

Trabajo original

Endotelina-1, proteína C reactiva ultrasensible y actividad antioxidante en pacientes con hipotiroidismo subclínico y en eutiroideos con autoinmunidad tiroidea. Efectos del tratamiento con levotiroxina



M.S. Abalovich^{a,*}, A. Mumbach^a, B. Pérez^a, A.M. Vázquez^a, G.N. Alcaraz^a, M.C. Calabrese^a, L. Schreier^b, L. Muzzio^b, G.B. Astarita^a, M.Repetto^c, S. Gutiérrez^a

^aDivisión Endocrinología del Hospital Carlos G. Durand, CABA

^bUniversidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Laboratorio de Lípidos y Aterosclerosis, Hospital de Clínicas. INFIBIOC-UBA

^cUniversidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Cátedra de Química General e Inorgánica

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 15 de marzo de 2018

Aceptado el 30 de marzo de 2018

Palabras clave:

Endotelina-1

PCRus

Actividad antioxidante

Hipotiroidismo subclínico

Autoinmunidad tiroidea

R E S U M E N

La Endotelina-1 (ET1) y Proteína C Reactiva ultrasensible (PCRus) como marcadores de disfunción endotelial (DE) e inflamación vascular en hipotiroidismo subclínico (HS) han mostrado resultados controvertidos. El rol del estrés oxidativo y defensa antioxidante (TRAP) es motivo de discusión.

Objetivos: Establecer si el HS y la autoinmunidad tiroidea (AIT), excluyendo otros factores de riesgo cardiovascular, pueden causar DE e inflamación vascular, evaluadas a través de ET1 y PCRus, respectivamente. Establecer si TRAP juega algún rol. Evaluar cambios en ET1 y PCRus luego del tratamiento con levotiroxina (LT4).

Material y métodos: Se evaluaron prospectivamente 70 pacientes divididos en 3 grupos: HS: 41 pacientes (T4 normal, TSH >4,2 y <10 mUI/L), AIT: 10 pacientes eutiroideos (TSH <4,2 mUI/L) con aTPO y/o aTg (+) y Control: 19 pacientes eutiroideos sin AIT. Se excluyeron otros factores de riesgo cardiovascular. Se midió basalmente ET1, PCRus y TRAP plasmáticos, y en HS bajo LT4 (n = 24): ET1 y PCRus.

Resultados: No hubo diferencias significativas en edad, IMC, perfil lipídico y TRAP. ET1 y PCRus fueron significativamente mayores en pacientes con HS (media ± DS 1,77 ± 0,85 pg/ml y 1,5 ± 0,6 mg/l vs. controles (0,8 ± 0,3 pg/ml y 0,5 ± 0,2 mg/l) p <0,0001 y <0,008 respectivamente. Del mismo modo en AIT (1,4 ± 0,4 pg/ml y 2,3 ± 1,3 mg/l) vs controles p <0,0001 y <0,034, respectivamente. La TSH fue mayor en el grupo AIT vs. Control 2,57 ± 0,88 vs. 1,64 ± 0,5 mUI/L; p = 0,002. En HS bajo LT4 (8,7 ± 3,8 meses) se observó descenso de ET1 (p <0,001). ET1 correlacionó con TSH (r = 0,5 p <0,0001). El punto de corte de ET1 mediante curva ROC fue 1,32 pg/ml (Sensibilidad 81,6%-Especificidad 75%).

Conclusiones: ET1 y PCRus resultaron marcadores útiles para evaluar DE e inflamación vascular asociadas a HS. La defensa antioxidante no ejercería un rol en estos mecanismos. El tratamiento con LT4 produjo una significativa caída de ET1, pudiendo necesitarse un período más largo de eutiroidismo para normalizarla. En AIT, niveles de TSH >2,5 mUI/L podrían sugerir un mínimo grado de hipotiroidismo justificando la elevación en ET1 y PCR, sin descartar el rol de la AIT "per se".

Endothelin-1, high sensitivity C reactive protein and antioxidant activity in subclinical hypothyroid patients. Effects of levothyroxine treatment

A B S T R A C T

Keywords:

Endothelin-1
hsCRP
Antioxidant activity
Subclinical hypothyroidism
Thyroid autoimmunity

The measurement of endothelin-1 (ET1) and high sensitivity C-reactive protein (hsCRP) as markers of endothelial dysfunction (ED) and vascular inflammation in subclinical hypothyroidism (SH) has shown controversial results. The role of oxidative stress and antioxidant defense (TRAP) is a matter of discussion.

Objectives: To establish if SH and thyroid autoimmunity (TAI), excluding other cardiovascular risk factors, may cause ED and vascular inflammation, evaluated through the measurement of ET1 and hsCRP respectively. To determine if TRAP could have some role. Additionally, changes in these parameters after treatment with levothyroxine (LT4) will be evaluated.

Material and methods: 70 patients were prospectively evaluated. They were classified into: SH Group: 41 patients (normal T4, TSH > 4.2 and < 10 mIU/L), TAI Group: 10 euthyroid patients (TSH < 4.2 mIU/L) with positive aTPO and/or aTg and Control Group: 19 euthyroid patients without TAI. Other cardiovascular risk factors were excluded in patients and controls. Plasma ET1, hsCRP and TRAP were measured basally, and ET1 and hsCRP under LT4 therapy in the HS Group.

Results: There were no significant differences between the 3 groups in age, BMI, lipids and TRAP. ET1 and hsCRP were significantly higher in patients with SH (mean \pm SD 1.77 ± 0.85 pg/ml and 1.5 ± 0.6 mg/l) vs. controls (0.8 ± 0.3 pg/ml y 0.5 ± 0.2 mg/l) $p < 0.0001$ y < 0.008 respectively. Similarly, in TAI patients (1.4 ± 0.4 pg/ml y 2.3 ± 1.3 mg/l) vs controls, $p < 0.0001$ and < 0.034 , respectively. TSH was higher in the TAI patients versus control group (2.5 ± 0.88 versus 1.64 ± 0.5 mIU/L, $p = 0.002$). Twenty-four patients with SH showed a significant decrease in ET1 ($p < 0.001$) under treatment with LT4 (8.7 ± 3.8 months). ET1 had a highly significant correlation ($p < 0.0001$) with TSH ($r = 0.5$). The cut-off level of ET1 established by ROC curve was 1.32 pg/ml (Sensitivity 81.6%-Specificity 75%).

Conclusions: ET1 and hsCRP were useful markers to evaluate ED and vascular inflammation associated with SH. There were no differences in TRAP levels between patients and controls, so it does not appear that oxidative stress would have played any role.

Treatment with LT4 produced a significant drop in ET1. Probably, a longer period of euthyroidism might be necessary to normalize ET1 levels. In TAI Group, TSH levels > 2.5 mIU/L could suggest a "minimal degree" of hypothyroidism justifying the elevation in ET1 and hsCRP. The role of the TAI "per se" couldn't be completely ruled out.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: mabalovich@yahoo.com.ar (Marcos Abalovich)

Introducción

Se considera al hipotiroidismo subclínico (HS) como un factor de riesgo de aterosclerosis¹ por asociarse a disfunción endotelial (DE) e inflamación vascular². Sin embargo, los mecanismos fisiopatológicos implicados en dicha alteración no resultan claros³. Existen dudas si el HS "per se" es capaz de provocar las alteraciones del endotelio o lo hace de manera indirecta a través de la dislipidemia, la insulinorresistencia, el estrés oxidativo u otros mecanismos⁴. Asimismo, se desconoce la repercusión que la autoinmunidad tiroidea (AIT) pueda tener sobre el endotelio⁵.

Existen distintos métodos para evaluar DE, como flujo mediado por vasodilatación en arteria braquial (FMD)⁶, grosor de la capa arterial íntima-media (CAIM)⁷ y medición de sustancias vasoactivas como óxido nítrico⁸, endotelinas y otros.

La Endotelina (ET1), una de las tres isoformas de la familia de endotelinas, es una potente proteína vasoconstrictora de 21 aminoácidos, reguladora del tono vascular que se sintetiza predominantemente en el endotelio vascular. La medición de ET1 y de Proteína C Reactiva ultrasensible (PCRus) como marcadores de DE e inflamación vascular, respectivamente, ha mostrado resultados controvertidos en el HS⁹⁻¹⁴.

Asimismo, el rol que desempeñan el estrés oxidativo y la actividad antioxidante plasmática (TRAP) sobre el endotelio vascular es aún incierto.

El objetivo de este trabajo es establecer si el HS y la autoinmunidad tiroidea (AIT), excluyendo otros factores de riesgo cardiovascular, pueden causar DE e inflamación

vascular, evaluadas a través de la medición de ET1 y PCRus. También tratará de establecerse si TRAP juega algún rol. Finalmente, se buscará evaluar cambios en ET1 y PCRus bajo tratamiento con levotiroxina (LT4).

Material y métodos

Se evaluaron prospectivamente 70 pacientes, 62 ♀ y 8 ♂ divididos en 3 grupos:

- Grupo HS: 41 pacientes hipotiroideos subclínicos (T4 normal, TSH > 4,2 y < 10 mUI/L)
- Grupo AIT: 10 pacientes eutiroideos (TSH < 4,2 mUI/L) con aTPO y/o aTg (+)
- Grupo Control: 19 pacientes eutiroideos sin AIT

Los pacientes y los controles debían cumplir estrictos criterios de inclusión: edad < 50 años, índice de masa corporal (IMC) < 30, sin dislipemia (triglicéridos < 150, HDL > 40 y LDL < 150 mg/dl), insulinorresistencia, diabetes, ni otros factores de riesgo coronario.

Se midió en suero: T4 por Quimioluminiscencia (VN: 4-12 mcg/dl), TSH por Quimioluminiscencia (VN: 0,5-4,2 mUI/L) ET1 sérica por ELISA, PCRus por inmunoturbidimetría y TRAP por quimioluminiscencia. ET1 y PCRus se midieron nuevamente bajo tratamiento con LT4, en 24 pacientes del grupo HS, a tiempo suficiente de alcanzado el eutiroidismo.

Análisis estadístico

Los resultados se expresaron en media \pm desvío estándar. Se aplicó ANOVA para la comparación entre los distintos grupos

y t-Test para muestras pareadas al comparar los resultados basales y bajo LT4. Se trazó Curva ROC para establecer valor de corte de ET-1 como parámetro emergente, determinado por la mayor área bajo la curva. Para la correlación entre parámetros se aplicó Pearson. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$.

Resultados

No se observaron diferencias significativas en edad, IMC y niveles de lípidos entre HS, AIT, y controles (tabla 1). Los niveles de TRAP, expresados en μMol , tampoco mostraron diferencias significativas entre pacientes con HS ($354,06 \pm 153,89$) y con AIT ($314,07 \pm 109,2$) versus el grupo control ($353,43 \pm 79,13$).

En la tabla 2 se observa que, tanto los niveles de ET1 como

de PCRus, fueron significativamente mayores en los pacientes con HS que en los controles $p < 0,0001$ y $< 0,008$, respectivamente. Del mismo modo, se observa en dicha tabla que los niveles de ET1 y PCRus resultaron ser significativamente más altos en pacientes eutiroides con AIT que en el grupo control ($p < 0,0001$ y $0,034$, respectivamente). La TSH, aunque dentro del rango normal, fue mayor en el grupo AIT que en el control ($p = 0,002$).

Veinticuatro pacientes con HS fueron reevaluados luego de $8,7 \pm 3,8$ meses de tratamiento con LT4 (tabla 2). Se observó significativa caída en los niveles de ET1 ($p = 0,01$) aunque dichos niveles permanecieron más altos que los del grupo control. En cambio, los niveles de PCRus, aunque descendieron, no llegaron a hacerlo significativamente.

ET1 tuvo una correlación altamente significativa ($p < 0,0001$) con los niveles de TSH: $r = 0,5$ (fig. 1).

Mediante curva ROC se estableció un nivel de corte de ET1 = $1,32 \text{ pg/ml}$, determinado por el mayor área bajo la curva, implicando una sensibilidad de $81,6\%$ y especificidad de 75% (fig. 2).

Tabla 1 - Valores basales de edad (años), índice de masa corporal y perfil lipídico (mg/dl) en pacientes con HS, AIT y controles (media \pm DS)

	HS	AIT	CONTROLES	p
Edad	33,14 \pm 9	34,9 \pm 10	33,9 \pm 6,5	NS
IMC	24,1 \pm 3,4	24,6 \pm 2,8	24,6 \pm 2,8	NS
Triglicéridos	89,8 \pm 31,6	94,5 \pm 35	79,7 \pm 31	NS
Colesterol	169,5 \pm 32	155,2 \pm 39	165 \pm 32	NS
c-HDL	57 \pm 13,7	55,8 \pm 8,2	59 \pm 12,3	NS
c-LDL	97,7 \pm 26	89,4 \pm 30,2	89,9 \pm 27	NS

HS: hipotiroidismo subclínico, AIT: autoinmunidad tiroidea, c-LDL y c-HDL: colesterol LDL y HDL, NS: no significativo.

Discusión

La mayoría de los trabajos que han demostrado que el hipotiroidismo subclínico podría provocar disfunción endotelial, lo han hecho a través de estudios vasculares: reducción del FMD¹⁵⁻¹⁷, mayor rigidez arterial¹⁶ y cierto grado de aterosclerosis a través del engrosamiento de la CAIM¹⁸.

Si bien la ET1 ha surgido en los últimos años como biomarcador de DE, son muy pocos los trabajos clínicos que la han medido en pacientes con patología tiroidea. En el 2001, Dieckmann y col.⁹ hallaron niveles indetectables de ET1 tanto en pacientes con hiper como con hipotiroidismo. Dicho hallazgo motivó a que los autores atribuyeran sus

Tabla 2 - Niveles de Endotelina-1 (ET1) y Proteína C Reactiva ultrasensible (PCRus) en pacientes con hipotiroidismo subclínico (HS), autoinmunidad tiroidea (AIT) y en controles. Efectos del reemplazo con levotiroxina (LT4) (Xmedia \pm DS)

	Grupo HS (n=41)		Grupo AIT ^d (n = 10)	Grupo Control ^c (n = 19)	$p^{(a-b)}$	$p^{(a-c)}$	$p^{(b-c)}$	$p^{(d-c)}$
	Basal ^a (n = 41)	bajo LT4 ^b (n = 24)						
TSH (mUI/L)	5,85 \pm 1,26	1,8 \pm 1,62	2,57 \pm 0,88	1,64 \pm 0,5	<0,0001	<0,0001	0,609	0,002
ET1 (pg/ml)	1,77 \pm 0,85	1,14 \pm 0,45	1,4 \pm 0,4	0,8 \pm 0,3	0,001	<0,0001	0,01	<0,0001
PCRus (mg/l)	1,5 \pm 0,6	1,04 \pm 0,5	2,3 \pm 1,9	0,5 \pm 0,2	0,709	0,008	0,968	0,034

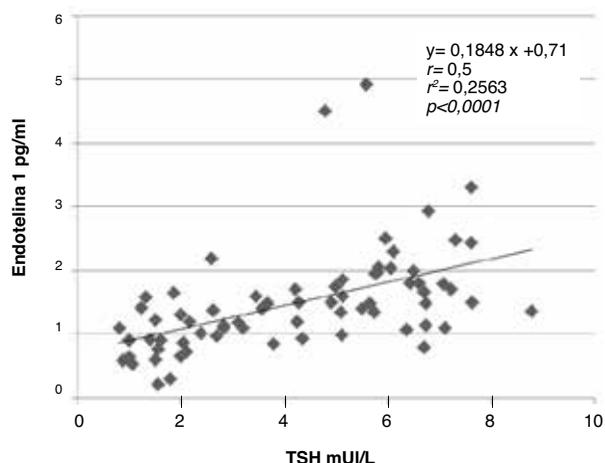


Figura 1 - Correlación entre TSH y Endotelina 1.

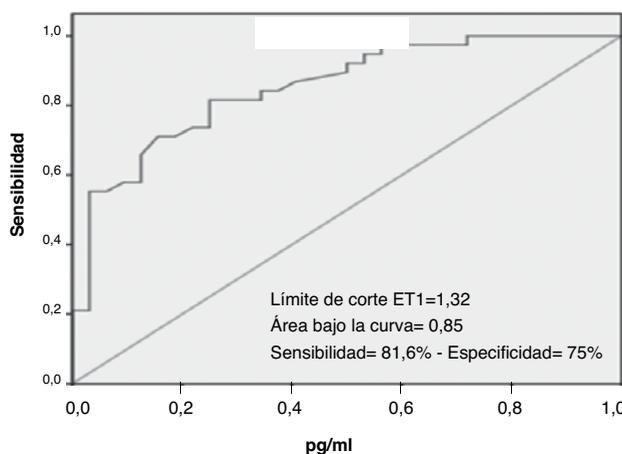


Figura 2 - CURVA ROC. Valor de corte de Endotelina 1 (ET1).

resultados a alteraciones técnicas en la recolección o en el mantenimiento de las muestras o bien al empleo de un RIA de baja sensibilidad. Dos años más tarde, Tilly y col.⁵ observaron valores elevados de ET1 en pacientes con tiroiditis de Hashimoto. Algunos de ellos sólo presentaban autoinmunidad tiroidea, lo cual no permitía dilucidar si la disfunción, la autoinmunidad o ambas, eran responsables de la elevación de ET1. De allí la importancia de que en nuestro trabajo hayamos incluido un grupo de pacientes con AIT sin disfunción al que comparamos con un grupo control para tratar de obtener conclusiones válidas.

Recientemente, Ahirwar y col.¹⁰ midieron ET1 en pacientes con síndrome metabólico, algunos eutiroides y otros con HS. Si bien observaron niveles de ET1 más elevados en aquellos que tenían HS concomitante, la diferencia no resultó estadísticamente significativa, quizás por el pequeño número de la muestra y el hecho de que los pacientes incluidos con síndrome metabólico ya tenían factores de riesgo para disfunción endotelial. En nuestro trabajo, en cambio, aplicamos estrictos criterios de exclusión para minimizar la posibilidad de incluir pacientes con otros factores de riesgo cardiovascular.

Nosotros observamos una elevación significativa de ET1 no sólo en los pacientes con HS sino también en aquellos eutiroides con AIT respecto del grupo control. Si bien la AIT "per se" podría tener algún rol, hemos observado que, aunque dentro del rango normal, los pacientes con AIT tenían niveles de TSH significativamente mayores que los del grupo control, por lo cual un "mínimo" grado de HS subyacente no puede descartarse.

Respecto de PCRus, algunos autores¹¹⁻¹³ observaron elevación de la misma en hipotiroidismo subclínico pero otros no encontraron cambios¹⁴. En nuestro trabajo, PCRus se comportó de manera similar a ET1 observándose niveles elevados tanto en pacientes con HS como en aquéllos con AIT. Esto sugeriría que el componente inflamatorio vascular podría estar implicado.

Entre los mecanismos por los cuales el HS podría generar DE se postula, por un lado, una acción indirecta a través de la dislipidemia¹⁹, la insulinoresistencia²⁰ y/o el estrés oxidativo²¹ provocados por la disfunción tiroidea y, por otro, una acción directa del HS sobre el endotelio. Nosotros no creemos que aquellos factores indirectos hayan tenido influencia destacable por cuanto pacientes y controles tenían valores normales sin diferencias significativas en el índice de masa corporal ni en los niveles lipídicos clásicos y no se incluyeron pacientes con insulinoresistencia. En cuanto al estrés oxidativo, este podría tener importancia en los eventos iniciales que conducen al daño endotelial, pero poco se conoce en pacientes con hipotiroidismo²¹ y no hay conclusiones claras respecto a uno de los componentes de estado oxidativo como es la defensa antioxidante. Nosotros no observamos que la actividad antioxidante del plasma fuera diferente en pacientes con HS y AIT respecto de los controles. Sin poder descartar de manera absoluta, que otras lipoproteínas aterogénicas²², agentes pro-oxidantes u otros elementos de la capacidad antioxidante (como la intracelular) estuvieran alterados, creemos que los resultados de nuestro estudio sugieren una acción directa del HS sobre el endotelio.

En tal sentido, se ha postulado a la TSH como responsable de dicha acción ya que se han descrito receptores de TSH en el endotelio²³. Balzan y col. observaron producción de AMP cíclico por estimulación con TSH en células endoteliales en cultivo²⁴. Otros autores han demostrado que la TSH inhibe la expresión de óxido nítrico sintetasa alterando la síntesis de óxido nítrico y aumenta la expresión tanto del ARNm como de la proteína ET1 en células endoteliales de vena umbilical humana²⁵. Estos cambios llevarían a DE por desbalance de sustancias vasoactivas. Dardano y col.²⁶ evaluaron el impacto de la administración de TSH recombinante (TSHrh) sobre el endotelio en pacientes con cáncer de tiroides en remisión. Ellos observaron un significativo descenso del FMD a las 24 hs de la segunda inyección de TSHrh vs el basal. En base a ello, los autores postularon no sólo un efecto directo sino también

agudo de TSH sobre el endotelio.

El valor de corte de ET1 como parámetro emergente, obtenido del mayor área bajo la curva ROC, es la primera vez que se establece en nuestro medio. Sumado a la correlación positiva que encontramos entre TSH y ET1, avalaría que esta última podría ser un biomarcador de impacto del hipotiroidismo sobre el endotelio cuando presente un valor mayor a 1,32 pg/ml y que la DE podría ser mayor en pacientes con hipotiroidismos más severos. Coincidentemente, Ahirwar y col.¹⁰ demostraron una correlación positiva entre TSH y ET1 ($r = 0,341$; $p = 0,001$) con niveles de ET1 más elevados en los pacientes con hipotiroidismo clínico.

La mayoría de los trabajos que evaluaron cambios en marcadores vasculares de DE una vez restaurado el eutiroidismo con LT4, han descrito mejoría en el FMD^{15,16,27,28} y reducción del grosor de la CAIM²⁹⁻³¹. Sin embargo, algunos otros no observaron cambios³². En nuestra experiencia, el tratamiento con levotiroxina en pacientes con HS permitió descender de manera significativa los niveles de ET1, aunque sin normalizarlos. Ello podría ser atribuido a que el tiempo de tratamiento no fue el suficiente para revertir totalmente la DE. En concordancia con ello, Clausen y col.³³ observaron que aún existía alteración en los marcadores de DE después de un año de reemplazo con LT4.

Por lo expuesto, creemos haber hallado en ET1 y PCRus biomarcadores útiles para evaluar, en la práctica clínica, disfunción endotelial e inflamación vascular en pacientes con hipotiroidismo subclínico y también en aquéllos con anticuerpos positivos y TSH "normal". El tratamiento con LT4 puede mejorar el impacto vascular que el hipotiroidismo subclínico produce, aunque se necesitaría un tiempo más prolongado para revertirlo totalmente.

Responsabilidades éticas

Se obtuvo consentimiento informado y el protocolo fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Durand.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

BIBLIOGRAFÍA

1. Adamarczuk M, Adamarczuk-Janczyszyn M, Zdrojowy-Welna A, Rogala N, Zatońska K, Bednarek-Tupikowska G. Evaluation of selected atherosclerosis risk factors in women with subclinical hypothyroidism. *Adv Clin Exp Med.* 2016; 25(3):457-63.
2. Sara J, Zhang M, Gharib H, Lerman LO, Lerman A. Hypothyroidism Is Associated With Coronary Endothelial Dysfunction in Women. *J Am Heart Assoc.* 2015; 4(8): e002225.
3. La Vignera S, Condorelli R, Vicari E, Calogero AE. Endothelial dysfunction and subclinical hypothyroidism: a brief review. *J Endocrinol Invest.* 2012; 35:96-103.
4. Lu M, Yang CB, Gao L, Zhao JJ. Mechanism of subclinical hypothyroidism accelerating endothelial dysfunction. *Exp Ther Med.* 2015; 9(1):3-10.
5. Tilly N, Schneider JG, Leidig-Bruckner G, Sommer U, Kasperk C. Endothelin 1 in patients with disorders of the thyroid gland. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2003; 111(2):80-4.
6. Bots ML, Westerink J, Rabelink TJ, de Koning EJ. Assessment of flow-mediated vasodilatation (FMD) of the brachial artery: effects of technical aspects of the FMD measurement on the FMD response. *Eur Heart J.* 2005(4); 26:363-68.
7. Halcox JP, Donald AE, Ellins E, Witte DR, Shipley MJ, Brunner EJ, Marmot MG, Deanfield JE. Endothelial function predicts progression of carotid intima-media thickness. *Circulation.* 2009; 119(7):1005-12.
8. Obradovic M, Gluvic Z, Sudar-Milovanovic E, Panic A, Trebaljevac J, Bajic V, Zarkovic M, Isenovic ER. Nitric Oxide as a Marker for

- Levo-Thyroxine Therapy in Subclinical Hypothyroid Patients. *Curr Vasc Pharmacol.* 2016; 14(3):266-70.
9. Dieckmann MJ, Harms MP, Endert E, Wieling W, Wiersinga WM. Endocrine factors related to changes in total peripheral vascular resistance in thyrotoxic and hypothyroid patients. *Eur J Endocrinol.* 2001; 144(4):339-46.
 10. Ahirwar AK, Singh A, Jain A, Patra SK, Goswami B, Bhatnagar MK, Bhattacharjee. Raised TSH is associated with endothelial dysfunction in Metabolic Syndrome: A case control study. *Rom. J Intern Med.* 2017; 55(4):212-21.
 11. Tuzcu A, Bahceci M, Gokalp D, Tuzun Y, Gunes K. Subclinical hypothyroidism may be associated with elevated high-sensitive C reactive protein and fasting hyperinsulinemia. *Endocr.J.* 2005; 52(1):89-94.
 12. Yu YT, Ho CT, Hsu HS, Li CI, Davidson LE, Liu CS, Li TC, Shih CM, Lin CC, Lin WY. Subclinical Hypothyroidism is associated with elevated high-sensitive C – reactive protein among adult Taiwanese. *Endocrine.* 2013; 44(3):716-22.
 13. Taddei S, Caraccio N, Viridis A, Dardano A, Versari D, Ghiadoni L, Ferrannini E, Salvetti A, Monzani F. Low-Grade Systemic Inflammation Causes Endothelial Dysfunction in Patients with Hashimoto's Thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(12):5076-82.
 14. Lee WY, Suh JY, Rhee EJ, Park JS, Sung KC, Kim SW. Plasma CRP, apolipoprotein A, apolipoprotein B and Lpa levels according to thyroid function status. *Arch Med Res.* 2004; 35(6):540-45.
 15. Shavdatuashvili T. Lipoprotein profile and endothelial function in patients with subclinical and overt hypothyroidism. *Georgian Med News.* 2005; 129:57-60.
 16. Tudoran M, Tudoran C. Particularities of endothelial dysfunction in hypothyroid patients. *Kardiol Pol.* 2015; 73(5):337-43.
 17. Niknam N, Khalili N, Khosravi E, Nourbakhsh M. Endothelial dysfunction in patients with subclinical hypothyroidism and the effects of treatment with levothyroxine. *Adv Biomed Res.* 2016; 16(5):38.
 18. Gao N, Zhang W, Zhang YZ, Yang Q, Chen SH. Carotid intima-media thickness in patients with subclinical hypothyroidism: A meta-analysis. *Atherosclerosis.* 2013; 227(1):18-25.
 19. Brenta G, Fretes O. Dyslipidemias and Hypothyroidism. *Pediatr Endocrinol Rev.* 2014 Jun; 11(4):390-9.
 20. Gen R, Akbay E, Sezer K. Insulin resistance and cardiovascular risk factors in patients with mild and severe subclinical hypothyroidism. *The Endocrinologist.* 2010; 20:128-30.
 21. Ozturk U, Vural P, Ozderya A, Karadag B, Dogru Abbasoglu S, Uysal M. Oxidative stress parameters in serum and low density lipoproteins of Hashimoto's thyroiditis patients with subclinical and overt hypothyroidism. *Int Immunopharmacol.* 2012; 14(4):349-52.
 22. Brenta G, Berg G, Miksztowicz V, Lopez G, Lucero D, Faingold C, Murakami M, Machima T, Nakajima K, Schreier L. Atherogenic Lipoproteins in Subclinical Hypothyroidism and Their Relationship with Hepatic Lipase Activity: Response to Replacement Treatment with Levothyroxine. *Thyroid.* 2016 Mar; 26(3):365-72.
 23. Donnini D, Ambesi-Impiombato FS, Curcio F. Thyrotropin stimulates production of procoagulant and vasodilative factors in human aortic endothelial cells. *Thyroid.* 2003; 13(6):517-21.
 24. Balzan S, Del Carratore R, Nicolini G, Befy P, Lubrano V, Forini F, Iervasi G. Proangiogenic Effect of TSH in Human Microvascular Endothelial Cells through Its Membrane Receptor. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97(5):1763-70.
 25. Tian L, Zhang L, Liu J, Guo T, Gao C, Ni J. Effects of TSH on the function of human umbilical vein endothelial cells. *J Mol Endocrinol.* 2014; 52(2):215-22.
 26. Dardano A, Ghiadoni L, Plantinga Y, Caraccio N, Bemì A, Duranti E, Taddei S, Ferrannini E, Salvetti A, Monzani F. Recombinant Human Thyrotropin Reduces Endothelium-Dependent Vasodilation in Patients Monitored for Differentiated Thyroid Carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006; 91(10):4175-8.
 27. 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(5):1715-23.
 28. Alibaz Oner F, Yurdakul S, Oner E, Uzum A, Erguney M. Evaluation of the effect of L-thyroxin therapy on endothelial functions in patients with subclinical hypothyroidism. *Endocrine.* 2011; 40(2):280-4.
 29. Monzani F, Caraccio N, Kozàková M, Dardano A, Vittone F, Viridis A, Taddei S, Palombo C, Ferrannini E. 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(5):2099-106.
 30. Nagasaki T, Inaba M, Henmi Y, Kumeda Y, Ueda M, Tahara H, Ishimura E, Onoda N, Ishikawa T, Nishizawa Y. Change in von Willebrand factor and carotid intima-media thickness in hypothyroid patients with normal thyroid function after levothyroxine replacement therapy. *Eur J Endocrinol.* 2004; 150(2):125-31.
 31. Adrees M, Gibney J, El-Saeity N, Boran G. Effects of 18 months of L-T4 replacement in women with subclinical hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009; 71(2):298-303.
 32. Cabral M, Teixeira P, Soares D, Leite S, Salles E, Waisman M. Effects of thyroxine replacement on endothelial function and carotid artery intima-media thickness in female patients with mild subclinical hypothyroidism. *Clinics (Sao Paulo).* 2011; 66(8):1321-27.
 33. Clausen P, Mersebach H, Nielsen B, Feldt-Rasmussen B, Feldt-Rasmussen U. Hypothyroidism is associated with signs of endothelial dysfunction despite 1-year replacement therapy with levothyroxine. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2009; 70(6):932-7.