

Article

ÓXIDO NÍTRICO Y FIBRINÓGENO EN PACIENTES CON HIPOTIROIDISMO SUBCLÍNICO Y SU POSIBLE RELACIÓN CON EL DAÑO CARDIOVASCULAR

Nitric oxide and fibrinogen in patients with subclinical hypothyroidism and their possible relation to cardiovascular damage

DIEGO TENE 

Laboratorio Clínico del Hospital General IESS, Riobamba, Ecuador

GERITZA URDANETA 

Cátedra de Semiología Médica, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela

JORGE ROBALINO 

Instituto de Ginecología y Osteoporosis INGINOST, Riobamba, Ecuador

ADRIANA PEDREÁÑEZ 

Cátedra de Inmunología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela

Correspondencia: MgSc. Adriana Pedreáñez, PhD
Apartado Postal: 23 Maracaibo 4001-A Zulia, Venezuela
E mail: apedreanez@gmail.com

Recibido: 08/11/2021
Aceptado: 14/12/2021

RESUMEN

La disfunción endotelial así como la hipercoagulabilidad han sido descritas como los factores iniciales desencadenantes de la aterosclerosis y del daño cardiovascular y se han asociado con el hipotiroidismo subclínico (HSC). El objetivo de esta investigación fue determinar la concentración de óxido nítrico (ON), fibrinógeno y lípidos circulantes en pacientes con HSC y correlacionar dichas variables con la concentración de tirotrópina (TSH) para establecer su posible asociación con el desarrollo de daño cardiovascular. Se realizó un estudio descriptivo, correlacional de corte transversal en el hospital IESS de Riobamba, Ecuador, en el periodo comprendido desde enero de 2019 hasta septiembre de 2021. Se estudiaron 95 sujetos (65 pacientes con HSC y 30 controles). Se determinó la concentración de colesterol total, triglicéridos, HDL colesterol y LDL colesterol, TSH, Tiroxina libre, ON y fibrinógeno. Resultados: Se encontró una disminución en la concentración de ON ($p < 0.001$), acompañado de un incremento en la concentración de colesterol

total ($p < 0.0001$), LDL colesterol ($p < 0.01$) y fibrinógeno ($p < 0.0001$) en los pacientes con HSC vs los controles. Se observó una correlación negativa ($p < 0.0001$; $r = -0.5020$) entre la TSH y el ON y una correlación positiva ($p < 0.0001$; $r = 0.5412$) entre la TSH y el fibrinógeno plasmático en los pacientes con HSC. Conclusión: los pacientes con HSC mostraron una disminución en los niveles séricos de ON y una elevación en la concentración plasmática de fibrinógeno. Ambas mediciones se correlacionaron significativamente con la concentración de TSH. Estos parámetros asociados a un aumento del colesterol total y de LDL colesterol podrían favorecer la disfunción vascular, el desarrollo de aterosclerosis y el consecuente daño cardiovascular.

Palabras clave: daño cardiovascular, hipotiroidismo subclínico, óxido nítrico, fibrinógeno, TSH.

1. Introducción

El hipotiroidismo subclínico (HSC) es una condición bioquímica caracterizada por una elevación en la concentración de la hormona estimulante de la tiroides (TSH) con niveles normales de triyodotironina libre (T3L) y de tiroxina libre (T4L), sin síntomas clínicos significativos (Peeters, 2017). Sin embargo, algunos pacientes pueden presentar cansancio, aumento de peso, estreñimiento, intolerancia al frío, resequedad de la piel, deterioro cognitivo, depresión, debilidad muscular, entre otros (Peeters, 2017). El diagnóstico de HSC se fundamenta principalmente en las pruebas de laboratorio que evalúan la función tiroidea (Peeters, 2017).

La asociación entre el HSC y el riesgo de desarrollar enfermedad cardiovascular han sido ampliamente documentadas (Hak, *et al.*, 2000; Lindeman, *et al.*, 2003; Kvetny, *et al.*, 2004; Sue & Leung, 2020). Sin embargo los mecanismos moleculares subyacentes en esta asociación siguen siendo poco comprendidos.

Estudios previos han demostrado que la disfunción endotelial juega un papel importante en la patogénesis de la enfermedad cardiovascular y todos los factores de riesgo ateroescleróticos están altamente correlacionados con la misma (Tesauro, *et al.*, 2017). Por otra parte, se ha descrito una asociación entre el HSC y el aumento de la resistencia vascular, engrosamiento de la pared arterial y disfunción endotelial (Dagre, *et al.*, 2005; Dagre, *et al.*, 2007). En este contexto, el estudio del comportamiento del óxido nítrico (ON) en los pacientes con HSC tiene un papel clave. El ON es una molécula altamente reactiva que se produce como consecuencia de la conversión enzimática del aminoácido L-arginina en L-citrulina por acción de una familia de enzimas denominadas óxido nítrico sintetasas (ONS) (Ghimire, *et al.*, 2017). La producción de ON en cantidades adecuadas es una de las principales características de un endotelio sano y garantiza la función e integridad vascular (Farah, *et al.*, 2018). La producción fisiológica de esta molécula tiene efectos beneficiosos en el sistema cardiovascular (SCV), manteniendo el tono vascular, controlando la adhesión leucocitaria y la agregación plaquetaria (Farah, *et al.*, 2018). Asimismo, el ON proporciona efectos anti-inflamatorios y antioxidantes (Infante, *et al.*, 2021).

Estudios recientes sugieren que los niveles séricos de ON podrían ser un indicador adecuado del riesgo cardiovascular y pueden incluso considerarse en la definición de la dosis y la introducción de la terapia de sustitución de levotiroxina en pacientes con HSC (Obradovic, *et al.*, 2016).

Por otro lado, la activación del sistema hemostático también juega un papel importante en la progresión y en las complicaciones cardiovasculares, en particular en la aterosclerosis. En este sentido se ha descrito claramente la implicación del fibrinógeno, una glicoproteína de fase aguda sintetizada principalmente en el hígado en el desarrollo y mantenimiento de la placa ateromatosa (Golia, *et al.*, 2014; Bertrand & Tardif, 2017).

Por todo lo antes expuesto el objetivo de esta investigación fue determinar la concentración sanguínea de ON, fibrinógeno y lípidos circulantes en pacientes con HSC y correlacionar dichas variables con la concentración de TSH, para establecer su posible asociación con el desarrollo de enfermedad cardiovascular.

2. Materiales y métodos

Se realizó una investigación de tipo descriptiva, correlacional con un diseño no experimental de corte transversal, en el periodo comprendido desde enero de 2019 hasta septiembre de 2021. Se estudiaron 95 sujetos de ambos sexos que acudieron a la consulta de Medicina Interna del Hospital IESS de Riobamba, Ecuador, los cuales se dividieron en dos grupos (65 pacientes con hipotiroidismo subclínico y 30 controles). Las edades de los participantes estuvieron comprendidas entre los 18 y 55 años. Se excluyeron del estudio los pacientes con patología tiroidea diagnosticada (hipotiroidismo manifiesto, hipertiroidismo, cáncer de tiroides), sujetos con diabetes mellitus, insulinoresistencia, hipertensos, fumadores, pacientes con procesos infecciosos o inflamatorios, pacientes con un índice de masa corporal (IMC) >30 y aquellos que estuviesen recibiendo tratamiento con beta-bloqueadores, esteroides y amiodarona. En el caso de las mujeres se excluyeron las embarazadas y las menopáusicas.

Se obtuvo el consentimiento informado de todos los participantes y se siguieron las pautas éticas dadas en la Declaración de Helsinki. Todo el procedimiento fue aprobado por el comité de bioética y la dirección de investigación del Hospital IESS de Riobamba.

Se realizaron las respectivas historias clínicas y el examen físico a cada paciente y se procedió a la toma de las muestras sanguíneas para determinar los parámetros bioquímicos y hormonales.

Determinación de parámetros bioquímicos y hormonales

Para la determinación de colesterol total, triglicéridos, HDL colesterol y LDL colesterol se utilizó el equipo Cobas C501 (Laboratorios Roche Diagnostics; USA). El cual se basa en un método colorimétrico que utiliza un fotómetro multicanal.

La cuantificación de las hormonas (TSH y T_4) se realizó mediante el método de electroquimioluminiscencia (ECLIA) usando el equipo Cobas E601 (Laboratorios Roche Diagnostics; USA). Se tomaron como valores de referencia de T_4 : 0.3-1.7 ng/dl y de TSH 0.270-4.20 μ UI/L.

Determinación de la formación de nitritos y nitratos

La formación de óxido nítrico fue detectada mediante la acumulación de nitratos (NO_3^-) y nitritos (NO_2^-). Los niveles de ON en el suero se midieron mediante el ensayo colorimétrico de Nitrato/Nitrite Colorimetric Assay Kit (Cayman Chemical I.N. 780001) siguiendo las instrucciones del fabricante, mediante una reacción de dos pasos. La primera reacción incluyó la actividad de la nitrato-reductasa, y la segunda fue la reacción de Griess (Hevel & Marletta, 1994; Lundberg, *et al.*, 2009). Las densidades ópticas se midieron a 540 nm en un lector de microplacas automatizado (Perkin Elmer, Wallac 1420 Victor) y las concentraciones de ON se calcularon a partir de una curva estándar de $NaNO_3$ y se expresaron como μ Mol/L.

Determinación de fibrinógeno plasmático

Se recogieron 3 mililitros de sangre venosa en un tubo de ensayo con citrato de sodio. La punción se realizó con una aguja de calibre 20 en una región del brazo sin grietas, pliegues ni roturas en la piel. Las muestras anticoaguladas se centrifugaron inmediatamente a una temperatura de 4 ° C, y el

plasma obtenido se utilizó para determinar los niveles de fibrinógeno plasmático por el método de von Clauss (Clauss, 1957).

El análisis estadístico se realizó utilizando el software GraphPadInstat 3.1 y Graph Pad Prism 6.0. Los datos se expresaron como media \pm desviación estándar (DE). La diferencia entre los grupos estudiados se analizó mediante la prueba de Mann–Whitney. La correlación fue analizada mediante el test de correlación de Pearson. Se consideró un valor de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

3. Resultados

En la Tabla 1 se presentan los resultados de los parámetros bioquímicos y hormonales estudiados. Al comparar los parámetros bioquímicos analizados, se encontró diferencia estadísticamente significativa en la concentración de colesterol total y LDL colesterol entre los pacientes con HSC y los controles. Adicionalmente se observó una diferencia significativa en la concentración de TSH entre ambos grupos. No se observaron diferencias significativas en el IMC entre los grupos estudiados.

Tabla 1

Valores de IMC, parámetros bioquímicos y hormonales en pacientes con HSC y controles

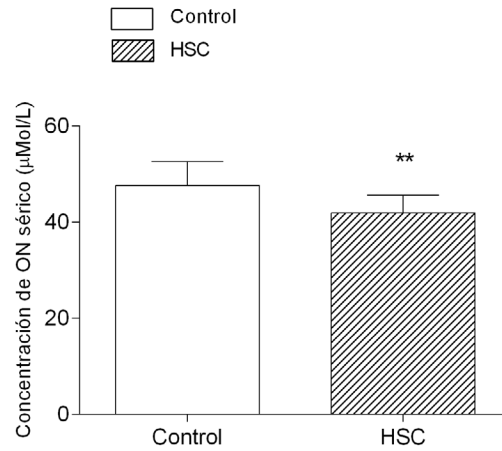
Parámetros	Hipotiroidismo subclínico N=65	Controles N=30	Valor de P
Edad (años)	45 \pm 5	42 \pm 7	NS
TSH (mUI/L)	7,32 \pm 1,40	2,50 \pm 0,72	<0.0001**
T4libre (ng/dl)	1,31 \pm 0,27	1,22 \pm 0,20	NS
Colesterol Total (mg/dL)	187,5 \pm 16,38	165,3 \pm 10,19	<0.0001**
Triglicéridos (mg/dL)	111,5 \pm 28,21	101,67 \pm 17,35	NS
HDL colesterol (mg/dL)	44,46 \pm 4,83	44,62 \pm 4,72	NS
LDL colesterol (mg/dL)	92,48 \pm 9,54	84,84 \pm 14,40	0.003*
IMC	26,7 \pm 3,0	25,4 \pm 2,95	NS

Los datos se expresan como promedio \pm desviación estándar. El análisis estadístico se realizó utilizando la prueba de Mann–Whitney. *Significancia estadística; NS= no significativo estadísticamente; IMC= índice de masa corporal.

Con respecto a la concentración de ON se encontró una disminución significativa en los pacientes con HSC versus los controles ($p < 0.0001$) Fig. 1.

Figura 1.

Valores de ON en suero. Se encontró una disminución en la concentración de ON en los pacientes con HSC al compararlos con los controles. El análisis estadístico se realizó utilizando la prueba de Mann-Whitney. Control (N= 30); HSC: hipotiroidismo subclínico (N=65).

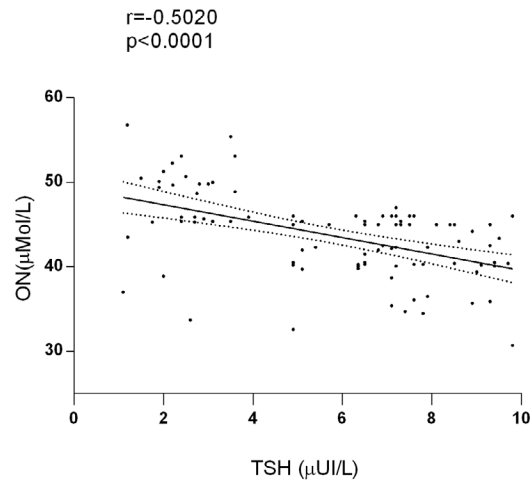


** p<0.0001 control vs HSC

Al correlacionar la concentración de TSH con la concentración de ON, se encontró una correlación negativa o inversa entre ambas variables (p<0.0001; r = -0.5020) Fig. 2.

Figura 2.

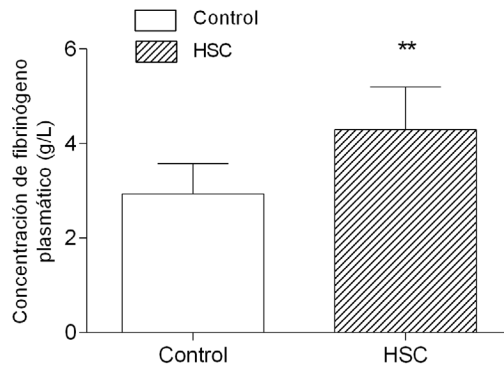
Se encontró una correlación inversa entre los niveles de TSH sérico y el contenido de ON en los pacientes con HSC. Correlación de Pearson



Por otra parte los pacientes con HSC exhibieron concentraciones plasmáticas de fibrinógeno más elevadas que el grupo control (p<0.0001) Fig. 3.

Figura 3.

Valores de fibrinógeno en plasma. Se encontró incremento en la concentración de fibrinógeno en los pacientes con HSC al compararlos con los controles. El análisis estadístico se realizó utilizando la prueba de Mann–Whitney. Control (N= 30); HSC: hipotiroidismo subclínico (N=65).

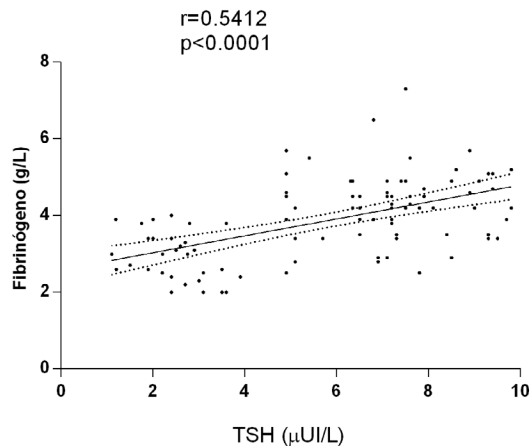


** $p < 0.0001$ control vs HSC

Al correlacionar la concentración de TSH con la concentración de fibrinógeno, se observó una correlación positiva entre ambas variables ($p < 0.0001$; $r = 0.5412$) Fig. 4.

Figura 4.

Se encontró una correlación positiva entre los niveles de TSH sérico y el contenido plasmático de fibrinógeno en los pacientes con HSC. Correlación de Pearson



4. Discusión

El HSC es un trastorno común que afecta aproximadamente al 10% de la población adulta (Biondi, *et al.*, 2019). Esta condición ha sido asociada con anomalías cardiovasculares, como la bradicardia, la disfunción endotelial, el aumento del grosor de la íntima-media, la disfunción diastólica, aumento de la resistencia vascular, la aterosclerosis, entre otras (Chaker, *et al.*, 2017).

En éste estudio, se encontró una disminución en la concentración sérica de ON en los pacientes con HSC, la cual resultó estadísticamente significativa al compararlo con los sujetos eutiroides. En

este sentido, algunas investigaciones relacionadas con el comportamiento del ON durante el HSC son contradictorias. Mientras algunos trabajos han informado una disminución de esta molécula en éstos pacientes (Obradovic, *et al.*, 2016), otros estudios no han encontrado diferencia significativa (Glivic, *et al.*, 2019).

El ON es producido en diferentes células, en una reacción bioquímica catalizada por un grupo de enzimas denominadas óxido nítrico sintetasas, en la cual el aminoácido L-arginina en presencia de oxígeno es convertido en L-citrulina (Förstermann & Sessa, 2012). Es una molécula que posee una amplia gama de propiedades biológicas que incluyen la modulación del tono vascular, la regulación del crecimiento celular, la respuesta inmunitaria y el equilibrio redox. Desempeñando de esta manera un papel crucial en la función endotelial normal (Tousoulis, *et al.*, 2012).

Diversos estudios indican que el HSC es un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular (ECV), incluida la aterosclerosis, la insuficiencia cardíaca congestiva, la enfermedad coronaria, la cardiopatía isquémica y la mortalidad asociada (Chaker, *et al.*, 2017; Glivic, *et al.*, 2019). La relación entre el HSC y ECV ha sido bien documentada, pero el mecanismo molecular subyacente sigue siendo poco comprendido. Se ha descrito que la disfunción endotelial es un paso inicial que conduce a la ECV en pacientes con HSC (Zhang, *et al.*, 2014; Yasar, *et al.*, 2019). En este contexto, los cambios en el perfil lipídico, la inflamación y/o el estrés oxidativo contribuyen a la disfunción endotelial (Tousoulis, *et al.*, 2012). En este estudio se encontró un incremento significativo en la concentración sérica de colesterol total y LDL colesterol en los pacientes con HSC. Al respecto, el efecto que las hormonas tiroideas ejercen sobre el metabolismo de los lípidos está claramente establecido, y la conexión entre el HSC, la dislipidemia y el aumento del riesgo de aterosclerosis ha sido documentada ampliamente (Zhang, *et al.*, 2014; Yasar, *et al.*, 2019).

Dado que la disfunción endotelial se ha asociado con el envejecimiento, la hipertensión y el tabaquismo, todos los pacientes evaluados en esta investigación tenían una edad por debajo de los 55 años, eran no obesos, no fumadores, normotensos y no presentaban alguna condición inflamatoria o enfermedad infecciosa manifiesta. Por lo tanto la elevación en los parámetros estudiados en los pacientes con HSC no parece ser el resultado de estas condiciones.

Adicionalmente, en este estudio se observó una correlación negativa significativa entre los niveles de ON y el incremento de la concentración de TSH. Al respecto, tanto el tejido miocárdico como el endotelial vascular presentan receptores para ésta hormona, por lo que incluso ligeras alteraciones en las concentraciones de ésta, podrían afectar el funcionamiento del SCV (Yang, *et al.*, 2019). En éste contexto, estudios previos han demostrado que la TSH puede inhibir la actividad de la enzima óxido nítrico sintetasa en células endoteliales microvasculares humanas (HMEC-1) en cultivo (Chen, *et al.*, 2019). Lo cual es consistente con nuestros resultados.

Por otra parte, el incremento en la concentración plasmática de fibrinógeno ha sido descrito como un predictor independiente de trastornos cardiovasculares (Lowe, *et al.*, 1991; Erem, 2006; Itakura, *et al.*, 2007). En los pacientes con HSC estudiados en esta investigación, se observó un incremento significativo en la concentración plasmática de fibrinógeno, la cual se correlacionó positivamente con la concentración de TSH. En éste sentido, estudios previos han descrito un estado de hipercoagulabilidad en el HSC. Un estudio retrospectivo donde se evaluaron 6.408 pacientes de la base de datos PreCIS (sistema de información de cardiología preventiva, clínica de cleveland) encontró, que los niveles de fibrinógeno fueron significativamente más altos en los pacientes con HSC en comparación con los sujetos eutiroides (McQuade, *et al.*, 2011).

Existen varios mecanismos potenciales por medio de los cuales el fibrinógeno puede promover el desarrollo de aterosclerosis y trombosis (Lowe, *et al.*, 1991; Thompson & Smith, 1989). Un punto clave de estos mecanismos es la inflamación, la cual juega un papel central en la patogenia de la aterosclerosis y en este sentido, el fibrinógeno es una proteína de fase aguda y por lo tanto un biomarcador de la respuesta inflamatoria (Luyendyk, *et al.*, 2019). Adicionalmente se ha demostrado que el mismo puede promover la expresión de moléculas de adhesión celular, la producción de mediadores inflamatorios por parte de las células endoteliales y la captación de LDL colesterol por parte de los macrófagos. Todos éstos mecanismos favorecedores del proceso ateromatoso (Drouet, *et al.*, 2002).

Los datos clínicos muestran que un nivel más alto de fibrinógeno determina un incremento de la viscosidad plasmática, afecta al sistema hemostático y predice el riesgo de eventos cardiovasculares (Drouet, *et al.*, 2002; Tousoulis, *et al.*, 2011).

La influencia de la insuficiencia tiroidea en la hemostasia es controvertida, se han informado estados de hipocoagulabilidad e hipercoagulabilidad. Dado que tanto el hipotiroidismo subclínico se ha asociado con la aterosclerosis, un estado de hipercoagulabilidad además podría representar un factor de riesgo de enfermedad tromboembólica. En este orden de ideas, Cantürk y col. midieron la actividad fibrinolítica en 35 pacientes con HSC y encontraron un nivel de fibrinógeno significativamente más alto en los pacientes con HSC que en los controles sanos (Cantürk, *et al.*, 2003). Por otra parte, Müller y col. investigaron diversas variables hemostáticas en 42 mujeres con HSC y las compararon con 66 controles eutiroides y no encontraron diferencias entre los grupos con respecto al fibrinógeno (Müller, *et al.*, 2001).

Tomando en cuenta los antecedentes previamente descritos y los resultados de ésta investigación, podemos concluir que en la muestra estudiada, los pacientes con HSC mostraron una disminución en los niveles séricos de ON y una elevación en la concentración plasmática de fibrinógeno. Ambas mediciones se correlacionaron significativamente con la concentración de TSH. Estos parámetros asociados a un aumento del colesterol total y de la LDL colesterol podrían favorecer la disfunción vascular, el desarrollo de aterosclerosis y el consecuente daño cardiovascular.

5. Agradecimientos:

Los autores agradecen especialmente a los pacientes que participaron en esta investigación así como al personal técnico del Hospital IESS de Riobamba, Ecuador por su valiosa colaboración.

6. Aspectos éticos:

Se obtuvo el consentimiento informado de todos los participantes y se siguieron las pautas éticas dadas en la Declaración de Helsinki. Todo el procedimiento fue aprobado por el comité de bioética y la dirección de investigación del Hospital IESS de Riobamba

7. Conflictos de interés:

Los autores declaran no poseer conflicto de interés.

8. Financiamiento:

Este trabajo no recibió financiamiento externo.

Referencias

- Bertrand, M.J., Tardif, J.C. (2017). Inflammation and beyond: new directions and emerging drugs for treating atherosclerosis. *Expert opinion on emerging drugs.*, 22(1), 1–26. <https://doi.org/10.1080/14728214.2017.1269743>.
- Biondi, B., Cappola, AR., Cooper, DS. (2019). Subclinical Hypothyroidism: A Review. *JAMA.*, 322(2), 153–160. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.9052>
- Cantürk, Z., Cetinarslan, B., Tarkun, I., Cantürk, NZ., Ozden, M., Duman, C. (2003). Hemostatic system as a risk factor for cardiovascular disease in women with subclinical hypothyroidism. *Thyroid : official journal of the American Thyroid Association.*, 13(10), 971–977. <https://doi.org/10.1089/105072503322511382>
- Chaker, L., Bianco, AC., Jonklaas, J., Peeters, RP. (2017). Hypothyroidism. *Lancet (London, England).*, 390(10101), 1550–1562. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30703-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30703-1)
- Chen, J., Shi, M., Wang, N., Yi, P., Sun, L., Meng, Q. (2019). TSH inhibits eNOS expression in HMEC-1 cells through the TSHR/PI3K/AKT signaling pathway. *Annales d'endocrinologie.*, 80(5-6), 273–279. <https://doi.org/10.1016/j.ando.2019.06.007>.
- Clauss, A. (1957). Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens [Rapid physiological coagulation method in determination of fibrinogen]. *Acta Haematol.*, 17(4):237-46. German. <https://doi: 10.1159/000205234>.
- Dagre, AG., Lekakis, JP., Papaioannou, TG., Papamichael, CM., Koutras, DA., Stamatelopoulos, SF., Alevizaki, M. (2005). Arterial stiffness is increased in subjects with hypothyroidism. *Int J Cardiol.*, 103(1):1-6. <https://doi: 10.1016/j.ijcard.2004.05.068>.
- Dagre, AG., Lekakis, JP., Protogerou, AD., Douridas, GN., Papaioannou, TG., Tryfonopoulos, DJ., Papamichael, CM., Alevizaki, M. (2007). Abnormal endothelial function in female patients with hypothyroidism and borderline thyroid function. *Int J Cardiol.*, 114(3):332-8. <https://doi: 10.1016/j.ijcard.2005.12.013>.
- Drouet, L., Bal Dit Sollier, C. (2002). Fibrinogène et risque d'accident cardio-vasculaire [Fibrinogen: factor and marker of cardiovascular risk]. *J Mal Vasc.*, 27(3):143-56. French.
- Erem, C. (2006). Blood coagulation, fibrinolytic activity and lipid profile in subclinical thyroid disease: subclinical hyperthyroidism increases plasma factor X activity. *Clin Endocrinol (Oxf).*, 64(3):323-9. <https://doi: 10.1111/j.1365-2265.2006.02464.x>.
- Farah, C., Michel, LYM., Balligand, JL. (2018). Nitric oxide signalling in cardiovascular health and disease. *Nat Rev Cardiol.*, 15(5):292-316. <https://doi: 10.1038/nrcardio.2017.224>.
- Förstermann, U., Sessa, WC. (2012). Nitric oxide synthases: regulation and function. *Eur Heart J.*, 33(7):829-37, 837a-837d. <https://doi: 10.1093/eurheartj/ehr304>.
- Ghimire, K., Altmann, HM., Straub, AC., Isenberg, JS. (2017). Nitric oxide: what's new to NO? *Am J Physiol Cell Physiol.*, 312(3):C254-C262. <https://doi: 10.1152/ajpcell.00315.2016>. Epub 2016 Dec 14.

- Glivic, ZM., Sudar-Milovanovic, EM., Samardzic, VS., Obradovic, MM., Jevremovic, DP., Radenkovic, SP., Isenovic, ER. (2019). Serum nitric oxide levels correlate with quality of life questionnaires scores of hypothyroid females. *Med Hypotheses.*, 131:109299. [https://doi: 10.1016/j.mehy.2019.109299](https://doi.org/10.1016/j.mehy.2019.109299).
- Golia, E., Limongelli, G., Natale, F., Fimiani, F., Maddaloni, V., Pariggiano, I., Bianchi, R., Crisci, M., D'Acerno, L., Giordano, R., Di Palma, G., Conte, M., Golino, P., Russo, MG., Calabrò, R., Calabrò, P. (2014). Inflammation and cardiovascular disease: from pathogenesis to therapeutic target. *Curr Atheroscler Rep.*, 16(9):435. [https://doi: 10.1007/s11883-014-0435-z](https://doi.org/10.1007/s11883-014-0435-z).
- Hak, AE., Pols, HA., Visser, TJ., Drexhage, HA., Hofman, A., Witteman, JC. (2000). Subclinical hypothyroidism is an independent risk factor for atherosclerosis and myocardial infarction in elderly women: the Rotterdam Study. *Ann Intern Med.*, 132(4):270-8. [https://doi: 10.7326/0003-4819-132-4-200002150-00004](https://doi.org/10.7326/0003-4819-132-4-200002150-00004).
- Hevel, JM., Marletta, MA. (1994). Nitric-oxide synthase assays. *Methods Enzymol.*, 233:250–8.
- Infante, T., Costa, D., Napoli, C. (2021). Novel Insights Regarding Nitric Oxide and Cardiovascular Diseases. *Angiology.*, 72(5):411-425. [https://doi: 10.1177/0003319720979243](https://doi.org/10.1177/0003319720979243).
- Itakura, H., Sobel, BE., Boothroyd, D., Leung, LL., Iribarren, C., Go, AS., Fortmann, SP., Quertermous, T., Hlatky, MA. (2007). Atherosclerotic Disease, Vascular Function and Genetic Epidemiology Advance (ADVANCE) Study. Do plasma biomarkers of coagulation and fibrinolysis differ between patients who have experienced an acute myocardial infarction versus stable exertional angina? *Am Heart J.*, 154(6):1059-64. [https://doi: 10.1016/j.ahj.2007.09.015](https://doi.org/10.1016/j.ahj.2007.09.015).
- Kvetny, J., Heldgaard, PE., Bladbjerg, EM., Gram, J. (2004). Subclinical hypothyroidism is associated with a low-grade inflammation, increased triglyceride levels and predicts cardiovascular disease in males below 50 years. *Clin Endocrinol (Oxf).*, 61(2):232-8. [https://doi: 10.1111/j.1365-2265.2004.02088.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2004.02088.x).
- Lindeman, RD., Romero, LJ., Schade, DS., Wayne, S., Baumgartner, RN., Garry, PJ. (2003). Impact of subclinical hypothyroidism on serum total homocysteine concentrations, the prevalence of coronary heart disease (CHD), and CHD risk factors in the New Mexico Elder Health Survey. *Thyroid.*, 13(6):595-600. [https://doi: 10.1089/105072503322238863](https://doi.org/10.1089/105072503322238863).
- Lowe, GD., Wood, DA., Douglas, JT., Riemersma, RA., Macintyre, CC., Takase, T., Tuddenham, EG., Forbes, CD., Elton, RA., Oliver, MF. (1991). Relationships of plasma viscosity, coagulation and fibrinolysis to coronary risk factors and angina. *Thromb Haemost.*, 8;65(4):339-43.
- Lundberg, JO., Gladwin, MT., Ahluwalia, A., Benjamin, N., Bryan, NS., Butler, A., Cabrales, P., Fago, A., Feelisch, M., Ford, PC., Freeman, BA., Frenneaux, M., Friedman, J., Kelm, M., Kevil, C G., Kim-Shapiro, DB., Kozlov, AV., Lancaster, JR., Jr, Lefer, DJ., McColl, K., Weitzberg, E. (2009). Nitrate and nitrite in biology, nutrition and therapeutics. *Nature chemical biology.*, 5(12), 865–869. <https://doi.org/10.1038/nchembio.260>
- Luyendyk, JP., Schoenecker, JG., Flick, MJ. (2019). The multifaceted role of fibrinogen in tissue injury and inflammation. *Blood.*, 133(6), 511–520. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-07-818211>
- McQuade, C., Skugor, M., Brennan, DM., Hoar, B., Stevenson, C., Hoogwerf, BJ. (2011). Hypothyroidism and moderate subclinical hypothyroidism are associated with increased all-cause mortality independent of coronary heart disease risk factors: a PreCIS database study. *Thyroid.*, 21(8):837-43. [https://doi: 10.1089/thy.2010.0298](https://doi.org/10.1089/thy.2010.0298).

- Müller, B., Tsakiris, DA., Roth, CB., Guglielmetti, M., Staub, JJ., Marbet, GA. (2001). Haemostatic profile in hypothyroidism as potential risk factor for vascular or thrombotic disease. *Eur J Clin Invest.*, 31(2):131-7. [https://doi: 10.1046/j.1365-2362.2001.00777.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2362.2001.00777.x).
- Obradovic, M., Gluvic, Z., Sudar-Milovanovic, E., Panic, A., Trebaljevac, J., Bajic, V., Zarkovic, M., Isenovic, ER. (2016). Nitric Oxide as a Marker for Levo-Thyroxine Therapy in Subclinical Hypothyroid Patients. *Curr Vasc Pharmacol.*, 14(3):266-70. [https://doi: 10.2174/1570161114666160208143537](https://doi.org/10.2174/1570161114666160208143537).
- Peeters, RP. (2017). Subclinical Hypothyroidism. *N Engl J Med.*, 5;377(14):1404. [https://doi: 10.1056/NEJMc1709853](https://doi.org/10.1056/NEJMc1709853).
- Sue, LY., Leung, AM. (2020). Levothyroxine for the Treatment of Subclinical Hypothyroidism and Cardiovascular Disease. *Front Endocrinol (Lausanne).*, 21;11:591588. [https://doi: 10.3389/fendo.2020.591588](https://doi.org/10.3389/fendo.2020.591588).
- Tesauro, M., Mauriello, A., Rovella, V., Annicchiarico-Petruzzelli, M., Cardillo, C., Melino, G., Di Daniele, N. (2017). Arterial ageing: from endothelial dysfunction to vascular calcification. *J Intern Med.*, 281(5):471-482. [https://doi: 10.1111/joim.12605](https://doi.org/10.1111/joim.12605).
- Thompson, WD., Smith, EB. (1989). Atherosclerosis and the coagulation system. *J Pathol.*, 159(2):97-106. [https://doi: 10.1002/path.1711590203](https://doi.org/10.1002/path.1711590203).
- Tousoulis, D., Kampoli, AM., Tentolouris, C., Papageorgiou, N., Stefanadis, C. (2012). The role of nitric oxide on endothelial function. *Curr Vasc Pharmacol.*, 10(1):4-18. [https://doi: 10.2174/157016112798829760](https://doi.org/10.2174/157016112798829760).
- Tousoulis, D., Papageorgiou, N., Androulakis, E., Briasoulis, A., Antoniadis, C., Stefanadis, C. (2011). Fibrinogen and cardiovascular disease: genetics and biomarkers. *Blood Rev.*, 25(6):239-45. [https://doi: 10.1016/j.blre.2011.05.001](https://doi.org/10.1016/j.blre.2011.05.001).
- Yang, C., Lu, M., Chen, W., He, Z., Hou, X., Feng, M., Zhang, H., Bo, T., Zhou, X., Yu, Y., Zhang, H., Zhao, M., Wang, L., Yu, C., Gao, L., Jiang, W., Zhang, Q., & Zhao, J. (2019). Thyrotropin aggravates atherosclerosis by promoting macrophage inflammation in plaques. *The Journal of experimental medicine.*, 216(5), 1182–1198. <https://doi.org/10.1084/jem.20181473>
- Yasar, H Y., Demirpence, M., Colak, A., Yurdakul, L., Zeytinli, M., Turkon, H., Ekinçi, F., Günaslan, A., Yasar, E. (2019). Serum irisin and apelin levels and markers of atherosclerosis in patients with subclinical hypothyroidism. *Archives of endocrinology and metabolism.*, 63(1), 16–21. <https://doi.org/10.20945/2359-3997000000106>.
- Zhang, X., Shao, S., Geng, H., Yu, Y., Wang, C., Liu, Z., Yu, C., Jiang, X., Deng, Y., Gao, L., Zhao, J. (2014). Expression profiles of six circulating microRNAs critical to atherosclerosis in patients with subclinical hypothyroidism: a clinical study. *J Clin Endocrinol Metab.*, 99(5): E766-74. [https://doi: 10.1210/jc.2013-1629](https://doi.org/10.1210/jc.2013-1629).

ABSTRACT

Endothelial dysfunction as well as hypercoagulability have been described as the initial triggers of atherosclerosis and cardiovascular damage and have been associated with subclinical hypothyroidism (SCH). The aim of this research was to determine the concentration of nitric oxide (NO), fibrinogen and circulating lipids in patients with SCH and to correlate these variables

with thyrotropin (TSH) concentration to establish their possible association with the development of cardiovascular damage. A descriptive, cross-sectional, correlational study was conducted at the IESS Hospital in Riobamba, Ecuador, in the period from January 2019 to September 2021. Ninety-five subjects were studied (65 patients with SCH and 30 controls). The concentration of total cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol and LDL cholesterol, TSH, free thyroxine, ON and fibrinogen were determined. Results: We found a decrease in the concentration of ON ($p < 0.001$), accompanied by an increase in the concentration of total cholesterol ($p < 0.0001$), LDL cholesterol ($p < 0.01$) and fibrinogen ($p < 0.0001$) in patients with SCH vs. controls. A negative correlation ($p < 0.0001$; $r = -0.5020$) was observed between TSH and ON and a positive correlation ($p < 0.0001$; $r = 0.5412$) between TSH and plasma fibrinogen in patients with SCH. Conclusion: patients with SCH showed a decrease in serum ON levels and an elevation in plasma fibrinogen concentration. Both measurements correlated significantly with TSH concentration. These parameters associated with an increase in total cholesterol and LDL cholesterol could favor vascular dysfunction, the development of atherosclerosis and consequent cardiovascular damage.

Keywords: cardiovascular damage, subclinical hypothyroidism, nitric oxide, fibrinogen, TSH.
