

Dissertação de Mestrado

Sarah Galvão Pereira

GlycA como um novo biomarcador de inflamação sistêmica no hipotireoidismo

UFRJ

2023

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

GlycA como um novo biomarcador de inflamação sistêmica no
hipotireoidismo

Sarah Galvão Pereira

2023



GlycA como um novo biomarcador de inflamação sistêmica no hipotireoidismo

Sarah Galvão Pereira

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Endocrinologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Endocrinologia.

Orientadoras:

Profa. Dra. Patrícia de Fátima dos Santos Teixeira

Profa. Dra. Isabela Judith Martins Bensenor

Rio de Janeiro

Agosto de 2023

GlycA como um novo biomarcador de inflamação sistêmica no hipotireoidismo

Sarah Galvão Pereira

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Endocrinologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Endocrinologia.

Orientadoras:

Profa. Dra. Patrícia de Fátima dos Santos Teixeira

Profa. Dra. Isabela Judith Martins Bensenor

Aprovada por:

Presidente, Profa. Dr. Mario Vaisman

Prof. Dra. Flávia Lúcia Conceição

Dr. Flavio Victor Signorelli

Rio de Janeiro
31 de Agosto de 2023

Pereira, Sarah Galvão

GlycA como um novo biomarcador de inflamação sistêmica no hipotireoidismo. / Sarah Galvão Pereira. – Rio de Janeiro: UFRJ, Centro de Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, 2023.

70 f. : il. ; 31 cm

Orientadoras: Patrícia de Fátima dos Santos Teixeira e Isabela Judith Martins Bensenor

Dissertação (mestrado) – UFRJ / Centro de Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina (Endocrinologia), 2023.

Referências: f. 63-67.

1. Cardiopatias Congênitas. 2. GlycA. 3. Hipotireoidismo. 4. Inflamação. 5. Tiroxina. 6. Endocrinologia – Tese. I. Teixeira, Patrícia de Fátima dos Santos. II. Bensenor, Isabela Judith Martins. III. UFRJ, Centro de Ciências da Saúde, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Medicina (Endocrinologia). IV. Título.

Para meus pais, Ilka e Ailton,
para meu irmão, André,
para minhas avós, Rí:lza e Darcy,
e para meu avô, Eráclito (in memoriam).

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) que tem sido minha casa há 15 anos e me proporcionou todo o aprendizado ao longo desses anos durante a Graduação, Residência em Clínica Médica, Residência em Endocrinologia e atualmente Mestrado, onde aprendo todos os dias com seus mestres, alunos e, principalmente, pacientes. Tenho profunda gratidão e orgulho dessa Instituição.

Agradeço a minha querida orientadora Dra. Patrícia por todos os ensinamentos, pela total disponibilidade, sempre que precisava, e que, é minha inspiração desde os tempos de Graduação. Desde aquela época já te admirava e aprendia muito com você, e essa admiração só se tornou maior ao conviver e aprender mais durante a residência, no dia-a-dia, e no Mestrado. Obrigada por todo o incentivo, desde à época da residência, me estimulando a seguir meus sonhos e dando conselhos preciosos. Obrigada por todo o tempo a mim despendido, mesmo às sextas-feiras à noite, revisando estatística até tarde, e também aos finais de semana. Espero um dia poder ter tanto entusiasmo e conhecimento como você.

Agradeço a Dra Isabela Bensenor, que apesar de não conhecer pessoalmente, foi sempre tão disponível e prestativa com todas informações e dados que precisava. O trabalho que faz na Universidade de São Paulo com os dados da coorte ELSA-Brasil é impressionante e incrível. Minha eterna gratidão a você.

Aos membros da banca, Prof. Mario Vaisman, Profa Flavia Lucia Conceição e Dr. Flavio Signorelli, muito obrigada pela disponibilidade e pelas contribuições ao longo de toda minha formação. É uma honra imensa ter pessoas que admiro e me inspiro tanto compondo minha banca. Obrigada por sempre se dedicarem tanto à UFRJ e ao Hospital Universitário Clementino Fraga Filho (HUCFF), se doando diariamente ao ensino e exemplo, além do cuidado com o paciente. São exemplos que carrego para toda a vida.

Agradeço a todo o Serviço de Endocrinologia e Nutrologia do HUCFF, essa “grande família” que somos, e uma casa que tento tanto orgulho de fazer parte. Agradeço a todos os residentes e alunos, pois esses também me ensinam diariamente e me desafiam a me manter sempre atualizada e estudando, sendo o motor para continuar na vida acadêmica. Um agradecimento especial a Profa Lenita e Profa Melanie, por todo carinho e ensinamentos que me deram, desde a graduação, e por quem tenho enorme admiração. Também agradeço à Natalia, que muito antes de colega na Endócrino, está junto comigo desde os tempos de graduação.

Agradeço a todos meus colegas da Emergência do HUCFF, principalmente a Isabela, que torna minhas terças à noite muito mais agradáveis, mesmo com tantas dificuldades no plantão, e a todos os outros com quem compartilho as angústias e desafios, mas que juntos, conseguimos tornar o ambiente o mais amigável possível.

Agradeço aos meus grandes amigos de vida: Luiza Albagli, Eric Paiva, Carolina Rouanet, muito obrigada pelo apoio e incentivo de sempre. Obrigada por me conhecerem tão bem e me entenderem. Agradeço ainda, ao meu eterno melhor amigo, Arthur, por todos os anos vividos, e por sua incansável dedicação e inspiração como ser humano.

Por último, sou extremamente grata à minha família, em especial minha mãe Ilka, que sempre me ensinou a valorizar os estudos, me fazendo colocar sempre como prioridade na minha vida. Você sempre esteve certa. Valeu a pena toda a dedicação. Agradeço ao meu pai, Ailton, por sempre fazer tudo que estava ao seu alcance para me permitir chegar até onde estou, e ao meu Irmão, André, por ter sido meu primeiro e eterno professor. Agradeço a minha avó, Rilza, pela dedicação incansável desde pequena me levando ao colégio, assim como por ser um exemplo de mulher independente e autêntica. Agradeço todo o carinho à minha avó, Darcy, e ao meu avô, Eráclito, que faz tanta falta. Por fim, agradeço a Arlete, minha eterna “babá” que sempre foi tão carinhosa, paciente e cuidadosa comigo. Sem vocês, não chegaria aqui.

RESUMO

GLYCA COMO UM NOVO BIOMARCADOR DE INFLAMAÇÃO SISTÊMICA NO HIPOTIREOIDISMO

Sarah Galvão Pereira

Orientadoras: Profa. Dra. Patrícia de Fátima dos Santos Teixeira

Profa. Dra. Isabela Judith Martins Bensenor

Resumo da dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Endocrinologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Endocrinologia.

RESUMO:

Introdução: As disfunções tireoidianas, tanto o hipotireoidismo quanto o hipertireoidismo, estão associadas a um maior risco cardiovascular devido não somente ao aumento de fatores de risco cardiovasculares tradicionais, componentes da síndrome metabólica, mas também a fatores de risco não clássicos, associados à inflamação de baixo grau e disfunção endotelial. GlycA é um novo biomarcador glicoproteico composto, que reflete o grau de inflamação sistêmica de baixo grau. Seus níveis tem sido associados a eventos e mortalidade cardiovascular, além de estratificação de doença cardiovascular subclínica. Até o presente momento não existem estudos avaliando níveis de GlycA nas disfunções tireoidianas.

Objetivos: O objetivo do nosso estudo foi avaliar os níveis de GlycA em indivíduos com hipotireoidismo. Foi realizada uma sub-análise dos níveis de GlycA nos pacientes em tratamento com levotiroxina (LT4) a fim de avaliar diferenças nos valores de GlycA em relação adequação do tratamento.

Métodos: Trata-se de um estudo seccional, usando o banco de dados da coorte ELSA-Brasil. Foram incluídos apenas participantes com dosagens séricas de TSH e GlycA (n=4745) após exclusão daqueles com hipertireoidismo endógeno e em uso de drogas que interferem na função tireoidiana. Os valores de GlycA foram quantificadas pelo sinal de espectroscopia de ressonância magnética de prótons (NMR). Foram excluídos indivíduos com hipertireoidismo endógeno e aqueles em uso de drogas que alteravam a função da tireoideana. Foram

classificados como eutireoidianos (EU) os participantes que não tomavam LT4, cujo TSH sérico estava na faixa de 0,4-4,0 mUI/L, enquanto aqueles com TSH elevado foram classificados como hipotireoidismo não diagnosticado (HU). Para aqueles em tratamento com LT4 (n=345), a adequação do tratamento foi definida como TSH dentro do intervalo de referência. Aqueles com TSH < 0,4 mUI/L foram considerados supertratados (OT) e os >4,0 mUI/L, subtratados (UT). Ambos (UT + OT) foram considerados inadequadamente tratados (IT). As comparações dos grupos foram realizadas por Kruskal-Wallis, teste do qui-quadrado ajustado e teste post-hoc de Dunn. Análises adicionais de subgrupos foram realizadas em pacientes com anticorpos circulantes contra tireoperoxidase (Anti-TPO). As respectivas análises multivariadas foram realizadas para avaliar a relação entre as variáveis relacionadas à tireoide e os níveis de Glyc A (Modelo Linear Generalizado), bem como um GlycA anormal (> 400 µmol/L) (Regressão Binária Logística).

Resultados: Hipotireoidismo não diagnosticado (HU) foi detectado em 9,8% da população do estudo. Entre aqueles em tratamento com LT4 apenas 61,7% estavam adequadamente tratados (AT). Os níveis de GlycA foram mais altos em pacientes com hipotireoidismo inadequadamente tratados (IT) em comparação com os indivíduos da eutireoidianos (429 x 410 µmol/L, p<0,01), mas não diferiram entre os indivíduos com hipotireoidismo não-diagnosticado (413 µmol/L) em relação aos eutireoidianos (EU). No entanto, em uma subanálise daqueles com anti-TPO positivo, foi demonstrado que não apenas aqueles inadequadamente tratados, mas também os com hipotireoidismo não-diagnosticados, tinham níveis mais elevados de GlycA em comparação aos eutireoidianos (423 e 424 vs 402 µmol/L, p=0,04). Essa associação entre níveis mais elevados de GlycA e hipotireoidismo inadequadamente tratado foi mantida mesmo após análise multivariada; (*odds ratio* [OR]: 1,53 (intervalo de confiança [IC]: 1,03-2,31). Medianas mais baixas de GlycA foram detectadas nos pacientes adequadamente tratados (405 µmol/L,) em comparação com os super-tratados (432 µmol/L, 0,04) e sub-tratados (423 µmol/L, p=0,02).

Conclusão: Pacientes inadequadamente tratados, tanto super quanto subtratados, apresentaram níveis mais elevados de GlycA, o que pode estar associado a maior inflamação sistêmica sustentada de baixo grau e, possivelmente, maior risco cardiovascular. Esses achados sustentam a necessidade de monitoramento mais estrito da terapia de reposição com levotiroxina em pacientes com hipotireoidismo a fim de objetivar níveis de TSH dentro da faixa de normalidade. Nos pacientes com hipotireoidismo não-diagnosticado, apenas aqueles com anti-TPO positivo, tinham níveis mais elevados de GlycA em relação aos eutireoidianos. X

Palavras-chave: doença cardiovascular, GlycA, hipotireoidismo, inflamação, levotiroxina.

ABSTRACT

GLYCA AS A MARKER OF SYSTEMIC INFLAMMATION IN HYPOTHYROIDISM

Sarah Galvão Pereira

Advisors: Prof. Dr. Patrícia de Fátima dos Santos Teixeira

Prof. Dr. Isabela Judith Martins Bensenor

Abstract of the master's thesis submitted to the Graduate Program in Endocrinology of the Federal University of Rio de Janeiro – UFRJ, as part of the requirements necessary to obtain the title of Master in Endocrinology

Background: GlycA is a novel glycoprotein biomarker of systemic inflammation and cardiovascular risk. Our objective was to assess the levels of GlycA in individuals with hypothyroidism. We also explored if levothyroxine (LT4)-treated patients had different levels of GlycA, with attention to TSH levels.

XI

Methods: We performed a cross-sectional analysis, using baseline data from the ELSA-Brazil cohort study. We included only participants with serum TSH and GlycA levels measurements, using magnetic resonance spectroscopy (n=4745). We excluded individuals with endogenous hyperthyroidism and those using drugs impacting thyroid function. Participants not taking LT4 whose serum TSH was 0.4-4.0 mUI/L, were classified as euthyroid (EU) and those with elevated TSH as undiagnosed hypothyroidism (UH). For those on LT4 (n=345), adequacy of treatment was defined as TSH within the reference range. Those with TSH < 0.4 mUI/L were considered over-treated (OT), and those >4.0 mUI/L, under-treated (UT). Both (UT + OT) were considered inadequately treated (IT). Group comparisons were performed by Kruskal-Wallis, adjusted Chi-square and the post-hoc Dunn test. Additional subgroup analysis were performed in patients with circulating thyroperoxidase antibodies. Respective multivariable analyses were performed to evaluate the relationship between thyroid-related variables and Glyc A levels (Generalized Linear Model), as well as an abnormal GlycA (> 400 µmol/L) (Logistic Binary Regression).

Results: The prevalence rate of UH was 9.8% (467/4745) and, among those on LT4, only 61.7% (213/345) were AT. GlycA levels were higher in IT in comparison to EU (429 vs 410 $\mu\text{mol/L}$, $p < 0.01$) but did not differ between UH (413 $\mu\text{mol/L}$) and EU. However, the subgroup analysis of those TPO-Ab+ showed that not only those with IT, but also UH, had higher levels of GlycA in comparison to EU (423 and 424 vs 402 $\mu\text{mol/L}$, $p = 0.04$). This association between higher levels of GlycA and IT was maintained even in multivariable analysis (odds ratio [OR] 1.53, 95% confidence interval [CI] 1.03, 2.31). Lower levels of GlycA were detected in AT (405 $\mu\text{mol/L}$,) compared to OT (432 $\mu\text{mol/L}$, 0.04) and UT (423 $\mu\text{mol/L}$, $p = 0.02$).

Conclusions: Patients with IT, both over- and under-treated, had higher GlycA levels, which may be associated with low-grade systemic inflammation and, possibly, increased cardiovascular risk.

KEY WORDS: cardiovascular disease, GlycA, hypothyroidism, inflammation, levothyroxine.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	14
LISTA DE FIGURAS	15
LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS	16
1. INTRODUCAO	17
2. REVISAO DA LITERATURA	20
3. OBJETIVOS	29
3.2 Objetivo principal:	29
3.3 Objetivos secundários:	29
4 ARTIGO	36
5 CONSIDERACOES FINAIS	60
6 PERSPECTIVAS FUTURAS	62
7 CONCLUSÕES	63
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
ANEXOS	69

Anexo A. Aprovação para publicação no periódico *Thyroid*

Anexo B. Apresentação do trabalho no XVIII Congresso Latino-Americano de tireoide (LATS 2021) – Formato Oral

Anexo C. Trabalho apresentando XVIII Congresso Latino-Americano de tireoide (LATS 2021) selecionado para concorrer à premiação de melhor trabalho – Clínico

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Efeito da Disfunção Tireoidiana nos Fatores de Risco para Doença CV

TABELA 2: Prevalência da Adequação ao Tratamento do Hipotireoidismo

TABELA 3: Estudos de Coorte Longitudinais de GlycA e RCV

TABELA 4: Outros Estudos GlycA e RCV – Não-longitudinais

TABELA 5: Estudos com avaliação de GlycA em Doenças Inflamatórias Crônicas

TABELA 6: Comparações da distribuição das variáveis potencialmente associadas aos níveis de GlicA acima de 400 $\mu\text{mol/L}$ * na amostra estudada

TABELA 7: Definição das variáveis de exposição estudadas

TABLE 1: Characteristics of all included participants, and a subgroup analysis of those with circulating TPO-Ab, showing comparisons between groups according to the presence of hypothyroidism and its treatment

TABLE 2: Binary logistic regression exploring variables associated with abnormal GlycA levels.

TABLE 3: Generalized linear model showing variables associated with GlycA levels in the whole group and in the group of participants under LT4 replacement.

TABLE 4- Characteristics of all patients under LT4 replacement and comparisons between groups, according to adequacy of hypothyroidism treatment

LISTA DE FIGURAS:

FIGURA 1: Interação dos Hormônios Tireoidianos e o Sistema Cardiovascular.

FIGURA 2: Espectro da RNM da região de GlycA das principais glicoproteínas séricas. Figura adaptada de Otvos et al. "GlycA: A Composite Nuclear Magnetic Resonance Biomarker of Systemic Inflammation"

FIGURA 3: Fluxograma dos participantes do Estudo

FIGURE 1: Flowchart of the participants in the study

FIGURE 2: Boxplot showing values of GlycA according to adequacy of hypothyroidism treatment.

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

- Anti-TPO:** anticorpo anti-tireoperoxidase
- AR:** Artite Reumatóide
- AT:** Adequadamente tratados
- CV:** Cardiovascular
- DAC:** Doença arterial coronariana
- DCV:** Doença cardiovascular
- DM2:** Diabetes Mellitus tipo 2
- EU:** Eutireoidiano
- ELSA:** Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto
- HDL:** Lipoproteína de alta densidade
- HT:** Hormônios tireoidianos
- IC:** Insuficiência cardíaca
- IL-6:** interleucina-6
- IMC:** Índice de Massa Corporal
- IQ:** Intervalo interquartil
- LDL-c:** Lipoproteína de baixa densidade
- LES:** Lupus Eritemtoso Sistêmico
- LT4:** Levotiroxina
- MACE:** Eventos maiores cardiovasculares
- MLG:** Modelo Linear Generalizado
- OT:** Super-tratados
- PCR-us:** Proteína-C ultrasensível
- RCV:** Risco cardiovascular
- RMN:** Ressonância magnética
- T4L:** Tetraiodotironina livre
- TR α :** Receptor tireoidiano alfa
- TR β :** Receptor tireoidiano beta
- TSH:** *Thyroid Stimulating Hormone*
- UH:** Hipotireoidismo não-diagnóstico
- UT:** Sub-tratados
- VR:** Valor de referência

INTRODUÇÃO

As disfunções tireoidianas, tanto o hipo quanto o hipertireoidismo estão associadas a um aumento do risco cardiovascular^{1,2}. Esse risco elevado pode estar relacionado não apenas a fatores de risco cardiovasculares tradicionais, como a síndrome metabólica, mas também a fatores de risco não clássicos, que estão associados a inflamação de baixo grau e disfunção endotelial^{1,2}.

O excesso de hormônios tireoidianos aumenta o crono e o inotropismo cardíacos, elevando o risco de arritmias, podendo causar hipertensão, prejudica a função vascular e aumenta a hiperplasia da íntima carotídea^{1,2}. Todos esses efeitos acarretam em maior risco de mortalidade cardíaca prematura^{1,2}. Por outro lado, no hipotireoidismo, com a redução da ação dos hormônios tireoidianos está associada ao comprometimento da resistência vascular periférica e redução do crono e inotropismo cardíaco^{1,2}. Além disso, a dislipidemia e a síndrome metabólica são consequências bem conhecidas do hipotireoidismo^{1,2}. Há fortes evidências ligando hipotireoidismo manifesto e subclínico ao aumento do risco cardiovascular, incluindo alterações na pressão arterial, função endotelial e níveis de colesterol^{3,4}. Todas essas condições podem resultar em maior risco de eventos cardiovasculares (CV)^{3,4}.

Níveis anormais de hormônios tireoidianos podem advir de doenças tireoidianas ou ser induzidos por tratamento insuficiente ou excessivo do hipotireoidismo com levotiroxina, o que também pode afetar o risco cardiovascular e a mortalidade⁵⁻⁷. Tem sido relatado que pacientes em reposição de levotiroxina com TSH acima ou abaixo da faixa de referência podem apresentar risco aumentado de mortalidade⁸, principalmente quando o TSH está abaixo do limite inferior de referência⁵⁻¹⁰. Tanto o hipo quanto o hipertireoidismo exógeno já foram associados a um maior risco de fibrilação atrial e acidente vascular cerebral¹¹. Apesar dessas evidências de prejuízo do tratamento inadequado com levotiroxina, aproximadamente 40% dos pacientes em reposição de levotiroxina são tratados inadequadamente tanto no Brasil¹², como no mundo¹³.

A principal causa de hipotireoidismo é a tireoidite autoimune de Hashimoto¹⁴. A disfunção tireoidiana e a autoimunidade podem estar associadas a inflamação de baixo grau, o que pode justificar o aumento do risco cardiovascular. Estudos demonstraram níveis mais elevados de marcadores inflamatórios tradicionais em pacientes com hipotireoidismo e hipertireoidismo¹⁵⁻¹⁶. A inflamação sistêmica crônica aumentada leva à disfunção endotelial e aterogênese acelerada, resultando em doença cardiovascular subclínica podendo progredir para doença cardíaca isquêmica e consequente morte cardiovascular. Alguns marcadores inflamatórios tradicionais estão aumentados no processo inflamatório, como proteína C reativa de alta sensibilidade (PCR-us), interleucina-6 (IL-6), homocisteína e fibrinogênio¹⁷. Entretanto,

esses marcadores também estão elevados em outras situações, apresentando baixa especificidade, além de exibirem alta variabilidade intra-individual¹⁶⁻²⁰. Há pesquisas em andamento para descobrir novos marcadores de inflamação mais específicos, que refletissem melhor o processo complexo da inflamação de baixo grau, a fim de permitir uma estratificação de risco cardiovascular mais precisa dos indivíduos.

Sabe-se que inflamação é fundamental na iniciação, progressão e complicações da doença coronariana aterosclerótica. A fisiopatologia da inflamação é complexa, multidimensional e pouco detectada por um único biomarcador como a PCR-us. Um novo biomarcador composto da inflamação, denominado como GlycA, detecta as concentrações integradas e os estados de glicosilação de várias das proteínas de fase aguda mais abundantes no soro, como alfa-1-antitripsina, alfa1-antiquimotripsina e transferrina, refletindo uma maior dimensão da inflamação. Essas glicoproteínas de fase aguda são quantificadas pelo sinal de espectroscopia de ressonância magnética de prótons (RNM) pela sua porção glicano (carboidrato) composta por grupos N-acetilmetil²¹, cujo sinal único foi denominado GlycA^{22,23}. Como o GlycA é um biomarcador composto, parece refletir melhor uma resposta de fase aguda sistêmica do que qualquer outro componente único de glicoproteína²¹⁻²⁶.

GlycA é um biomarcador inflamatório mais confiável devido à sua menor variabilidade intraindividual e maior precisão analítica, em comparação com outros marcadores inflamatórios²¹⁻²⁶. GlycA tem sido correlacionada com inflamação indolente em pacientes com fatores de risco cardiometabólicos como obesidade, resistência à insulina e síndrome metabólica²⁵⁻²⁷.

Estudos de coorte prospectivos detectaram GlycA como um marcador de risco cardiometabólico, associado ao índice de massa corporal, resistência à insulina, eventos cardiovasculares incidentes e DM2, provavelmente devido ao estado pró-inflamatório encontrados nessas condições²⁸⁻³⁴. Níveis mais elevados de GlycA também foram associados a maior mortalidade por todas as causas não-cardiovasculares, mesmo após o ajuste para fatores de risco CV tradicionais³¹. Além disso, em pacientes com doenças inflamatórias crônicas, como nas doenças autoimunes (lúpus eritematoso sistêmico, artrite reumatóide e psoríase), valores de GlycA foram úteis para refletir tanto a atividade inflamatória dessas doenças quanto para melhor estratificação do risco CV nessas condições²⁸⁻³⁴. Dessa forma, GlycA parece ser um novo marcador de risco CV que pode ser útil em pacientes com doenças autoimunes, onde os fatores de risco tradicionais e os escores de risco podem não capturar com precisão o risco CV.

Considerando que as disfunções tireoidianas estão associadas a inflamação de baixo grau, nossa hipótese é que indivíduos não-diagnosticados ou inadequadamente tratados

exibam maiores níveis de GlycA. Não há estudos na literatura avaliando os níveis de GlycA em disfunções tireoidianas bem como não há estudos avaliando seus níveis na Tireoidite de Hashimoto.

O principal objetivo deste estudo foi avaliar os níveis de GlycA em indivíduos com hipotireoidismo e determinar se aqueles em terapia de reposição com levotiroxina (LT4) apresentavam níveis diferentes desse biomarcador, com atenção especial para a adequação do tratamento (determinado pelos níveis de TSH).

Dados preliminares desta pesquisa foram apresentados no *Latin American Thyroid Congress* no ano de 2021 no formato de apresentação oral⁵⁵, tendo concorrido ao prêmio de melhor trabalho na categoria jovem investigador.

Posteriormente, o conteúdo dessa dissertação foi submetido e aceito para publicação no periódico *Thyroid*, com o abstract já disponível no Medline⁵⁶.

Nesta dissertação de mestrado apresentaremos uma revisão da literatura sobre o assunto, os objetivos, o artigo na língua inglesa aprovado para publicação, além de perspectivas futuras e conclusões.

1. REVISÃO DA LITERATURA

1) Hormônios Tireoidianos e Efeitos no Sistema Cardiovascular:

Os receptores de hormônio tireoidiano (HT) estão presentes em todo o corpo, estando presentes no miocárdio e no tecido vascular. Sabe-se que alterações na concentração de HT podem afetar a fisiologia cardiovascular (CV), tendo impactos negativos nas doenças cardiovasculares.

Os potenciais mecanismos que ligam a doença CV à disfunção tireoidiana são a disfunção endotelial, alterações na pressão arterial, disfunção miocárdica sistólica e diastólica e alterações do perfil lipídico.

Os efeitos genômicos de HT são mediados por receptores nucleares localizados no compartimento intracelular. Em mamíferos, existem 2 isoformas dos receptores de HT, alfa e beta (TR α e TR β), que se ligam a elementos responsivos aos HT em regiões promotoras de genes reponsivos aos HT. A isoforma TR α 1 demonstrou desempenhar um papel importante na regulação de genes cardíacos¹. Os HT agem nos miócitos cardíacos, regulando positivamente e negativamente diversas miosinas nos miócitos, afetando a contratilidade cardíaca. No hipotireoidismo, há prejuízo na função diastólica provavelmente por uma redução do influxo de cálcio decorrente da queda de HT, com conseqüente diminuição da capacidade de relaxamento miocárdica^{1,2}).

Além dos efeitos genômicos dos dos HT, descritos anteriormente, há também uma ação não-genômica com efeitos sobre o miócito cardíaco e e sobre o endotélio. Esses efeitos são resposáveis pela capacidade dos HT em afetar a frequência cardíaca. Além disso, o excesso de HT está associado a um menor tônus vagal e maior efeito adrenérgico, propiciando arritmias cardíacas, como o que ocorre na tireotoxicose¹. A figura 1 ilustra os efeitos cardiovasculares dos hormônios tireoidianos.

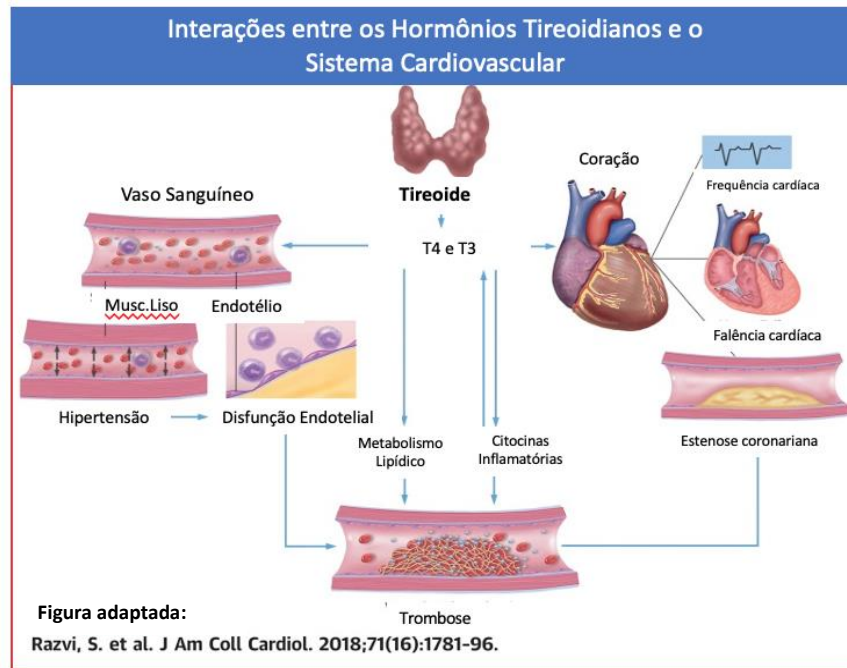


Figura 1: Interação dos Hormônios Tireoidianos e o Sistema Cardiovascular.

Tabela 1: Efeito da Disfunção Tireoidiana nos Fatores de Risco para Doença CV

	Hipertireoidismo Manifesto e Hipertireoidismo Subclínico	Hipotireoidismo Manifesto e Hipotireoidismo Subclínico
Parâmetros Lipídicos	Pequena redução ³	Aumento Colesterol Total ³ Aumento LDL ³
Hipertensão	Hipertensão Sistólica Ampla pressão de pulso ¹	Hipertensão diastólica ¹
Disfunção Endotelial	Produção excessiva de NO endotelial e reatividade vascular exagerada ¹ Aumento da rigidez arterial e da espessura médio-intimal carotídea em doença de longa data não-tratada ¹	Redução da produção de NO endotelial ¹ Aumento da resistência vascular periférica ¹
Efeito trombogênico	Aumento do fibrinogênio e do FvW na doença evidente ¹	Incerto

Função Cardíaca	<p>Aumento do DC (aumento da FC + VCF)¹</p> <p>Aumento do risco de arritmias atriais¹</p> <p>Aumento do tamanho atrial, massa do VE e função diastólica prejudicada em doença de longa data não tratada¹</p> <p>IC de alto débito¹</p>	<p>Diminuição da capacidade de relaxamento e enchimento ventricular ¹</p> <p>Disfunção sistólica e diastólica do VE em repouso e durante o exercício¹</p>
<p>LDL: lipoproteína de baixa-densidade; NO: óxido nítrico; DC: débito cardíaco; FC: frequência cardíaca; VCF: volume cardíaco final; VE: ventrículo esquerdo; FvW: fator de Von Willebrand</p>		

Como as disfunções tireoidianas têm uma prevalência mundial alta, especialmente o hipotireoidismo que acomete aproximadamente 13% da população adulta, isso pode justificar um aumento no risco cardiovascular com importante impacto de forma populacional.

Dessa forma, tanto o hipotireoidismo quanto o hipertireoidismo têm efeitos negativos no sistema cardiovascular, seja por aumento de fatores de risco clássicos, ligados à síndrome metabólica, quanto por inflamação crônica de baixo grau e disfunção endotelial precoce, levando a um aumento do risco e mortalidade cardiovascular.

2) Tratamento do Hipotireoidismo com Levotiroxina e Risco Cardiovascular:

O tratamento do hipotireoidismo é feito com a reposição de hormônio tireoidiano com levotiroxina (LT4). O objetivo do tratamento é normalizar os níveis de TSH com o objetivo de mantê-lo dentro da faixa de normalidade. Sabe-se que a molécula da LT4 tem baixa biodisponibilidade após ingestão oral e para uma eficácia ideal, a formulação tradicional de comprimidos requer que os pacientes evitem a ingestão concomitante com alimentos, bebidas e certos medicamentos, bem como uma excelente adesão do paciente⁵⁷.

Além disso, a LT4 deve ser tomada diariamente, o que, para alguns pacientes, dificulta a adesão ao tratamento. Dessa forma, o controle adequado do hipotireoidismo, com TSH dentro da faixa de normalidade, em todo o mundo, é inferior ao ideal.

Assim como o hipo- e hipertireoidismo endógenos, sabe-se que o tratamento inadequado do hipotireoidismo, tanto o excesso quanto o sub-tratamento, estão relacionados a maior risco cardiovascular⁵. Entretanto, o tratamento inadequado é comum em todo o mundo, com apenas taxas de controle variando de 43-68% na maioria dos estudos^{12,13,44-48}.

Tabela 2: Prevalência da Adequação ao Tratamento do Hipotireoidismo				
Estudo (ano)	População (n)	Adequadamente Tratados (AT)	Super-Tratados (OT)	Subtratados (UT)
Dinamarca (2022) <i>Nielsen et al.</i>	n=113	67,7%	15%	17,3%
NHANES (2021) <i>Ettleson et al.</i>	n= 8436 participantes (536 em uso de levotiroxina)	66,4%	16,4%	17,2%
Turquia (2017) <i>Yavuz DG et al.</i>	n= 1755	54,1%	18,6%	27,3%
Brasil (2013) <i>Vigarrio et al.</i>	n=2057	59,7%	14,4%	25,9%
Reino Unido (2011) <i>Okosieme et al.</i>	n= 1037	62,8%	17,4%	19,8%
Pensilvânia (2009) <i>Somwaru LL et al.</i>	n=339	43%	41%	16%
The Colorado Thyroid Disease Prevalence Study (2000) <i>Canaris JG et al.</i>	n =25.862 (1527 em uso de levotiroxina)	60,1%	18,3%	21,6%

Tabela 2: Estudos com avaliação da adequação do tratamento do hipotireoidismo

3) Inflamação Crônica e Risco Cardiovascular:

Nas últimas duas décadas, estudos clínicos e experimentais mostraram que a aterosclerose é uma doença inflamatória de baixo grau¹⁷. A inflamação sistêmica e local têm um papel central no desenvolvimento e progressão da doença cardiovascular (DCV), desde a disfunção endotelial até o desenvolvimento da doença cardiovascular estabelecida.

A inflamação crônica de baixo grau pode ser mensurada por alguns marcadores inflamatórios, como PCR-us e fibrinogênio, sendo utilizados para estratificação de risco cardiovascular⁵⁷. Entretanto, esses marcadores se elevam em estados infecciosos e tem grande variabilidade intra-individual²⁰, sendo pouco específicos para estratificar de forma precisa o risco cardiovascular.

4) GlycA: um novo biomarcador inflamatório:

A análise dos sinais das partículas de lipoproteínas do soro feita a partir de RNM permite uma avaliação adicional de biomarcadores de inflamação²¹. Um desses sinais, denominado conjuntamente de GlycA, é um novo biomarcador composto da inflamação que detecta as concentrações integradas e os estados de glicosilação de várias das proteínas de fase aguda que aumentam em processos infecciosos. Os maiores contribuintes para o sinal de GlycA são concentração e o grau de glicosilação da alfa-1-antitripsina, alfa1-antiquimotripsina e transferrina²¹.

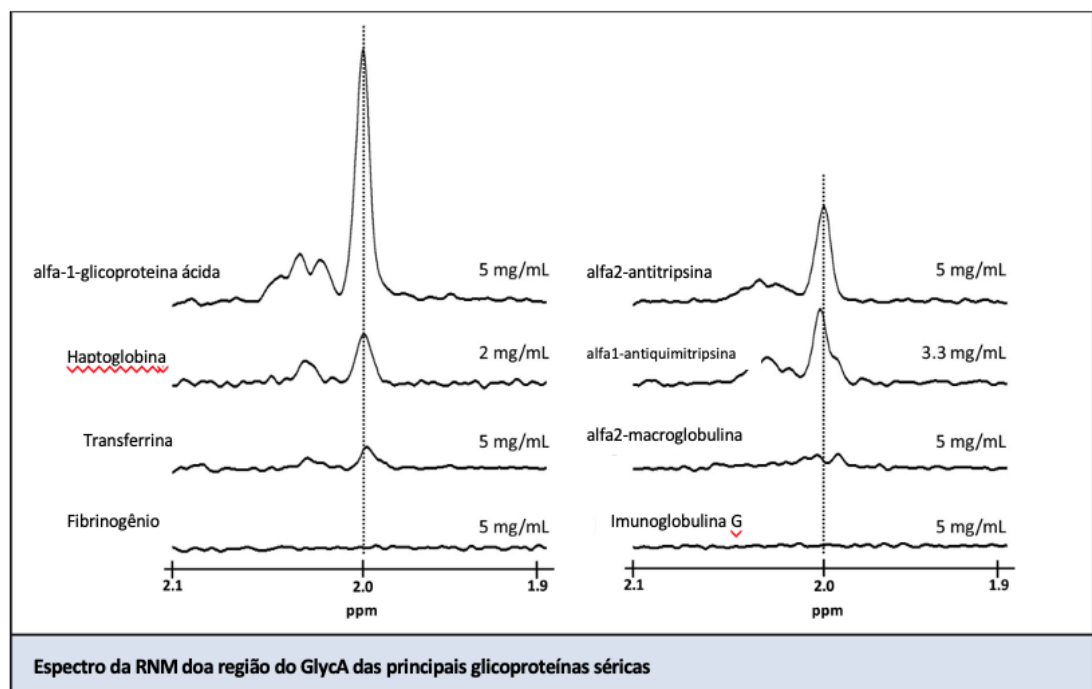


Figura 2: Espectro da RNM da região de GlycA das principais glicoproteínas séricas. Figura adaptada de Otvos et al. "GlycA: A Composite Nuclear Magnetic Resonance Biomarker of Systemic Inflammation"

Os sinais emitidos pelas porção glicanos dessas proteínas, composto por resíduos de N-acetilglucosamina são quantificados por meio de espectroscopia de ressonância magnética de prótons, sendo conjugado em um sinal único, denominado de GlycA^{21,22}. Como o GlycA é

um biomarcador composto, parece refletir melhor uma resposta de fase aguda sistêmica do que qualquer outro componente único de glicoproteína²¹.

Estudos indicam que o GlycA tem uma menor variação intra-individual além de maior precisão analítica²¹. Consequentemente, enquanto as diretrizes atuais recomendam duas medições em série sejam com pelo menos 2 semanas de intervalo para ao usar PCR-us como avaliação de risco cardiovascular, apenas uma medição de GlycA é necessária para avaliação do risco CV^{22,23}.

Diversos estudos também demonstraram que as concentrações de GlycA estão associadas a eventos cardiovasculares prevalentes e incidentes, independentemente dos fatores de risco tradicionais. Além disso, níveis de GlycA mais elevados foram associados à mortalidade por todas as causas e mortalidade não cardiovascular, mesmo quando considerados os fatores de risco cardiovascular tradicionais.

Tabela 3: Estudos de Coorte Longitudinais avaliando GlycA e RCV *

Estudo (ano)	População	Desfecho	Resultados
MESA study (2016) Duprez et al.	n=6523 participantes saudáveis	Concentração de GlycA preditiva de morte total, DCV fatal e não-fatal e câncer total	Mediana GlycA 380umol/L GlycA preditor of DCV
Intermountain Heart Collaborative Study (2018) Muhlestein et al.	n =2996 pacientes submetidos a coronariografia	As concentrações basais de GlycA foram marcadores de risco aditivos e independentes de MACE, hospitalizações por IC e óbito.	Quartis mais altos de GlycA associados com MACE HR:1.43 <i>p</i> <.0001
Relations of GlycA and Lipoprotein Particle Subspecies With Cardiovascular Events and Mortality: A Post Hoc Analysis of the AIM-HIGH Trial (2018) Otvos et al.	n = 2754 pacientes com níveis controlados de LDL-C que foram tratados com niacina de liberação prolongada	A inflamação está associada a maiores riscos de DCV e morte	GlicA basal associada a eventos cardiovasculares HR: 1,17 <i>p</i> <0,0001 A mortalidade por todas as causas foi associada à glicemia basal HR: 1,46 <i>p</i> <0,0001

Women's Health Study (2014) Akinkuolie et al.	n= 27.491 mulheres saudáveis	Concentrações basais de GlycA associadas à DCV incidente	GlycA HR através dos 1º -4º quartis 1,00, 1,10, 1,34 e 1,64 respectivamente, p<0,0001 GlycA mediana 369umol/L
GlycA, a Pro-Inflammatory Glycoprotein Biomarker, and Incident Cardiovascular Disease: Relationship with C-Reactive Protein and Renal Function (2015) Gruppen et al.	n=759 sem história de câncer ou DCV	Participantes com maior GlycA têm maior risco incidente de DCV	Risco de DCV no quartil mais alto de GlycA = 1,58 p= 0,004

Tabela 4: Outros Estudos GlycA e RCV – Não-longitudinais

Estudo	Desenho	População	Desfecho	Resultados
JUPITER study (2016) <i>Akinkuolie et al.</i>	Estudo duplo-cego controlado por placebo	n= 12527 com LDL e PCR-us baixos <2 mg/L	Maior GlycA está associada a maior risco de DCV, independentemente dos fatores de risco tradicionais	Níveis basais de GlycA associados com aumento do risco de DCV : HR 1,20 <i>p = 0,0006</i>
CATHGEN (2017) <i>McGarrah et al.</i>	Estudo observacional retrospectivo	n =7617 indivíduos submetidos a cateterismo cardíaco	Maior GlycA associada à presença e extensão de DAC e à mortalidade cardiovascular Subclasses de GlycA e HDL com efeitos opostos sobre o risco de mortalidade	GlycA associada à presença de DAC : OR 1,07 GlycA associada à extensão da DAC : OR 1,08 p<,0001 GlycA associada à mortalidade cardiovascular : 1,37 p<0,0001

DCV: doença cardiovascular; **MACE**: eventos maiores cardiovasculares; **HR**: hazard ratio; **IC**: Insuficiência cardíaca; **LDL-c**: lipoproteína de baixa densidade; **PCR-us**: Proteína-C ultrasensível; **DAC**: doença arterial coronariana; **OR**: odds-ratio.; **HDL**: lipoproteína de alta densidade

Além disso, foi observado que os níveis de GlycA estão aumentados em diferentes doenças inflamatórias crônicas, principalmente doenças autoimunes, como Artrite Reumatoide

(AR), Lupus Eritematoso Sistêmico (LES) e Psoríase, estando associado tanto à atividade da doença e como presença de doença coronariana clínica ou subclínica (Tabela 5).

Tabela 5: Estudos com avaliação de GlycA em Doenças Inflamatórias Crônicas

Estudo (ano)	Desenho do Estudo	População	Resultados
<i>Ormseth et al. (2015)</i>	Estudo transversal	n = 166 pacientes com AR com 18+anos	A GlycA pode ser útil na avaliação da atividade da doença da AR GlicA na AR associada a aterosclerose das artérias coronárias
<i>Bartlett et al. (2016)</i>	Estudo transversal	n=50 pacientes com AR sem DCV	GlycA associada a marcadores inflamatórios tradicionais e fontes cardiometabólicas tanto na AR quanto nos controles. As associações maiores para marcadores inflamatórios tradicionais na AR e fatores cardiometabólicos do que naqueles sem AR
<i>Fuertes-Martín et al. (2020)</i>	Estudo transversal	n = 210 (AR) x 203 controles	Tanto o GlycA quanto o GlycB associados à inflamação em pacientes com alta atividade da doença AR (398 X 339)
<i>Chung et al. (2016)</i>	Estudo longitudinal	n= 116 (LES)	GlycA > em pacientes com LES (401 X 348) GlicA associada a marcadores de inflamação
<i>Durcan et al. (2016)</i>	Estudo transversal	n= 52 (LES)	GlycA maior no LES do que nos controles (401 X 348) e associada à atividade da doença no LES
<i>GlycA Is a Novel Biomarker of Inflammation and Subclinical Cardiovascular Disease in Psoriasis (2016)</i> <i>Joshi et al.</i>	2 Estudos transversais	Coorte PENN n = 231 com psoríase e controles Coorte do NIH n = 181 com psoríase e controles	GlycA mais fortemente associada que a PCR-us com gravidade da doença e DCV subclínica na psoríase Tratamento na psoríase associado à redução das concentrações de GlycA <i>Ambos os ensaios PENN e NIH mostraram aumento nos níveis de GlycA com Psoríase</i> GlycA médio: 412,3 µmol/L x GlicA de controle médio: 317,8 µmol/L

AR: Artrite Reumatóide; **LES:** Lupus Eritematoso Sistêmico; **DCV:** doença cardiovascular; **NIH:** National Institutes of Health

Dessa maneira, GlycA é único em sua natureza composta, refletindo tanto o aumento da complexidade do glicano quanto os níveis circulantes de proteína de fase aguda durante a

inflamação local e sistêmica. Estudos recentes de GlycA de estudos transversais, observacionais e intervencionais têm sido altamente informativos, demonstrando que o GlycA está elevado na inflamação aguda e crônica, prediz a morte em indivíduos saudáveis e está associado à gravidade da doença em pacientes com doenças inflamatórias crônicas, como artrite reumatóide , psoríase e lúpus. oferecendo vantagem em relação aos marcadores existentes de inflamação sistêmica.

2. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO:

Avaliar a associação entre níveis de GlycA e função tireoidiana em pacientes com hipotireoidismo não-diagnosticado e em tratamento com levotiroxina, assim como sua relação com a adequação do tratamento.

3.2- OBJETIVOS SECUNDÁRIOS:

- Correlacionar diferentes níveis de TSH e T4L com níveis de GlycA.
- Avaliar se a presença do Anti-TPO influencia na relação entre hipotireoidismo e GlycA
- Avaliar níveis de GlycA, em pacientes em uso levotiroxina, em relação aos níveis de TSH (acima ou abaixo dos valores de referência)

DESENHO DE ESTUDO:

Realizamos uma análise transversal dos dados basais obtidos no estudo ELSA-Brasil. Este é um estudo de coorte prospectivo realizado em seis diferentes cidades brasileiras, que visa determinar a incidência de doenças cardiovasculares e diabetes e fatores de risco associados. Fatores de risco cardiovascular clássicos e não clássicos foram avaliados, incluindo a função tireoidiana. A coorte inscreveu 15.105 funcionários públicos ativos e aposentados com idades entre 35 e 74 anos entre 2008 e 2010. Dados clínicos e sociodemográficos foram coletados entre agosto de 2008 e dezembro de 2010.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO:

Adultos de ambos os sexos, entre 35-74 anos com dosagem de TSH, T4 livre, e GlycA.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO:

- Uso de drogas anti-tireoidiana (metimazol ou propiltiuracil)
- Uso de drogas que classicamente interferem na função tireoidiana (lítio, amiodarona, interferon, carbamazepina, carbidopa, fenitoina, furosemida, haloperidol, heparina, metoclopramida, propranolol, primidona, rifampicina e ácido valproico)
- Hipertireoidismo, clínico ou subclínico, detectado no estudo seccional, definido por TSH abaixo do valor de referência.

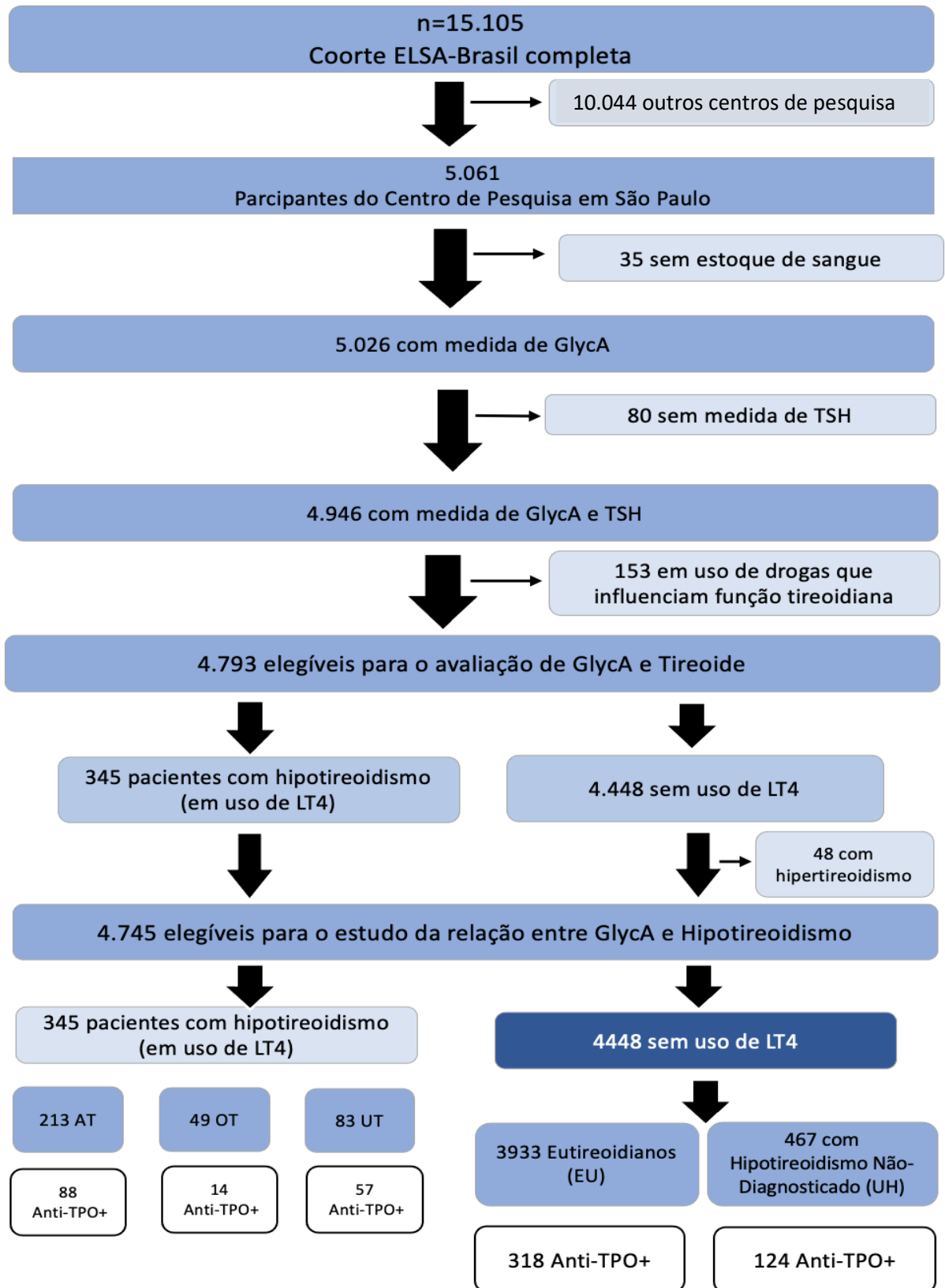


Figura 3- Fluxograma dos participantes do Estudo

TSH: Thyroid Stimulating Hormone; LT4: levotiroxina; AT: adequadamente tratados; OT: super-tratados; UT: subtratados, Anti-TPO: anticorpo anti-tireoperoxidase; EU: eutireoidiano; UH: hipotireoidismo não-diagnosticado

MÉTODOS DE AVALIAÇÃO

1. STATUS TIREOIDEANO:

Dosagens dos níveis de hormônio tireoideano foram realizadas para todos os participantes do estudo. Os níveis de hormônio estimulante da tireoide (TSH) e tiroxina livre (T4L) foram medidos usando um ensaio imunoenzimático *Elecsys* de terceira geração (*Roche Diagnostics*) em soro obtido de amostras de sangue venoso centrifugadas obtidas após jejum noturno. Os valores de referência (VR) foram 0,4-4,0 mUI/L para TSH e 0,8-1,9 ng/dL para T4L.

O hipotireoidismo foi definido por TSH sérico elevado, e posteriormente classificado como hipotireoidismo manifesto quando o T4L estava abaixo do limite inferior da normalidade ou hipotireoidismo subclínico quando esses níveis estavam no dentro dos valores de referência. O hipotireoidismo não diagnosticado (UH) foi definido como TSH sérico elevado sem reposição de LT4.

A adequação do tratamento do hipotireoidismo com levotiroxina foi definida com base nos níveis de TSH:

- **HIPOTIREOIDISMO ADEQUADAMENTE TRATADO:** TSH dentro dos VR (0,4-4,0 mUI/L)
- **HIPOTIREOIDISMO SUBTRATADO (UT):** TSH acima do VR (> 4,0 mUI/L)
- **HIPOTIREOIDISMO SUPER-TRATADO (OT):** TSH abaixo do VR (<0,4mUI/L)
- **HIPOTIREOIDISMO INADEQUADAMENTE TRATADO (IT):** UT+OT

Os níveis de anticorpos tiroperoxidase (anti-TPO) também foram medidos por eletroquimioluminescência (*Roche Diagnostics Mannheim, Alemanha*) e foram considerados positivos quando ≥ 34 UI/ml.

2. NÍVEIS DE GLYCA:

Os níveis de GlycA representam a quantificação das glicoproteínas de fase aguda pelo sinal de ressonância magnética de seus prótons do grupo N-acetilmetila nas frações Nacetilglucosamina (GlcNAc) localizadas nos ramos bi-, tri- ou tetra-antênários²¹⁻²³. Seu sinal é deconvoluído de lipoproteínas sobrepostas (predominantemente triglicerídeos em lipoproteínas de densidade muito baixa) e sua amplitude convertida em micromoles por litro (mmol /L) pela *LipoScience* (agora LabCorp, Raleigh, NC, EUA). Os coeficientes de variação

intra-ensaio e interensaio de GlycA são, respectivamente, 1,9% e 2,6%, e a variabilidade biológica é baixa (coeficiente de variação 4,3%^{21,22}).

Não há um valor de referência estabelecido para a GlycA, por se tratar de um novo biomarcador, sendo geralmente analisado em quartis ou quintis. No entanto, alguns estudos sugerem que níveis de GlycA > 400 µmol/L deveriam ser utilizados como elevados, principalmente em doenças inflamatórias crônicas.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis contínuas foram expressas como mediana (intervalo interquartil [IQ]) e as variáveis categóricas foram expressas como porcentagens. Inicialmente, foi realizada uma análise exploratória dos fatores associados aos níveis anormais de GlycA (> 400 µmol/L).

Tabela 6: Comparações da distribuição das variáveis potencialmente associadas aos níveis de GlycA acima de 400 µmol/L* na amostra estudada

	GlycA > 400 µmol/L		
	Não (n=2080)	Sim (n=2665)	p-valor**
Idade (anos)	50 (14)	51 (12)	0,120
IMC (kg/m ²)	25,5 (5.4)	27,7 (6.4)	<0,01
Sexo feminino	48,1%	58,5%	<0,01
TSH			
0.4-4.0mUI/mL	44.3%	55.7%	0,086
< 0.4mUI/mL	41.6%	58.4%	
> 4.0mUI/mL	30.6%	69.4%	
T4L (ng/dL)	1,2 (0.2)	1,18 (0.2)	0,086
Prevalência de DAC	2.4%	2.6%	0,369
Prevalência de AVC	1,2%	1,2%	0,504
Tabagismo	12,7%	18,8%	<0,01
Diabetes	12,5%	21,5%	<0,01
HAS	25,2%	39,3%	<0,01
Anti-TPO+	13,4%	12,1%	0,198
Tireoidectomia prévia	0,5%	0,7%	0,400
Carcinoma de tireoide	0,4%	0,5%	0,559

* Esse ponto de corte tem sido sugerido como relacionado a estados inflamatórios sistêmicos crônicos³⁰ **Mann-Whitney para variáveis contínuas e Qui-quadrado ou Exato de Fischer para variáveis categóricas. As variáveis contínuas foram expressas como mediana [intervalo interquartil [RI]] e as variáveis categóricas como porcentagens.

TSH: Thyroid Stimulating Hormone; **T4L:** tetraiodotironina livre; **DAC:** doença arterial coronariana; **AVC:** acidente vascular cerebral; **Anti-TPO:** anticorpo anti-tireoperoxidase

Para comparar variáveis contínuas entre dois grupos, usamos o teste U de *Mann-Whitney* e para comparar variáveis dicotômicas aplicamos o teste do Qui-quadrado ou Exato de *Fisher*. As correlações entre duas variáveis contínuas foram realizadas pelo índice de correlação de Spearman, quando necessário.

Os principais grupos de exposição de interesse neste estudo foram inicialmente aqueles com hipotireoidismo não-diagnosticado (UH) e os participantes eutireoidianos (EU). Além disso, avaliamos aqueles tratados em de forma excessiva, insuficiente ou adequada com levotiroxina (LT4). Uma análise de subgrupo de dados de pacientes com anticorpos anti-TPO circulantes também foi realizada.

Exploramos variáveis contínuas entre três ou mais grupos por *Kruskal-Wallis* e posteriormente, em uma análise post-hoc, exploramos variáveis contínuas entre eles, utilizando o teste de *Dunn* para comparações múltiplas. No caso de variáveis categóricas, entre esses grupos, foi utilizado o teste Qui-quadrado ajustado, considerando-se significativo o valor de $p < 0,017$ (três grupos) ou $< 0,0125$ (quatro grupos), com o intuito de controlar o erro alfa.

A regressão binária logística foi aplicada para explorar associações entre variáveis e um nível elevado de GlycA ($> 400 \mu\text{mol/L}$). O grupo de exposição central foi baseado no status tireoidiano, considerando o grupo eutireoidiano como referência para análise. Usamos um modelo de regressão logística “*forward stepwise*” adicionando ao modelo variáveis de confundimento relacionadas aos níveis de GlycA e ao status tireoidiano, a serem selecionadas para a equação. As variáveis listadas foram: idade, sexo, diabetes, hipertensão arterial, tabagismo, índice de massa corporal (IMC), sedentarismo, presença de anti-TPO positivo e passado de tireoidectomia para tratamento de câncer de tireoide. A tabela 7 apresenta os critérios de definição da presença ou ausência de cada variável avaliada.

Tabela 7: Definição das variáveis de exposição estudadas

Sedentarismo	Menos 150 min/sem de atividade física moderada (A atividade física no lazer foi avaliada pelo Questionário Internacional de Atividade Física-IPAQ)
Tabagismo	Tabagismo atual no momento da avaliação
Diabetes	Diagnóstico médico autorreferido de diabetes, uso de medicamentos para tratamento do diabetes, glicemia de jejum $\geq 7,0\text{mmol/L}$, glicemia de 2 horas $\geq 11,1\text{mmol/L}$ ou HbA1c $\geq 6,5\%$
IMC	Exame físico: Peso/Altura^2

HAS	A hipertensão foi identificada pela pressão arterial sistólica ≥ 140 mmHg ou pressão arterial diastólica ≥ 90 mmHg (ambas medidas no centro de pesquisa), ou uso referido de medicação para tratamento da hipertensão
Prevalência de DAC	Diagnóstico médico autorreferido
Passado de AVC	Diagnóstico médico autorreferido
Artrite Reumatoide	Diagnóstico médico autorreferido
Lupus Eritematoso Sistêmico	Diagnóstico médico autorreferido
Tireoidectomia prévia	Diagnóstico médico autorreferido, cicatriz cervical e laudo clínico, Diagnóstico histopatológico, prontuário
Carcinoma de tireoide	Diagnóstico médico autorreferido, Diagnóstico histopatológico, Prontuários

HAS: Hipertensão arterial sistêmica; **AVC:** Acidente vascular cerebral; **IMC:** Índice de Massa Corporal; **HbA1c:** hemoglobina glicada

Uma análise multivariada foi realizada para explorar os fatores associados aos níveis de GlycA, como uma variável contínua, usando um Modelo Linear Generalizado (MLG). As mesmas variáveis foram usadas neste modelo como no modelo de regressão logística binária (descrito acima). No entanto, em vez do status tireoidiano, conforme categorizado anteriormente, avaliamos os níveis séricos de T4L (como uma variável contínua) e adicionamos as categorias de TSH sérico ao modelo. A categoria com TSH sérico no VR foi considerada como grupo de referência. Essa análise foi realizada em todo o grupo e posteriormente estratificada pelo uso de LT4.

Finalmente, os níveis séricos de GlycA obtidos na população estudada foram divididos em quartis de mesmo tamanho para avaliar sua distribuição de acordo com os grupos estudados.

Um valor de $p < 0,05$ foi considerado significativo e aqueles $> \text{ou} = 0,05$ mas $< 0,10$ foram considerados nominalmente significativos. Os softwares SPSS (Versão 21.0 para Windows; IBM Corp., Armonk, NY, EUA) e GraphPad Prism (Versão 7) foram utilizados para as análises estatísticas.

3. ARTIGO

GlycA as a novel biomarker of systemic inflammation in hypothyroidism

Authors: Sarah Galvao, MD¹, Isabela M Bensenor, PhD², Michael J Blaha, DPH³, Steve Jones, MD³, Peter P Toth, MD, PhD^{3,4}, Raul D Santos, PhD^{5,6}, Marcio Bittencourt, PhD⁷, Paulo A Lotufo, MD, PhD², Patrícia de Fátima dos Santos Teixeira, PhD^{1*}

Affiliations:

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Medicina, Rio de Janeiro, Brazil;

² Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, Center for Clinical and Epidemiological Research, São Paulo, Brazil;

³ Johns Hopkins University, Ciccarone Center for the Prevention of Heart Disease, Baltimore, MD, USA;

⁴ CGH Medical Center, Department of Preventive Cardiology, Sterling, IL, USA;

⁵ University of São Paulo, Lipid Clinic Heart Institute (InCor), São Paulo, Brazil;

⁶ Hospital das Clínicas HCFMUSP, São Paulo, SP, Brazil;

⁷ Heart and Vascular Institute, University of Pittsburgh Medical Center, Pittsburgh, Pennsylvania, USA.

***Corresponding author:**

Patrícia de Fátima dos Santos Teixeira

Endocrinology Post-graduate Program - Medicine School- Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

Adress: R. Prof. Rodolpho Paulo Rocco, 255 - Cidade Universitária da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro

Zipcode: 21941-617 E-mail: pfatima@hucff.ufrj.br

INTRODUCTION:

Both hypo- and hyperthyroidism are associated with increased cardiovascular risk^{1,2}. This elevated risk may be related not only to traditional cardiovascular risk factors, such as metabolic syndrome, but also to non-classic risk factors that are associated with low-grade inflammation and endothelial dysfunction^{1,2}.

Excessive thyroid hormone action augments both cardiac chrono and inotropism, enhances the risk of arrhythmias, leads to diastolic hypertension, impaired vascular function, and increased carotid intima hyperplasia^{1,2}. All these conditions may impact risk for premature cardiac mortality^{1,2}. Conversely, a reduction in thyroid hormone action is associated with impairment of peripheral vascular resistance and reduction of cardiac chrono and inotropism^{1,2}. In addition, dyslipidemia and metabolic syndrome are well known consequences of hypothyroidism^{1,2}. There is compelling evidence linking overt and subclinical hypothyroidism to increased cardiovascular risk, including changes in blood pressure, endothelial function and cholesterol levels^{3,4}. All these conditions may result in higher CV event risk^{3,4}.

Abnormal levels of thyroid hormones may be induced by under- or over-treatment of hypothyroidism with levothyroxine, which may also impact cardiovascular risk and mortality⁵⁻⁷. It has been reported that patients taking levothyroxine replacement with TSH above or below the reference range may have an increased risk of mortality⁸, especially when TSH is under the reference range⁵⁻¹⁰. Both exogenous hypo- and hyperthyroidism have been associated with a higher risk of atrial fibrillation and stroke¹¹. Moreover, it has been reported that approximately 40% of patients on levothyroxine replacement are inadequately treated in Brazil¹² and worldwide¹³.

The main cause of hypothyroidism is autoimmune thyroiditis.¹⁴ Thyroid dysfunction and autoimmunity may be associated with low grade inflammation, which may potentiate increased cardiovascular risk. Studies have reported higher levels of traditional inflammatory markers in patients with hypothyroidism and hyperthyroidism¹⁵⁻¹⁶. Chronic heightened systemic inflammation potentiates endothelial dysfunction and accelerated atherogenesis, resulting in

subclinical cardiovascular disease, which can progress to ischemic heart disease and mortality. Some traditional inflammatory markers are increased during this process, such as high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP), Interleukin-6 (IL-6), homocysteine, and fibrinogen¹⁷. All of them were also elevated in other situations, exhibiting low specificity and high intra-individual variability¹⁶⁻²⁰. There is ongoing research in discovering new and reliable markers of inflammation, to enable more accurate risk stratification of patients at increased cardiovascular risk.

GlycA is a glycoprotein biomarker that may be measured by nuclear magnetic resonance spectroscopy that reflects systemic inflammation by quantifying acute-phase reactant and multiple glycosylated proteins²¹⁻²⁴. GlycA is a more reliable inflammatory biomarker because of its lower intra-individual variability and greater analytic precision, as compared to other inflammatory markers²¹⁻²⁶. GlycA has been correlated with indolent inflammation in patients with cardiometabolic risk factors such as obesity, insulin resistance and metabolic syndrome²⁵⁻²⁷.

Prospective cohort studies have shown that GlycA concentration is associated with both prevalent and incident cardiovascular events, independent of traditional risk factors²⁸⁻³⁴. Higher GlycA levels have also been reported to be associated with all-cause and non-cardiovascular mortality, even after adjusting for traditional risk factors³¹. GlycA is also associated with chronic inflammatory diseases, such as autoimmune diseases (systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and psoriasis) and is useful as a biomarker of both systemic disease activity and cardiovascular risk²⁸⁻³⁴.

Variations in levels of GlycA in patients with thyroid dysfunction and in those receiving levothyroxine replacement to treat hypothyroidism, are unknown. We also hypothesized that patients with hypothyroidism, especially when caused by autoimmune thyroid disease, have higher levels of GlycA. We also hypothesized that the adequacy of hypothyroidism treatment is related to lower levels of GlycA. The main objective of this study was to evaluate the levels of GlycA in individuals with hypothyroidism, and to determine if those receiving levothyroxine (LT4)

replacement therapy had different levels of this biomarker, with attention to the adequacy of treatment (as determined by TSH levels).

MATERIAL AND METHODS

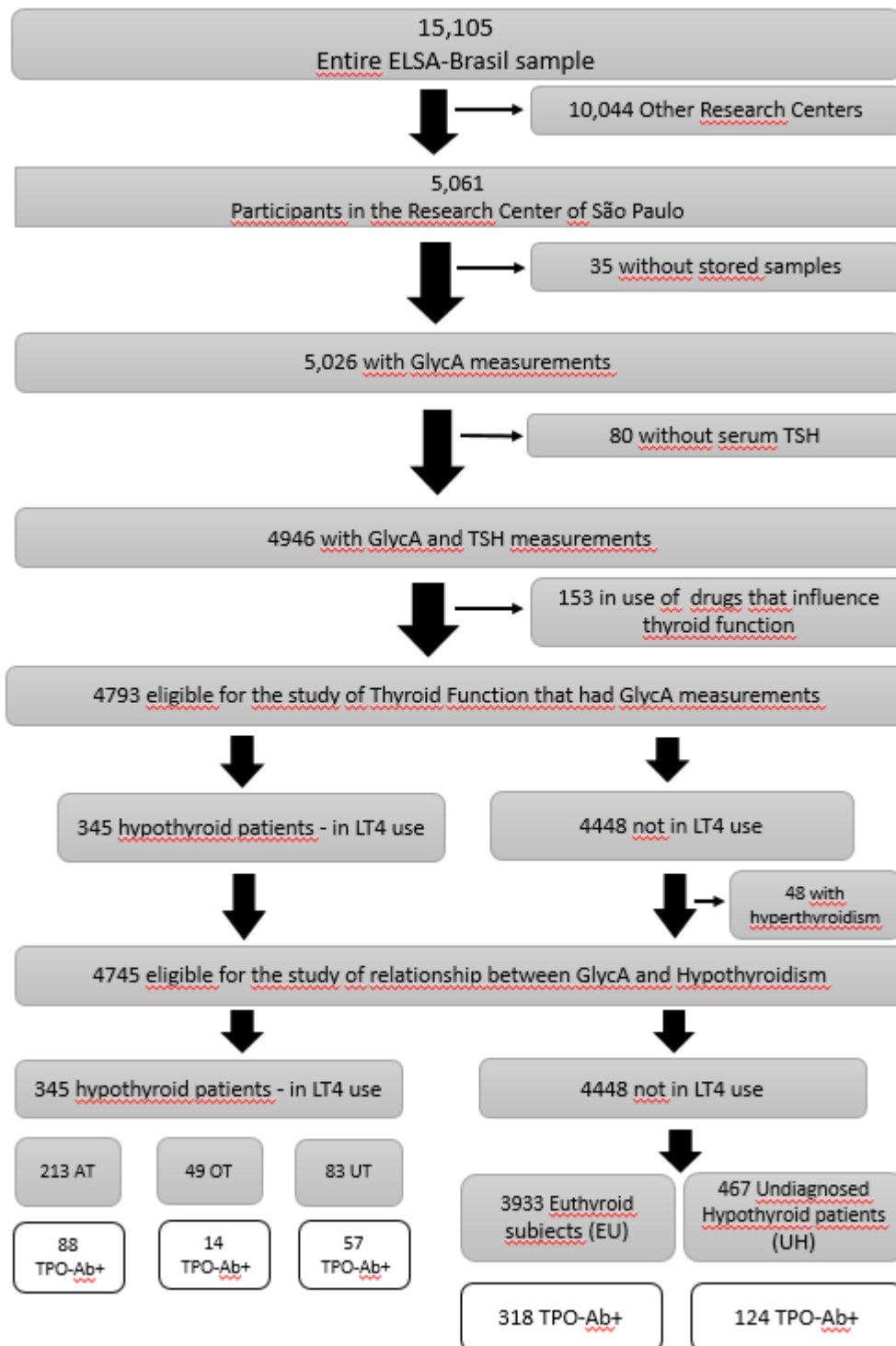
Study Design:

We performed a cross-sectional analysis of baseline data obtained at the ELSA-Brasil study. This is a prospective cohort study conducted in six different Brazilian cities, which aims to determine the incidence of cardiovascular disease and diabetes, and associated risk factors. Classical and non-classical cardiovascular risk factors are evaluated, including thyroid function. The cohort enrolled 15,105 active and retired civil servant employees aged 35 and 74 years between 2008 to 2010. The study design and cohort profile have been published³⁵. Clinical and sociodemographic data were collected between August 2008 and December 2010.

This research was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by the National Review Committee (CAAE:94726218.9.0000.0076). The institutional ethics committee of each enrolled institution approved the study protocol and written consent was obtained from all participants.

For the present analysis, only participants that had GlycA measurements, that were those from São Paulo, were considered for evaluation (n=4793). Figure 1 summarizes the cohort and study selection criteria. After excluding those with endogenous hyperthyroidism (n= 48), a total of 4745 participants were evaluated, including 3933 euthyroid, 467 with undiagnosed hypothyroidism and 345 with treated hypothyroidism (receiving levothyroxine therapy).

Figure 1- Flowchart of the participants in the study



TSH: Thyrotropin; LT4: levothyroxine; AT Adequately treated; OT: Over-treated; UT: under-treated; EU: euthyroid subjects; UH: Undiagnosed Hypothyroid patients; TPO-Ab+: circulating Thyroperoxidase antibodies.

Thyroid Status

Baseline measurements of thyroid hormone levels were performed for all participants in the study. The levels of thyroid-stimulating hormone (TSH) and free thyroxine (FT4) were measured using a third-generation immunoenzymatic Elecsys assay (Roche Diagnostics) in serum obtained from centrifuged venous blood samples obtained after an overnight fast. The reference ranges (RR) were 0.4-4.0 mIU/L for TSH and 0.8-1.9 ng/dL for FT4.

Hypothyroidism was defined by high serum TSH, and further classified as overt hypothyroidism when serum FT4 was below the lower limit of its RR or subclinical hypothyroidism when these levels were in the RR¹⁴. Undiagnosed hypothyroidism was defined as elevated serum TSH without LT4 replacement.

The adequacy of levothyroxine replacement was defined based on TSH levels. Patients with serum TSH in the normal range were considered adequately treated. Patients with TSH levels under 0.4 mIU/L were considered over-treated (OT), and those with TSH above 4.0 mIU/L, under-treated (UT). Both (UT + OT) were considered inadequately treated (IT).

The levels of thyroperoxidase antibodies (TPO-Ab) were also measured using electrochemiluminescence (Roche Diagnostic Mannheim, Germany) and were considered positive when ≥ 34 IU/ml.

GlycA

GlycA was measured by NMR spectrometry in plasma of the 5026 Sao Paulo participants. GlycA quantifies acute-phase reactants and a variety of glycoproteins using the magnetic resonance (NMR) signal of their N-acetyl methyl group protons on N-acetylglucosamine (GlcNAc) moieties located on their bi-, tri-, or tetra-antennary branches (LabCorp, Raleigh, NC, USA). The intra- and inter-assay coefficients of variation of GlycA were 1.9% and 2.6%, respectively, and biological variability was low (coefficient of variation 4.3%³⁶).

³⁸). There is absence of an established reference value for serum GlycA, since it is a new biomarker. However, GlycA levels > 400 $\mu\text{mol/L}$ has been considered abnormal as this cut-off point is associated with chronic systemic inflammatory states³⁴.

Statistical Analyses

Continuous variables were expressed as median (interquartile range [IR]), and categorical variables were expressed as percentages. Initially, an exploratory analysis of the factors associated with abnormal GlycA levels (> 400 $\mu\text{mol/L}$) was performed (supplementary table 1). To compare continuous variables between two groups, we used the Mann-Whitney U test and to compare dichotomous variables we applied the Chi-square or Exact Fisher Test. Correlations between two continuous variables was performed by Spearman's correlation index, when necessary. The main exposure groups of interest in this study were initially those with undiagnosed hypothyroidism (UH) and those euthyroid participants (EU). Additionally, we evaluated those over-, under-, or adequately treated with levothyroxine (LT4). A subgroup analysis of data from patients with circulating thyroperoxidase antibodies was also performed.

We explored continuous variables among three or more groups by Kruskal-Wallis and thereafter, in a post-hoc analysis, we explored continuous variables between them, using the Dunn test for multiple comparisons³⁹. In the case of categorical variables, among these groups, we used the adjusted Chi-square test, considering the p value <0.017 (three groups) or <0.0125 (four groups) as significant, intending to control the alpha error.

Logistic binary regression was applied to explore associates between variables and an elevated GlycA (> 400 $\mu\text{mol/L}$) level. The central exposure group was based on the thyroid status, considering the euthyroid group as the reference for analysis. We used a forward stepwise logistic regression model adding to the model variables related to GlycA levels and to the thyroid status, to be selected for the equation. The listed variables were: age, sex, diabetes, high blood pressure, smoking habits, body mass index (BMI), sedentary lifestyle, presence of

circulating TPO-Ab, and previous thyroid surgery for thyroid cancer. The supplementary table 2 shows the definitions criteria for the presence or absence of each assessed variable.

A Multivariable analysis was performed to explore for factors associated with GlycA levels, as a continuous variable, using a Generalized Linear Model (GLM). The same variables were used in this model as in the logistic binary regression model (described above). However, instead of thyroid status, as previously categorized, we evaluated the serum levels of FT4 (as a continuous variable) and added the categories of serum TSH to the model. The category with serum TSH in the RR was considered as the reference group. This analysis was performed in the whole group and thereafter stratified by LT4 use.

Finally, the serum GlycA levels obtained in the studied population were divided into quartiles of the same size to assess their distribution according to the studied groups.

A p value <0.05 was considered significant and those ≥ 0.05 but <0.10 were considered nominally significant. The SPSS software (Version 21.0 for Windows; IBM Corp., Armonk, NY, USA) and the GraphPad Prism (Version 7) were used for the statistical analyses.

RESULTS

The prevalence of undiagnosed hypothyroidism (UH) in the study population was 9.8% ($n=467/4745$), with the majority (87.7%, $n=410/467$) classified as having subclinical hypothyroidism. In addition, 26.6% of patients with abnormal serum TSH had circulating TPO-Ab in serum ($n=124/467$). The clinical and demographic characteristics of the euthyroid participants in comparison to the hypothyroid patients are shown in Table 1.

Table 1- Characteristics of all included participants, and a subgroup analysis of those with circulating TPO-Ab, showing comparisons between groups according to the presence of hypothyroidism and its treatment.

	WHOLE GROUP (n=4745)				ONLY TPO-Ab+ (n=601)			
	Euthyroidism [EU] (n=3933)	Hypothyroidism			Euthyroidism [EU] (n=318)	Hypothyroidism		
		Undiagnosed [UH] (n=467)	Adequately treated [AT] (n=213)	Inadequately treated [IT] (n= 132)		Undiagnosed [UH] (n=124)	Adequately treated [AT] (n=88)	Inadequately treated [IT] (n= 71)
Age (years)	50 (13)	52 (13) ^{a,b}	55 (13) ^a	54 (12) ^{a,c}	50.5 (13)	51 (11)	52.5 (12)	54(13) ^a
Female	51.6%	52.7%	82.2% ^a	84.1% ^{a,c}	64.5%	66.9%	73.9%	78.9% ^a
BMI (kg/m ²)	26.6 (5.9)	27.4 (5.9) ^a	26.7 (6.3)	27.1 (7.7)	26.3 (5.5)	27.4 (5.5) ^a	26.8 (6.4)	27.4 (8.2) ^a
DM	17.4%	15.8%	21.1%	22.7%	16.7%	10.5%	18.2%	21.1%
HBP	31.1%	33.2%	33.3%	33.8%	23%	33.9% ^a	31.8%	33.8%
Prevalence of coronary heart disease	2.3%	3.0%	2.8%	3.8%	1.9%	1.6%	2.3%	4.2%
Current Smoking	17.3%	9.6% ^a	11.3%	12.1%	17.6%	14.5%	14.8%	12.7%
Past history of Stroke	1.2%	1.1%	0.5%	0.8%	1.6%	1.6%	0.0%	1.4%
TSH (mUI/L)	1.88 (1.2)	5.1 (1.8) ^{a,b}	1.95 (1.68)	4.9 (6.9) ^{a,b,c}	2.19 (1.38)	6.01 (4.28) ^{a,b}	2.0 (1.96)	5.76 (3.83) ^{a,b}
Sedentary lifestyle	77%	80% ^b	72.3%	78.1%	78.8%	86.7% ^b	72.3%	79.1%
Rheumatoid arthritis	1.2%	0.6%	1.5%	1.9%	1.6%	0.8%	2.8%	0.0%
Systemic Lupus Erythematosus	0.2%	0.4%	0.0%	0.0%	0.6%	0.0%	0.0%	0.0%
FT4 (ng/dL)	1.19 (0.21)	1.1 (0.4) ^{a,b}	1.37 (0.56) ^a	1.29 (0.45) ^{a,c}	1.18 (0.25)	1.02 (0.22) ^a	1.4 (0.26) ^a	1.19 (0.36) ^{c,b}
GlycA (μmol/L)	410 (86)	413 (89)	405 (86)	429 (82) ^{a,b,c}	402.5 (85)	424 (85) ^a	390 (80) ^a	423 (79) ^{a,b}
GlycA > 400 μmol/L	56.0%	56.7%	52.1%	68.2% ^{a,b,c}	50.9%	61.3% ^a	42%	67.6% ^{a,b}
Highest quartile of GlycA	24.6%	26.3%	22.5%	33.3% ^a	22.3%	29%	18.2%	32.4%
TPO-Ab+	8.1%	26.6% ^{a,b}	41.3% ^a	53.8% ^{a,c}	NE	NE	NE	NE
Previous Thyroidectomy	0%	0%	6.6% ^a	9.8% ^a	0%	0%	1.1%	0%
Thyroid carcinoma	0%	0%	4.2% ^a	9.8% ^a	0%	0%	0%	0%

Results are expressed as median (interquartile range) or frequencies.

p value significant (<0.05) according to Dunn test for multiple comparisons or adjusted Chi-square test: ^a comparing to EU; ^b comparing to AT; ^c comparing inadequately treated with UH

DM: Diabetes mellitus; HBP: High Blood Pressure; BMI: Body Mass Index; TSH: Thyrotropin; FT4: Free Thyroxine; HBP: High Blood Pressure; TPO-Ab+: Circulating anti Thyroperoxidase antibodies; NE: not evaluated.

The median GlycA level in the entire group was 410 μmol/L and the prevalence of GlycA levels above 400 μmol/L was 56% (n=2665/4745). GlycA levels was positively associated (Supplementary Table 1) and correlated with hsCRP ($r_s=0.610$; $p<0.01$). Higher levels of GlycA were found in inadequately treated (IT) hypothyroid patients in comparison to euthyroid patients (EU), but not in those with undiagnosed hypothyroidism (UH), (Table 1). However, a subgroup analysis of those with circulating TPO-Ab demonstrated that not only inadequately treated (IT)

but also those with undiagnosed hypothyroidism (UH) had higher levels of GlycA in comparison to euthyroid patients (423 and 424 vs 402 $\mu\text{mol/L}$), as shown in Table 1. In summary, irrespective to being untreated or IT, hypothyroid patients with circulating TPO-Ab had higher levels of the studied biomarker in comparison to euthyroid individuals. Furthermore, both groups of patients (UH and IT) had higher frequencies of GlycA > 400 $\mu\text{mol/L}$ in comparison to EU (61.3%, n=76/124 and 67.6%, n=48/71 vs 50.9%, n=162/318) and tended to have higher frequencies of GlycA in the highest quartile. This association between higher levels of GlycA and inadequately treated hypothyroidism was maintained in a multivariable analysis (odds ratio [OR] 1.53, 95% confidence interval [CI] 1.03, 2.31) as demonstrated in table 2. Additionally, independent variables that were positively and independently associated with abnormal levels of Glyc A included: BMI, female sex, smoking habits, sedentary lifestyle, diabetes, high blood pressure, and inadequacy of hypothyroidism treatment (Table 2).

Table 2: Binary logistic regression exploring variables associated with abnormal GlycA levels^a.

	OR (CI)	p-value
BMI	1.12 (1.10, 1.14)	<0.01
Smoking habits	1.90 (1.60, 2.26)	<0.01
DM	1.39 (1.16, 2.23)	<0.01
HBP	1.33 (1.13, 1.50)	<0.01
Female sex	1.69 (1.49, 1.92)	<0.01
Sedentary lifestyle	1.44 (1.24, 1.67)	<0.01
TPO-Ab+	0.82 (0.67, 0.99)	0.042
Inadequately treated Hypothyroidism	1.53 (1.03, 2.31)	0.040
Adequately treated Hypothyroidism	0.76 (0.56, 1.03)	0.080
Undiagnosed Hypothyroidism	1.04 (0.83, 1.29)	0.724

Variables included in the model (equation according to forward stepwise): Age, BMI, Female sex, Diabetes, High Blood Pressure, smoking habits, TPO-Ab, thyroidectomy by thyroid cancer diagnosis and Thyroid status

DM: Diabetes mellitus; HBP: High Blood Pressure; BMI: Body Mass Index; TSH: Thyrotropin; FT4: Free Thyroxine; HBP: High Blood Pressure; TPO-Ab+: Circulating anti-thyroperoxidase antibodies

Reference group in the thyroid status: Euthyroid subjects;

OR: odds ratio

^a > 400 $\mu\text{mol/L}$

There was a positive independent association between serum levels of GlycA and FT4 (OR 10.75, 95% CI 0.74, 20.75) in the whole group of participants, when performing the GLM (Table 3). A significant association between abnormal serum TSH and GlycA was observed only occurred in individuals taking LT4 replacement (Table 3). It was detected that both under and over-treatment, as demonstrated respectively by low and high serum TSH, which were positively associated with circulating levels of GlycA (Table 3).

Table 3: Generalized linear model showing variables associated with GlycA levels in the whole group and in the group of participants under LT4 replacement.

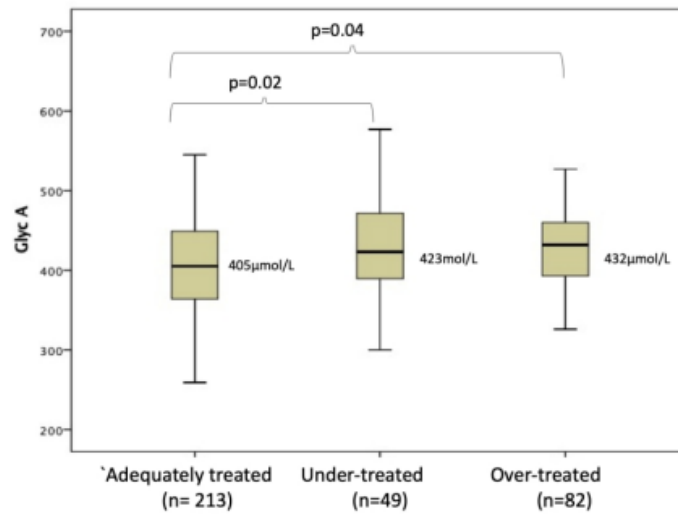
Variables independently related to GlycA levels	Whole group (n=4775)		Patients treated with LT4 (n=375)	
	B (CI)	p-value	B (CI)	p-value
BMI	3.65 (3.88, 4.61)	<0.001	4.66 (3.24, 6.08)	<0.01
Smoking	20.14 (29.8, 102.57)	<0.001	12.24 (-7.03, 31.51)	0.213
Age	-0.29 (-0.08, 7.39)	<0.01	0.43 (-0.31, 1.17)	0.255
Female	18.11 (14.47, 21.73)	<0.001	35.35 (18.53, 52.18)	<0.01
TPO-Ab+	-11.25 (-0.26, 4.20)	0.050	-13.9 (-27.2, -0.64)	0.040
Thyroid surgery, Thyroid cancer	-7.54 (-35.01, 19.98)	0.591	-14.18 (-41.25, 12.88)	0.305
Diabetes	16.52 (11.59, 21.45)	<0.01	16.62 (3.48, 35.67)	0.017
HBP	14.05 (9.94, 18.15)	<0.01	12.47 (-1.8, 26.77)	0.087
Sedentary lifestyle	13.89 (9.66, 18.15)	<0.01	7.48 (-7.14, 22.11)	0.316
FT4	10.75 (0.74, 20.75)	0.035	16.05 (-10.30, 42.41)	0.233
High TSH	4.22 (-1.53, 10.2)	0.153	17.16 (1.01, 33.32)	0.037
Low TSH	13.18 (-5.7, 32.13)	0.173	22.47 (2.36, 42.58)	0.029

Variables included in the model: Age, BMI, Female sex, Diabetes, High Blood Pressure, smoking habits, TPO-Ab, thyroidectomy by thyroid cancer diagnosis; FT4 and serum TSH (High:>4.0mIU, L; Low: < 0.4 mIU, L)

DM: Diabetes mellitus; HBP: High Blood Pressure; BMI: Body Mass Index; TSH: Thyrotropin; FT4: Free Thyroxine; HBP: High Blood Pressure; TPO-Ab+: Circulating anti Thyroperoxidase antibodies

Of the 345 participants taking levothyroxine, 24.1% (n=83/345) were undertreated (UT) and 14.2% (n=49/345) were overtreated (OT). The median GlycA level in the entire group of patients with hypothyroidism on levothyroxine replacement was 419 $\mu\text{mol/L}$ (interquartile range [IR] = 84 $\mu\text{mol/L}$), and the prevalence of GlycA above 400 $\mu\text{mol/L}$ was 58% (n=201/345).

Lower median levels of GlycA were detected in patients with serum TSH at the target levels, compared to those under- or over-treated, as shown in Figure 2 and Table 4.

Figure 2- Boxplot showing values of GlycA according to adequacy of hypothyroidism treatment**Table 4-** Characteristics of all patients under LT4 replacement and comparisons between groups, according to adequacy of hypothyroidism treatment

	Whole group (n=345)	Adequately treated (n=213)	Under-treated (n=83)	Over-treated (n= 49)
Age (Years)	55 (13)	55 (13)	54 (14)	54 (13)
Woman (%)	82.9%	82.2%	79.5%	91.8%
Overweight/Obesity	67.8%	67.1%	74.7%	59.2%
Smoking	11.6%	11.3%	10.8%	14.3%
Prevalence of coronary disease	3.2%	2.8%	4.8%	2.0%
Prevalence of stroke	0.6%	0.5%	1.2%	0%
TSH	2.28 (3.0)	1.95 (1.7)	6.14 (3.9)^a	0.1 (0.22)^a
FT4	1.36 (0.3)	1.37 (0.3)	1.17 (0.3)^a	1.67 (0.4)^a
GlycA (µmol/L)	419 (84)	405 (86)	423 (85)^b	432 (75)^c
GlycA > 400 µmol/L (%)	58%	52%	67%^d	69.5%^e
TPO-Ab+	46%	41.3%	69.5%^f	28.6%
Highest Quartile of Glyc A	26.1%	22.1%	32.5%	32.7%
Previous Thyroidectomy	7.8%	6.6%	1.2%	24.5%^g
Thyroid carcinoma	6.4%	4.2%	1.2%	24.5%^g

Results are expressed as median (interquartile range) or frequencies

^a p<0.001 comparing AT vs UT and also comparing AT vs OT; ^bp=0.02 comparing AT vs UT; ^c p=0.04 comparing AT vs OT; ^dp=0.02 comparing AT vs UT; ^e p=0.03 comparing AT vs OT; ^f p<0.01 only comparing adequately treated with under treated; ^gp<0.01 comparing adequately treated with over treated

Results are expressed as median (interquartile range) or frequencies.

Considering levels of GlycA > 400 $\mu\text{mol/L}$ as abnormal³⁸ and comparing those under- or over-treated with the reference group, it was found that those adequately treated had a lower frequency of abnormal GlycA (52%, 111/213) than those over- (69.5%, 34/49) or under-treated (67%, 56/83) (Table 4).

In examining the levels of GlycA according to quartiles, we found that patients adequately treated with levothyroxine had a higher prevalence (30.5%, 65/213) of GlycA in the first quartile than patients inadequately treated, despite being over- or under-treated (16.8%, 22/132; $p < 0.01$). In contrast, they also had a lower prevalence of GlycA in the highest quartile (20.7%, 27/132 compared to 30.5%, 65/213 [$p = 0.038$]).

DISCUSSION:

To the best of our knowledge, this is the first study to evaluate GlycA levels in thyroid disease. Our major finding was that those poorly-controlled hypothyroid patients, irrespective of being over- or under-treated, had higher levels of GlycA and a higher frequency of abnormal GlycA levels than the euthyroid participants or adequately levothyroxine-treated hypothyroid patients. These findings reinforce the risks of inadequacy of hypothyroidism treatment, since it has been reported that a higher mortality may be related both to under or over-treatment⁵⁻¹¹. Furthermore, the findings were confirmed on examination of data according to GlycA quartiles.

The prevalence of undiagnosed hypothyroidism observed in the present study is in accordance with that previously reported^{12,13}. Furthermore, as expected, the majority of patients with UH had slight elevations of serum TSH and did not fulfill criteria for subclinical hypothyroidism treatment, since the median serum TSH was below 7.0 mIU/mL and less than 30% had circulating TPO-Ab. This may explain why those untreated patients, with an elevated TSH, did not have higher levels of serum GlycA in comparison to euthyroid participants, except in the presence of circulating TPO-Ab. The present results suggest that low-grade inflammation

may be more frequent in individuals with hypothyroidism requiring treatment or when treatment does not lead to normalization of thyroid indices.

In considering individuals in this study who were taking LT4 replacement, the frequency of inadequacy of treatment was closer to that previously reported in a large study with more than 25.000 participants¹³, and in another study conducted in Brazil¹². This reinforces the necessity of implementing strategies to improve treatment of hypothyroid patients³⁶. It is well documented that poorly-controlled hypothyroidism is associated with negative health outcomes such as cardiovascular events, depression and lower health-related quality of life (HRQoL)^{14, 40-43}. However, inadequate LT4 replacement occurs worldwide, with > 30-40% of patients exhibiting TSH levels outside the normal range in some studies^{12,13,44-47}. Notably, in the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), the prevalence rate for serum TSH outside the reference range was 23% of among the 536 participants with treated hypothyroidism⁴⁸.

It is important to acknowledge that the median levels of GlycA in the whole study group was above 400 $\mu\text{mol/L}$, suggesting that the present study population may have a baseline higher risk for low grade inflammation due to the presence of confounders. The study sample was composed of participants with a mean BMI compatible with overweight, with a high prevalence of smoking habits and high blood pressure. Previously, GlycA levels have been related to cardiovascular risk factors, which may explain these results²⁸⁻³¹.

Data from the present cohort (ELSA-Brasil) previously showed that GlycA was positively associated with coronary artery calcium (CAC) score⁴⁹. Higher quartiles of GlycA were associated with higher CAC scores in individuals without metabolic syndrome, allowing those individuals with apparently low cardiovascular risk to be reclassified as having a higher cardiovascular risk⁴⁹.

GlycA also appears to be useful as a new cardiovascular risk marker in patients with autoimmune diseases where traditional risk factors and risk scores may not accurately capture cardiovascular risk. In patients with autoimmunity, it has been proposed as a biomarker of both

systemic disease activity and cardiometabolic risk^{34,38}. In the present study, it was not related to the presence of TPO-Ab or to the diagnosis of other autoimmune diseases, such as Rheumatoid Arthritis or Systemic Lupus Erythematosus. It is important to note the low prevalence of these rheumatologic diseases in the studied population and, as previously highlighted, the inherent high risk for cardiovascular diseases present in the studied group.

In this study, we did not find a high prevalence of TPO-Ab among hypothyroid patients. However, the absence of anti-thyroglobulin antibody (Tg-Ab) measurement was a limitation. Previously, it was reported that the prevalence of TPO-Ab and Tg-Ab was equally important for a diagnosis of Hashimoto's thyroiditis in our population⁵⁰. If we had measured Tg-Ab levels and performed a thyroid ultrasound, we may have found more evidence of thyroiditis. It is also possible that some individuals may have been treated with levothyroxine for slight TSH elevation, without evidence of associated thyroiditis. We did not have access to the LT4 amount intake of each patient to estimate a possible excessive, or insufficient, dose prescription and neither to the reasons for LT4 initiation, what might impair the adequate definition of the etiology of the hypothyroidism. We could ascertain the etiology of the hypothyroidism among patients receiving levothyroxine treatment in only 51% of cases (43.2% were TPO-Ab+ and 7.8% had history of thyroid surgery). Moreover, the present study demonstrates that the association between GlycA levels and adequacy of treatment is independent of the etiology of hypothyroidism. Neither the presence of TPO-Ab, or the past history of thyroid cancer, significantly altered the strength of this association.

In this study, we observed that, the presence of circulating TPO-Ab was associated with higher GlycA levels only when thyroid dysfunction was present. An unexpected negative association between TPO-Ab and GlycA levels was found in the entire group of patients with positive TBO-Ab. Reduced inflammatory markers and metabolic parameters in autoimmune thyroiditis have previously been reported by some authors,⁵¹⁻⁵³ without a strong mechanistic explanation for this finding. The cross-sectional design of this study is a limitation that should be noted. However, it has been proposed that higher levels of interferon gamma and estradiol

levels may contribute to reduced inflammation in patients with metabolic dysfunction associated fatty liver disease⁵².

We have found that although the prevalence of thyroid cancer was higher in over-treated patients, and in the multivariable analysis, overtreated patients continued to have higher GlycA levels regardless of the presence of thyroid cancer. Thus, it seems that the increase in GlycA is related to greater TSH suppression and not to the presence of cancer itself. Despite this, we have to point out an additional limitation of the study that is the absence of the determination of the response to cancer treatment of the patients and the absence of data about detailed histological characteristic of the tumors. However, it is well known that most thyroid cancers are well differentiated tumors with a good prognosis, and that it is recommended to avoid overtreatment⁵⁴. The major limitation of the present study was the small number of patients treated with levothyroxine in the cohort. In addition, the cross-sectional analysis did not permit confirmation of a cause and effect relationship between GlycA and hypothyroidism treatment adequacy.

The strengths of the study are related to the robust method of analysis of this new marker, the rigid inclusion and exclusion criteria, and strict quality control in the data collection.

CONCLUSIONS

In this study, we observed that patients receiving inadequate treatment for hypothyroidism, both over- and under-treated, have higher levels of GlycA, which may be associated with greater cardiovascular risk. These findings support the need for more meticulous monitoring of thyroid hormone therapy in patients with hypothyroidism to maintain TSH levels within the normal range to potentially mitigate an increase in cardiovascular risk. We also found that patients with untreated hypothyroidism only had higher levels of GlycA in the presence of circulating TPO-Ab. It suggests that not all individuals with slight elevations in serum

TSH may present a significant thyroid disease potentially related to a risk for low-grade inflammation.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank the ELSA-Brasil participants, staff, and collaborators.

Part of data of this manuscript has been published and was presented at Latin American Thyroid Congress in 2021 as an oral presentation by the name of “GlycA levels as a marker of systemic inflammation in hypothyroid patients under inadequate levothyroxine replacement”⁵⁵.

AUTHORS CONTRIBUTION:

Sarah Galvão: Conception and design of the work (support), analysis and interpretation of data (lead), and manuscript writing (lead).

Isabela Martins Bensenor: funding (lead), data collection (lead), conception and design of the study (lead), interpretation of data, and revision of the manuscript (support).

Michael Joseph Blaha: GlycA analyses (equal), interpretation of data (equal), editing and revising the manuscript (equal).

Steven Jones: GlycA analysis (equal), interpretation of data (equal), editing, and revision of the manuscript (equal).

Peter Paul Toth: GlycA analyses (equal), interpretation of data (equal), editing and revision of the manuscript (equal).

Raul Dias Santos: Conception and design of the study (supporting), GlycA analyses (equal), interpretation, and revision of the manuscript (equal).

Márcio Bittencourt: conception and design of the work (supporting), GlycA analyses (equal), and interpretation and revision of the manuscript (equal).

Paulo Andrade Lotufo: funding (lead), data collection (lead), revision and interpretation of the data, and revision of the manuscript (equal).

Patrícia de Fátima dos Santos Teixeira: conception and design of the study (support), analysis and interpretation of data (lead), manuscript writing, and revision (lead).

AUTHOR DISCLOSURE STATEMENT:

Sarah Galvão: No conflicts to disclose regarding this manuscript

Isabela Martins Bensenor: No conflicts to disclose regarding this manuscript

Michael Joseph Blaha: No conflicts to disclose regarding this manuscript

Steven Jones: No conflicts to disclose regarding this manuscript

Peter Paul Toth: No conflicts to disclose regarding this manuscript

Raul Dias Santos: No conflicts to disclose regarding this manuscript

Márcio Bittencourt: No conflicts to disclose regarding this manuscript

Paulo Andrade Lotufo: No conflicts to disclose regarding this manuscript

Patrícia de Fátima dos Santos Teixeira: No conflicts to disclose regarding this manuscript

FUNDING INFORMATION

Sarah Galvão: No funding information to declare

Isabela Martins Bensenor: Participated in the group responsible for obtaining the ELSA-Brazil baseline study and 4-year follow-up. This study was supported by the Brazilian Ministry of Health (Science and Technology Department) and the Brazilian Ministry of Science and Technology (Financiadora de Estudos e Projetos and CNPq National Research Council) (grants of baseline : 01 06 0010.00 RS, 01 06 0212.00 BA, 01 06 0300.00 ES, 01 06 0278.00 MG, 01 06 0115.00 SP, 01 06 0071.00 RJ; grants of 4-year follow-up 01 10 0643-03 RS, 01 10 0742-00 BA, 01 12 0284-00 ES, 01 10 0746-00 MG, 01 10 0773-00 SP, 01 11 0093-01 RJ), and by the FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (2015/17213-2). Additionally, she is recipient of a scholarship from the National Research Council (CNPq).

Michael Joseph Blaha: No funding information to declare

Steven Jones: No funding information to declare

Peter Paul Toth: No funding information to declare

Raul Dias Santos: No funding information to declare

Márcio Bittencourt: No funding information to declare

Paulo Andrade Lotufo: Participated in the group responsible for obtaining the ELSA-Brazil baseline study and 4-year follow-up. This study was supported by the Brazilian Ministry of Health (Science and Technology Department) and the Brazilian Ministry of Science and Technology (Financiadora de Estudos e Projetos and CNPq National Research Council) (grants of baseline : 01 06 0010.00 RS, 01 06 0212.00 BA, 01 06 0300.00 ES, 01 06 0278.00 MG, 01 06 0115.00 SP, 01 06 0071.00 RJ; grants of 4-year follow-up 01 10 0643-03 RS, 01 10 0742-00 BA, 01 12 0284-00 ES, 01 10 0746-00 MG, 01 10 0773-00 SP, 01 11 0093-01 RJ), and by the FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (2015/17213-2). Additionally, he is recipient of a scholarship from the National Research Council (CNPq).

Patrícia de Fátima dos Santos Teixeira: Scholarship of National Research Council (CNPq).

FIGURE TITLES

Figure 1- Flowchart of the participants in the study

Figure 2- Boxplot showing values of GlycA according to adequacy of hypothyroidism treatment

TABLES TITLES

Table 1: Characteristics of all included participants, and a subgroup analysis of those with circulating TPO-Ab, showing comparisons between groups according to the presence of hypothyroidism and its treatment

Table 2: Binary logistic regression exploring variables associated with abnormal GlycA levels.

Table 3: Generalized linear model showing variables associated with GlycA levels in the whole group and in the group of participants under LT4 replacement.

Table 4- Characteristics of all patients under LT4 replacement and comparisons between groups, according to adequacy of hypothyroidism treatment

Supplementary Table 1 – Comparisons of the distribution of variables potentially associated with levels of GlycA above 400 $\mu\text{mol/L}^*$ in the study sample

Supplementary Table 2- Definition criteria for the presence of each assessed variable in the participants of the study.

REFERENCES

1. Razvi S, Jabbar A, Pingitore A, et al. Thyroid Hormones and Cardiovascular Function and Diseases. *J Am Coll Cardiol* 2018; 71(16):1781–1796; doi: 10.1016/j.jacc.2018.02.045.
2. Cappola AR, Desai AS, Medici M, et al. Thyroid and Cardiovascular Disease: Research Agenda for Enhancing Knowledge, Prevention, and Treatment. *Thyroid* 2019;29(6):760–777; doi: 10.1089/thy.2018.0416.
3. Duntas LH, Brenta G. A Renewed Focus on the Association Between Thyroid Hormones and Lipid Metabolism. *Front Endocrinol* 2018;9:511; doi: 10.3389/fendo.2018.00511.
4. Rodondi N, Den Elzen WPJ, Bauer DC, et al. Subclinical Hypothyroidism and the Risk of Coronary Heart Disease and Mortality. *JAMA* 2010;304(12):1365; doi: 10.1001/jama.2010.1361.
5. Lillevang-Johansen M, Abrahamsen B, Jørgensen HL, et al. Over- and Under-Treatment of Hypothyroidism Is Associated with Excess Mortality: A Register-Based Cohort Study. *Thyroid* 2018;28(5):566–574; doi: 10.1089/thy.2017.0517
6. Evron JM, Hummel SL, Reyes-Gastelum D, et al. Association of Thyroid Hormone Treatment Intensity With Cardiovascular Mortality Among US Veterans. *JAMA Netw Open* 2022;5(5):e2211863; doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.11863.
7. Sohn SY, Seo GH, Chung JH. Risk of All-Cause Mortality in Levothyroxine-Treated Hypothyroid Patients: A Nationwide Korean Cohort Study. *Front Endocrinol* 2021;12:680647; doi: 10.3389/fendo.2021.680647.
8. Thayakaran R, Adderley NJ, Sainsbury C, et al. Thyroid replacement therapy, thyroid stimulating hormone concentrations, and long term health outcomes in patients with hypothyroidism: longitudinal study. *BMJ*. 2019;366:l4892. doi:10.1136/bmj.l4892
9. Flynn RW, Bonellie SR, Jung RT, et al. Serum Thyroid-Stimulating Hormone Concentration and Morbidity from Cardiovascular Disease and Fractures in Patients on Long-Term Thyroxine Therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(1):186–193; doi: 10.1210/jc.2009-1625.
10. Links TP, Van Der Boom T, Zandee WT, et al. Cardiovascular effects of overt and subclinical hyperthyroidism: focus on differentiated thyroid cancer. *Endocr Connect* 2021;10(1):R43–R51; doi: 10.1530/EC-20-0539.
11. Papaleontiou M, Levine DA, Reyes-Gastelum D, et al. Thyroid Hormone Therapy and Incident Stroke. *J Clin Endocrinol Metab* 2021;106(10):e3890–e3900; doi: 10.1210/clinem/dgab444.
12. Vigário P dos S, Vaisman F, Coeli CM, et al. Inadequate levothyroxine replacement

- for primary hypothyroidism is associated with poor health-related quality of life—a Brazilian multicentre study. *Endocrine* 2013;44(2):434–440; doi: 10.1007/s12020-013-9886-1.
13. Canaris GJ, Manowitz NR, Mayor G, et al. The Colorado Thyroid Disease Prevalence Study. *Arch Intern Med* 2000;160(4):526; doi: 10.1001/archinte.160.4.526.
 14. Jonklaas J, Bianco AC, Bauer AJ, et al. Guidelines for the Treatment of Hypothyroidism: Prepared by the American Thyroid Association Task Force on Thyroid Hormone Replacement. *Thyroid* 2014;24(12):1670–1751; doi: 10.1089/thy.2014.0028.
 15. Christ-Crain M, Meier C, Guglielmetti M, 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(2):379–386; doi: 10.1016/S0021-9150(02)00372-6.
 16. Kvetny J, Heldgaard PE, Bladbjerg EM, 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* 2004;61(2):232–238; doi: 10.1111/j.1365-2265.2004.02088.x.
 17. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105(9):1135-1143. doi:10.1161/hc0902.104353
 18. Tuzcu A, Bahceci M, Gokalp D, et al. Subclinical Hypothyroidism may be Associated with Elevated High-sensitive C-Reactive Protein (Low Grade Inflammation) and Fasting Hyperinsulinemia. *Endocr J* 2005;52(1):89–94; doi: 10.1507/endocrj.52.89.
 19. Dörr M, Robinson DM, Wallaschofski H, et al. Low Serum Thyrotropin Is Associated with High Plasma Fibrinogen. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(2):530–534; doi: 10.1210/jc.2005-1786.
 20. De Goma EM, French B, Dunbar RL, et al. Intraindividual variability of C-reactive protein: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2012;224(1):274–279; doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.07.017.
 21. Otvos JD, Shalaurova I, Wolak-Dinsmore J, et al. GlycA: A Composite Nuclear Magnetic Resonance Biomarker of Systemic Inflammation. *Clin Chem* 2015; 61(5):714–723; doi: 10.1373/clinchem.2014.232918.
 22. Connelly MA, Otvos JD, Shalaurova I, et al. GlycA, a novel biomarker of systemic inflammation and cardiovascular disease risk. *J Transl Med* 2017;15(1):219; doi: 10.1186/s12967-017-1321-6.
 23. Connelly MA, Gruppen EG, Otvos JD, et al. Inflammatory glycoproteins in cardiometabolic disorders, autoimmune diseases and cancer. *Clin Chim Acta* 2016;459:177–186; doi: 10.1016/j.cca.2016.06.012.

24. Fuertes-Martín, Correig, Vallvé, et al. Title: Human Serum/Plasma Glycoprotein Analysis by ¹H-NMR, an Emerging Method of Inflammatory Assessment. *J Clin Med* 2020;9(2):354; doi: 10.3390/jcm9020354.
25. Joshi AA, Lerman JB, Aberra TM, et al. GlycA Is a Novel Biomarker of Inflammation and Subclinical Cardiovascular Disease in Psoriasis. *Circ Res* 2016;119(11):1242–1253; doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.309637.
26. Connelly MA, Gruppen EG, Otvos JD, et al. Inflammatory glycoproteins in cardiometabolic disorders, autoimmune diseases and cancer. *Clin Chim Acta* 2016;459:177–186; doi: 10.1016/j.cca.2016.06.012.
27. Lorenzo C, Festa A, Hanley AJ, et al. Novel Protein Glycan–Derived Markers of Systemic Inflammation and C-Reactive Protein in Relation to Glycemia, Insulin Resistance, and Insulin Secretion. *Diabetes Care* 2017;40(3):375–382; doi: 10.2337/dc16-1569.
28. Ezeigwe A, Fashanu OE, Zhao D, et al. The novel inflammatory marker GlycA and the prevalence and progression of valvular and thoracic aortic calcification: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2019; 282:91–99; doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.01.011.
29. Gruppen EG, Riphagen IJ, Connelly MA, et al. GlycA, a Pro-Inflammatory Glycoprotein Biomarker, and Incident Cardiovascular Disease: Relationship with C-Reactive Protein and Renal Function. *PLoS ONE* 2015; 10(9):e0139057; doi: 10.1371/journal.pone.0139057.
30. Akinkuolie AO, Buring JE, Ridker PM, et al. A Novel Protein Glycan Biomarker and Future Cardiovascular Disease Events. *J Am Heart Assoc* 2014; 3(5):e001221; doi: 10.1161/JAHA.114.001221.
31. Duprez DA, Otvos J, Sanchez OA, et al. Comparison of the Predictive Value of GlycA and Other Biomarkers of Inflammation for Total Death, Incident Cardiovascular Events, Noncardiovascular and Noncancer Inflammatory-Related Events, and Total Cancer Events. *Clin Chem* 2016;62(7):1020–1031; doi:10.1373/clinchem.2016.255828.
32. Ormseth MJ, Chung CP, Oeser AM, et al. Utility of a novel inflammatory marker, GlycA, for assessment of rheumatoid arthritis disease activity and coronary atherosclerosis. *Arthritis Res Ther* 2015;17(1):117; doi: 10.1186/s13075-015-0646-x.
33. Dierckx T, Chiche L, Daniel L, et al. Serum GlycA Level Is Elevated in Active Systemic Lupus Erythematosus and Correlates to Disease Activity and Lupus Nephritis Severity. *JCM* 2020;9(4):970; doi: 10.3390/jcm9040970.
34. Bartlett DB, Connelly MA, Abou Assi H, et al. A novel inflammatory biomarker, GlycA,

- associates with disease activity in rheumatoid arthritis and cardio-metabolic risk in BMI-matched controls. *Arthritis Res Ther* 2016;18(1):86; doi: 10.1186/s13075-016-0982-5.
35. Lotufo PA. Construção do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil). *Rev Saude Publica* 2013;47(suppl 2):3–9; doi: 10.1590/S0034-8910.2013047S20002.
 36. Otvos JD, Shalaurava I, Wolak-Dinsmore J, et al. GlycA: A Composite Nuclear Magnetic Resonance Biomarker of Systemic Inflammation. *Clin Chem* 2015;61(5):714–723; doi: 10.1373/clinchem.2014.232918.
 37. Ala-Korpela M. Serum Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: One More Step toward Clinical Utility. *Clin Chem* 2015;61(5):681–683; doi: 10.1373/clinchem.2015.238279.
 38. Mehta NN, Dey AK, Maddineni R, et al. GlycA measured by NMR spectroscopy is associated with disease activity and cardiovascular disease risk in chronic inflammatory diseases. *Am J Prev Cardiol* 2020;4:100-120; doi: 10.1016/j.ajpc.2020.100120.
 39. Dunn OJ. Multiple Comparisons using rank sums. *Technometrics* 1964; 6 (3):241-52.
 40. Samuels MH, Schuff KG, Carlson NE, et al. Health Status, Psychological Symptoms, Mood, and Cognition in L-Thyroxine-Treated Hypothyroid Subjects. *Thyroid* 2007;17(3):249–258; doi: 10.1089/thy.2006.0252.
 41. Cappola AR, Ladenson PW. Hypothyroidism and Atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(6):2438–2444; doi: 10.1210/jc.2003-030398.
 42. Clausen P, Mersebach H, Nielsen B, et al. Hypothyroidism is associated with signs of endothelial dysfunction despite 1-year replacement therapy with levothyroxine. *Clin Endocrinol* 2009;70(6):932–937; doi: 10.1111/j.1365-2265.2008.03410.x.
 43. Okosieme OE, Belludi G, Spittle K, et al. Adequacy of thyroid hormone replacement in a general population. *QJM* 2011;104(5):395–401; doi: 10.1093/qjmed/hcq222.
 44. Yavuz DG, Yazıcı D, Keskin L, et al. Out-of-Reference Range Thyroid-Stimulating Hormone Levels in Levothyroxine-Treated Primary Hypothyroid Patients: A Multicenter Observational Study. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8:215. doi:10.3389/fendo.2017.00215
 45. Bianco AC, Bao Y, Antunez Flores O, et al. Levothyroxine Treatment Adequacy and Formulation Changes in Patients with Hypothyroidism: A Retrospective Study of Real-World Data from the United States [published online ahead of print.]. *Thyroid*. 2023;10.1089/thy.2022.0382. doi:10.1089/thy.2022.0382

46. Nielsen JL, Karmisholt J, Pedersen IB, et al. Prevalence and predictors of adequate treatment of overt hypothyroidism - a population-based study. *EXCLI J*. 2022;21:104-116. doi:10.17179/excli2021-4291
47. Somwaru LL, Arnold AM, Joshi N, et al. High Frequency of and Factors Associated with Thyroid Hormone Over-Replacement and Under-Replacement in Men and Women Aged 65 and Over. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(4):1342–1345; doi: 10.1210/jc.2008-1696.
48. Ettleson MD, Bianco AC, Zhu M, et al. Sociodemographic Disparities in the Treatment of Hypothyroidism: NHANES 2007-2012. *J Endocr Soc*. 2021;5(7):bvab041. doi:10.1210/jendso/bvab041
49. Harada PH, Benseñor IM, Bittencourt MS, et al. Composite acute phase glycoproteins with coronary artery calcification depends on metabolic syndrome presence – The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *J Cardiol* 2019;73(5):408–415; doi: 10.1016/j.jjcc.2018.09.006.
50. Saraiva DA, Morais NAOES, Martins Corcino C, et al. Iodine status of pregnant women from a coastal Brazilian state after the reduction in recommended iodine concentration in table salt according to governmental requirements. *Nutrition* 2018; 53:109–114; doi: 10.1016/j.nut.2018.02.001.
51. Wells BJ, Hueston WJ. Are thyroid peroxidase antibodies associated with cardiovascular disease risk in patients with subclinical hypothyroidism?. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005;62(5):580-584. doi:10.1111/j.1365-2265.2005.02262.x
52. Zhang X, Li R, Chen Y, et al. The Role of Thyroid Hormones and Autoantibodies in Metabolic Dysfunction Associated Fatty Liver Disease: TgAb May Be a Potential Protective Factor. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:598836. doi:10.3389/fendo.2020.598836
53. Raposo L, Martins S, Ferreira D, et al. Metabolic Syndrome, Thyroid Function and Autoimmunity - The PORMETS Study. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2019;19(1):75-83. doi:10.2174/1871530318666180801125258
54. Ward LS, Scheffel RS, Hoff AO, et al. Treatment strategies for low-risk papillary thyroid carcinoma: a position statement from the Thyroid Department of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM). *Arch Endocrinol Metab* 2022;66(4):522–532; doi: 10.20945/2359-3997000000512.
55. Galvao SG, Bensenor IJM, Teixeira, PFS. GlycA levels as a marker of systemic inflammation in hypothyroid patients under inadequate levothyroxine replacement. *Archives of endocrinology and metabolism Official journal of SBEM* 2021; 65 (Supplement 3): S4.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo longitudinal de saúde do adulto ELSA-Brasil é uma investigação multicêntrica de coorte composta por 15 mil funcionários de seis instituições públicas de ensino superior e pesquisa das regiões nordeste, sul e sudeste do Brasil.

Por ser o primeiro grande estudo de coorte sobre saúde de adultos no País, o ELSA-Brasil tem imenso potencial de geração de conhecimentos científicos sobre o desenvolvimento e a progressão de doenças crônicas não transmissíveis cuja importância é crescente pelo envelhecimento populacional. A partir dele é possível realizar diversas análises possibilitando diferentes estudos e dados inovadores sobre a população brasileira.

Embora já se saiba que o tratamento inadequado do hipotireoidismo, principalmente com reposição excessiva de levotiroxina está associado a maior mortalidade, o supertratamento é frequente em todo o mundo. Além disso, muitas vezes o tratamento é iniciado em pacientes sem doença tireoidiana propriamente dita, apenas por elevação discreta de TSH. Isso pode levar a efeitos deletérios, como já demonstrado na literatura, e mostrado no presente estudo, que pacientes com anti-TPO negativo e elevação de TSH tinham níveis de GlycA semelhantes aos pacientes eutireoidianos. Isso pode indicar que, nesses pacientes, o tratamento com levotiroxina pode não ser necessário, podendo possivelmente, pelo contrário, acarretar em aumento do risco cardiovascular. Por outro lado, pacientes com anti-TPO positivo e elevação de TSH exibiam níveis mais elevados de GlycA, o que pode justificar o tratamento desse subgrupo.

Até onde sabemos, este é o primeiro estudo a avaliar os níveis de GlycA em doenças da tireoide. O principal achado foi que os pacientes com hipotireoidismo inadequadamente tratados, independentemente de estarem sendo super ou sub-tratados, apresentavam níveis mais altos de GlycA do que os participantes eutireoidianos ou com hipotireoidismo adequadamente tratados com levotiroxina. Esses achados sugerem a presença de um estado de inflamação de baixo-grau em pacientes com hipotireoidismo inadequadamente tratados e não diagnosticados, reforçando a necessidade de diagnosticar os pacientes com hipotireoidismo, principalmente naqueles com anti-TPO positivo, e, ao iniciar o tratamento, manter o paciente com níveis de TSH dentro da normalidade.

Em conjunto, esses achados sugerem que a inflamação de baixo grau pode ser mais frequente em indivíduos com hipotireoidismo que requerem tratamento ou quando o tratamento não leva à normalização dos hormônios tireoidianos, reforçando a necessidade de implementação de estratégias para melhorar o tratamento de pacientes com hipotireoidismo.

A principal limitação do presente estudo foi o pequeno número de pacientes tratados com levotiroxina na coorte. Além disso, a análise transversal não permitiu confirmar uma relação de causa e efeito entre GlycA e a adequação do tratamento do hipotireoidismo.

Os pontos fortes do estudo estão relacionados a melhor precisão analítica desse novo biomarcador, aos rígidos critérios de inclusão e exclusão e ao rígido controle de qualidade na coleta de dados.

5. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como o GlycA se trata de um novo biomarcador que vem se consolidando como uma ferramenta fidedigna para detecção de inflamação de baixo grau e risco cardiovascular, seria interessante avaliar sua evolução com uma análise longitudinal do tratamento do hipotireoidismo.

Já foram coletados dados na 3ª onda da coorte ELSA-Brasil em relação a GlycA e função tireoidiana. Seria interessante avaliar como se comportaram os níveis de GlycA com as flutuações de TSH.

Tão interessante quanto a análise da evolução dos níveis de GlycA seria avaliar como se comportaram outros marcadores de doença cardiovascular subclínica, como escore de cálcio, gordura epicárdica, espessura miointimal de carótida e dados de composição corporal por bioimpedância entre os pacientes tratados de acordo com a adequação do tratamento. Esperamos correlacionar esses dados para um melhor entendimento do risco cardiovascular em pacientes com hipotireoidismo não-tratado ou inadequadamente tratados.

6. CONCLUSÕES

- Níveis de GlycA mais elevados se associaram a hipotireoidismo não diagnosticado apenas quando havia positividade do Anti-TPO.
- Foram encontrados níveis de GlycA mais elevados em pacientes inadequadamente tratados com levotiroxina, tanto em excesso como em falta.
- Houve correlação positiva de níveis de GlycA tanto com TSH elevado como TSH baixo após análise multivariada (MLG) em pacientes em uso de levotiroxina.
- Houve uma tendência de correlação positiva entre níveis mais altos de T4L e GlycA na população geral.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Razvi S, Jabbar A, Pingitore A, et al. Thyroid Hormones and Cardiovascular Function and Diseases. *J Am Coll Cardiol* 2018; 71(16):1781–1796; doi: 10.1016/j.jacc.2018.02.045.
2. Cappola AR, Desai AS, Medici M, et al. Thyroid and Cardiovascular Disease: Research Agenda for Enhancing Knowledge, Prevention, and Treatment. *Thyroid* 2019;29(6):760–777; doi: 10.1089/thy.2018.0416.
3. Duntas LH, Brenta G. A Renewed Focus on the Association Between Thyroid Hormones and Lipid Metabolism. *Front Endocrinol* 2018;9:511; doi: 10.3389/fendo.2018.00511.
4. Rodondi N, Den Elzen WPJ, Bauer DC, et al. Subclinical Hypothyroidism and the Risk of Coronary Heart Disease and Mortality. *JAMA* 2010;304(12):1365; doi: 10.1001/jama.2010.1361.
5. Lillevang-Johansen M, Abrahamsen B, Jørgensen HL, et al. Over- and Under-Treatment of Hypothyroidism Is Associated with Excess Mortality: A Register-Based Cohort Study. *Thyroid* 2018;28(5):566–574; doi: 10.1089/thy.2017.0517
6. Evron JM, Hummel SL, Reyes-Gastelum D, et al. Association of Thyroid Hormone Treatment Intensity With Cardiovascular Mortality Among US Veterans. *JAMA Netw Open* 2022;5(5):e2211863; doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.11863.
7. Sohn SY, Seo GH, Chung JH. Risk of All-Cause Mortality in Levothyroxine-Treated Hypothyroid Patients: A Nationwide Korean Cohort Study. *Front Endocrinol* 2021;12:680647; doi: 10.3389/fendo.2021.680647.
8. Thayakaran R, Adderley NJ, Sainsbury C, et al. Thyroid replacement therapy, thyroid stimulating hormone concentrations, and long term health outcomes in patients with hypothyroidism: longitudinal study. *BMJ*. 2019;366:l4892. doi:10.1136/bmj.l4892
9. Flynn RW, Bonellie SR, Jung RT, et al. Serum Thyroid-Stimulating Hormone Concentration and Morbidity from Cardiovascular Disease and Fractures in Patients on Long-Term Thyroxine Therapy. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(1):186–193; doi: 10.1210/jc.2009-1625.
10. Links TP, Van Der Boom T, Zandee WT, et al. Cardiovascular effects of overt and subclinical hyperthyroidism: focus on differentiated thyroid cancer. *Endocr Connect* 2021;10(1):R43–R51; doi: 10.1530/EC-20-0539.
11. Papaleontiou M, Levine DA, Reyes-Gastelum D, et al. Thyroid Hormone Therapy and Incident Stroke. *J Clin Endocrinol Metab* 2021;106(10):e3890–e3900; doi: 10.1210/clinem/dgab444.
12. Vigário P dos S, Vaisman F, Coeli CM, et al. Inadequate levothyroxine replacement for primary hypothyroidism is associated with poor health-related quality of life—a Brazilian multicentre study. *Endocrine* 2013;44(2):434–440; doi: 10.1007/s12020-013-9886-1.

13. Canaris GJ, Manowitz NR, Mayor G, et al. The Colorado Thyroid Disease Prevalence Study. *Arch Intern Med* 2000;160(4):526; doi: 10.1001/archinte.160.4.526.
14. Jonklaas J, Bianco AC, Bauer AJ, et al. Guidelines for the Treatment of Hypothyroidism: Prepared by the American Thyroid Association Task Force on Thyroid Hormone Replacement. *Thyroid* 2014;24(12):1670–1751; doi: 10.1089/thy.2014.0028.
15. Christ-Crain M, Meier C, Guglielmetti M, 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(2):379–386; doi: 10.1016/S0021-9150(02)00372-6.
16. Kvetny J, Heldgaard PE, Bladbjerg EM, 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* 2004;61(2):232–238; doi: 10.1111/j.1365-2265.2004.02088.x.
17. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105(9):1135–1143. doi:10.1161/hc0902.104353
18. Tuzcu A, Bahceci M, Gokalp D, et al. Subclinical Hypothyroidism may be Associated with Elevated High-sensitive C-Reactive Protein (Low Grade Inflammation) and Fasting Hyperinsulinemia. *Endocr J* 2005;52(1):89–94; doi: 10.1507/endocrj.52.89.
19. Dörr M, Robinson DM, Wallaschofski H, et al. Low Serum Thyrotropin Is Associated with High Plasma Fibrinogen. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91(2):530–534; doi: 10.1210/jc.2005-1786.
20. De Goma EM, French B, Dunbar RL, et al. Intraindividual variability of C-reactive protein: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2012;224(1):274–279; doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2012.07.017.
21. Otvos JD, Shalaurova I, Wolak-Dinsmore J, et al. GlycA: A Composite Nuclear Magnetic Resonance Biomarker of Systemic Inflammation. *Clin Chem* 2015; 61(5):714–723; doi: 10.1373/clinchem.2014.232918.
22. Connelly MA, Otvos JD, Shalaurova I, et al. GlycA, a novel biomarker of systemic inflammation and cardiovascular disease risk. *J Transl Med* 2017;15(1):219; doi: 10.1186/s12967-017-1321-6.
23. Connelly MA, Gruppen EG, Otvos JD, et al. Inflammatory glycoproteins in cardiometabolic disorders, autoimmune diseases and cancer. *Clin Chim Acta* 2016;459:177–186; doi: 10.1016/j.cca.2016.06.012.
24. Fuertes-Martín, Correig, Vallvé, et al. Title: Human Serum/Plasma Glycoprotein Analysis by 1H-NMR, an Emerging Method of Inflammatory Assessment. *J Clin Med* 2020;9(2):354; doi: 10.3390/jcm9020354.
25. Joshi AA, Lerman JB, Aberra TM, et al. GlycA Is a Novel Biomarker of Inflammation and Subclinical Cardiovascular Disease in Psoriasis. *Circ Res* 2016;119(11):1242–1253; doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.309637.

26. Connelly MA, Gruppen EG, Otvos JD, et al. Inflammatory glycoproteins in cardiometabolic disorders, autoimmune diseases and cancer. *Clin Chim Acta* 2016;459:177–186; doi: 10.1016/j.cca.2016.06.012.
27. Lorenzo C, Festa A, Hanley AJ, et al. Novel Protein Glycan–Derived Markers of Systemic Inflammation and C-Reactive Protein in Relation to Glycemia, Insulin Resistance, and Insulin Secretion. *Diabetes Care* 2017;40(3):375–382; doi: 10.2337/dc16-1569.
28. Ezeigwe A, Fashanu OE, Zhao D, et al. The novel inflammatory marker GlycA and the prevalence and progression of valvular and thoracic aortic calcification: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2019; 282:91–99; doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2019.01.011.
29. Gruppen EG, Riphagen IJ, Connelly MA, et al. GlycA, a Pro-Inflammatory Glycoprotein Biomarker, and Incident Cardiovascular Disease: Relationship with C-Reactive Protein and Renal Function. *PLoS ONE* 2015; 10(9):e0139057; doi: 10.1371/journal.pone.0139057.
30. Akinkuolie AO, Buring JE, Ridker PM, et al. A Novel Protein Glycan Biomarker and Future Cardiovascular Disease Events. *J Am Heart Assoc* 2014; 3(5):e001221; doi: 10.1161/JAHA.114.001221.
31. Duprez DA, Otvos J, Sanchez OA, et al. Comparison of the Predictive Value of GlycA and Other Biomarkers of Inflammation for Total Death, Incident Cardiovascular Events, Noncardiovascular and Noncancer Inflammatory-Related Events, and Total Cancer Events. *Clin Chem* 2016;62(7):1020–1031; doi:10.1373/clinchem.2016.255828.
32. Ormseth MJ, Chung CP, Oeser AM, et al. Utility of a novel inflammatory marker, GlycA, for assessment of rheumatoid arthritis disease activity and coronary atherosclerosis. *Arthritis Res Ther* 2015;17(1):117; doi: 10.1186/s13075-015-0646-x.
33. Dierckx T, Chiche L, Daniel L, et al. Serum GlycA Level Is Elevated in Active Systemic Lupus Erythematosus and Correlates to Disease Activity and Lupus Nephritis Severity. *JCM* 2020;9(4):970; doi: 10.3390/jcm9040970.
34. Bartlett DB, Connelly MA, Abou Assi H, et al. A novel inflammatory biomarker, GlycA, associates with disease activity in rheumatoid arthritis and cardio-metabolic risk in BMI-matched controls. *Arthritis Res Ther* 2016;18(1):86; doi: 10.1186/s13075-016-0982-5.
35. Lotufo PA. Construção do Estudo Longitudinal de Saúde do Adulto (ELSA-Brasil). *Rev Saude Publica* 2013;47(suppl 2):3–9; doi: 10.1590/S0034-8910.2013047S20002.
36. Otvos JD, Shalaurova I, Wolak-Dinsmore J, et al. GlycA: A Composite Nuclear Magnetic Resonance Biomarker of Systemic Inflammation. *Clin Chem* 2015;61(5):714–723; doi: 10.1373/clinchem.2014.232918.
37. Ala-Korpela M. Serum Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy: One More Step toward Clinical Utility. *Clin Chem* 2015;61(5):681–683; doi: 10.1373/clinchem.2015.238279.
38. Mehta NN, Dey AK, Maddineni R, et al. GlycA measured by NMR spectroscopy is associated with disease activity and cardiovascular disease risk in chronic inflammatory diseases. *Am J Prev Cardiol* 2020;4:100-120; doi: 10.1016/j.ajpc.2020.100120.

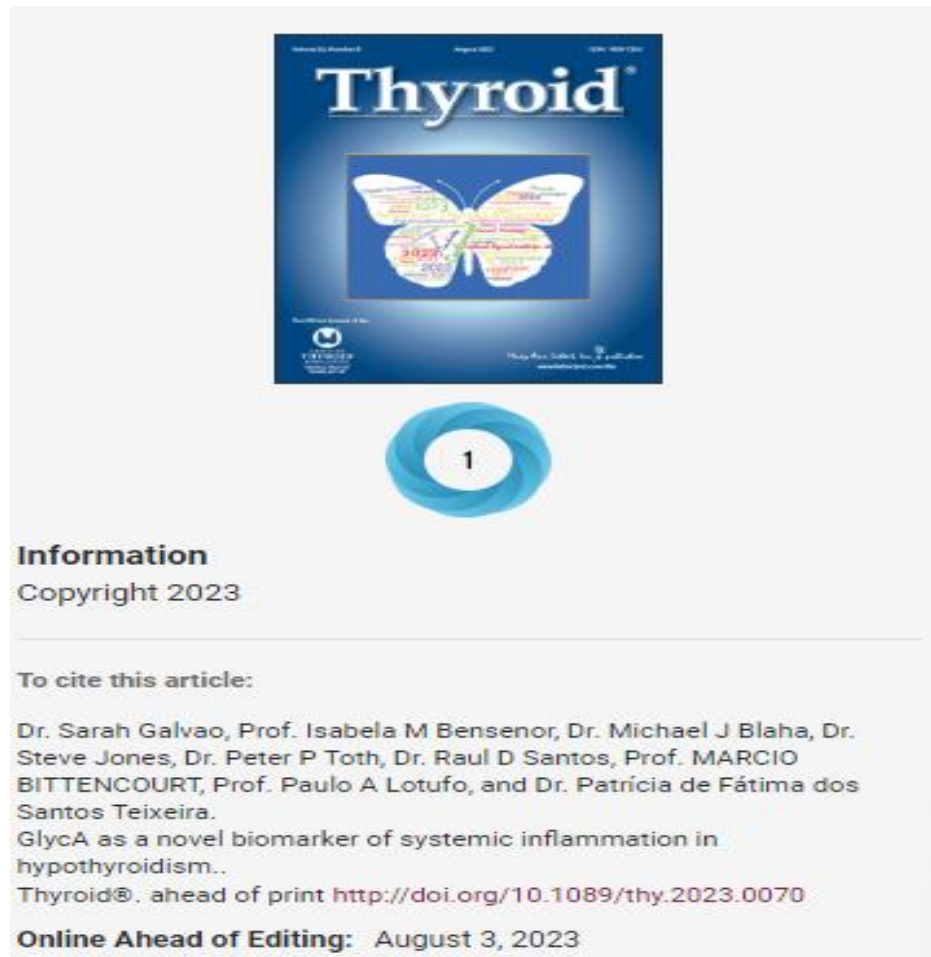
39. Dunn OJ. Multiple Comparisons using rank sums. *Technometrics* 1964; 6 (3):241-52.
40. Samuels MH, Schuff KG, Carlson NE, et al. Health Status, Psychological Symptoms, Mood, and Cognition in L-Thyroxine-Treated Hypothyroid Subjects. *Thyroid* 2007;17(3):249–258; doi: 10.1089/thy.2006.0252.
41. Cappola AR, Ladenson PW. Hypothyroidism and Atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88(6):2438–2444; doi: 10.1210/jc.2003-030398.
42. Clausen P, Mersebach H, Nielsen B, et al. Hypothyroidism is associated with signs of endothelial dysfunction despite 1-year replacement therapy with levothyroxine. *Clin Endocrinol* 2009;70(6):932–937; doi: 10.1111/j.1365-2265.2008.03410.x.
43. Okosieme OE, Belludi G, Spittle K, et al. Adequacy of thyroid hormone replacement in a general population. *QJM* 2011;104(5):395–401; doi: 10.1093/qjmed/hcq222.
44. Yavuz DG, Yazıcı D, Keskin L, et al. Out-of-Reference Range Thyroid-Stimulating Hormone Levels in Levothyroxine-Treated Primary Hypothyroid Patients: A Multicenter Observational Study. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2017;8:215. doi:10.3389/fendo.2017.00215
45. Bianco AC, Bao Y, Antunez Flores O, et al. Levothyroxine Treatment Adequacy and Formulation Changes in Patients with Hypothyroidism: A Retrospective Study of Real-World Data from the United States [published online ahead of print,]. *Thyroid*. 2023;10.1089/thy.2022.0382. doi:10.1089/thy.2022.0382
46. Nielsen JL, Karmisholt J, Pedersen IB, et al. Prevalence and predictors of adequate treatment of overt hypothyroidism - a population-based study. *EXCLI J*. 2022;21:104-116. doi:10.17179/excli2021-4291
47. Somwaru LL, Arnold AM, Joshi N, et al. High Frequency of and Factors Associated with Thyroid Hormone Over-Replacement and Under-Replacement in Men and Women Aged 65 and Over. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(4):1342–1345; doi: 10.1210/jc.2008-1696.
48. Ettleson MD, Bianco AC, Zhu M, et al. Sociodemographic Disparities in the Treatment of Hypothyroidism: NHANES 2007-2012. *J Endocr Soc*. 2021;5(7):bvab041. doi:10.1210/jendso/bvab041
49. Harada PH, Benseñor IM, Bittencourt MS, et al. Composite acute phase glycoproteins with coronary artery calcification depends on metabolic syndrome presence – The Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). *J Cardiol* 2019;73(5):408–415; doi: 10.1016/j.jjcc.2018.09.006.
50. Saraiva DA, Morais NAOES, Martins Corcino C, et al. Iodine status of pregnant women from a coastal Brazilian state after the reduction in recommended iodine concentration in table salt according to governmental requirements. *Nutrition* 2018; 53:109–114; doi: 10.1016/j.nut.2018.02.001.
51. Wells BJ, Hueston WJ. Are thyroid peroxidase antibodies associated with cardiovascular disease risk in patients with subclinical hypothyroidism?. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005;62(5):580-584. doi:10.1111/j.1365-2265.2005.02262.x

52. Zhang X, Li R, Chen Y, et al. The Role of Thyroid Hormones and Autoantibodies in Metabolic Dysfunction Associated Fatty Liver Disease: TgAb May Be a Potential Protective Factor. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:598836. doi:10.3389/fendo.2020.598836
53. Raposo L, Martins S, Ferreira D, et al. Metabolic Syndrome, Thyroid Function and Autoimmunity - The PORMETS Study. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2019;19(1):75-83. doi:10.2174/1871530318666180801125258
54. Ward LS, Scheffel RS, Hoff AO, et al. Treatment strategies for low-risk papillary thyroid carcinoma: a position statement from the Thyroid Department of the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM). *Arch Endocrinol Metab* 2022;66(4):522–532; doi: 10.20945/2359-3997000000512.
55. Galvao S, Bensenor IJM, Teixeira, PFS. GlycA levels as a marker of systemic inflammation in hypothyroid patients under inadequate levothyroxine replacement. *Archives of endocrinology and metabolism Official journal of SBEM* 2021; 65 (Supplement 3): S4.
56. Galvao S, Bensenor IM, Blaha MJ, et al. GlycA as a novel biomarker of systemic inflammation in hypothyroidism [published online ahead of print, 2023 Aug 3]. *Thyroid*. 2023;10.1089/thy.2023.0070. doi:10.1089/thy.2023.0070
57. Emerging Risk Factors Collaboration, Kaptoge S, Di Angelantonio E, et al. C-reactive protein, fibrinogen, and cardiovascular disease prediction. *N Engl J Med*. 2012;367(14):1310-1320.doi:10.1056/NEJMoa1107477

8. ANEXOS

A) ARTIGO PUBLICADO NO PERIÓDICO *THYROID* EM AGOSTO DE 2023:

Fator de Impacto *Thyroid*: 6.506



> [Thyroid](https://doi.org/10.1089/thy.2023.0070). 2023 Aug 3. doi: 10.1089/thy.2023.0070. Online ahead of print.

GlycA as a novel biomarker of systemic inflammation in hypothyroidism

Sarah Galvao ¹, Isabela M Bensenor ², Michael J Blaha ³, Steve Jones ⁴, Peter P Toth ⁵, Raul D Santos ^{6 7}, Marcio Bittencourt ⁸, Paulo A Lotufo ⁹, Patrícia de Fátima Dos Santos Teixeira ¹⁰

Affiliations + expand

PMID: 37534852 DOI: [10.1089/thy.2023.0070](https://doi.org/10.1089/thy.2023.0070)

B) APRESENTAÇÃO DO TRABALHO NO XVIII CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE TIREOIDE (LATS 2021) – FORMATO ORAL:



**XVIII LATIN AMERICAN
THYROID CONGRESS**

18 - 20th • NOVEMBER • 2021

VIRTUAL EVENT

CERTIFICATE

This is to certify that the abstract

**GLYCA LEVELS AS A MARKER OF SYSTEMIC INFLAMMATION IN
HYPOTHYROID PATIENTS UNDER INADEQUATE LEVOTHYROXINE
REPLACEMENT**

Of the authors: SARAH GALVAO PEREIRA; ISABELA JUDITH MARTINS BENSEÑOR;
PATRICIA DE FATIMA DOS SANTOS TEIXEIRA, has been presented in the modality of
Selected for Lats Prize - Oral presentation - Clinical, in the XVIII Latin American Thyroid Society
Congress that was held from Nov 18 to 20, 2021 - ONLINE.

To validate, visit <http://www.ccmcongresses.com.br/validacao?cod=51417265>



Ana Luiza Maia

President
Latin American Thyroid Society (LATS) 2021



Fabián Pitoia

President
Scientific Committee LATS Congress 2021

PROMOTED BY:



C) TRABALHO APRESENTANDO XVIII CONGRESSO LATINO-AMERICANO DE TIREOIDE (LATS 2021) SELECIONADO PARA CONCORRER À PREMIAÇÃO DE MELHOR TRABALHO – CLÍNICO:



XVIII LATIN AMERICAN
THYROID CONGRESS

18 - 20th • NOVEMBER • 2021

VIRTUAL EVENT

CERTIFICATE

This is to certify that the abstract

GLYCA LEVELS AS A MARKER OF SYSTEMIC INFLAMMATION IN HYPOTHYROID PATIENTS UNDER INADEQUATE LEVOTHYROXINE REPLACEMENT

has been presented in the modality of Selected for Lats Prize - Oral presentation - Clinical, by Sarah Galvao Pereira, in the XVIII Latin American Thyroid Society Congress that was held from Nov 18 to 20, 2021 - ONLINE.

To validate, visit <http://www.ccmcongresses.com.br/validacao/?cod=51417265>

Ana Luiza Maia
President
Latin American Thyroid Society (LATS) 2021

Fabián Pitoia
President
Scientific Committee LATS Congress 2021

PROMOTED BY:



THYROID AND METABOLISM

104581 GLYCA LEVELS AS A MARKER OF SYSTEMIC INFLAMMATION IN HYPOTHYROID PATIENTS UNDER INADEQUATE LEVOTHYROXINE REPLACEMENT

Sarah Galvao Pereira¹, Isabela Judith Martins Benseñor², Patricia de Fatima dos Santos Teixeira¹

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). ² Universidade de São Paulo (USP).



Introduction: GlycA is a novel marker of systemic inflammation, associated with cardiovascular disease (CVD) independently from traditional risk factors. Several studies have suggested that abnormalities in thyroid function, both hypo and hyperthyroidism have detrimental effects on cardiovascular system and cardiovascular risk irrespective of traditional risk factors, however data on GlycA and thyroid function is scarce. **Objective:** To assess the levels of GlycA in hypothyroid patients under levothyroxine replacement. Additionally, to detect if its levels are increased when the treatment is outside the treatment target. **Methods:** This was a cross-sectional study including hypothyroid patients under levothyroxine replacement from a large sample of the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health (ELSA-Brasil). All those with GlycA measured at baseline were included. GlycA quantified the acute phase glycoproteins by the magnetic resonance signal of their N-acetyl methyl group protons on the N-acetylglucosamine (GlcNAc) moieties located on bi-, tri-, or tetra-antennary branches. Their signal was deconvoluted from overlapping lipoproteins and their amplitude converted to micromoles per liter (mmol/L). TSH (reference range [RR]: 0.4-4.0 mIU/L) and FT4 (RR: 0.8-1.9 ng/dL) were measured by immunoenzymatic assay. **Results:** A total of 345 participants were under levothyroxine use and 61.7% of them had serum TSH in the RR. According to serum TSH, 24.1% were undertreated and 14.2% were overtreated. The groups did not differ in respect to sex, age, BMI or prevalence of HBP and DM but differed regarding GlycA levels ($p < 0.01$). Lower levels of GlycA were detected in those with serum TSH in the target levels (405; interquartile range [IR] 86 mmol/L in comparison to those under (423; IR:86 mmol/L; $p:0.02$) or overtreated (432; IR:75 mmol/L; $p:0.04$). **Conclusion:** Patients under inadequate treatment of hypothyroidism, both over and undertreated, have higher levels of GlycA, which may be associated to greater cardiovascular risk.