



**Universiteit
Leiden**
The Netherlands

Thyroid axis challenges in Leiden Longevity Study

Zutinic, A.

Citation

Zutinic, A. (2022, May 25). *Thyroid axis challenges in Leiden Longevity Study*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3304360>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3304360>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Chapter 9

Appendices

Dutch summary (Nederlandse samenvatting)

Veroudering en vergrijzing

Met de steeds ouder wordende samenleving (1) zijn veroudering en vergrijzing niet alleen in Nederland, maar wereldwijd een actueel onderwerp. Naar verwachting zal het aantal mensen van 60 jaar en ouder wereldwijd meer dan verdubbelen tegen 2050, naar een aantal van 2.1 miljard mensen in vergelijking met 962 miljoen in 2017 (2). Tegelijkertijd wordt wereldwijd ook een verdrievoudiging van het aantal mensen van 80 jaar en ouder verwacht in dezelfde periode, naar 425 miljoen van 137 miljoen in 2017(2). In Nederland wordt tegen 2050 een ruime stijging verwacht in het percentage van de bevolking van 65 jaar en ouder ten opzichte van 2015, net als een stijging van het percentage van de bevolking van 80 jaar en ouder (3). Daarmee gaat de groeps grootte van mensen van 85 jaar en ouder, ‘de oudste ouderen’, ook groeien.

Veroudering is de belangrijkste risico factor voor het ontwikkelen van chronische ziekte, en de hiermee gepaard gaande functionele achteruitgang (4). Dit maakt onderzoek naar factoren die aan gezond oud worden bijdragen en die ten grondslag liggen aan het verouderingsproces zeer waardevol en niet alleen belangrijk voor het individu, maar ook voor de duurzaamheid van de gezondheidszorg en de maatschappij - op lokaal maar ook op globaal niveau.

Schildklierhormoon

Een van de hormonen die een rol speelt in gezond oud worden, is het schildklierhormoon. De beschikbaarheid van schildklierhormoon wordt door middel van een complex netwerk nauwkeurig gereguleerd, aangezien het vele noodzakelijke fysiologische processen in het lichaam beïnvloedt – van groei en ontwikkeling, tot stemming en cognitie, en ook immuniteit en het metabolisme (5,6).

Feedforward en feedback regulatie

Het constant houden van de spiegels van schildklierhormoon in het bloed wordt geregeld door een samenspel van hormonen die elkaar beïnvloeden via feed forward (stimuleren van secretie) en feedback (remming van secretie) signalen. Dit begint in de

hersenen, waar in de hypothalamus de thyrotrophin releasing hormoon (TRH) wordt uitgescheiden om de hypofyse te stimuleren tot productie en secretie van de schildklier stimulerend hormoon (TSH). TSH stimuleert de schildklier, door binding aan de TSH receptoren (TSHR), om schildklierhormonen te produceren en in het bloedsomloop uit te scheiden. De schildklier produceert ook thyroglobuline (Tg), een voorloper van de schildklierhormonen, waaruit weer het inactieve schildklierhormoon thyroxine (T4) en ook de actieve hormoon, triiodothyronine (T3) worden gegenereerd en uitgescheiden. Circulerende schildklierhormonen (TH) binden aan transport eiwitten (thyroglobuline bindend eiwit (TBG), thyroxine-bindend albumine (TBA) en albumine), terwijl een kleine fractie ongebonden is (free T4 (fT4) en free T3 (fT3)). De circulerende schildklierhormonen (TH) hebben vervolgens invloed op alle weefsels via TH receptoren, en ook een remmende werking op verdere TRH en TSH secretie door negatieve feedback, om een euthyroïde staat te behouden (TH en TSH binnen normaal waarden). Als de regulatie niet goed werkt, kunnen vormen van hyperthyreoïdie (overschot aan TH) of hypothyreoïdie (tekort aan TH) voorkomen, met alle gevolgen van dien.

Regulatie van schildklierhormonen in de weefsels

Schildklierhormonen kunnen door cellen worden opgenomen via transport eiwitten. Hierna worden ze geactiveerd (van T4 naar T3, of gedeactiveerd van T4 naar reverse T3 (rT3)) door deiodenase enzymen (in o.a. de lever, nier, skelet spieren en de schildklier) om het transcriptie proces in de cel kern te beïnvloeden (7).

Pathofysiologie

De invloed van schildklier hormoon is het duidelijkst zichtbaar in de complexe, ernstige en mogelijk levensbedreigende symptomen geassocieerd met hypo- en hyperthyreoïdie (tekort en overschot aan circulerende schildklierhormonen, respectievelijk) – die kunnen variëren van gewichtstoename, droge huid, haar verlies, moeheid, dyslipidemie, stemmingsproblemen en zelfs coma in het geval van

hypothyreoïdie (5,6), en gewichtsverlies, stemmingsproblematiek, atriumfibrillatie, spierverlies en osteoporose in het geval van hyperthyreoïdie (5,8).

Schildklier as en veroudering

Gezien de belangrijke rol die het schildklierhormoon speelt in meerdere fysiologische processen, is het niet verassend dat het ook van invloed is op veroudering en langlevendheid. Veroudering wordt beschreven als een proces dat wordt gedreven door een aantal kenmerkende processen (de zogenaamde hallmarks): primair (genoom instabiliteit, telomeer verkorting, epigenetica, verlies van proteostase), antagonistisch (ontregelde nutrient-sensing, mitochondriële dysfunctie, cellulaire senescentie) en integratief (stam cel depletie, veranderde intercellulaire communicatie) (4). Meerdere van deze processen zouden door schildklier hormoon beïnvloed kunnen worden en meerdere studies hebben aangetoond dat er een relatie bestaat tussen schildklier status en veroudering (9-11).

In proefdieren is een lager niveau van schildklierhormonen geassocieerd met een langere levensduur (10,12,13). Dit zou kunnen komen doordat lagere TH niveaus aan een lagere basale stofwisseling zouden kunnen bijdragen en dus aan een lagere productie van schadelijke reactieve zuurstof radicalen (ROS), die normaliter tot meer cel senescentie zouden kunnen leiden (14).

In mensen zijn lagere spiegels van schildklierhormonen, binnen normaalwaarden, geassocieerd met gezonde veroudering (11,17). Ook is de prevalentie van hoog normaal TSH hoger in oudere populaties (18). Daarnaast heeft een gerandomiseerde studie aangetoond dat het behandelen van subklinische hypothyreoïdie (verhoogd TSH met normale TH spiegels) in mensen van 65 plus geen duidelijke voordelen heeft (19) en hebben andere studies aangetoond dat langlevendheid in families geassocieerd is met (een familiale aanleg voor) hogere TSH waardes (19,20).

Dit proefschrift en hypothese

Dit proefschrift onderzocht de schildklier-as in mensen uit de Leiden Langleven Studie (LLS). De LLS is in 2002 opgezet om de rol van verschillende genotypes en fenotypes in gezonde veroudering te onderzoeken door mensen te includeren uit langlevende families. Oorspronkelijk zijn mensen in Nederland geïncludeerd die voldeden aan de volgende criteria: vrouwen van 91 of ouder, en mannen van 89 jaar of ouder, die tenminste een broer of zus hadden die ook voldeed aan dezelfde leeftijdscriteria. Vervolgens zijn de nakomelingen van deze proefpersonen geïncludeerd, met hun huidige partner als controle groep. In totaal zijn er 421 families geïncludeerd (22).

Het is eerder aangetoond dat nakomelingen een lagere mortaliteit en morbiditeit hebben dan controles (21). Daarnaast werd ook een associatie gevonden tussen familiale langlevendheid en lagere schildklier functie (11) en ook lagere T3 niveaus (17). Dit lijkt niet in alle cohorten van langlevende families het geval. In een andere populatie van langlevenden, Ashkenazi families en hun nakomelingen, was deze associatie tussen schildklier en langlevens niet gevonden (20).

In 2015 zijn tijdens de Switchbox studie schildklier status hormonen in nakomelingen en controles van de LLS gemeten om de 10 minuten over een periode van 24 uur (23). Gedurende deze hele tijd hadden nakomelingen gemiddeld 0.8 mU/L hogere TSH spiegels dan controles, in afwezigheid van verschillen in schildklierhormoon spiegels (TH) tussen de twee groepen (23). Het is al uitgezocht dat de TSH bioactiviteit tussen deze twee groepen niet verschillend is (23).

Dit proefschrift richtte zich op het onderzoeken van het mechanisme achter het verschil in circulerend TSH tussen nakomelingen en controles uit de LLS. De hypothesen waren dat:

- 1) Nakomelingen van langlevende families een lagere respons van de schildklier hebben op TSH, en daardoor hogere TSH spiegels nodig hebben om voldoende TH te produceren

en/of

- 2) Nakomelingen van langlevende families een hogere afbraak van TH hebben dan controles, waardoor hogere TSH spiegels nodig zijn om adequate TH spiegels te onderhouden.

Deze hypothesen zijn onderzocht door middel van twee studies met schildklier geneesmiddelen (TSH en T3 studie) in nakomelingen en controles uit de LLS.

Opzet van studies

In **hoofdstuk 2** wordt de studieopzet toegelicht. De proefpersonen uit de LLS die in aanmerkingen kwamen voor de TSH en T3 studie waren deelnemers uit Switchbox waarvan de nakomelingen uit langlevende families een hoger TSH hadden dan controles. In de periode tussen november 2016 en december 2017 hebben 30 proefpersonen aan TSH studie deelgenomen en in de periode tussen augustus 2017 en september 2018 hebben 27 proefpersonen aan de T3 studie deelgenomen.

De TSH studie bestond uit vier aansluitende dagen in het LUMC, waar op de eerste studiedag een baseline (nul meting) bloedafname werd verricht, 0.1mg/ml recombinant humaan TSH (rhTSH) werd toegediend via intramusculaire injectie en vervolgens 16 bloedafnames zijn verricht (13 verdeeld over studiedag 1, en 1 op studiedag 2,3 en 4) om de kinetiek van schildklier hormonen te meten.

De T3 studie bestond uit vijf aansluitende dagen in het LUMC, waar op de eerste studiedag een baseline (nul meting) bloedafname verricht werd, 100mcg (4x25mcg) triiodothyronine (T3) ingenomen werd met water, en vervolgens 28 bloedafnames verricht werden (24 verdeeld over studiedag 1, en 1 op studiedag 2,3,4 en 5).

Bij beide studies is bloed afgenomen en verzameld in serum, EDTA plasma, vol bloed en PAX gene buizen, zijn ECG opnames gemaakt tijdens de keuring, waren de maaltijden op studiedag gestandaardiseerd en hebben alle proefpersonen meerdere vragenlijsten ingevuld o.a. over hun beweging, slaap en gewoontes.

Het primaire doel van deze studies was om de twee hypothesen betreffende de schildklier as in nakomelingen uit langlevende families en controles experimenteel te testen door middel van toediening van TSH en T3 hormoon.

Het secundaire doel van de studies was om (verschillen in) secundaire effecten van schildklier hormonen in nakomelingen en controles te onderzoeken, op weefsels en processen die door het schildklier as beïnvloed worden, zoals het bot weefsel en het immuunsysteem.

Resultaten pilot metingen rhTSH studie

De uitslagen van pilot metingen van rhTSH staan beschreven in **hoofdstuk 3**. De pilot studie bestond uit metingen van schildklier parameters (TSH, T4, fT4, T3, fT3 en Tg) in zes (n=6) deelnemers van de TSH studie op alle 17 tijdstippen van bloedafname. Het doel hiervan was om de optimale tijdstippen te identificeren voor metingen van schildklier parameters in gezonde ouderen na toediening van rhTSH, en dus de optimale meetpunten voor metingen in het hele cohort van de rhTSH studie (n=30). De resultaten tonen aan dat circulerend TSH hormoon de meeste variatie vertoont in de eerste 8 uur na rhTSH toediening, terwijl de concentratie van T4, fT4, T3 en fT3 begon te variëren vanaf 2u na rhTSH toediening, waarschijnlijk doordat eerst nieuwe aanmaak en secretie van deze hormonen gestimuleerd moest worden door het verhoogde TSH. Het Tg hormoon liet het minste variatie zien en ook pas later: 24, 48 en 72u na toediening van rhTSH.

Resultaten TSH studie

De resultaten uit de TSH studie worden in **hoofdstuk 4** beschreven. Om te onderzoeken of nakomelingen uit langlevende families een lagere respons van de

schilddklier hebben op TSH dan controles, zijn bij de TSH studie schilddklierhormonen gemeten in proefpersonen (15 nakomelingen en 15 controles) na intramusculaire toediening van 0.1mg rhTSH. Er zijn geen ernstige bijwerkingen waargenomen. Een persoon is uit de analyses geexcludeerd omdat verdacht werd dat het hier per abuis om intraveneuze i.p.v. intramusculaire rhTSH toediening ging. Bij de overige proefpersonen (n=29) stegen de TSH spiegels gedurende studiedag 1, en herstelden ze zich richting de waarde van de nul meting op studiedag 2, 3 en 4. De concentraties van circulerende schilddklier hormonen stegen ook, zoals verwacht na rhTSH toediening die de schilddklier stimuleert om deze aan te maken. De area under the curve (AUC) gedurende de studiedagen werd berekend per hormoon, als maatstaaf voor totale hormoon spiegels. De ratio van fT4 AUC en TSH AUC ($AUC\ fT4/AUC\ TSH$) was significant lager in nakomelingen dan in controles (de gemiddelde waardes waren respectievelijk 1.6 en 2.2) . Dit betekent dat bij nakomelingen per hoeveelheid circulerend TSH minder circulerend fT4 werd geobserveerd tijdens de studie. De $AUC\ Tg/AUC\ TSH$ ratio was ook lager in nakomelingen dan in controles (de mediaan waardes waren 2.1 en 3.2, respectievelijk). Dezelfde trend werd met $AUC\ T3/AUC\ TSH$ ratio geobserveerd, echter was deze niet statistisch significant. Deze bevinding ondersteunt de eerste hypothese uit dit proefschrift, namelijk dat nakomelingen een lagere respons van de schilddklier hebben op TSH dan controles.

Resultaten T3 studie

In **hoofdstuk 5** staan de eerste resultaten genoemd van de T3 studie: de schilddklierhormoon en TSH spiegels na orale toediening van 100 microgram T3 hormoon. Om te onderzoeken of nakomelingen uit langlevende families een hogere afbraak van TH hebben dan controles, zijn bij de T3 studie de schilddklierhormonen gemeten in proefpersonen (14 nakomelingen en 13 controles) na T3 toediening. Deze studie gaf twee belangrijke bevindingen.

Ten eerste, na T3 toediening was de concentratie van circulerend T3 en fT3 in nakomelingen en controles vergelijkbaar. Ten tweede, circulerend TSH en de daling

(%) van TSH concentratie, als maat voor de negatieve feedback van T3 op TSH, was ook vergelijkbaar tussen nakomelingen en controles. Deze twee bevindingen steunen het verwerpen van de tweede hypothese, namelijk dat nakomelingen een hogere afbraak van TH hebben dan controles. De uitkomsten van de T3 studie tonen aan dat nakomelingen en controles na toediening van dezelfde dosering van T3, vergelijkbare spiegels hebben van T3 en fT3, en een vergelijkbare negatieve feedback hebben op TSH.

Een tekort van deze studie is dat de precieze afbraak van TH alleen meetbaar zou zijn als de studie zou zijn uitgevoerd met radioactief gemarkeerd T3, wat hier niet het geval was. Echter is in deze studie een zeer hoge meet frequentie gebruikt, waardoor toch met enige zekerheid conclusies getrokken kunnen worden over concentraties van schildklier-as hormonen in nakomelingen en controles.

Bot markers in TSH studie

In **hoofdstuk 6** staan de eerste secundaire uitkomsten van de TSH studie beschreven: de botmarkers in TSH studie. Het bot is een dynamisch weefsel dat continu wordt afgebroken en opgebouwd, wat in het bloedsomloop gemeten kan worden door bepalingen van circulerend CTX (botafbraak marker) en P1NP (botaanmaak marker). Het effect van TSH op bot staat in de wetenschappelijke literatuur ter discussie. Bij de nul meting (zonder TSH toediening) van botmarkers hebben wij gevonden dat nakomelingen (n=14) lagere botmarkers hadden dan controles (n=15). Dit verschil werd zowel bij mannen als bij vrouwen waargenomen: zowel mannelijke als vrouwelijke nakomelingen hadden lagere botmarkers in vergelijking met mannelijke en vrouwelijke controles respectievelijk. Na rhTSH toediening stegen de botmarkers in beide groepen op vergelijkbare wijze. Dit kan het resultaat zijn geweest van TSH of van de mede stijgende TH, daar kan in gezonde proefpersonen geen onderscheid tussen gemaakt worden omdat deze parameters nauw met elkaar verbonden zijn.

Conclusie en toekomst perspectieven

Met de steeds groter wordende populatie van ouderen, en de stijgende prevalentie van chronische ziekte en de gezondheidszorg kosten die daarmee gepaard gaan, wordt steeds meer aandacht besteed aan het onderzoek van de processen achter gezond oud worden en gezond lang leven.

De schildklier speelt een essentiële rol in complexe fysiologische processen en wordt veel geïmpliceerd in processen die veroudering drijven, wat het een uitstekende kandidaat maakt voor onderzoek en innovatie op dit gebied.

Dit proefschrift beschrijft voor het eerst de concentraties van schildklierhormonen in een gezonde, oudere populatie na toediening van rhTSH als van T3 – met als subgroepen de nakomelingen uit langlevende families en de controles uit Leiden Langleven Studie.

Het is eerder in de Switchbox studie aangetoond dat nakomelingen uit lang levende families een andere schildklier as huishouding hebben dan controles, namelijk hogere TSH spiegels zonder verschillen in TH spiegels, terwijl deze parameters direct aan elkaar verbonden zijn middels feedback en feedforward regulatie. Dit proefschrift onderzoekt het mechanisme achter dit verschil door twee interventie studies: een met TSH hormoon en een met T3 hormoon toediening, in deze nakomelingen en controles.

Na toediening van rhTSH, hebben nakomelingen uit langlevende families een lagere respons van de schildklier dan controles. Deze bevinding impliceert dat het hoogstwaarschijnlijk de schildklier respons op TSH is wat het oorspronkelijk gevonden verschil in TSH tussen nakomelingen en controles drijft. Nakomelingen lijken een lager schildklier respons op TSH te hebben, waardoor zij mogelijk een hogere concentratie TSH nodig hebben om voldoende TH te produceren. In vervolgonderzoek zou het interessant zijn om de rol van de TSH receptor als

mogelijke factor in de verschillen in schildklier respons tussen nakomelingen en controles te onderzoeken.

Na toediening van T3 hormoon, in de tweede studie, werden geen verschillen gevonden in de concentraties van schildklierhormonen en de negatieve feedback op TSH tussen nakomelingen uit langlevende families en controles. Op basis van deze bevindingen is de tweede hypothese van dit proefschrift minder waarschijnlijk – nakomelingen uit langlevende families lijken niet een hoger TSH en vergelijkbare TH als controles te hebben door een verschil in TH afbraak en feedback op TSH.

Concluderend, het is bekend dat nakomelingen uit lang levende families van de Leiden Langleven Studie lagere mortaliteit en morbiditeit hebben dan controles. Ook is bekend dat een subgroep hiervan in fysiologische staat hogere TSH spiegels hebben dan controles, in afwezigheid van verschillen in TH spiegels. Het mechanisme hierachter lijkt een lagere respons van de schildklier op TSH in nakomelingen dan in controles, wat in dit proefschrift voor het eerst is onderzocht en aangetoond.

Dit impliceert de mogelijke betrokkenheid van of hogere TSH spiegels, of bijvoorbeeld de TSH receptor, in langlevendheid. De TSH receptor is behalve op de schildklier ook aanwezig op andere weefsels, zoals bot en mogelijk ook cellen van het immuun systeem. Via dit mechanisme zou de schildklier invloed kunnen hebben op het menselijk lichaam en langlevendheid.

Gezond oud worden blijft een complex en genuanceerd onderwerp waarnaar veel verder onderzoek nodig is. Dit proefschrift bevestigt het belang en de implicatie van de schildklier as in langlevendheid en gezond oud worden, voornamelijk door een verschil in respons van de schildklier op TSH.

Bronnen

1. Abbott A. Ageing: growing old gracefully. *Nature*. 2004;428(6979):116-118.
2. United Nations DoEaSA, Population Division (2017). World Population, (ST/ESA/SER.A/397). A-H.
3. (OECD) TOFEC-oaD. OECD Health Statistics 2019. Vol 20212019.
4. Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013;153(6):1194-1217.
5. Franklyn JA, Boelaert K. Thyrotoxicosis. *Lancet*. 2012;379(9821):1155-1166.
6. Chaker L, Bianco AC, Jonklaas J, Peeters RP. Hypothyroidism. *Lancet*. 2017;390(10101):1550-1562.
7. Visser TJ. Pathways of thyroid hormone metabolism. *Acta Med Austriaca*. 1996;23(1-2):10-16.
8. Vestergaard P. Hyperthyroidism, bone mineral, and fracture risk--a meta-analysis. . *Thyroid*. 2003;13(6):585-593.
9. Atzmon G, Barzilai N, Hollowell JG, Surks MI, Gabriely I. Extreme longevity is associated with increased serum thyrotropin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94(4):1251-1254.
10. Bowers J, Terrien J, Clerget-Froidevaux MS, Gothie JD, Rozing MP, Westendorp RG, van Heemst D, Demeneix BA. Thyroid hormone signaling and homeostasis during aging. *Endocr Rev*. 2013;34(4):556-589.
11. Rozing MP, Houwing-Duistermaat JJ, Slagboom PE, Beekman M, Frolich M, de Craen AJ, Westendorp RG, van Heemst D. Familial longevity is associated with decreased thyroid function. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(11):4979-4984.
12. Buffenstein R, Pinto M. Endocrine function in naturally long-living small mammals. *Mol Cell Endocrinol*. 2009;299(1):101-111.
13. Brown-Borg HM, Borg KE, Meliska CJ, Bartke A. Dwarf mice and the ageing process. *Nature*. 1996;384(6604):33.

14. Baar MP, Brandt RMC, Putavet DA, Klein JDD, Derks KWJ, Bourgeois BRM, Stryeck S, Rijkse Y, van Willigenburg H, Feijtel DA, van der Pluijm I, Essers J, van Cappellen WA, van IWF, Houtsmuller AB, Pothof J, de Bruin RWF, Madl T, Hoeijmakers JHJ, Campisi J, de Keizer PLJ. Targeted Apoptosis of Senescent Cells Restores Tissue Homeostasis in Response to Chemotoxicity and Aging. *Cell*. 2017;169(1):132-147 e116.
15. Ma R, Morshed S, Latif R, Zaidi M, Davies TF. The influence of thyroid-stimulating hormone and thyroid-stimulating hormone receptor antibodies on osteoclastogenesis. *Thyroid*. 2011;21(8):897-906.
16. Endo T, Kobayashi T. Expression of functional TSH receptor in white adipose tissues of hyt/hyt mice induces lipolysis in vivo. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2012;302(12):E1569-1575.
17. Rozing MP, Westendorp RG, de Craen AJ, Frolich M, Heijmans BT, Beekman M, Wijsman C, Mooijaart SP, Blauw GJ, Slagboom PE, van Heemst D, Leiden Longevity Study G. Low serum free triiodothyronine levels mark familial longevity: the Leiden Longevity Study. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2010;65(4):365-368.
18. Sawin CT, Chopra D, Azizi F, Mannix JE, Bacharach P. The aging thyroid. Increased prevalence of elevated serum thyrotropin levels in the elderly. *JAMA*. 1979;242(3):247-250.
19. Stott DJ, Rodondi N, Kearney PM, Ford I, Westendorp RGJ, Mooijaart SP, Sattar N, Aubert CE, Aujesky D, Bauer DC, Baumgartner C, Blum MR, Browne JP, Byrne S, Collet TH, Dekkers OM, den Elzen WPJ, Du Puy RS, Ellis G, Feller M, Floriani C, Hendry K, Hurley C, Jukema JW, Kean S, Kelly M, Krebs D, Langhorne P, McCarthy G, McCarthy V, McConnachie A, McDade M, Messow M, O'Flynn A, O'Riordan D, Poortvliet RKE, Quinn TJ, Russell A, Sinnott C, Smit JWA, Van Dorland HA, Walsh KA, Walsh EK, Watt T, Wilson R, Gussekloo J, Group TS. Thyroid Hormone Therapy for Older Adults with Subclinical Hypothyroidism. *N Engl J Med*. 2017;376(26):2534-2544.

20. Atzmon G, Barzilai N, Surks MI, Gabriely I. Genetic predisposition to elevated serum thyrotropin is associated with exceptional longevity. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(12):4768-4775.
21. Westendorp RG, van Heemst D, Rozing MP, Frolich M, Mooijaart SP, Blauw GJ, Beekman M, Heijmans BT, de Craen AJ, Slagboom PE, Leiden Longevity Study G. Nonagenarian siblings and their offspring display lower risk of mortality and morbidity than sporadic nonagenarians: The Leiden Longevity Study. *J Am Geriatr Soc.* 2009;57(9):1634-1637.
22. Schoenmaker M, de Craen AJ, de Meijer PH, Beekman M, Blauw GJ, Slagboom PE, Westendorp RG. Evidence of genetic enrichment for exceptional survival using a family approach: the Leiden Longevity Study. *Eur J Hum Genet.* 2006;14(1):79-84.
23. Jansen SW, Akintola AA, Roelfsema F, van der Spoel E, Cobbaert CM, Ballieux BE, Egri P, Kvarta-Papp Z, Gereben B, Fekete C, Slagboom PE, van der Grond J, Demeneix BA, Pijl H, Westendorp RG, van Heemst D. Human longevity is characterised by high thyroid stimulating hormone secretion without altered energy metabolism. *Sci Rep.* 2015;5:11525.

