables (IVs). MR-Egger regression, inverse variance weighting method (IVW) and weighted median method (WME) were used to examine the causal effects between hypothyroidism and NAFLD. The causal association was evaluated with OR. **Results** A total of 334 SNP loci were included as IV, and there was no heterogeneity and pleiotropy in the IVs. Based on IVW estimation method, the OR with 95% CI of two different sets were 21.30 (95% CI: 3.61 ~ 125.50) and 5.79 (95% CI: 1.03 ~ 32.47), which both indicated a significant causal association between the hypothyroidism and NAFLD ($P < 0.05$). What's more, the results of Mendelian randomization were robust. **Conclusion** Hypothyroidism is potentially associated with NAFLD.

【Key words】 Hypothyroidism; Nonalcoholic fatty liver disease; Mendelian randomization; Causality

非酒精性脂肪性肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 是肝细胞癌最突出的原因之一, 全球患病率从 1990 年的 8.2% 急剧上升到 2021 年的 25%^[1-2]。NAFLD 是在没有饮酒、病毒、服用药物、自身免疫和遗传病情的情况下, 肝脏活检标本中存在超过 5% 脂肪变性肝细胞^[3] 的疾病总称。从脂肪变性到非酒精性脂肪性肝炎、晚期纤维化和肝硬化, 甚至可发展为预后更加复杂的肝细胞癌, 严重影响患者的生活质量, 降低人群期望寿命, 增加公共卫生负担。已有研究报道, NAFLD 与代谢综合征的决定因素 (如肥胖等^[4])、内分泌疾病 (如多囊卵巢综合征等^[5]) 以及多种肝外合并症 (如心血管疾病等^[6]) 有关。

甲状腺激素 (thyroid hormones, TH) 是人体脂肪

和胆固醇代谢的主要驱动因素, 其功能减退可能与 NAFLD 相关。尽管目前尚未达成共识, 但由甲状腺功能减退 (简称甲减) 诱导的 NAFLD 已被认为是一种独立的疾病实体^[7]。在过去 20 年进行了大量甲减与 NAFLD 之间因果关系的研究。有研究发现甲减患者有更高的 NAFLD 患病率, 且与严重程度呈正相关^[8-18], 亚临床或明显的甲减与肝纤维化风险增加存在相关关系^[19]。Guo 等人发现 NAFLD 患者具有较高的甲状腺激素水平^[17], Mantovani 等人的研究认为原发性甲状腺功能减退症患者发生 NAFLD 的风险比普通人高出 2.7 倍^[20]。有证据表明 TH 紊乱与 NAFLD 发展之间存在显著关联, 尤其在患者合并肥胖症的情况下^[21]。然而, 也有研究者认为甲减和 NAFLD 之间不存在因果联系^[22-27]。不同的结论可能是由研究设计、研究对象、环境因素、疾病诊断方法等差异造成。

基于既往研究, 目前尚无明确证据表明甲减和 NAFLD 间存在因果关系, 有必要进一步识别因果关系是否存在, 为诊断和预后提供科学依据。随机对照试验 (randomized controlled trial, RCT) 作为因果推断研究中证据等级最高的研究方法, 条件要求苛刻, 实施难

* 基金项目: 国家自然科学基金项目 (82003560); 山东省自然科学基金项目 (ZR2020MH340; ZR 2023MH313); 山东省本科教学改革研究项目 (M2021174; M2021327)

1. 山东第二医科大学公共卫生学院 (261053)

2. 中国医科大学公共卫生学院

3. 山东第二医科大学附属医院肝胆外科

△通信作者: 孔雨佳, E-mail: yujia_kyj80@163.com; 王素珍, E-mail: wangsz@wfmc.edu.cn

度较大,而且基于医学伦理学的考虑,更适用于干预性研究而非病因探索研究。Katan 提出的孟德尔随机化 (Mendelian randomisation, MR) 方法^[28]通过将基因型作为工具变量 (instrumental variable, IV) 可以在观察性研究中进行因果推断来估计暴露对于疾病结局的影响。因此,本研究采用两样本 MR 方法,以遗传变异作为 IV 分析甲减与 NAFLD 间潜在的因果关系并估计其效应大小。

研究设计及方法

1. 研究设计

本研究采用两样本 MR 估计甲减与 NAFLD 的因果关系。首先,基于利用一个样本的全基因组关联研究 (genome-wide association studies, GWAS) 结果筛选与甲减相关的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 位点作为 IV; 然后,通过另一个样本的 GWAS 结果确定与 NAFLD 相关的遗传变异; 最后,使用两样本 MR 的方法检验甲减和 NAFLD 间的因果关系并估计其效应值。

孟德尔随机化研究是利用影响暴露因素的遗传变异数据来估计暴露因素与结局指标之间因果关系的分析方法^[29], 需要满足三个假设 (图 1): ①关联性假设: 遗传变异必需与暴露因素强相关; ②独立性假设: 遗传变异不能与任何可能的混杂因素相关; ③排他性假设: 遗传变异仅能通过暴露因素影响结果。

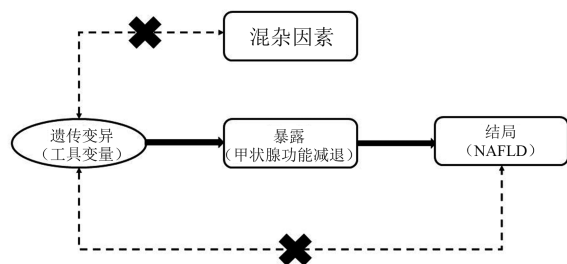


图 1 孟德尔随机化工具变量的有向无环图

依赖于孟德尔遗传定律,等位基因在分离过程中是随机分配的,每个人在 SNP 基因座位获得等位基因的时间必然发生在任何混杂因素发生之前,符合因果关系的时间顺序,且不会受到环境、生活方式、社会经济地位等因素的影响。因此,基于 IV 的分析可以排除反向因果关系的影响。

由于不同种族具有不同的遗传变异频率,会导致遗传背景不同的研究人群存在虚假的基因型与疾病的关联。因此,本研究的数据集均来自欧洲人口,能够规避直接的人群分层带来的估计结果的偏倚。

2. 数据来源

本研究的孟德尔随机化分析数据来自全基因组关联分析,作为一种群体水平的统计学分析,通过对人类的遗传变异位点在全基因组的范围内进行检测以获得基因型,找出存在的序列变异 SNP 作为分子遗传标记,根据观察到的疾病表现和统计量 P 值筛选出与疾病有关的 SNPs。

从综合流行病学部门 (integrative epidemiology unit, IEU) GWAS 数据库 (gwas.mrcieu.ac.uk) 中获得了两份来自欧洲人口的与暴露相关的 SNPs 数据, ID 分别为 ukb-a-77 和 ukb-b-19732。尼尔实验室 (Neale Lab) 开发的 ukb-a-77 数据集中包含 16376 个病例样本、320783 个对照样本和 10894596 个 SNP 信息; 布里斯托大学 MRC IEU 开发的 ukb-b-19732 中包含 22687 个病例样本、440246 个对照样本和 9851867 个 SNP 信息。NAFLD 的数据集来自欧洲人口^[30], ID 为 finn-b-NAFLD, 其中包含 894 个 NAFLD 病例样本, 217898 个匹配对照样本和 16380466 个 SNP 信息 (表 1)。

使用 R 语言的 TwoSampleMR 包提取数据集的 SNP 信息,为了提取出与甲状腺功能减退相关的遗传变异,以 $P < 5E-08$ 为标准选择具有统计学显著性的基因。

表 1 数据集来源与特征

数据集 ID	病种	时间	数据来源	病例组	对照组	nSNPs
ukb-a-77	甲减	2017 年	Neale Lab	16376	320783	10894596
ukb-b-19732	甲减	2018 年	MRC-IEU	440246	462933	9.851867
finn-b-NAFLD	NAFLD	2021 年	NA	894	217898	16380466

3. 数据整理

当原本位于不同基因座位上的两个或两个以上的等位基因同时出现的几率高于人群中因随机分布等位基因同时出现的频率时就称为是连锁不平衡 (linkage disequilibrium, LD)^[31]。为了满足 MR 假设,需要去除可能存在 LD 的 IV。具有潜在 LD 的等位基因通常倾向于一起遗传,这就破坏了遗传变异的随机性,使结

果易受混杂因素的干扰。

连锁不平衡主要使用两个参数 r^2 和 l 来衡量: r^2 衡量两个 SNP 之间连锁的平衡性水平,数值介于 0~1 之间。 $r^2 = 1$ 表示两个 SNP 间是完全的连锁不平衡关系; $r^2 = 0$ 表示两个 SNP 间是完全连锁平衡。 l 指考虑连锁不平衡的区域长度。遗传学上认为在染色体上距离很近的遗传位点通常“捆绑”在一起遗传

给后代,导致 l 较小也就是距离很近的位点之间的 r^2 会很大。为了兼顾减少混杂与多效性和提供足够的统计效力,参数设置为 $r^2 = 0.05$, $l = 5000\text{kb}$ 。此时,具有潜在 LD 的 IV 被去除,仅保留物理距离较长(超过 5000 kb)和 LD 可能性较小($r^2 < 0.05$)的部分。

4. 统计学处理

(1) 两样本孟德尔随机化方法

孟德尔随机化研究的因果效应计算方法有逆方差加权法(inverse variance weighted, IVW), MR-Egger 回归和加权中位数法(weighted median estimator, WME)。在没有异质性和多效性的情况下,优先使用 IVW 估计;只有异质性,没有多效性时,优先使用 WME 估计,也可以使用 IVW 的随机效应模型;有多效性时,优先使用 MR-Egger 估计。

① 逆方差加权法

IVW 由 Burgess 等人提出^[32], 当有 n 个工具变量时,用 k 编码工具变量, $k = 1, 2, \dots, n$, 暴露因素为 X , 结局为 Y , 则每个工具变量 k 计算得到的暴露因素与结局变量的因果效应值为 $\theta_k = Y_k/X_k$, 相应的标准误为 $\sigma_k = \sigma_{Yk}/X_k$ 。

X_k 表示的是在遗传变异与暴露因素 X 的 GWAS 分析中 k 这个位点对应的效应值; Y_k 表示的是在遗传变异与结局变量 Y 的 GWAS 分析中, k 这个位点对应的效应值。

$$Y_k = \alpha_k + \theta X_k \quad (1)$$

其中, α_k 为工具变量 k 对结局 Y 的直接影响, 当 $\alpha_k \neq 0$ 时, IV 具有多效性; θ 表示暴露因素 X 对结局 Y 的影响, θX_k 为工具变量 k 通过暴露因素 X 对结局 Y 的间接影响。

对于所有工具变量总的因果效应值, 通过 meta 分析中的固定效应模型来评估

$$\hat{\beta}_{IVW} = \frac{\sum_k X_k Y_k \sigma_{Yk}^{-2}}{\sum_k X_k^2 \sigma_{Yk}^{-2}} \quad (2)$$

标准误

$$se(\hat{\beta}_{IVW}) = \sqrt{\frac{1}{\sum_k X_k^2 \sigma_{Yk}^{-2}}} \quad (3)$$

IVW 法通过加权线性回归来进行求解, 强制线性回归的截距项为 0, 回归直线过原点。IVW 法假设各个遗传变异是相互独立的。此法的特点是回归时不考虑截距项的存在, 并且用结局方差的倒数作为权重来进行拟合。

② MR-Egger 法和加权中位数法

当研究变量间存在多效性, IVW 对于因果效应的估计就存在偏差, 基于 IVW 方法改进引入 Egger 回归的方法, 不再强制线性回归的截距项为 0, 而是用截距项来表示 IV 的平均多效性^[33]。

WME 采用 Wald ratio 估计方法算出单个 SNP 的 MR 估计值 θ_k , 把这些个估计值由小到大进行排序, 取中位数; 然后根据每个 SNP 的 X_k 和 $se(Y_k)$ 来计算权重; 最后对 Wald ratio 估计出来的中位数进行加权计算。

(2) 敏感性分析

在 MR 分析中, 由于采用了多个 SNP 作为 IV 可能带来由于遗传多效性导致的估计结果的偏倚, 需要通过敏感性分析评估结果是否稳健, 研究中是否存在偏倚(如基因多效性偏倚, IV 的异质性偏倚等), 以及是否存在严重影响结局的 IV。敏感性分析主要从三方面进行检验:

① 异质性检验(heterogeneity test): 使用 *mr_heterogeneity* 函数, 主要检验 IV 间的差异, 如果不同 IV 间差异大, 那么这些 IV 的异质性就大。常用的异质性指标有 Cochran's Q 统计量和 I^2 统计量。 Q 统计量在自由度较大时具有较高的统计效能, 故本研究选择 Q 统计量作为异质性检验的效应值。

② 多效性检验(pleiotropy test): 使用 *mr_pleiotropy_test* 函数, 主要检验多个 IV 是否存在水平多效性(horizontal pleiotropy), 也就是 IV 可以不通过暴露因素而对结果的直接影响。根据 MR 分析的排他性假设, 遗传变异仅通过暴露因素影响结果, 因此使用 MR 进行因果关系推断时必须满足 IV 不存在水平多效性。多效性检验的效应量常用 MR Egger 法的截距项 θ_{0E} 表示。若截距项和 0 非常接近, 认为不存在水平多效性, 那么 MR-Egger 回归模型就和 IVW 非常接近; 否则认为存在水平多效性, 此时往往会导致 MR 研究的假阳性率大大升高。

③ 逐个剔除检验(leave-one-out sensitivity test): 使用 *mr_leaveoneout* 函数, 逐个剔除 IV 后计算剩下 IV 的 MR 分析和总结果是否存在差异。较大的差异说明 MR 结果对该 IV 敏感, 即该 IV 会影响结果的稳健性。

统计描述和分析均采用 R (version 4.1.3) 软件进行, 取双侧检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

结 果

1. 孟德尔随机化结果

设置最小等位基因频率 $MAF = 0.01$, 等位基因对齐后, 剔除掉双链 DNA 中结构相同、方向相反的序列, 即存在回文结构的 SNP, 包括 ukb-b-19732 中的 rs174599, rs2921053, rs3131007, rs3763364, rs5750401, rs7754251 和 ukb-a-77 中的 rs2844503, rs2921053, rs3763364, 最终有 334 个 SNP 作为 IV 分析甲减与 NAFLD 的因果关联。因果效应结果如表 2 所示。

表 2 MR 因果分析效应

暴露集 ID	方法	nSNP	β	SE	P	OR(95%CI)
ukb-a-77	MR-Egger	152	5.77	1.93	0.003	321.04(7.36~14002.86)
	IVW	152	3.06	0.90	0.001	21.30(3.61~125.50)
	WME	152	3.51	1.47	0.017	33.34(1.87~594.78)
ukb-b-19732	MR-Egger	216	3.88	1.93	0.045	48.45(1.11~2114.70)
	IVW	216	1.76	0.88	0.046	5.79(1.03~32.47)
	WME	216	2.82	1.49	0.059	16.82(0.90~313.32)

在 ukb-a-77 集中,IVW、MR-Egger 回归和 WME 计算出来的结果一致, P 均小于 0.05,结果均具有统计学意义;而在 ukb-b-19732 集中,IVW 和 MR-Egger 回归计算的结果具有统计学意义,而 WME 计算结果不显著,但效应值 β 均为正值。OR 置信区间过大,因此在之后的异质性检验中选择随机效应模型验证 MR 效应。OR 的 95%CI 大于 1,且效应值为正,说明甲减与 NAFLD 间存在因果关系,且甲减会增加其患病风险。

2. 敏感性检验结果

(1) 异质性检验

异质性检验结果显示两个暴露集的 P 值均大于 0.05,IV 间不存在异质性(表 3)。

表 3 异质性检验

暴露集 ID	方法	Q	df	P
ukb-a-77	MR-Egger	122.83	150	0.95
	IVW	125.38	151	0.94
ukb-b-19732	MR-Egger	209.51	214	0.57
	IVW	211.04	215	0.56

因果效应值 OR 区间较大,使用随机效应模型来估计 MR 效应量(表 4)。甲状腺功能减退和 NAFLD 之间确实存在因果关系($P < 0.05$),且甲状腺功能减退会增加 NAFLD 发病风险($\beta > 0$)。

表 4 敏感性检验

暴露集 ID	方法	nSNP	β	SE	P
ukb-a-77	IVW	152	3.06	0.82	<0.01
ukb-b-19732	IVW	216	1.76	0.87	0.04

(2) 多效性检验

多效性检验结果(表 5)中 MR-Egger 的截距项和 0 没有统计学差异($P > 0.05$),可以认为没有水平多效性的存在。

表 5 多效性检验

暴露集 ID	结局	截距项	SE	P
ukb-a-77	NAFLD	-0.02	0.01	0.11
ukb-b-19732	NAFLD	-0.01	0.01	0.22

(3) 逐个剔除检验

逐个剔除检验结果如图 2 所示,去掉任意 SNP 后,效应值均在 0 的右侧,说明无论去除哪个 SNP 都不会对结果产生根本影响,意味着 MR 结果是稳健的。

讨论

本研究使用两样本 MR 来评估甲状腺功能减退与 NAFLD 之间的因果关联。通过敏感性分析,确定了 IV 之间不存在异质性和水平多效性,优先使用 IVW 的估计结果,高 OR 值($P < 0.05$)为我们的研究结论提供了强有力的证据来表明甲状腺功能减退与 NAFLD 之间存在因果关系。由此推测甲状腺功能减退可能通过某种代谢途径诱发 NAFLD。尽管相关发病机制尚不明确,但是仍可以为预防 NAFLD 提供新思路,也可以为开展证据等级更高的 RCT 提供证据支持。

与酒精性脂肪肝不同,NAFLD 常由糖脂代谢紊乱引起^[34]。甲状腺功能减退患者的甲状腺激素分泌不足,且通常与脂肪组织中胰岛素的分泌和肾上腺刺激脂肪分解有关。如果血清中的 TH 水平略微降低,胰岛素分泌就会受损,导致脂肪分解受到抑制,从脂肪组织运输到肝脏的 FFA 增加,从而诱发 NAFLD^[35]。有趣的是,Ferrandino 等人的研究结果表明,当甲状腺激素水平轻度降低时会发生 NAFLD,但极低的激素水平反而会抑制 NAFLD 的发展^[36]。虽然甲状腺功能减退引起 NAFLD 的发病机制很复杂,涉及肝内和肝外生化过程,但我们仍然可以通过避免高糖和高脂饮食,合理安排膳食营养以及多运动来预防 NAFLD 的发生。

本研究中也存在一些局限性,首先,我们所使用的基因数据均来自欧洲人口,在遗传变异方面可能与其他种族人口存在很大差异,因此研究结果推论到全部人口需谨慎;其次,我们所使用的孟德尔随机化研究方法依赖于 3 个假设,其中任一假设不成立时都会影响因果效应的准确估计,在剔除工具变量时,我们没有使用 Egger 回归模型中的 F 统计量来对工具变量与暴露变量的关联强度进行评估。如果存在弱工具变量,即工具变量与暴露变量之间不存在强相关关系,不满足关联性假设,那么就会低估暴露因素和结果之间的关联强度^[37],放大违背独立性假设和排他性假设时所产生的偏倚,还会降低检验效能。最后,由于生物学的复杂性,甲状腺功能减退引起 NAFLD 的可能生物学机制尚不明确,甲状腺和肝脏疾病通过多种途径相互影响,这也为两样本孟德尔随机化研究的因果推断带来一定的挑战性。

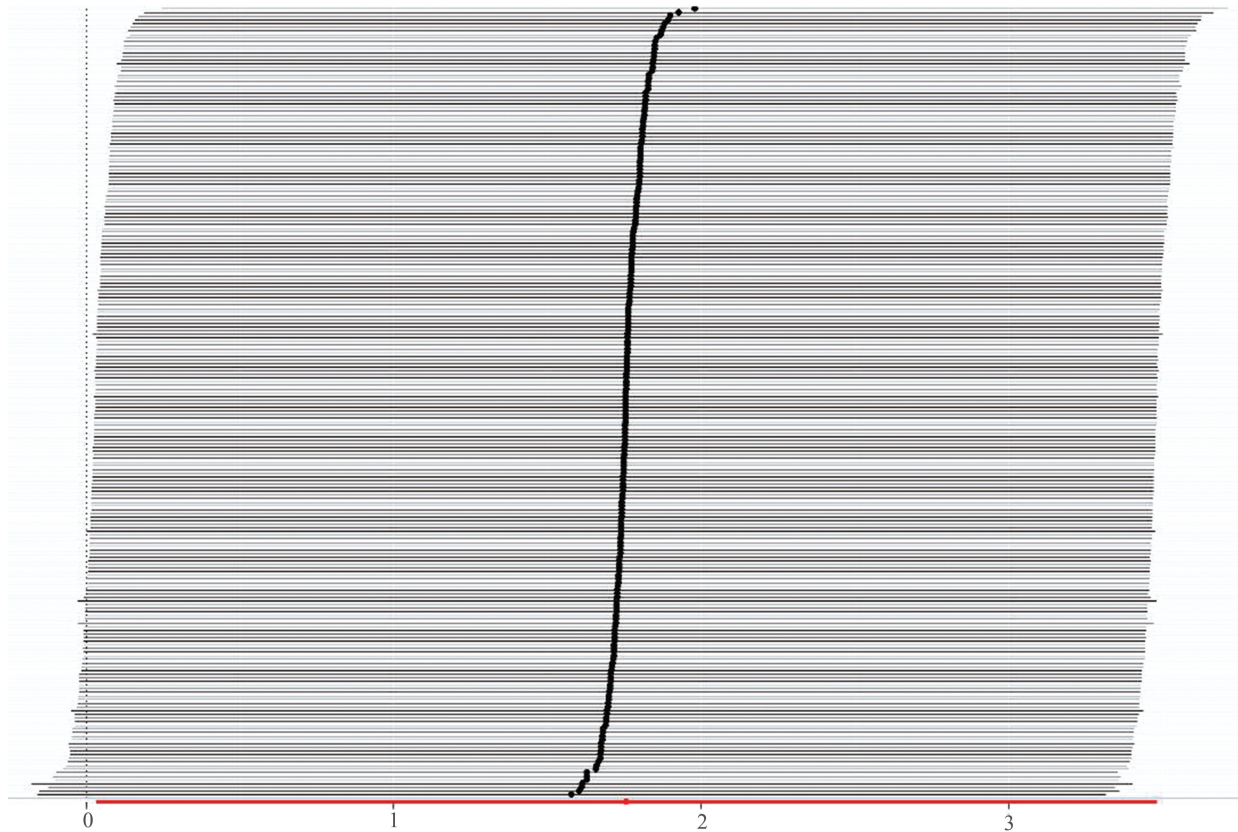


图 2 逐个剔除检验

相较于 Qiu S 等^[38] 进行的相似研究,我们的数据来自更新 NAFLD 的数据集;与此同时,我们还获取了除 MRC-IEU 甲减数据集外的 Neale Lab 的甲减数据集。

总之,本研究采用两样本孟德尔随机化方法对甲状腺功能减退和非酒精性脂肪肝病进行因果关系的分析,认为甲减的出现会增加非酒精脂肪肝病的发病风险,可以通过合理膳食和适当运动来避免甲减的出现,从而控制和降低 NAFLD 的发病。

参 考 文 献

[1] Ge X, Zheng L, Wang M, et al. Prevalence trends in non-alcoholic fatty liver disease at the global, regional and national levels, 1990-2017: a population-based observational study. *BMJ Open*, 2020, 10 (8): e036663.

[2] Powell EE, Wong VW, Rinella M. Non-alcoholic fatty liver disease. *Lancet*, 2021, 397(10290): 2212-2224.

[3] Puri P, Sanyal AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: Definitions, risk factors, and workup. *Clinical Liver Disease*, 2012, 1(4): 99-103.

[4] Lonardo A, Bellentani S, Argo CK, et al. Epidemiological modifiers of non-alcoholic fatty liver disease: Focus on high-risk groups. *Dig Liver Dis*, 2015, 47(12): 997-1006.

[5] Lonardo A, Mantovani A, Lugari S, et al. NAFLD in Some Common Endocrine Diseases: Prevalence, Pathophysiology, and Principles of Diagnosis and Management. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(11): 2841.

[6] Glass LM, Hunt CM, Fuchs M, et al. Comorbidities and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The Chicken, the Egg, or Both. *Fed Pract*, 2019, 36(2): 64-71.

[7] Lonardo A, Ballestri S, Mantovani A, et al. Pathogenesis of hypothyroidism-induced NAFLD: Evidence for a distinct disease entity? *Dig Liver Dis*, 2019, 51(4): 462-470.

[8] Liangpunsakul S, Chalasani N. Is hypothyroidism a risk factor for non-alcoholic steatohepatitis? *J Clin Gastroenterol*, 2003, 37(4): 340-343.

[9] Silveira MG, Mendes FD, Diehl NN, et al. Thyroid dysfunction in primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis and non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int*, 2009, 29(7): 1094-1100.

[10] Chung GE, Kim D, Kim W, et al. Non-alcoholic fatty liver disease across the spectrum of hypothyroidism. *J Hepatol*, 2012, 57(1): 150-156.

[11] Pagadala MR, Zein CO, Dasarathy S, et al. Prevalence of hypothyroidism in nonalcoholic fatty liver disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 2012, 57: 528-534.

[12] Tao Y, Gu H, Wu J, et al. Thyroid function is associated with non-alcoholic fatty liver disease in euthyroid subjects. *Dig Dis Sci*, 2012, 57(2): 528-534.

[13] Feisa SV, Chopei IV. Subclinical hypothyroidism in patients with non-alcoholic fatty liver disease at the background of carbohydrate metabolism disorders. *Wiad Lek*, 2018, 71(2 pt 1): 261-264.

[14] Parikh P, Phadke A, Sawant P. Prevalence of hypothyroidism in nonalcoholic fatty liver disease in patients attending a tertiary hospital in western India. *Indian J Gastroenterol*, 2015, 34(2): 169-173.

[15] Mohanty R, Samarendra ND, Aujjwalya KJ, et al. Prevalence of non-alcoholic fatty liver disease in hypothyroidism in a tertiary care

- hospital in eastern India. *J. Evol. Med. Dent. Sci*, 2017, 6(79): 5589-5593.
- [16] He W, An X, Li L, et al. Relationship between Hypothyroidism and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-analysis. *Front Endocrinol(Lausanne)*, 2017, 8: 335.
- [17] Guo Z, Li M, Han B, et al. Association of non-alcoholic fatty liver disease with thyroid function: A systematic review and meta-analysis. *Dig Liver Dis*, 2018, 50(11): 1153-1162.
- [18] Bril F, Kadiyala S, Cusi K. Re: " Association Between Primary Hypothyroidism and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis" by Mantovani et al. (*Thyroid* 2018;28: 1270-1284). *Thyroid*, 2019, 29(3): 452.
- [19] Kim D, Kim W, Joo SK, et al. Subclinical Hypothyroidism and Low-Normal Thyroid Function Are Associated With Nonalcoholic Steatohepatitis and Fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 2018, 16(1): 123-131.
- [20] Mantovani A, Nascimbeni F, Lonardo A, et al. Association Between Primary Hypothyroidism and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Thyroid*, 2018, 28(10): 1270-1284.
- [21] Zhang J, Sun H, Chen L, et al. Relationship between serum TSH level with obesity and NAFLD in euthyroid subjects. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2012, 32(1): 47-52.
- [22] Ittermann T, Haring R, Wallaschofski H, et al. Inverse association between serum free thyroxine levels and hepatic steatosis: results from the Study of Health in Pomerania. *Thyroid*, 2012, 22(6): 568-574.
- [23] Eshraghian A, Dabbaghmanesh MH, Eshraghian H, et al. Nonalcoholic fatty liver disease in a cluster of Iranian population: thyroid status and metabolic risk factors. *Arch Iran Med*, 2013, 16(10): 584-589.
- [24] Posadas-Romero C, Jorge-Galarza E, Posadas-Sánchez R, et al. Fatty liver largely explains associations of subclinical hypothyroidism with insulin resistance, metabolic syndrome, and subclinical coronary atherosclerosis. *Eur J Endocrinol*, 2014, 171(3): 319-325.
- [25] Ludwig U, Holzner D, Denzer C, et al. Subclinical and clinical hypothyroidism and non-alcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study of a random population sample aged 18 to 65 years. *BMC Endocr Disord*, 2015, 15: 41.
- [26] Lee KW, Bang KB, Rhee EJ, et al. Impact of hypothyroidism on the development of non-alcoholic fatty liver disease: A 4-year retrospective cohort study. *Clin Mol Hepatol*, 2015, 21(4): 372-378.
- [27] Lee J, Ha J, Jo K, et al. Male-specific association between subclinical hypothyroidism and the risk of non-alcoholic fatty liver disease estimated by hepatic steatosis index: Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2013 to 2015. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 15145.
- [28] Katan MB. Apolipoprotein E isoforms, serum cholesterol, and cancer.1986. *Int J Epidemiol*, 2004, 33(1): 9.
- [29] Smith GD, Ebrahim S. 'Mendelian randomization': can genetic epidemiology contribute to understanding environmental determinants of disease? *Int J Epidemiol*, 2003, 32(1): 1-22.
- [30] Cui Z, Hou G, Meng X, et al. Bidirectional Causal Associations Between Inflammatory Bowel Disease and Ankylosing Spondylitis: A Two-Sample Mendelian Randomization Analysis. *Front Genet*, 2020, 11: 587876.
- [31] Collins A. Allelic association; linkage disequilibrium structure and gene mapping. *Mol Biotechnol*, 2009, 41(1): 83-89.
- [32] Burgess S, Butterworth A, Thompson SG. Mendelian randomization analysis with multiple genetic variants using summarized data. *Genet Epidemiol*, 2013, 37(7): 658-665.
- [33] Bowden J, Davey SG, Burgess S. Mendelian randomization with invalid instruments: effect estimation and bias detection through Egger regression. *Int J Epidemiol*, 2015, 44(2): 512-525.
- [34] Friedman SL, Neuschwander-Tetri BA, Rinella M, et al. Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. *Nat Med*, 2018, 24(7):908-922.
- [35] Chen C, Xie Z, Shen Y, et al. The Roles of Thyroid and Thyroid Hormone in Pancreas: Physiology and Pathology. *Int J Endocrinol*, 2018, 2018: 2861034.
- [36] Ferrandino G, Kaspari RR, Spadaro O, et al. Pathogenesis of hypothyroidism-induced NAFLD is driven by intra- and extrahepatic mechanisms. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(43): E9172-E9180.
- [37] Davies NM, Holmes MV, Smith GD. Reading Mendelian randomisation studies: a guide, glossary, and checklist for clinicians. *BMJ*, 2018, 362: k601.
- [38] Qiu S, Cao P, Guo Y, et al. Exploring the Causality Between Hypothyroidism and Non-alcoholic Fatty Liver: A Mendelian Randomization Study. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 643582.

(责任编辑:邓妍)