

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
BIOQUÍMICA TOXICOLÓGICA**

**MELHORA DOS NÍVEIS SANGUÍNEOS DE
MARCADORES INFLAMATÓRIOS EM PACIENTES
COM HIPOTIREOIDISMO EM TRATAMENTO COM
LEVOTIROXINA**

TESE DE DOUTORADO

Roseane Cardoso Marchiori

Santa Maria, RS, Brasil

2015

**MELHORA DOS NÍVEIS SANGUÍNEOS DE MEDIADORES
INFLAMATÓRIOS EM PACIENTES COM HIPOTIREOIDISMO
EM TRATAMENTO COM LEVOTIROXINA**

Roseane Cardoso Marchiori

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Bioquímica Toxicológica

Orientador: Prof. Dr. João Batista Teixeira da Rocha

Santa Maria, RS, Brasil

2015

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Marchiori, Roseane Cardoso
Melhora dos níveis sanguíneos de marcadores
inflamatórios em pacientes com hipotireoidismo em
tratamento com levotiroxina / Roseane Cardoso Marchiori.-
2015.
94 f.; 30cm

Orientador: João Batista Teixeira da Rocha
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica
Toxicológica, RS, 2015

1. Hipotireoidismo 2. Inflamação 3. Estresse oxidativo
4. Aterosclerose 5. Tireoidite de Hashimoto.
Levotiroxina I. Rocha, João Batista Teixeira da II.
Título.

© 2015

Todos os direitos autorais reservados a Roseane Cardoso Marchiori. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.
E-mail: ufesme@ct.ufsm.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
BIOQUÍMICA TOXICOLÓGICA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

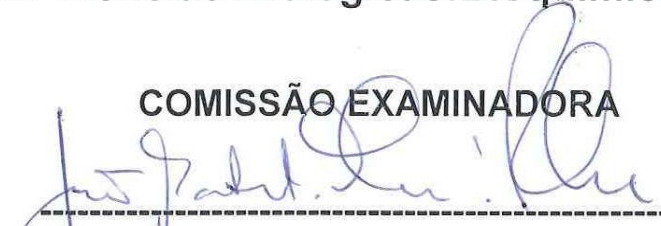
MELHORA DOS NÍVEIS SANGUÍNEOS DE MARCADORES INFLAMATÓRIOS EM
PACIENTES COM HIPOTIREOIDISMO EM TRATAMENTO COM LEVOTIROXINA

Elaborada por

Roseane Cardoso Marchiori

Como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutora em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica

COMISSÃO EXAMINADORA



João Batista Teixeira da Rocha, Dr. (UFSM)
(Presidente / Orientador)



Cristiane Lenz Dalla Corte, Dr^a, (UNIPAMPA)



Cristina Wayne Nogueira, Dr^a (UFSM)



Daiana Silva Ávila, Dr^a. (UNIPAMPA)



Diogo Onofre Gomes de Souza, Dr. (UFRGS)

Santa Maria, 17 de abril de 2015.

Ao Paulo, Sophia e Felipe, por todo amor.

Aos meus pais, Daniel e Nilacyr, pelo
exemplo de vida.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. João Batista Teixeira da Rocha, pelo muito que aprendi sob sua orientação, pela paciência e compreensão que sempre me dispensou. Por me acolher em seu laboratório e permitir a convivência com pessoas que fazem pesquisa com dedicação e competência.

Aos pacientes que participaram deste trabalho, pela cooperação.

À Prof. Dra. Marta M. M. F. Duarte, pela realização dos mediadores inflamatórios e por sua inestimável contribuição para este trabalho. Obrigada por estar sempre disposta a ajudar, pela dedicação, amizade e pelo enorme carinho com que sempre me recebeu.

À Dra. Daiane F. Meinerz, pela realização dos marcadores de estresse oxidativo. Obrigada por sua amizade e companheirismo.

Ao Dr. Diego L. Rovaris, pela análise estatística.

Ao estimado professor Dr. Luiz Alberto Fontoura Pereira, pelo atendimento endocrinológico dos pacientes envolvidos no trabalho.

Aos funcionários do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Santa Maria, pela coleta e armazenamento de material e pela atenciosa disponibilidade, mesmo em momentos de superlotação.

Ao Prof. Dr. Claiton H. D. Bau, pelo incentivo constante e apoio incansável.

Ao Dr. Alexandre Antônio Naujorks, pela realização dos exames ecocardiográficos.

Aos bolsistas e técnicos do serviço de função pulmonar, pela realização dos exames espirométricos.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica, pelos ensinamentos e pelo apoio administrativo.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica e aos bolsistas do Laboratório de Bioquímica, pela receptividade e companheirismo. Em especial, ao Dr. Jean Paul Kamden e sua linda família: Agrippine, Roseane Marie e Promesse Sara.

Aos colegas do departamento de Clínica Médica, aos colegas do serviço de pneumologia, aos médicos residentes do serviço de pneumologia do Hospital Universitário de Santa Maria e aos alunos do curso de medicina da Universidade Federal de Santa Maria, pelo incentivo.

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica, pela possibilidade de realização deste curso.

Aos amigos e familiares: irmãos, cunhados, sogros, pelo apoio constante.

Aos membros da banca, por aceitarem o convite para avaliar este trabalho ...

“Sempre que eu aprendo, eu também ensino
e sempre que eu ensino alguma coisa,
eu aprendo alguma coisa em troca”.

(Paulo Freire).

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica Toxicológica
Universidade Federal de Santa Maria

MELHORA DOS MARCADORES SANGUÍNEOS INFLAMATÓRIOS EM PACIENTES COM HIPOTIREOIDISMO EM TRATAMENTO COM LEVOTIROXINA

AUTORA: Roseane Cardoso Marchiori
ORIENTADOR: João Batista Teixeira da Rocha
Santa Maria, 17 de abril de 2015.

Introdução: Alguns estudos sugerem que os pacientes com hipotireoidismo apresentam inflamação sistêmica e estresse oxidativo aumentado e consideram que esses fatores podem contribuir para o risco aumentado de aterosclerose e doença cardiovascular aterosclerótica nesses pacientes. Poucos avaliaram o efeito do tratamento do hipotireoidismo sobre marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo, com resultados conflitantes. **Objetivos:** O objetivo desse estudo foi investigar o efeito da terapia de reposição com levotiroxina sobre os marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo em pacientes com hipotireoidismo. **Métodos:** Foram incluídos pacientes com diagnóstico recente de hipotireoidismo, ainda sem tratamento. Foram analisados os seguintes parâmetros sanguíneos, em condições basais, aos 6 e doze meses de tratamento com levotiroxina: hormônio estimulante da tireoide (TSH), tiroxina livre (FT4), proteína C-reativa de alta sensibilidade (hs-CRP), interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), interleucina-10 (IL-10), interferon-gama (INF- γ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS), atividade da enzima ácido aminolevulínico desidratase (δ -ALA-D), grupos tiois não-proteico e total (NP-SH e T-SH), colesterol total (TC), colesterol lipoproteína de alta densidade (HDL-C), colesterol lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e triglicerídeos (TG). Foi usado o modelo de Equação de Estimativas Generalizadas (GEE) para analisar o efeito do tratamento (basal, aos seis e doze meses de seguimento) sobre as variáveis mencionadas acima. O status do hipotireoidismo (evidente ou subclínico) foi incluído como confundidor em todas as análises. Foi feita análise adicional GEE post hoc para comparação tempo a tempo. **Resultados:** Houve redução significativa nos níveis de TSH ao longo do tempo ($P < 0.0001$) (níveis iniciais em média 32.4 μ IU/mL e 10.5 μ IU/mL aos doze meses). Houve aumento significativo do FT4 ao longo do tratamento ($P < 0.0001$) (níveis iniciais basais em média 0,8 ng/dL e 2.7 ng/dL aos 12 meses). Houve modificação significativa nos níveis de interleucinas ao longo do tempo, com aumento significativo da IL-10 ($P < 0.0001$) e redução significativa da IL-1 ($P < 0.0001$), IL-6 ($P < 0.0001$), INF- γ ($P < 0.0001$) e TNF- α ($P < 0.0001$). Não houve diferença significativa nos níveis de hs-CRP ao longo do tempo ($P < 0.284$). Houve redução significativa dos níveis de NP-SH ($P < 0.0001$) durante o acompanhamento. **Conclusões:** Houve redução de marcador de estresse oxidativo, redução de citocinas pró-inflamatórias e elevação de citocina anti-inflamatória em pacientes com hipotireoidismo em uso de levotiroxina. Essas modificações podem ter relevância clínica devido à hipótese de que inflamação e estresse oxidativo podem contribuir para o desenvolvimento de aterosclerose e doenças cardiovasculares nesses pacientes.

Palavras-chave: Hipotireoidismo. Inflamação. Estresse oxidativo. Aterosclerose. Tireoidite de Hashimoto. Levotiroxina.

ABSTRACT

Doctoral Thesis
Graduate Program in Biological Sciences: Toxicological Biochemistry
Federal University of Santa Maria, RS, Brazil

IMPROVEMENT OF INFLAMMATORY MEDIATORS IN PATIENTS WITH HYPOTHYROIDISM UNDER LEVOTHYROXINE TREATMENT

AUTHOR: Roseane Cardoso Marchiori
ADVISOR: João Batista Teixeira da Rocha
Santa Maria, April, 17th, 2015.

Introduction: Some studies suggest that patients with hypothyroidism have systemic inflammation and increased oxidative stress and consider these factors may contribute to the increased risk of atherosclerosis and atherosclerotic cardiovascular disease in these patients. Few studies have evaluated the effect of treatment of hypothyroidism on inflammatory markers and oxidative stress, with conflicting results. **Background:** The aim of this study was to investigate the effect of levothyroxine replacement therapy on biomarkers of oxidative stress and systemic inflammation in patients with hypothyroidism. **Methods:** Patients with recently diagnosed primary hypothyroidism due to Hashimoto's thyroiditis who were not taking levothyroxine were included. The following blood parameters were measured at pre-treatment, at six and twelve months of levothyroxine: thyroid stimulating hormone (TSH), free thyroxine (FT4), high sensitive C-reactive protein (hs-CRP), interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), interferon gamma (INF- γ), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), activity of the aminolevulinic acid dehydratase enzyme (δ -ALA-D), nonprotein and total thiol (NP-SH and T-SH) groups, total cholesterol (TC), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and triglycerides (TG). Generalized estimating equation (GEE) modeling was used to analyze the effect of treatment (at baseline, six and twelve month of follow-up) on the variables mentioned above. The hypothyroidism status (overt or subclinical hypothyroidism) was included as a confounder in all analyses. An additional GEE post hoc analysis was made with intent to compare time by time. **Results:** There was a significant decrease in TSH levels over time ($P < 0.0001$) (initial levels were on average 32.4 μ IU/mL and 10.5 μ IU/mL at 12 months). There was a significant increase in FT4 ($P < 0.0001$) over treatment (initial levels were on average 0,8 ng/dL and 2.7 ng/dL at 12 months). There were significant changes in interleukin levels over time, with significant increase in IL-10 ($P < 0.0001$) and significant decrease of IL-1 ($P < 0.0001$), IL-6 ($P < 0.0001$), INF- γ ($P < 0.0001$) and TNF- α ($P < 0.0001$). No significant difference in hs-CRP levels over time was found ($P < 0.284$). There was a significant reduction of NP-SH levels ($P < 0.0001$) during follow-up. **Conclusions:** This study observed reduction of oxidative stress biomarker, reduction of pro-inflammatory cytokines and increase of anti-inflammatory cytokine in hypothyroid patients treated with levothyroxine. These modifications may have clinical relevance because the hypothesis that inflammation and oxidative stress may contribute to the development of atherosclerosis and cardiovascular disease in these patients.

Keywords: Hypothyroidism. Inflammation. Oxidative stress. Atherosclerosis. Hashimoto's thyroiditis. Levothyroxine.

LISTA DE FIGURAS

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Figura 1 – Eixo hipotálamo - hipófise - tireoide.	21
Figura 2 – Patogenia da tireoidite de Hashimoto.....	24
Figura 3 – Participação da inflamação em todos os estágios da aterosclerose. A: geração da placa. B: desenvolvimento da placa. C: ruptura da placa....	26
Figura 4 – Interação mediada por citocinas entre as células inflamatórias e as células das paredes dos vasos.	27

MANUSCRITO

Figure 1 – Post Hoc comparisons from significant generalized estimating equation (GEE) models described in Table 2.....	66
---	----

LISTA DE TABELAS

MANUSCRITO

Table 1 – Clinical, anthropometric and pre-treatment thyroid profile of the study...	64
Table 2 – Generalized estimating equation (GEE) models to evaluate the effects of levothyroxine replacement therapy on inflammatory, oxidative stress, hemoglobin, and lipid profile parameters of hypothyroid patients.....	65

LISTA DE ABREVIATURAS

ADMA	– Dimetilarginina assimétrica
antiTG Ab	– Anticorpo antitiroglobulina
antiTPO Ab	– Anticorpo anti-peroxidase
BMI	– Índice de massa corporal
CAT	– Catalase
COX2	– Ciclo oxigenase 2
CRP	– Proteína C-reativa
FT4	– Tiroxina livre
GEE	– Equação de estimativas generalizadas
GPX	– Glutathione peroxidase
HDL-C	– Colesterol lipoproteína de alta densidade
hs-CRP	– Proteína C-reativa de alta sensibilidade
IL-1	– Interleukin 1, interleucina 1
IL-10	– Interleukin 10, interleucina 10
IL-6	– Interleukin 6, interleucina 6
INF- γ	– Interferon gamma
LDL-C	– Colesterol lipoproteína de baixa densidade
LRT	– Tratamento com levotiroxina
MDA	– Malondialdeído
MPO	– Mieloperoxidase
NO	– Óxido nítrico
NP-SH	– Grupo tiol não-proteico
OH	– Hipotireoidismo evidente
OS	– Estresse oxidativo
PON1	– Paraoxonase/ arilesterase
ROS	– Espécies reativas de oxigênio
SCH	– Hipotireoidismo subclínico
SOD	– Superóxido dismutase
T3	– Triiodotironina
T4	– Tetraiodotironina ou tiroxina

TBARS	– Substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico
TC	– Colesterol total
TG	– Triglicerídeos
TNF- α	– Fator de necrose tumoral alfa
TRH	– Thyrotropin-releasing hormone ou Hormônio liberador de tireotrofina
TSH	– Thyroid-stimulating hormone ou Tirotropina ou hormônio estimulante da tireoide
T-SH	– Grupo tiol total
δ -ALA-D	– Ácido aminolevulínico desidratase

LISTA DE ANEXOS

Anexo A – Carta de Aprovação no Comitê de Ética em Pesquisas Clínicas	92
Anexo B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....	93

SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO	16
1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS.....	19
2.1 Objetivo geral	19
2.2 Objetivos específicos	19
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	20
3.1 Fisiologia da tireóide	20
3.2 Epidemiologia e patogenia do hipotireoidismo.....	22
3.3 Aterosclerose e inflamação	25
3.4 Repercussões clínicas do hipotireoidismo	29
3.5 Hipotireoidismo e estresse oxidativo.....	35
3.6 Tratamento do hipotireoidismo e suas repercussões	38
4 JUSTIFICATIVA.....	43
5 MANUSCRITO	44
Abstract	45
Background	47
Methods	49
Results	52
Discussion.....	53
Conclusion	56
References.....	58
6 CONCLUSÕES	68
7 PERSPECTIVAS.....	69
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXOS	92

APRESENTAÇÃO

No item 1, **INTRODUÇÃO**, está descrita a delimitação do tema e um breve referencial teórico. Os objetivos estão organizados no final da introdução.

No item 2, **OBJETIVOS**, estão descritos os objetivos, geral e específicos.

No item 3, **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**, está descrita uma revisão da literatura sobre os temas trabalhados nesta Tese.

No item 4, estão descritas as **JUSTIFICATIVAS** do estudo.

Os **RESULTADOS e a DISCUSSÃO** estão dispostos na forma de manuscrito, submetido à publicação na revista **The BMC Endocrine Disorders**, organizado no item 5. O manuscrito está descrito na íntegra, contendo as seções introdução, materiais e métodos, resultados, discussão e referências bibliográficas.

No item 6, **CONCLUSÕES**, são apresentadas as conclusões gerais do presente trabalho.

No item 7 **PERSPECTIVAS**, estão expostos a relevância do estudo e as possíveis consequências no manejo clínico.

As **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS** referem-se somente às citações que aparecem nos itens 1 e 3 (Introdução e Revisão Bibliográfica).

No item **ANEXOS**, estão dispostos o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e a Carta de aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Santa Maria.

1 INTRODUÇÃO

Hipotireoidismo primário é o quadro clínico e laboratorial decorrente da deficiência parcial ou total da ação dos hormônios tireoidianos. É uma doença comum, potencialmente grave, de diagnóstico clínico difícil, muitas vezes negligenciado, pois suas manifestações não são nem sensíveis nem específicas (ROBERTS; LADENSON, 2004). Entretanto, é prontamente diagnosticada através de exames laboratoriais e facilmente tratável.

O diagnóstico é feito pelas medidas de tirotropina sérica ou hormônio estimulante da tireoide (TSH) e tiroxina livre (FT4). Assim, níveis elevados de TSH em conjunto com níveis reduzidos de FT4 caracterizam o hipotireoidismo evidente (OH), enquanto níveis elevados de TSH com níveis de FT4 ainda dentro da faixa de normalidade caracterizam o hipotireoidismo subclínico (SCH) (GARBER, 2012). É uma condição particularmente prevalente em pessoas do sexo feminino e em faixa etária mais avançada (CANARIS, 2000) e tem como principal situação causal a tireoidite autoimune ou tireoidite de Hashimoto (GARBER, 2012).

O OH é amplamente reconhecido por seus efeitos sobre os diferentes sistemas orgânicos, levando ao hipometabolismo e significativas repercussões clínicas e neuropsiquiátricas. Dentre elas, se destaca o importante maior risco dos pacientes desenvolverem aterosclerose e doenças cardiovasculares (CAPPOLA; LADENSON, 2003; CROWLEY, 1977; STEINBERG, 1968).

Nos últimos anos, um grande número de estudos prospectivos de coortes populacionais (GUSSEKLOO, 2004; IMAIZUMI, 2004, McQUADE, 2011; RODONDI, 2005; SGARBI, 2010; WALSH, 2005) e algumas meta-análises (OCHS, 2008; RAZVI, 2008; RODONDI, 2006; SINGH, 2008; VÖLZKE, 2007) observaram alguns resultados conflitantes sobre relação entre SCH, doença cardiovascular e mortalidade. Entretanto, em uma meta-análise de 11 estudos prospectivos, com 55.287 participantes individuais, foi observada uma forte associação entre SCH e risco de doença cardiovascular, bem como com maior mortalidade por doença cardiovascular aterosclerótica, independente dos fatores de risco tradicionais para aterosclerose (RODONDI, 2010).

Muitos mecanismos podem contribuir para esse aumento de risco para aterosclerose e doença cardíaca coronariana nos pacientes com SCH. À semelhança do que ocorre no OH, também o SCH pode se associar a fatores de risco tradicionais (dislipidemia, hipertensão), bem como novos fatores de risco para aterosclerose: elevação de homocisteína e proteína C-reativa (CRP), disfunção endotelial e anormalidades da coagulação (COOPER; BIONDI, 2012).

Aterosclerose é uma doença inflamatória (ROSS, 1999). Citocinas pró-inflamatórias influenciam a captação de colesterol para dentro da parede arterial e contribuem para a formação e desenvolvimento da placa de ateroma (HANSSON, 2005; LIBBY; RIDKER; HANSSON, 2011), para sua desestabilização (inibem a formação da cápsula fibrosa estável, agredem o colágeno) e iniciam a formação do trombo (AMENTO, 1991; HANSSON, 1989, LIBBY; RIDKER; HANSSON, 2009). Estresse oxidativo (OS) pode mediar a reação inflamatória e a aterosclerose, promovendo dano ou apoptose das células endoteliais (LIBBY; DI CARLI; WEISSLEDER, 2010) e erosão da placa de ateroma (SUGIYAMA, 2004).

A inflamação de baixo grau observada nos pacientes com hipotireoidismo pode ser um dos fatores que contribuem para a disfunção endotelial (TADDEI, 2003, 2006; TÜREMEN, 2011) e para maiores níveis de OS (NANDA; BOBBY; HAMIDE, 2011; TADDEI, 2003, 2006). Placas de ateroma de pacientes com SCH sem tratamento apresentaram marcada atividade inflamatória e maiores níveis de OS, em comparação com as placas de ateroma dos controles. Essa hiperatividade imune se associou com um fenótipo de instabilidade das placas ateroscleróticas nesses pacientes (MARFELLA, 2011).

Existem evidências de que o tratamento com levotiroxina pode contribuir para a estabilização da placa de ateroma, através da inibição da ruptura da placa dependente da imunidade inata (MARFELLA, 2011) e existem evidências indiretas do benefício potencial da levotiroxina nos pacientes com SCH, observados em estudos de coorte baseados em populações (RAZVI, 2012; RODONDI, 2008).

Poucos estudos avaliaram o efeito do tratamento do hipotireoidismo sobre os marcadores de OS, com resultados conflitantes (BASKOL, 2007; BHIMTE, 2012; GERENOVA; GADJEVA, 2007; KEBAPCILAR, 2007; MEHMETÇIK; BECER; AKBEY, 2012) e sobre marcadores de inflamação sistêmica, também com resultados conflitantes (DÍEZ, 2002; GUCLU, 2009, MARFELLA, 2011).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar os mediadores sanguíneos inflamatórios e de estresse oxidativo nos pacientes com hipotireoidismo em condições basais e avaliar as modificações ao longo do tratamento com levotiroxina.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar os níveis séricos de TSH, FT4 nos pacientes com hipotireoidismo primário, em condições basais e aos seis e doze meses de tratamento. Determinar os níveis de anticorpo antiperoxidase (antiTPO Ab) e anticorpo anti tireoglobulina (antiTG Ab) apenas em condições basais.

- Nos pacientes com hipotireoidismo, avaliar os níveis sanguíneos de marcadores inflamatórios: proteína C-reativa (CRP), interleucina-1 (IL-1), interleucina-6 (IL-6), interferon-gama (IFN- γ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina-10 (IL-10), em condições basais e verificar as modificações observadas nesses níveis aos seis e doze meses de tratamento com levotiroxina.

- Nos pacientes com hipotireoidismo, determinar os níveis sanguíneos das substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS), do grupo tiol total (T-SH), grupo tiol não-proteico (NP-SH) e atividade da enzima ácido aminolevulínico desidratase (δ -ALA-D) em níveis basais e avaliar as modificações observadas aos seis e doze meses de tratamento com levotiroxina.

- Nos pacientes com hipotireoidismo, determinar os níveis séricos de colesterol total (TC), colesterol lipoproteína de alta densidade (HDL-C), colesterol lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) e triglicérides (TG) em condições basais e avaliar as modificações observadas nesses níveis aos seis e doze meses de tratamento com levotiroxina.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Fisiologia da tireóide

A glândula tireoide produz, armazena e secreta dois hormônios: triiodotironina (T3) e tetraiodotironina ou tiroxina, ou T4. A matéria prima para síntese dos hormônios é o iodo, que é captado da circulação sanguínea ativamente, por meio de um mecanismo de bomba (ROBERTS; LADENSON, 2004). Em seguida, o iodo é oxidado pelo peróxido de hidrogênio na presença da enzima tiroperoxidase e é imediatamente organificado, ligado à tirosina, um aminoácido produzido na própria célula folicular da tireoide (KIM; LADENSON, 2014). Ao final do processo de síntese, os dois hormônios são formados, T3 e T4, contendo, respectivamente, três e quatro átomos de iodo. Os hormônios ficam armazenados no lúmen do folículo tireoidiano, ligados à tiroglobulina, uma glicoproteína de alto peso molecular, principal constituinte do coloide (GUYTON; HALL, 2006; KIM; LADENSON, 2014).

Para a secreção hormonal, pequenas frações de coloide são fagocitadas no polo apical da célula, sofrem a ação de enzimas proteolíticas lisossomais e a secreção para a circulação sanguínea se faz na porção basolateral do tirócito (GUYTON; HALL, 2006, TORTORA; GRABOWINSKI, 2006). Em condições normais, a tireoide produz e secreta uma quantidade muito maior de T4 do que de T3. No tecido periférico, especialmente no fígado e nos rins, o T4 perde um átomo de iodo, localizado no anel externo da sua molécula pela ação da enzima 5´deiodase, transformando-se em T3, que é o hormônio ativo (KIM; LADENSON, 2014). Apenas 20% do T3 circulante têm origem direta da secreção pela tireoide, 80% vem da deiodação periférica do T4. A meia-vida do T4 é de oito dias, enquanto a do T3 é de aproximadamente 8 horas. Em realidade, o T4 funciona como um pré-hormônio, como uma reserva hormonal circulante e a conversão periférica de T4 em T3 é um mecanismo fisiológico que regula a ação hormonal (GUYTON; HALL, 2006).

Os hormônios tireoidianos circulam, em grande parte, ligados às proteínas séricas transportadoras (TORTORA, GRABOWINSKI, 2006). Setenta e cinco por cento a 80% do T3 e 70% do T4 circulam ligados à globulina ligadora da tiroxina,

cerca de 20% do T3 e do T4 ligam-se à albumina; aproximadamente 10% do T4 e muito pouco do T3 ligam-se à pré-albumina (KIM, LADENSON, 2014, GUYTON, HALL, 2006). Em condições normais, apenas 0,3% do T3 e 0,03% do T4 circulam sob a forma livre (FT3 e FT4), que é a forma metabolicamente ativa. A forma livre e a forma ligada às proteínas estão em equilíbrio dinâmico, mantendo trocas constantes (GUYTON; HALL, 2006).

O funcionamento da tireoide é regulado pelo TSH, que estimula todos os passos da sua atividade: divisão celular, trofismo glandular, captação de iodo, síntese e secreção hormonal. Por outro lado, a secreção de TSH pela hipófise ou glândula pituitária é controlada pelos próprios hormônios tireoidianos, através de um mecanismo de retroalimentação, como exposto na figura 1.

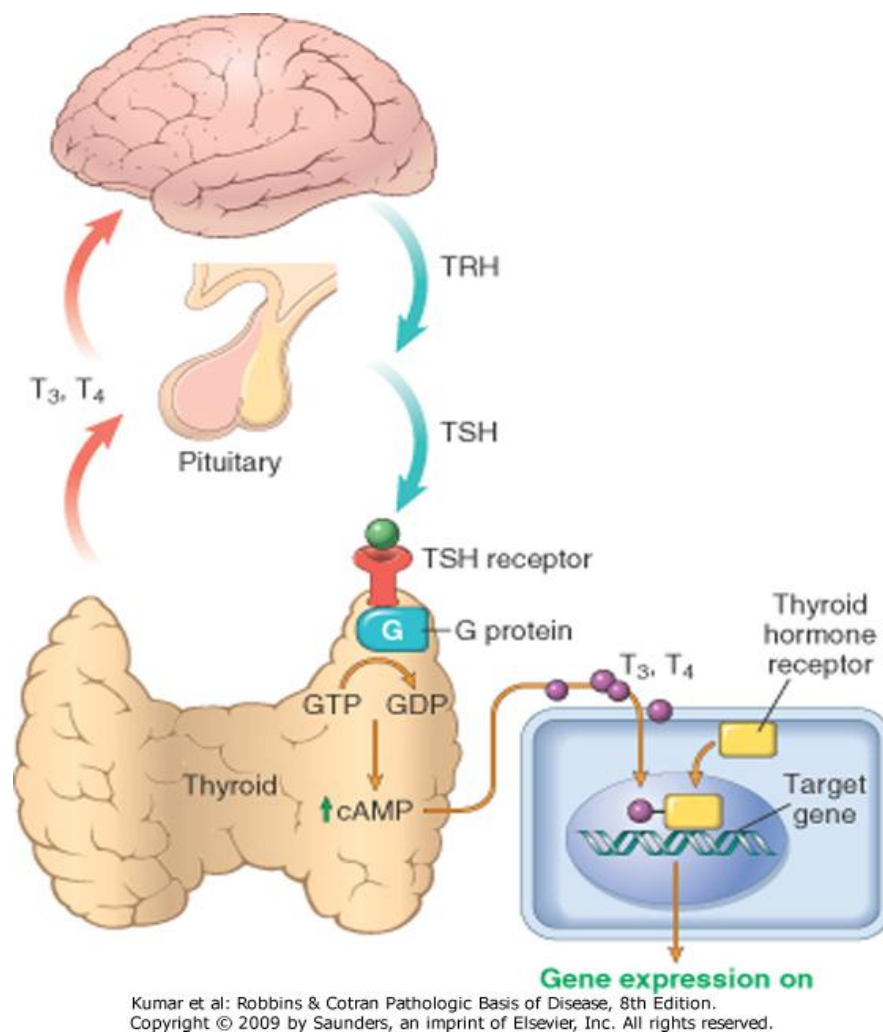


Figura 1 – Eixo hipotálamo - hipófise - tireoide.

Fonte: Adaptado de Robins & Cotran (2009).

A ação dos hormônios sobre a hipófise é o principal fator que regula a sua secreção: a diminuição da concentração de T3 e T4 provocará um aumento de TSH; o aumento dos níveis de hormônios tireoidianos induzirá diminuição ou inibição da liberação de TSH (BRENTA, 2013; GUYTON; HALL, 2006; KIM; LADENSON, 2014).

3.2 Epidemiologia e patogenia do hipotireoidismo

A tireoide é uma das maiores glândulas endócrinas do corpo e o papel dos hormônios por ela produzidos é regular o metabolismo corporal e afetar o desenvolvimento e o funcionamento de outros sistemas do organismo. O hormônio tireoidiano se liga a receptores que são membros da superfamília dos receptores nucleares, regulando a expressão dos genes responsivos ao hormônio tireoidiano (KIM; LADENSON, 2014). Como exemplos, o hormônio aumenta a expressão do receptor de LDL-C, resultando em sua degradação; aumenta a contratilidade dos miócitos através da alteração da cadeia pesada de miosina, aumenta a frequência cardíaca através da alteração da despolarização e repolarização do nó sinoatrial (GUYTON; HALL, 2006). Outros efeitos fisiológicos incluem agilidade mental, impulso ventilatório, motilidade gastrointestinal e renovação óssea (KIM; LADENSON, 2014). No período fetal e na infância, os hormônios tireoidianos são imprescindíveis para o desenvolvimento do sistema nervoso central, para o crescimento e a maturação óssea (KIM; LADENSON, 2014; GUYTON; HALL, 2006).

Hipotireoidismo é o quadro clínico e laboratorial decorrente da deficiência total ou parcial da ação dos hormônios tireoidianos e pode ser classificado conforme o nível responsável pela disfunção em primário, quando houver doença afetando a própria glândula tireoide; secundário, quando for de causa hipofisária e terciário, quando for consequente a um problema no hipotálamo (ROBERTS; LADENSON, 2004; WOEBER, 2000). O hipotireoidismo primário corresponde a mais de 95% dos casos e é o objeto de estudo deste trabalho.

Hipotireoidismo primário pode ser classificado em hipotireoidismo evidente (OH) ou subclínico (SCH). Um valor elevado de TSH, em combinação com um valor de FT4 abaixo do normal, caracteriza o OH, enquanto SCH é caracterizado por um

nível sérico de TSH acima do limite superior de referência, em combinação com nível normal de FT4. (BRENTA, 2013; GARBER, 2012).

O hipotireoidismo evidente ocorre em 0,3% da população geral, atingindo 1,7% em indivíduos com mais de 65 anos e até 2% em mulheres com mais de 60 anos de idade (CANARIS, 2000; HOLLOWELL, 2002; PARLE, 1991; SAWIN, 1985). A prevalência de SCH na população geral é de aproximadamente 4,3 % a 10%, sendo maior em mulheres e idosos (CANARIS, 2000; HOLLOWELL, 2002; PARLE, 1991; VANDERPUMP, 1995), atingindo 20% em mulheres com mais de 65 anos e até 16% dos homens e 21% das mulheres com mais de 74 anos de idade (CANARIS, 2000).

As taxas de prevalência observadas no Brasil são semelhantes (SICHIERI 2007; SGARBI, 2010). Em uma amostra representativa de 1220 mulheres adultas da cidade do Rio de Janeiro, a prevalência de TSH elevado foi de 12,3% e atingiu 19,1% entre mulheres com mais de 70 anos de idade (SICHIERI, 2007). Em outro estudo, envolvendo uma população de 1110 nipo-brasileiros maiores de 30 anos de idade, sem história de doença tireoidiana ou uso de medicação, a prevalência de SCH foi de 8,7%. Entretanto, em um estudo epidemiológico com amostra de 1373 idosos residentes em área pobre de São Paulo, a prevalência de OH foi de 5,7%, (sendo de 5,9% no sexo feminino e 5,4% no sexo masculino), enquanto a prevalência de SCH foi de 6,5% (6,7% no sexo feminino e 6,1% no sexo masculino), evidenciando não haver diferença nas taxas de prevalência de acordo com o gênero, como observada nos demais estudos (BENSEGÑOR, 2011). Também foi observado que somente 9% dos homens tinha conhecimento desse diagnóstico, em comparação com 40% das mulheres (BENSEGÑOR, 2011).

A causa mais comum de hipotireoidismo primário, tanto o OH como o SCH, é a tireoidite crônica autoimune, também conhecida como tireoidite de Hashimoto (BRENTA, 2013; GARBER, 2012; WOEBER, 2000). Caracteriza-se pela infiltração difusa da glândula com linfócitos T sensibilizados, níveis séricos elevados de anticorpos antitireoide, evidência de bócio ou atrofia glandular e disfunção tireoidiana frequente, em graus variados (GARBER, 2012). As células T induzem apoptose das células foliculares, destruição progressiva da arquitetura glandular e consequente disfunção, o hipotireoidismo (figura 2) (WEETMAN, 2004). A etiologia da tireoidite de Hashimoto ainda não é conhecida, mas a interação entre susceptibilidade genética e fatores ambientais parece ser importante para iniciar o processo de autoimunidade

(SGARBI; MACIEL, 2009). A presença de anticorpos antitireoide confirma a tireoidite autoimune como causa do hipotireoidismo (WOEBER, 2000; ROBERTS; LADENSON, 2004).

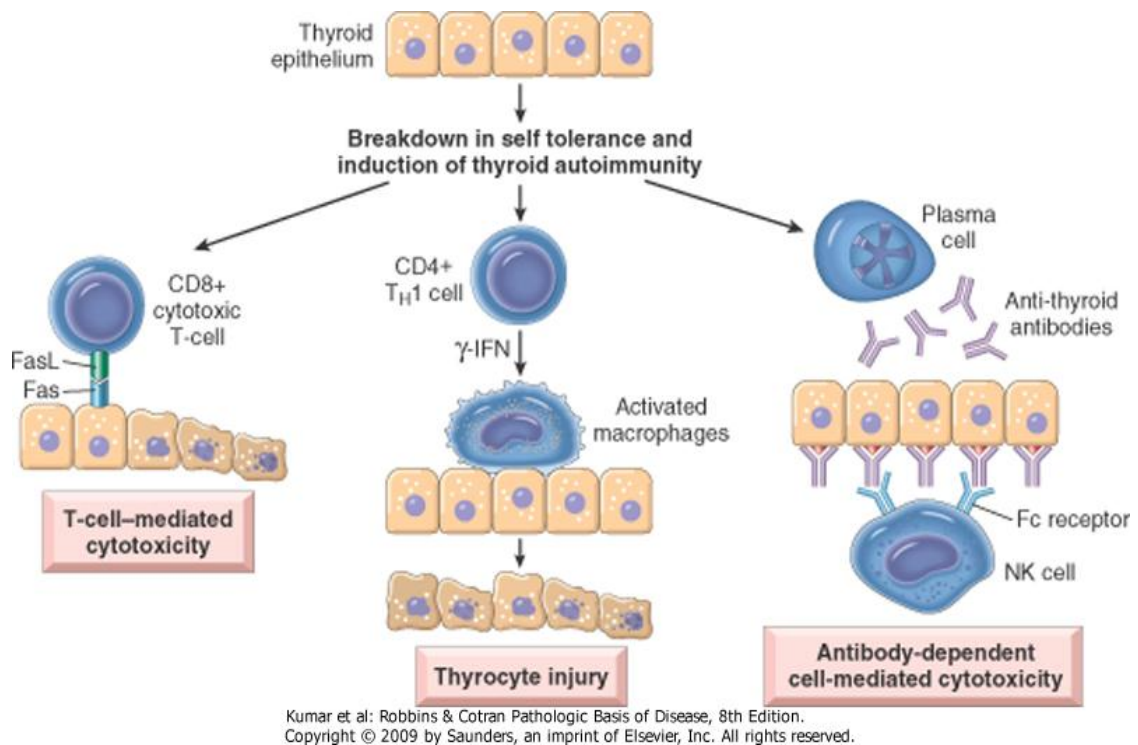


Figura 2 – Patogenia da tireoidite de Hashimoto.

Fonte: Adaptado de Robins & Cotran (2009).

O mecanismo exato da progressão da tireoidite ainda não está esclarecido. Citocinas provavelmente têm papel importante na modulação das respostas imunes que afetam o equilíbrio entre manutenção da autotolerância e iniciação da autoimunidade. Na tireoidite de Hashimoto, a resposta autoimune é mediada principalmente por citocinas Th1, como $\text{TNF}\alpha$, $\text{INF}\gamma$ e IL-2, que participam da patogênese de uma forma danosa (AJJAM, 1996, 1997; CATUREGLI, 2000; CHEN, 2007). A IL-1 β está presente em abundância na tireoidite de Hashimoto e seu papel é sugerido tanto para a perpetuação da reação autoimune como para a indução do dano tecidual (PAOLIERI, 1999). A IL-10 pode tanto suprimir como promover as respostas imunes (de WAAL MALEFYT, 1991) e alguns autores sugerem que ela

promove a resolução da tireoidite autoimune experimental, pelo menos em parte, através da produção de células T CD8+ (FANG; SHARP; BRADLEY-MULLEN, 2008).

Entretanto, o papel das citocinas na tireoidite de Hashimoto é confuso e não é independente nem exclusivo de outros mediadores imunes: uma citocina regulatória pode tanto favorecer a indução de tolerância contra a doença autoimune ou favorecer a ativação ou a exacerbação das respostas autoimunes (WEETMAN, 2003; RASMUSSEN; BENDTZEN; FELDT-RASMUSSEN, 2000; GANESH, 2011; ZALETEL, 2011).

3.3 Aterosclerose e inflamação

As doenças cardiovasculares ateroscleróticas, que englobam as doenças cardíacas, cerebrais e vasculares, são a principal causa de mortalidade e morbidade nos Estados Unidos da América (GO, 2014) e é a causa número um de morte no mundo, segundo dados da Organização Mundial da Saúde (GLOBAL ATLAS ON CARDIOVASCULAR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2011). Hipotireoidismo é uma doença prevalente e tanto o OH como o SCH podem determinar efeitos deletérios ao sistema cardiovascular (BIONDI, 2002; KLEIN; OJAMAA, 2001). Muitos mecanismos podem estar envolvidos nesse problema, entre eles, se destaca a tendência desses pacientes desenvolverem aterosclerose rapidamente progressiva (STEINBERG, 1968).

Aterosclerose é um processo crônico, que evolui ao longo de anos e a inflamação sistêmica tem papel fundamental em sua patogenia, atuando em todas as suas fases, desde o recrutamento inicial de leucócitos até a eventual ruptura da placa aterosclerótica instável, como exibido na figura 3. (LIBBY, 2002; LIBBY; DI CARLI; WEISSLEDER, 2010; LIBBY; RIDKER; HANSSON, 2011; LIBBY; RIDKER; MASERI, 2002; ROSS, 1999; WILLERSON; RIDKER, 2004).

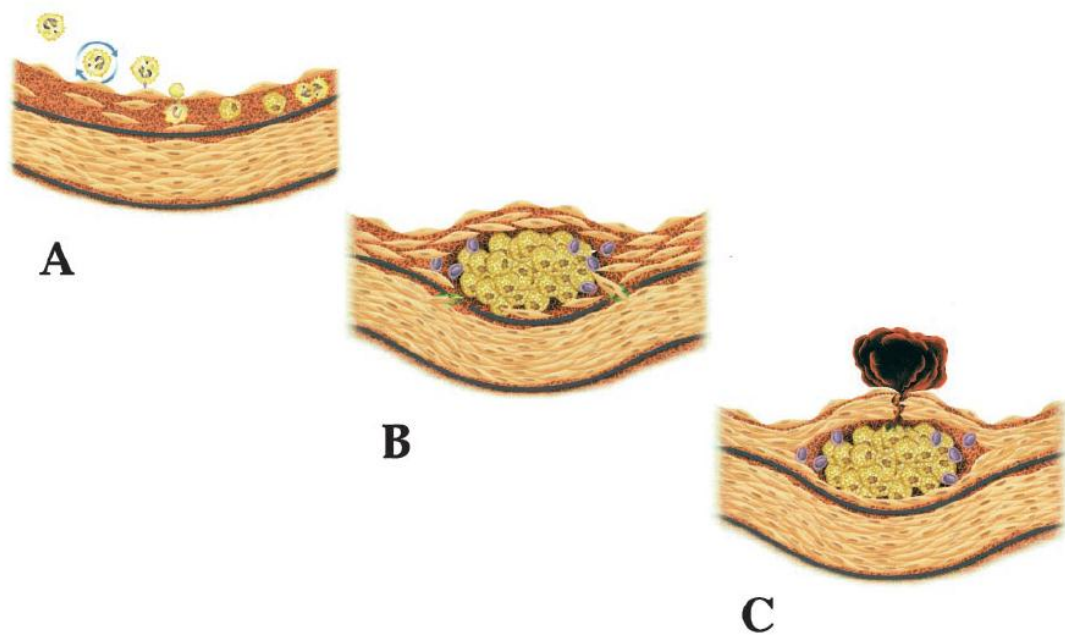


Figura 3 – Participação da inflamação em todos os estágios da aterosclerose. A: geração da placa. B: desenvolvimento da placa. C: ruptura da placa.

Adaptado de Libby; Ridker; Maseri (2002).

Provavelmente a inflamação também proporciona a via que liga os mecanismos da aterosclerose: as alterações dos fatores de risco tradicionais e as modificações na biologia da parede arterial, que darão início à aterosclerose e suas complicações (LIBBY, 2012).

Na patogênica da aterosclerose, as citocinas intermedeiam a relação entre as células inflamatórias e as células da parede dos vasos (figura 4). Citocinas, mediadores e proteínas influenciam a captação de colesterol para dentro da parede arterial e contribuem para a geração e o acúmulo da placa aterosclerótica (HANSSON, 2005; LIBBY; RIDKER; HANSSON, 2011). Além disso, a inflamação está também envolvida na desestabilização da placa e na promoção da trombose (AMENDO, 1991; HANSSON, 1989; LIBBY; RIDKER; HANSSON, 2009).

Numerosos biomarcadores circulantes que refletem esses processos inflamatórios e metabólicos e as vias envolvidas na progressão da aterosclerose se associam com risco aumentado de um evento coronariano agudo (BUCKLEY, 2009; WANG, 2011) e podem ser ferramentas úteis para predição de aterosclerose e de eventos cardiovasculares (VASAN, 2006; WELSH; PACKARD; SATTAR, 2008).

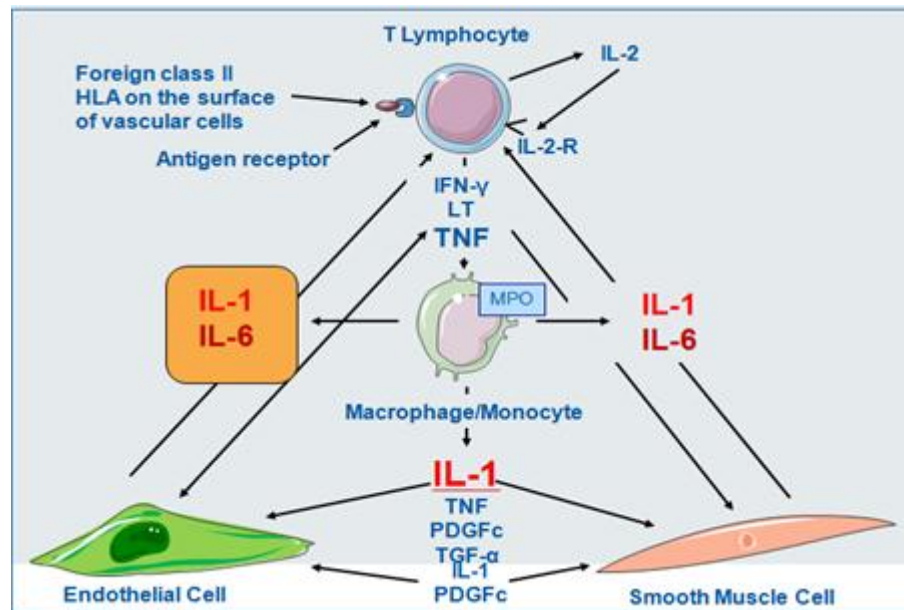


Figura 4 – Interação mediada por citocinas entre as células inflamatórias e as células das paredes dos vasos.

Fonte: Adaptado de Libby (2012).

A proteína C-reativa (CRP) é um dos marcadores mais estudados na população geral. Pode demonstrar a inflamação proveniente de uma variedade de causas e tem sido usada para avaliar o risco cardiovascular em indivíduos saudáveis e em pessoas com várias doenças estabelecidas (BUCKLEY, 2009; DANESH, 2000; RIDKER, 1997; RIDKER, 2000a; RIDKER, 2003; TSIMIKAS; WILLERSON, RIDKER, 2006). Alguns autores sugerem que a CRP, além de ser um marcador inflamatório, possa ser um mediador da aterosclerose, contribuindo diretamente para a disfunção endotelial, através da redução da produção de óxido nítrico (NO) e da sub-regulação da expressão da enzima NO sintetase endotelial (KHREISS, 2004; LIBBY; RIDKER, 2004; PASCERI; WILLERSON; YEH, 2000; VENUGOPAL, 2000; VERMA, 2002).

A maior parte da evidência epidemiológica sobre a relevância das citocinas como marcadores inflamatórios foi obtida com a IL-6 (ABEYWARDENA, 2009; DANESH, 2008; KAPTOGE, 2014, LINDMARK, 2001; RIDKER, 2000b.). Níveis cronicamente elevados de IL-6 solúvel se associam com doença cardíaca coronariana, de maneira semelhante aos principais fatores de risco já estabelecidos (DANESH, 2008). O papel causal da IL-6 na doença cardíaca coronariana é ainda incerto, mas já foi considerado por alguns estudos (IL6 GENETICS CONSORTIUM

AND EMERGING RISK FACTORS COLLABORATION, 2012; THE INTERLEUKIN-6 RECEPTOR MENDELIAN RANDOMISATION ANALYSIS (IL6R MR) CONSORTIUM, 2012).

Interleucina-1 (IL-1), interferon-gama (INF- γ) e Fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) têm papel importante no desenvolvimento e na desestabilização da placa aterosclerótica. Podem modificar o acúmulo da matriz durante a aterogênese, através da estimulação ou da supressão de colágeno e proteínas pelas células musculares lisas dos vasos (AMENTO, 1991; DANESH, 2008; HANSSON, 1989; RIDKER, 2000c). Existem indícios substanciais de que a inibição da IL-1 pode reduzir eventos vasculares recorrentes em uma população de alto risco (RIDKER, 2011). O uso de Canakinumab, um anticorpo monoclonal que neutraliza a IL-1 β , reduziu significativamente os níveis de marcadores inflamatórios (IL-6), sem produzir grandes efeitos sobre os níveis de LDL-C e HDL-C (RIDKER, 2012). Esses dados obtidos em experimentos de prevenção de doença cardiovascular em fase 3 sustentam a hipótese inflamatória da aterosclerose (RIDKER, 2012). Em pacientes com angina pectoris estável, os marcadores sistêmicos de INF- γ predisseram o prognóstico em longo prazo, independentemente dos níveis de CRP e de outros fatores de risco tradicionais (PEDERSEN, 2011). Citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10, contrabalançam as vias inflamatórias (LIBBY; RIDKER; HANSSON, 2011).

Alguns autores recentemente observaram que níveis circulantes de diferentes citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL18, TNF- α) em pessoas inicialmente saudáveis se associaram de maneira exponencial com o risco para doença cardíaca coronariana (KAPTOGE, 2014). Essas associações foram altamente independentes dos fatores de risco tradicionais e dos fatores emergentes de risco para doença cardiovascular aterosclerótica. Os mesmos autores sugeriram que, para cada nível basal de IL-6, IL-18 e TNF- α , maior que um desvio-padrão, o risco de infarto do miocárdio não fatal ou de morte por doença cardíaca coronariana foi 10-25% maior (KAPTOGE, 2014). Esses dados reforçam a hipótese inflamatória da doença cardiovascular aterosclerótica e abre uma expectativa positiva pela crescente pesquisa sobre citocinas como alvo potencial de novas drogas (KAPTOGE, 2014).

Há evidências de que pacientes com doenças inflamatórias crônicas, como a artrite reumatoide, apresentam maior incidência de doenças cardiovasculares e morbidade cardiovascular (HANSSON; HERMANSSON, 2011; SYMMONS; GABRIEL, 2011), o que também reforçaria o papel da inflamação na promoção da

aterosclerose. Dados não randomizados a partir de registros de medicamentos biológicos sugerem que a terapia de bloqueio do TNF- α poderia reduzir o risco cardiovascular nesses pacientes (Mc KELLAR, 2009). Alguns autores, entretanto, não observaram menor incidência de infarto do miocárdio em pacientes com artrite reumatoide em tratamento com anti-TNF- α , quando comparados com os pacientes com artrite reumatoide em tratamento com medicamentos convencionais (DIXON, 2007). Contudo, aqueles pacientes com artrite reumatoide que apresentaram supressão da doença articular com a terapia anti-TNF- α apresentaram menor risco de infarto do miocárdio, em comparação com os pacientes não-respondedores (DIXON, 2007).

Estresse oxidativo e a produção de ROS podem mediar a inflamação e a aterosclerose, promovendo dano ou apoptose de células endoteliais (LIBBY; DI CARLI; WEISSLEDER, 2010). O ácido hipocloroso, derivado dos macrófagos mieloperoxidase positivos no subendotélio da placa ateromatosa, pode participar da síndrome coronariana aguda, promovendo a trombogenicidade e a erosão da superfície da placa (SUGIYAMA, 2004).

Níveis séricos de substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico (TBARS) foram fortemente preditivos de eventos cardiovasculares em pacientes com doença arterial coronariana estável, independentemente dos fatores de risco tradicionais e de marcadores inflamatórios (WALTER, 2005). O nível plasmático de grupo tiol oxidado e reduzido foi preditor independente para a presença de aterosclerose precoce em pessoas saudáveis, achado que reforça o papel do OS na patogenia da aterosclerose bem como salienta o papel desse marcador em identificar precocemente os indivíduos assintomáticos com risco de doença cardiovascular aterosclerótica (ASHFAQ, 2006).

O ambiente pró-oxidação, observado nos pacientes com hipotireoidismo, resultante dos níveis elevados de espécies reativas de oxigênio (ROS), pode ter papel na patogenia da aterosclerose (BASKOL, 2007).

3.4 Repercussões clínicas do hipotireoidismo

Não existem sinais ou sintomas específicos de hipotireoidismo (ROBERTS, LADENSON, 2004). As principais manifestações clínicas da deficiência de

hormônios tireoidianos são: astenia, embotamento mental, sonolência, intolerância ao frio, pele seca e descamativa, fragilidade dos cabelos, ganho de peso, dores vagas, câimbras, constipação intestinal, alterações menstruais. Surgem de maneira insidiosa e geralmente são atribuídos ao envelhecimento. (KIM, LADENSON, 2014). À medida que a doença se torna mais estabelecida, pode haver um fascies característico, com edema periorcular mais evidente, mixedema generalizado (deposição secundária de glicosaminoglicanos e líquido nos tecidos), rouquidão, fraqueza muscular, parestesias, hiporreflexia (caracterizada pelo aumento do tempo de relaxamento dos reflexos tendinosos), anemia, sintomas neuropsiquiátricos, alterações cardiovasculares e derrame pericárdico (WOEBER, 2000). Hipotireoidismo acentuado não tratado pode levar ao coma e graves repercussões cardiovasculares e psiquiátricas (ROBERTS; LADENSON, 2004).

Hipotireoidismo evidente se associa com modificações na hemodinâmica cardiovascular, aumento da resistência vascular sistêmica, com redução do fator de relaxamento do endotélio, diminuição da contratilidade cardíaca e do débito cardíaco (BIONDI, 2002; KLEIN; OJAMAA, 2001) e alterações na expressão gênica dos miócitos (DANZI; KLEIN, 2002; DANZI; OJAMAA; KLEIN, 2003). Hipotireoidismo e doença autoimune da tireoide têm sido associados à hipertensão pulmonar primária, uma doença progressiva que leva à insuficiência cardíaca direita e morte prematura (McLAUGHLIN, 2009; CHU, 2002). Um estudo demonstrou uma prevalência elevada de hipotireoidismo (22,5%) em pacientes com hipertensão pulmonar primária (CURNOCK, 1999).

De uma maneira importante, OH também se associa com aterosclerose progressivamente acelerada e doença cardíaca coronariana (CAPPOLA; LADENSON, 2003; CROWLEY, 1977; STEINBERG, 1968). Essas situações podem ser resultantes de fatores de risco tradicionais, como a hipercolesterolemia (DUNTAS, 2002; EVERED, 1973; MORRIS, 2001) e a hipertensão diastólica observada nesses pacientes (DANZI; KLEIN, 2003; FOMMEI; IERVASI, 2002; KOTSIS, 2007; SAITO; ITO; SARUTA, 1983; STREETEN, 1988).

Novos fatores de risco de doença cardiovascular e cerebral aterosclerótica também foram identificados no OH: níveis elevados de CRP (CHRIST-CRAIN, 2003; MA, 2012; NAGASAKI, 2007; NANDA; BOBBY; HAMIDE, 2011), níveis elevados de homocisteína (CHRIST-CRAIN, 2003; MORRIS, 2001) e anormalidades na coagulação (CHADAREVIAN, 2001; GULLU, 2005; SQUIZZATO, 2007; QURESHI,

2006). Há evidências de que tireoidite de Hashimoto possa ser fator de risco independente para doença arterial coronariana em pacientes com OH (ATTA, 2011).

Sabe-se que o endotélio exerce um papel importante no tônus vascular, na homeostasia vascular, na proliferação das células musculares lisas dos vasos e no equilíbrio entre trombose e trombólise, através da produção de um grande número de produtos químicos vasoativos, de moduladores de crescimento e outros fatores que medeiam essas funções (QUYYUMI, 1998). Disfunção endotelial pode ser definida como a perda parcial ou total deste equilíbrio entre fatores vasoconstritores e vasodilatadores, fatores inibidores ou promotores de crescimento, fatores pró-aterogênicos e antiaterogênicos e de fatores pró-coagulantes e anticoagulantes (QUYYUMI, 1998). A disfunção endotelial é considerada um evento precoce no processo da aterosclerose (ROSS, 1999) e já foi identificada nos pacientes com hipotireoidismo (BIONDI; KLEIN, 2004; KIM, 2009; KLEIN, 2007; NAGASAKI, 2003, 2007, 2009; OWEN; SABIT; LAZARUS, 2007).

Hipotireoidismo subclínico passou a ser considerado um fator de risco independente para doença cardiovascular aterosclerótica a partir de um grande estudo transversal randomizado que observou maior prevalência de aterosclerose aórtica e infarto do miocárdio em mulheres com mais de 55 anos e com diagnóstico de SCH (HAK, 2000). Desde então, SCH tem sido associado com risco aumentado de doença cardíaca coronariana em meta-análises e estudos prospectivos de coorte de base populacional (IMAIZUMI, 2004; McQUADE, 2011; OCHS, 2008; RAZVI, 2008, 2010; RODONDI, 2010; WALSH, 2005), associado com mortalidade cardiovascular (OCHS, 2008; RAZVI, 2008, 2010; RODONDI, 2010; TSENG, 2012) e com mortalidade por todas as causas (IMAIZUMI, 2004; McQUADE, 2011; SGARBI, 2010, TSENG, 2012). Também existem evidências de que o SCH possa levar ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca (GENCER, 2012; NANCHEN, 2012; RODONDI, 2005; 2008).

Entretanto, um estudo que analisou nove coortes com 1580 indivíduos com SCH observou que o risco relativo de mortalidade por todas as causas é aumentado somente naqueles pacientes com comorbidades (HAENTJENS, 2008). Contribuindo para a controvérsia a respeito do risco cardiovascular no SCH, outros estudos prospectivos de base populacional e meta-análises não observaram maior incidência de doença cardíaca coronariana (BOECKHOLDT, 2010; CAPPOLA, 2006; GUSSEKLOO, 2004; RODONDI, 2005; SGARBI, 2010) ou maior mortalidade

cardiovascular ou por todas as causas, (BOECKHOLDT, 2010; CAPPOLA, 2006; FLYNN, 2006; RODONDI, 2005; VÖLZKE, 2007), nesses pacientes.

Esse risco aumentado de doença cardiovascular aterosclerótica no SCH, à semelhança do que ocorre no OH, pode ser decorrente de sua associação com alguns fatores de risco para aterosclerose, como alterações na hemodinâmica cardiovascular, hipertensão arterial, dislipidemia, distúrbios da coagulação, elevação de CRP, disfunção endotelial, entre outros (COOPER; BIONDI, 2012).

Os pacientes com SCH podem apresentar alteração da função sistólica do ventrículo esquerdo (BIONDI, 2007; VITALE, 2002), mas a alteração mais consistente é a disfunção diastólica do ventrículo esquerdo observada ao repouso e durante o exercício (BIONDI, 1999; BRENTA, 2003; MONZANI, 2001; KOSAR, 2005). A função ventricular direita no SCH tem sido intensamente investigada e alguns estudos, que incluíram pacientes mais jovens e com níveis médios mais elevados de TSH, demonstraram diferenças mensuráveis nos parâmetros ecocardiográficos do ventrículo direito, entre pacientes com SCH e controles (KOSAR, 2005; TURHAM, 2006; ZONCU, 2005). Também a função vascular pode ser afetada, com prejuízo do relaxamento das células musculares lisas dos vasos e consequente aumento da resistência vascular sistêmica e rigidez arterial (OWEN; SABIT; LAZARUS, 2007; FAZIO, 2004; TADDEI, 2003).

Alguns estudos observaram maior prevalência de hipertensão arterial sistêmica diastólica nos pacientes com SCH do sexo feminino do que na população geral (LUBOSHITZKY, 2002; LIU, 2010). Em um grande estudo que acompanhou 2376 pacientes com SCH ao longo de 20 anos, os níveis de pressão arterial sistólica e diastólica, em condições basais, foram maiores nos pacientes com SCH do que nos controles; entretanto, após análise de regressão múltipla e ajustes para outros fatores de risco para doença cardíaca isquêmica, observou-se que SCH associou-se significativamente somente com pressão arterial sistêmica sistólica aumentada (RAZVI, 2010). Na coorte EPIC-Norfolk, que avaliou 11554 homens e mulheres com idade entre 45 e 79 anos, as mulheres com SCH apresentaram maiores níveis de pressão arterial sistólica do que os controles, muito embora não apresentassem risco estatisticamente significativo mais elevado de doença cardíaca coronariana e de mortalidade por todas as causas (BOECKHOLDT, 2010).

Hiperlipidemia no SCH é um tema controverso (CAPPOLA, LADENSON, 2003; DUNTAS, 2002). Alguns estudos observaram alteração do perfil lipídico em

pacientes com SCH, especialmente elevação de CT e LDL-C (BOECKHOLDT, 2010; CANARIS, 2000; CARACCIO, 2002; EFSTATHIADOU, 2001; KIM, 2009; MONZANI, 2004; POYRAZOGLU, 2009; TIAN, 2010; TÜREMEN, 2011; TUZCU, 2005), elevação de CT (RAZVI, 2010), elevação de LDL-C (DUNTAS; MANTZOU; KOUTRAS, 2002; HERNÁNDEZ-MIJARES, 2012; STAUB, 1992), elevação de TG e TC/HDL-C (LUBOSHITZKY, 2002), elevação de TG (HERNÁNDEZ-MIJARES, 2012; KVETNY, 2004), e redução de HDL (HERNÁNDEZ-MIJARES, 2012). Muitos estudos, entretanto, não evidenciaram perfil lipídico alterado em relação aos indivíduos controles (BELL, 2007; CHRIST-CRAIN, 2003; HAK, 2000; HUESTON; PEARSON, 2004; LUBOSHITZKY; HERER, 2004; VIERHAPPER, 2000).

Em estudo transversal, realizado com 226 pessoas (133 portadores de SCH, 33 pacientes com OH e 70 controles), foi observado que os pacientes com SCH apresentaram perfil lipídico intermediário entre o observado em indivíduos normais e o perfil lipídico usualmente observado no OH (TEIXEIRA, 2008). Alguns autores consideram que o risco de dislipidemia em pacientes com SCH é maior naqueles pacientes que apresentam nível de TSH maior que 10 μ IU /L (DANESE, 2000; MEIER, 2001; HERNÁNDEZ-MIJARES, 2012) e em pacientes fumantes (DUNTAS; MANTZOU; KOUTRAS, 2002; MÜLLER, 1995).

A associação do SCH com fatores de risco não tradicionais para aterosclerose e doença cardíaca e cerebral aterosclerótica ainda é motivo de controvérsia. Hiperhomocisteinemia (ADREES, 2009) e alteração dos parâmetros de coagulação (CHADAREVIAN, 2001; CANTÜRK, 2003; GULDIKEN, 2005; GULLU, 2005; JORDE; FIGENSCHAU; HANSEN, 2006) podem ter potencial associação com SCH. Existem evidências de disfunção endotelial em pacientes com SCH (OWEN; SABIT; LAZARUS, 2007; TÜREMEN, 2011) com demonstração de aumento da espessura da camada médio-intimal carotídea (KIM, 2009; MONZANI, 2004; NAGASAKI, 2003) e aumento da velocidade de onda de pulso (NAGASAKI, 2006; 2009). O exame de medida da espessura da camada médio-intimal da artéria carótida comum (intima-media thickness of the common carotid artery) é uma avaliação bem estabelecida de modificações vasculares ateroscleróticas e um bom método preditor independente de eventos vasculares (BALDASSARE, 2012). O exame de velocidade de onda de pulso é um parâmetro de rigidez arterial e um bom preditor independente da presença de doença arterial coronariana (YAMASHINA, 2002).

Há indicações de que a inflamação sistêmica de baixo grau observada nos pacientes com SCH determina aumento do OS e disfunção endotelial, com prejuízo da vasodilatação dependente do endotélio como resultado da redução da disponibilidade de NO pela via dependente da ciclooxigenase- 2 (COX-2) (TADDEI, 2006).

À semelhança do observado no OH, Christ-Crain et al. (2003) também observaram elevação de CRP nos pacientes com SCH, mas estudos posteriores obtiveram resultados conflitantes. Alguns evidenciaram níveis elevados de CRP nos pacientes com SCH, em comparação com indivíduos controles (KEBAPCILAR, 2007; KVETNY, 2004; OZCAN, 2005; POYRAZOGLU, 2009; TADDEI, 2006; TIAN, 2010; TÜREMEN, 2011; TUZCU, 2005), enquanto outros autores não observaram diferença entre os dois grupos (AKSOY, 2013; BELL, 2007; BEYHAN, 2006; HUESTON; KING; GEESEY, 2005; LEE, 2004; LUBOSHITZKY, 2004; TORUN, 2009; TORUNER, 2008).

Alguns autores demonstraram correlação significativa entre concentrações elevadas de CRP e os níveis basais de TSH e FT4, sugerindo associação entre função tireoidiana, inflamação sistêmica e doenças cardiovasculares (KEPBAPCILAR, 2007; KVETNY, 2004; NANDA, 2011; TUZCU, 2005). Outros estudos, entretanto, não observaram correlação entre CRP e hormônios tireoidianos (CHRIST-CRAIN, 2003; NAGASAKI, 2007; OZCAN, 2005). Não foi observada correlação entre CRP e tireoidite autoimune (CHRIST-CRAIN, 2003; NAGASAKI, 2007; WELLS; HUESTON, 2005). Também não houve correlação entre níveis basais de CRP e níveis lipídicos e fatores hemodinâmicos (NAGASAKI, 2007), tornando pouco provável a hipótese de que essas alterações induzidas pelo hipotireoidismo possam estar envolvidas no aumento do marcador inflamatório.

Alguns estudos observaram correlação significativa entre níveis elevados de CRP e parâmetros de rigidez arterial, tanto no OH (NAGASAKI, 2007), como no SCH (TIAN, 2010), fortalecendo o papel do hipotireoidismo no risco cardiovascular aumentado observado nesses pacientes (pode representar um sinal precoce de processo aterosclerótico antes da doença vascular se tornar clinicamente evidente). Entretanto, outros pesquisadores identificaram correlação significativa de níveis elevados de CRP somente com índice de massa corporal (CHRIST-CRAIN, 2003; LUBOSHITZKY; HERER, 2004), enquanto Aksoy, et al. (2013) apesar da ausência de qualquer diferença entre o grupo controle e os pacientes com SCH,

demonstraram correlação significativa entre CRP e parâmetros relacionados ao peso corporal.

Alguns estudos prévios observaram associação entre hipotireoidismo e elevação de citocinas inflamatórias. Foi demonstrada associação entre níveis plasmáticos elevados de IL-6 e redução da disponibilidade do NO e disfunção endotelial em pacientes com SCH, em comparação com controles (TADDEI, 2006). Outro estudo também observou disfunção endotelial e níveis séricos significativamente elevados de IL-6 e TNF- α em pacientes com SCH e tireoidite autoimune, em comparação com controles (TÜREMEN, 2011). Indivíduos com SCH não tratado, que foram submetidos à tromboendarterectomia devido à acentuada estenose da artéria carótida interna, apresentaram níveis plasmáticos mais elevados de TNF- α , IL-6 e de interleucina-18, e suas placas ateroscleróticas apresentaram uma reação inflamatória ativa, com níveis elevados de TNF- α , além de outras características de instabilidade, quando comparados com os indivíduos do grupo controle (MARFELLA, 2011).

3.5 Hipotireoidismo e estresse oxidativo

O grande desafio à homeostasia e integridade dos organismos aeróbios inicia com as espécies químicas que possuem um ou mais elétrons não pareados nas suas órbitas externas, chamados radicais livres (HALLIWELL, 1989). Estresse oxidativo é um termo introduzido por Sies, em 1985 e refere-se a qualquer situação onde exista um desequilíbrio entre a produção de radicais livres ou espécies reativas de oxigênio (ROS), chamadas de carga oxidativa, e o sistema de defesa antioxidante do organismo (CADENAS; SIES, 1985). A carga oxidativa é descrita como “medida do nível de estado estacionário de radicais reativos de oxigênio ou de radicais de oxigênio num sistema biológico” (BAYNES, 1991). OS tem sido definido como “alteração do equilíbrio pro oxidante - antioxidante em favor do primeiro, levando ao dano potencial de estruturas” (CADENAS; SIES, 1985).

ROS podem causar danos às estruturas básicas da célula. Podem reagir com macromoléculas, tais como lipídeos, proteínas e moléculas DNA, com degradação de células das membranas e ativação ou inativação excessivas de enzimas

(HALLIWELL; CHIRICO, 1993; HALLIWELL, 2006). Os efeitos derradeiros da atividade das ROS incluem mutações, disfunção metabólica e envelhecimento da célula, que, por sua vez, podem causar o desenvolvimento de processos inflamatórios, oncogênese e prejuízo do funcionamento de órgãos (BAYNES, 1991; MAGDER, 2006; STAHL; HALLIWELL; LONGHURST, 1992; STORZ, 2005).

Hormônios tireoidianos estão envolvidos na regulação do metabolismo basal e no metabolismo oxidativo (BRENT, 1994; KLEIN, 2007). Eles determinam modificações no número e na atividade dos componentes da cadeia respiratória mitocondrial, o que pode resultar em geração aumentada de ROS (MANO, 1995; GUERRERO, 1999). Estudos experimentais iniciais indicavam que somente o hipertireoidismo se associava com produção aumentada de radicais livres e de níveis elevados de peroxidação lipídica (ASAYAMA, 1987; VENDITTI, 1997).

No hipotireoidismo, por outro lado, com a redução dos níveis de hormônios tireoidianos e conseqüente redução do metabolismo basal, seria de se esperar uma diminuição no consumo mitocondrial de oxigênio, menor geração de ROS, menores níveis de peroxidação lipídica e de oxidação proteica (FAURÉ, 1991; MANO, 1995; PEREIRA, 1994). Entretanto, outros estudos experimentais mais recentes observaram níveis elevados de peroxidação lipídica no sangue (DUMITRIU, 1988; SARANDOL, 2005) e nos tecidos (YILMAZ, 2003; SARANDOL, 2005), no hipotireoidismo.

A pesquisa clínica a respeito de OS no hipotireoidismo tem sido intensa nos últimos anos, devido sua importância epidemiológica e o risco aumentado desses pacientes desenvolverem aterosclerose. Não existe concordância sobre os efeitos dos hormônios tireoidianos sobre os marcadores de OS, tampouco sobre os mecanismos envolvidos quando é observada tal associação. Coria et al. (2009), analisando 81 mulheres com hipotireoidismo (SCH e OH), com idades entre 18 e 45 anos, não observaram diferença nos níveis de TBARS e atividade da paraoxonase/ arilesterase (PON-1), em comparação com as pacientes do grupo controle (CORIA; PASTRÁN; GIMENEZ, 2009). De maneira semelhante, Kebapçilar et al. (2007) não observaram diferença quanto aos níveis de TBARS entre 28 pacientes femininas com SCH, em comparação com os controles.

Muitos estudos, entretanto, observaram OS nos pacientes com OH (AL RUBAE; AL MUSAWI, 2011; BASKOL, 2007; CARMELLI, 2008; ERDAMAR, 2008; GERENOVA; GADJEVA, 2007; HARIBABU, 2012; MA, 2012; NANDA, 2007;

NANDA; BOBBY; HAMIDE, 2008a, 2008b, 2011, 2012; OZTURK, 2012; RESCH, 2002; ROSTAMI, 2013; SANTI, 2010; TORUN, 2009; TSOTSONOVA, 2007) e nos pacientes com SCH (CEBECI, 2012; HARIBABU, 2012; OZCAN, 2005; OZTURK, 2012; SANTI, 2012; TORUN, 2009).

O mecanismo exato pelo qual ocorre o OS nesses pacientes ainda não é conhecido, mas provavelmente deve ser multifatorial. Parece haver um ambiente pró-oxidante, com níveis elevados de ROS, marcadores de peroxidação lipídica e proteína carbonila e status antioxidante deficiente nos pacientes com OH e SCH (AL RUBAE; AL-MUSAWI, 2011; CEBECI, 2012; ERDAMAR, 2008; NANDA, 2007; RESCH, 2002; TORUN, 2009; TSOTSONOVA, 2007). Segundo Baskol et al. (2007) o aumento dos níveis de ROS no hipotireoidismo pode resultar num ambiente pró-oxidação, que por sua vez, determinaria a redução da atividade antioxidante da PON1. Alguns estudos observaram redução da capacidade antioxidante total desses pacientes (BHIMTE, 2012; CARMELLI, 2008; GERENOVA; GADJEVA, 2007; ROSTAMI, 2013). Alguns autores consideram que a redução da glutatona sérica é a marca característica dos eventos que levam à ativação do OS e ao desenvolvimento da alteração imunológica na tireoidite de Hashimoto (ROSTAMI, 2013).

Em alguns estudos, a hiperlipidemia foi a influência mais forte para desenvolvimento de OS nos pacientes com OH (NANDA, 2007; NANDA; BOBBY; HAMIDE, 2008a; SANTI, 2010) e com SCH (SANTI, 2012). Diminuição da remoção do colesterol, efeitos dos hormônios tireoidianos sobre a regulação das enzimas antioxidantes (PEREIRA, 1994; ARAÚJO, 2011) e excesso de TSH (DARDANO, 2006; NANDA; BOBBY; HAMIDE, 2008b, ÖZTÜRK, 2012) são outros mecanismos propostos para explicar a associação hipotireoidismo e OS.

Níveis aumentados de TSH e aumento da peroxidação lipídica podem estar simultaneamente envolvidos na elevação da carbonilação proteica observada no hipotireoidismo (HARIBABU, 2012). Também foi observado que níveis elevados de TSH e o perfil lipídico alterado mutuamente influenciam o OS nesses pacientes (NANDA; BOBBY; HAMIDE, 2008a, 2011). Öztürk et al. (2012), identificaram níveis elevados de OS no soro e na fração de LDL nos pacientes com OH. Nos pacientes com SCH, entretanto, OS foi identificado somente no soro, sugerindo que a oxidação de LDL pode se relacionar com o grau de hipotireoidismo (ÖZTURK, 2012).

A observação de níveis mais elevados de TBARS nos pacientes com hipotireoidismo com títulos elevados de anticorpos antiperoxidase, em comparação

com os pacientes com hipotireoidismo sem títulos elevados de anticorpos dá indícios de que a autoimunidade pode ser um dos mecanismos contribuintes para OS aumentado no hipotireoidismo (NANDA; BOBBY; HAMIDE, 2012). Alguns autores observaram maiores níveis de OS (NANDA; BOBBY; HAMIDE, 2008b) e maior prejuízo da capacidade antioxidante (CARMELLI, 2008) em pacientes com hipotireoidismo do sexo masculino, o que poderia ser atribuído, pelo menos em parte, ao fato de que esses pacientes apresentavam maior peso corporal (NANDA; BOBBY; HAMIDE, 2008b).

Marfella et al. (2011), observaram concentrações elevadas de nitrotirosina nas placas ateroscleróticas dos pacientes com SCH, em comparação com as placas de indivíduos controles. Esses níveis de OS foram fortemente dependentes dos níveis de TSH, refletido pela correlação estatisticamente significativa entre níveis de TSH e os níveis de nitrotirosina nas placas (MARFELLA, 2011).

O restabelecimento da função endotelial pela administração sistêmica de indometacina (um inibidor da COX), ou pela infusão local de vitamina C (um antioxidante), reforça a ideia de que OS possa ser o elo potencial entre inflamação, disfunção endotelial e aumento do risco cardiovascular observados nos pacientes com hipotireoidismo (TADDEI, 2006). Essas associações foram corroboradas por outros autores (NANDA; BOBBY; HAMIDE, 2011; TADDEI, 2006; TÜREMEN, 2011).

3.6 Tratamento do hipotireoidismo e suas repercussões

O tratamento do OH é vitalício, deve ser mantido pelo resto da vida do indivíduo. A droga de escolha é a levotiroxina, porque é bem absorvida e porque sua conversão para L-triiodotironina é feita adequadamente pelos tecidos (WOEBER, 2000). Sua ligação às proteínas plasmáticas lhe concede uma meia vida de sete dias, permitindo a posologia diária, o que facilita o tratamento crônico (KIM; LADENSON, 2014). A dose média requerida em indivíduos adultos com OH é de aproximadamente 1,6 µg /Kg/dia e deve ser ingerida em dose única pela manhã, com água, em jejum, idealmente 30 a 60 minutos antes da primeira refeição (BRENTA, 2013; GARBER, 2012). Alimentos como café expresso, proteína de soja e fibras podem prejudicar sua absorção, bem como algumas medicações, como

antiácidos, inibidores da bomba de prótons e sulfato ferroso. Se for necessário o uso simultâneo dessas medicações, elas devem ser ingeridas com diferença de horas da tomada da levotiroxina (KIM; LADENSON, 2014; WOEBER, 2000).

A intensa pesquisa dos últimos anos sobre o tratamento do SCH é reflexo da sua importância epidemiológica e da possibilidade de prevenção das doenças cardiovasculares e antecipação da redução dos seus riscos. Mas o tratamento do SCH ainda é controverso quanto aos seus benefícios, devido à falta de ensaios randomizados controlados com placebo, realizados em diferentes grupos de pacientes, de diferentes faixas etárias e condições sociais.

O tratamento é preconizado para pacientes com menos de 65 anos que apresentam risco aumentado de doenças cardiovasculares (dislipidemia, diabetes, hipertensão arterial, síndrome metabólica, doença cardiovascular prévia), especialmente se níveis de TSH forem maiores do que 7 μ IU/L. Também é recomendado nos pacientes com níveis de TSH maiores que 10 μ IU/L, pela maior probabilidade de progressão para doença manifesta, pelo maior risco de insuficiência cardíaca, maior risco de doenças cardíacas coronarianas e maior mortalidade. A presença de anticorpos antitireoide, mesmo com níveis levemente alterados de TSH, também é indicação de iniciar o tratamento pelo maior risco de desenvolver doença manifesta (BRENTA, 2013; SGARBI, 2013).

A presença de sintomas é sempre levada em conta para se indicar o tratamento no SCH. Mas os efeitos da reposição sobre o humor, cognição e qualidade de vida variaram entre diferentes estudos. Existem poucos estudos clínicos randomizados, controlados com placebo que avaliaram esses quesitos. Alguns demonstraram efeitos benéficos (COOPER, 1984; NYSTRÖM, 1988; JAESCHKE, 1996), enquanto outros não observaram benefício clinicamente relevante (KONG, 2002; JORDE, 2006; PARLE, 2010).

Poucos estudos randomizados controlados com placebo avaliaram o efeito da levotiroxina sobre o perfil lipídico nos pacientes com SCH. Alguns não observaram redução dos parâmetros (COOPER, 1984; NYSTRÖM, 1988; JAESCHKE, 1996; KONG, 2002), enquanto outros observaram efeitos favoráveis (IQBAL, 2006; RAZVI, 2007; MEIER, 2001; CARACCIO, 2002; MONZANI, 2004).

Três meta-análises mais antigas concluíram que o tratamento com levotiroxina não produziu efeito sobre os níveis de TG e HDL-C em pacientes com HSC (TANIS, 1996; DANESE, 2000; INECK, 2003), enquanto promoveu redução

dos níveis de TC e LDL-C, com efeito mais pronunciado naqueles com nível sérico de TSH basal mais elevado (INECK, 2003) e TC pré-tratamento mais elevado (TANIS, 1996; DANESE, 2000). Entretanto, uma meta-análise mais recente, baseada na metodologia Cochrane, que incluiu 12 ensaios controlados randomizados, com duração de 6 a 14 meses, observou que os efeitos benéficos do tratamento, no SCH, foram leves e restritos ao TC (VILLAR, 2007).

O efeito do tratamento com levotiroxina sobre o OS nos pacientes com hipotireoidismo é controverso. Alguns autores observaram redução dos marcadores de OS com o tratamento (BASKOL, 2007; BHIMTE, 2012; ERDAMAR, 2008; MARFELLA, 2011; OZCAN, 2005), enquanto outros estudos não evidenciaram qualquer modificação (GERENOVA; GADJEVA, 2007; KEBAPCILAR, 2007; MEHMETÇIK; BECER; AKBEY, 2012).

Em um estudo com 20 pacientes com OH, foram observados níveis séricos aumentados de MDA, nitrito, vitamina E, e a atividade da mieloperoxidase (MPO), em comparação com os controles. Após dois meses de tratamento, houve redução dos níveis de nitrito (ERDAMAR, 2008). O nitrito, um produto final estável do metabolismo do NO, converte ácido hipocloroso em espécies de cloração mais potentes e é um dos radicais livres mais abundantes no corpo.

Em um estudo com 84 pacientes com SCH, foram avaliadas as concentrações plasmáticas de CRP, L-arginina, e dimetilarginina assimétrica (ADMA) e suas relações com a produção de NO, medida no plasma como a concentração nitrito-mais-nitrato (OZCAN, 2005). Foi observado que os pacientes, em relação aos controles, apresentaram elevação dos níveis basais de CRP, em associação com redução da produção de NO. Após o uso de levotiroxina, houve redução dos níveis de ADMA e CRP, sugerindo uma ação benéfica do tratamento sobre a função endotelial e sustentando a hipótese de que a medicação melhora a vasodilatação dependente do endotélio, pela restauração da disponibilidade do NO (OZCAN, 2005). A relação causal entre a presença da disfunção tireoidiana e os níveis elevados de ADMA foi sustentada pelo efeito obtido com a reposição hormonal, bem como pela correlação positiva significativa entre níveis de TSH pré-tratamento e ADMA (OZCAN, 2005).

A relação entre os níveis séricos de MDA, PON1, NO e atividade da superóxido dismutase (SOD) foram avaliados em 33 pacientes com OH e reavaliados após o uso de levotiroxina. Foram observados níveis elevados de MDA

e NO e redução da atividade da PON1 nos pacientes, em comparação com os controles (BASKOL, 2007). Após 6 meses de uso de levotiroxina, houve redução significativa dos níveis de MDA, embora esses níveis ainda fossem significativamente maiores do que os controles. Também houve aumento significativo da atividade da PON1 em comparação com os níveis basais, mas ainda significativamente menores do que os níveis dos indivíduos do grupo controle (BASKOL, 2007).

Houve redução da capacidade antioxidante total nos pacientes com graus variados de hipotireoidismo, em relação aos controles, no estudo de BHIMTE, et al (2012). Essa redução foi proporcional ao grau de hipotireoidismo e houve melhora da capacidade antioxidante após seis semanas de levotiroxina (BHIMTE, 2012).

Alguns autores observaram que os pacientes com hipotireoidismo e tireoidite de Hashimoto, mesmo com o tratamento, mantinham OS elevado, em comparação com o grupo controle (MEHMETÇIK; BECER; AKBEY, 2012). Em um estudo com 28 pacientes femininas com SCH, os níveis de TBARS foram semelhantes aos do grupo controle e não houve modificação após o tratamento do hipotireoidismo (KEBAPCILAR, 2007). Também não houve correlação entre níveis de TBARS, lipídeos e CRP.

Geranova & Gadjeva (2007) investigaram os níveis de MDA no plasma, SOD, catalase (CAT), e glutathiona peroxidase (GPX) nos eritrócitos, em 71 pacientes com tireoidite de Hashimoto, divididos em 3 grupos: grupo 1: controles, grupo 2: pacientes com hipotireoidismo sem tratamento e o terceiro grupo, hipotireoidismo em uso de levotiroxina e concluíram que o tratamento é insuficiente para normalizar todos os parâmetros de OS nos grupos de pacientes (GERENOVA; GADJEVA, 2007).

Relembrando o estudo de Marfella et al. (2011), em que os pacientes com SCH, quando comparados com os indivíduos do grupo controle, apresentaram maiores níveis de mediadores inflamatórios no plasma e suas placas de ateroma apresentaram uma reação inflamatória ativa, maiores níveis de marcadores de OS, além de outros critérios de instabilidade. Já os pacientes com SCH tratados com levotiroxina, em comparação com os pacientes com SCH não tratados, apresentaram menores níveis de células inflamatórias, menor OS, menor número de citocinas, menor ativação do fator nuclear kappa beta, menor atividade da enzima matrix metaloproteinase-9, em associação com maior conteúdo de colágeno na

placa de ateroma. Foi observado, portanto, que os pacientes com SCH tratados com levotiroxina apresentaram placas de ateroma com fenótipo de menor instabilidade do que os pacientes com SCH sem tratamento (MARFELLA, 2011). Esses autores consideram a hipótese de que a redução da atividade inflamatória pelo tratamento com levotiroxina é dependente da redução do OS, tendo em vista que a carga inflamatória das placas se associou com baixos níveis do marcador nitrotirosina (MARFELLA, 2011).

Alguns estudos observaram efeitos benéficos do tratamento com levotiroxina sobre a função endotelial e o perfil hemodinâmico dos pacientes com OH e SCH (ADREES, 2009; KIM, 2009; MONZANI, 2004; NAGASAKI, 2007; RAZVI, 2007; TADDEI, 2003). Em um estudo, que avaliou pessoas com SCH maiores de 65 anos de idade por um período mediano de 12 anos, aqueles participantes em tratamento com levotiroxina tiveram risco significativamente menor de insuficiência cardíaca do que os participantes não tratados (RODONDI, 2008). Em outro estudo, que acompanhou indivíduos com SCH por um período de mais de 20 anos, foi observado que os pacientes em tratamento com levotiroxina apresentaram menor mortalidade por todas as causas do que os pacientes que não eram tratados (RAZVI, 2010). Em estudo mais recente, que acompanhou pacientes com SCH por 7,6 anos em média, aqueles pacientes com SCH que receberam tratamento e apresentavam idade entre 40 e 70 anos, apresentaram menor número de eventos de doença cardíaca isquêmica, em comparação com os indivíduos com mais de 70 anos de idade (RAZVI, 2012).

4 JUSTIFICATIVA

Hipotireoidismo é uma doença prevalente na população geral e tanto o hipotireoidismo evidente como o subclínico apresentam forte associação com doença cardiovascular aterosclerótica, independentemente dos fatores de risco tradicionais para desenvolvimento de aterosclerose.

Aterosclerose é uma doença inflamatória e já foram identificados níveis sanguíneos elevados de marcadores inflamatórios nos pacientes com hipotireoidismo. Também já foi observado que as placas de ateroma dos pacientes com hipotireoidismo apresentam fenótipo de instabilidade (maior atividade inflamatória, maiores níveis de estresse oxidativo e menor conteúdo de colágeno) do que as placas de ateroma dos indivíduos controles. Essa inflamação de baixo grau tem sido considerada o elo entre estresse oxidativo aumentado e o risco elevado de aterosclerose e DCV nos pacientes com hipotireoidismo.

Existem evidências de que o tratamento com levotiroxina pode contribuir para a estabilização da placa de ateroma bem como existem evidências indiretas do benefício potencial do tratamento com levotiroxina nos pacientes com SCH. Poucos estudos avaliaram o efeito do tratamento com levotiroxina sobre marcadores de estresse oxidativo, com resultados conflitantes e apenas dois estudos avaliaram o efeito da levotiroxina sobre níveis sanguíneos de citocinas no hipotireoidismo.

Conhecer os mecanismos da associação hipotireoidismo e aterosclerose trará subsídios para a implantação de estratégias clínicas que possam modificar a história natural da aterosclerose nesses pacientes.

5 MANUSCRITO

Submissão para o periódico **The BMC Endocrine Disorders**

Authors: Roseane C Marchiori, Luiz Alberto F Pereira, Alexandre A Naujorks, Diego L Rovaris, Daiane F Meinerz, Marta M M.F. Duarte and João Batista T Rocha

Dear Dr Rocha

Thank you for submitting your article. This acknowledgement and any queries below are for the contact author. This e-mail has also been copied to each author on the paper, as well as the person submitting. Please bear in mind that all queries regarding the paper should be made through the contact author.

A pdf file has been generated from your submitted manuscript and figures. We would be most grateful if you could check this file and let us know if any aspect is missing or incorrect. Any additional files you uploaded will also be sent in their original format for review.

http://www.biomedcentral.com/imedia/2451864571613679_article.pdf (970K).

For your records, please find below link(s) to the correspondence you uploaded with this submission. Please note there may be a short delay in creating this file. http://www.biomedcentral.com/imedia/4290992801613717_comment.pdf If the PDF does not contain the comments which you uploaded, please upload the cover letter again, click "Continue" at the bottom of the page, and then proceed with the manuscript submission again. If the letter will not upload, please send a copy to editorial@biomedcentral.com.

The submitting author can check on the status of the manuscript at any time by logging into 'My BioMed Central' (<http://www.biomedcentral.com/my>). In the meantime, if you have any queries about the manuscript you may contact us on editorial@biomedcentral.com. We would also welcome feedback about the online submission process. Best wishes,

The BMC Endocrine Disorders Editorial Team

Tel: +44 (0) 20 3192 2013

e-mail: editorial@biomedcentral.com

Web: <http://www.biomedcentral.com/>

Article title: Improvement of blood inflammatory marker levels in patients with hypothyroidism under levothyroxine treatment

Authors: Roseane C. Marchiori ^a, Luiz A. F. Pereira ^a, Alexandre A. Naujorks ^b, Diego L. Rovaris ^c, Daiane F. Meinerz ^d, Marta M. M. F. Duarte ^e, Joao B. T. Rocha ^d.

Author Affiliations:

a) Departamento de Clínica Médica, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima nº 1000, Cidade Universitária, Camobi, Santa Maria, RS, Brazil. CEP: 97105-900. Phone: +555532208508.

Email: rcmarchiori@gmail.com Email: lap.trevobranco@gmail.com

b) Serviço de Métodos Gráficos, Hospital Universitario de Santa Maria, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima nº 1000, Cidade Universitária, Camobi, Santa Maria, RS, Brazil. CEP 97105-900.

Phone: 17 +55 55 3220 8519.

Email: alexandre.cardio@gmail.com

c) Departamento de Genética, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves, 9500, Porto Alegre, Brazil.

Phone: +55 55 33086722.

Email: rovaris.diego@gmail.com

d) Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Toxicológica, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima nº 1000, Cidade Universitária, Camobi, Santa Maria, RS, Brazil.

Phone: +55 55 3220 9462.

Email: jbtrocha@yahoo.com.br Email: daiameinerz@hotmail.com

e) Ciências da Saúde, Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), campus Santa Maria, BR 287, Km 252, Trevo Maneco Pedroso, Boca do Monte, Santa Maria, RS, Brazil. Cx. Postal 21834, CEP 97020-001. Phone: +55 30 55 3214 2333. Email: marta.duarte@ulbra.br

Abstract

Background: There are several specific inflammatory and oxidative correlates among patients with hypothyroidism, but most studies are cross-sectional and do not

evaluate the change in parameters during the treatment. The aim of this study was to investigate the effect of levothyroxine replacement therapy on biomarkers of oxidative stress (OS) and systemic inflammation in patients with hypothyroidism.

Methods: In this prospective open-label study, seventeen patients with recently diagnosed primary hypothyroidism due to Hashimoto's thyroiditis who were not taking levothyroxine were included. The following parameters were measured in blood before and at six and twelve months of levothyroxine treatment with an average dose of 1.5 to 1.7 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$: thyroid-stimulating hormone (TSH), free thyroxine (FT4), high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), interleukin 1 (IL-1), IL-6, IL-10, interferon gamma (INF- γ), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS), activity of aminolevulinic acid dehydratase (δ -ALA-D), nonprotein and total thiol (NP-SH and T-SH) groups, total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and triglycerides (TG). Generalized estimating equation (GEE) modeling was used to analyze the effects of LRT (at pre-treatment, six months and twelve months) on those variables. The hypothyroidism status (i.e., overt or subclinical hypothyroidism) was included as a confounder in all analyses. An additional GEE post hoc analysis was made to compare time points.

Results: There was a significant decrease in TSH over time ($P < 0.0001$), (initial levels were on average 32.4 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ and 10.5 $\mu\text{IU}/\text{mL}$ at 12 months). There was a significant increase in FT4 ($P < 0.0001$) (initial levels were on average 0,8 ng/dL and 2.7 ng/dL at 12 months). There were significant changes in interleukin levels over time, with a significant increase in IL-10 ($P < 0.0001$) and significant decreases in IL-1 ($P < 0.0001$), IL-6 ($P < 0.0001$), INF- γ ($P < 0.0001$) and TNF- α ($P < 0.0001$). No significant difference in hs-CRP over time was observed ($P < 0.284$). There was a significant reduction in NP-SH ($P < 0.0001$). There was no modification of the blood levels of TBARS, ALAD and T-SH.

Conclusions: This study observed significant changes in the inflammatory profile in hypothyroid patients under treatment, with reduction of pro-inflammatory cytokines and elevation of anti-inflammatory cytokine. In these patients, a decrease in low-grade chronic inflammation may have clinical relevance due to the known connection

between chronic inflammation, atherosclerosis and cardiovascular events. At the same time, significantly reducing the levels of NP-SH may suggest that oxidative stress is a potential link between these processes.

Keywords: Hypothyroidism. Inflammation. Oxidative stress. Atherosclerosis. Hashimoto's thyroiditis. Levothyroxine

Background

The full or partial deficiency of thyroid hormone action is called hypothyroidism, which can be either overt (OH) or subclinical (SCH). SCH is characterized by a serum thyrotropin (TSH) level above the upper reference limit in combination with a normal level of free thyroxine (FT4), while OH is characterized by elevated TSH, in combination with subnormal FT4 [1]. The most common cause of primary hypothyroidism is chronic autoimmune thyroiditis, a disease also known as Hashimoto's thyroiditis [1]. It is characterized by diffuse infiltration of the gland with sensitized T lymphocytes, with gradual destruction and fibrous replacement of the thyroid parenchymal tissue, elevated serum antithyroid antibodies, evidence of goiter or thyroid glandular atrophy and dysfunction to varying degrees [2].

Hypothyroidism is a prevalent disorder [3-5], and both OH and SCH seem to exert deleterious effects on the cardiovascular system [6]. Several mechanisms may be involved in this interaction, and the increased risks of atherosclerosis and coronary heart disease are some of them [4,7]. Atherosclerosis develops over a period of years; inflammation is implicated in all of its stages (from the initial leukocyte recruitment to eventual rupture of the unstable atherosclerotic plaque) and has also been considered the link between the traditional risk factors and evident modifications in the artery wall [8].

Numerous circulating inflammatory biomarkers are associated with increased acute coronary event risk. These biomarkers may reflect pathways involved in disease progression and may thus be potential tools for predicting atherosclerosis and cardiovascular events [9]. C-reactive protein (CRP) is one of the most widely studied biomarkers in the general population and has been used to assess cardiovascular risk in both healthy subjects and people with various disorders [10].

Most epidemiological evidence on the relevance of cytokines as inflammatory markers has been obtained for interleukin (IL-6) [11,12]. Long-term circulating IL-6 levels may be associated with coronary heart disease, such as the main risk factors already established [11]. A causal role for IL-6 signaling in coronary heart disease is still elusive, but has been considered [12]. IL-1, interferon gamma (IFN- γ) and tumor necrosis factor alpha (TNF- α) are also important both the development of coronary heart disease and plaque destabilization [13-15].

TNF- α levels are significantly higher in patients with myocardial infarction than in controls, and patients with persistently higher levels in the post-infarction period are at a 3 fold higher risk of developing new coronary episodes [15]. There is substantial evidence that IL-1 inhibition can reduce recurrent vascular events in a high-risk secondary prevention population [13]. High levels of systemic markers of IFN- γ activity predict long-term adverse prognosis in patients with stable angina pectoris, demonstrating the capacity to identify individuals with vulnerable lesions, despite their stable clinical conditions [14]. Circulating levels of several different pro-inflammatory cytokines in initially healthy people are associated with risk of coronary heart disease outcomes in an approximately log-linear manner [16].

Oxidative stress (OS) can also serve as both a monitor of inflammation and a pathophysiologic mediator of atherosclerosis [8, 17]. The association between hypothyroidism and increased OS is controversial, but greater OS has been observed in patients with SCH and OH in comparison with controls [18-23]. Inflammation observed in patients with Hashimoto's thyroiditis and hypothyroidism is considered the link between OS and increased risk of atherosclerosis and underlying cardiovascular disease in these patients [24-26].

Hypothyroidism is treated with substitutive doses of levothyroxine. Few studies have evaluated the effects of hypothyroidism treatment on either OS, with conflicting results [18-22], or systemic inflammation [19, 27-31], also with conflicting results. Thus, this study aims to assess inflammatory biomarkers and OS in patients with primary hypothyroidism at baseline and after six and 12 months of levothyroxine replacement therapy (LRT).

Methods

Subjects

Patients were recruited prospectively, in the outpatient endocrinology clinic, University Hospital of Santa Maria, Santa Maria, RS, Brazil. The study protocol was approved by the Human Ethics Committee of the Federal University of Santa Maria (number 0177.0.243.000.07). Before performing any procedure, all of the patients were extensively informed about the study and signed an informed consent form. Inclusion criteria were age between 18 and 69 years, recent OH defined as high thyrotropin (TSH greater than 4.2 $\mu\text{IU/mL}$) and low FT4 or SCH, defined as a high level of TSH with FT4 level within the reference range (0.93 to 1.71 ng/dl). Patients with SCH had been referred to the clinic because of presentation of goiter and its symptoms (dry skin, muscle weakness, impaired memory and thinking, fatigue, cold intolerance, constipation), with stable thyroid dysfunction for at least 6 months, without evidence of other recent or ongoing diseases.

Stringent exclusion criteria were defined to limit sources of confounding factors that could influence the clinical or laboratory parameters under investigation. We did not include patients with current treatment for thyroid dysfunction; diabetes mellitus; pregnancy; malignancy; active smoking; alcohol consumption; history of previous or recent respiratory disease; previous or recent cardiovascular disease; history of connective tissue diseases; or exposure to drugs such as interferon, amiodarone, lipid-lowering drugs, appetite suppressants, antioxidant vitamin supplementation, or beta-blockers.

A medical history, physical examination, thorax radiogram, spirometry, electrocardiogram, transthoracic Doppler echocardiogram and laboratory investigations were performed in all patients. Body mass index (BMI) was calculated by dividing the body weight by the square of the height (kg/m^2). The levothyroxine (FT4) replacement therapy was performed with an average dose of 1.5 to 1.7 $\mu\text{g/kg/day}$. SCH required a lower dose. Patients were instructed to take the medication orally, with water, always in a single dose in the morning, after fasting (between 30 and 60 minutes before the first meal). Inflammatory and oxidative stress profiles were performed simultaneously with the collection of the thyroid profile, at 6 and 12 months follow-up.

Laboratory assessments

At baseline and after six and 12 months of LRT, blood samples were collected to assess thyroid profile (TSH, FT4), lipid profile (total cholesterol [TC], high-density lipoprotein cholesterol [HDL-C], low-density lipoprotein cholesterol [LDL-C], triglycerides [TG]) and inflammatory biomarkers (high-sensitivity CRP [hs-CRP], IL-1, IL-6, IL-10, INF- γ and TNF- α). In addition, we measured markers of OS (aminolevulinic acid dehydratase [δ -ALA-D], total thiol group [T4SH] and nonprotein thiol group [NP-SH] and thiobarbituric acid-reactive substances [TBARS]). Dosages of antithyroglobulin antibody (antiTG Ab) and antiperoxidase antibody (antiTPO Ab) were performed only at pre-treatment.

Blood samples were collected by venipuncture after fasting for 12 hours. The samples were centrifuged for 15 minutes at 2500 xg and serum aliquots were stored at - 20 degrees centigrade to study IL-1, IL-6, IL-10, and INF- γ , TNF- α . An aliquot of whole blood was sent to the laboratory of Biochemistry of the Natural and Exact Sciences Center for further measures of δ -ALA-D activity and NP-SH, T- SH and TBARS levels.

The thyroid profile (TSH, FT4, antibodies) was measured by electrochemiluminescence (Immulite 2000, Siemens Healthcare Diagnostics, USA). We considered the following reference values: TSH: 0.27 to 4.2 uIU/mL, FT4: 0.93 to 1.71 ng/dl; antiTPO Ab: up to 35 IU/ml and antiTG Ab: up to 115 IU/ml. The lipid profile was measured by the homogeneous enzyme method (Dimension 2008, Siemens Healthcare Diagnostics, USA). TC and TG were measured in serum according to the technique recommended by the manufacturer. HDL-C was measured in plasma supernatant after precipitation of lipoproteins containing apolipoprotein B with dextran sulfate and magnesium chloride as previously described by Badchorik and Albers [32]. LDL-C was estimated from the Friedewald equation [33]. Baseline values were: TC: up to 200 mg/dl, TG: 150 mg/dl, HDL-C: above 40 mg/dl for men and above 50 mg/dL for women; LDL-C: up to 130 mg / dl.

Hemoglobin was measured using the Sysmex automated system.

CRP was measured in serum by the immunoturbidimetric method, which measures hs-CRP (Dimension 2008, Siemens Healthcare Diagnostics, USA). The reference value was less than 0.5 mg/dl.

Cytokines were measured in serum, by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using commercial kits for human IL-1, IL-6, IL-10, INF- γ , and TNF- α (eBioscience, San Diego, USA) according to the manufacturer's instructions.

Lipid peroxidation was determined by TBARS quantification whose levels were determined in red blood cells isolated using the method of Ohkawa et al. with modifications [34]. The samples were incubated at 100°C for 60 minutes in an acidic medium containing 0.42% phosphoric acid, 12% trichloroacetic acid and 0.25% thiobarbituric acid. After centrifugation, the reaction product was determined at 532 nm using malondialdehyde as a standard. The results are expressed as nmol MDA/ml of erythrocytes.

Protein oxidation was assessed by determination of T-SH and NP-SH. The NP-SH level was determined as described by Ellman [35]. Three hundred microliters of red blood cells obtained after centrifugation of heparinized whole blood was hemolyzed with 100 μ L of 10% Triton solution for 10 minutes.

The protein fraction was precipitated with 200 μ L of 20% trichloroacetic acid and then centrifuged. Then, the free SH groups were determined in the supernatant. The colorimetric method was performed in a potassium phosphate buffer (1 M, pH 7.4). A standard curve was constructed using glutathione to calculate the NP-SH. The NP-SH level was measured at 412 nm and is expressed as nmol NP-SH/ml erythrocytes. The T-SH level in plasma was determined as described by Ellman [35].

The colorimetric assay was performed in 0.85 ml of potassium phosphate buffer (0.3 M, pH 7.0), using 0.05 ml of 5,5'-dithio(bis-nitrobenzoic acid). A standard curve was constructed using glutathione to determine the total thiol groups. The T-SH level was measured at 412 nm and is expressed as nmol T-SH/ ml of plasma.

δ -ALA-D was determined in whole blood according to the method of Sassa [36]. Enzyme activity was measured in the presence or absence of the reducing agent dithiothreitol (DTT). The enzymatic reaction was started after 10 minutes of pre-incubation by adding the substrate aminolevulinic acid (ALA), followed by incubation at 37°C for 60 minutes. The reaction product (porphobilinogen) was determined using Ehrlich's reagent, which reacted and formed a pink-colored product measured at 555 nm. The activity is expressed as nmol PBG/ml of blood.

Statistical analysis

Data were analyzed with SPSS 18.0 (SPSS Inc. 1 Chicago, IL, USA). Generalized estimating equation (GEE) modeling was used to analyze the effects of LRT (at pre-treatment, six months, and twelve months) on thyroid and lipid profiles, and on systemic inflammation and OS. The type of model and the link function were defined according to dependent variable distribution. Each parameter was analyzed as to its nature to choose the most suitable working correlation matrix. The model was chosen as the criterion of lowest quasi likelihood under the independence model criteria (QIC). The hypothyroidism status (i.e., OH or SCH) was included as a confounder in all analyses. Because seventeen models were tested, we considered P-values less than 0.0025 ($\alpha_{\text{Bonf}} = 0.05/17$) to be significant. Eight models were significant at the 0.0025 level and underwent an additional GEE post hoc analysis to compare time points. In these analyses, corrected P-values were calculated, and alpha was set at 0.05. Data are expressed as means and standard deviations, means and 95% confidence intervals (95% CIs) or numbers (n) and percentages (%), as indicated in the table footnotes.

Results

Clinical, anthropometric, and baseline thyroid profiles of the study participants are given in Table 1. The group included 17 patients with high TSH, 11 of whom had diminished FT4 (OH) and 6 of whom had normal FT4 (SCH). The initial 17 patients, were reassessed at 6 and 12 months of treatment with levothyroxine. Thyroid, lipid, hemoglobin, inflammatory and OS profiles of hypothyroid patients at pre-treatment and six and twelve months after LRT are shown in Table 2. All patients had increased anti-thyroglobulin antibodies and / or antibody antiperoxidase levels.

GEE evaluation (Table 2) revealed a significant decrease in TSH over time ($P < 0.0001$). The initial TSH levels were on average 32.4 uIU/mL and the levels achieved at 12 months were 10.5 uIU/mL. In the post hoc analysis, significance was observed only at 12 months of LRT compared with pré treatment (Figure 1A). There was also significant modification in FT4 over time ($P < 0.0001$). The initial FT4 levels were on average 0.8 ng/dl and the levels achieved at 12 months were on average 2.7

ng/dl. In the post hoc analysis, a significant difference was noted between six-months FT4 and pre-treatment (Figure 1B).

Regarding inflammatory profile, there were significant changes in interleukin levels over time, with a significant increase in IL-10 ($P < 0.0001$) and significant decreases of IL-1 ($P < 0.0001$), IL-6 ($P < 0.0001$), INF- γ ($P < 0.0001$) and TNF- α ($P < 0.0001$). The GEE post hoc analyses revealed that the six- and twelve-month values differed significantly from pre-treatment (Figures 1C to 1G). No significant difference in hs-CRP over time was noted ($P = 0.284$). The evaluation of OS during follow-up showed significant reduction of NP-SH ($P < 0.0001$). In the post hoc analysis, six- and twelve-month NP-SH levels differed from pre-treatment (Figure 1H). No significant change were observed in T-SH ($P = 0.068$), δ -ALA-D ($P = 0.725$) or TBARS ($P = 0.239$) levels over time. An increasing trend was detected for hemoglobin levels ($P = 0.016$). There were no significant changes in TC ($P = 0.457$), HDL-C ($P = 0.715$), LDL-C ($P = 0.342$) or TG ($P = 0.581$) during follow-up.

Discussion

The main finding of this open label study was that patients with hypothyroidism using levothyroxine presented significant changes in the inflammatory profile, with reduction of pro-inflammatory cytokines and increase of one anti-inflammatory cytokine. It was also observed reduction of one OS biomarker (NP-SH), although there were no significant changes in CRP, T-SH, TBARS, δ -ALA-D or lipid profile.

Christ-Crain et al. [27] first reported increased CRP in patients with OH or SCH citing it as an additional risk factor for development of coronary heart disease in those patients, but further studies have shown conflicting results. Some studies have detected elevated CRP in individuals with hypothyroidism [5, 19, 24-26, 29, 37, 38], while others have not [30, 39, 40]. Regarding the effect of LRT on CRP, in the current study, in accordance with the first report of Christ-Crain et al. [27] and others [30, 31, 37, 40], the CRP level was unaffected. However, other studies have shown that normalization of thyroid state by LRT seems to effectively reduce serum CRP [19, 29, 38]. Marfella et al. [26] observed a reduction in CRP in treated SCH patients, but CRP was still significantly increased compared to the control group.

While pro-inflammatory cytokines have a detrimental role in atherosclerosis [8], the role of cytokines in Hashimoto's thyroiditis is complex and often contradictory:

a regulatory cytokine may either favor induction of tolerance against thyroid autoimmune disease or favor activation and/or exacerbation of autoimmune responses [2].

Drugarin et al. [41] observed increased serum IL-2, TNF- α and IFN- γ in subjects with OH due to autoimmune thyroiditis compared with healthy controls, in whom these cytokines were barely detectable. Recently, in patients with autoimmune thyroiditis, increased IL-6 and IL-15 (another pro-inflammatory cytokine) were detected, likely due to increased proliferation and increased pro-inflammatory cytokine synthesis in T-helper 17 cells [42].

Díez et al. [43] confirmed the relevance of activation of the TNF- α system in patients with hypothyroidism, showing that serum TNF- α and receptors of TNF- α were significantly higher than those detected in the control group. Thyroid hormone levels have been suggested to influence cytokine production. IL-6 level might be correlated with hypothyroidism severity because serum IL-6 level has been positively correlated with LRT dose and negatively correlated with FT4 level in hypothyroidism due to autoimmune thyroiditis [44].

Díez et al. [43] found no differences in TNF- α or receptors of TNF- α between patients with autoimmune and non-autoimmune hypothyroidism, implicating thyroid hormone deficiency per se in systemic cytokine production. Karanikas et al. [45] demonstrated no influence of thyroid hormone on cytokine production patterns by T cells, as they reported that patients with high titers of anti-TPO antibodies had significantly higher percentages of cells producing INF- γ and TNF- α than healthy controls.

Based on previous studies, an association between hypothyroidism and low-grade inflammation may be suggested. Taddei et al. [24] demonstrated a higher plasma IL-6 level, impaired endothelium dysfunction vasodilatation and reduced nitric oxide availability in patients with SCH compared with controls. Türemen et al. [25] observed endothelial dysfunction and significantly higher serum IL-6 and TNF- α levels in SCH patients with autoimmune thyroiditis compared to controls.

Patients with untreated SCH who underwent thromboendarterectomy due to asymptomatic severe internal carotid artery stenosis presented higher plasma TNF- α , IL-6, and interleukin-18 levels, and their atherosclerotic plaques presented an active inflammatory reaction with higher TNF- α levels and other characteristics of instability compared with non-SCH controls [26].

Regarding potential changes in cytokine levels with LRT, we found that one year of LRT produced significant reductions in pro-inflammatory cytokines (IL-1, IL-6, INF- γ , TNF- α) and an increase in IL-10. There are few data in the literature about the effect of levothyroxine on serum cytokines. Díez et al. [43] observed no reduction of the high levels of TNF- α and TNF- α receptors after treatment in hypothyroid patients. Guclu et al. [46] observed a significant decrease in serum IL-12 (one of the most important cytokines responsible for Th1-type cytokine responses), a statistically non significant decrease in INF- γ and no change in serum IL-2 or IL-4 in patients with hypothyroidism due to Hashimoto's thyroiditis who underwent 12 weeks of LRT. Marfella et al. [26] observed significantly lower plasma TNF- α , IL-6 and IL-18 levels, low pro-inflammatory cytokine levels and macrophage infiltration in atherosclerotic lesions of treated SCH patients compared to untreated SCH patients.

The association between hypothyroidism and increased OS is controversial, as is the effect of LRT on oxidative stress biomarkers. In the current study, NP-SH was significantly reduced by 12 months of LRT, but no significant changes were observed in T-SH, δ -ALA-D or TBARS. Some studies have shown reduction of oxidative stress after LRT, [18, 23, 29], while other studies have reported no modification [19, 20]. Marfella et al. [26] detected elevated OS biomarkers in atherosclerotic plaques of SCH subjects compared to control plaques, and higher levels of OS in plaques of untreated SCH patients in comparison with plaques of treated SCH patients. The restoration of endothelial function by systemic administration of indomethacin (cyclooxygenase inhibitor) or local infusion of vitamin C (an antioxidant) reinforces that OS may be a link between the inflammation and endothelial dysfunction observed in SCH patients [24]. According to Marfella et al. [26], OS reduction can play an important role in reducing the inflammatory activity in atherosclerotic plaques observed in patients with SCH treated with thyroxine.

In our sample, which included both OH and SCH patients, there were no significant changes in TC, HDL, LDL or TG over 12 months of LRT. Dyslipidemia is a common finding in patients with OH, with elevated TC and LDL [3, 27, 47], which usually improve with levothyroxine use [47]. Less clear is the relationship between SCH and lipid profile. Some studies have shown no alterations in lipid profile in SCH patients compared with controls [4, 27, 39, 40], while others have observed abnormalities in serum cholesterol or TG in SCH [5,38]. Teixeira et al. [48] have

suggested that SCH presents an intermediary lipid profile between that observed in normal individuals and that usually observed in OH.

The role of levothyroxine in changing the lipid profile in SCH is also not clear. Iqbal et al. [49], in a large epidemiological study, and Razvi et al. [50], in a study of one hundred patients with SCH, reported TC and LDL-C reductions with LRT. Teixeira et al. [48] observed a significant lipid profile improvement after one year of LRT. However, other studies did not report modifications of lipid levels with LRT [19, 29, 31]. Three older meta-analyses concluded that thyroxine substitution has no effect on TG and HDL-C [47, 51, 52], whereas TC and LDL-C levels were reduced, with the most pronounced effect in those with the highest pretreatment serum TSH [52] and serum TC [47, 51]. However, a more recent meta-analysis based on the Cochrane methodology, including 12 randomized controlled trials of 6–14 months' duration, reported that the beneficial effects of treatment were slight and that only TC was affected [53].

Knowledge about the effects of levothyroxine on inflammatory, OS and lipid profiles has been increasing. The results are conflicting, but there are growing indications of favorable effects of levothyroxine on impaired endothelial function and hemodynamic profile both in OH and SCH [28, 37, 40, 50, 54]. There are also indications that young patients with treated SCH, in comparison with untreated SCH patients, present a significantly lower risk of developing heart failure [55], a significantly lower all-cause mortality [56] and fewer events of ischemic heart disease [57]. The decreased immune overactivity observed in our study may be a mechanism contributing to these previous results.

This study has strengths and limitations. The strengths are its prospective nature, the number of investigated inflammatory biomarkers, the rigorous patient selection and the careful statistical analysis with correction for confounding factors. The main limitations are the rather small sample size, heterogenous sample (composed of both OH and SCH), lack of a control group and lack of a placebo-controlled group.

Conclusion

This study observed significant changes in the inflammatory profile in hypothyroid patients under treatment, with significant reduction of pro inflammatory cytokines and

an increase of one anti-inflammatory cytokine. In these patients, the reduction of low-grade chronic inflammation may have clinical relevance because of the known connection between chronic inflammation, atherosclerosis and cardiovascular events. At the same time, significantly reducing the levels of NP-SH may suggest that oxidative stress is a potential link between these processes.

Abbreviations

δ-ALA-D, aminolevulinic acid dehydratase; antiTG Ab, antithyroglobulin antibody; antiTPO Ab, antiperoxidase antibody; BMI, body mass index; CRP, C reactive protein; FT4, free thyroxine; HDL-C, high-density lipoprotein cholesterol; hs-CRP, high-sensitivity C-reactive protein; IL-1, interleukin 1; IL-6, interleukin 6; IL-10, interleukin 10; INF- γ , interferon gamma; LRT, levothyroxine replacement therapy; LDL-C, low-density lipoprotein cholesterol; NP-SH, nonprotein thiol group; OH, overt hypothyroidism; OS, oxidative stress; SCH, subclinical hypothyroidism; TBARS, thiobarbituric acid-reactive substances; TSH, thyroid-stimulating hormone, TC, total cholesterol; T-SH, total thiol group; TG, triglycerides; TNF- α , tumor necrosis factor alpha.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Author contributions

All authors contributed to the protocol and development of the rationale of the study as well as to the development of the final manuscript. R. C. M. conceived of the study and participated in its design, collect data, coordination and wrote the manuscript. L. A. F. P. participated in its design, collect data and conduction of the study. A. A. N., D. F. M. and M. M. M. F. D. carried out laboratory tests and helped to draft the manuscript. D. L. R. performed statistical analysis and helped to draft the manuscript. J. B. T. R. conceived of the study and participated in its design, statistical analysis and helped to draft the manuscript.

Acknowledgments:

The authors thank all the patients who participated in this study. The study was supported by agencies that promote and develop the post graduate in Brazil: CNPq (Conselho Nacional de desenvolvimento Científico e Tecnológico, National Council for Scientific and Technological Development), CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel), FINEP (Financiadora de Estudos e Projetos, Studies and Projects Financing Agency), PRONEX – FAPERGS (Programa de apoio a núcleos de excelência – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul, Support Program for Excellence Nuclei – Research Support Foundation of Rio Grande do Sul).

References

1. Garber JR, Cobin RH, Guarib H, Hennessey JV, Klein I, Mechanik JI, et al. Clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults: cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association. *Endocr Pract.* 2012;18:989-1028.
2. Ganesh BB, Gopisety A, Bhattacharya P, Prabhakar BS. Role of cytokines in the pathogenesis and supression of thyroid autoimmunity. *J Interferon Citokine Res.* 2011;31:721-31.
3. Canaris GJ, Manowitz NR, Mayor G, Ridgway C. The Colorado thyroid disease prevalence study. *Arch Intern Med.* 2000;160:526-34.
4. Hak AE, Pols HAP, Visser TJ, Drexhage HA, Hofman A, Witteman JCM. Subclinical hypothyroidism is an independent risk fator for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: the Rotterdam study. *Ann Intern Med.* 2000;132:270-8.
5. Kvetny J, Heldgaard PE, Bladbjerg EM, Gram J. Subclinical hypothyroidism 1 is associated with a low grade inflammation, increased triglyceride levels and predicts cardiovascular disease in males below 50 years. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2004;61:232-8.
6. Klein I, Danzi S. Thyroid disease and the heart. *Circulation.* 2007;116:1725-35.
7. Cappola AR, Ladenson PW. Hypothyroidism and atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:2438-44.

8. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2012;32:20145-2051.
9. Welsh P, Packard CJ, Sattar N. Novel antecedent plasma biomarkers of cardiovascular disease: improved evaluation methods and comparator benchmarks raise the bar. *Curr Opin Lipidol*. 2008;19:563-71.
10. Buckley DI, Fu R, Freeman M, Rogers K, Helfand M. C-reactive protein as a risk factor for coronary heart disease: a systematic review and meta-analyses for the U.S. Preventive Services Task Forces. *Ann Intern Med*. 2009;151:483-95.
11. Danesh J, Kaptoge S, Mann AG, Sarwar N, Wood A, Angleman SB, et al. Long-term interleukin-6 levels and subsequent risk of coronary heart disease: two new prospective studies and a systematic review. *PLoS Med*. 2008;5:600-10.
12. Consortium. Ti-rmrRM. The interleukin-6 Receptor as a target for prevention of coronary heart disease: a mendelian randomisation analysis. *Lancet*. 2012;379:1214-24.
13. Ridker PM, Howard CP, Walter V, Math D, Everett B, Libby P, et al. Effects of Interleukin-1 Beta inhibition with Canakinumab on hemoglobin A1c, lipids, C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen. A phase IIb randomized, placebo-controlled trial. *Circulation*. 2012;126:2739-48.
14. Pedersen ER, Middtun O, Ueland PM, Schartum-Hansen H, Seifert R, Igland J, et al. Systemic markers of Interferon-gamma-mediated immune activation and long-term prognosis in patients with stable coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2011;31:698-704.
15. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Lepage S, Braunwald E. Elevation of Tumor Necrosis Factor-alpha and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation*. 2000;101:2149-53.
16. Kaptoge S, Seshasai SRK, Gao P, Freitag DF, Butterworth AS, Borglykke A, et al. Inflammatory cytokines and risk of coronary heart disease: new prospective study and updated meta-analysis. *Eur Heart J*. 2014;35:587-9.
17. Sugiyama S, Kugiyama K, Aikawa M, Nakamura S, Ogawa H, Libby P. Hypochlorous acid, a macrophage product, induces endothelial apoptosis and tissue factor expression: involvement of myeloperoxidase-mediated oxidant in plaque erosion and thrombogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:1309-14.
18. Baskol G, Atmaca H, Tanriverdi F, Baskol M, Kocer D, Bayram F. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patient with hypothyroidism before and after treatment. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2007;115:522-6.

19. Kebapcilar L, Akinci B, Bayraktar F, Comlekci A, Solak A, Demir T, et al. Plasma thiobarbituric acid-reactive substance levels in subclinical hypothyroidism. *Med Princ Pract.* 2007;16:432-6.
20. Mehmetçik G, Becer E, Akbey A. Serum total antioxidant status, lipid profile, malondialdehyde and erythrocyte superoxide dismutase levels in Hashimoto thyroiditis patients treated with levothyroxine. *Turkiye Kinikleri J Med Sci.* 2012;32:1241-6.
21. Bhimte B, Agrawal BK, Sharma VK, Chauhan SS. Oxidative stress status in hypothyroid patients. *Biomed Res.* 2012;23:286-8.
22. Gerenova J, Gadjeva V. Oxidative stress and antioxidant enzyme activities in patients with Hashimoto's thyroiditis. *Comp Clin Pathol.* 2007;16:259-64.
23. Erdamar H, Demirci H, Yaman H, Erbil MK, Yakar T, Sancak B, et al. The effect of hypothyroidism, hyperthyroidism, and their treatment on parameters of oxidative stress and antioxidant status. *Clin Chem Lab Med.* 2008;46:1004-10.
24. Taddei S, Caraccio N, Viridis A, Dardano A, Versari D, Ghiadoni L, et al. Low-grade systemic inflammation causes endothelial dysfunction in patients with Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91:5076-82.
25. Türemen EE, Çetinarslan B, Sahin T, Cantürk Z, Tarkun I. Endothelial dysfunction and low grade chronic inflammation in subclinical hypothyroidism due to autoimmune thyroiditis. *Endocr J.* 2011;58:349-54.
26. Marfella R, Ferraraccio F, Rizzo MR, Portoghese M, Barbieri M, Basilio C, et al. Innate immune activity in plaque of patients with untreated and L-thyroxine-treated subclinical hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:1015-20.
27. Christ-Crain M, Meier C, Guglielmetti M, Huber PR, Riesen W, Staub JJ, et al. Elevated C-reactive protein and homocysteine values: cardiovascular risk factors in hypothyroidism? A cross-sectional and a double-blind, placebo-controlled trial. *Atherosclerosis.* 2003;166:379-86.
28. Taddei S, Caraccio N, Viridis A, Dardano A, Versari D, Ghiadoni L, et al. Impaired endothelium-dependent vasodilatation in subclinical hypothyroidism: beneficial effect of levothyroxine therapy. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88:3731-7.
29. Ozcan O, Cakir E, Yaman H, Akgul EO, Erturk K, Beyhan Z, et al. The effects of thyroxine replacement on the levels of serum asymmetric dimethylarginine (ADMA) and other biochemical cardiovascular risk markers in patients with subclinical hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2005;63:203-6.

30. Aksoy DY, Cinar N, Harmanci A, Karakaya J, Yildiz BO, Usman A, et al. Serum resistin and high sensitive CRP levels in patients with subclinical hypothyroidism before and after L25 thyroxine therapy. *Med Sci Monit.* 2012;19:210-5.
31. Anagnostis P, Efstathiadou ZA, Slavakis A, Selalmatzidou D, Poulasouchidou M, Katergi S, et al. The effect of L-tiroxine substitution on lipid profile, glucose homeostasis, inflammation and coagulation in patients with subclinical hypothyroidism. *Int J Clin Pract.* 2014;DOI 10.1111:1-7.
32. Badchorik PS, Albers JJ. Precipitation methods for quantification of lipoproteins. *Methods Enzymol.* 1986;129:78-100.
33. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the low-density lipoprotein cholesterol in plasma without the use of preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18:499-502.
34. Ohkawa H, Ohishi H, Yagi K. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979;95:351-8.
35. Ellman GL. Tissue sulphhydryl groups. *Arch Biochem Biophys.* 1959;82:70-7.
36. Sassa S. Delta-aminolevulinic acid dehydratase assay. *Enzyme.* 1982;28:133-45.
37. Nagasaki T, Inaba M, Shirakawa K, Hiura Y, Tahara H, Humeda Y, et al. Increased levels of C-reactive protein in hypothyroid patients and its correlation with arterial stiffness in the common carotid artery. *Biomed Pharmacother.* 2007;6:167-72.
38. Poyrazoglu OK, Ozkan Y, Ozden M, Colak R, Ozalp G, Dönder E. L-thyroxine treatment of patients with subclinical hypothyroidism reduce inflammation. *Open Endocrinol J.* 2009;3:34-7.
39. Luboshitzky R, Herer P. Cardiovascular risk factors in middle-aged women with subclinical hypothyroidism. *Neuroendocrinol Letters.* 2004;25:262-6.
40. Peleg RK, Efrati S, Benbassat C, Fygenzo M, Golik A. The effect of levothyroxine on arterial stiffness and lipid profile in patients with subclinical hypothyroidism. *Thyroid.* 2008;18:825-30.
41. Drugarin D, Negru S, Korech A, Zosin I, Cristea C. The pattern of a Th1 cytokine in autoimmune thyroiditis. *Immunology Letters.* 2000;71:73-7.
42. Figueroa-Vega N, Alfonso-Pérez M, Benedicto I, Sánchez-Madrid F, 1 González-Amaro R, Marazuela M. Increased circulating pro-inflammatory cytokines and Th17 lymphocytes in Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95: 953-62.

43. Díez JJ, Hernanz A, Medina S, Bayon C, Iglesias P. Serum concentrations of tumor necrosis factor-alpha and soluble TNF-alpha receptor p55 in patients with hypothyroidism and hyperthyroidism before and after treatment. *Clinical Endocrinology*. 2002;57:515-21.
44. Papanas N, Papazoglou D, Papatheodorou K, Antonoglou C, Kotsiou S, Maltezos E. Thyroxine replacement dose in patients with Hashimoto disease: a potential role for interleukin-6. *Cytokine*. 2006;135:166-70.
45. Karanikas G, John P, Wahl K, Schuetz M, Dudczak R, Wilhelm M. T-Lymphocyte cytokine production patterns in nonimmune severe hypothyroid state and after thyroid hormone replacement therapy. *Thyroid*. 2004;14:488-92.
46. Guclu F, Ozmen B, Kirmaz C, Kafesciler SO, Degurmenci PB, Taneli F, et al. Down14 regulation of the auto-aggressive processes in patients with hypothyroidism Hashimoto's thyroiditis following substitutive treatment with L-thyroxine. *European Cytokine Network*. 2009;20:27-32.
47. Tanis BC, Westendorp RGJ, Smelt AHM. Effect of thyroid substitution on hypercholesterolaemia in patients with subclinical hypothyroidism: a reanalysis of intervention studies. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1996;44:643-9.
48. Teixeira PF, Reuters VS, Ferreira MM, Almeida CP, Reis FA, Buescu A, et al. Lipid profile in different degrees of hypothyroidism and effects of levothyroxine replacement in mild thyroid failure. *Translational Research*. 2008;151:224-31.
49. Iqbal A, Jorde R, Figenschau Y. Serum lipid levels in relation to serum thyroid stimulating hormone and the effect of thyroxine treatment on serum lipid levels in subjects with subclinical hypothyroidism: the Tromso Study. *J Intern Med*. 2006;260:53-61.
50. Razvi S, Ingoe L, Keeka G, Oates C, McMillan C, Weaver JU. The beneficial effect of L thyroxine on cardiovascular risk factors, endothelial function, and quality of life in subclinical hypothyroidism: randomized, crossover trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:1715-23.
51. Danese MD, Ladenson PW, Meinert NP. Effect of thyroxine therapy on serum lipoproteins in patients with mild thyroid failure: a quantitative review of the literature. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000;85:2993-3001.
52. Ineck BA. Effect of subclinical hypothyroidism and its treatment on serum lipids. *Ann Pharmacoter*. 2003;37:725-30.
53. Villar HC, Saconato H, Valente O, Atallah AN. Thyroid hormone replacement for subclinical hypothyroidism. *The Cochrane of Database Systematic Reviews*. 2007;18:CD003419.

54. Monzani F, Caraccio N, Kozakowa M, Dardano A, Vittone F, Virdis A, et al. Effect of levothyroxine replacement on lipid profile and intima-media thickness in subclinical hypothyroidism: a double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:2099-106.
55. Rodondi N, Bauer DC, Cappola AR, Cornuz J, Robbins J, Fried LP, et al. Subclinical thyroid dysfunction, cardiac function and the risk of heart failure: the cardiovascular health study. *JACC.* 2008;52:1152-9.
56. Razvi S, Weaver JU, Vanderpump MP, Pearce SHS. The incidence of ischemic heart disease and mortality in people with subclinical hypothyroidism: reanalysis of the Wickham Survey Cohort. *J Clin Endocrinol Metab.* 2010;95:1734-40.
57. Razvi S, Weaver JU, Butler TJ, Pearce SH. Levothyroxine treatment of subclinical hypothyroidism, fatal and nonfatal cardiovascular events, and mortality. *Arch Intern Med.* 2012;172:811-7.

Table 1 – Clinical, anthropometric and pre-treatment thyroid profile of the study

Variables	Hypothyroidism (TSH ↑) (n = 17)
Gender (males)	6 (35.3)
Age (years)	45.8 (15.2)
BMI (Kg/m ²)	28.4 (5.8)
TSH (uIU/ml)	32.1 (30.2)
FT4 (ng/dl)	0.8 (0.4)
AntiTG Ab (IU/mL)	979.9 (1386.0)
AntiTPO Ab (IU/mL)	398.0 (309.9)

Data are mean and (standard deviation) or n and (%)

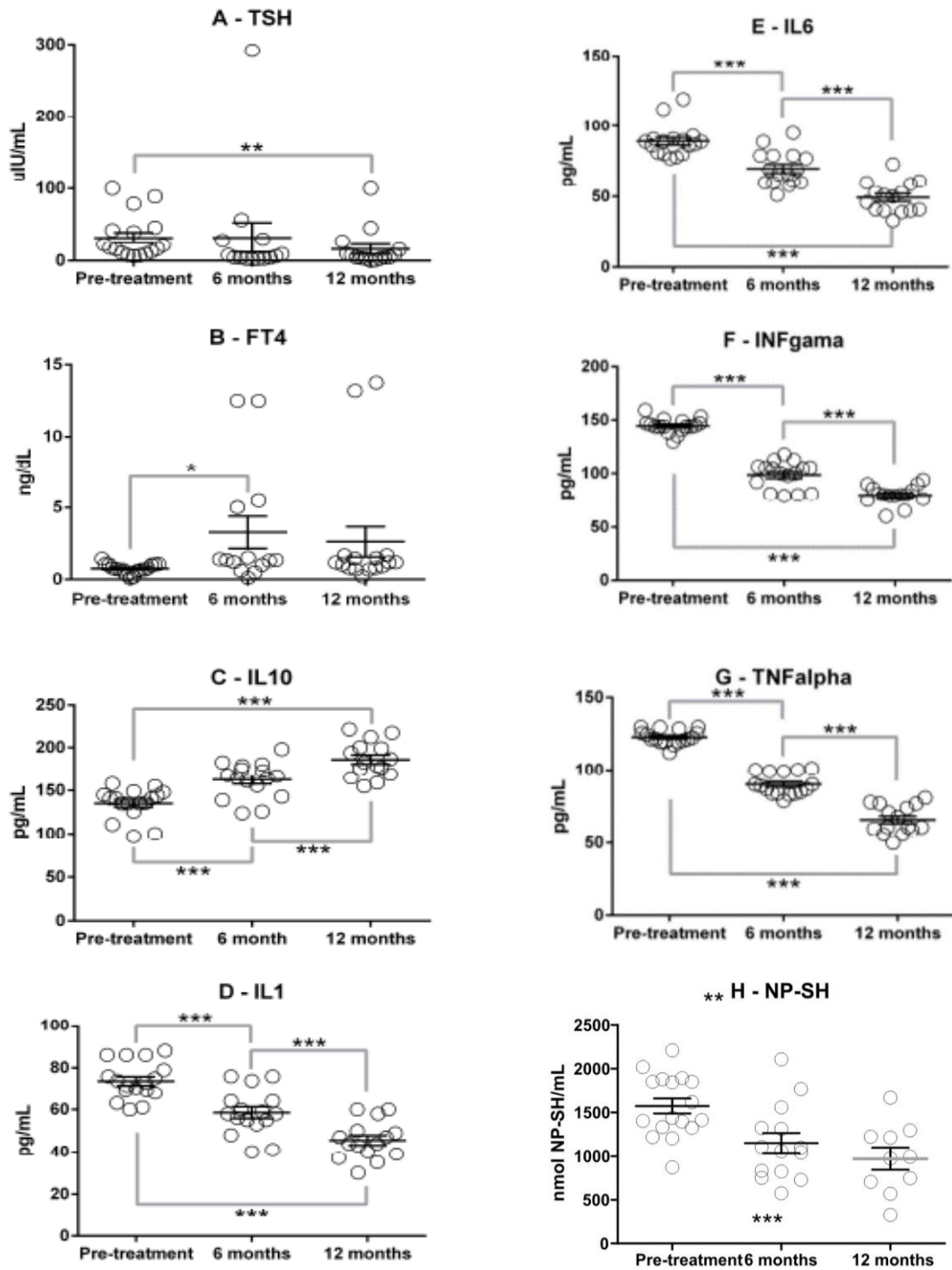
Table 2 – Generalized estimating equation (GEE) models to evaluate the effects of Levothyroxine replacement therapy (LRT) on inflammatory, oxidative stress, hemoglobin, and lipid profile parameters of hypothyroid patients.

Parameters	Pre-treatment Mean (95 % CI)	Six months Mean (95 % CI)	Twelve months Mean (95 % CI)	Wald Chi-square	df	P-value
TSH (μ IU/mL)	32.4 (18.0-30.4)	20.7 (8.6-49.8)	10.5 (6.3-17.4)	18.496	2	< 0.0001
FT4 (ng/dL)	0.8 (0.7-0.9)	3.4 (1.8-6.6)	2.7 (1.3-5.8)	33.684	2	< 0.0001
IL-10 (pg/mL)	132.7 (124.5-141.0)	160.7 (150.7-170.6)	184.6 (174.8-194.4)	181.076	2	< 0.0001
IL-1 (pg/mL)	73.0 (68.5-77.4)	57.9 (52.6-63.1)	45.0 (40.4-49.6)	321.214	2	< 0.0001
IL-6 (pg/mL)	90.1 (83.7-96.4)	70.5 (63.9-77.1)	49.9 (44.1-55.6)	512.104	2	< 0.0001
INF- γ (pg/mL)	144.8 (141.0-148.6)	98.6 (93.1-104.5)	80.0 (75.8-84.3)	386.001	2	< 0.0001
TNF- α (pg/mL)	122.8 (120.5-125.1)	90.4 (86.8-94.0)	66.2 (61.6-71.1)	341.402	2	< 0.0001
hs-CRP (mg / dl)	0.6 (0.3-1.1)	0.5 (0.3-0.8)	0.9 (0.5-1.7)	2.519	2	0.284
NP-SH (nmol NP - SH/mL erit)	1522.4 (1374.9-1670.0)	1098.1 (929.3-1267.0)	1004.6 (757.5-1251.7)	23.528	2	< 0.0001
Total-SH (nmol T -SH/ ml plasma)	823.3 (683.5-963.2)	624.0 (537.1-710.8)	660.5 (584.2-772.8)	5.388	2	0.068
δ -ALA-D (nmol PBG / ml of blood)	3.6 (2.7-4.4)	3.1 (1.9-4.3)	3.0 (2.1-4.0)	0.644	2	0.725
TBARS (nmol MDA/mL erit)	5.3 (4.0-6.7)	7.2 (4.8-8.5)	6.7 (4.8-8.5)	2.862	2	0.239
Hemoglobin (g/dL)	13.1 (12.6-13.6)	13.4 (13.0-13.9)	13.6 (13.2-14.0)	8.252	2	0.016
TC (mg/dL)	201.5 (176.7-244.2)	198.4 (168.5-228.4)	198.4 (171.9-225.0)	1.567	2	0.457
HDL- C (mg/dL)	54.3 (48.8-59.7)	50.9 (41.8-60.0)	52.1 (45.8-58.4)	0.670	2	0.715
LDL- C (mg/dL)	124.2 (102.6-150.5)	115.5 995.5-139.7)	115.5 (99.0-134.7)	2.146	2	0.342
TG (mg/dL)	117.5 (88.1-156.9)	139.2 (99.2-195.4)	119.6 (85.3-167.7)	1.085	2	0.581

df = degrees of freedom; adjusted for overt hypothyroidism and subclinical hypothyroidism.

Figure 1 – Post Hoc comparisons from significant generalized estimating equation (GEE) models described in Table 2.

* $P \leq 0.050$; ** $P \leq 0.010$; *** $P \leq 0.001$.



Additional files provided with this submission:

Additional file 1: Table 2.doc, 45K

<http://www.biomedcentral.com/imedia/4472255321613679/supp1.doc>

Additional file 2: Table 1.doc, 31K

<http://www.biomedcentral.com/imedia/2819215631613715/supp2.doc>

6 CONCLUSÕES

- Houve redução significativa dos níveis de citocinas pro-inflamatórias (IL-1, IL-6, INF- γ , TNF- α) e aumento significativo da citocina anti-inflamatória IL-10, nos pacientes com hipotireoidismo primário em uso de levotiroxina.
- Houve redução significativa dos níveis de NP-SH ao longo do tratamento com levotiroxina, nos pacientes com hipotireoidismo. Não houve modificação significativa quanto aos níveis de TBARS, grupo tiol total e atividade da δ -ALAD.
- Não houve modificação significativa nos níveis de TC, HDL-C, LDL-C e TG ao longo do tratamento com levotiroxina.
- Nos pacientes com hipotireoidismo, a redução dos níveis de inflamação sistêmica de baixo grau pode ter relevância clínica devido à conexão entre inflamação, aterosclerose e eventos cardiovasculares.

7 PERSPECTIVAS

Os achados encontrados neste estudo, que utilizou um grande painel de biomarcadores inflamatórios sanguíneos, estão em concordância com a hipótese de que o hipotireoidismo está diretamente relacionado com a hiperatividade humoral e esta pode contribuir para o risco cardiovascular aumentado nesses pacientes.

Há necessidade de se compreender os mecanismos que fundamentam o maior risco de aterosclerose e doenças cardiovasculares no hipotireoidismo, em especial no hipotireoidismo subclínico. São necessários grandes estudos clínicos para melhor entendimento dessas associações e para definir o papel da inflamação e do estresse oxidativo na fisiopatogenia da aterosclerose, nesse grupo de pacientes.

Conhecer melhor esses processos abrirá caminho para desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas e permitirá aos clínicos a elaboração de planos estratégicos, tanto de tratamento como de prevenção de aterosclerose nesse grupo de pacientes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEYWARDENA, M. Y. et al. Cardiovascular biology of interleukin-6. **Curr Pharm Des**, v. 15, n. 15, p. 1809-1821, 2009.

ADREES, M. et al. Effects of 18 months of L-thyroxine in women with subclinical hypothyroidism. **Clin Endocrinol**, v. 71, n. 2, p. 298-303, 2009.

AJJAN, R. A. et al. Intrathyroidal cytokine gene expression in Hashimoto's thyroiditis. **Clin Exp Immunol**, v. 105, n. 3, p. 523-528, 1996.

AJJAN, R. A. et al. Detection of IL-2, IL-13, and IL-15 messenger ribonucleic acid in the thyroid of patients with autoimmune thyroid disease. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 82, n. 2, p. 666-669, 1997.

AKSOY, D. Y. et al. Serum resistin and high sensitive CRP levels in patients with subclinical hypothyroidism before and after L-thyroxne therapy. **Med Sci Monit**, v. 19, p. 210-215, 2013.

AL-RUBAE, S. H. N.; AL-MUSAWI, A. K. An evaluation of antioxidants and oxidative stress in Itaqi patients with thyroid dysfunction. **African J Biochem Res**. v. 5, n. 7, p. 188-196, 2011.

AMENTO, E. P. et al. Cytokines and growth factors positively and negatively regulate interstitial collagen gene expression in human vascular smooth muscle cells. **Arterioscl Thromb Vasc Biol**, v. 11, n. 5, p. 1223-1230, 1991.

ARAUJO, A. S. R. et al. Thyroid hormone - induced haemoglobin changes and antioxidant enzymes response in erythrocytes. **Cell Biochem Funct**, v. 29, n. 5, p. 408- 413, may 2011.

ASAYAMA, K. et al. Lipid peroxidation and free radical scavengers in thyroid dysfunction in the rat: a possible mechanism injury to heart and skeletal in hyperthyroidism. **Endocrinology**, v. 121, n. 6, p. 2112-2118, 1987.

ASHFAQ, S. et al. The relationship between plasma levels of oxidized and reduced thiols and early atherosclerosis in healthy adults. **J Am Coll Cardiol**, v. 47, n. 7, p. 1005-1011, 2006.

ATTA, M. N. et al. Hashimoto thyroiditis is an independent cardiovascular risk factor in clinically hypothyroid patients. **Alexandria J Med**, v. 47, n. 4, p. 267-276, 2011.

BALDASSARE, D. et al. Measurements of carotid intima-media thickness and of interadventitia common carotid diameter improve prediction of cardiovascular events. Results of the IMPROVE (carotid intima media thickness [IMT] and IMT-progression as predictors of vascular events in a high risk European population) Study. **J Am Coll Cardiol**, v. 60, n. 16, p. 1489-1499, 2012.

BASKOL, G, et al. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patient with hypothyroidism before and after treatment. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, v.115, n. 8, p. 522-526, 2007.

BAYNES, J. W. et al. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. **Diabetes**, v. 40, n. 4, p. 405-412, 1991.

BELL, R. J. et al. Well-being, health-related quality of life and cardiovascular disease risk profile in women with subclinical thyroid disease – a community-based study. **Clin Endocrinol**, v. 66, n. 4, p. 548-556, 2007.

BENSEGNÖR, I. M. et al. Prevalence of thyroid disorders among older people: results from the São Paulo Ageing and Health Study. **Cad Saude Publica**, v. 27, n. 1, p. 155-161, 2011.

BEYHAN, Z. et al. Restoration of euthyroidism does not improve cardiovascular risk factors in patients with subclinical hypothyroidism in the short term. **J Endocrinol Invest**, v. 29, n. 6, p. 505-510, 2006.

BHIMTE, B. et al. Oxidative stress status in hypothyroid patients. **Biomed Research**, v. 23, n. 2, p. 286-288, 2012.

BIONDI, B. et al. Left ventricular diastolic dysfunction in patients with subclinical hypothyroidism. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 84, n. 6, p. 2064-2067, 1999.

BIONDI, B. et al. Effects of subclinical thyroid dysfunction on the heart. **Ann Intern Med**, v. 137, n. 11, p. 904-914, 2002.

BIONDI, B.; KLEIN, I. Hypothyroidism as a risk factor for cardiovascular disease. **Endocrine**, v. 24, n. 1, p. 1-13, 2004.

BIONDI, B. Cardiovascular effects of mild hypothyroidism. **Thyroid**, v. 17, n. 7, p. 625-630, 2007.

BOECKHOLDT, S. M. et al. Initial thyroid status and cardiovascular risk factors: the EPIC-Norfolk prospective population study. **Clin Endocrinol**, v. 72, n. 3, p. 404-410, 2011.

BRENT, G. A. The molecular basis of thyroid hormone action. **N Eng J Med**, v. 331, n. 13, p. 847-853, 1994.

BRENTA, G. et al. Assessment of left ventricular diastolic function by radionuclide ventriculography at rest and exercise in subclinical hypothyroidism, and its response to L-thyroxine therapy. **Am J Cardiol**, v. 91, n. 11, p. 1327-1330, 2003.

BRENTA, G. et al. Clinical practice guidelines for the management of hypothyroidism. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 57, n. 4, p. 265-299, 2013.

BUCKLEY, D. I. et al. C-reactive proyein as a risk factor for coronary heart disease: a systematic review and meta-analyses for the U.S. preventive Services Task Force. **Ann Intern Med**, v. 151, n. 7, p. 483-495, 2009.

CADENAS, E; SIES, H. Oxidative stress: excited oxygen species and enzyme activity. **Adv Enzyme Regul**, v. 23, p. 217-237, 1985.

CANARIS, G. J. et al. The Colorado Thyroid Disease Prevalence Study. **Arch Intern Med**, v. 160, n. 4, p. 526-534, 2000.

CANTÜRK, Z. et al. Hemostatic system as a risk factor for cardiovascular disease in women with subclinical hypothyroidism, **Thyroid**, v. 13, n. 10, p. 971-977, 2003.

CAPPOLA, A. R.; LADESON, P. W. Hypothyroidism and atherosclerosis. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 88, n. 6, p. 2438-2444, 2003.

CAPPOLA, A. R. et al. Thyroid status, cardiovascular risk, and mortality in older adults. **JAMA**, v. 295, n. 9, p. 1033-1041, 2006.

CARACCIO, N. et al. Lipoprotein profile in subclinical hypothyroidism: response to levothyroxine replacement, a randomized placebo-controlled study. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 87, n. 4, p. 1533-1538, 2002.

CARMELI, E. et al. Antioxidant status in the serum of persons with intellectual disability and hypothyroidism: a pilot study. **Res Developm Disab**, v. 29, n. 5, p. 431-438, 2008.

CATUREGLI, P. et al. Hypothyroidism in transgenic mice expressing IFN-g in the thyroid. **PNAS**, v. 97, n. 4, p. 1719-1724, 2000.

CEBECI, E. et al. Evaluation of oxidative stress, the activities of Paraoxonase and Arylesterase in patients with subclinical hypothyroidism. **J Invest Med**, v. 60, n. 1, p. 23-28, 2011.

CHADAREVIAN, R. et al. Components of the fibrinolytic system are differently altered in moderate and severe hypothyroidism. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 86, n. 2, p. 732-737, 2001.

CHEN, K. et al. Decreasing TNF results in less fibrosis and earlier resolution of granulomatous experimental autoimmune thyroiditis. **J Leukoc Biol**, v. 81, n. 1, p. 306-314, 2007.

CHRIST-CRAIN, M. et al. Elevated C-reactive protein and homocysteine values: cardiovascular risk factors in hypothyroidism? A cross-sectional and double-blind placebo-controlled trial. **Atherosclerosis**, v. 166, n. 2, p. 379-386, 2003.

CHU, J. W. et al. High prevalence of autoimmune thyroid disease in pulmonary arterial hypertension. **Chest**, v. 122, n. 5, p. 1668-1673, 2002.

COOPER, D. S. et al. L-thyroxine therapy in subclinical hypothyroidism. A double-blind, placebo-controlled trial. **Ann Intern Med**, v. 101, n. 1, p. 18-24, 1984.

COOPER, D. S.; BIONDI, B. Subclinical thyroid disease. **Lancet**, v. 379, n. 9821, p. 1142-1154, 2012.

CORIA, M. J.; PASTRÁN, A. I.; GIMENEZ, H. S. Serum oxidative stress parameters of women with hypothyroidism. **Acta Biomed**, v. 80, n. 2, p. 135-139, 2009.

CROWLEY, W. F. Jr. et al. Noninvasive evaluation of cardiac function in hypothyroidism. Response to gradual thyroxine replacement. **N Engl J Med**, v. 296, n.1, p. 1-6, 1977.

CURNOCK, A. L. et al. High prevalence of hypothyroidism in patients with primary pulmonary hypertension. **Am J Med Sci**, v. 318, n. 5, p. 289-292, 1999.

DANESE, M. D. et al. Effect of thyroxine therapy on serum lipoproteins in patients with mild thyroid failure: a quantitative review of the literature. **J Clin Endocrinol Metab**. v. 85, n. 9, p. 2993-3001, 2000.

DANESH, J. et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. **BMJ**, v. 321, n. 7255, p. 199-204, 2000.

DANESH, J. et al. Long-term interleukin-6 levels and subsequent risk of coronary heart disease: two new prospective studies and a systematic review. **PLoS Med**, v. 5, n. 4, p. e78, 2008.

DANZI, S.; KLEIN, I. Thyroid hormone-regulated cardiac gene expression and cardiovascular diseases. **Thyroid**, v.12, n. 6, p. 467-472, 2002.

DANZI, S; KLEIN, I. Thyroid hormone and blood pressure regulation. **Curr Hypertens Rep**, v. 5, n. 6, p. 513-520, 2003.

DANZI, S.; OJAMAA, K.; KLEIN, I. Triiodothyronine-mediated myosin heavy chain gene transcription in the heart. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 284, n. 6, p. H2255-H2266, 2003.

DARDANO, A. et al. Recombinant human thyrotropin reduces endothelium-dependent vasodilation in patients monitored for differentiated thyroid carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 91, n. 10, p. 4175-4178, 2006.

DARDANO, A.; MONZANI, F. Hypothyroidism and endothelial function: a marker of early atherosclerosis? **Recent patents on Endocr Metab Immune Drug Discovery**, v. 2, n. 2, p. 79-96, 2008.

De WAAL MALEFYT, et al. Interleukin-10 (IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. **J Exp Med**, v. 174, n. 5, p. 1209-1220, 1991.

DÍEZ, J. J. et al. Serum concentrations of tumour necrosis factor-alpha (TNF- α) and soluble TNF- α receptor p55 in patients with hypothyroidism and hyperthyroidism before and after normalization of thyroid function. **Clin Endocrinol**, v. 57, n. 4, p. 515-521, 2002.

DIXON, W. G. et al. Reduction in the incidence of myocardial infarction in patients with rheumatoid arthritis who respond to anti-tumor necrosis factor therapy. Results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. **Arthritis Rheum**, v. 56, n. 9, p. 2905-2912, 2007.

DUMITRIU, L. et al. Significance of high levels of serum malonyl dialdehyde (MDA) and ceruloplasmin (CP) in hyper and hypothyroidism. **Endocrinologie**, v. 26, n. 1, p. 35-38, 1988.

DUNTAS, L. Thyroid disease and lipids. **Thyroid**, v. 12, n. 4, p. 287-293, 2002.

DUNTAS, L. H.; MANTZOU, E.; KOUTRAS, D. A. Circulating levels of oxidized low-density lipoprotein in overt and mild hypothyroidism. **Thyroid**, v. 12, n. 11, p. 1003-1007, 2002.

EFSTATHIADOU, Z. et al. Lipid profile in subclinical hypothyroidism: is L-thyroxine substitution beneficial? **Eur J Endocrinol**, v. 145, n. 6, p. 705-710, 2001.

ERDAMAR, H. S. et al. The effect of hypothyroidism, hyperthyroidism and their treatment on parameters of oxidative stress and antioxidant status. **Clin Chem Lab Med**, v. 46, n. 7, p. 1004-1010, 2008.

EVERED, D. C. et al. Grades of hypothyroidism. **Br Med J**, v. 1, n. 5854, p. 657-662, 1973.

FANG, Y.; SHARP, G. C.; BRADLEY-MULLEN, H. Interleukin-10 promotes resolution of granulomatous experimental autoimmune thyroiditis. **Am J Pathol**, v. 172, n. 6, p. 1591-1602, 2008.

FAURÉ, M.; LISSI, E. A.; VIDELA, L. A. Evaluation of the antioxidant properties of thyroid hormones and propylthiouracil in the brain-homogenate autoxidation system and in the free radical-mediated oxidation of erythrocyte membranes. **Chem Biol Interact**, v. 77, n. 2, p. 173-185, 1991.

FAZIO, S. et al. Effects of thyroid hormone on the cardiovascular system. **Recent Prog Horm Res**, v. 59, p. 31-50, 2004.

FLYNN, R. W. V. et al. Mortality and vascular outcomes in patients treated for thyroid dysfunction. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 91, n. 6, p. 2159-2164, 2006.

FOMMEI, E.; IERVASI, G. The role of thyroid hormone in blood pressure homeostasis: evidence from short-term hypothyroidism in humans. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 87, n. 5, p. 1996-2000, 2002.

GANESH, B. B. et al. Role of cytokines in the pathogenesis and suppression of thyroid autoimmunity. **J Interferon Cytokine Res**, v. 31, n. 10, p. 721-731, 2011.

GARBER, J.R. et al. American Association of Clinical Endocrinologists and American Thyroid Association Task Force on Hypothyroidism in Adults. Clinical practice guidelines for hypothyroidism in adults: cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association. **Endocr Pract**, v. 22, n. 6, p. 988-1028, 2012.

GENCER, B. et al. Subclinical thyroid dysfunction and the risk of heart failure events. An individual participant data analysis from 6 prospective cohorts. **Circulation**, v. 126, n. 9, p. 1040-1049, 2012.

GERENOVA, J.; GADJEVA, V. Oxidative stress and antioxidant enzyme activities in patients with Hashimoto's thyroiditis. **Comp Clin Pathol**, v. 16, p. 259-264, 2007.

GLOBAL ATLAS ON CARDIOVASCULAR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. Mendis S.; Puska, P.; Norrving, B. editors. World Health Organization, Geneva, p. 2-15, 2011.

GO, A. S. et al. Heart disease and stroke statistics – 2014 Update: a report from the American Heart Association. **Circulation**, v. 129, n. 3, p. e28-e292, 2014,

GUCLU, F. et al. Down-regulation of the auto-aggressive processes in patients with hypothyroidism Hashimoto's thyroiditis following substitutive treatment with L-thyroxine. **Eur Cytokine Netw**, p. 20, n. 1, p. 27-32, 2009.

GUERRERO, A. et al. Effect of thyroid status on lipid composition and peroxidation in the mouse liver. **Free Radic Biol Med**, v. 26, n. 1-2, p. 73-80, 1999.

GULDIKEN, S. et al. Global fibrinolytic capacity in patients with subclinical hypothyroidism. **Endocr J**, v. 52, n. 3, p. 363-367, 2005.

GULLU, S. et al. Effects of levothyroxine treatment on biochemical and hemostasis parameters in patients with hypothyroidism. **Eur J Endocrinol**, v. 152, n. 3, p. 355-361, 2005.

GUSSEKLOO, J. et al. Thyroid status, disability and cognitive function, and survival in old age. **JAMA**, v. 292, p. 2591-2599, 2004.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Thyroid metabolic hormones. In: Guyton, A. C.; HALL, J. E. **Textbook of medical physiology**. 11th ed., Philadelphia, PA, Elsevier Saunders, Inc. USA. P. 931-943, 2006.

HAENTJENS, P. et al. Subclinical hypothyroidism dysfunction and mortality: an estimate of relative and absolute excess all-cause mortality based on time- to event data from cohort studies. **Eur J Endocrinol**, v.159, n. 3, p. 329-341, 2008.

HAK, A. E. et al. Subclinical hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: The Rotterdam Study. **Arch Intern Med**, v. 132, n. 4, p. 270-278, 2000.

HALLIWELL, B, et al. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis, **Br J Exp Path.** v. 70, n. 6, p. 737-757, 1989.

HALLIWELL, B.; CHIRICO, S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. **Am J Clin Nutr.** v. 57, n. suppl 4, p. 715S-725S, 1993.

HALLIWELL, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. **Plant Physiol.** v. 141, n. 2, p. 312-322, 2006.

HANSSON, G. K. et al. Interferon γ inhibits both proliferation and expression of differentiation-specific α -smooth muscle actin in arterial smooth muscle cells. **J Exp Med**, v. 170, p. 1595-1608, 1989.

HANSSON, G. K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. Mechanisms of disease. **N Eng J Med**, v.352, n. 16, p. 1685-1695, 2005.

HANSSON, G. K.; HERMANSSON, A. The immune system in atherosclerosis. **Nature**, v. 12, n. 3, p. 204-212, 2011.

HARIBABU, A. et al. Evaluation of protein oxidation and its association with lipid peroxidation and thyrotropin levels in overt and subclinical hypothyroidism. **Endocrine**, v. 44, n. 1, p. 152-157, 2012.

HERNÁNDEZ-MIJARES, A. et al. Relation between lipoprotein subfractions and TSH levels in the cardiovascular risk among women with subclinical hypothyroidism. **Clin Endocrinol**, v. 78, n. 5, p. 777-782, 2012.

HOLLOWELL, J. G. et al. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). **J Clin Endocrinol Metab**, v. 87, n. 2, p. 489-499, 2002.

HUESTON, W. J.; PEARSON, W. S. Subclinical hypothyroidism and the risk of hypercholesterolemia. **Ann Fam Med**, v. 2, n. 4, p. 351-355, 2004.

HUESTON, W. J.; KING, D. E.; GEESEY, M. E. Serum biomarkers for cardiovascular inflammation in subclinical hypothyroidism. **Clin Endocrinol**, v. 63, p. 582-587, 2005.

IL6R GENETICS CONSORTIUM AND EMERGING RISK FACTORS COLLABORATION. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta-analysis of 82 studies. **Lancet**, v. 379, n. 9822, p. 1205-1213, 2012.

IMAIZUMI, M. et al. Risk for ischemic heart disease and all cause mortality in subclinical hypothyroidism. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 89, n. 7, p. 3365-3370, 2004.

INECK, B. A.; NG, T. M. H. Effects of subclinical hypothyroidism and its treatment on serum lipids. **Ann Pharmacoter**, v. 37, n. 5, p. 725-730, 2003.

IQBAL, J. et al. Serum lipid levels in relation to serum thyroid-stimulating hormone and the effect of thyroxine treatment on serum lipid levels in subjects with subclinical hypothyroidism: the Tromso Study. **J Int Med**, p. 260, n. 1, p. 53-61, 2006.

JAESCHKE, R. et al. Does treatment with L-thyroxine influence health status in middle-aged and older adults with subclinical hypothyroidism? **J Ger Intern Med**, v. 11, p. 744-749, 1996.

JORDE, R.; FIGENSCHAU, Y.; HANSEN, J. B. Haemostatic function in subjects with mild subclinical hypothyroidism. The Tromso study. **Thromb Haemost.** v. 95, n. 4. p. 750-751, 2006.

JORDE, R. et al. Neuropsychological function and symptoms in subjects with hypothyroidism and the effect of thyroxine treatment. *J Clin Endocrinol Metab*, v. 9, n. 1, p. 145-153, 2006.

KAPTOGE, S. et al. Inflammatory cytokines and risk of coronary heart disease: new prospective study and updated meta-analysis. **Eur Heart J**, v. 35, n. 9, p. 578-589, 2014.

KEBAPCILAR, L. et al. Plasma thiobarbituric acid-reactive substance levels in subclinical hypothyroidism. **Med. Princ. Pract.** v. 16, n. 6, p. 432-436, 2007.

KHREISS, T. et al. Conformational rearrangement in C-reactive protein is required for proinflammatory actions on human endothelial cells. **Circulation**, v. 109, n. 16, p. 2016-2022, 2004.

KIM, S.Y. et al. Regression of the increased common carotid artery-intima media thickness in subclinical hypothyroidism after thyroid hormone replacement. **Endocr J**. v. 56, n. 6, p. 753-758, 2009.

KIM, M.; LADENSON, P. Tireoide. Em: Goldman L., Schafer, A. I.. *Goldman Cecil Medicina*. 24. ed., Rio de Janeiro, Elsevier, p. 1665-1671, 2014.

KLEIN, I.; DANZI, S. Thyroid disease and the heart. **Circulation**, v. 116, n. 15, p. 1725-1735, 2007.

KLEIN, I.; OJAMAA, K. Thyroid hormone and the cardiovascular system. **N Engl J Med**, v. 344, n. 7, p. 501-509, 2001.

KONG, W. M. et al. A 6-month randomized trial of thyroxine treatment in women with subclinical hypothyroidism. **Am J Med**, v. 112, n. 5, p. 348-354, 2002.

KOSAR, F. et al. Evaluation of right and left ventricular function using pulsed-wave tissue Doppler echocardiography in patients with subclinical hypothyroidism. **J Endocrinol Invest**. v. 28, n. 8, p. 704-710, 2005.

KOTSIS V, et al. Hypertension and hypothyroidism: results from an ambulatory blood pressure monitoring study. **J Hypertens**, v. 25, n. 5, p. 993-999, 2007.

KVETNY, J. et al. Subclinical hypothyroidism is associated with a low grade inflammation, increased triglyceride levels and predicts cardiovascular disease in males below 50 years. **Clin Endocrinol**, v. 61, n. 2, p. 232-238, 2004.

LEE, W. Y. et al. Plasma CRP, apolipoprotein A-1, apolipoprotein B and Lp(a) levels according to thyroid function status. **Arch Med Res**, v. 35, n. 6, p. 540-545, 2004.

LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. **Nature**, v. 420, n. 9, p. 868-874, 2002.

LIBBY, P.; RIDKER, P. M. Inflammation and atherosclerosis: role of C-reactive protein in risk assessment. **Am J Med**, v. 116, n. 6, p. 9-16, 2004.

LIBBY, P.; RIDKER, P. M.; HANSSON, G. K. Inflammation in atherosclerosis. From pathophysiology to practice. **J Am Coll Cardiol**, v. 54, n. 23, p. 2129-2138, 2009.

LIBBY, P.; RIDKER, P. M.; MASERI, A. Inflammation and atherosclerosis. **Circulation**, v. 105, p. 1135-1143, 2002.

LIBBY, P.; DI CARLI, M.; WEISSLEDER, R. The vascular biology of atherosclerosis and imaging targets. **J Nucl Med**, v. 51, n. 5 suppl, p. 33S-37S, 2010.

LIBBY, P.; RIDKER, P. M.; HANSSON, G. K. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. **Nature**, v. 473, n. 7347, p. 317-325, 2011.

LIBBY, P. Inflammation in atherosclerosis. **Arterioscl Thromb Vasc Biol**, v. 32, n. 9, p. 2045-2051, 2012.

LINDMARK, E. et al. Relationship between IL6 and mortality in patients with unstable coronary artery disease. Effects of an early invasive or non-invasive strategy. **JAMA**, v. 286, n. 17, p. 2107-2113, 2001.

LIU, D. et al. A cross-sectional survey of relationship between serum TSH level and blood pressure. **J Hum Hyperten**, v. 24, n. 2, p. 134-138, 2010.

LUBOSHITZKY, R. et al. Risk factors for cardiovascular disease in women with subclinical hypothyroidism. **Thyroid**, v. 12, n. 5, p. 421-425, 2002.

LUBOSHITZKY, R.; HERER, P. Cardiovascular risk factors in middle-aged women with subclinical hypothyroidism. **Neuro Endocrinol Lett.** v. 25, n. 4, p. 262-266, 2004.

MA, S. G. et al. Ischemia-modified albumin in patients with hyperthyroidism and hypothyroidism. **Eur J Intern Med**, v. 23, n. 6, p. e136-e140, 2012.

MAGDER, S. Reactive oxygen species: toxic molecules or spark of life? **Crit Care.** v. 10, n. 1, p. 208 (doi 10.1186/cc3992).

MANO, T. et al. Effects of thyroid hormone on coenzyme Q and other free radical scavengers in rat heart muscle. **J Endocrinol**, v. 145, n. 1, p. 13-136, 1995.

MARFELLA, R. et al. Innate immune activity in plaque of patients with untreated and L-Thyroxine treated subclinical hypothyroidism. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 96, n. 4, p. 1015-1020, 2011.

McKELLAR, G. E. et al. Role for TNF in atherosclerosis? Lessons from autoimmune disease. **Nat Rev Cardiol**, v. 6, n. 6, p. 410-417, 2009.

McLAUGHLIN. V. V. et al. ACCF/AHA 2009 Expert Consensus Document on Pulmonary Hypertension: A Report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on Expert Consensus Documents and the American Heart Association Developed in collaboration with the American College of Chest Physicians; American Thoracic Society, Inc.; and the Pulmonary Hypertension Association. **J Am Coll Cardiol.** v. 53, p. 1573-1619, 2009.

McQUADE, C. et al. Hypothyroidism and moderate subclinical hypothyroidism are associated with increased all-cause mortality independent of coronary heart disease risk factors: a pre CYS database study. **Thyroid**, v. 21, n. 8, p. 837-843, 2011.

MEHMETÇİK, G; BECER, E; AKBEY, A. Serum total antioxidant status, lipid profile, malondialdehyde and erythrocyte superoxide dismutase levels in Hashimoto thyroiditis patients treated with Levothyroxine. **Turkiye Klinikleri J Med Sci**, v. 32, n. 5, p. 1241-1246, 2012.

MEIER, C. et al. TSH-controlled L-thyroxine therapy reduces cholesterol levels and clinical symptoms in subclinical hypothyroidism: a double blind, placebo-controlled trial (Basel Thyroid Study). **J Clin Endocrinol Metab**, v. 86, n. 10, p. 4860-4866, 2001.

MONZANI, F. et al. Effect of levothyroxine on cardiac function and structure in subclinical hypothyroidism: a double blind, placebo-controlled study. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 86, n. 3, p. 1110-1115, 2001.

MONZANI, F. et al. Effect of levothyroxine replacement on lipid profile and intima-media thickness in subclinical hypothyroidism: a double-blind, placebo-controlled study. **J Clin Endocrinol Metab**. v. 89, n. 5, p. 2099-2106, 2004.

MORRIS, M. S. et al. Hyperhomocysteinemia and hypercholesterolemia associated with hypothyroidism in the third US National Health and Nutrition Examination Survey. **Atherosclerosis**, v. 155, n. 1, p. 195-200, 2001.

MÜLLER, B. et al. Impaired of thyroid hormone associated with smoking in women with hypothyroidism. **N Engl J Med**, v. 333, n. 15, p. 964-969, 1995.

NAGASAKI, T. et al. Decrease in carotid intima-media thickness in hypothyroid patients after normalization of thyroid function. **Clin Endocrinol**. v. 59, n. 5, p. 607-612, 2003.

NAGASAKI, T. et al. Increased pulse wave velocity in subclinical hypothyroidism. **J Clin Endocrinol Metab**. v. 91, n. 1, p. 154-155, 2006.

NAGASAKI, T. et al. Increased levels of C-reactive protein in hypothyroid patients and its correlation with arterial stiffness in the common carotid artery. **Biomed. Pharmacother**. v. 61, n. 2-3, p. 167-172, 2007.

NAGASAKI, T. et al. Decrease of brachial-ankle pulse wave velocity in female subclinical hypothyroid patients during normalization of thyroid function: a double-blind, placebo-controlled study. **Eur J Endocrinol**. v. 160, n. 3, p. 409-415, 2009.

NANCHEN, D. et al. Subclinical thyroid dysfunction and the risk of heart failure in older persons at high cardiovascular risk. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 97, n. 3, p. 852-861, 2012.

NANDA, N. et al. Association between oxidative stress and coronary lipid risk factors in hypothyroid women is independent of body mass index. **Metabolism**, v. 56, n. 10, p. 1350-1355, 2007.

NANDA, N.; BOBBY, Z.; HAMIDE, A. Association of thyroid stimulating hormone and coronary lipid factors with lipid peroxidation in hypothyroidism. **Clin Chem Lab Med**, v. 46, n. 5, p. 674-679, 2008a.

NANDA, N.; BOBBY, Z.; HAMIDE, A. Oxidative stress and protein glycation in primary hypothyroidism. Male/female difference. **Clin Exp Med**, v. 8, n. 2, p. 101-108, 2008 b.

NANDA, N.; BOBBY, Z.; HAMIDE, A. Inflammation and oxidative stress in hypothyroids: additive effects on cardiovascular risk. **Indian J Physiol Pharmacol**. v. 55, n. 4, p. 351-156, 2011.

NANDA, N.; BOBBY, Z.; HAMIDE, A. Oxidative stress in anti thyroperoxidase antibody positive hypothyroid patients. **Asian J Biochem**, v. 7, n. 1, p. 54-58, 2012.

NYSTRÖM, E. et al. A double-blind cross-over 12 months study of Lthyroxine treatment of women with subclinical hypothyroidism. **Clin Endocrinol**, v. 29, p. 63-76, 1988

OCHS, N. et al. Meta-analysis: subclinical thyroid dysfunction and the risk for coronary heart disease and mortality. **Ann Intern Med**, v. 148, n. 11, p. 832-845, 2008.

OWEN, P. J.; SABIT, R.; LAZARUS, J. H. Thyroid disease and vascular function. **Thyroid**, v. 17, n. 6, p. 519- 524, 2007.

OZCAN, O. et al. The effects of thyroxine replacement on the levels of serum asymmetric dimethylarginine (ADMA) and other biochemical cardiovascular risk markers in patients with subclinical hypothyroidism. **Clin Endocrinol**. v. 63, n. 2, p. 203-206, 2005.

ÖZTÜRK, Ü. et al. Oxidative stress parameters in serum and low proteins of Hashimoto's thyroiditis patients with subclinical and overt hypothyroidism. **Int Immunopharmacol**, v. 14, n. 4, p. 349-352, 2012.

PAOLIERI, F. et al. Possible pathogenic relevance of interleukin1-beta in "destructive" organ specific autoimmune disease (Hashimoto's thyroiditis). **Ann N Y Acad Sci**, v. 876, p. 221-228, 1999.

PARLE, J. V. et al. Prevalence and follow up of abnormal thyrotropin (TSH) concentrations in the elderly in the United Kingdom. **Clin Endocrinol**, v 34, n. 1, p. 77-83, 1991.

PARLE, J. et al. A randomized controlled trial of the effect of thyroxine replacement on cognitive function in community-living elderly subjects with subclinical hypothyroidism: The Birmingham elderly thyroid study. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 95, n. 8, p. 3623-3632, 2010.

PASCERI, V.; WILLERSON, J. T.; YEH, E. T. H. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. **Circulation**, v. 102, n. 18, p. 2165-2168, 2000.

PEDERSEN, E. R. et al. Systemic markers of interferon-mediated immune activation and long-term prognosis in patients with stable coronary artery disease. **Arterioscl Thromb Vasc Biol**, v. 31, n. 3, p. 698-704, 2011.

PEREIRA, B. et al. Control of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in rat lymphoid organs by thyroid hormones. **J Endocrinol**, v. 140, n. 1, p. 73-77, 1994.

POYRAZOGLU, O. K. et al. L - thyroxine treatment of patients with subclinical hypothyroidism reduce inflammation. **Open Endocrinol J**, v. 3, p. 34-37, 2009.

QURESHI, A. I. et al. Free thyroxine index and risk of stroke: results from the National Health and Nutrition Examination Survey Follow-up Study. **Med Sci Monit**, v. 12, n. 12, p. CR501-506, 2006.

QUYYUMI, A. A. Endothelial function in health and disease: new insights into genesis of cardiovascular disease. **Am J Med**, v. 105, n. 1A, p. 32S-39S, 1998.

RASMUSSEN, A. K.; BENDZEN, K.; FELDT-RASMUSSEN, U. Thyrocyte interleukin-1 interactions. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**, v. 108, p. 67-71, 2000.

RAZVI, S. et al. The beneficial effect of L-thyroxine on cardiovascular risk factors, endothelial function, and quality of life in subclinical hypothyroidism: randomized, crossover trial. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 92, n. 5, p. 1715-1723, 2007.

RAZVI, S. et al. The influence of age on the relationship between subclinical hypothyroidism and ischemic heart disease: a metaanalysis. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 93, n. 8, p. 2998-3007, 2008.

RAZVI, S. et al. The incidence of ischemic heart disease and mortality in people with subclinical hypothyroidism: reanalysis of the Wickham Survey cohort. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 95, n. 4, p.1734-1740, 2010.

RAZVI, S. et al. Levothyroxine treatment of subclinical hypothyroidism, fatal and nonfatal cardiovascular events, and mortality. **Arch Int Med**, v. 172, n. 10, p. 811-817, 2012.

RESCH, U. et al. Antioxidant status in thyroid dysfunction. **Clin Chem Lab Med**, v. 40, n. 11, p. 1132-1134, 2002.

RIDKER, P. M. et al. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. **N Eng J Med**, v. 336, n. 14, p. 973-979, 1997.

RIDKER, P. M. et al. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. **N Eng J Med**, v. 342, n. 12, p. 836-843, 2000a.

RIDKER, P. M. et al. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. **Circulation**, v. 101, n. 15, p. 1767-1772, 2000b.

RIDKER, P. M. et al. Elevation of tumor necrosis factor alpha and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. **Circulation**, v. 101, n. 18, p. 2149-2153, 2000c.

RIDKER, P. M. et al. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events. An 8 year follow-up of 14719 initially healthy American women. **Circulation**, v. 107, n. 3, p. 391-397, 2003.

RIDKER, P. M. et al. Interleukin-1 β inhibition and the prevention of recurrent cardiovascular events: rationale and design of the Canakinumab anti-inflammatory thrombosis outcomes study (CANTOS). **Am Heart J**, v. 162, n. 4, p. 597-605, 2011.

RIDKER, P. M. et al. Effects of interleukin-1 β inhibition with Canakinumab on hemoglobin A1c, lipids, C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen. A phase IIb randomized, placebo-controlled trial. **Circulation**, v. 126, n. 23, p. 2739-2748, 2012.

ROBERTS, C. G. P.; LADENSON, P. W. Hypothyroidism. **Lancet**, v. 363, n. 9411, p. 793-803, 2004.

RODONDI, N. et al. Subclinical hypothyroidism and the risk of heart failure, others cardiovascular events, and death. **Arch Intern Med**, v. 165, n. 21, p. 2460-2466, 2005.

RODONDI, N. et al. Subclinical hypothyroidism and the risk of coronary heart disease: a meta-analysis. **Am J Med**, v. 119, n. 7, p. 541-551, 2006.

RODONDI, N. et al. Subclinical thyroid dysfunction, cardiac function and the risk of heart failure: the Cardiovascular Health Study. **J Am Coll Cardiol**. v. 52, n. 14, p. 1152-1159, 2008.

RODONDI, N. et al. Subclinical hypothyroidism and the risk of coronary heart disease and mortality. **JAMA**, v. 304, n. 12, p. 1365-1374, 2010.

ROSS, R. Atherosclerosis, an inflammatory disease. **N Eng J Med**, v. 340, n. 2, p. 115-126, 1999.

ROSTAMI, R. et al. Enhanced oxidative stress in Hashimoto's thyroiditis: inter-relationships to biomarkers of thyroid function. **Clin Biochem**, v. 46, n. 4-5, p. 308-312, 2013.

SAITO, I.; ITO, K.; SARUTA, T. Hypothyroidism as a cause of hypertension. **Hypertension**, v. 5, n. 1, p. 112-115, 1983.

SANTI, A. et al. Association between thyroid hormones, lipids and oxidative stress biomarkers in overt hypothyroidism. **Clin Chem Lab Med**, v. 48, n.11, p.1635-1639, 2010.

SANTI, A. et al. Association of lipids with oxidative stress biomarkers in subclinical hypothyroidism. **Intern J Endocrinol**, v. 2012, art 856359, 2012.

SARANDÖL. E. et al. Oxidative stress and serum paraoxonase activity in experimental hypothyroidism: effect of vitamin E supplementation. **Cell Biochem Funct**, v. 23, n. 1, p. 1-8, 2005.

SAWIN, C. T. et al. The aging thyroid. Thyroid deficiency in the Framingham Study. **Arch Intern Med**, v. 145, n. 8, p. 1386-1388, 1985.

SGARBI, J. A.; MACIEL, R. M. B. Pathogenesis of autoimmune thyroid diseases. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 53, n. 1, p. 5-14, 2009.

SGARBI, J. A. et al. Subclinical thyroid dysfunctions are independent risk factors for mortality in a 7.5 year follow-up: the Japanese-Brazilian thyroid study. **Eur J Endocrinol**, v. 162, n. 3, p. 569-577, 2010.

SGARBI, J. A. et al. The brazilian consensus for the clinical approach and treatment of subclinical hypothyroidism in adults: recommendations of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 57, n. 3, p. 166-183, 2013.

SICHERI, R. et al. Low prevalence of hypothyroidism among Black and Mulatto people in a population based study of Brazilian women. **Clin Endocrinol**, v. 66, n. 6, p. 803-807, 2007.

SINGH, S. et al. Impact of subclinical thyroid disorders on coronary heart disease, cardiovascular and all cause mortality: a meta-analysis. **Int J Cardiol**, v. 125, n. 1, p. 41-48, 2008.

SQUIZZATO, A. et al. Thyroid dysfunction and effects on coagulation and fibrinolysis: a systematic review. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 92, n. 7, p. 2415-2420, 2007.

STAHL, G. L.; HALLIWELL, B.; LONGHURST, J. C. Hydrogene peroxide-induced cardiovascular reflexes. Role of hydroxyl radicals. **Circ Res**. v. 71, n. 2, p. 295-302, 1992.

STAUB, J. J. et al. Spectrum of subclinical and overt hypothyroidism: effect on thyrotropin, prolactin, and thyroid reserve, and metabolic impact on peripheral target tissues. **Am J Med**, v. 92, n. 6, p. 631-642, 1992.

STEINBERG, A. D. Myxedema and coronary artery disease: a comparative autopsy study. **Ann Intern Med**, v. 68, n. 2, p. 338-344, 1968.

STORZ, P. Reactive oxygen species in tumor progression. **Front Biosci.** v. 10, p. 1881-1896, 2005.

STREETEN, D. H. et al. Effects of thyroid function on blood pressure. Recognition of hypothyroid hypertension. **Hypertension**, v. 11, n. 1, p. 78-83, 1988.

SUGIYAMA, S. et al. Hypochlorous acid, a macrophage product, induces endothelial apoptosis and tissue factor expression. Involvement of myeloperoxidase-mediated oxidant in plaque erosion and thrombogenesis. **Arterioscl Thromb Vasc Biol**, v. 24, n. 7, p. 1309-1314, 2004.

SYMMONS, D. P.; GABRIEL, S. E. Epidemiology of CVD in rheumatic disease, with a focus on RA and SLE. **Nat Rev Rheumatol**, v. 7, n. 7, p. 399-408, 2011.

TADDEI, S. et al. Impaired endothelium-dependent vasodilatation in subclinical hypothyroidism: beneficial effect of levothyroxine therapy. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 88, n. 8, p. 3731-3737, 2003.

TADDEI, S. et al. Low-grade systemic inflammation causes endothelial dysfunction in patients with Hashimoto's thyroiditis. **J Clin Endocrinol Metab**. v. 91, n. 12, p. 5076-5082, 2006.

TANIS, B. C. et al. Effect of thyroid substitution on hypercholesterolaemia in patients with subclinical hypothyroidism: a reanalysis of intervention studies. **Clin Endocrinol**, v. 44, n. 6, p. 643-649, 1996.

TEIXEIRA, P. F. et al. Lipid profile in different degrees of hypothyroidism and effects of levothyroxine replacement in mild thyroid failure. **Transl Res**, v. 151, n. 4, p. 224-231, 2008.

THE INTERLEUKIN-6 RECEPTOR MENDELIAN RANDOMISATION ANALYSIS (IL6R MR) CONSORTIUM. The interleukin-6 receptor as a target for prevention of coronary heart disease: a mendelian randomization analysis. **Lancet**, v. 379, n. 9822, p. 1214-1224, 2012.

TIAN, L. et al. Increased carotid arterial stiffness in subclinical hypothyroidism. **Eur J Intern Med**. v. 21, n. 6, p. 560-563, 2010.

TORTORA, G. J.; GRABOWINSK, S. R. **Corpo humano: fundamentos de anatomia e fisiologia**. 6. ed., Porto Alegre, Artmed 2006.

TORUN, A. N. et al. Serum total antioxidant status and lipid peroxidation marker malondialdehyde levels in overt and subclinical hypothyroidism. **Clin Endocrinol**, v. 70, n. 3, p. 469-474, 2009.

TORUNER, F, et al. Risk factors for cardiovascular disease in patients with subclinical hypothyroidism. **Adv Ther**, v. 25, n. 5, p. 430-437, 2008.

TSENG, F. Y. et al. Subclinical hypothyroidism is associated with increased risk for all-cause and cardiovascular mortality in adults. **J Am Coll Cardiol**, v. 60, n. 8, p. 730-737, 2012.

TSIMIKAS, S.; WILLERSON, J. T.; RIDKER, P. M. C-reactive protein and other emerging blood biomarkers to optimize risk stratification of vulnerable patients. **J Am Coll Cardiol**, v. 47, n. 8, suppl C, p. C19-31, 2006.

TSOTSONOVA, T. D. et al. The status of redox system in patients with chronic autoimmune thyroiditis. **Georg Med News**, v. 145, n. 5, p. 55-58, 2007.

TÜREMEN, E. E. et al. Endothelial dysfunction and low grade chronic inflammation in subclinical hypothyroidism due to autoimmune thyroiditis. **Endocrine J**, v. 58, n. 5, p. 349-354, 2011.

TURHAM, S. et al. Effects of thyroxine therapy on right ventricular systolic and diastolic function in patients with subclinical hypothyroidism: a study by pulsed wave tissue Doppler imaging. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 91, n. 9, p. 3490-3493, 2006.

TUZCU, A. et al. Subclinical hypothyroidism may be associated with elevated high sensitive C-reactive protein (low grade inflammation) and fasting hyperinsulinemia. **Endocr J**, v. 52, n. 1. p. 89-94, 2005.

VANDERPUMP, M. P. et al. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Whickman Survey. **Clin Endocrinol**, v. 43, n. 1, p. 55-68, 1995.

VASAN, R. et al. Biomarkers of cardiovascular disease. Molecular basis and practical considerations. **Circulation**, v. 113, n. 13, p. 2335-2362, 2006.

VENDITTI, P. et al. Effect of thyroid state on lipid peroxidation, antioxidant defences, and susceptibility to oxidative stress in rat tissues. **J Endocrinol**, v. 155, n. 1, p. 151-157, 1997.

VENUGOPAL, S. K. et al. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. **Circulation**, v. 106, n. 12, p. 1439-1441, 2002.

VERMA, S. et al. A self-fulfilling prophecy. C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. **Circulation**, v. 106, n. 8, p. 913-919, 2002.

VIERHAPPER, H. Low-density lipoprotein cholesterol in subclinical hypothyroidism. **Thyroid**, v. 10, n. 11, p. 981-984, 2000.

VILLAR, H. C. C. E. et al. Thyroid hormone replacement for subclinical hypothyroidism. **Cochrane Database Syst Rev**, v. 18, n. 3, p. CD003419, 2007.

VITALE, G. et al. Left ventricular myocardial impairment in subclinical hypothyroidism assessed by a new ultrasound tool: pulsed tissue Doppler. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 87, n. 9, p. 4350-4355, 2002.

VÖLZKE, H. et al. The association of thyroid dysfunction with all-cause and circulatory mortality: is there a causal relationship? **J Clin Endocrinol Metab**, v. 92, n. 7, p. 2421-2429, 2007.

WALSH, J. P. et al. Subclinical thyroid dysfunction as a risk factor for cardiovascular disease. **Arch Int Med**, v. 165, n. 21, p. 2467-2472, 2005.

WALTER, M. F. et al. Serum levels of thiobarbituric acid reactive substances predict cardiovascular events in patients with stable coronary artery disease. A longitudinal analysis of the PREVENT Study. **J Am Coll Cardiol**, v. 44, n. 10, p. 1996-2002, 2006.

WANG, T. J. Assessing the role of circulating, genetic, and imaging biomarkers in cardiovascular risk prediction. **Circulation**, v. 123, n. 5, p. 551-565, 2011.

WEETMAN, A. P. Autoimmune thyroid disease: propagation and progression. **Eur J Endocrinol**, v. 148, n. 1, p. 1-9, 2003.

WEETMAN, A. P. Cellular immune responses in autoimmune thyroid disease. **Clin Endocrinol**, v. 61, n. 4, p. 405-413, 2004.

WELLS, B. J.; HUESTON, W. J. Are thyroid peroxidase antibodies associated with cardiovascular disease risk in patients with subclinical hypothyroidism? **Clin Endocrinol**, v. 62, n. 5, p. 580-584, 2005.

WELSH, P.; PACKARD, C. J.; SATTAR, N. Novel antecedent plasma biomarkers of cardiovascular disease: improved evaluation methods and comparator benchmarks raise the bar. **Curr Opin Lipidol**, v. 19, n. 6, p. 563-571, 2009.

WILLERSON, J. T.; RIDKER, P. M. Inflammation as a cardiovascular risk factor. **Circulation**, v. 109, n. suppl II, p. II-2 – II10, 2004.

WOEBER, K. A. Update on management of hyperthyroidism and hypothyroidism. **Arch Intern Med**, v. 160, n. 8, p. 1067-1071, 2000.


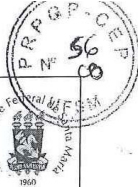
YAMASHINA, A. et al. Validity, reproducibility, and clinical significance of noninvasive brachial-ankle pulse wave velocity measurement. **Hypertens Res**, v. 25, n. 3, p. 359-364, 2002.

YILMAZ, S. et al. Oxidative damage and antioxidant enzyme activities in experimental hypothyroidism. **Cell Biochem Funct**, v. 21, n. 4, p. 325-330, 2003.

ZONCU, S. et al. Cardiac function in borderline hypothyroidism: a study by pulsed wave tissue Doppler imaging. **Eur J Endocrinol**, v. 152, n. 4, p. 527-533, 2005.

ANEXOS

Anexo A – Carta de Aprovação no Comitê de Ética em Pesquisas Clínicas

 <p>MINISTÉRIO DA SAÚDE Conselho Nacional de Saúde Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)</p>	<p>UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa Comitê de Ética em Pesquisa - CEP- UFSM REGISTRO CONEP: 243</p> 
--	---

CARTA DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa – UFSM, reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa – (CONEP/MS) analisou o protocolo de pesquisa:

Título: Prevalência de Hipertensão Arterial Pulmonar e Avaliação Inflamatória Sistêmica em Pacientes com Distúrbio Tireoidiano.

Número do processo: 23081.016313/2007-15

CAAE (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética): 0177.0.243.000-07

Pesquisador Responsável: Roseane Cardoso Marchiori

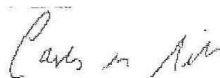
Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos de acordo com as Diretrizes estabelecidas na Resolução 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde. Toda e qualquer alteração do Projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente a este Comitê. O pesquisador deve apresentar ao CEP:

Dezembro/2008	Relatório parcial
Dezembro/2009	Relatório parcial
Junho/2010	Relatório final

Os membros do CEP-UFSM não participaram do processo de avaliação dos projetos onde constam como pesquisadores.

DATA DA REUNIÃO DE APROVAÇÃO: 19/12/2007

Santa Maria, 19 de Dezembro de 2007.



Prof. Dr. Carlos Ernando da Silva
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa – UFSM
Registro CONEP N. 243.

Anexo B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TÍTULO DO PROJETO

“Prevalência de hipertensão arterial pulmonar e avaliação inflamatória sistêmica em pacientes com distúrbio tireoidiano”.

OBJETIVOS

Investigar a prevalência de hipertensão arterial pulmonar ao exame ecocardiográfico nos pacientes com hipotireoidismo primário e possível correlação com marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo, bem como avaliar o efeito do hipotireoidismo sobre os marcadores bioquímicos inflamatórios e de estresse oxidativo em condições basais e a modificação observada nesses parâmetros e no exame ecocardiográfico (se alterado), após 6 e 12 meses de tratamento de reposição hormonal com Levotiroxina.

REGISTRO

Esse estudo obteve aprovação junto ao Conselho de Ética Humana da Universidade Federal de Santa Maria (número 0177.0.243.000.07).

CONDUÇÃO DO ESTUDO

O hipotireoidismo é uma condição prevalente e que pode se associar a importantes repercussões no sistema cardíaco e vascular. Hipotireoidismo e doença autoimune da tireoide têm sido associados à hipertensão pulmonar primária, uma doença progressiva que pode levar à insuficiência cardíaca direita e morte prematura.

Serão avaliados pacientes do ambulatório de endocrinologia do Hospital Universitário de Santa Maria, com diagnóstico recente de hipotireoidismo, ainda sem tratamento. Serão submetidos à história médica completa, exame físico, exames laboratoriais, eletrocardiograma, ecocardiograma, radiograma de tórax e espirometria, para avaliação completa dos critérios de inclusão e exclusão. O exame ecocardiográfico será repetido se evidenciar elevação da pressão sistólica em artéria pulmonar (hipertensão pulmonar). Em condições pré-tratamento, serão colhidas amostras de sangue para dosagem do perfil tireoidiano (TSH, T4L, anticorpo antitiroperoxidase, anticorpo antitiroglobulina), do perfil lipídico (colesterol total, colesterol lipoproteína de alta densidade - HDL, colesterol

lipoproteína de baixa densidade – LDL e triglicerídeos), do perfil inflamatório sistêmico (Proteína C Reativa e Interleucinas) e do perfil de estresse oxidativo (dosagem da enzima Aminolevulinato desidratase - ALAD, Substâncias reativas do ácido tiobarbitúrico - TBARS, grupos tióis proteico e não-proteico). Os pacientes serão acompanhados clinicamente e coletarão novamente todas as dosagens acima citadas, aos seis e aos 12 meses de tratamento de reposição hormonal com Levotiroxina.

PROCEDIMENTOS E RISCO DE PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

Os pacientes serão submetidos à punção venosa. Esse procedimento costuma ser feito rotineiramente, não envolve risco adicional ou risco de contaminação. Em caso de acidente de punção, na coleta, poderá haver o desenvolvimento de flebite, hematoma ou petéquias no local da punção, todos facilmente controlados e cuidados no Laboratório do HUSM, onde será feita a coleta. O material biológico, o sangue, será destinado para as análises citadas anteriormente. Os exames ecocardiográficos, espirometria são métodos não-invasivos de avaliação cardíaca e pulmonar, rotineiros da prática médica

Pelo presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, declaro que autorizo a minha participação nesse projeto de pesquisa, pois fui informado(a) de forma clara e detalhada, livre de qualquer forma de constrangimento ou coerção, dos objetivos e dos procedimentos a que serei submetido(a). Fui igualmente informado(a): 1- Da garantia de receber resposta a qualquer esclarecimento ou dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa; 2- Da garantia de retirar o meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de participar do estudo, sem que isso traga prejuízo à continuidade do meu tratamento no HUSM; 3- Da garantia de que não serei identificado(a), quando da divulgação dos resultados e que as informações obtidas somente serão usadas para fins científicos, vinculados ao presente projeto de pesquisa; 4- Do compromisso de receber informação atualizada, durante o estudo; 5- Da disponibilidade de tratamento médico e de indenização, conforme estabelece a legislação, caso existam danos à minha saúde, diretamente causados por essa pesquisa; 6- De que não haverá nenhuma forma de compensação financeira e de que não haverá custos para o participante.

Nome do paciente:

Assinatura:

Data:

Nome e assinatura do entrevistador:

Caso exista dúvida, entrar em contato com Prof. Roseane Marchiori, no Serviço de Pneumologia do HUSM, fones: 3220-8585 e 9613-4667.