CLEY ROCHA DE FARIAS

**Selenometionina e tireoidite crônica autoimune: potencial
efeito anti-inflamatório, impacto na função tireoidea e na
ecomorfologia glandular**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Doutor em
Ciências

Programa de Endocrinologia

Orientador: Prof. Dr. Meyer Knobel
Coorientadora: Profa. Dra. Sílvia Maria
Franciscato Cozzolino

**São Paulo
2014**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Farias, Cley Rocha de

Selenometionina e tireoidite crônica autoimune : potencial efeito anti-inflamatório, impacto na função tireoidea e na ecomorfologia glandular / Cley Rocha de Farias. -- São Paulo, 2014.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Endocrinologia.

Orientador: Meyer Knobel.

Coorientadora: Silvia Maria Franciscato Cozzolino

Descritores: 1.Tireoidite 2.Selenometionina 3.Doença de Hashimoto 4.Glândula tireoide/ultrassonografia 5.Autoimunidade 6.Hipotireoidismo

USP/FM/DBD-373/14

*Esta tese é dedicada ao meu pai Inácio Sebastião de
Farias (in memoriam) por todo comprometimento.*

AGRADECIMENTOS

Finalmente, começo a última tarefa de todo esse trabalho. Vocês não sabem o quanto adiei até escrever essas poucas palavras. Essas últimas semanas foram de lembranças, filmes, flashes dos últimos anos e até dos primeiros de minha vida até chegar aqui com esse “filho”. Para quem já teve um “filho”, acho que saberá do que estou falando.

Começo essa história com uma conversa de corredor com minha amiga Daniela Miranda a qual sugeriu que eu me aproximasse da Endocrinologia, assim como que por intuição. Por meio dela, tive acesso ao doutor Eduardo Tomimori e à doutora Rosalinda Camargo, que me entrevistaram e me acolheram como um filho na instituição. Então, fiz meu primeiro rabisco que foi corrigido por eles, ou melhor, refeito mesmo. Risos... Até chegar às mãos do então chefe da tireoide, o, para mim, lendário doutor Meyer.

Casamos em janeiro de 2009, isso mesmo: doutor Meyer e eu. Senti-me na alfabetização, ligando os pontos para formar uma letra. E ele esteve sempre segurando minha mão para que a letra saísse o menos tremida possível. Um verdadeiro pai, com todos os limites e as virtudes dessa figura que perdi durante esse trabalho. Lágrimas... Meu pai Inácio Sebastião de Farias faleceu em março de 2012. Por isso, esse trabalho é integralmente dedicado a ele, que dedicou a vida à família e ao trabalho com seu simples caminhão laranja, o qual, eu acho que, se pusesse em reta toda estrada percorrida, conseguiria chegar à lua.

Aqui no Hospital das Clínicas, conheci uma irmã que foi parceira de toda essa jornada, Elaine Oliveira Dias. Muito estudo, apuro, coisas para última hora, risos, lágrimas, cumplicidade e companheirismo. Muito afeto e apoio. Obrigado maninha pela inocência e por renovar minhas esperanças sempre que nos encontramos.

Mas estava falando do projeto junto com doutor Meyer. Chega o dia para aprovação deste pela pós-graduação. Um grande dia porque tenho o projeto aprovado com entusiasmo e, principalmente, porque tenho a oportunidade de conhecer a doutora Ana Cláudia Latrônico, um encanto.

Existem poucas pessoas com tanta sensibilidade e com um olhar tão amoroso para vida. Para falar da sua capacidade profissional, vide seu Lattes. Com seu currículo, dá vontade de rir, de falar um palavrão. Essa veio para fazer e faz a diferença.

Doutora Berenice. Isso mesmo: sem sobrenome. Um certo receio de falar dela. Mas como não falar de uma rainha, primeira ministra, presidenta. Uma líder. Onça. Águia. A ética, o cuidado e o respeito pelo paciente e por nossa admirada casa. Um gênio em sua versão feminina. Imagino as dificuldades de conduzir essa instituição, mas meu voto é seu.

Agradeço à Silvia Cozzolino pela coorientação neste trabalho. Sempre com uma palavra de incentivo, força e esperança me acolhendo. Agradeço, também, aos nutricionistas e pesquisadores Alexandre Pimentel, Barbara Rita Cardoso e Graziela Biude pelas análises de selênio e por todo o trabalho feito desde o início.

Quero agradecer à doutora Suemi Marui pela dedicação na chefia da Unidade da Tireoide e pelas sugestões durante todo esse trabalho, e a doutora Débora Danilovic, pelos esclarecimentos com os pacientes do nosso ambulatório.

Agradeço à doutora Maria Cristina Chammas pelo apoio com toda parte de ultrassonografia e pelo incentivo com suas palavras de força e esperança. Agradeço a seus pupilos Giovanna Motta e Thiago Adler pelo trabalho exaustivo de cada imagem de todos os pacientes desde o iníciozinho desse estudo. Obrigado!

Agradeço à Ana Luíza Galvão e à Valquíria Dias (Assessora Científica) pela elaboração e correção deste texto. E obrigado à doutora Maria Regina Catarino pelas análises laboratoriais.

Um especial e afetuoso agradecimento à Andrea Gomes Fernandes Silva, Roseli Zamboni, Maria Aparecida da Silva, Rosana Zamboni e Selma Ferreira Nascimento pela colaboração sempre que solicitada.

Agradeço as minhas fiéis secretárias: Ângela, Graça e Janete por toda a tranquilidade que me proporcionaram nos bastidores. A minhas amigas-irmãs Daniela Moreira e Andréia Alegre, pelo apoio incondicional.

Agradeço à Marlene Rozenberg (minha psicanalista) pela escuta amorosa e pela fala acolhedora de todas as sessões.

Agradeço à família Sistema Total de Saúde, na figura da grande matriarca doutora Rosa Nicolau, que me acolheu por 12 anos e onde pude dar meus primeiros passos como médico.

Agradeço à eterna família Fisk, nas pessoas amadas de Marise Soares Mesquita Lima, Ceicinha e Vanda que, de pequeno, só no sobrenome, pelo grande apoio neste momento delicado de minha formação. Beijo no coração das três.

Agradeço a todos os pacientes que participaram deste estudo e a todos aqueles que confiam no meu trabalho e entregam suas vidas nas minhas mãos.

Agradeço a minha casa, Hospital das Clínicas da USP, ao Instituto de Radiologia ao Instituto Adolfo Lutz, ao Instituto do Coração, à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP pelo fornecimento de toda estrutura necessária para este estudo.

Agradeço a FAPESP e CAPES pelos recursos fornecidos para execução do estudo.

Agradeço a minha mãe Marli Faustino de Farias por toda dedicação de mãe amorosa e dedicada. A contribuição dela foi fundamental para toda essa realização. Aos meus irmãos Inamarli, Cássius e Clécio Rocha de Farias, pelos momentos de alegria e conflitos que me impulsionaram até aqui.

Um especial abraço a meus primos-irmãos Lígia Melo Paz e Teodoro Ornelas pela parceria, pela cumplicidade e pelo acolhimento nesses últimos anos de trabalho árduo e desgastante, mas recompensador.

Agradeço a minhas tias: Dorinha, pelo acolhimento em sua vida e por sua participação consciente nesse trabalho; Iraci Ornelas, pelos conselhos e pelas críticas; Marlene Melo, pelos momentos de descontração e riso. Obrigado minhas primas Laura Ornelas e Luciene Melo Paz pelo carinho.

Agradeço a meus queridos e fiéis escudeiros: Alexandre Mano, Cláudia Galvão, Daniel Limas, José Eustáquio, Higor Perez e Ricardo Gentil pela amizade e pelo companheirismo dos últimos 10 anos.

Agradeço à Andrezza Medeiros, ao Djalma Júnior e à Janett liberalino pela amizade que, mesmo com a distância, continua forte e sincera.

Agradeço ao André Almada, Flávio Lima e Wolney Kiyomoto pelos momentos de divertimento e pelo extravasamento do estresse da dura rotina.

Agradeço aos pilares Gustavo Oricchio e Paulo Santos pelo apoio, pela dedicação e pelo acolhimento nessa fase e por terem me ajudado a ver o mundo de outro ângulo (do outro). Pois abriram um caminho para novas possibilidades e novos desafios com mais respeito aos limites humanos.

Agradeço a minhas novas e verdadeiras amigas Soraya Matar e Kátia Cardoso pelo aconchego e pela transmissão de paz e tranquilidade.

Agradeço ao Colégio Alfredo Dantas no qual fiz todo meu ensino fundamental e médio, à Promenade, na figura da minha professora Ingrid Carsolari, à Universidade Federal de Campina Grande (professores Alberto Ramos e Alana Abrantes, e colegas Erika Renata, Ana Karla Diniz e Fausto Germano Neto), em que fiz minha graduação; e ao Hospital do Servidor Público Estadual de São Paulo e ao Hospital Beneficência Portuguesa de São Paulo, nos quais fiz minhas especializações.

Agradeço ao Rômollo Bagalho por tornar mais leves esses últimos dias de trabalho e por todo apoio.

Agradeço a uma coisinha de 3,5kg que me tem dado tanta alegria, Liant, meu “dog”, que diversas vezes se deitou nesse teclado para conseguir um pouco de carinho e atenção.

Agradeço a Deus, a vida, por me permitir “Ser”. Sei da dificuldade de todos para esse enorme feito: “Ser”.

“O mundo não é. O mundo está sendo. Como subjetividade curiosa, inteligente, interferidora na objetividade com que dialeticamente me relaciono, meu papel no mundo não é só o de quem constata o que ocorre, mas também o de quem intervém como sujeito de ocorrências. Não sou apenas objeto da História mas seu sujeito igualmente”.

Paulo Freire

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta Tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação: Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3ª Ed. São Paulo: Serviços de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

LISTA DE SÍMBOLOS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE QUADROS

RESUMO

ABSTRACT

1 INTRODUÇÃO.....	2
1.1 Fontes e recomendações de consumo de selênio	3
1.1.1 Toxicidade do Selênio.....	8
1.1.2 Deficiência de Selênio	10
1.1.3 Síntese de selenoproteínas específicas	12
1.1.4 As principais selenoproteínas e respectivas funções.....	14
1.2 Tiorredoxinas redutases	15
1.2.1 Peroxidases da glutatona.....	18
1.2.2 Desiodases das iodotironinas	23
1.2.3 Outras selenoproteínas.....	25
1.3 Selênio e função da tireoide	26
1.3.1 Selênio e tireoidite crônica autoimune	27
1.3.2 A influência de polimorfismos de nucleotídeos únicos na suplementação com selênio	31
2 OBJETIVOS	38
2.1 Objetivo primário	38
2.2 Objetivos secundários.....	38
3 CASUÍSTICA E MÉTODOS.....	41
3.1 Casuística	41
3.1.1 Critérios de elegibilidade.....	41
3.1.2 Estimativa do tamanho da amostra.....	42
3.1.3 Aleatorização e implementação do estudo	42

3.1.4 A intervenção do estudo	43
3.1.4.1 Suplementação com selênio	43
3.2 Métodos	44
3.2.1 Medidas antropométricas	44
3.2.2 Avaliação da função tireoidea	44
3.2.3 Avaliação da autoimunidade tireoidea	45
3.2.4 Medida da calcitonina	45
3.2.5 Medida da glicose	46
3.2.6 Medida do selênio no plasma	46
3.2.7 Determinação da atividade enzimática da GPx eritrocitária (GPx1)	46
3.2.8 Medida da interleucina 6, interleucina 10 e TNF	47
3.2.9 Medida da proteína C reativa	48
3.2.10 Genotipagem e pesquisa do polimorfismo Pro198Leu	48
3.2.10.1 Extração de DNA a partir de sangue periférico	48
3.2.10.2 Avaliação do polimorfismo GPx1	49
3.2.10.3 Amplificação por PCR	49
3.2.10.4 Sequenciamento automático	50
3.3 Avaliação ultrassonográfica da tireoide	51
3.3.1 US modo-B e análise do histograma computadorizado	51
3.3.2 US-Doppler colorido de amplitude	56
3.3.3 US-Doppler pulsado	58
3.3.4 Determinação da concentração urinária de iodo	58
3.4 Desenho do estudo	58
3.5 Análise Estatística	59
4 RESULTADOS	62
4.1 Selênio plasmático e GPx1 eritrocitária	65
4.2 Anticorpos antitireoide	68
4.3 Função da glândula tireoide	72
4.4 Alteração funcional tireoidea dos participantes no transcorrer do estudo	77
4.4.1 Indivíduos do grupo SeMet	78
4.4.2 Indivíduos do grupo Placebo	78
4.4.3 Proteína C reativa	78
4.4.4 Glicemia sérica de jejum	80

4.4.5 Calcitonina	82
4.4.6 Citocinas	83
4.4.7 Iodo urinário (µg/L).....	87
4.4.8 Dose de LT4 (µg/dia)	88
4.4.9 Genótipos da GPx1	89
4.4.10 Mapeamento dúplex-Doppler colorido da tireoide.....	90
4.4.11 Histograma da Tireoide.....	94
4.4.12 Histograma dos músculos pré-tireoideos	95
4.4.13 US-Doppler colorido de amplitude	96
4.4.13.1 Padrão de vascularização do parênquima tireoideo	96
4.4.14 Velocidade de pico sistólico das artérias tireoideas inferiores	97
4.4.15 Associação entre a concentração plasmática de Selênio (µg/L) e atividade eritrocitária da GPx1 (U/gHb), conforme o genótipo da GPx1, por meio do coeficiente de correlação <i>rho</i> de Spearman.....	98
4.4.16 Associações entre o IE e variáveis clínicas nos grupos Placebo e SeMet por meio do coeficiente de correlação <i>rho</i> de Spearman (Tabela 36).....	101
4.4.17 Outras associações entre variáveis clínicas nos grupos Placebo e SeMet por meio do coeficiente de correlação de Spearman.....	102
5 DISCUSSÃO.....	104
5.1 Efeitos da suplementação de selênio na concentração circulante de autoanticorpos tireoideos	104
5.2 Efeito da suplementação de selênio na ecomorfologia e na vascularização da tireoide	112
5.3 Efeito da suplementação de selênio na produção de citocinas	116
5.4 Polimorfismos da GPx1	118
5.5 Valores de calcitonina sérica e a suplementação de Se	120
5.6 Diabetes tipo 2 e suplementação de Se	121
5.7 Função tireoidea e suplementação de Se.....	122
6 CONCLUSÕES.....	124
6.1 Limites e desafios do atual estudo	125
7 REFERÊNCIAS	127
8 APÊNDICES	141
Apêndice A - Tabela 39 - Sumário dos resultados gerais basais (tempo t0) dos participantes aleatorizados para o grupo placebo.....	141

Apêndice B - Tabela 40 - Sumário dos resultados gerais (tempo t1) dos participantes aleatorizados para o grupo placebo.....	143
Apêndice C - Tabela 41 - Sumário dos resultados gerais (tempo t1) dos participantes aleatorizados para o grupo SeMet.....	145
Apêndice D - Tabela 42 - Sumário dos resultados gerais basais (tempo t0) dos participantes aleatorizados para o grupo SeMet.....	147
Apêndice E - Tabela 43 - Sumário dos resultados gerais basais (tempo t0) dos participantes aleatorizados para o grupo SeMet.....	149
Apêndice F - Tabela 44 - Sumário dos resultados gerais (tempo t2) dos participantes aleatorizados para o grupo SeMet.....	151
Apêndice G - Tabela 45 - Sumário dos resultados por ultrassom basais (tempo t0) dos participantes aleatorizados para o grupo SeMet.....	153
Apêndice H - Tabela 46 - Sumário dos resultados por ultrassom basais (tempo t0) dos participantes aleatorizados para o grupo placebo.....	154
Apêndice I - Tabela 47 - Sumário dos resultados por ultrassom (tempo t1) dos participantes aleatorizados para o grupo placebo.....	155
Apêndice J - Tabela 48 - Sumário dos resultados por ultrassom (tempo t1) dos participantes aleatorizados para o grupo SeMet.....	156
Apêndice K - Tabela 49 - Sumário dos resultados por ultrassom (tempo t2) dos participantes aleatorizados para o grupo placebo.....	157
Apêndice L - Tabela 50 - Sumário dos resultados por ultrassom (tempo t2) dos participantes aleatorizados para o grupo SeMet.....	158

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AI	Ingestão Adequada - " <i>Adequate Intake</i> "
AP-1	<i>adaptor-related protein complex 1</i>
APEX1	<i>APEX nuclease (multifunctional DNA repair enzyme) 1</i>
ARE	elemento de resposta antioxidante
CCl ₃ •	triclorometil
CXCL10	<i>chemokine (C-X-C motif) ligand 10</i>
DIO	desiodases das iodotironinas
dNTPs	desoxirribonucleotídeos fosfatados
DRI	<i>Dietary Reference Intakes</i>
DUOX	oxidase dual
EAR	Necessidade Média Estimada - " <i>Estimated Average Requirement</i> "
EEFSEC	<i>eukaryotic elongation factor selenocysteine-tRNA-specific</i>
EI	índice de ecogenecidade
GPx	glutational peroxidase
H ₂ O ₂	peróxido de hidrogênio
IL1B	interleucina 1 beta
IL2	interleucina 2
IL6	interleucina 6
IL10	interleucina 10
INFG	interferon gama
Na ₂ SO ₃	sulfito de sódio
KEAP1	<i>Kelch-like ECH-associated protein 1</i>
MCP1	proteína quimiotática de monócitos 1
NFE2L2	<i>nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2</i>
NFKB1	<i>nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1</i>
NIS	simportador de sódio iodeto

NO•	óxido nítrico
O ₂ •-	superóxido
OH•	hidroxila
PCR	proteína C reativa
PDI	proteína dissulfido-isomerase
PDS	pendrina
PV	padrão de vascularização
RDA	Ingestão Alimentar Recomendada - “ <i>Recommended Dietary Allowance</i> ”
RDI	região de interesse
RNI	<i>Recommended Nutrient Intakes</i>
RNS	espécies reativas de nitrogênio
ROS	espécies reativas de oxigênio
RS•	tiol
Se	selênio
Sec	selenocisteína
SECIS	elemento de sequência de inserção de selenocisteína (<i>selenocysteine insertion sequence</i>)
SECISBP2	<i>SECIS binding protein 2</i>
SeMet	selenometionina
SOD	superóxido dismutase
SU.VI.MAX	Suplementação com Vitaminas e Minerais Antioxidantes
T3	triiodotironina
TCA	tireoidite crônica autoimune
TCLE	termo de consentimento livre e esclarecido
TG	tireoglobulina
TGR	tiorredoxina-glutationa redutase
TH	tireoidite de Hashimoto
TP53	<i>tumor protein p53</i>
TPO	tireoperoxidase
tRNA	RNA de transferência ou transportador

TrxR	tiorredoxina redutase
TSH	tireotrofina
UL	Nível Máximo de Ingestão Tolerável - " <i>Tolerable Upper Level Intake</i> "
US	ultrassonografia
UVC	unidades de valor de cinza
VPS	velocidade de pico sistólico

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcento
≈	aproximadamente
<	menor que
=	igual a
>	maior que
±	mais ou menos
≤	menor ou igual a
≥	maior ou igual a
°C	graus Celsius
®	marca registrada
μg	microgramas
μg/dia	microgramas por dia
μg/dL	microgramas por decilitro
μg/L	microgramas por litro
μU/mL	microunidades internacionais por mililitro
cm/s	centímetros por segundo
cm ³	centímetros cúbicos
g	gramas
kDa	quilodaltons
kg	quilogramas
kg/m ²	quilogramas por metro quadrado
mg/dL	miligramas por decilitro
mg/L	miligramas por litro
MHz	megahertz
min	minutos
mL	mililitros
mM	micromolar

N	normalidade
n=	número de casos
ng/dL	nanogramas por decilitro
ng/mL	nanogramas por mililitro
pg/mL	picogramas por mililitros
pmol	picomolar
rpm	rotações por minuto
s	segundos
U/g	unidades por grama
U/mL	unidades por mililitro
X	vezes

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Consumo aconselhado de selênio para adultos (µg/dia) ao redor do mundo	5
Tabela 2	Doses máximas de selênio (“ <i>tolerable upper intake level</i> ”; <i>UL</i>) não causadoras de riscos adversos à saúde na população em geral, segundo estágio de vida	9
Tabela 3	Tiorredoxinas redutases relevantes à saúde ou associadas a efeitos na saúde	15
Tabela 4	Localização e função das glutationalas peroxidases.....	18
Tabela 5	Funções das desidases relevantes à saúde ou associadas a efeitos na saúde	24
Tabela 6	Localizações e funções das demais selenoproteínas que não as GPx, TrxR e DIO	25
Tabela 7	Características basais dos indivíduos com tireoidite crônica autoimune participantes do presente estudo	64
Tabela 8	Análise estatística.....	66
Tabela 9	Análise estatística.....	66
Tabela 10	Valores evolutivos consolidados intragrupos de selênio plasmático e de atividade da glutationala peroxidase 1 nos indivíduos aleatorizados para receber selenometionina ou placebo	67
Tabela 11	Comparação entre grupos SeMet e Placebo dos valores de selênio plasmático e atividade da glutationala peroxidase 1 nos indivíduos participantes do estudo durante a intervenção com selenometionina ou placebo.....	69
Tabela 12	Análise estatística e comparação das concentrações de AntiTG (U/mL) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.	71
Tabela 13	Valores evolutivos consolidados (média ± desvio padrão; mínimo-máximo) de TSH, T4 livre, T4 total, T3 total, relação T3/T4, antiTPO antiTG dos indivíduos eutiroides, antes, durante e após a intervenção com selemetionina ou placebo	73

Tabela 14	Análise estatística e comparação das concentrações de TSH ($\mu\text{U/mL}$) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo	77
Tabela 15	Evolução da situação funcional glandular dos pacientes inicialmente eutireoideos aleatorizados para receber selenometionina ou placebo.	77
Tabela 16	Análise estatística e comparação das concentrações de PCR (mg/L) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo	79
Tabela 17	Análise estatística e comparação das concentrações séricas de glicemia de jejum (mg/dL) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo	81
Tabela 18	Análise estatística e comparação das concentrações de calcitonina (pg/mL) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.	83
Tabela 19	Análise estatística e comparação dos valores da interleucina 6 (pg/mL) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.	84
Tabela 20	Análise estatística e comparação dos valores da interleucina 10 (pg/mL) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.	85
Tabela 21	Análise estatística e comparação dos valores do TNF (pg/mL) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.	86
Tabela 22	Análise estatística e comparação das concentrações de iodúria ($\mu\text{g/L}$) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.	87
Tabela 23	Análise estatística da dose de LT4 pré-intervenção ($\mu\text{g/dia}$) entre os grupos SeMet e Placebo	88
Tabela 24	Genótipos da glutathione peroxidase 1 nos participantes aleatorizados para receber selenometionina ou placebo.	89
Tabela 25	Genótipos da glutathione peroxidase 1 nos controles normais.....	90
Tabela 26	Análise estatística e comparação dos volumes glandulares (cm^3) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo	91

Tabela 27	Análise estatística e comparação do Índice de ecogenicidade entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo92
Tabela 28	Análise estatística e comparação dos valores do histograma da tireoide entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.94
Tabela 29	Análise estatística e comparação dos valores do histograma músculos pré-tireoideos entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo95
Tabela 30	Comparação das frequências observadas dos padrões de vascularização do parênquima tireoideo, antes e durante a intervenção, nos pacientes aleatorizados para receber placebo ou selenometionina.....96
Tabela 31	Análise estatística e comparação da velocidade de pico sistólico (cm/s) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.97
Tabela 32	Análise estatística da comparação entre os valores de Se e da GPx1 nos vários genótipos da GPx1 na situação basal.....99
Tabela 33	Valores evolutivos consolidados intragrupos de selênio plasmático e da atividade eritrocitária da glutathione peroxidase 1, segundo os genótipos Pro/Pro, Pro/Leu e Leu/Leu, nos indivíduos aleatorizados para receber selenometionina ou placebo, nos momentos do estudo99
Tabela 34	Análise estatística da comparação entre os valores de Se e da GPx1 nos vários genótipos da GPx1 no tempo T1 100
Tabela 35	Associação entre índice de ecogenicidade e antiTPO, AntiTG, padrão de vascularização do parênquima tireoideo, velocidade de pico sistólico das artérias tireoideas inferiores, IL6, IL10, TNF, volume glandular e TSH, por meio do coeficiente de correlação de Spearman <i>rho</i> , para os grupos Placebo e SeMet, nos tempos T0 e T1 101
Tabela 36	Associações por meio do coeficiente de Spearman <i>rho</i> entre outras variáveis clínicas para os grupos Placebo e SeMet, nos tempos T0 e T1 102
Tabela 37	Estudos clínicos sobre o tratamento adjuvante com selênio em portadores de tireoidite autoimune 108

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Regulação da ativação da via NFkB1.	3
Figura 2	Selenoproteínas e metabolismo do iodo nos tireócitos.	11
Figura 3	Esquema da síntese de selenoproteínas.....	13
Figura 4	O selenoproteoma humano	14
Figura 5	Relação entre a situação de selênio, atividade da glutathiona peroxidase, geração de H ₂ O ₂ e ação da TPO.	19
Figura 6	Alterações na expressão de selenoproteínas em tireócitos no estado basal e após a estimulação do TSH.	22
Figura 7	Metabolismo dos hormônios tireoideos pelas desiodases tipos 1, 2 e 3	23
Figura 8	Alterações nos títulos de anticorpos antiTPO após a suplementação de selênio (Se) em indivíduos com tireoidite crônica autoimune.....	29
Figura 9	Efeito do consumo de selênio na diferenciação de células T CD4 ⁺	30
Figura 10	Associação entre a atividade GPx1 atividade e concentração sérica de Se em indivíduos saudáveis com diferentes genótipos <i>GPx1</i> (Pro/Pro, Pro/Leu e Leu/Leu).	34
Figura 11	Imagens dos cortes longitudinais do lobo esquerdo em modo-B.	52
Figura 12	Imagens do histograma computadorizado de corte transversal de lobo esquerdo da tireoide e do músculo esternocleidomastoideo de um indivíduo com tireoide normal (A) e de outro com TCA (B)	54
Figura 13	As imagens do histograma computadorizado de escala de cinzas da tireoide apresentam o método de avaliação da glândula e dos músculos adjacentes	55

Figura 14	US-Doppler colorido de amplitude e os exemplos dos padrões de vascularização de parênquima tireoideo, segundo a classificação adotada por Höfling57
Figura 15	Ilustração do desenho do estudo conduzido nos pacientes dos grupos SeMet e placebo59
Figura 16	Diagrama da seleção dos participantes em cada etapa do estudo.....63
Figura 17	Comparação das concentrações plasmáticas de selênio entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.....67
Figura 18	Comparação da atividade eritrocitária da glutathione peroxidase 1 entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo68
Figura 19	Comparação das concentrações de antiTPO entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo69
Figura 20	Redução ($\Delta\%$) das concentrações séricas de antiTPO nos pacientes do grupo SeMet em comparação ao grupo Placebo70
Figura 21	Comparação das concentrações de antiTG entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo72
Figura 22	Comparação das concentrações de TSH entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo74
Figura 23	Comparação entre as concentrações de T4 livre entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo74
Figura 24	Comparação entre as concentrações de T4 total entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo75
Figura 25	Comparação das concentrações de T3 total entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo75
Figura 26	Comparação da relação T3/T4 entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo76
Figura 27	Comparação dos valores de PCR entre os grupos Placebo e SeMet nos momentos do estudo79
Figura 28	Comparação dos valores de glicemia de jejum entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo81

Figura 29	Comparação dos valores de calcitonina entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo82
Figura 30	Comparação dos valores da interleucina 6 entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo84
Figura 31	Comparação dos valores da interleucina 10 entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo85
Figura 32	Comparação dos valores do TNF entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo86
Figura 33	Comparação dos valores de iodo urinário entre os grupos SeMet e Placebo em situação basal (T0) e após 3 meses de intervenção (T1)88
Figura 34	Comparação das doses médias de LT4 utilizadas nos grupos SeMet e Placebo durante o estudo.....89
Figura 35	Comparação dos valores médios do volume glandular entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.....91
Figura 36	Comparação dos valores médios do índice de ecogenicidade entre os grupos Placebo e SeMet nos momentos do estudo.93
Figura 37	Comparação dos valores médios do histograma da tireoide entre os grupos Placebo e SeMet nos momentos do estudo94
Figura 38	Comparação dos valores médios do histograma dos músculos pré-tireoideais entre os grupos Placebo e SeMet nos momentos do estudo95
Figura 39	Comparação dos valores de velocidade de pico sistólico nas artérias tireoideas inferiores entre os grupos Placebo e SeMet nos momentos do estudo98

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Sensibilidade analítica, coeficientes de variação intraensaio e interensaio para as concentrações séricas de hormônios tireoideos, TSH e títulos de autoanticorpos da tireoide45
Quadro 2	Sensibilidade analítica, coeficientes de variação intraensaio e interensaio para as concentrações de citocinas circulantes48

RESUMO

Farias CR. Selenometionina e tireoidite autoimune: potenciais efeitos anti-inflamatórios, impacto na função tireoideana e na ecomorfologia da glândula (Tese). São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2014.

Contexto: Pacientes com tireoidite autoimune crônica com anticorpos de peroxidase tireoideana (Anti-TPO) podem progredir para hipotireoidismo subclínico e clínico. Estudos anteriores mostraram uma redução no anti-TPO em pacientes com hipotireoidismo que receberam tratamento de reposição de LT4 e suplementação de selênio. Objetivos: Avaliar se a selenometionina (SeMet) reduz o anti-TPO em pacientes anti-TPO positivos eutireoideos tratados com LT4 e melhora a ecogenecidade da tireoide em comparação com grupo de pacientes tratados com placebo. Desenho: Estudo duplo-cego aleatório controlado com placebo. Pacientes e métodos: Um total de 55 pacientes consecutivos com TCA (50 mulheres, 5 homens, idade mediana de 48 anos variando de 20 a 58), 4 tabagistas, 4 anos desde o diagnóstico da doença (mediana), com TSH normal ou levemente elevado, T4L dentro dos níveis normais, anti-TPO maior que 100 U/ml foram aleatoriamente selecionados para receber uma dose diária de 200 µg de selenometionina (grupo SeMet; n = 28) ou placebo (grupo P; n = 27) por 3 meses. Anticorpos da tireoperoxidase e tireoglobulina (TPO-Ab; TG-Ab), TSH, FT4, T3, T4, proteína C-reativa (PCR), citocinas (IL6, IL10, TNF), glicose sanguínea em jejum, calcitonina, selênio plasmático, concentração de iodo na urina, atividade da peroxidase de glutationa 1 em eritrócitos (GPx1) foram dosados no basal, após 3 e 6 meses de acompanhamento. Polimorfismo do GPx1-Pro198Leu foi avaliado no basal. Foi efetuado ultrassom de tireoide (US) em cada ponto de acompanhamento. Ecogenecidade do tecido foi caracterizada por análise histográfica computadorizada em escala de cinza e expressa como índice de ecogenecidade (EI). A relação entre concentração de Selênio e atividade GPx1 nos eritrócitos foi analisada para cada genótipo. O IE e associações de variáveis clínicas também foram avaliadas. Resultados: Não houve diferenças nas características iniciais (basais) entre o grupo SeMet e P. Selênio plasmático e atividade GPx1 aumentaram no grupo SeMet mas não variaram no grupo P durante a suplementação de SeMet. Anti-TPO, anti-TG, TSH e hormônios tireoidianos não variaram significativamente no grupo P. Anti-TPO no grupo SeMet era de 1009 (176- >3000) no basal, 958 (161- >3000) aos 3 meses e 768 (65-2821) U/ml aos 6 meses. Neste grupo, as variações em relação ao basal foram de -5% aos 3 meses e -24% aos 6 meses, respectivamente. No grupo P, as mudanças em relação ao basal foram de 1206 (154- >3000), 1404 (231- >3000), 1430 (140- >3000 U/ml), respectivamente (valores médios e limítrofes); +16% aos 3 meses e +18% aos 6 meses, respectivamente. Níveis de TSH, no grupo

SeMet, foram de 1,7 (0,8 – 2,5) no basal, 3,0 (1,1 – 6,3) aos 3 meses e 3,2 (1,1 – 6,5) $\mu\text{U/mL}$ aos 6 meses, no grupo P, os níveis de TSH foram de 1,7 (0,8 – 2,5) no basal, 2,2 (0,6 – 6,8) e 2,5 (0,9 – 5,5) $\mu\text{U/mL}$, respectivamente (valores médios e limítrofes). Valores médios da proteína C-reativa foram inferiores a 10mg/L nos dois grupos. O percentual dos genótipos no grupo SeMet eram de 7,1%, 64,3% e 28,6% para Leu/Leu, Pro/Leu e Pro/Pro (o genótipo mais frequente), respectivamente; no grupo P, a distribuição foi 0,0%, 51,9% e 48,1% para Leu/Leu, Pro/Leu e Pro/Pro, respectivamente, comparado com controles normais (11,4%, 39,2% e 49,4% Leu/Leu, Pro/Leu e Pro/Pro respectivamente). O IE exibiu tendência a uma diferença significativa indo de 1,2 no basal para 1,0 aos 3 meses e 1,1 aos 6 meses para o grupo SeMet, respectivamente, enquanto que permaneceu constante (1,2 no basal, 1,2 aos 3 meses e 1,2 aos 6 meses) para o grupo P, respectivamente. Após o período de suplementação, o coeficiente de correlação $r = 0,95$ ($p < 0,001$) para Pro/Pro e a tendência foi a mesma que o basal para o grupo Pro/Leu. No grupo SeMet, o IE correlacionou-se positivamente com a velocidade sistólica de pico nas artérias inferiores da tireoide no basal ($r = 0,5$, $p = 0,008$) e após o período de suplementação ($r = 0,46$; $p = 0,025$). Anti-TG correlacionou-se com valores do fator de necrose tumoral médios no grupo placebo ($r = 0,46$; $p = 0,015$). Conclusão: A suplementação por 3 meses aumentou os marcadores do *status* de selênio. SeMet parece ser eficaz em reduzir a ecogenecidade da tireoide e em reduzir o anti-TPO (porém não o anti-TG) após 3 meses de intervenção, mas não influencia o TSH ou os hormônios tireoideanos.

Descritores: Autoimune, Selênio, Tireoidite, Hipotireoidismo.

ABSTRACT

Farias CR. *Selenomethionine and autoimmune thyroiditis: potential antiinflammatory effect, impact on thyroid function and on gland echomorphology* [Thesis] – “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”, São Paulo, 2014.

Context: Autoimmune chronic thyroiditis (ACT) euthyroid subjects with positive thyroid peroxidase antibodies (TPO-Ab) may progress to subclinical and overt autoimmune hypothyroidism. Previous studies have shown a decrease in TPO-Ab in hypothyroid patients receiving LT4 replacement therapy plus selenium supplementation. Objectives: To evaluate in euthyroid TPOAb-positive LT4-treated subjects whether selenomethionine (SeMet) decreases TPO-Ab and improves thyroid ecogenicity in comparison with placebo. Design: Randomized, placebo-controlled, double-blind study. Patients and methods: A total of 55 consecutive patients with ACT (50 F, 5 M, age median: 48, range: 20-58 years), 4 smokers, duration of disease (median) 4 years, normal or slightly elevated TSH and FT4 within the normal range, TPO-Ab ≥ 100 U/mL were randomized to receive 200 μ g selenomethionine daily ((group SeMet; n = 28) or placebo (group P; n = 27) for 3 months. Thyroperoxidase and thyroglobulin autoantibodies (TPO-Ab; TG-Ab), TSH, FT4, T3, T4, C-reactive protein (CRP), cytokines (IL6, IL10, TNF), fasting blood glucose, calcitonin, plasma selenium, urine iodine concentrations, activity of glutathione peroxidase 1 in erythrocytes (GPx1) were estimated at baseline, after 3 and 6 months of follow-up; GPx1-Pro198Leu polymorphism was assessed at baseline. Thyroid ultrasound (US) was performed at each follow-up point. Tissue ecogenicity was characterized by computerized grey-scale histographic analysis and expressed as ecogenicity index (EI). The relationship between Se concentration and GPx1 erythrocyte activity was analysed for each genotype group. EI and clinical variables associations were also evaluated. Results: There were no differences in baseline characteristics between the SeMet group and the P group. During SeMet supplementation, plasma Se and GPx1 activity did not change in the P group, but increased in the SeMet group. TPO-Ab, anti-TG, TSH and thyroid hormones did not change significantly in group P. TPO-Ab in the SeMet group were 1009 (176- >3000) at baseline, 958 (161- >3000) at 3 months and 768 (65-2821) U/mL at 6 months. In this group change from baseline were -5 at 3 months and -24% at 6 months, respectively. In the P group change from baseline were 1206 (154- >3000), 1404 (231- >3000) and 1430 (140- >3000) U/mL, respectively (mean values with range); from baseline were +16 at 3 months and +18% at 6 months, respectively. TSH in the SeMet group were 1.7 (0.8-2.5) at baseline, 3.0 (1.1-6.3) at 3 months and 3.2 (1.1-6.5) μ U/mL at 6 months; in the P group were 1.7 (0.8-2.4), 2.2 (0.6-6.8) and 2.5 (0.9-5.5) μ U/mL, respectively (mean values with range). C-

reactive protein mean level was <10 mg/L in both groups. Genotype proportions in the SeMet group were 7.1, 64.3, and 28.6% for Leu/Leu, Pro/Leu and Pro/Pro (the wild-type genotype), respectively; in the P group were 0.0, 51.9 and 48.1 for Leu/Leu, Pro/Leu and Pro/Pro, respectively compared with normal controls (11.4, 39.2 and 49.4%, Leu/Leu, Pro/Leu and Pro/Pro, respectively). EI exhibited a tendency towards a significant difference from 1.2 at baseline to 1.0 at 3 months and 1.1 at 6 months for the SeMet group, respectively and remained the same (1.2 at baseline, 1.2 at 3 months and 1.2 at 6 months) for the P group, respectively. For the SeMet group there was no significant correlation for Pro/Pro and Pro/Leu genotypes at the baseline. After the supplementation period, the correlation coefficient was $r = 0.95$ ($p < 0.001$) for Pro/Pro and the trend was the same as baseline for Pro/Leu. In the SeMet group EI correlated positively with systolic peak velocity in the inferior thyroid arteries at baseline ($r = 0.50$; $p = 0.008$) and after supplementation period ($r = 0.46$; $p = 0.025$). Anti-TG correlated with tumor necrosis factor mean values in the Placebo group at baseline ($r = 0.46$; $p = 0.015$). Conclusion: Three months selenomethionine supplementation increased markers of selenium status. SeMet seems to be effective in reducing thyroid echogenicity and in reducing TPO-Ab (but not TG-Ab) after 3 months of intervention, but does not influence TSH or thyroid hormones.

Descriptors: Autoimmunity; Selenium; Thyroiditis; Hypothyroidism.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

O oligoelemento selênio (Se) foi descoberto em 1817 pelo químico sueco Berzelius. Seu papel fundamental foi estabelecido na década de 1980, quando se descobriu que a suplementação de selenito de sódio prevenia ou revertia os sinais clínicos da deficiência grave de Se, manifestos na doença de Kashin-Beck e doença de Keshan. A tireoide é um dos órgãos com o mais alto teor de Se, e exprime várias selenoproteínas específicas, algumas das quais estão envolvidas no metabolismo dos hormônios tireoideos. A relação entre a carência de Se e disfunção tireoidea foi demonstrada na década de 90 quando crianças com deficiências de iodo e Se, habitantes na Republica Democrática do Congo, foram suplementadas apenas com Se, o que levou à destruição da tireoide e ao cretinismo mixedematoso¹. Desde então, os pesquisadores obtiveram uma melhor compreensão da relações entre o metabolismo da tireoide e Se. Tem sido sugerido que sua suplementação pode ser útil no tratamento de distúrbios autoimunes da tireoide, pois encerra, entre outras, propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias².

Evidências indicam que o Se modula a resposta inflamatória por meio de vias variáveis e mecanismos complexos. Parece que a suplementação deprime a síntese hepática da PCR (proteína C reativa), enquanto o aumento dessa é condicionado por uma marcante redução do Se sérico³. É conveniente, ainda, ressaltar que se verificou existir relação inversa entre a concentração plasmática de Se e a magnitude da resposta inflamatória avaliada pela concentração circulante da PCR⁴. Ou seja, as concentrações sanguíneas de vários elementos traço diminuem em consequência da resposta inflamatória sistêmica. Portanto, valores baixos do micronutriente não indicam, necessariamente, deficiência⁵ (Figura 1).

Fonte: Adaptado de Duntas (2009)³

Figura 1 - Regulação da ativação da via NFκB1. O aumento da PCR (proteína C reativa) é condicionado por redução do selênio (Se) sérico e hepático. A suplementação provoca a inibição da ligação do NFκB1 (*nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1*) ao(s) gene(s) promotor(es), atenuação da liberação de citocinas e, em consequência, supressão da síntese de PCR (proteína C reativa). A atividade das selenoenzimas depende diretamente dos níveis circulantes de Se. O aumento da GPx (glutathiona peroxidase) inibe, mediante redução de peróxido de hidrogênio, a ativação das quinases proteicas/fosforilação da via do complexo NFκB1 + IκBIP (*I-kappa-B kinase interacting protein*). As interleucinas 1 (IL1), 6 (IL6) e TNF (fator de necrose tumoral) são citocinas pró-inflamatórias; a PCR é marcadora de inflamação sintetizada por hepatócitos.

1.1 Fontes e recomendações de consumo de selênio

O Se é amplamente distribuído em toda a crosta terrestre, entretanto, a quantidade é bastante variável e, por consequência, os solos apresentam conteúdos de Se que podem variar de quantidades mínimas até níveis tóxicos.

Alimentos como a castanha-do-brasil (embora com conteúdo instável) e o rim bovino são considerados as melhores fontes de selênio. Carne bovina, frango, peixe e ovos, além de serem ricos em proteínas, também apresentam quantidades importantes de selênio e, em muitos países, são a principal fonte alimentar do mineral. Leite e derivados, dependendo da espécie animal e do conteúdo de gordura, também podem fornecer boas quantidades do mineral, sendo que o leite de vaca e aqueles com maior quantidade de gordura apresentam as menores concentrações. Frutas e verduras, em geral, são pobres em selênio, com exceção dos vegetais denominados “acumuladores” de selênio, como alho, mostarda indiana, brócolis, couve-de-bruxelas, couve rábano, couve-flor, repolho, cebola e alguns cogumelos, os quais podem fornecer quantidades importantes do mineral quando consumidos adequadamente. O lêvedo de cerveja também pode ser classificado como fonte de selênio. Em regiões com solos que apresentam quantidade suficiente de selênio, o trigo é uma boa fonte do mineral, e, por consequência, o consumo de pães e cereais pode contribuir com a ingestão do mineral². O solo do estado de São Paulo⁶, assim como os solos da maioria dos países europeus apresentam um baixo teor de Se, o que explica a deficiência leve a moderada observada na Europa em relação à América do Norte, onde o conteúdo de Se nos solos é elevada.

Em animais, o aporte do Se ocorre via consumo de plantas, que absorvem o elemento na sua forma orgânica a partir do solo, cujo teor varia entre as diferentes regiões geográficas. Nos vegetais, o Se é convertido em formas orgânicas, como compostos metilados de Se de menor peso molecular, selenometionina (SeMet) e selenocisteína (Sec)⁷.

As recomendações das doses diárias variam de um país para outro, ou seja: nos Estados Unidos, 55 µg/dia para ambos os sexos; no Reino Unido, 75 µg/dia para homens e 60 µg/dia para mulheres; na França, 60 µg/dia para homens e 50 µg/dia para mulheres e, no Brasil, 34 µg/dia, para ambos os sexos (Tabela 1).

Tabela 1 - Consumo aconselhado de selênio para adultos ($\mu\text{g}/\text{dia}$) ao redor do mundo

	Austrália (RDI)	EUA e Canadá (RDA)	Reino Unido (RNI)	Organização Mundial da Saúde (NR)	Europa (PRI)	Alemanha, Áustria, Suíça (RNI)
Homens	85	55	75	40	55	30–70
Mulheres	70	55	60	30	55	30–70

RDI, *recommended dietary intake*; RDA, *recommended dietary allowance*; RNI, *reference nutrient intake*; NR, *normative requirement estimate*; PRI, *population reference intake*. Adaptado de Thomson (2004)⁸

Como esclarecimento, as mais recentes recomendações de referência da população norte-americana – *Dietary Reference Intakes (DRI)* – dizem respeito a um conjunto de quatro valores de referência para nutrientes, concebidos para substituir as *Recommended Dietary Allowances (RDA)*, periodicamente publicadas desde 1941 pelo *Food and Nutrition Board* da Academia Nacional de Ciências dos Estados Unidos da América, assim como as *Recommended Nutrient Intakes (RNI)* do Canadá.

Esses quatro valores de referência para nutrientes são: a Necessidade Média Estimada – “*Estimated Average Requirement*” (EAR), a Ingestão Alimentar Recomendada – “*Recommended Dietary Allowance*” (RDA), a Ingestão Adequada – “*Adequate Intake*” (AI) e o Nível Máximo de Ingestão Tolerável – “*Tolerable Upper Level Intake*” (UL).

Estas indicações foram baseadas na atividade enzimática sanguínea ótima da GPx3, que é alcançada com doses de 55 a 75 μg Se/dia, correspondentes a níveis plasmáticos de Se entre 70 e 90 ng/ml.

A medida do Se no plasma (ou no sangue) é o parâmetro mais usado do para avaliação da situação de Se em humanos. Como acima indicado, os valores normais de indivíduos saudáveis dependem consideravelmente da localização geográfica por causa do teor de Se, extremamente variável em solos e alimentos.

Na prática, não é recomendado realizar rotineiramente a dosagem plasmática de Se porque sua real deficiência encontra-se essencialmente ligada à subnutrição grave ou à ingestão diária de doses muito baixas. No entanto, a medida pode ser útil para o rastreio de indivíduos cuja

suplementação deve ser feita com cautela, ou mesmo evitada, para evitar excesso.

A atividade eritrocitária da GPx, que representa a parte principal da atividade enzimática total no sangue, é reputada como um bom índice funcional para o Se.

Em um estudo de prevenção do câncer, foi relatado aumento do risco de diabetes tipo 2 em pacientes tratados (média de 7,7 anos) com 200 µg de selênio por dia em adição ao consumo usual de Se (risco relativo de 2,7 em comparação ao placebo) de longo prazo⁹. O potencial efeito diabetogênico afetou, principalmente, pacientes cujas concentrações plasmáticas de selênio estavam no terço superior da faixa da normalidade. Essa consequência do excesso de Se pode ser explicado pela capacidade paradoxal de alguns compostos de selênio poder gerar espécies reativas de oxigênio¹⁰. Selênio pode também acumular-se no tecido pancreático de vários animais¹¹. Sob condições de estresse oxidativo, espécies reativas de oxigênio podem aumentar a resistência à insulina e afetar a função das células beta pancreáticas¹².

Uma análise observacional no estudo SU.VI.MAX (Suplementação com Vitaminas e Minerais Antioxidantes) também encontrou associação positiva entre os valores plasmáticos basais de Se e as concentrações de glicemia de jejum basais, e após 7,5 anos de seguimento¹³. No entanto, um outro subestudo demonstrou relação inversa entre os valores ungueais de Se e a prevalência basal de diabetes¹⁴. Além disso, um pequeno estudo transversal envolvendo indivíduos asiáticos residentes em Singapura encontrou valores séricos médios de Se semelhantes entre os participantes com e sem diabetes¹⁵.

Apesar do aparente e potencial aumento no risco de diabetes com a suplementação com Se em indivíduos com valores circulantes no limite superior da faixa normal, a ingestão de Se pode ser biologicamente plausível, particularmente em situações experimentais¹⁶.

É oportuno mencionar que o termo estresse oxidativo é, geralmente, definido como um desequilíbrio entre as concentrações de espécies reativas de oxigênio (ROS) e de espécies reativas de nitrogênio (RNS), e os mecanismos fisiológicos de defesa antioxidante, representados por enzimas com tal função (superóxido dismutase – SOD, glutathione peroxidase – GPx, catalase) e por compostos não enzimáticos (α -tocoferol, β -caroteno, ácido ascórbico, entre outros). Um radical livre é qualquer espécie que possui um ou mais elétrons não pareados, e os principais exemplos são o superóxido ($O_2^{\bullet-}$), a hidroxila ($OH^{\bullet}$), o tiol ($RS^{\bullet}$), o triclorometil ($CCl_3^{\bullet}$) e o óxido nítrico ($NO^{\bullet}$). Ambos ROS e RNS, em baixas concentrações, são necessários para funções normais das células, como manter o estado redox, a sinalização celular, o funcionamento do sistema imune e a defesa contra micro-organismos. No entanto, quando produzidos em excesso, ROS e radicais livres provocam danos ao DNA, a proteínas, a carboidratos e a lipídios, comprometendo as funções celulares normais¹⁷.

Assim como outros microelementos, pode ser tóxico ao organismo humano em determinadas formas químicas e acima de certas concentrações. O Se pode existir nas formas elementar, inorgânica (selenato de sódio e selenito de sódio) e orgânica (SeMet). As duas primeiras são, geralmente, consideradas mais tóxicas, mas exibem menor absorção oral. A maior parte do Se consumido na dieta normal ocorre na forma orgânica, como o dimetilselenido, SeMet ou selenobetaína. Entretanto, suplementos dietéticos e multivitamínicos comumente incluem formas inorgânicas, como o selenato de sódio. Portanto, os sujeitos podem estar expressivamente expostos a ambas as formas (inorgânica e orgânica) do oligoelemento.

A absorção do Se ocorre, principalmente, no duodeno, ceco e cólon, em que a selenometionina é absorvida por um mecanismo de transporte ativo; o selenito é absorvido por difusão simples; o selenato é absorvido em conjunto com o sulfato por meio de carreadores mediados por sódio e a selenocisteína pode compartilhar o sistema de transporte ativo comum aos aminoácidos básicos, como a histidina, lisina e arginina.

Pouca informação está disponível sobre a natureza química do Se contido nos alimentos. A SeMet tem sido identificada como componente principal de certos cereais (trigo, soja), leveduras e carne. O Se (nas formas de selenito e selenato de sódio) foi encontrado na água potável em pequenas quantidades. Também é utilizado em suplementos alimentares. A biodisponibilidade do selenito de sódio oscila entre 40 e 70%, enquanto a da SeMet ultrapassa 80%. Como esse processo é altamente regulado, o risco de intoxicação aguda está associado a quantidades muito elevadas (1000 µg/dia)⁸. Esse dado faz com que a utilização da SeMet seja segura e desprovida de toxicidade direta, mesmo em altas doses¹.

1.1.1 Toxicidade do Selênio

A concentração excessiva de Se no organismo é conhecida como selenose, cuja detecção costuma ser infrequente. Além disso, as informações sobre seus efeitos crônicos sobre a saúde são limitadas. Os registros de selenose, aguda ou crônica, têm descrito sintomas como anorexia, depressão, hemorragia, náusea, vômitos, cansaço, irritabilidade, parestesias, degeneração hepática e renal, esplenomegalia, distúrbios respiratórios, cegueira, incoordenação muscular, alterações ungueais (perda ou descoloração das unhas – linhas brancas transversais ou linhas de *Mees*) e queda intensa de cabelos²⁰. Os mecanismos fisiopatológicos responsáveis pelas manifestações clínicas da toxicidade não se encontram completamente esclarecidos. A queda de cabelos tem sido atribuída ao dano estrutural da queratina – acredita-se que o Se se insere entre pontes dissulfídicas, provocando o enfraquecimento dos cabelos²¹. As demais consequências, são semelhantes aos associados às intoxicações por arsênico ou outros metais; entretanto, não foram identificadas, até o presente, as vias bioquímicas envolvidas diretamente no evento. A causa mais frequente de selenose no EUA é a formulação incorreta de suplementos nutricionais contendo Se.

Os habitantes de regiões cujos produtos agrícolas vegetais exibem conteúdo elevado de Se podem também desenvolver selenose, quando ingeridos em grande proporção. As áreas notáveis de selenose endêmica incluem regiões da Venezuela e China. Por exemplo, a castanha-do-Brasil, que se desenvolve nas regiões montanhosas andinas da Venezuela, exibe a maior concentração de Se já medida em alimentos²². A selenose alimentar torna-se especialmente evidente quando as dietas consumidas contêm mais de 100 vezes a referência diária nos EUA de 55 µg/Se (Tabelas 1 e 2). O limite de ingestão superior tolerado (*UL*) – nível de ingestão máximo de um nutriente susceptível de não estar relacionado com efeitos adversos para a saúde, o qual se baseia no aparecimento de sintomas de selenose, é de 400 µg/dia²³. Estas ocorrências, em geral, súbitas, são geograficamente isoladas e sazonais, sugerindo a influência de fatores ambientais importantes na agricultura local^{24,25}.

Tabela 2 - Doses máximas de selênio (“*tolerable upper intake level*”; *UL*) não causadoras de riscos adversos à saúde na população em geral, segundo estágio de vida

Estágios de vida	Idade	Referência diária (µg/dia)	Valor máximo de tolerância de ingestão nutricional (µg/dia)
Infância	0 – 6 meses		45
	7 – 12 meses		60
	1 – 3 anos	20	90
	4 – 8 anos	30	150
	9 – 13 anos	40	280
Adolescência	14 – 18 anos	55	400
Adultos	19 – 70 anos	55	400
	>70 anos	55	400
Gravidez	≤18 anos	60	400
	19 – 50 anos	60	400
Lactação	≤18 anos	70	400
	19 – 50 anos	70	400

Adaptado de *Institute of Medicine* (2000)²³.

1.1.2 Deficiência de Selênio

Historicamente, as dietas pobres em Se são incomuns, mas têm conduzido às doenças endêmicas. Existem 3 entidades clínicas distintas associadas à deficiência de Se: doença de Keshan, doença de Kashin-Beck e cretinismo endêmico mixedematoso²⁵.

A doença de Keshan foi, inicialmente, descrita no início dos anos 30 na China, e ainda prevalece na população infantil em grandes áreas territoriais do país, nas quais o solo é deficiente em Se²⁶. O consumo alimentar nestas áreas é inferior a 19 µg/dia na população masculina e <13 µg/dia na feminina, bem abaixo da dose corrente recomendada de consumo diário (RDA).

Além da carência de Se, evidências epidemiológicas e experimentais em roedores, demonstraram a coparticipação de infecção pelo vírus coxsackie B3²⁷. Embora esta doença tenha como aspecto proeminente a cardiomiopatia, potencialmente fatal, os achados adicionais descritos incluem: mionecrose multifocal, fibrose pancreática periacinar e disfunção mitocondrial^{28,29}.

A doença de Kashin-Beck é uma desordem osteoarticular causadora de deformidades e limitações nos movimentos articulares, levando a uma diminuição do comprimento dos membros e à baixa estatura. Atinge, principalmente, adolescentes^{30,31}. Este distúrbio parece ter origem multifatorial, e ocorre de forma endêmica em certas áreas da China (Tibete), nas quais existe ingestão dietética baixa de Se, mas foi igualmente descrita na Rússia e Coreia do Norte. A suplementação do elemento melhora consideravelmente a sintomatologia, mas não traz a cura.

O cretinismo endêmico mixedematoso, em particular na África, tem sido parcialmente relacionado à deficiência de Se, pois a insuficiência iódica também ocorre na mesma região. O distúrbio se caracteriza pela função diminuída das DIOs, que provoca decréscimo na produção de T3 e pela redução do efeito das GPx (Figura 2). Os sujeitos afetados manifestam, frequentemente, sintomas de retardo mental e hipotireoidismo^{32,33}, indicando

que a suficiência de iodo pode prevenir os potenciais danos contribuintes da deficiência de Se.

Figura 2 - Selenoproteínas e metabolismo do iodo nos tireócitos. Os tireócitos concentram iodeto por meio do simportador de sódio iodeto (NIS), localizado na membrana celular basolateral, que é transportado ao lúmen apical coloidal, via pendrina (PDS). A tireotrofina (TSH) e fatores de crescimento controlam vários passos da biossíntese hormonal que ocorrem na superfície luminal apical do tireócito e envolve a tireoglobulina (TG), tireoperoxidase (TPO), oxidase dual (DUOX), e H_2O_2 como agente oxidante. Os tireócitos expressam várias selenoproteínas envolvidas na manutenção na função e integridade celulares (Sep15, DIO1, DIO2, GPx1, GPx3, TrxR, SePP, SeW). Entre as selenoproteínas a GPx3, secretada, no coloide pode estar envolvida na degradação – controlada pelo TSH - do excesso H_2O_2 , não consumida na biossíntese tireoideia. As funções específicas da SePP e SeW ainda não foram determinadas. A Sep15 pode tomar parte no controle de qualidade e degradação da TG incorretamente glicosilada. O conteúdo elevado de selênio da glândula normal é, provavelmente, resultante da expressão elevada da GPx3 na tireoide.

As causas não endêmicas de deficiência de Se, usualmente, surgem como componente de carência múltipla combinada de micronutrientes. O uso prolongado de nutrição parenteral tem sido associado a este tipo de situação, que regride quando o sujeito passa a utilizar dieta tradicional³⁴. Além disso, podem sobrevir como complicação de doenças inflamatórias intestinais progressivas, como a doença de Crohn e a colite ulcerativa.

1.1.3 Síntese de selenoproteínas específicas

Selenoproteínas são proteínas que incorporam especificamente a Sec em sua cadeia de aminoácidos, responsável por suas funções catalíticas.

A Sec, essencial para a atividade enzimática, é considerada o 21º aminoácido, porque é codificado por um códon UGA, que, normalmente, é um códon de terminação. É cotraducionalmente incorporada a proteínas por um tRNA (RNA de transferência ou transportador) específico. Isto é, os ribossomos são direcionados a traduzir aquele códon como selenocisteína por uma estrutura particular do mRNA da selenoproteína, cuja forma idealizada se assemelha a um grampo de cabelos, localizada na região 3' não traduzida. Essa estrutura conhecida como elemento de sequência de inserção de selenocisteína no processo de tradução (SECIS, do Inglês, *selenocysteine insertion sequence*) faz parte de um complexo, que inclui a proteína de ligação (SECISBP2; *SECIS binding protein 2*) e um fator de alongamento especializado (EEFSEC; *eukaryotic elongation factor, selenocysteine-tRNA-specific*), que insere o tRNA da selenocisteína em um local ribossômico vago, transformando o códon de terminação em codificador para selenocisteína³⁵ (Figura 3).

Fonte: Adaptado de Burk *et al.* (2003)³⁶

Figura 3 - Esquema da síntese de selenoproteínas. Formas dietética e tecidual de selênio (Se) são convertidas em seleneto. Esta, ou uma variedade estreitamente relacionada, serve como substrato para a selenofosfato sintetase (1) gerar o monoselenofosfato. Este produto é utilizado para transformar (2) a $\text{tRNA}^{\text{[ser]sec}}\text{-serina}$ em $\text{tRNA}^{\text{[ser]sec}}\text{-selenocisteína (Sec)}$. A $\text{tRNA}^{\text{[ser]sec}}\text{-Sec}$ é introduzida na cadeia polipeptídica da selenoproteína em formação por um complexo de inserção (3), referido como selenossomo. Este complexo envolve o elemento SECIS que atua recrutando a SECISBP2 ("SECIS binding protein 2") para formar o arranjo SECIS-SECISBP2. Além da ligação ao SECIS e ribossomos, a SECISBP2 liga EEFSEC ("eukaryotic elongation factor, selenocysteine-tRNA-specific"), que, por sua vez, arrola $\text{Sec-tRNA}^{\text{[ser]sec}}$. O complexo é transferido ao sítio peptidil do ribossomo e a Sec (em amarelo) é incorporada aos polipeptídeos nascentes (em resposta aos códons UGA presentes no mRNA da selenoproteína, indicado com os respectivos códons de início e parada). A hidrólise de ligação éster no $\text{tRNA}^{\text{[ser]sec}}\text{-peptidil}$ libera a selenoproteína sintetizada. O $\text{tRNA}^{\text{[ser]sec}}$ sem o aminoácido é exibido deixando o ribossomo.

1.1.4 As principais selenoproteínas e respectivas funções

No organismo humano, o Se é encontrado predominantemente na modalidade de SeMet, mas sua principal forma atuante é a Sec. O selenoproteoma humano é composto por 17 famílias, correspondentes a 25 selenoproteínas, algumas das quais codificadas por vários genes com funções semelhantes³⁷ (Figura 4).

Enzimas antioxidantes	Tiorredoxina	Metabolismo do hormônio tireóideo	Síntese da Sec	Transporte e armazenamento do Se	Dobramento da proteína (potencial)	Função desconhecida
↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
GPx1	TrxR1	DIO1	SPS 2	SelP	Sep15	SelH
GPx2	TrxR2	DIO2			SelN	SelI
GPx3	TrxR3	DIO3			SelM	SelO
GPx4					SelS	SelT
GPx6						SelV
SelK						
SelR						
SelW						

Figura 4 - O selenoproteoma humano. Encontram-se representadas as 25 selenoproteínas humanas classificadas pelas suas funções determinadas ou potenciais. Adaptado de Papp *et al.* (2007)³⁵.

Além da Sec, as formas mais conhecidas e mais importantes compreendem a glutathione peroxidase (GPx: 5 genes), tiorredoxina redutase (TrxR: 3 genes) e as desiodases das iodotironinas (DIO: 3 genes) (Tabelas 3, 4 e 5).

Somente algumas das 25 selenoproteínas identificadas foram caracterizadas funcionalmente. A maioria possui função enzimática redutora via selenocisteína, o que promove atividades catalíticas ou antioxidantes. Os processos celulares que necessitam da presença de selenoproteínas incluem a biossíntese de dNTPs (desoxirribonucleotídeos fosfatados) para o DNA, a remoção de peróxidos que promovem danos às células, a redução de proteínas ou lipídios oxidados, a regulação da sinalização redox, o

metabolismo dos hormônios tireoidianos, o transporte e o armazenamento do selênio, e, possivelmente, o dobramento de algumas proteínas³⁵.

A seguir, serão abordados alguns aspectos sobre selenoproteínas com papel reconhecidamente antioxidante.

1.2 Tiorredoxinas redutases

As TrxR desempenham papel importante na regeneração de antioxidantes, como a vitamina C. Favorecem, também, a regulação e a viabilidade da multiplicação e transformação celular³⁸. Consequentemente, as TrxR estão sendo ativamente investigadas tanto como agentes imunomoduladores quanto quimioterapêuticos (Tabela 3).

Tabela 3 - Tiorredoxinas redutases relevantes à saúde ou associadas a efeitos na saúde

	Função (localização)	Efeitos na saúde ou associados com polimorfismos na selenoproteína
TrxR1	Controla a atividade de fatores de transcrição, proliferação celular, apoptose; redução de sua expressão leva ao crescimento mais lento de células tumorais (citoplasmática/nuclear)	Adenoma coloretal avançado; esclerose amiotrófica lateral familiar
TrxR2	Indispensável para a viabilidade do cardiomiócito (mitocondrial)	Câncer gástrico: um SNP na TrxR2 interage com o GPx1 (Pro/Leu) para afetar o risco
TrxR3	(testicular)	...

Adaptada de Rayman (2012)³⁹. SNP: *single nucleotide polymorphisms*: função ou efeito desconhecidos

O sistema tiorredoxina é constituído pela TrxR, tiorredoxina e NADPH (fosfato de dinucleotídeo de nicotinamida e adenina), e é o maior sistema redox celular presente nos organismos vivos^{7,35,39}. A tiorredoxina é uma proteína pequena com atividade redox, que é reduzida pela TrxR usando o NADPH. O mecanismo de redução de substratos dependentes de TrxR

envolve a transferência de elétrons do NADPH para o FAD (dinucleotídeo de flavina e adenina)³⁵.

Três formas de TrxR foram identificadas em mamíferos, a TrxR1 que é citosólica, a TrxR2 mitocondrial, e a tiorredoxina-glutationa redutase (TGR/TrxR3), com atividades de glutathione e tiorredoxina redutase, específica dos testículos³⁵.

As TrxRs agem controlando a função da tiorredoxina, que é a molécula central do sistema redox, e reduzindo diversos substratos. As TrxRs contêm um domínio FAD, um domínio ligante de NADPH, um domínio de interfase e um resíduo de selenocisteína, responsável por sua função enzimática. A presença desta selenocisteína no sítio ativo da enzima demonstra a importância do selênio para sua atividade, e explica porque este elemento é necessário para a proliferação celular, uma vez que o controle do estado redox necessário à produção de desoxirribonucleotídeos ou à ativação de fatores de transcrição depende de tiorredoxina³⁵. Uma característica notável da selenoproteína TrxR é sua sensibilidade a condições de oxidação, nas quais ocorre uma alteração de sua conformação, o que pode afetar a interação com outras moléculas e ter importância no início da sinalização celular em resposta ao estresse oxidativo.

A TrxR é a única enzima conhecida que catalisa a redução da tiorredoxina oxidada, dependente de NADPH. Portanto, muitos processos celulares são subordinados a esta enzima. O sistema tiorredoxina catalisa a redução de dissulfidos proteicos, doando um hidrogênio para a ribonucleotídeo redutase (enzima essencial para a síntese de DNA), para a tiorredoxina peroxidase (enzima crítica na defesa antioxidante), e, também, para a proteína dissulfido-isomerase (PDI – a principal enzima que catalisa a formação de dissulfidos proteicos dentro do retículo endoplasmático)³⁵.

O sistema tiorredoxina tem papel central na regulação da expressão gênica por meio do controle redox de fatores de transcrição, como NFkB1 (*nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells 1*), APEX1 [*APEX nuclease (multifunctional DNA repair enzyme) 1*], AP-1 (*adaptor-related protein complex 1*), TP53 (*tumor protein p53*), receptores de

glicocorticoides e quinases reguladoras da apoptose, modulando indiretamente as atividades celulares, como proliferação, apoptose programada e ativação da resposta imune³⁵.

A indução de diversas enzimas citoprotetoras em resposta a situações de estresse ocorre, principalmente, em nível transcricional e é mediada pelo elemento de resposta antioxidante (ARE), encontrado na região promotora de diversos genes que codificam enzimas de destoxificação. A ativação da transcrição gênica por meio do ARE é mediada, em grande parte, pelo NFE2L2 [*nuclear factor (erythroid-derived 2)-like 2*], um fator de transcrição que, devido a esta interação, regula as respostas celulares ao estresse oxidativo. Substâncias produzidas em resposta ao estresse oxidativo são indutoras potentes da ativação do ARE e, portanto, alterações no estado celular redox em resposta a níveis elevados de ROS ou à capacidade antioxidante reduzida constituem sinais importantes para promover as respostas transcricionais mediadas por este elemento de resposta. A atividade do NFE2L2 é controlada, parcialmente, pela proteína KEAP1 (do Inglês, *Kelch-like ECH-associated protein 1*), via ubiquitinação (modificação pós-traducional da proteína para degradação, pela ligação covalente de um ou mais monômeros da pequena proteína ubiquitina) em um processo dinâmico que permite ao NFE2L2 controlar a expressão tanto de genes constitutivos quanto induzíveis.

Uma vez que a expressão da TrxR é induzida na presença de ativadores do fator de transcrição NFE2L2, ou seja, de substâncias resultantes do estresse oxidativo, sugere-se que esta enzima possua um papel protetor contra o câncer. Nestes casos, seu papel seria manter as funções essenciais celulares (inclusive a síntese de desoxirribonucleotídeos das células cancerosas), mas também promover uma resposta regulatória contra as transformações malignas, contribuindo para o sistema de defesa celular e prevenindo a iniciação do câncer. No entanto, existem suspeitas de que o papel protetor na fase de promoção da doença se modifique e a atividade da enzima seja utilizada em detrimento à saúde e para o crescimento tumoral. Portanto, muitos estudos ainda são necessários para

uma investigação mais profunda sobre a função desta enzima nos diferentes estágios de desenvolvimento dos tumores⁴⁰.

1.2.1 Peroxidases da glutatona

Aproximadamente metade das selenoproteínas já caracterizadas apresenta função antioxidante^{17,35,39}. Dentre os diferentes grupos, aquele das GPx é o mais numeroso (Tabela 4).

Tabela 4 - Localização e função das glutatona peroxidases

Isoenzimas glutatona peroxidases	Localização	Função ou efeitos na saúde associados a polimorfismos nas selenoproteínas
GPx1	Fígado, hemácias	Importante no estresse oxidativo grave. Ação nos processos infecciosos viróticos. Portadores de GPx1 - Pro198Leu exibem Se circulante baixo e atividade reduzida da GPx1. Efeitos cardiometabólicos; câncer: pulmão, próstata, bexiga, fígado; doença de Keshan; doença de Kashin-Beck.
GPx2	Fígado, trato gastrointestinal	Primeira linha de defesa contra hidroperóxidos orgânicos ingeridos. Envolvimento na apoptose e proliferação celulares
GPx3	Sangue, intestino, leite materno, adrenal, fluido de lavagem pulmonar, túbulo renal proximal	Acredita-se desempenhar de forma predominante atividades reguladoras associadas ao estresse oxidativo e à malignidade. Expressão induzida por hipóxia. Acidente vascular cerebral isquêmico; câncer diferenciado da tireoide.
GPx4	Distribuída pelo citoplasma, núcleo e mitocôndrias. Expressa no testículo, pulmão, coração, cerebelo. Componente estrutural essencial da parte média do espermatozoide	Antioxidante envolvido na proteção das biomembranas. Reduz os hidroperóxidos fosfolipídicos nas membranas celulares. Envolvida nos processos sinalizadores de redox e reguladores (apoptose, inibição das lipoxigenases). Requerido para fertilização pelo espermatozoide. A falta de GPx4 é letal no estágio embrionário inicial. Pólipos adenomatosos, adenocarcinoma colorretal, sobrevida no câncer de mama.
GPx5	Epidídimo	Atua potencialmente como uma função de apoio para as isoformas GPx contendo selenocisteína no esperma. Pode ser secretada ou apresentar-se ligada à membrana.
GPx6	Glândula de Bowman, epitélio olfativo, tecidos embrionários	Olfato. Enzima considerada metabolizadora de odorantes
GPx7	Tecido mamário	Defesa do câncer mamário contra o estresse oxidativo

Adaptada de Negro (2008)³⁷ e Rayman (2012)³⁹. GPx, glutatona peroxidase.

Entre outras funções, contribuem para a atividade microbicida dos fagócitos, regulação da tradução de sinal e expressão gênica, e para o dano oxidativo de ácidos nucleicos, proteínas e lípides (Figura 5).

Figura 5 - Relação entre a situação de selênio, atividade da glutathiona peroxidase, geração de H_2O_2 e ação da TPO. O principal local de iodinação da tireoglobulina (TG) no folículo tireoideo é a superfície externa da membrana plasmática apical, em que se encontram presentes todos os componentes do processo. A tireoide é fonte de peróxido de hidrogênio (H_2O_2), substrato necessário para a atividade da tireoperoxidase (TPO) e importante para a síntese hormonal. A geração de H_2O_2 é passo limitante desta última e é regulada pela interação do TSH como o sistema do AMP cíclico. A produção de H_2O_2 leva à iodinação dos resíduos tirosina e seu acoplamento à TG. Em situação de suficiência de Se, a glutathiona peroxidase (GPx) controla efetivamente o processo de adição de iodo pela degradação de H_2O_2 , enquanto na deficiência de Se, a atividade diminuída da GPx resulta no aumento da geração de H_2O_2 e atividade da TPO.

Atualmente, quatro membros da família da GPx têm função mais bem conhecida (GPx1, GPx2, GPx3 e GPx4). As GPx são reconhecidas por catalisar a redução do peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos orgânicos, protegendo, assim, as células contra danos oxidativos.

A GPx clássica (GPx1), a selenoproteína mais abundante em mamíferos, foi a primeira a ser identificada e está presente no citosol das células, no qual funciona como antioxidante reduzindo peróxidos de hidrogênio (H_2O_2) e hidroperóxidos orgânicos livres, e transformando-os, respectivamente, em água e álcool.

A GPx gastrointestinal (GPx2) é a selenoproteína antioxidante mais importante no cólon e protege o organismo de mamíferos da toxicidade causada por hidroperóxidos lipídicos.

A GPx extracelular (GPx3) tem expressão elevada nos rins e pode ter função antioxidante nos túbulos renais ou espaços extracelulares.

A GPx fosfolípido hidroperóxido (GPx4) é diretamente responsável pela redução de hidroperóxidos lipídicos. Ela reage com estes últimos e com hidroperóxidos pouco solúveis, além de metabolizar colesterol e hidroperóxidos de éster de colesterol em lipoproteínas de baixa densidade oxidadas⁴¹. Recentemente, a GPx6 foi caracterizada em epitélio olfatório e tecidos embrionários.

Outras variantes da GPx em que o resíduo de selenocisteína é substituído por cisteína incluem a GPx5 com expressão restrita no epidídimo e a GPx fosfolípido hidroperóxido sem a selenocisteína, nomeada de GPx7³⁵. Essas enzimas diferem em sua distribuição tecidual e nos substratos específicos para degradação⁴².

Todas as GPx reduzem peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos a partir da glutathiona (GSH), no entanto, a especificidade para o substrato é bastante diferente para cada GPx. A GPx1 reduz apenas hidroperóxidos solúveis, como o H_2O_2 , e alguns hidroperóxidos orgânicos, como aqueles de ácidos graxos, de cumeno ou de terc-butil. Acredita-se que a GPx2 tenha especificidade semelhante àquela da GPx1. A GPx 4 e, em algum grau, a GPx3, também reduzem hidroperóxidos de lipídios mais complexos como aqueles da fosfatidilcolina. Entretanto, a GPx4 reduz de maneira eficaz hidroperóxidos de timina, de lipoproteínas e de ésteres de colesterol, e é a única GPx que atua reduzindo hidroperóxidos incorporados a membranas⁴³.

A síntese de selenoproteínas é totalmente dependente da disponibilidade de selênio. Quando há baixa ingestão, ocorre maior direcionamento do mineral para a síntese de determinadas selenoproteínas, enquanto outras recebem quantidades menores. Acredita-se que a ordem de direcionamento de selênio para as GPx seja: $GPx2 > GPx4 > GPx3 = GPx1$. Em razão disto, algumas enzimas perdem sua atividade mais rapidamente na deficiência de selênio. Outras podem não apresentar alterações em casos de deficiência moderada de selênio, perdendo atividade somente após deficiência grave e prolongada do mineral. A perda de atividade implica, também, na redução da estabilidade da enzima, o que, por sua vez, reduz os níveis dos respectivos RNAm. Esta característica é menos importante do que a perda de atividade da enzima, mas as diferenças na estabilidade dos RNAm específicos de cada selenoproteína influenciarão no direcionamento do selênio para cada uma delas. Em casos de repleção do mineral, selenoproteínas que apresentam maior estabilidade são sintetizadas mais rapidamente em relação àquelas menos estáveis, sendo que a GPx1 e a GPx3 são aquelas que apresentam resposta mais rápida à depleção de selênio e, após a repleção, demoram mais tempo para se tornar detectáveis e atingir novamente os níveis máximos de expressão⁴³ (Figura 6).

Fonte: Adaptado de Drutel *et al.* (2013)¹⁸.

Figura 6 - Alterações na expressão de selenoproteínas em tireócitos no estado basal e após a estimulação do TSH. Em tireócitos humanos, a GPx3 (ou GPx extracelular ou GPx circulante) é uma das selenoproteínas com maior expressão e, consequentemente, contribui para o elevado conteúdo de selênio da tireoide. Ela parece ser um regulador direto da síntese hormonal da tireoide. *No estado basal*, a GPx3 é ativamente secretada no lúmen folicular, em que irá proteger a síntese hormonal da degradação pela H_2O_2 produzida nesse estado. Além disso, as expressões da GPx1, TrxR1 e DIO1 encontram-se igualmente diminuídas. *Em células estimuladas pelo TSH*, a ativação das vias de sinalização Ca^{++} /fosfatidilinositol (Pi), incrementam a produção de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e a expressão de GPx1 e TrxR1, e inibem a secreção de GPx3. A expressão da GPx4 permanece inalterada. Estas alterações proporcionam um grande aumento nos sistemas antioxidantes de proteção das células para evitar qualquer dano peroxidativo da H_2O_2 , que pode se difundir para o tireócito. ou ativar as vias de sinalização Ca^{++} /fosfatidilinositol. As selenoenzimas, igualmente, destoxificam quaisquer hidroperóxidos lipídicos prejudiciais. A via de sinalização do AMPc (AMP cíclico) incita a expressão de DIO1 e DIO2 para promover a desiodação do pró-hormônio tiroxina (T4) para o hormônio, metabolicamente, ativo tri-iodotironina (T3). MIT, monoiodotirosina; DIT, di-iodotirosina.

1.2.2 Desiodases das iodotironinas

Três oxidoredutases diferencialmente distribuídas (DIO1, DIO2, DIO3) constituem a família das desiodases das iodotironinas (DIO). Catalisam a ativação (DIO1 e DIO2) e inativação (DIO3) da T4, do T3 e do T3-reverso removendo iodo (Figura 7)⁴⁴. Estas vias de transformação integradas à manutenção da homeostase fisiológica normal também permitem a adaptação metabólica às agressões ou injúrias graves.

Figura 7 - Metabolismo dos hormônios tireoideos pelas desiodases tipos 1, 2 e 3

As DIOs apresentam diferentes localizações e funções nos tecidos humanos. Na Tabela 5 estão resumidas as funções ou os efeitos na saúde das desiodases das iodotironinas.

Tabela 5 - Funções das desidases relevantes à saúde ou associadas a efeitos na saúde

	Função (localização)	Efeitos na saúde
DIO1	Produção de T3 na tireoide e tecidos periféricos (tireoide, fígado, rim)	Concentração de IGF1 livre, força muscular, massa magra corporal
DIO2	Produção de T3 em tecidos periféricos (cérebro, hipófise, músculo, ouvido, BAT, coração)	Diabetes tipo 2 e resistência insulínica, osteoartrite e densidade mineral óssea, retardo mental (em áreas com carência de iodo)
DIO3	Produção de rT3 previne a superexposição do feto ao T3 (córtex cerebral, pele, placenta, útero grávido)	Osteoartrite

Adaptada de Rayman (2012)³⁹. BAT: tecido adiposo marrom; IGF1: fator 1 de crescimento insulina símile

A DIO1 é expressa, principalmente, no fígado, no rim, na tireoide e na hipófise; a DIO2 na tireoide, no sistema nervoso central, na hipófise e no músculo esquelético; a DIO3 é o mais proeminente manifesta no útero grávido, na placenta, no fígado embrionário, no cérebro embrionário e neonatal, e na pele neonatal. As três DIOs exercem diferentes ações: a DIO1 desempenha papel na produção de T3 na tireoide e controla as concentrações de T3 na circulação, enquanto as DIO2 e DIO3 parecem atuar nos processos de desidatação locais. Evidências recentes indicam que a DIO2 representa a principal fonte do circulação T3 circulante em indivíduos eutireoideos, ao passo que a DIO1 contribui, mais significativamente, para níveis elevados tireotóxicos de T4, como observado em portadores de hipertireoidismo. A presença de Sec parece ser absolutamente necessária para a atividade catalítica das DIOs e, portanto, não é de estranhar que os valores de Se têm um efeito regulador direto sobre a expressão daquelas⁴⁴. Entre as várias selenoproteínas, as DIOs ocupam o alto escalão na hierarquia de abastecimento durante a deficiência de Se, com a expressão da DIO1 sendo mantida ou apresentando-se ligeiramente aumentada na tireoide. No cérebro e na placenta, a manifestação das DIO1 e DIO3 é mantida durante a restrição de Se, enquanto a expressão da DIO1 diminui em outros tecidos.

Os mecanismos de regulação das DIOs pela disponibilidade de Se não são totalmente compreendidos. Contudo, parecem ser tecido ou órgão específicos. Reguladores adicionais na expressão das DIOs são o T3 e TSH

(que atuam em uma alça de *feedback*), e monofosfato de adenosina cíclico (AMPc)⁴⁵.

1.2.3 Outras selenoproteínas

Várias outras selenoproteínas foram identificadas, cujas localizações e funções foram claramente definidas. Estão envolvidas em múltiplos processos que se envolvem o transporte e entrega de Se, apoptose, proliferação celular e câncer, função de células musculares, inflamação, e oxidação (Tabela 6). Além disso, existem diversas ainda mal caracterizadas (SelH, SelO, SelT, e SelV), e cujas funções são consideradas relacionadas com processos redox⁴⁶.

Foram classificadas por ordem alfabética, a saber: 15-kDa selenoproteína/Sep15, SelH, SelL, SelK, SelM, SelN, SelO, SelP/SePP, SelR, SelS, SelT, SelV e SelW. Poucas destas tiveram seu desempenho caracterizado como as GPxs, TrxRs, SPS2 e DIOs^{35,44} (Tabela 6).

Tabela 6 - Localizações e funções das demais selenoproteínas que não as GPx, TrxR e DIO

Selenoproteínas	Localização	Função
Selenoproteína P	Secretada no sangue pelo fígado. Expressa em todos os tecidos.	Contém 50% do Se circulante Transporte e transferência de Se Quelador de metais pesados
Selenoproteína 15	Cérebro, pulmão, testículo, fígado, tireoide, rim	Envolvida no dobramento de glicoproteína Função potencial de supressão tumoral
Selenoproteína N	Expressa em todos os tecidos.	Desempenha função importante nos tecidos musculares
Selenoproteína W	Músculo, coração, intestino, próstata, esôfago, pele	Função antioxidante Ação funcional potencial no músculo e cérebro
Selenofosfato sintetase 2	Expressa em todos os tecidos.	Componente essencial da maquinaria biossintética da Sec
Selenoproteína R	Expressa em todos os tecidos.	Reparação das proteínas oxidativas danificadas
Selenoproteína M	Coração, pulmão, rim, útero, placenta, tireoide, cérebro	Ação potencial no cérebro (níveis baixos estão associados com doença de Alzheimer)
Selenoproteína S	Expressa em todos os tecidos.	Ligação entre 2 diabetes tipo 2, inflamação e doença cardiovascular
Selenoproteína K	Coração, músculo, pâncreas, fígado, placenta	Função antioxidante no coração

Adaptada de Negro (2008)³⁷. Se, selênio.

1.3 Selênio e função da tireoide

Vários estudos avaliaram o impacto da reposição de Se na função tireoidea em diferentes grupos populacionais de países industrializados⁴⁷.

Suplementos de selênio entre 10 até 300 µg/dia foram administrados de forma cotidiana a indivíduos aparentemente saudáveis, durante 3 meses⁴⁸, 5 meses^{49,50}, 6 meses⁵¹ ou 12 meses⁵². Em alguns dos estudos, os indivíduos apresentavam deficiência de Se⁵³⁻⁵⁵, enquanto em outros, não^{56,57}.

Quatro estudos demonstraram aumento significativo nos valores plasmáticos de Se nos sujeitos que se beneficiaram com a reposição, em comparação ao grupo controle. No entanto, apenas 2 trabalhos demonstraram alterações nas concentrações dos hormônios da tireoide e/ou nos valores de TSH.

O primeiro estudo⁴⁸, que incluiu pequeno número de indivíduos idosos hígidos, mostrou diminuição significativa nas concentrações de T4 no grupo que recebeu 100 µg de Se/dia durante 3 meses, em comparação ao grupo controle. Noutro estudo, o mesmo autor demonstrou que os sujeitos idosos eutireoideos apresentaram parâmetros tireoideos alterados, com relação T3/T4 diminuída e valores elevados de TSH, que estavam associados com redução no Se circulante e na atividade eritrocitária da GPx⁵³. Essas alterações foram consideradas relacionadas à diminuição na atividade da desidrase periférica e, portanto, à redução da produção de T3.

No segundo estudo, que incluiu indivíduos com idade entre 60 e 90 anos, portadores de baixos valores plasmáticos de Se, os sujeitos foram suplementados com 10 a 40 µg/dia do metaloide, durante 5 meses⁴⁹. As concentrações circulantes de Se aumentaram em todos os grupos supridos. Os valores de T4 diminuíram, mas a redução foi apenas significativa naquele que recebeu 10 µg de Se/dia, ou quando todos os resultados foram combinados e comparados com o grupo controle.

Outros trabalhos não encontraram alterações significativas nos parâmetros tireoideos em idosos saudáveis após a suplementação de Se⁵⁷, particularmente o estudo de Rayman *et al.*⁵¹. Os autores avaliaram os efeitos

da repleção de Se em diferentes doses (100, 200 e 300 µg/dia), em população de 501 idosos eutireoideos durante um período de 6 meses. Não foram constatadas alterações na função tireoidea (concentrações de TSH, T4 total, T4 livre, T3 total, T3 livre, relação T3 total/T4 total e relação T3 livre/T4 livre), em relação ao grupo controle, apesar do aumento nos valores circulantes de Se. Cabe assinalar, contudo, que não foram observadas deficiências significativas deste elemento nos valores circulantes dos participantes, anteriores à inclusão no estudo (91 µg/L). Da mesma forma, outros autores não encontraram alterações nas variáveis tireoideas após a suplementação com Se em populações deficientes⁵⁰, ou não deficientes⁵².

Portanto, as evidências clínicas sobre os efeitos da ingestão de Se na função da tireoide não demonstraram uma vinculação manifesta entre a expressão e atividade das desidases, e o oligoelemento. Apenas as deficiências muito graves parecem afetar a função tireoidea, e, sobretudo, a síntese de T3.

1.3.1 Selênio e tireoidite crônica autoimune

A tireoidite crônica autoimune (TCA) ou tireoidite de Hashimoto (TH) é uma das doenças autoimunes mais prevalentes e afeta cerca de 10% das mulheres e 2% dos homens em situação de suficiência iódica. A predisposição genética ou determinados fatores ambientais, incluindo o deficit de Se, parecem implicar a patogênese da doença^{58,59}.

Não existe tratamento específico capaz de suprimir a destruição glandular autoimune; a reposição com L-tiroxina (LT4) tem sido a única forma terapêutica paliativa. O uso profilático de LT4 em sujeitos eutireoideos pode suprimir de forma moderada as concentrações séricas de autoanticorpos devido a um possível declínio no estímulo antigênico (por atenuação tireoidea) dos tireócitos, mas não por supressão direta dos anticorpos⁶⁰.

A demonstração de vínculo entre deficiência de Se, autoimunidade alterada e inflamação estimulou a realização de estudos para examinar se a suplementação de Se poderia modificar a produção de autoanticorpos em sujeitos portadores de TCA.

Pelo menos, 10 estudos prospectivos realizados em países nos quais a oferta de Se era inferior ao normal ou adequada avaliaram os efeitos da suplementação sistemática em portadores de TCA⁶¹⁻⁷³. Em todos, os participantes receberam terapia substitutiva com levotiroxina (LT4) para manter os valores TSH dentro da faixa de referência. O Se foi administrado na forma de selenometionina ou como selenito de sódio nas doses de 80, 100 ou 200 µg/dia durante 3 a 12 meses.

Todos os estudos⁶²⁻⁷³, com exceção de 3^{68,72,73}, demonstraram redução significativa nos títulos de anticorpos antiTPO aos 3 meses. A continuação da suplementação conduziu a uma diminuição adicional dos títulos em 6 meses^{64,65}, 9 meses⁶³ e 12 meses⁶⁷. Recentemente, um estudo realizado em portadores de TCA com valores de T4 e de TSH normais ou ligeiramente elevados, devido à ausência de terapia de LT4, demonstrou redução significativa nos títulos de anticorpos antiTPO após 12 meses de suplementação com selenito de sódio administrado em doses fisiológicas (80 µg/dia)⁶⁹. Em desacordo, Turker *et al.*⁶⁵ comprovaram que a dose de 100 µg de SeMet/dia foi ineficaz na supressão dos títulos de antiTPO. Apontam para o fato de que a dose terapêutica deve ser maior do que a fisiológica de Se (80 – 100 µg/dia) para reabastecer os estoques deficientes de GPx, reduzir a inflamação e as concentrações de antiTPO nos afetados; ou seja, da ordem de 200 µg/dia (Figura 8). Tal fato foi corroborado por Bonfig *et al.*⁷⁰ A razão para este resultado surpreendente ainda é desconhecida. Por fim, segundo os estudos europeus, a posologia suplementar predominante de 200 µg/dia, seja de selenito seja de SeMet, parece encerrar efeito protetor sobre a tireoide⁷².

Fonte: Adaptado de Mazokopakis *et al.* (2007)⁶⁷.

Figura 8 - Alterações nos títulos de anticorpos antiTPO após a suplementação de selênio (Se) em indivíduos com tireoidite crônica autoimune. Após a saturação tissular com uma alta dose de Se (200 µg/dia) durante 3 meses (1ª etapa), a dose foi reduzida para 100 µg/dia e mantida por mais 3 meses (2ª etapa). Nessa segunda fase do estudo, foram incluídos apenas sujeitos previamente (1ª fase) tratados com 200 µg/dia de Se. Observar a elevação evidente dos títulos de antiTPO sob uso de Semet 100 µg/dia em comparação à alta dose, confirmando a ineficácia da posologia menor.

Além disso, a redução de antiTPO foi mais significativa quanto maior o seu título inicial. Na verdade, Karanikas *et al.*⁶⁸ demonstraram haver correlação entre os valores mais elevados de antiTPO, presentes durante os episódios agudos de inflamação, e a produção de citocinas inflamatórias [IFNG (interferon gama), TNF (fator de necrose tumoral)] por linfócitos tireoideos. Os autores indicaram que a eficácia do Se seria mais acentuada nessas circunstâncias.

Apenas um estudo demonstrou melhora na estrutura morfológica da glândula tireoide por ultrassom em indivíduos cujos valores de antiTPO haviam decrescido para menos de 50 mUI/L⁶⁵, sem ocorrência de alterações hormonais (TSH, T4, T3), ou alterações no tratamento com LT4.

Outro estudo exclusivo mostrou que a administração de 200 µg/dia de Semet, por um período de 6 meses, não teve efeito significativo sobre os títulos de autoanticorpos tireoideos ou na infiltração linfocitária da glândula tireoide avaliada por PAAF⁷³.

Com a interrupção da suplementação de Se, um estudo revelou que os títulos de antiTPO se elevaram após 3 a 6 meses⁶³, enquanto outro constatou que os valores de anticorpos se mantiveram estáveis⁶⁹. Em 3 estudos, os indivíduos suplementados relataram melhora do bem-estar, independentemente do efeito no antiTPO. O efeito positivo parece estar relacionado com um efeito direto do Se sobre as funções cerebrais e cognitivas. A segurança foi considerada excelente na maioria dos participantes, exceto em alguns raros casos em que foram relatados distúrbios gastrointestinais.

A maioria dos autores considera que o Se afeta o sistema imunológico por meio da regulação da produção de EROs e seus metabólitos. Sua suplementação parece reforçar as atividades da GPx e da TRx intratireoideas, provavelmente pelo aumento da concentração daquele elemento na glândula⁶⁴. Dados recentes também mostraram que existe uma relação entre o Se e células T (Figura 9).

Figura 9 - Efeito do consumo de selênio na diferenciação de células T CD4⁺. Níveis adequados de ingestão de Se não interferem na diferenciação de células T e T helper (Th)1 *versus* diferenciação de Th2 que, em grande parte, é determinada por sinais fornecidos pela célula apresentadora de antígeno ou ambiente de citocina. Por exemplo, células T CD4⁺ ativadas em meio pró-Th1 ou meio pró-Th2 podem diferenciar-se tanto em células Th1 ou Th2. A suplementação de Se aumenta os sinais para os receptores de célula T (RCT) e favorece a diferenciação a um fenótipo Th1. Em contraste, a deficiência reduz os sinais para os RCT, com inclinação para menor ativação da diferenciação com tendência a um fenótipo Th2.

Xue *et al.*⁷⁵ constataram em roedores com tireoidite autoimune induzida por iodo significativa redução nos valores de anticorpos antiTG associada à diminuição da infiltração linfocitária na tireoide após a suplementação. Finalmente, outros dados parecem apontar para a participação de outras selenoproteínas, particularmente, em macrófagos. Em células mieloides de camundongos submetidos à exclusão do gene do tRNA^{[Ser]Sec} (Figura 3), observou-se migração aberrante de macrófagos, que altera a manutenção da integridade dos tecidos corporais⁷⁶.

Finalmente, é oportuno mencionar que o hábito de fumar tem sido associado de forma controversa à elevada prevalência de TCA. Alguns estudos relataram maior prevalência de fumantes apresentam hipotireoidismo de Hashimoto (HH), enquanto outros foram incapazes de encontrar tal associação^{77,78}. Estudos sobre tabagismo e HH são, no entanto, poucos em número e de natureza controversa. Enquanto metanálise prévia não conseguiu detectar associação significativa entre ambos⁷⁹, outra publicação muito recente indicou que o tabagismo poderia proteger contra o aparecimento de anticorpos antiTPO, diminuindo o risco de desenvolvimento HH. Os autores propuseram haver associação negativa entre o tabagismo e a ocorrência de autoanticorpos da tireoide, e um risco menor de incidência de hipotireoidismo em fumantes⁸⁰. Por outro lado, a suspensão do fumo favoreceria o desenvolvimento desse fenômeno⁸¹.

1.3.2A influência de polimorfismos de nucleotídeos únicos na suplementação com selênio

A farmacogenômica analisa as variações hereditárias nos genes que determinam a resposta à uma droga ou substância e explora as maneiras como essas variações podem ser usadas para prever se um indivíduo terá boa, má, ou nenhuma resposta a ela.

Atualmente, já está bem estabelecido que genes e outras sequências de DNA interagem com diversos fatores ambientais, inclusive com a alimentação, podendo influenciar os riscos de surgimento de doenças.

Quando há uma alteração na sequência de nucleotídeos de um determinado gene, é possível que haja, também, diferenças nos aminoácidos codificados e, por consequência, a estrutura e a função da proteína podem ser afetadas. Formas variantes de um gene em uma localização particular de um cromossomo são conhecidas como alelos. Considera-se que um alelo variante (ou seja, não normal) seja comum quando ocorre em mais de 1% de uma população, sendo, então, denominado polimorfismo. Caso essa proporção seja inferior a 1%, a alteração é conhecida como mutação. Dentre os polimorfismos, os de nucleotídeo único (SNP, do Inglês: *single nucleotide polymorphism*) são os mais comuns, sendo que, em seres humanos, existem, aproximadamente, 12 milhões deles⁸². Um SNP é caracterizado por uma alteração em um códon de DNA, em que uma base simples é substituída por outra. Devido à frequência relativamente alta (cerca de 1 a cada 1000 nucleotídeos), os polimorfismos são considerados as maiores variações genéticas entre indivíduos. Aqueles polimorfismos que ocorrem na região promotora dos genes ou em éxons, possivelmente, estão mais associados com ambos os riscos de desenvolvimento e resistência a determinadas doenças crônicas não transmissíveis. A relação existente entre fatores genéticos e drogas ou substâncias, certamente, depende da identificação de SNPs em genes de interesse.

Na tentativa de esclarecer as ligações entre estresse oxidativo e doenças, diversos estudos utilizam medidas de valores sanguíneos de antioxidantes ou suplementações com essas substâncias. Devido às grandes variações orgânicas interindividuais e na ingestão de antioxidantes, a interpretação desses estudos é bastante complexa. É neste sentido que os avanços constantes nas técnicas de biologia molecular e no campo da farmacogenômica contribuem para a detecção de variações genéticas em diversos genes, incluindo aqueles que codificam enzimas de defesa antioxidante, e as suas possíveis consequências fenotípicas¹⁷.

Os indivíduos diferem substancialmente na sua capacidade para aumentar a atividade de selenoproteínas em resposta ao aporte adicional dietético ou farmacológico de Se. A variação interindividual pode, em certa medida, ser explicada por polimorfismos de nucleotídeo único em genes de seleproteínas que determinam a eficiência com a qual as pessoas podem incorporar o Se àsquelas. A síntese da selenoproteína é um processo complexo que requer múltiplos fatores para a inserção bem-sucedida de Se como Sec, muitos dos quais são codificadas por genes polimórficos. Isso resulta em variação interindividual e interracial na eficácia selenoproteínas eficiência mediante a qual as selenoproteínas são expressas¹⁷.

Um exemplo é o polimorfismo prolina/leucina (Pro/Leu) no códon 198 do gene GPx1, em que a posse de um alelo da leucina está associado a um risco aumentado de câncer da bexiga na população japonesa⁸³ e de câncer de pulmão em caucasianos, mas não entre indivíduos de etnia chinesa, que não exibem esse polimorfismo⁸⁴. O mesmo polimorfismo foi detectado em indivíduos suecos⁸⁵.

Recentemente, foi demonstrado que indivíduos chineses residentes em áreas deficientes em selênio e heterozigotos ou homozigotos para a variante com relação a este mesmo polimorfismo apresentavam risco 123% maior de desenvolver a doença de Keshan, quando comparados àqueles homozigotos selvagens. Além disso, a frequência de alelos variantes foi maior nos pacientes residentes nas áreas endêmicas do que nos controles externos e a frequência destes alelos foi menor à medida que a concentração sanguínea de selênio foi mais elevada. Quando comparados aos indivíduos homozigotos naturais, aqueles heterozigotos ou homozigotos para a variante também apresentaram atividade da GPx1 e concentrações de selênio significativamente menores. Considerando as diferenças observadas, cardiomiócitos foram transfectados com ambos os alelos. A atividade da GPx1 foi significativamente maior nas células transfectadas com o alelo natural e estas também foram mais responsivas à suplementação com selênio do que aquelas que continham o alelo Leu. Portanto, estes dados demonstram uma relação gene-ambiente importante, considerando-se que

baixos níveis de selênio no sangue, e, também, o polimorfismo Pro198Leu no gene que codifica a GPx1, são fatores contribuintes da doença de Keshan, a qual exibe características relacionadas à alteração do equilíbrio metabólico com aumento da peroxidação lipídica e do conteúdo de radicais livres⁸⁶.

Jablonska *et al.*⁸⁷ não observaram diferenças significativas entre as concentrações de Se plasmático e a atividade da GPx1 entre os diferentes genótipos relacionados ao polimorfismo Pro198Leu em indivíduos poloneses saudáveis. Estes autores verificaram, entretanto, que a associação destes parâmetros com o polimorfismo não foi a mesma entre os diferentes alelos. A atividade da GPx1 se correlacionou positivamente com as concentrações de selênio plasmático em indivíduos carreadores do alelo selvagem, porém o mesmo não ocorreu naqueles indivíduos homozigotos para a variante. Concluiu-se, a partir deste estudo, que o referido polimorfismo apresenta importância orgânica funcional, a qual é relacionada com respostas distintas da atividade da GPx1 ao suprimento de selênio, sendo que indivíduos carreadores de alelos variantes apresentam níveis reduzidos de atividade enzimática quando comparados a indivíduos com genótipo selvagem (Figura 10).

Fonte: Adaptado de Jablonska *et al.* (2009)⁸⁷.

Figura 10 - Associação entre a atividade GPx1 e concentração sérica de Se em indivíduos saudáveis com diferentes genótipos GPx1 (Pro/Pro, Pro/Leu e Leu/Leu).

Da mesma forma, a nutrigenômica (relação existente entre fatores genéticos e alimentação) certamente depende da identificação de SNPs em genes de interesse⁸⁷. No Brasil, um estudo recente avaliou a prevalência deste polimorfismo em 37 mulheres que apresentavam obesidade mórbida. Os seguintes dados foram encontrados: 48,7% Pro/Pro, 13,5% Leu/Leu e 37,8% Pro/Leu. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas nas concentrações sanguíneas de selênio e na atividade eritrocitária total da GPx entre os diferentes genótipos, mesmo após a ingestão de uma unidade de castanha-do-brasil (com peso médio de 5g e concentração total de, aproximadamente, 290 µg de selênio) ao dia durante oito semanas. Entretanto, as participantes que tinham, pelo menos, um alelo variante apresentaram atividade eritrocitária da GPx 16,4% menor do que as homozigóticas selvagens na fase pré-suplementação. Após o consumo das castanhas, os valores da atividade da GPx foram 15,5% menores nas participantes que apresentaram alelos variantes⁸⁹.

Diferenças entre a associação da atividade da GPx com as concentrações eritrocitárias de Se também foram encontradas no estudo de Cominetti *et al.*⁸⁹ citado acima, tanto antes quanto após a suplementação com castanha-do-brasil. Nas participantes com genótipo Pro/Pro, observou-se correlação positiva daqueles marcadores nas fases pré e pós-suplementação. Para as voluntárias carreadoras de alelos variantes, não houve esta interação nas duas fases. Estes dados, considerados em conjunto, sugerem um direcionamento alterado do mineral para a síntese de selenoproteínas em indivíduos que apresentam, pelo menos, um alelo variante com relação a este polimorfismo. Além disso, participantes homozigóticas para o alelo selvagem apresentaram redução no índice de danos em DNA após a ingestão das castanhas-do-brasil, o que não ocorreu naquelas carreadoras de um ou dois alelos variantes. Ainda, estas últimas apresentaram valores de danos significativamente maiores em relação às homozigóticas selvagens. Nas participantes homozigóticas para a variante, os valores de danos em DNA se correlacionaram negativamente com a atividade da GPx na fase pós-suplementação, o que não ocorreu naquelas

heterozigóticas e nas homozigóticas selvagens. Os autores brasileiros concluíram que os níveis mais altos de danos em DNA, observados em mulheres carreadoras do alelo Leu/Leu após a suplementação, podem influenciar os riscos para o surgimento de doenças crônicas não transmissíveis, visto que o estresse oxidativo é fortemente correlacionado a estas.

Presume-se que, na resposta à ingestão dietética ou suplementação com Se, a atividade GPx1 irá comportar-se de forma distinta conforme os diferentes genótipos GPx1 individuais. Ou seja, um aumento relativo na atividade da enzima deverá ser maior em sujeitos com, pelo menos, um alelo GPx1198Pro do que naqueles com ambos os alelos GPx1198Leu. Supondo que polimorfismo genético afeta a atividade enzimática, este parâmetro não deve ser considerado como um bom biomarcador em situação de nível baixo de Se, ou nos ensaios de suplementação, a menos que o genótipo GPx1 seja analisado⁸⁹.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

Considerando que:

- a) os dados relativos à ação do Se como adjuvante à LT4 no tratamento da tireoidite crônica autoimune são controversos;
- b) houve melhora da ecogenicidade tireoidea na maioria, mas não em todos os estudos;
- c) como existem poucos registros sobre a situação do Se, em segmento populacional urbano de São Paulo [86-89] com uso da castanha-do-brasil, mas nenhum sobre suplementação com Se na forma de SeMet – segundo nosso melhor conhecimento – pretendemos conduzir um estudo prospectivo, aleatorizado, paralelo e placebo controlado em portadores de tireoidite crônica autoimune.

2.1 Objetivo primário

Verificar o efeito da suplementação de 200 µg/dia de SeMet sobre os títulos de antiTPO.

2.2 Objetivos secundários

- Estimar a condição dietética basal de Se no segmento populacional avaliado;
- Examinar o efeito da suplementação de 200 µg/dia de SeMet sobre os parâmetros: antiTG, TSH, T4 livre, T3 total, T4 total, relação T3/T4, glicemia de jejum; calcitonina (CAL), citocinas (IL6, IL10 e

TNF), proteína C reativa (PCR), hipoeogenicidade (índice de ecogenicidade) e vascularização da tireoide ao ultrassom;

- Comprovar o que ocorre com os valores de antiTPO, 3 meses após a suspensão da suplementação;
- Verificar a influência de polimorfismos da GPx1 na relação entre o Se e a atividade da enzima durante a suplementação de SeMet.

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

3 CASUÍSTICA E MÉTODOS

Trata-se de ensaio clínico prospectivo, aleatorizado, placebo controlado, de dupla-incógnita, conduzido na Disciplina de Endocrinologia e Metabologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) de março de 2011 a março de 2014.

3.1 Casuística

A seleção dos participantes ocorreu no Ambulatório de Tireoide da Disciplina de Endocrinologia e Metabologia do HCFMUSP, abrangendo o período de março de 2012 a março de 2013.

3.1.1 Critérios de elegibilidade

a) Inclusão

Os candidatos participantes eram portadores de TCA, com pesquisa sérica positiva de antiTPO e/ou antiTG, de ambos os sexos, tabagistas e não tabagistas, com idades variáveis entre 18 e 60 anos. O diagnóstico de TCA foi baseado nos seguintes critérios: valores elevados de antiTPO (>100 U/mL) e antiTG (>100 U/mL) ou apenas antiTPO (>100 U/mL), e com disfunção tireoidea mínima caracterizada por T4 livre normal e TSH basal elevado (> 4,5 μ U/mL), assim como hipoecogenicidade típica da tireoide por ultrassonografia de alta resolução. Os sujeitos da pesquisa foram convidados a tomar parte de forma voluntária, que, após o devido esclarecimento sobre a pesquisa, anuíram via termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Quando necessário, e antes das intervenções, os pacientes receberam levotiroxina (LT4) em dose – que não foi alterada até o final do estudo – titulada para situar o TSH na metade inferior ($\leq 2,5 \mu\text{U/mL}$) da faixa de referência para adultos ($0,5 - 4,5 \mu\text{U/mL}$) utilizada na Instituição.

b) Exclusão

Não foram incluídos neste estudo os pacientes que apresentavam as seguintes condições: uso de corticosteroides ou outra terapia anti-inflamatória, drogas imunossupressoras, micronutrientes, complexos vitamínicos, drogas antidepressivas ou anticonvulsivantes ou antiarrítmicas, como amiodarona, portadores de doenças que alterem a absorção gastrointestinal ou consideradas interferentes no metabolismo do Se, e portadores de diabetes.

3.1.2 Estimativa do tamanho da amostra

Considerando o parâmetro primário antiTPO, resposta clínica mínima média relevante (Δ) de 100 U/mL, Desvio Padrão de 900 U/mL, erro alfa = 0,05, poder do teste de 70%, determinamos ser necessária a participação de ≈ 70 indivíduos neste estudo paralelo com 2 braços. A equação utilizada foi:

$$N \approx \frac{2 \cdot DP^2 \cdot (Z\alpha + Z\beta)^2}{\Delta^2} \quad (1)$$

$(Z\alpha + Z\beta)^2$ = índice de poder (IP) [para $\beta = 70\%$; IP = 5,9] [90]

3.1.3 Aleatorização e implementação do estudo

A aleatorização das intervenções terapêuticas (placebo ou SeMet) foi realizada mediante programa de computador gerador de números casuais. A

lista produzida continha os códigos para 60 intervenções. Foram utilizados 60 potes, encerrando 90 cápsulas cada um, que foram destinados aos pacientes. Ao final do estudo, o envelope contendo a lista numeral foi aberto pelo investigador responsável pelas intervenções, que desconhecia o grupo para o qual cada participante foi alocado (sigilo de alocação).

Assim sendo, exceto o farmacêutico, que respondeu pela manipulação das cápsulas, todos os pacientes e o investigador estavam mascarados para o tipo de tratamento durante todo o período de realização do protocolo. A aleatorização original conjetural designou 30 pacientes para o grupo placebo e 30 para o grupo SeMet.

Após o ajuste da dose de LT4 na situação basal – tendo como meta o valor de TSH $\leq 2,5$ $\mu\text{U/mL}$, os pacientes foram submetidos à intervenção, e orientados a manter a terapia hormonal de maneira contínua durante todo o período do estudo.

Ao final dos 3 meses de intervenção, a suplementação, com SeMet ou placebo, foi suspensa, e os 2 grupos foram acompanhados por mais 3 meses, totalizando 6 meses.

3.1.4 A intervenção do estudo

3.1.4.1 Suplementação com selênio

A suplementação com Se foi feita por via oral na forma de SeMet (200 $\mu\text{g/dia}$ equivalem a, aproximadamente, 80 μg de Se/dia) em cápsulas fornecidas gratuitamente aos sujeitos da pesquisa. A L-selenometionina (Calbiochem®, EUA) foi adquirida da Merck S.A., São Paulo, Brasil. Assim como o placebo, esta apresentação foi elaborada pela Farmácia do HCFMUSP. A opção pela SeMet se deveu ao fato de ser cerca de 2 vezes mais eficiente que o selenito ou selenato de sódio, na manutenção da concentração sérica de Se e da atividade da GPx. Além disso, é mais facilmente absorvida pelo intestino.

3.2 Métodos

3.2.1 Medidas antropométricas

A massa corporal (kg) assim como a estatura (metros), pré-intervenção, foram avaliadas no mesmo momento por um único pesquisador, que desconhecia o tipo de tratamento. Aquela primeira foi estimada em uma balança mecânica, marca Filizola®, com capacidade de carga máxima de 150 kg. Esta última foi aferida mediante estadiômetro, graduado em centímetros e milímetros, com esquadro móvel para posicionamento sobre a cabeça do paciente. A seguir, foi calculado o índice de massa corpórea (IMC) pelo quociente entre a massa corporal e a altura elevada ao quadrado, e expresso em kg/m^2 .

3.2.2 Avaliação da função tireoidea

As concentrações séricas de TSH, T4 total, T3 total e T4 livre foram determinadas por meio de ensaios comerciais segundo técnica fluorimétrica (AutoDELFIA hTSH Ultra; AutoDELFIA Thyroxine; AutoDELFIA Triiodothyronine; AutoDELFIA Free Thyroxine, Perkin Elmer, Wallac Oy, Finlândia).

As faixas de referência são: TSH: 0,5 – 4,5 $\mu\text{U/mL}$; T4 total: 4,5 - 12,0 $\mu\text{g/dL}$; T3 total: 70 – 200 ng/dL , e T4 livre: 0,7 – 1,5 ng/dL (Quadro 1).

Quadro 1 - Sensibilidade analítica, coeficientes de variação intraensaio e interensaio para as concentrações séricas de hormônios tireoideos, TSH e títulos de autoanticorpos da tireoide

Medida	Sensibilidade analítica	Coeficientes de variação intraensaio (%)	Coeficientes de variação interensaio (%)
T3*	6,7 ng/dL	2,64	4,17
T4*	0,14 µg/dL	2,1	4,56
T4 livre*	0,18 ng/dL	2,62	2,96
TSH*	0,001 µU/mL	1,94	3,35
AntiTPO*	0,065 U/mL	3,38 – 9,26	5,69
AntiTG*	1,17 U/mL	2,82	4,17

*Valores fornecidos pelo Laboratório de Hormônios e Genética Molecular (LIM42).

3.2.3 Avaliação da autoimunidade tireoidea

Os valores séricos de antiTPO e antiTG foram determinados por meio de ensaios comerciais segundo técnica fluorimétrica (AutoDELFIA TPOAb e AutoDELFIA hTGAb, Perkin Elmer, Wallac Oy, Finlândia), com valores de referência: antiTPO: <35 U/mL e antiTG: <35 U/mL (Quadro 1). Quando os títulos séricos dos anticorpos antitireoide estavam acima do limite de detecção, adotaram-se os valores máximos como representativos para a análise estatística.

3.2.4 Medida da calcitonina

Os valores séricos de calcitonina (CAL) foram determinados por meio de ensaio comercial segundo técnica quimioluminescente (IMMULITE 2000 Calcitonin, Siemens, EUA), com valores de referência para homens: até 8,4 pg/mL e mulheres até 5,0 pg/mL. Quando as concentrações séricas estavam abaixo do limite de detecção, adotaram-se os respectivos valores mínimos como representativos para a análise estatística.

3.2.5 Medida da glicose

As concentrações séricas da glicose foram determinadas pelo método da hexoquinase mediante ensaio comercial “GLUC3 – Glucose HK Gen.3” (*Roche Diagnostics GmbH*, Mannheim, Alemanha) utilizando-se analisador automático COBAS®. Os valores de referência são 70 a 100 mg/dL.

3.2.6 Medida do selênio no plasma

As amostras de sangue colhidas com anticoagulante (EDTA) foram centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos para separação do plasma e hemácias. As porções de plasma serão, primeiramente, digeridas por via úmida ácida, ou seja, nos tubos de vidro pirex contendo as amostras serão adicionados 5 mL de ácido nítrico 68% P.A. (Merck®) e mantidos em repouso durante a noite. Em seguida, a digestão será realizada em bloco digestor com temperatura inicial de 50°C e aumentada gradativamente até alcançar, no máximo, 150°C, a fim de eliminar as substâncias orgânicas. A seguir, serão acrescidos 5 mL de HCL 1,2 N para reduzir o Se presente na forma VI para forma IV, e as amostras ficarão sob aquecimento por duas horas à temperatura de 100°C. Após este procedimento, essas soluções serão diluídas para 25 mL com água nanopura e submetidas à leitura de selênio por meio do método de espectrometria de absorção atômica por geração de hidretos acoplados à cela de quartzo⁹⁴⁻⁹⁶. A faixa de referência adotada foi: 53 – 109 µg/L.

3.2.7 Determinação da atividade enzimática da GPx eritrocitária (GPx1)

As frações de hemácias foram submetidas à lavagem pela adição de 5 mL de solução salina 0,9%; esta etapa foi repetida três vezes, e os eritrócitos foram armazenados a -80°C, para processamento dentro do período máximo de 1 mês, em virtude da estabilidade enzimática.

Esta determinação foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Paglia e Valentine⁹⁷, em um analisador bioquímico Lyasis®, usando um estojo comercial (Ransel; *Randox Laboratories*, UK). Essa técnica baseia-se na oxidação da glutatona por peróxido de hidrogênio. Na presença da glutatona redutase e NADH, a glutatona oxidada é, imediatamente, convertida à forma reduzida, com concomitante oxidação de NADH (reduzindo NADPH a NADH⁺). Também foi determinada a concentração de hemoglobina, dado que a atividade da enzima é expressa U/g de hemoglobina (Hb). A faixa de referência adotada para a atividade enzimática foi: 27 – 75 U/gHb.

3.2.8 Medida da interleucina 6, interleucina 10 e TNF

As citocinas humanas pró-inflamatórias TNF (fator de necrose tumoral), e IL6 e a anti-inflamatória IL10 foram quantificadas por imunoensaios em sistema comercial semiautomático semelhantes ao tipo sanduíche ELISA (Bio-Plex Pro Human Cytokine, Chemokine and Growth Factor Assays, Bio-Rad Laboratories, Inc., CA, EUA) baseado em esferas magnéticas. Os anticorpos de captura dirigidos contra o biomarcador de interesse ligam-se de forma covalente às esferas revestidas com corante fluorescente. O procedimento permite a detecção em um único experimento em placas (com 96 poços) pré-montadas com as citocinas de interesse. Utiliza 12,5 µL de soro, plasma ou outros fluidos corporais (Quadro 2). Todas as amostras foram dosadas em duplicata mediante sistema Bio-Plex 200 (Bio-Rad Laboratories, Inc., CA, EUA). Utilizamos o valor médio das 2 análises. Nas amostras em que as concentrações das citocinas encontravam-se abaixo do menor ponto da curva padrão, empregamos este valor como representativo para a análise estatística. Os intervalos de trabalho das curvas dos ensaios para as medidas da IL6, IL10 e TNF foram, respectivamente: 1,6 pg/mL a 27.078 pg/mL; 2,0 pg/mL a 32.674 pg/mL e 0,6 pg/mL a 9.270 pg/mL. Os valores calculados abaixo dos limites inferiores das curvas de trabalho não

são considerados confiáveis, pois situam-se fora da curva padrão. Demonstram apenas as respectivas sensibilidades analíticas dos ensaios.

Quadro 2 - Sensibilidade analítica, coeficientes de variação intraensaio e interensaio para as concentrações de citocinas circulantes

Medida	Valores de referência (pg/mL)	Sensibilidades analíticas (pg/mL) [§]	Coeficientes de variação intraensaio (%)	Coeficientes de variação interensaio (%)
IL6†	1,0-9,0	0,7	7	11
IL10†	0,4-2,0	0,3	5	6
TNF†	6,0-98,0	0,1	8	6

†Valores fornecidos pelo Laboratório de Investigação Médica em Patologia Clínica (LIM3). Os valores de referência, sensibilidades analíticas, variação intraensaio e interensaio foram fornecidos pelo fabricante. [§]Valor calculado pela curva padrão correspondente a 2 desvios acima do padrão zero (média de 10 replicatas).

3.2.9 Medida da proteína C reativa

As concentrações séricas da PCR (marcadora de inflamação sintetizada por hepatócitos) foram determinadas por teste imunoturbidimétrico “Tina-quant C-reactive Protein Gen.3” (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Alemanha) utilizando-se analisador automático COBAS®. O valor de referência é ≤ 5 mg/L e a sensibilidade analítica é 0,3 mg/L.

3.2.10 Genotipagem e pesquisa do polimorfismo Pro198Leu

3.2.10.1 Extração de DNA a partir de sangue periférico

O DNA genômico foi extraído a partir de amostra de sangue periférico (10 mL) coletado em tubo contendo EDTA utilizando o método *salting out*. O sangue foi incubado em solução de lise de glóbulos vermelhos (114 mM cloreto de amônia; 1 mM carbonato de amônia) durante 30 minutos a 4°C. Após este período, a amostra foi centrifugada a 3000 rpm/15 minutos/4°C. O

sobrenadante foi, então, descartado e o botão de células dissolvido em solução tampão (100 mM NaCl; 10 mM Tris-HCl pH 8; 1 mM EDTA pH 8) contendo 1% de SDS e 0,2 mg/mL de proteinase K e incubando-se a 37°C durante a noite. No dia seguinte, foram acrescentados 1,2 mL de NaCl e a amostra centrifugada a 3000 rpm/15 minutos à temperatura ambiente. O sobrenadante foi transferido para um tubo *falcon* utilizando pipeta Pasteur, adicionando-se duas vezes o volume de etanol absoluto gelado. O tubo foi invertido até completa precipitação do DNA, o qual “flocula” no etanol. O DNA foi, então, removido com anzol de vidro e lavado com etanol 70% (4 vezes), e, por último, com etanol absoluto. Secaram o pellet de DNA à temperatura ambiente e foi transferido para um tubo tipo *ependorf* no qual foi homogeneizado em cerca de 1 mL de TE (10 mM Tris-HCl pH 8,0; 0.1 mM EDTA pH 8,0). O DNA extraído foi conservado a -4°C até a sua utilização.

3.2.10.2 Avaliação do polimorfismo GPx1

O polimorfismo Pro198Leu (rs1050450) do gene *GPx1* (ENST00000419783) foi avaliado pela técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) seguida de sequenciamento automático.

3.2.10.3 Amplificação por PCR

Para tal, o exon 2 do gene *GPx1* foi amplificado a partir de amostras de DNA genômico utilizando oligonucleotídeos específicos. Esses foram desenhados com o auxílio do programa Primer 3 (<http://frodo.wi.mit.edu/primer3/>).

As reações de PCR foram levadas ao termociclador contendo um volume final de 25 µl utilizando-se 100-200 ng de DNA genômico, 100 mM dNTP Mix (*Gibco Life Technologies*), 20 pmol de cada oligonucleotídeo, 50 mM de cloreto de magnésio (MgCl₂), tampão de PCR (*Invitrogen Life Technologies*) 1X concentração final e 1,25 U de *Taq* polimerase. As

condições iniciais de ciclagem utilizadas na padronização foram: 95°C por 10 minutos, em seguida, 40 ciclos de 95° por 30 segundos, temperatura de anelamento 59°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos e 7 minutos a 72°C de extensão final. Os produtos da PCR foram corados com *Blue Green Loading Dye I Safe* (LGC) e submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1%, juntamente com o marcador de peso molecular, para verificação do tamanho do fragmento gerado sob luz ultravioleta.

3.2.10.4 Sequenciamento automático

Cerca de 3µL de cada produto de PCR foram purificados com 1µL da mistura de enzimas *Shrimp* e *exonuclease I* (*Amersham Science*). Essa mistura foi incubada por 37°C/15 min e 85°C/15 min, e mantida no gelo. Para a reação de sequenciamento, foram misturados 4 µL de PCR purificado, 0,2 µL de oligonucleotídeo (sense ou antissense a 20 pmol), 0,75 µL de *Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit* (*Applied Biosystems*), contendo didesoxinucleotídeos terminadores marcados com compostos fluorescentes, e água desionizada estéril para um volume final de 10 µL. A reação foi levada a um termociclador por 96°C/2 min, seguindo-se 36 ciclos: 96°C/30 s, 58°C/20 s e 60°C/4 min.

Ao término do tempo de reação, o produto foi precipitado adicionando-se 80 µL de isopropanol 75% (preparado antes do uso), incubando-se no escuro por 15 min à temperatura ambiente. O material foi centrifugado a 4.000 rpm/30 min e o sobrenadante descartado. Ao tubo, foram adicionados 150 µL de etanol 70% gelado e centrifugado na mesma velocidade por mais 15 min. O etanol foi completamente descartado invertendo-se o tubo sobre papel toalha e deixado secar sobre a bancada ao abrigo da luz. A reação foi, então, ressuspensa em 3 µL de formamida.

O sequenciamento foi realizado no LIM-25 em sequenciador automático ABI PRISM 3130 XL *Genetic Analyser* (*Applied Biosystems Foster City, EUA*). Para a avaliação das variações genéticas no *GPx1*, foi utilizada a sequência genômica obtida em banco de dados (rs1050450).

3.3 Avaliação ultrassonográfica da tireoide

O mapeamento (US) dúplex-Doppler colorido, pela sua alta sensibilidade e especificidade, é de grande utilidade para o diagnóstico precoce da TCA. A textura heterogênea do parênquima é um indício importante de processo inflamatório. Porém, o principal marcador da autoimunidade contra a tireoide é a hipoecogenicidade, que tem significativa relação com a presença de TCA. Assim, a redução da ecogenicidade é um excelente parâmetro para prever o diagnóstico do distúrbio, mesmo com título indetectável de antiTPO, particularmente no estágio inicial da doença⁹⁸.

A ultrassonografia da tireoide foi realizada no Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas da FMUSP utilizando um equipamento modelo Voluson 730 PRO™, da marca General Electric^R (Milwaukee, Wisconsin, USA) com transdutor linear de 8-13 MHz, multifrequencial, ajustado para exames da tireoide, abrangendo as seguintes análises:

3.3.1 US modo-B e análise do histograma computadorizado

O modo-B (brilho) permite avaliar as dimensões, o volume glandular, a textura e a ecogenicidade do parênquima tireoideo.

- A. O cálculo do volume da glândula foi efetuado pela soma dos volumes de cada lobo obtidos separadamente pelo produto: largura x comprimento x profundidade x $\pi/6$. Foram adotados os valores de referência de 6 a 15 cm³ para o volume total da tireoide. Foi considerado bócio ao US, o volume glandular maior que 15,1 cm³ e atrofia tireoidea volume < 5,9 cm³;
- B. A textura da glândula foi classificada em homogênea ou heterogênea (Figura 11).

Figura 11 - Imagens dos cortes longitudinais do lobo esquerdo em modo-B. Em (A), observa-se o parênquima tireoideo normal com textura sólida e homogênea. Em (B), notam-se a irregularidade dos limites do lobo e a textura difusamente heterogênea do parênquima tireoideo com áreas de menor ecogenicidade de permeio, não se caracterizando nódulos verdadeiros.

- C. A avaliação da ecogenicidade da glândula tireoide foi feita comparativamente à musculatura cervical adjacente (músculo esternocleidomastoideo esquerdo e da musculatura pré-tireoidea esquerda). Foi classificada de modo subjetivo em normal (exclui o padrão ultrassonográfico de TCA), iso ou hipoecogênica e hiperecogênica em relação às estruturas musculares pré-tireoideas. A quantificação da ecogenicidade foi realizada utilizando-se o programa Vocal^R, por meio da análise do histograma computadorizado de escala de cinzas em cada região de interesse [ROI], delimitada por quadrados ou retângulos nas imagens. Traduziu-se por uma escala numérica de 0-255, em que o menor valor da escala numérica (0) corresponde à imagem mais escura (preta) e o maior valor numérico (255) relaciona-se à imagem mais clara da escala de cinza (branco), transformando a ecogenicidade em variável quantitativa⁹⁹ (Figuras 12 e 13). Para visualizar as diferenças de ecogenicidade da tireoide refletindo mudanças reais na estrutura glandular e não intervariações, a definição do equipamento foi mantida rigorosamente a mesma para cada paciente em cada ponto de seguimento. Todos os exames foram realizados e interpretados pelo mesmo investigador (Motta, G).

Figura 12 - Imagens do histograma computadorizado de corte transversal de lobo esquerdo da tireoide e do músculo esternocleidomastoideo de um indivíduo com tireoide normal (A) e de outro com TCA (B). Os gráficos ilustram o padrão da distribuição da escala de cinzas dentro da ROI 1 (tireoide) e da ROI 2 (músculo). As linhas tracejadas delimitam as médias ± 2 desvios padrão de cada distribuição dos tons de cinza dentro de cada RDI. Notar que, no indivíduo com tireoide normal, as linhas não se sobrepõem, evidenciando padrão normal de ecogenicidade da glândula. Na TCA, ocorre sobreposição dos valores que caracterizam o padrão hipoeecogênico da tireoide. M, média; DP, Desvio Padrão. Adaptada de Höfling (2011)¹⁰⁰.

Figura 13 - As imagens do histograma computadorizado de escala de cinzas da tireoide apresentam o método de avaliação da glândula e dos músculos adjacentes. No painel A (corte transversal), notam-se o músculo esternocleidomastoideo (ROI 1), os músculos pré-tireoideos (ROI 2) e o tecido adiposo subcutâneo (ROI 3). À direita, os gráficos 1, 2 e 3 mostram a média e o Desvio Padrão dos valores do histograma computadorizado das respectivas ROIs. No painel B (corte longitudinal), observam-se os terços superior (ROI 1), médio (ROI 2) e inferior (ROI 3) da tireoide, e, à direita, os gráficos com os respectivos valores. Adaptada de Höfling (2011)¹⁰⁰.

A média aritmética dos valores do histograma computadorizado obtida nos terços superiores, médios e inferiores de ambos os lobos glandulares foi utilizada como variável representativa da tireoide, enquanto se definiu a média aritmética obtida nos músculos esternocleidomastoideo e pré-tireoideo esquerdos como variável representativa dos músculos adjacentes. O istmo não foi analisado devido à interferência dos ecos provenientes da traqueia.

O índice de ecogenicidade foi calculado pela razão entre a média aritmética dos valores do histograma computadorizado da tireoide e dos músculos adjacentes (mesmo ganho de brilho para ambos)¹⁰¹.

3.3.2 US-Doppler colorido de amplitude

O estudo com Doppler colorido de amplitude (US-Doppler colorido) evidencia a densidade vascular das lesões focais e das difusas da glândula; foi avaliada com ganho regulado em condições para evitar o mínimo de interferência. A análise das imagens foi realizada subjetivamente, utilizando-se a classificação utilizada por Höfling¹⁰⁰, conforme segue:

- Padrão I – *reduzida*: a vascularização está limitada às artérias principais periféricas que possuem sinais diminuídos, enquanto no parênquima não existe vestígio de fluxo ou há raros pontos com traços reduzidos;
- Padrão II – *normal*: a vascularização está limitada às artérias principais periféricas com sinais habituais, enquanto no parênquima não existe vestígio de fluxo ou há apenas pontos focais de vascularização com distribuição esparsa ou, ainda, no interior dos nódulos;
- Padrão III – *aumentada*: evidente incremento da vascularização com distribuição esparsa;

- Padrão IV – *muito aumentado*: aumento acentuado da vascularização com distribuições difusa e homogênea, incluindo o chamado “inferno tireoideo”¹⁰² (Figura 14).

Figura 14 - US-Doppler colorido de amplitude e os exemplos dos padrões de vascularização de parênquima tireoideio, segundo a classificação adotada por Höfling¹⁰⁰. Padrão I – A vascularização está reduzida e limitada às artérias principais periféricas que possuem sinais diminuídos, enquanto no parênquima não há sinal de fluxo ou existem raros pontos com sinais reduzidos. Padrão II - a vascularização está limitada às artérias principais periféricas com sinais habituais, enquanto no parênquima não existe vestígio de fluxo ou há apenas pontos focais de vascularização com distribuição esparsa ou, ainda, no interior dos nódulos. Padrão III - evidente incremento da vascularização com distribuição esparsa. Padrão IV - aumento acentuado da vascularização com distribuições difusa e homogênea, incluindo o chamado “inferno tireoideo”¹⁰².

Para cada um dos padrões (I, II, III e IV), foram atribuídos os valores 0, 1, 2 e 3, respectivamente, para possibilitar a execução da análise estatística do US-Doppler colorido de amplitude. Para a análise numérica, foram comparadas as médias dos valores atribuídos à vascularização dos lobos tireoideos avaliados nos grupos SeMet e P.

3.3.3 US-Doppler pulsado

O exame com Doppler pulsado (US-Doppler pulsado) é útil para caracterizar a natureza do vaso sanguíneo, e estimar a velocidade das artérias tireoideas superiores e inferiores, bem como, seus índices de impedância.

A média aritmética da velocidade de pico sistólico das artérias tireoideas inferiores (valores de referência: 13,8 a 29,2 cm/s)¹⁰³ foi utilizada como variável representativa para cada um dos pacientes.

3.3.4 Determinação da concentração urinária de iodo

A determinação da concentração urinária de iodo foi realizada em amostras casuais, obtidas no período matutino¹⁰⁴, por meio do método de Sandell-Kolthoff, no setor de bioquímica da Divisão de Patologia do Instituto Adolfo Lutz¹⁰⁵. A faixa de referência adotada foi de 100-200 µg/L.

3.4 Desenho do estudo

As amostras de sangue foram colhidas por punção venosa da veia antecubital. Para a determinação da concentração do Se e da GPx eritrocitária, utilizamos tubos a vácuo contendo EDTA; após centrifugação a 3000 rpm, as frações manipuladas foram conservadas a -80°C até o processamento em duplicata.

As amostras de soro ou plasma recolhidas para as medidas do TSH, T3, T4, T4 livre, anticorpos antiTPO e antiTG, Se, GPx, iodúria, CAL, glicemia e citocinas, assim como a realização da ultrassonografia da tireoide ocorreram anteriormente (pré-intervenção), aos 3 meses (após o uso de SeMet ou placebo) e aos 6 meses, isto é, 3 meses após a suspensão da suplementação (Figura 15). As alíquotas obtidas nestas duas últimas fases

(intervenção e pós-intervenção) foram armazenadas em *freezer* a -20°C (exceto as de Se e GPx – vide acima) até o final do estudo, quando foram mensuradas em bloco.

A preparação de SeMet foi administrada 1 vez ao dia, 2 horas antes ou após uma das refeições, durante o período de avaliação.

O estudo só se iniciou após a aprovação pela Comissão de Ética do HCFMUSP (CAPPesq).

Figura 15 - Ilustração do desenho do estudo conduzido nos pacientes dos grupos SeMet e placebo

3.5 Análise Estatística

Devido à natureza não gaussiana das variáveis, optou-se pelos testes não paramétricos. Para avaliar as diferenças entre as variáveis quantitativas (não pareadas) dos dois braços aleatorizados, foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Para o estudo comparativo longitudinal entre os momentos T₀

(basal), T1 (3 meses) e T2 (6 meses) [comparativo pareado], foi empregado o teste de Friedman (ANOVA para um fator para dados amostrais repetidos em igual número de indivíduos) e, quando houve significância, utilizou-se o teste de Wilcoxon dois a dois. Para verificar diferenças na distribuição das variáveis categóricas ou qualitativas em função de outra também categorizada, utilizamos o teste qui-quadrado. Usou-se o teste do coeficiente de correlação de Spearman para quantificar a associação entre duas variáveis. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. A análise estatística foi feita com o programa *SPSS for Windows 2005, version 14.0, SPSS Inc., Chicago, IL, USA*.

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

Durante o atendimento rotineiro ambulatorial, foram escolhidos 72 pacientes oriundos da zona urbana de São Paulo, com hipotireoidismo mínimo ou estabelecido, originado por TCA, segundo os critérios de elegibilidade pré-estabelecidos. Antes da participação, os indivíduos foram entrevistados com o intuito de obter informações sociodemográficas, hábitos e história médica pregressa. A maior parte deles foi excluída por não preencher os critérios de inclusão e/ou por apresentar um ou mais critérios de exclusão (n=10). Além disso, parte ocorreu por falta de disponibilidade de tempo ou de transporte para comparecer ao HCFMUSP nos dias das visitas previamente programadas (n=3) e 4 recusaram-se a participar. Por último, foram considerados elegíveis e incluídos, inicialmente, no estudo 55 indivíduos eutireoideos [aleatorizados individualmente nos grupos placebo (grupo P) ou selenometionina (grupo SeMet)]. É oportuno ressaltar que os pacientes e o investigador estavam mascarados para o tipo de tratamento durante todo o período de realização do protocolo. Somente ao final do estudo tiveram ciência do grupo para o qual cada participante foi designado. Dessa forma, 27 indivíduos foram sorteados para compor o grupo P e 28 para constituir o grupo SeMet.

Inicialmente, todos os pacientes alocados nos dois grupos submeteram-se à intervenção (cápsulas com SeMet 200 µg/dia ou com placebo) (Figura 16).

Figura 16 - Diagrama da seleção dos participantes em cada etapa do estudo. Nota-se que todos os indivíduos aleatorizados foram incluídos na análise estatística da fase intervenção.

A seguir, a caracterização dos grupos estudados:

1. Dados basais dos indivíduos do grupo SeMet

Foram incluídos no grupo 28 indivíduos (26 mulheres e 2 homens) eutireoideos, sob uso de LT4 (média $\pm$ DP; variação) de 93 ± 43 $\mu\text{g}/\text{dia}$ (0-225 $\mu\text{g}/\text{dia}$), com medianas (variação) de idade de 48 anos (20-58 anos),

massa corporal de 66,7 kg (46-92 kg), IMC 24,7 (17,8-36,8), sendo 2 fumantes e 26 não fumantes. Os valores de base das características demográficas, clínicas e da dose de levotiroxina (LT4) dos indivíduos do grupo estão indicados na Tabela 7.

2. Dados basais dos sujeitos do grupo Placebo

Foram incluídos nesse grupo 27 indivíduos (24 mulheres e 2 homens) eutireoideos, sob uso de LT4 (média $\pm$ DP; variação) de 106 ± 52 μ g/dia (0-275 μ g/dia). Apresentavam mediana (variação) da idade de 44 anos (21-56 anos), massa corporal de 69,5 kg (46,6-111 kg), IMC de 27,4 (16-36,3). Dois eram fumantes e 25 não fumantes.

A Tabela 7 mostra a comparação entre os valores basais das variáveis referentes aos pacientes do grupo SeMet e Placebo.

Tabela 7 - Características basais dos indivíduos com tireoidite crônica autoimune participantes do presente estudo

Características	Grupo Placebo (n = 27)	Grupo SeMet (n = 28)	p
Idade (anos)*	44 (21-56) IC 95%: 38-47	48 (20-58) IC 95%: 39-48	0,505 [§]
Feminino/masculino	24/3	26/2	0,966 [†]
Duração da doença (anos)*	4 (4-10,2)	4,5 (4,4-8,9)	0,761 [§]
Massa corporal (kg)*	69,5 (46,6 – 111) IC 95%: 66,5-81	66,7 (46-92) IC 95%: 62,4-72,2	0,235 [§]
IMC (kg/m²)*	27,4 (16-36,3) IC 95%: 24,9-28,8	24,7 (17,8-36,8) IC 95%: 23,6-27,3	0,238 [§]
Uso de tabaco:			
Fumante	2 (7%)	2 (7%)	
Não fumante	25 (93%)	26 (93%)	1,000 [†]
Se (μg/L) *	32,6 (6,6-60,7) IC 95%: 30,4-40,8	37,7 (10-57) IC 95%: 33-43,1	0,414 [§]
GPx1 (U/gHb) *	60,6 (20-94,3) IC 95%: 51,2-68	61 (20-95) IC 95%: 50,7-68,2	0,893 [§]
Iodo urinário (μg/L) *	170 (45-192) IC95%: 143,2-171,6	160 (105,4-200,3) IC 95%: 147,8-167,5	0,511 [§]
LT4 (μg/dia)**	93 $\pm$ 43 (0-275)	106 $\pm$ 52 (0-225)	0,342 [§]

*Medianas (variação) e IC 95%; ** Média $\pm$ DP (variação); Se: selênio; GPx1: glutathione peroxidase 1; SeMet: selenometionina; P: placebo; IMC: índice de massa corporal; LT4: levotiroxina; [§] teste de Mann-Whitney; [†] teste qui-quadrado.

Estes e demais valores podem ser encontrados nos sumários dos resultados gerais, no Apêndice no final deste texto.

A aleatorização foi eficaz, pois, no momento pré-intervenção (situação basal), não foi evidenciada diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos.

4.1 Selênio plasmático e GPx1 eritrocitária

Nos indivíduos aleatorizados para receber SeMet, houve aumento expressivo no Se plasmático médio e na atividade da GPx1 eritrocitária média em relação ao basal aos 3 meses de tratamento, retornando a valores próximos dos basais após a interrupção da intervenção aos 6 meses [Se (média): 37,4 µg/L vs 63,5 µg/L vs 41,1 µg/L; $p < 0,001$; GPx1: 58,4 U/gHb vs 80,2 U/gHb vs 49,9 U/gHb; $p < 0,001$]. Aos 6 meses (T2; 3 meses após a suspensão da intervenção), as concentrações médias de Se e de GPx1 retornaram aos valores basais neste grupo (Figuras 17 e 18; Tabelas 8 e 9).

As concentrações plasmáticas médias de Se e da atividade eritrocitária de GPx1 não se alteraram no grupo Placebo em cada momento do estudo [Se (média) T0 vs T1 vs T2: 34,4 µg/L vs 36,8 µg/L vs 41,4 µg/L; $p = 0,212$; GPx1: 61,0 U/gHb vs 61,8 U/gHb vs 55,5 U/gHb; $p = 0,142$]. Neste grupo, assim como no SeMet, aos 6 meses (T2; 3 meses após a suspensão da intervenção), as concentrações médias de Se e de GPx1 retornaram aos valores basais (Figuras 17 e 18; Tabelas 8 e 9).

Tabela 8 - Análise estatística

Grupo		Se (T0)	Se (T1)	Se (T2)	Teste de Friedman (p)	Comparações teste de Wilcoxon 2 x 2	Resultado
Placebo	Média	34,40	36,77	41,42	0,212	...	(T0) = (T1) = (T2)
	Mediana	30,70	38,63	42,95			
	Desvio Padrão	14,58	9,62	10,84			
	N	20	20	20			
SeMet	Média	37,40	63,55	41,14	<0,001*	(T0) x (T1) p<0,001*	(T0) = (T2) < (T1)
	Mediana	36,10	63,52	41,30		(T0) x (T2) p=0,224	
	Desvio Padrão	11,55	12,79	8,96		(T1) x (T2) p<0,001*	
	N	23	23	23			
Teste de Mann-Whitney (p)		0,414	<0,001*	0,874			
Resultado		Placebo = SeMet	Placebo < SeMet	Placebo = SeMet			

Se: selênio; SeMet: selenometionina

Tabela 9 - Análise estatística

Grupo		GPx1 (T0)	GPx1 (T1)	GPx1 (T2)	Teste de Friedman (p)	Comparações teste de Wilcoxon 2 x 2	Resultado
Placebo	Média	60,96	61,77	55,49	0,142	...	(T0) = (T1) = (T2)
	Mediana	64,40	67,80	55,75			
	Desvio Padrão	21,75	16,98	11,45			
	N	20	20	20			
SeMet	Média	58,36	80,25	49,89	<0,001*	(T0) x (T1) p<0,001*	(T0) = (T2) < (T1)
	Mediana	58,90	79,90	49,80		(T0) x (T2) p=0,144	
	Desvio Padrão	23,21	12,11	13,39		(T1) x (T2) p<0,001*	
	N	23	23	23			
Teste de Mann-Whitney (p)		0,893	<0,001*	0,108			
Resultado		Placebo = SeMet	Placebo < SeMet	Placebo = SeMet			

GPx1: glutathione peroxidase 1; SeMet: selenometionina

As concentrações médias plasmáticas de Se sob intervenção de SeMet (63,5µg/L) denotaram diferença estatisticamente significativa em comparação ao Grupo Placebo (36,8 µg/L; $p < 0,001$). De maneira similar, as concentrações plasmáticas médias da GPx1 mostraram diferença

significativa entre os Grupos Placebo e SeMet (61,8 U/gHb *versus* 80,2 U/gHb; $p < 0,001$) (Tabela 10).

Tabela 10 - Valores evolutivos consolidados intragrupos de selênio plasmático e de atividade da glutathiona peroxidase 1 nos indivíduos aleatorizados para receber selenometionina ou placebo

Medida	Grupo Placebo				Grupo SeMet			
	Basal (T0) (n = 20)	3 meses (T1) (n = 20)	6 meses (T2) (n = 20)	Valor de p^*	Basal (T0) (n = 23)	3 meses (T1) (n = 23)	6 meses (T2) (n = 23)	Valor de p^*
Se (µg/L)	34,4 ± 14,6 (6,3-60,7)	36,8 ± 9,6 (20,1-56,9)	41,4 ± 10,8 (19,6-65,0)	0,212	37,4 ± 11,6 (10,3-54,6)	63,4 ± 12,8 (41,4 – 93,9)	41,1 ± 9 (24,6-57,4)	<0,001*
GPx1 (U/gHb)	61,0 ± 21,7 (20-89,1)	61,8 ± 17 (32,4-91)	55,5 ± 11,4 (36,8-86,9)	0,142	58,4 ± 23,2 (20-95,1)	80,2 ± 12,1 (58,3-99,8)	49,9 ± 13,4 (29-76,7)	<0,001*

Médias ± DP (variação); SeMet: selenometionina; *: teste não paramétrico (ANOVA) de Friedman, e pós-teste de Wilcoxon se $p < 0,05$

Portanto, ficou evidente que a suplementação com SeMet aumentou de forma expressiva os valores de Se plasmático e da GPx1 eritrocitária.

Figura 17 - Comparação das concentrações plasmáticas de selênio entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo. Média ± IC 95%.

Figura 18 - Comparação da atividade eritrocitária da glutathione peroxidase 1 entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

4.2 Anticorpos antitireoide

a) AntiTPO (U/mL)

Antes da intervenção (tempo T0) 32% (9/28) dos pacientes do grupo SeMet e 33% (9/27) do grupo Placebo mostraram concentrações séricas elevadas (>1000 U/mL) de antiTPO. Quanto ao grupo Placebo, antes da intervenção (T0), 14% (4/28) dos indivíduos do grupo SeMet e 18% (5/27) do grupo Placebo exibiram títulos de antiTG superiores a 1000 U/mL.

A análise comparativa entre valores médios intragrupo Placebo nas situações basal (T0), durante (T1) e pós-intervenção (T2), não demonstrou diferença significativa T0 = 1206 *versus* T1 = 1405 *versus* T2 = 1430 U/mL ($p = 0,731$) (Tabela 11, Figura 19).

Por outro lado, a comparação entre valores médios intragrupo SeMet nas situações basal (T0), durante (T1) e pós-intervenção (T2), evidenciou diferença significativa T0 = 1009 *versus* T1 = 958 *versus* T2 = 768 U/mL ($p = 0,003$) (Tabela 11, Figura 19).

Tabela 11 - Comparação entre grupos SeMet e Placebo dos valores de selênio plasmático e atividade da glutatona peroxidase 1 nos indivíduos participantes do estudo durante a intervenção com selenometionina ou placebo

Medida	Grupo SeMet (T1) (n = 28)	Grupo P (T1) (n = 27)	Valor de p^*
Se ($\mu\text{g/L}$)	63,4 $\pm$ 12,8 (41,4 – 93,9)	36,8 $\pm$ 9,6 (20,1-56,9)	<0,001
GPx1 (U/gHb)	80,2 $\pm$ 12,1 (58,3-99,8)	61,8 $\pm$ 17 (32,4-91)	<0,001

Médias $\pm$ DP (variação); Se: selênio; SeMet: selenometionina; GPx1: glutatona peroxidase 1; T1: 3 meses; *teste de Mann-Whitney.

Figura 19 - Comparação das concentrações de antiTPO entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

Quando se cotejou, no Grupo SeMet, a média do tempo T0 com a do T1 houve redução (-5%), embora estatisticamente não significativa ($p = 0,668$). Em contraste, a redução (-20%) foi significava ($p < 0,001$) quando se comparou o tempo T1 (958 U/mL) *versus* o T2 (768 U/mL), 3 meses após a suspensão da intervenção, isto é, no 6º mês. A comparação entre o tempo T0 (1009 U/mL) e T2 (768 U/mL) tornou evidente redução de 24% nos títulos de antiTPO. No grupo Placebo, tal redução não foi observada ($p = 0,731$), tendo ocorrido incremento de +16% sob intervenção (T1; 1405 U/mL) e +18% no 6º mês (T2; 1430 U/mL) em relação ao valor basal (T0; 1206 U/mL) (Tabela 11, Figura 20).

Em consonância, a análise não pareada entregupos no tempo T2 (Placebo *versus* SeMet) evidenciou diferença significativa ($p = 0,019$) nas concentrações séricas médias de antiTPO (Tabela 11, Figura 20).

Figura 20 - Redução ($\Delta\%$) das concentrações séricas de antiTPO nos pacientes do grupo SeMet em comparação ao grupo Placebo

b) AntiTG (U/mL)

Antes da intervenção, 14% (4/28) dos pacientes do grupo SeMet e 18% (5/27) do grupo Placebo mostraram concentrações séricas médias elevadas (> 1000 U/mL) de antiTG.

A análise intragrupo dos títulos médios nas condições pré (T0; 522 U/mL), durante (T1; 622 U/mL) e pós-intervenção (T2; 605 U/mL), não evidenciou redução estatisticamente significativa no grupo Placebo ($p = 0,802$). O mesmo ocorreu no grupo SeMet: T0 (510 U/mL), T1 (528 U/mL) e T2 (543 U/mL), ($p = 0,292$) (Tabela 12, Figura 21).

Em consonância, a comparação não pareada entregrupos (Placebo *versus* SeMet), igualmente, não demonstrou diferença nas concentrações séricas médias de antiTG nos tempos T0 (552 *versus* 510 U/mL), T1 (622 U/mL *versus* 528 U/mL; $p = 0,564$) e T2 (605 U/mL *versus* 543 U/mL; $p = 0,913$), respectivamente (Tabela 12, Figura 21).

Tabela 12 - Análise estatística e comparação das concentrações de AntiTG (U/mL) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.

ANALYSE entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos de estudo.							
Grupo		AntiTPO (T0)	AntiTPO (T1)	AntiTPO (T2)	Teste de Friedman (p)	Comparações teste de Wilcoxon 2 x 2	Resultado
Placebo	Média	1.206,2	1.404,6	1.429,7	0,731	...	(T0) = (T1) = (T2)
	Mediana	801,5	1.078,0	911,0			
	Desvio Padrão	969,4	1.070,7	1.132,1			
	N	20	20	20			
SeMet	Média	1.009,4	958,4	767,7	0,003*	(T0) x (T1) p=0,668	(T0) = (T1) > (T2)
	Mediana	538,0	553,0	418,0		(T0) x (T2) p<0,001*	
	Desvio Padrão	1.014,7	912,8	845,1		(T1) x (T2) p=0,002*	
	N	23	23	23			
Teste de Mann-Whitney (p)		0,413	0,084	0,019*			
Resultado		Placebo = SeMet	Placebo = SeMet	Placebo > SeMet			

AntiTG: anticorpo antitireoglobulina; P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6 meses (3 meses após a suspensão da intervenção); *diferença estatística ($p<0,05$).

Figura 21 - Comparação das concentrações de antiTg entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

4.3 Função da glândula tireoide

A avaliação da função tireoidea foi feita por meio da verificação das concentrações séricas de TSH, T4 livre, T3, T4 e relação T3/T4.

As concentrações séricas médias basais (T0) de TSH (1,75 *versus* 1,73 μ U/mL; $p = 0,893$), T4 (10,1 *versus* 10,4 μ g/dL; $p = 0,584$), T3 (124 *versus* 125 ng/mL; $p = 0,788$), T4 livre (1,1 *versus* 1,1 ng/dL; $p = 0,459$) e T3/T4 (12,4 *versus* 12,1; $p = 0,590$) não mostraram diferença estatisticamente significativa entre os Grupos Placebo e SeMet, respectivamente. De maneira similar, as concentrações séricas médias sob intervenção (T1) de TSH (2,2 *versus* 3,0 μ U/mL; $p = 0,128$), T4 (10,5 *versus* 10,0 μ g/dL; $p = 0,225$), T3 (129 *versus* 127 ng/mL; $p = 0,300$), T4 livre (1,1 *versus* 1,1 ng/dL; $p = 0,966$) e T3/T4 (12,3 *versus* 11,9; $p = 0,057$) não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os Grupos Placebo e SeMet, respectivamente (Tabela 13, Figuras 22-26).

Tabela 13 – Valores evolutivos consolidados (média $\pm$ desvio padrão; mínimo-máximo) de TSH, T4 livre, T4 total, T3 total, relação T3/T4, antiTPO antiTG dos indivíduos eutiroides, antes, durante e após a intervenção com selenometionina ou placebo

Medida	Grupo P			Grupo SeMet			Valor de p
	Basal (T0) (n= 20)	3 meses (T1) (n= 20)	6 meses (T2) (n= 20)	Basal (T0) (n= 23)	3 meses (T1) (n= 23)	6 meses (T2) (n= 23)	
TSH (μ U/mL)	1,7 $\pm$ 0,4 (0,8-2,4)	2,2 $\pm$ 1,5 (0,6-6,8)	2,5 $\pm$ 1,5 (0,9-5,5)	1,7 $\pm$ 0,5 (0,8-2,5)	3,0 $\pm$ 1,5 (1,1-6,3)	3,2 $\pm$ 1,6 (1,1-6,5)	0,015*
T4 livre (ng/dL)	1,1 $\pm$ 0,2 (0,9-1,5)	1,1 $\pm$ 0,2 (0,9-1,5)	1,1 $\pm$ 0,1 (0,9-1,3)	1,1 $\pm$ 0,1 (0,9-1,4)	1,0 $\pm$ 0,1 (0,8-1,4)	1,1 $\pm$ 0,1 (0,8-1,3)	0,296
T4 total (μ g/dL)	10,4 $\pm$ 1,8 (8,0-14)	10,6 $\pm$ 1,5 (7,1-13)	10,3 $\pm$ 1,2 (8-12,3)	10,1 $\pm$ 2,0 (8,1-14,1)	10,0 $\pm$ 0,9 (8,4-11,6)	9,8 $\pm$ 1,5 (7,8-13,7)	0,733
T3 total (ng/dL)	125 $\pm$ 24 (82-179)	129 $\pm$ 18 (94-157)	126 $\pm$ 15 (102-147)	124 $\pm$ 23 (85-165)	127 $\pm$ 17 (101-166)	121 $\pm$ 18 (99-164)	0,368
Relação T3/T4	12,1 $\pm$ 1,7 (8,1-14,3)	12,3 $\pm$ 1,4 (9,7-14,7)	12,4 $\pm$ 1,2 (10,8-15,1)	12,4 $\pm$ 2,1 (9,4-16,8)	11,9 $\pm$ 1,6 (8,4-14,9)	12,4 $\pm$ 1,7 (9-15,9)	0,261
AntiTPO (U/mL)	1206 $\pm$ 969 (154 - >3000)	1404 $\pm$ 1070 (231 - >3000)	1430 $\pm$ 1132 (140 - >3000)	1009 $\pm$ 1015 (176- >3000)	958 $\pm$ 913 (161- >3000)	768 $\pm$ 845 (65-2821)	0,003*
AntiTG (U/mL)	521 $\pm$ 884 (34 - >3000)	622 $\pm$ 1041 (34 - >3000)	605 $\pm$ 980 (34 - >3000)	510 $\pm$ 989 (34 - >3000)	528 $\pm$ 991 (34- >3000)	544 $\pm$ 985 (34- >3000)	0,292

P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6 meses (3 meses após a suspensão da intervenção); *Teste não paramétrico (ANOVA) de Friedman, e pós-teste de Wilcoxon se p<0,05

Figura 22 – Comparação das concentrações de TSH entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

Figura 23 - Comparação entre as concentrações de T4 livre entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

Figura 24- Comparação entre as concentrações de T4 total entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

Figura 25 - Comparação das concentrações de T3 total entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

Figura 26 - Comparação da relação T3/T4 entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

No entanto, ao se considerar os valores médios intragrupo SeMet de TSH, verificamos que exibiram diferença estatisticamente significativa entre os 3 momentos do estudo (1,7 (T0) *versus* 3,0 (T1) *versus* 3,2 μ U/mL (T2); $p = 0,015$), respectivamente (Tabelas 13 e 14, Figura 22).

Essa diferença decorreu da evolução nos valores médios de TSH, no transcorrer do estudo, constatada somente no seu desfecho após levantamento do sigilo da aleatorização. No tempo T1, 11% (3/27) pacientes do grupo Placebo e 18% (5/27) do grupo SeMet exibiram concentrações acima de 4,5 μ U/mL. No tempo T2, esse fato ocorreu com 15% (3/20) pacientes do grupo Placebo e 18% (5/23) do grupo SeMet.

Portanto, ficou evidente que (exceto pelos valores de TSH intragrupo SeMet), em ambos os grupos, não houve diferença estatisticamente significativa na função tireoidea antes, durante ou após a intervenção.

Tabela 14 - Análise estatística e comparação das concentrações de TSH ($\mu\text{U/mL}$) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo

Grupo		TSH (T0)	TSH (T1)	TSH (T2)	Teste de Friedman (p)	teste de Wilcoxon 2 x 2 [#]	Resultado
P (n=27)	Média	1,75	2,20	2,46	0,449	...	To=T1=T2
	Mediana	1,84	2,14	2,15			
	DP	0,42	1,50	1,46			
SeMet (n=28)	Média	1,73	3,04	3,23	0,015*	(T0) x (T1) p<0,001*	T0<T1=T2
	Mediana	1,82	2,87	3,10		(T0) x (T2) p=0,001*	
	DP	0,53	1,50	1,60		(T1) x (T2) p=0,086	
Teste de Mann-Whitney (p)		0,893	0,128	0,088			
Resultado		Placebo = SeMet	Placebo = SeMe	Placebo = SeMet			

TSH: hormônio tireoestimulante; P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6meses (3 meses após a suspensão da intervenção); DP: desvio padrão; *diferença estatística (p<0,05); #pós-teste de Wilcoxon se p<0,05 no teste não paramétrico (ANOVA) de Friedman

4.4 Alteração funcional tireoidea dos participantes no transcorrer do estudo

A evolução funcional dos participantes encontra-se sumarizada na Tabela 15.

Tabela 15 - Evolução da situação funcional glandular dos pacientes inicialmente eutireoideos aleatorizados para receber selenometionina ou placebo.

	Grupo Placebo			Grupo SeMet		
	Basal (T0) (n = 27)	Basal (T0) (n = 27)	Basal (T0) (n = 20)	Basal (T0) (n = 28)	3meses (T1) (n = 28)	6meses (T2) (n = 23)
Hipotireoidismo subclínico	0	3 (11,1%)	5 (25%)	0	5 (17,8%)	3 (13%)
Hipertireoidismo subclínico	0	0	0	0	0	0

T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6meses (3 meses após a suspensão da intervenção)

4.4.1 Indivíduos do grupo SeMet

Houve perda de seguimento de 5 pacientes aos 6 meses. Ocorreu hipotireoidismo subclínico em 18% (5/28) indivíduos durante o período uso de SeMet (tempo T1). 17% (4/23) permaneceram assim após a interrupção da SeMet (tempo T2); houve perda de seguimento de um paciente eutireoideo. Nesta última etapa, 4% (1/23) paciente, até então eutireoideo no tempo T1, tornou-se portador da deficiência mínima. Não houve incidência de hipertireoidismo subclínico ou clínico neste grupo (Tabela 15 e Apêndices D, E e F). Dois pacientes referiram problemas gástricos com o uso de SeMet.

4.4.2 Indivíduos do grupo Placebo

Houve perda de seguimento de 22% (6/27) pacientes aos 6 meses (tempo T2). Ocorreu hipotireoidismo subclínico em 11% (3/27) pacientes durante o período uso de placebo (tempo T1). 13% (3/23) pacientes permaneceram assim após a interrupção do placebo (tempo T2). Nesta última etapa, 9% (2/23) pacientes, até então eutireoideos no tempo T1, tornaram-se portadores de hipotireoidismo subclínico. Não houve incidência de hipertireoidismo subclínico ou clínico neste grupo (Tabela 15 e Apêndices A, B e C).

4.4.3 Proteína C reativa

A PCR média basal dos grupos Placebo e SeMet não diferiu entre si (T0: 3,8 vs 3,2 mg/L; $p = 0,787$), e continuou assim durante a intervenção (T1: 3,4 vs 2,7 mg/L; $p = 0,619$) e na pós-intervenção (T2: 3,3 vs 3,3 mg/L; $p = 0,435$). A análise intragrupos mostrou, igualmente, que não houve diferença estatística entre os tempos do estudo tanto no grupo Placebo (T0:

3,8 versus 3,4 versus 3,3 mg/L; $p = 0,848$) como no SeMet (T0: 3,2 versus 2,7 versus 3,3 mg/L; $p = 0,968$). O valor médio obtido nos momentos do estudo indicou que os pacientes não exibiam resposta inflamatória (<10 mg/L) (Tabela 16, Figura 27).

Tabela 16 - Análise estatística e comparação das concentrações de PCR (mg/L) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo

Grupo		PCR (T0)	PCR (T1)	PCR (T2)	Teste de Friedman (p)	Resultado
P (n=27)	Média	3,82	3,37	3,33	0,848	T0=T1=T2
	Mediana	2,35	2,25	2,00		
	DP	3,16	2,83	2,82		
SeMet (n=28)	Média	3,24	2,70	3,27	0,968	T0=T1=T2
	Mediana	1,90	1,50	1,60		
	DP	3,14	2,45	3,23		
Teste de Mann-Whitney (p)		0,787	0,619	0,435		
Resultado		Placebo = SeMet	Placebo = SeMet	Placebo = SeMet		

PCR: Proteína C Reativa; P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6 meses (3 meses após a suspensão da intervenção); DP: desvio padrão; *diferença estatística ($p < 0,05$).

Figura 27 - Comparação dos valores de PCR entre os grupos Placebo e SeMet nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%. PCR: proteína reativa C

4.4.4 Glicemia sérica de jejum

Foi realizada a comparação das concentrações séricas de glicemia pré, durante e pós-intervenção, de forma pareada e não pareada. Na pareada, os valores confrontados nos tempos T0, T1 e T2 no grupo Placebo (83 *versus* 94 *versus* 88 mg/dL) mostraram diferença significativa ($p = 0,002$). Neste grupo, as comparações entre os tempos dois a dois revelaram T0 (83 mg/dL) *versus* T1 (94 mg/dL) diferença significativa ($p = 0,001$); T0 (83 mg/dL) *versus* T2 (88 mg/dL) diferença significativa ($p = 0,034$) e T1 (94 mg/dL) *versus* T2 (88 mg/dL), diferença significativa ($p = 0,001$). No que diz respeito ao Grupo SeMet, os valores confrontados nos tempos T0, T1 e T2 (81 *versus* 90 *versus* 88 mg/dL), igualmente, apresentaram diferença significativa ($p < 0,001$). Neste grupo, as comparações entre os tempos dois a dois revelaram T0 (81 mg/dL) *versus* T1 (90 mg/dL) diferença significativa ($p < 0,001$); T0 (81 mg/dL) *versus* T2 (88 mg/dL) diferença significativa ($p = 0,001$) e T1 (90 mg/dL) *versus* T2 (88 mg/dL), diferença não significativa ($p = 0,162$) (Tabela 17, Figura 28).

A comparação não pareada entre os grupos Placebo e SeMet, nos tempos T0 (83 *versus* 81 mg/dL), T1 (94 *versus* 90 mg/dL) e T2 (88,5 *versus* 88,4 mg/dL) não denotaram diferença significativa ($p = 0,259$; $p = 0,077$ e $p = 0,705$, respectivamente) (Tabela 17, Figura 28).

Tabela 17 - Análise estatística e comparação das concentrações séricas de glicemia de jejum (mg/dL) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo

Grupo		Glicem. (T0)	Glicem.(T1)	Glicem. (T2)	Teste de Friedman (p)	teste de Wilcoxon 2 x 2	Resultado
P (n=27)	Média	83,10	93,65	88,50	0,002*	(T0) x (T1) p=0,001*	T0<T2<T1
	Mediana	82,50	93,00	89,50		(T0) x (T2) p=0,034*	
	DP	8,34	7,19	5,83		(T1) x (T2) p=0,001*	
SeMet (n=28)	Média	81,00	90,57	88,39	<0,001*	(T0) x (T1) p<0,001*	T0<T1=T2
	Mediana	79,00	89,00	88,00		(T0) x (T2) p=0,001*	
	DP	8,21	10,40	8,96		(T1) x (T2) p=0,162	
Teste de Mann-Whitney (p)		0,259	0,077	0,705			
Resultado		Placebo = SeMet	Placebo = SeMet	Placebo = SeMet			

Glicem.: glicemia; P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6 meses (3 meses após a suspensão da intervenção); DP: desvio padrão; *diferença estatística ($p < 0,05$); #pós-teste de Wilcoxon se $p < 0,05$ no teste não paramétrico (ANOVA) de Friedman

Figura 28 - Comparação dos valores de glicemia de jejum entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

4.4.5 Calcitonina

Em ambos os grupos, as concentrações séricas médias de calcitonina não foram estatisticamente diferentes nos tempos do estudo: Placebo: T0 = 2,16 *versus* T1 = 2,1 *versus* T2 = 2,1 pg/mL ($P = 0,273$); SeMet: T0 = 2,0 *versus* T1 = 2,2 *versus* T2 = 2,1 ($p = 0,273$), respectivamente. A análise comparativa entre os grupos sob uso de Placebo (T1 = 2,1 pg/mL) *versus* uso de SeMet (T1 = 2,2 pg/mL), igualmente, não evidenciou diferença estatística ($p = 0,661$) (Figura 29, Tabela 18).

Figura 29 - Comparação dos valores de calcitonina entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

Tabela 18- Análise estatística e comparação das concentrações de calcitonina (pg/mL) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.

Grupo		Cal (T0)	Cal (T1)	Cal (T2)	Teste de Friedman (p)	Resultado
P (n=20)	média±DP	2,2 ± 0,7	2,1 ± 0,6	2,1 ± 0,4	0,273	T0=T1=T2
	(mín-máx)	(<2,0-5,0)	(<2,0-4,5)	(<2,0-4,0)		
SeMet (n=23)	média±DP	2,0	2,2 ± 0,8	2,1 ± 0,4	0,273	T0=T1=T2
	(mín-máx)	(<2,0-)	(1,0-5,6)	(<2,0-3,3)		
Teste de Mann-Whitney (p)		0,072	0,661	0,923		
Resultado		Placebo = SeMet	Placebo < SeMet	Placebo = SeMet		

Cal.: calcitonina; P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6 meses (3 meses após a suspensão da intervenção); DP: desvio padrão; *diferença estatística ($p < 0,05$).

4.4.6 Citocinas

A comparação pareada realizada entre as determinações de IL6, IL10 e TNF pré, durante e 3 meses pós-intervenção não mostrou diferença estatística no grupo Placebo: IL6: T0 = 1,9 *versus* T1 = 1,7 *versus* T2 = 1,7 pg/mL; $p = 0,423$. Para a IL10 foram: T0 = 2,2 *versus* T1 = 2,0 *versus* T2 = 2,0 pg/mL; $p = 0,368$. Para o TNF foram: T0 = 6,6 *versus* T1 = 6,9 *versus* T2 = 8,9 pg/mL; $p = 0,549$ (Tabelas 19-21, Figuras 30-32).

No grupo SeMet, a comparação pareada pré, durante e 3 meses pós-intervenção foram: IL6: T0 = 2,0 *versus* T1 = 3,2 *versus* T2 = 3,1 pg/mL ($p = 0,375$); IL10: T0 = 2,0 *versus* T1 = 2,1 *versus* T2 = 2,1 pg/mL; $p = 0,05^*$. No entanto, a comparação entre as concentrações médias de IL10 duas a duas (T0 vs T1, T0 vs T2 e T1 vs T2) não mostraram diferenças significantes ($p = 0,109$, $p = 0,109$ e $p = 1,0$; respectivamente) (Tabela 21). Quanto à comparação entre os valores de TNF: T0 = 7,8 *versus* T1 = 5,8 *versus* T2 = 8,8 pg/mL, não houve diferença estatística significativa ($p = 0,568$) (Tabelas 19-21, Figuras 30-32).

As concentrações médias durante a intervenção (tempo T1) de IL6 (1,7 vs 3,2 pg/mL; $p = 0,459$), IL10 (2,0 vs 2,0 pg/mL; $p = 1,000$) e TNF (6,9 vs 5,8 pg/mL; $p = 0,840$) não mostraram diferença estatisticamente entre os grupos Placebo e SeMet (Tabelas 19-21, Figuras 30-32).

Tabela 19 - Análise estatística e comparação dos valores da interleucina 6 (pg/mL) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.

Grupo		IL6 (T0)	IL6 (T1)	IL6 (T2)	Teste de Friedman (p)	Resultado
P (n=20)	Média	1,89	1,71	1,74	0,423	T0=T1=T2
	Mediana	1,60	1,60	1,60		
	DP	0,80	0,42	0,29		
SeMet (n=23)	Média	2,05	3,24	3,11	0,375	T0=T1=T2
	Mediana	1,60	1,60	1,60		
	DP	0,88	7,80	4,70		
Teste de Mann-Whitney (p)		0,659	0,459	0,965		
Resultado		Placebo =SeMet	Placebo =SeMet	Placebo =SeMet		

IL6: interleucina 6; P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6 meses (3 meses após a suspensão da intervenção); DP: desvio padrão; *diferença estatística ($p < 0,05$).

Figura 30 - Comparação dos valores da interleucina 6 entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

Tabela 20 - Análise estatística e comparação dos valores da interleucina 10 (pg/mL) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.

Grupo		IL10 (T0)	IL10 (T1)	IL10 (T2)	Teste de Friedman (p)	teste de Wilcoxon 2 x 2 #	Resultado
P (n=20)	Média	2,18	2,00	2,00	0,368	...	T0=T1=T2
	Mediana	2,00	2,00	2,00			
	DP	0,81	0,00	0,00			
SeMet (n=23)	Média	2,18	2,00	2,00	0,050*	(T0) x (T1) p=0,109	T0=T1=T2
	Mediana	2,00	2,00	2,00		(T0) x (T2) p=0,109	
	DP	0,57	0,00	0,00		(T1) x (T2) p=1,000	
Teste de Mann-Whitney (p)		0,673	1,000	1,000			
Resultado		Placebo = SeMet	Placebo = SeMet	Placebo = SeMet			

IL10: interleucina 10; P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6 meses (3 meses após a suspensão da intervenção); DP: desvio padrão; *diferença estatística ($p < 0,05$); #pós-teste de Wilcoxon se $p < 0,05$ no teste não paramétrico (ANOVA) de Friedman

Figura 31 - Comparação dos valores da interleucina 10 entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

Tabela 21 - Análise estatística e comparação dos valores do TNF (pg/mL) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.

Grupo		TNF (T0)	TNF (T1)	TNF (T2)	Teste de Friedman (p)	Resultado
P (n=20)	Média	6,61	6,97	8,90	0,549	T0=T1=T2
	Mediana	4,73	5,08	6,47		
	DP	5,05	7,04	9,19		
SeMet (n=23)	Média	7,86	5,84	8,83	0,568	T0=T1=T2
	Mediana	7,98	5,84	6,14		
	DP	4,68	2,50	8,82		
Teste de Mann-Whitney (p)		0,643	0,840	0,750		
Resultado		Placebo =SeMet	Placebo =SeMet	Placebo =SeMet		

TNF: fator de necrose tumoral; P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6 meses (3 meses após a suspensão da intervenção); DP: desvio padrão; *diferença estatística ($p < 0,05$).

Figura 32 - Comparação dos valores do TNF entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

4.4.7 Iodo urinário (µg/L)

Foi realizada a comparação da dosagem do iodo urinário pré e no 3º mês sob tanto de forma pareada (intragrupos) quanto não pareada (entre grupos). As análises demonstraram ausência de diferença estatística entre os respectivos valores médios nas duas circunstâncias, tanto no grupo Placebo: T0 = 160 vs T1 = 161,8 µg/L; $p = 0,641$, quanto no grupo SeMet: T0 = 157,6 vs T1 = 158,5 µg/L; $p = 0,838$, respectivamente. A análise não pareada corroborou tal resultado ao mostrar que em ambos os grupos as concentrações urinárias médias no tempo T1 não foram estatisticamente diferentes: grupo Placebo vs grupo SeMet: 161,8 vs 158,5 µg/L; $p = 0,598$. (Tabela 22, Figura 33)

Tabela 22 - Análise estatística e comparação das concentrações de iodúria (µg/L) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.

Grupo		Iodúria (T0)	Iodúria (T1)	Teste de Wilcoxon (p)	Resultado
P (n=27)	Média	160,00	161,89	0,641	T0=T1
	Mediana	170,00	160,00		
	DP	29,38	21,94		
SeMet (n=28)	Média	157,64	158,57	0,838	T0=T1
	Mediana	159,50	158,00		
	DP	25,52	24,31		
Teste de Mann-Whitney (p)		0,752	0,598		
Resultado		Placebo = SeMet	Placebo = SeMet		

P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6 meses (3 meses após a suspensão da intervenção); DP: desvio padrão; *diferença estatística ($p < 0,05$).

Figura 33 – Comparação dos valores de iodo urinário entre os grupos SeMet e Placebo em situação basal (T0) e após 3 meses de intervenção (T1). Média $\pm$ IC 95%.

4.4.8 Dose de LT4 ($\mu\text{g}/\text{dia}$)

A análise não pareada mostrou que a dose média de LT4 pré-intervenção não foi estatisticamente diferente entre os grupos Placebo e SeMet (105 vs 93 $\mu\text{g}/\text{dia}$; $p = 0,342$) (Tabela 23, Figura 34).

Tabela 23 – Análise estatística da dose de LT4 pré-intervenção ($\mu\text{g}/\text{dia}$) entre os grupos SeMet e Placebo

	Grupo		Total	Teste de Mann-Whitney (p)	Resultado
	P (n=27)	SeMet (n=28)			
Média	105,5	93,2	99,3	0,342	Placebo = SeMet
Mediana	100,0	94,0	100,0		
DP	51,6	43,1	47,4		

P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; DP: desvio padrão.

Figura 34 – Comparação das doses médias de LT4 utilizadas nos grupos SeMet e Placebo durante o estudo. Média $\pm$ IC 95%

4.4.9 Genótipos da GPx1

Nos grupos analisados, a distribuição dos alelos, avaliado pelo teste do qui-quadrado, estava em equilíbrio de Hardy-Weinberg. No grupo Placebo, 48% (13/27) dos indivíduos eram homozigotos Pro/Pro, 52% (14/27) eram heterozigotos Pro/Leu e 0,0% (0/27) eram homozigotos Leu/Leu. No grupo SeMet, 29% (8/28) era Pro/Pro, 64% (18/28) era Pro/Leu e 7% (2/28) era Leu/Leu (Tabela 24 e 25).

Tabela 24 - Genótipos da glutathiona peroxidase 1 nos participantes aleatorizados para receber selenometionina ou placebo.

		Grupo				Total	
		Placebo		SeMet			
		N	%	N	%	N	%
Genótipos GPx1	Leu/Leu	0	0,0%	2	7,1%	2	3,6%
	Pro/Leu	14	51,9%	18	64,3%	32	58,2%
	Pro/Pro	13	48,1%	8	28,6%	21	38,2%
Total		27	100,0%	28	100,0%	55	100,0%

Tabela 25 - Genótipos da glutathiona peroxidase 1 nos controles normais

		Controles normais	
		N	%
Genótipos GPx1	Leu/Leu	9	11,4%
	Pro/Leu	31	39,2%
	Pro/Pro	39	49,4%
Total		79	100,0%

Como o dado genótipo é categorizado, o teste a ser aplicado seria o qui-quadrado, mas a baixa incidência dos eventos não permitiu aplicação do teste.

4.4.10 Mapeamento dúplex-Doppler colorido da tireoide

a) Modo-B

a1) Volume glandular

No grupo Placebo, o US revelou que na situação pré-intervenção (T0) 70,4 % (19/27) apresentava volume normal; 25,9% (7/27) tinha bócio e 3,7% (1/27), volume reduzido. Na situação sob placebo (T1), 65,4% (17/26) apresentava volume normal, 30,8% (8/26) exibia volume aumentado e 3,8% (1/26) mostrou volume reduzido. Não houve alteração do volume glandular médio com o uso de Placebo (T0: 17,1 vs T1: 16,3 vs T2: 16,2 cm³; $p = 0,212$) (Tabela 26, Figura 35).

No grupo SeMet, o US pré-intervenção (T0) mostrou que 64,3% (18/28) dos pacientes apresentavam volume normal; 35,7% (10/28) tinham bócio e 0,0% (0/28) exibia volume reduzido. Não houve alteração do volume glandular médio com o uso de SeMet (T0: 17,5 vs T1: 17,6 vs T2: 15,6 cm³; $p = 0,497$). A frequência de pacientes com volume normal foi maior no grupo submetido ao placebo (69,2%;18/26) que a do grupo sob SeMet (60,7%; 17/28). No entanto, a média do volume glandular não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos na condição pré

e na sob intervenção [grupo Placebo vs grupo SeMet: T0 = 17,1 vs 17,5 cm³ ($p = 0,652$); T1 = 16,3 vs 17,6 cm³ ($p = 0,551$)] (Tabela 26, Figura 35).

Tabela 26 - Análise estatística e comparação dos volumes glandulares (cm³) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo

Grupo		Vol. Gland. (T0)	Vol. Gland. (T1)	Vol. Gland. (T2)	Teste de Friedman (p)	Resultado
P (n=27)	Média	17,1	16,3	16,2	0,212	T0=T1=T2
	Mediana	12,7	12,9	11,8		
	DP	14,2	13,4	13,9		
SeMet (n=28)	Média	17,5	17,6	15,6	0,497	T0=T1=T2
	Mediana	13,3	13,9	13,0		
	DP	12,5	12,6	10,9		
Teste de Mann-Whitney (p)		0,652	0,511	0,618		
Resultado		Placebo = SeMet	Placebo = SeMet	Placebo = SeMet		

Vol. Gland.: volume glandular; P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6 meses (3 meses após a suspensão da intervenção); DP: desvio padrão.

Figura 35 - Comparação dos valores médios do volume glandular entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

a2) Textura

Não se observou alteração da textura do parênquima tireoideo pré e sob intervenção nos dois grupos, que se manteve heterogênea.

a3) Ecogenicidade

Antes da intervenção os dois grupos apresentaram (IE) idênticos. Mas na análise não pareada entre os grupos Placebo e SeMet sob intervenção (tempo T1), o valor médio do índice de ecogenicidade (IE), obtido pelo histograma computadorizado de escala de cinzas, não evidenciou diferença estatística significativa entre o grupo Placebo e o grupo SeMet (1,08 vs 1,17; $p = 0,273$) (Tabela 27, Figura 36).

Tabela 27 - Análise estatística e comparação do Índice de ecogenicidade entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo

Grupo		IE (T0)	IE (T1)	IE (T2)	Teste de Friedman (p)	Resultado
P (n=20)	Média	1,19	1,08	1,00	0,293	T0=T1=T2
	Mediana	1,13	1,00	0,96		
	DP	0,36	0,35	0,26		
SeMet (n=23)	Média	1,16	1,17	1,14	0,280	T0=T1=T2
	Mediana	1,08	1,20	1,12		
	DP	0,26	0,23	0,28		
Teste de Mann-Whitney (p)		0,932	0,273	0,864		
Resultado		Placebo = SeMet	Placebo = SeMet	Placebo = SeMet		

IE: Índice de ecogenicidade; P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6 meses (3 meses após a suspensão da intervenção); DP: desvio padrão.

Figura 36 - Comparação dos valores médios do índice de ecogenicidade entre os grupos Placebo e SeMet nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

Esse resultado está de acordo com a constatação de ausência de alteração estatisticamente significativa da média do valor do histograma computadorizado da tireoide (Placebo vs SeMet (T1): 67,5 vs 63,0; $p = 0,710$) (Tabelas 28 e 29, Figuras 37 e 38).

4.4.11 Histograma da Tireoide

Tabela 28 - Análise estatística e comparação dos valores do histograma da tireoide entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.

Grupo		Hist. da tireoide (T0)	Hist. da tireoide (T1)	Hist. da tireoide (T2)	Teste de Friedman (p)	Resultado
P (n=20)	Média	62,6	65,4	63,3	0,424	T0=T1=T2
	Mediana	64,0	65,5	63,0		
	DP	10,4	19,4	16,9		
SeMet (n=23)	Média	67,3	68,8	63,2	0,873	T0=T1=T2
	Mediana	68,0	67,5	59,0		
	DP	16,0	14,4	13,0		
Teste de Mann-Whitney (p)		0,123	0,562	0,855		
Resultado		Placebo = SeMet	Placebo = SeMet	Placebo = SeMet		

Hist. da tireoide: Histograma da tireoide; P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6 meses (3 meses após a suspensão da intervenção); DP: desvio padrão.

Figura 37 - Comparação dos valores médios do histograma da tireoide entre os grupos Placebo e SeMet nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

4.4.12 Histograma dos músculos pré-tireóideos

Tabela 29 - Análise estatística e comparação dos valores do histograma músculos pré-tireóideos entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo

Grupo		Histog. mpt (T0)	Histog. mpt (T1)	Histog. mpt (T2)	Teste de Friedma n (p)	teste de Wilcoxon 2 x 2 #	Resultado
P (n=20)	Média	57,6	61,0	63,2	0,143	...	T0=T1=T2
	Mediana	54,0	60,0	64,0			
	DP	8,5	9,4	8,8			
SeMet (n=23)	Média	58,2	58,8	57,4	0,526	...	T0=T1=T2
	Mediana	60,0	56,0	56,0			
	DP	7,5	10,7	14,0			
Teste de Mann-Whitney (p)		0,808	0,387	0,084			
Resultado		Placebo = SeMet	Placebo = SeMet	Placebo = SeMet			

Histog. mpt: Histograma músculos pré-tireóideos; P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6 meses (3 meses após a suspensão da intervenção); DP: desvio padrão; *diferença estatística ($p < 0,05$); [#]pós-teste de Wilcoxon se $p < 0,05$ no teste não paramétrico (ANOVA) de Friedman

Figura 38 - Comparação dos valores médios do histograma dos músculos pré-tireóideos entre os grupos Placebo e SeMet nos momentos do estudo. Média ± IC 95%

4.4.13 US-Doppler colorido de amplitude

4.4.13.1 Padrão de vascularização do parênquima tireoideo

O padrão de vascularização do parênquima da tireoide antes das intervenções (tempo T0) mostrou-se alterado (aumentado – padrões III e IV ou reduzido – padrão I) em 74% (20/27) dos pacientes do grupo Placebo e em 22/28 (78,6%) dos pacientes do grupo SeMet. Neste grupo, 71,4% (20/28) apresentaram incremento da vascularização, 7,2% (2/28), redução da vascularização e 21,4% (6/28) vascularização normal (padrão II) do parênquima. No grupo Placebo, 51,8% (14/27) exibiram hipervascularização, 22,2% (6/27) redução da vascularização e 25,9% (7/27), vascularização normal do parênquima tireoideo (Tabela 30).

Aos 3 meses (tempo T1), comparou-se o padrão de vascularização sob intervenção com placebo. Neste grupo, 53,8% (14/26) apresentaram incremento da vascularização, 23,1% (6/26) redução da vascularização, e 23,1% (6/26) vascularização normal do parênquima. No grupo SeMet, 35,7% (10/28) exibiram hipervascularização, 17,9% (5/28), redução da vascularização e 46,4% (13/28), vascularização normal do parênquima tireoideo (Tabela 30).

Tabela 30 - Comparação das frequências observadas dos padrões de vascularização do parênquima tireoideo, antes e durante a intervenção, nos pacientes aleatorizados para receber placebo ou selenometionina

Padrão de vascularização	Grupo Placebo			Grupo SeMet		
	Basal (T0) n (%)	3 meses (T1) n (%)	6 meses (T2) n (%)	Basal (T0) n (%)	3 meses (T1) n (%)	6 meses (T2) n (%)
Padrão I	6 (22,2)	6 (23,1)	3 (15,5)	2 (7,1)	5 (17,9)	4 (17,4)
Padrão II	7 (25,9)	6 (23,1)	10 (50,0)	6 (21,5)	14 (50,0)	6 (26,1)
Padrão III	12 (44,5)	13 (50,0)	6 (30,0)	18 (64,3)	9 (32,1)	13 (56,5)
Padrão IV	2 (7,4)	1 (3,8)	1 (5,0)	2 (7,1)	0 (0,0)	0 (0,0)
Total	27 (100)	26 (100)	20 (100,0)	28 (100)	28 (100)	23 (100,0)

4.4.14 Velocidade de pico sistólico das artérias tireoideas inferiores

O US-Doppler pulsado mostrou que, no grupo Placebo, não houve alteração (aumento ou diminuição) estatisticamente significativa da velocidade de pico sistólico (VPS) das artérias tireoideas inferiores no transcorrer do estudo ($p = 0,861$) (Tabela 31, Figura 39).

Por outro lado, no grupo SeMet, houve aumento estatisticamente significativo da VPS ($p = 0,009^*$), durante a intervenção (T1; 32,2 cm/s), que se aproximou do valor basal (24,4 cm/s) após sua suspensão, aos 6 meses (T2; 25,4 cm/s) (Tabela 31, Figura 39).

No que diz respeito à comparação entre os grupos Placebo e SeMet, houve aumento significativo da VPS durante a intervenção com a SeMet (tempo T1): 25,1 vs 32,2 cm/s; $p = 0,001$ (Tabela 31, Figura 39).

Tabela 31 - Análise estatística e comparação da velocidade de pico sistólico (cm/s) entre os grupos SeMet e Placebo nos momentos do estudo.

Grupo		VPS (T0)	VPS (T1)	VPS (T2)	Teste de Friedman (p)	teste de Wilcoxon 2 x 2 #	Resultado
P (n=20)	Média	25,4	25,1	27,0	0,861	...	T0=T1=T2
	Mediana	24,8	24,5	25,0			
	DP	6,3	7,7	9,7			
SeMet (n=23)	Média	24,4	32,2	25,4	0,009*	(T0) x (T1) p<0,001*	T0=T2<T1
	Mediana	23,3	31,6	22,9		(T0) x (T2) p=0,988	
	DP	5,5	10,4	6,3		(T1) x (T2) p=0,003*	
Teste de Mann-Whitney (p)		0,625	0,001*	0,893			
Resultado		Placebo = SeMet	Placebo < SeMet	Placebo = SeMet			

VPS: velocidade de pico sistólico; P: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6 meses (3 meses após a suspensão da intervenção); DP: desvio padrão; *diferença estatística ($p < 0,05$); #pós-teste de Wilcoxon se $p < 0,05$ no teste não paramétrico (ANOVA) de Friedman

Figura 39 - Comparação dos valores de velocidade de pico sistólico nas artérias tireoideas inferiores entre os grupos Placebo e SeMet nos momentos do estudo. Média $\pm$ IC 95%.

4.4.15 Associação entre a concentração plasmática de Selênio ($\mu\text{g/L}$) e atividade eritrocitária da GPx1 (U/gHb), conforme o genótipo da GPx1, por meio do coeficiente de correlação ρ de Spearman

a1) Basal

No grupo Placebo, não foi encontrada diferença em relação aos dois parâmetros (concentração plasmática de Se e atividade eritrocitária da GPx1, entre indivíduos com diferentes genótipos na situação basal (tempo T0). A associação entre atividade GPx1 e concentração de Se, analisadas separadamente para cada genótipo, diferiu, embora não de forma significativa. Os coeficientes de correlação foram: (Pro/Pro) $r = 0,45$, $p = 0,119$; (Pro/Leu) $r = 0,08$, $p = 0,782$; e (Leu/Leu) $r =$ não disponível. No grupo SeMet, igualmente, não houve diferença estatisticamente significativa, para

as respectivas correlações: (Pro/Pro) $r = 0,33$, $p = 0,420$; (Pro/Leu) $r = 0,34$, $p = 0,166$ e (Leu/Leu) $r =$ não disponível (Tabelas 32 e 33).

Tabela 32 - Análise estatística da comparação entre os valores de Se e da GPx1 nos vários genótipos da GPx1 na situação basal.

Genótipos da GPx1		Placebo	SeMet
Leu/Leu	Coeficiente de correlação		
	Sig. (p)		
	N	0	2
Pro/Leu	Coeficiente de correlação	0,081	0,341
	Sig. (p)	0,782	0,166
	N	14	18
Pro/Pro	Coeficiente de correlação	0,454	0,333
	Sig. (p)	0,119	0,420
	N	13	8

Placebo: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; N: número de casos.

Conclusão: Não houve correlação significativa entre os valores de Se e da GPx1 nos vários genótipos da GPx1 na situação basal.

Tabela 33 - Valores evolutivos consolidados intragrupos de selênio plasmático e da atividade eritrocitária da glutatona peroxidase 1, segundo os genótipos Pro/Pro, Pro/Leu e Leu/Leu, nos indivíduos aleatorizados para receber selenometionina ou placebo, nos momentos do estudo

Medida	GPx1	Placebo			Grupo SeMet		
		T0	T1	T2	T0	T1	T2
Se (µg/L)	Pro/Pro	39,5 ± 10,6 (23-59,3)	40,6 ± 5,1 (30,2-51)	42,4 ± 7,2 (24,9-51,8)	44,4 ± 16,4 (10,3-57)	63,1 ± 11,9 (46,9-80)	37,6 ± 5,5 (29,7-44)
	Pro/Leu	31,9 ± 14,5 (6,3-60,7)	36,4 ± 10,4 (20,1-56,9)	40,5 ± 13,9 (19,6-65)	36,4 ± 11,4 (10-53,4)	66,4 ± 11,3 (47,8-93,9)	42,7 ± 10 (24,6-57,4)
	Leu/Leu	...	...	...	27,6 ± 2 (26,2-29)	55,5 ± 20 (41,4-69,7)	37,3 ± 2 (35,9-38,7)
GPx1 (U/gHb)	Pro/Pro	62,5 ± 19,7 (32-89,1)	64,4 ± 17,5 (32,4-91)	54,5 ± 10,5 (36,8-67,5)	66,4 ± 20 (29-94,3)	79,5 ± 11,3 (68,7-95,7)	56,1 ± 13,2 (41,7-76,7)
	Pro/Leu	56,9 ± 22,9 (20-94,3)	58,1 ± 16,2 (38,1-87,5)	56,5 ± 12,8 (42,3-86,9)	57,1 ± 24,3 (20-95,1)	81,3 ± 11,6 (65,2-99,8)	47,9 ± 12,8 (29-73,5)
	Leu/Leu	...	...	...	52,7 ± 18 (40-65,4)	72,3 ± 19,8 (58-3-86,3)	50 ± 23,1 (33,6-66,3)

Média ± Desvio padrão (mínimo-máximo). Se: Selênio; GPx1: glutatona peroxidase 1; Placebo: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; T2: 6 meses (3 meses após a suspensão da intervenção)

a2) Tempo T1

No grupo Placebo, não foi encontrada diferença em relação aos dois parâmetros (concentração plasmática de Se e atividade eritrocitária da GPx1, entre indivíduos com diferentes genótipos sob intervenção (tempo T1). A associação entre atividade GPx1 e concentração de Se, analisadas separadamente para cada genótipo, diferiu, embora não de forma significativa. Os coeficientes de correlação foram: (Pro/Pro) $r = -0,03$, $p = 0,922$; (Pro/Leu) $r = 0,19$, $p = 0,513$ e (Leu/Leu) $r =$ não disponível. No grupo SeMet, a correlação foi estatisticamente significativa para o Pro/Pro: $r = 0,95$, $p < 0,001^*$). No entanto, isso não ocorreu para o Pro/Leu: $r = -0,10$, $p = 0,675$). O valor de r não estava disponível para o Leu/Leu (Tabelas 33 e 34).

Tabela 34 - Análise estatística da comparação entre os valores de Se e da GPx1 nos vários genótipos da GPx1 no tempo T1

Genótipos da GPx1		Placebo	SeMet
Leu/Leu	Coeficiente de correlação		
	Sig. (p)		
	N	0	2
Pro/Leu	Coeficiente de correlação	0,191	-0,106
	Sig. (p)	0,513	0,675
	N	14	18
Pro/Pro	Coeficiente de correlação	-0,030	,952(**)
	Sig. (p)	0,922	<0,001*
	N	13	8

Placebo: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; N: número de casos.

Conclusão: Houve correlação significante ($r = 0,95$; $P < 0,001$) entre as concentrações de Se e atividade da GPx1 apenas no grupo SeMet para o genótipo Pro/Pro no tempo T1.

4.4.16 Associações entre o IE e variáveis clínicas nos grupos Placebo e SeMet por meio do coeficiente de correlação *rho* de Spearman (Tabela 35)

Tabela 35 - Associação entre índice de ecogenicidade e antiTPO, AntiTG, padrão de vascularização do parênquima tireoideo, velocidade de pico sistólico das artérias tireoideas inferiores, IL6, IL10, TNF, volume glandular e TSH, por meio do coeficiente de correlação de Spearman *rho*, para os grupos Placebo e SeMet, nos tempos T0 e T1

Spearman <i>rho</i>		Índice de ecogenicidade			
		Placebo (T0)	Placebo (T1)	SeMet (T0)	SeMet (T1)
AntiTPO	Coeficiente de correlação	0,044	-0,010	0,069	0,084
	Sig. (p)	0,827	0,958	0,739	0,703
	n	27	28	26	23
AntiTG	Coeficiente de correlação	-0,084	-0,065	0,343	0,135
	Sig. (p)	0,677	0,742	0,087	0,540
	n	27	28	26	23
PV (valor numérico)	Coeficiente de correlação	0,217	-0,352	0,065	0,008
	Sig. (p)	0,278	0,066	0,751	0,970
	n	27	28	26	23
VPS	Coeficiente de correlação	,402(*)	0	,509(**)	,466(*)
	Sig. (p)	0,038	0,814	0,008	0,025
	n	27	28	26	23
IL6	Coeficiente de correlação	-,450(*)	-0,091	0,116	0,349
	Sig. (p)	0,019	0,646	0,573	0,103
	n	27	28	26	23
IL10	Coeficiente de correlação	-0,207	-0,122	...	...
	Sig. (p)	0,300	0,537	...	...
	n	27	28	26	23
TNF	Coeficiente de correlação	-0,201	-0,283	0,170	0,139
	Sig. (p)	0,315	0,144	0,405	0,527
	n	27	28	26	23
Volume glandular	Coeficiente de correlação	0,087	-0,218	0,359	-0,145
	Sig. (p)	0,666	0,265	0,071	0,509
	n	27	28	26	23
TSH	Coeficiente de correlação	0,115	-0,351	-0,135	0,222
	Sig. (p)	0,569	0,067	0,512	0,309
	n	27	28	26	23

*Significante a 0,05; **: Significante a 0,01; ...: não disponível. Placebo: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; AntiTPO: anticorpo antiperoxidase; antiTG: anticorpo antitireoglobulina; IL6: interleucina 6; IL10: interleucina 10; TNF: fator de necrose tumoral; ...: não disponível; PV: padrão de vascularização do parênquima tireoideo (valor numérico); VPS: velocidade média de pico sistólico das artérias tireoideas inferiores.

4.4.17 Outras associações entre variáveis clínicas nos grupos Placebo e SeMet por meio do coeficiente de correlação de Spearman (Tabela 36)

Tabela 36 - Associações por meio do coeficiente de Spearman ρ entre outras variáveis clínicas para os grupos Placebo e SeMet, nos tempos T0 e T1

	Placebo				SeMet			
	T0 (n = 27)		T1 (n = 27)		T0 (n = 28)		T1 (n = 28)	
	<i>R</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
AntiTPO vs IL6	-0,282	0,153	-0,047	0,815	-0,074	0,709	-0,047	0,812
AntiTPO vs IL10 [#]	-0,249	0,210	...	...	-0,311	0,107	...	...
AntiTPO vs TNF	-0,238	0,233	-0,083	0,680	-0,266	0,171	-0,343	0,074
AntiTG VS IL6	0,117	0,562	0,188	0,347	0,014	0,942	-0,085	0,667
AntiTG vs IL10 [#]	-0,078	0,700	...	...	-0,083	0,673	...	...
AntiTG vs TNF	-0,041	0,839	0,461*	0,015*	-0,153	0,438	-0,248	0,204
PV (vn) vs VPS	0,187	0,349	0,258	0,203	-0,234	0,230	0,084	0,670
Se plasmático vs iodo urinário	0,041	0,839	0,040	0,839	-0,103	0,601	-0,106	0,588

Placebo: grupo placebo; SeMet: grupo selenometionina; T0: basal; T1: 3 meses; *r*: Coeficiente de correlação; antiTPO: anticorpo antiperoxidase; IL6: interleucina 6; IL10: interleucina 10; TNF: fator de necrose tumoral; antiTG: anticorpo antitireoglobulina; PV(vn): padrão de vascularização do parênquima tireoideo (valor numérico); VPS: velocidade média de pico sistólico das artérias tireoideas inferiores; Se: selênio; ...: não disponível; #O valor de IL10 (T1) para todos os casos foi constante e igual a 2 (ou <2) e por isso não permitiu o cálculo da correlação.

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

A tireoide contém mais Se por grama de tecido do que qualquer outro órgão, e o Se, como iodo, é um microelemento essencial para a função normal e homeostase hormonal da tireoide¹⁰⁶. Portanto, a glândula requer um fornecimento adequado de iodo e Se para a produção eficiente de hormônios.

Quando ocorre deficiência de Se, as enzimas desiodases tipo 1 e 2, GPx e TRs não funcionam corretamente, e o resultado final é a produção ineficaz de T3 e proteção contra os radicais livres, induzindo danos celulares e destruição autoimune glandular^{41,44,61}. Nessas condições, a suplementação de Se poderia ser benéfica para portadores de TCA⁶¹.

A tireoidite crônica autoimune é a doença autoimune da tireoide mais comumente observada na presença de suficiência iódica. A predisposição genética ou determinados fatores ambientais, incluindo a deficiência de Se, parecem estar envolvidos na sua patogênese.⁵⁹

Diversos estudos têm investigado os possíveis efeitos terapêuticos da administração de Se em pacientes com HT.¹⁰⁷

5.1 Efeitos da suplementação de selênio na concentração circulante de autoanticorpos tireoideos

Em 2002, Gartner *et al.* conduziram um estudo cego, randomizado, controlado com placebo em 70 indivíduos do sexo feminino na Alemanha, local com deficiência leve de Se e de iodo. O ponto final do estudo foi investigar, em curto prazo, os efeitos da suplementação de Se sobre o curso natural da TCA. Os participantes, todos sob uso de tratamento substitutivo com LT4, foram divididos em dois grupos: 36 indivíduos receberam 200 µg de sulfito de sódio por dia ($\text{Na}_2\text{SO}_3/\text{dia}$) durante 3 meses, e 34 indivíduos receberam placebo. Nos suplementados, os níveis séricos de Se

aumentaram de 0,87 para 1,09 $\mu\text{mol/L}$ e, ao mesmo tempo, os valores de anticorpos anti-TPO caíram 64%. No grupo placebo, não ocorreu nenhuma alteração nos títulos de antiTPO.¹⁰⁸

Os mesmos autores acompanharam 13 dos mesmos indivíduos sob suplementação de Se por mais 6 meses, tendo observado redução ainda maior das concentrações de antiTPO⁶³ (Tabela 37).

Em 2003, Duntas *et al.* registraram queda de 46% no valor de anticorpos antiTPO após a administração por 3 meses de 200 $\mu\text{g}/\text{dia}$ de SeMet, e queda de 55,5% após 6 meses de tratamento⁶⁴ (Tabela 37).

Em 2006, Turker *et al.* compararam os efeitos a longo prazo (9 meses) de diferentes doses (200 $\mu\text{g}/\text{dia}$ e 100 $\mu\text{g}/\text{dia}$) de SeMet em 88 portadores de TCA do sexo feminino. Constataram que 200 μg de SeMet/dia suprimiram a atividade autoimune (os valores de antiTPO caíram 26% em 3 meses neste grupo), enquanto doses mais baixas não o conseguiram fazer (os títulos de antiTPO aumentaram significativamente naqueles tratados apenas com 100 μg de SeMet/dia)⁶⁵ (Tabela 37).

Resultados similares foram relatados por Mazokopakis em 2007 com a administração de SeMet por um ano.⁶⁷ Todos utilizaram 200 μg de SeMet por via oral durante 6 meses. Em seguida, foram divididos em dois grupos: 40 sujeitos continuaram o tratamento com SeMet e 40 pararam. A investigação continuou por mais 6 meses, totalizando 12 meses; os resultados mostraram uma redução significativa e gradual nos valores de antiTPO (-21%), a partir de 3 meses de terapia. Este trabalho diferiu dos anteriores em que registrou uma maior redução nos títulos de autoanticorpos após um segundo período de 3 meses de tratamento com Se. A extensão da suplementação por mais 6 meses conduziu à queda adicional de 8%, enquanto os valores de antiTPO aumentaram significativamente (+4,8%) nos indivíduos que interromperam o uso de SeMet (Tabela 37).

Em contraste com os estudos anteriores, Karanikas *et al.* não observaram nenhuma redução significativa nos títulos de anticorpos antiTPO após 3 meses de suplementação de Se com 200 $\mu\text{g}/\text{dia}$ de Na_2SO_3 , em uma série de 36 pacientes austríacas com TCA⁶⁸ (Tabela 37).

Negro *et al.* avaliaram parâmetros autoimunes em mulheres grávidas, com ou sem suplementação de Se ⁶⁶. Todas exibiam níveis de Se no plasma na faixa inferior do normal no momento da inclusão. Três grupos foram estudados a partir da 10ª semana de amenorreia até o final do primeiro ano pós-parto: 77 mulheres antiTPO positivas receberam 200 µg/dia de SeMet (grupo S1), 74 mulheres antiTPO positivas não receberam suplementação (grupo S0) e um grupo controle com antiTPO negativo (grupo C) igualmente não recebeu suplementação. Durante a gravidez, foi observada diminuição significativa nas concentrações de antiTPO em ambos os grupos (S0 e S1) testados, mas o decréscimo foi mais elevado no grupo de S1 (-62,4%) que no grupo S0 (-43,9%) ($p < 0,01$). A percentagem de indivíduos com tireoidite pós-parto e hipotireoidismo permanente foi significativamente menor no grupo S1 em comparação com o grupo S0 ($p < 0,01$ e $p < 0,01$; respectivamente)⁶⁶ (Tabela 37).

Em 2009, o estudo de Nacamulli focalizou, principalmente, o efeito do curso da suplementação de Se por 1 ano em pacientes italianas em estágio inicial de TCA e com função tireoidea normal ou hipofunção leve sem receber terapia substitutiva com LT4. Quarenta e seis doentes foram tratados com 80 µg/dia de Na₂SO₃ por 12 meses, enquanto 30 pacientes permaneceram sem tratamento. Não constataram alteração significativa após 6 meses nos valores de antiTG e antiTPO em ambos os grupos. Porém, diminuíram, significativamente (30% e 19%, respectivamente), após 12 meses em grupo tratado com Se, mas não no grupo controle⁶⁹ (Tabela 37).

Em 2010, Bonfig *et al.*⁷⁰ investigaram se a suplementação de Se diminuiria as concentrações de antiTPO e de antiTG em crianças e adolescentes com TCA. Quarenta e nove indivíduos (33 do sexo feminino) recentemente diagnosticados e portadores de hipotireoidismo foram distribuídos aleatoriamente para tratamento oral diário com LT4 (grupo A, n = 18), LT4 e 100 µg de Na₂SeO₃ (grupo B, n = 13) ou LT4 e 200 µg de Na₂SeO₃ (grupo C, n = 18). Concluíram que não houve efeito significativo, com a suplementação com Na₂SO₃ em alta ou baixa dose, na atividade inflamatória glandular em um período de observação de 1 ano (Tabela 37).

Em 2011, Krysiak e Okopien conduziram ensaio clínico randomizado envolvendo grupo de 170 mulheres eutireoideas com diagnóstico recente de TCA e não previamente tratadas, e 41 indivíduos saudáveis pareados. Incluiu quatro braços; um braço de tratamento com LT4, um com 200 µg de SeMet, um com LT4 e SeMet 200 µg e um braço com placebo. No grupo tratado com SeMet combinado com LT4, houve redução nos níveis séricos de antiTPO, que passou de 1.810 ± 452 U/mL na situação basal para 463 ± 104 U/mL no final do estudo e de 1723 ± 410 U/mL a 1884 ± 346 U/mL no grupo de placebo⁷¹ (Tabela 37).

Recentemente, Anastasilakis *et al.* relataram resultado de estudo envolvendo 86 indivíduos com TCA que foram suplementados com 200 µg/dia de SeMet ou placebo. Não foram detectadas alterações nos valores de TSH, T4 livre, T3 livre e antiTPO nos indivíduos que utilizaram Se, enquanto constataram queda significativa ($p = 0,001$) no título de antiTG após 6 meses de tratamento⁷² (Tabela 37).

Muito recentemente, Eskes *et al.*⁷³ realizaram estudo aleatorizado, duplo-cego e placebo controlado, com suplementação de Se (200 µg de Na₂SeO₃) durante 6 meses, em mulheres eutireoideas holandesas ($n = 61$) portadoras de TCA. Não houve alteração na concentração de antiTPO nos participantes em nenhum dos grupos (placebo e Se) ao longo do tempo ($p = 0,24$ e $p = 0,90$; respectivamente). Além disso, os dois grupos não diferiram entre si ($p = 0,28$). O TSH não se alterou significativamente no período de intervenção, quer no grupo sob Se, quer no grupo sob placebo ($p = 0,69$ e $p = 0,10$; respectivamente). Igualmente, não houve diferença entre eles ($p = 0,94$). Além disso, não houve uma mudança nos valores de T4L no grupo sob Se e o grupo do placebo ($p = 0,20$ e $p = 0,67$; respectivamente) no transcorrer do estudo. Não houve diferença entre ambos quanto ao T4L ($p = 0,14$)⁷³ (Tabela 37).

Tabela 37 - Estudos clínicos sobre o tratamento adjuvante com selênio em portadores de tireoidite autoimune

Referência	Feminino/Masculino (nº de indivíduos)	Sob LT4	Desenho do estudo; origem	Forma de Se	Duração da intervenção (meses)	Selênio basal (µg/L)*	Iodo urinário (µg/L)*	AntiTPO basal (U/mL)	AntiTPO 3 meses (U/mL)	AntiTPO 6 meses (U/mL)	Valor de P	Resultado
Gartner et al. ⁶²	F (n=71)	Sim	Prospectivo, placebo controlado, duplo-cego, crossover; Alemanha	200 µg de Na ₂ SeO ₃	3	69 ± 12	...	904 ± 205	575 ± 46	...	0,013	↓ antiTPO; melhora do bem-estar; ecogenicidade tireoidea normalizada ao US
Gartner & Gasnier ⁶³	F (n=47)	Sim	Prospectivo, placebo controlado, crossover; Alemanha	200 µg de Na ₂ SeO ₃	6	...	...	...	625 ± 470	354 ± 321	0,004	↓↓ antiTPO em 13 indivíduos que continuaram sob Se; ↑ antiTPO em 9 indivíduos que interromperam o Se
Duntas et al. ⁶⁴	F (n=56); M (n=9)	Sim	Prospectivo, placebo controlado, duplo-cego, crossover; Alemanha	200 µg de SeMet	6	75 ± 6	...	1875 ± 1039	1013 ± 382	884 ± 227	<0,0001	↓ antiTPO; melhora do bem estar
Turker et al. ⁶⁵	F (n=88)	Sim	Prospectivo, placebo controlado duplo-cego, 3 fases; Turquia	100/200 µg de SeMet	9	...	...	803 ± 483	572 ± 517	...	<0,001	↓ antiTPO
Negro et al. ⁶⁶	F (n=77/162) com antiTPO+	Sim (15/77)	Prospectivo, placebo controlado, duplo-cego, aleatorizado; Itália	200 µg de SeMet	12 (gravidez e pós-parto)	81	...	627 ± 42	~350 (25 semanas de gestação)	~310 (35 semanas de gestação)	<0,01	↓ antiTPO; ↓ da incidência da tireoidite pós-parto e hipotireoidismo permanente
Mazokopakis et al. ⁶⁷	F (n=80)		Prospectivo, não placebo controlado, não aleatorizado, 2 fases; Grécia	200 µg de SeMet	6+6	...	...	875	820	775	< 0,0001	↓ antiTPO
Karanikas et al. ⁶⁸	F (n=36)	Sim	Prospectivo, placebo controlado, paralelo; Austria	200 µg Na ₂ SeO ₃	3	75 ± 11	...	524 ± 452	505 ± 464	...	NS	Não houve alteração de antiTPO

continua

Referência	Feminino/Masculino (nº de indivíduos)	Sob LT4	Desenho do estudo; origem	Forma de Se	Duração da intervenção (meses)	Selênio basal (µg/L)*	Iodo urinário (µg/L)*	AntiTPO basal (U/mL)	AntiTPO 3 meses (U/mL)	AntiTPO 6 meses (U/mL)	Valor de P	Resultado	conclusão
Nacamulli <i>et al.</i> ⁶⁹	F (n=65);	Não	Prospectivo, placebo controlado, paralelo; Itália	80 µg de Na ₂ SeO ₃	12	...	≥100	172	...	148	NS†	Melhora da ecogenicidade tireoidea ao US	↓ antiTPO;
	M (n=11)												
Bonfig <i>et al.</i> ⁷⁰	Crianças e adolescentes;	Sim	Prospectivo, aleatorizado, paralelo; Alemanh a	100/200 µg de Na ₂ SeO ₃	12	...	...	715 ± 1012	...	426 ± 520	NS	Não houve alteração de antiTPO com 100 µg de Na ₂ SeO ₃ /dia; ↓ antiTPO com 200 µg de Na ₂ SeO ₃ /dia	
	F (n=33); M (n=16)												
Krysiak & Okopien ⁷¹	F(n=43/170) ^a	Sim	Duplo-cego; Polônia	200 µg de SeMet	6	57	...	1810 ± 452	982 ± 243	463 ± 104	< 0,001	↓ antiTPO	
Anastasilakis <i>et al.</i> ⁷²	F (n=53);	Sim	Prospectivo, placebo controlado, não aleatorizado; Grécia	200 µg de SeMet	3 ou 6	83 ± 2	...	611 ± 103	+15,8%	4,10%	...	Não houve alteração de antiTPO ou na infiltração linfocitária tireoidea por PAAF	
	M (n=33)												
Eskes <i>et al.</i> ⁷³	F (n=61)	Não	Prospectivo, placebo controlado, aleatorizado, duplo-cego; Holanda	200 µg de Na ₂ SeO ₃	6	74 ± 14	...	1508 ± 1766	1681 ± 1694	1792 ± 1950	NS	Não houve alteração de antiTPO	
Farias (presente estudo)	F (n=51);	Sim	Prospectivo, placebo controlado, duplo- cego, aleatorizado; Brasil	200 µg de SeMet	3	37 ± 14	159 [‡]	1009 ± 1015	958 ± 913	768 ± 845	0,003	↓ antiTPO; melhora da ecogenicidade tireoidea ao US	
	M (n=4))												

Adaptado de Krysiak, Okopien, 2011; Rayman, 2008^{61,74}. Valores como média ou média ± DP; ‡: mediana; F: sexo feminino; M: sexo masculino; SeMet: selenometionina; Na₂SeO₃: selênio de sódio; PAAF: punção aspirativa por agulha fina; *Nos indivíduos submetidos à intervenção com SeMet ou Na₂SeO₃, não determinado; NS: não significativo; a: braço com 43 indivíduos submetidos ao tratamento com SeMet e LT4; US: ultrassom.

†AntiTPO diminuiu significativamente após 12 meses de suplementação com Na₂SeO₃ (P < 0,001)

No presente estudo, o valor basal médio de antiTPO no grupo Placebo foi 1206 U/mL, sob intervenção (tempo T1) 1404 U/mL e após a suspensão da intervenção (tempo T2) 1429 U/mL; $p = 0,731$. Para antiTG, foi de 521 U/mL, 622 U/mL e 605 U/mL; respectivamente ($p = 0,802$). No grupo SeMet, o título médio de antiTPO basal foi de 1009 U/mL; sob intervenção 958 U/mL e após suspensão da SeMet, 767 U/mL; $p = 0,003$. Para o antiTG, foi 510 U/mL, 528 U/mL e 543 U/mL; respectivamente ($p = 0,292$).

Dois ensaios clínicos⁶² descreveram maior diminuição nas concentrações de antiTPO em indivíduos cujos valores basais eram mais elevados. Em nosso estudo, a concentração inicial de antiTPO foi comparável com aquelas dos estudos positivos^{62,65,67}. Em outro estudo negativo⁶⁸, as concentrações de antiTPO eram relativamente baixas em comparação à maioria dos estudos com resultados positivos, além de outro⁶⁹ em que as concentrações de antiTPO encontravam-se ainda mais baixas, mas ainda diminuíram após 12 meses de suplementação com Se. Estes aspectos indicam que o valor pré-existente de antiTPO, talvez, não seja pré-requisito essencial para os resultados negativos obtidos em alguns estudos⁷³. A idade dos participantes no presente estudo variou entre 20 e 58 anos e as concentrações séricas basais de antiTPO eram superiores a 1000 U/mL. Permanece considerável incerteza se as diferenças observadas na redução do antiTPO ocorrem devido às diferentes metodologias aplicadas, à duração do tratamento, à resposta individual à suplementação de Se, ao teor geográfico de iodo, ou a alguma combinação entre os aspectos citados. No presente estudo, a análise multivariada de variância e covariância demonstrou que as variáveis idade do indivíduo ($P = 0,217$), tempo de doença ($P = 0,476$), e ingesta local de iodo ($P = 0,410$) não influenciaram na redução de antiTPO. Esse fato foi dependente do fator momento da intervenção (tempo T1), o que equivale dizer do efeito da SeMet por 3 meses ($P = 0,007$).

Tem sido sugerido que a suplementação com compostos de Se é mais eficaz na redução das concentrações de antiTPO, em indivíduos deficientes em Se. Tal como mostrado na Tabela 38, o valor plasmático basal médio de Se (37,7µg/L) encontrava-se diminuído em contraste com os demais estudos prévios. Porém, durante a suplementação com SeMet, encontrava-se na mesma ordem de grandeza (63,4µg/L) que nos demais (Tabelas 8 e 38). Portanto, a diferença no valor basal de Se é causa pouco provável para a discreta redução na concentração de antiTPO aos 3 meses de intervenção, em comparação com os outros trabalhos.

Em dois estudos, os valores circulantes de Se nos afetados encontravam-se dentro da faixa de referência ou próximos do limite inferior, mas responderam à terapia^{62,64}. Portanto, é provável que o efeito do Se na supressão dos títulos de antiTPO em portadores de TCA, em doses de 200 µg/dia, não parece ser estritamente devido à correção de um estado de deficiência. A observação de que os efeitos positivos da suplementação foram registrados em regiões tanto deficientes quanto suficientes de Se dá suporte à hipótese de que o resultado se dá via ações farmacológicas ao invés da correção da deficiência por si.

O fato de alguns pacientes com TCA não respondem a esta forma de terapia sugere que a doença não tem um fenótipo homogêneo. Duzentos microgramas de SeMet/dia suprimem os títulos dos autoanticorpos, enquanto que doses menores não⁶⁵. Será que a capacidade de ligação de proteínas transportadoras de Se em portadores de TCA encontram-se alteradas? Poderia estar relacionada a defeitos nessas proteínas, como aventado por Duntas¹⁰⁹. Atualmente, não existem meios para determinar quem poderia ter boa resposta terapêutica ao Se.

Os estudos positivos (redução do antiTPO) sobre suplementação de Se são originários da Alemanha, Grécia, Turquia e Itália, países com carência prevalente de iodo⁷³. Os negativos (sem atuação no antiTPO) foram realizados na Áustria e Holanda, onde existe suficiência de iodo⁶⁸. Na Holanda, a excreção urinária de iodo média foi de 154 µg/mL em 2001 e 165 µg/mL em 2010⁷³. Embora no estudo de Nacamulli *et al.*⁶⁹, a maioria dos

pacientes tenha exibido excreção urinária de iodo adequada ($\geq 100 \mu\text{g}/24\text{h}$), a redução no antiTPO foi modesta em 12 meses. Exceto neste último e no atual estudo (excreção urinária basal média de iodo de $157,64 \mu\text{g}/\text{dL}$) a situação iódica não foi avaliada nos demais. Estas observações sugerem que a ingestão de iodo não interfere de forma expressiva nos resultados. Em consonância, não foram observadas interações relevantes entre as concentrações circulantes de Se e o *status* de iodo em humanos¹¹⁰. No entanto, a deficiência iódica poderia incrementar o estresse oxidativo para a glândula tireoide. Esse fenômeno provocaria deficiência adicional de Se via diminuição dos níveis de selenoproteínas e enfraquecimento dos sistemas de defesa antioxidativos, exacerbando o estresse oxidativo¹¹¹. Assim, é possível que a suplementação de Se, provoque queda na concentração de antiTPO mais evidente em regiões carentes de iodo do que em regiões iodo suficientes.

5.2 Efeito da suplementação de selênio na ecomorfologia e na vascularização da tireoide

Apenas um trabalho avaliou esta questão de forma objetiva até o presente. A análise quantitativa computadorizada na escala de cinzas por ultrassom proporciona estimativa numérica do grau da hipoeogenicidade associada ao aparecimento de disfunção tireoidea em portadores de TCA.⁹⁹

Adicionalmente, a ultrassonografia padronizada na escala de cinzas permite correlações reproduzíveis entre a situação funcional e as características morfológicas da glândula tireoide na TCA. Os autores descreveram que portadores de TCA exibiram padrões ecográficos significativamente ($p < 0,001$) inferiores ($19,6 \pm 2,6$ UVC; unidades de valor de cinza) do que os controles normais ($25,6 \pm 2,0$ UVC). Os graus de aumento da hipoeogenicidade encontravam-se associados com bócio com maior volume, elevação persistente de TSH (hipotireoidismo subclínico) e incremento nas concentrações séricas de antiTPO.¹¹²

É oportuno mencionar que a análise computadorizada da escala de cinzas por meio do ultrassom (índice de ecogenicidade; IE) quantifica a hipoecogenicidade da tireoide em portadores de TCA, tratados ou não tratados com LT4⁹⁹. A redução do IE, e, portanto, da hipoecogenicidade, reflete melhora da lesão causada na estrutura folicular glandular e diminuição dos linfócitos infiltrados no parênquima, implicando aumento da ecogenicidade.

Mediante metodologia semelhante à utilizada no presente estudo, Nacamulli *et al.*⁶⁹ encontraram tireoides com ecogenicidade significativamente reduzida, após 6 meses, quer no grupo de tratados com doses fisiológicas de Se (n=46) quer no grupo controle (n=30). Após 12 meses, contudo, o padrão ultrassográfico permaneceu inalterado no grupo sob intervenção com Se, enquanto a ecogenicidade glandular reduziu-se ainda mais nos controles. Em contrapartida, o estudo corrente comprovou melhora da ecogenicidade da tireoide sob intervenção com a SeMet, enquanto no grupo Placebo não houve modificação.

No início do presente estudo, o índice médio de ecogenicidade (IE) no grupo Placebo foi 1,19; ao fim de 3 meses, foi de 1,08 e, após 6 meses, atingiu 1,00 ($P = 0,293$), indicando tendência de queda (Figura 36). No grupo SeMet, o valor basal foi 1,16, após 3 meses, foi 1,17 e 1,14 após 6 meses ($P = 0,280$), permanecendo, praticamente, o mesmo no transcorrer do estudo, sugerindo que a SeMet estimulou a melhora da ecogenicidade glandular. Estes achados se assemelham aos resultados obtidos por Nacamulli *et al.*⁶⁹ A comparação entre os dois grupos, durante a fase de intervenção, não foi estatisticamente significativa ($P = 0,273$). Os resultados do estudo revelaram que não houve correlação entre o IE e o título de antiTPO no tempo T0 ou T1, em ambos os grupos.

Adicionalmente, a ultrassonografia padronizada na escala de cinzas representa o incremento nas concentrações séricas de antiTPO.

As dimensões das escalas de cinzas variam de acordo com a resolução da imagem dos equipamentos utilizados, assim como o ajuste do brilho interfere nos valores do histograma computadorizado. Com o objetivo

de eliminar tais problemas, foi proposto utilizar a comparação entre os valores do histograma computadorizado obtidos no parênquima da tireoide e dos músculos pré-tireoideos, com o mesmo brilho para ambos e no mesmo aparelho. Este método torna o exame reprodutível e, inclusive, permite que o examinador ajuste o ganho de brilho para melhor visualização do parênquima, desde que se utilize o mesmo ganho de brilho para a avaliação da musculatura.⁹⁹ A tireoide foi considerada hipoecogênica quando os valores médios $\pm$ dois desvios-padrão do parênquima apresentaram sobreposição com aqueles da musculatura pré-tireoidea. O aumento do índice de ecogenicidade (IE) reflete melhora da lesão causada na estrutura folicular glandular e/ou diminuição dos linfócitos infiltrados no parênquima, implicando aumento da ecogenicidade.

O IE não se correlacionou com o volume da tireoide (Tabelas 26 e 27), presumivelmente devido ao grau discreto de inflamação e destruição do tecido glandular encontrado no estado eutireoideo inicial da TCA, quando as alterações volumétricas não alcançariam significância estatística. Contudo, em outra pesquisa sobre o hipotireoidismo autoimune clínico, o volume da tireoide se correlacionou negativamente com a ecogenicidade¹¹³.

Os achados no presente trabalho, igualmente, estão em desacordo com outro estudo recente francês, abrangendo população com idade entre 35-60 anos, que constatou que o baixo nível sanguíneo de Se encontrava-se relacionado ao aumento volume da tireoide e com a hipoecogenicidade glandular, marcador da infiltração linfocitária^{110,114}.

Os valores de referência do volume tireoideo para a população brasileira ainda não foram definidos. Então, optou-se por utilizar valores de referência de segmento populacional da região metropolitana de São Paulo, cuja dieta era rica em iodo¹¹⁵ onde foi selecionada a amostra dos participantes. Em ambos os grupos, a análise pré-intervenção mostrou que a maioria dos indivíduos tinha volume normal. Em segundo lugar, em ordem de frequência, constatou-se bócio e, em terceiro, volume reduzido.

Deve-se ressaltar que os indivíduos estavam sob terapia de reposição, supostamente irregular, pois, exceto na situação pré-intervenção, nos momentos da realização do mapeamento dúplex-Doppler colorido, nos tempos T1 e T2, em ambos os grupos, o discreto incremento do TSH poderia induzir ao aumento do volume tireoideo e representar um viés considerável. Porém, sob intervenção e após a intervenção, não foi encontrada diferença estatística nos valores intragrupos (T0 vs T1 vs T2; grupo Placebo: $p = 0,212$ e grupo SeMet: $p = 0,497$) e entre as médias dos volumes entre os dois grupos (grupo Placebo vs grupo Semet; T1: $p = 0,511$; T2: $p = 0,618$). Portanto, aparentemente, a SeMet não influenciou o volume glandular.

A concentração sérica do anticorpo antiTPO parece refletir a atividade atual da TCA, assim como os estágios subsequentes no desenvolvimento do distúrbio. No entanto, não foi demonstrada correlação entre o anticorpo e o IE nos portadores de TCA do grupo SeMet em comparação ao grupo Placebo. A provável explicação seria que a inflamação e a destruição do tecido tireoideo era leve. Por outro lado, da mesma forma, o antiTG não se correlacionou com o IE. Ocorrem múltiplas configurações de antígenos da TG quando esta é iodada, o que resulta em moléculas imunologicamente diferentes, porém funcionalmente ativas. Portanto, podem ocorrer alterações nos títulos de antiTG independentemente das respostas imunes ou consequentes ao processo inflamatório e destrutivo da TCA.

A textura do parênquima tireoideo encontrava-se difusamente heterogênea e sem evidência de nódulos em todos os indivíduos de ambos os grupos. Embora a textura seja um parâmetro relevante no diagnóstico da TCA, ela é subjetiva e, por conseguinte, diferenças sutis são pouco perceptíveis visualmente. Nessa modalidade de avaliação, não se percebeu diferença de textura entre ambos os grupos, pré e durante a intervenção, que se manteve heterogênea e sem nódulos. Todavia, devem ser consideradas as limitações desse parâmetro na avaliação do resultado da intervenção.

A comparação não pareada do valor numérico médio atribuído aos padrões de vascularização sob intervenção (tempo T1) mostrou que não houve diferença estatística entre os dois grupos (Placebo vs SeMet: 1,35 vs 1,13; $p = 0,295$). Porém, o valor obtido sob uso de SeMet sugere que esta contribuiu para a melhora da vascularização (que estava alterada na maioria dos participantes), pois se aproximou da normalidade (valor 1). De fato, a proporção de pacientes (padrão de vascularização II = valor numérico 1) com vascularização normal foi maior (50%) no grupo submetido a SeMet (tempo T1) (Tabela 30).

No presente estudo, antes da intervenção, a VPS média das artérias tireoideas inferiores não exibiu diferença estatística entre os grupos Placebo e SeMet ($p = 0,625$). Durante a intervenção, houve aumento significativo ($p = 0,001$) da VPS no grupo SeMet, em comparação ao grupo Placebo. Esse resultado não pode ser atribuído apenas à elevação dos valores de TSH, que ocorreram em poucos indivíduos, tanto no grupo Placebo (3/27; 11,1%) quanto no grupo SeMet (5/28; 17,8%). Tampouco foi resultado de alteração dos hormônios tireoideos neste grupo, que permaneceram normais nos momentos de execução do mapeamento dúplex Doppler colorido pré e sob intervenção. Poder-se-ia especular que este inesperado encontro poderia estar associado a efeito da SeMet em quimiocinas, como a CXCL10 (*chemokine (C-X-C motif) ligand 10*), ou outras citocinas^{116,117}.

5.3 Efeito da suplementação de selênio na produção de citocinas

Dados experimentais recentes mostraram que existe relação entre o Se e células T do sistema imunológico. Xue *et al.* (2010)⁷⁵ demonstraram redução significativa nos anticorpos antiTG associada à diminuição da infiltração linfocitária da tireoide, após a suplementação de Se, em camundongos portadores de tireoidite autoimune induzida por iodo. Além disso, camundongos com deficiência de Se provocada pela ablação do gene codificador para o tRNA([Ser]sec), que possuem uma baixa contagem de

células T pobres em selenoproteína, resultou numa diminuição da reserva destas e resposta de anticorpos reduzida, levando à hiperprodução de oxidantes e supressão da proliferação de células T¹¹⁸. A reposição de Se reverteu estes efeitos.

A TCA se caracteriza não só por alterações sorológicas (autoanticorpos tireoideos, produção de citocinas, presença prejudicada de subpopulações linfocitárias circulantes), mas também por eventos mediados por células (infiltração linfocitária glandular). Outras enzimas dependentes de Se têm, também, efeitos imunomoduladores⁶⁸. Estes autores avaliaram aqueles eventos em estudo envolvendo portadores de TCA, antes e 3 meses após o uso Se ou placebo. Não constataram alterações significativas, quer no padrão de expressão de citocinas (IFNG, IL2, IL4, IL5, IL6, IL10, IL13, TNF) por linfócitos T auxiliares (Th) periféricos (CD4⁺ e CD8⁺) derivados de células mononucleares sanguíneas, quer nos valores de antiTPO⁶⁸.

Em 2011, Krysiak e Okopien conduziram ensaio clínico randomizado envolvendo grupo de 170 mulheres eutireoideas com diagnóstico recente de TCA e não previamente tratadas, e 41 indivíduos saudáveis pareados. O objetivo primário foi avaliar os efeitos da LT4, SeMet ou sua combinação em vários marcadores inflamatórios [TNF, IL1B (interleucina 1 beta), IL6, MCP1 (proteína quimiotática de monócitos 1), IL2, INFG (interferon gama), e proteína C reativa ultrassensível]. O estudo demonstrou que o tratamento com LT4 reduziu a liberação por monócitos de TNF, IL1B, IL6 e MCP1, enquanto a SeMet inibiu a liberação linfocitária sérica de IL2, INFG, TNF e PCR. A diminuição das citocinas foi ainda mais evidente quando a LT4 e SeMet foram administradas em conjunto.⁷¹

Os linfócitos Th CD4⁺ são tradicionalmente classificados em subtipos Th1 e Th2 com base na secreção diferencial de citocinas. A maioria dos estudos tem encontrado uma expressão significativamente mais elevada do IFNG (citocina Th1 típica), o que, segundo o padrão de citocinas liberadas, a TCA pode ser considerada como doença Th1.¹¹⁹

Células Th CD4⁺ ativadas promovem a liberação de IFNG por células T CD8⁺ citotóxicas; esse evento ativa macrófagos que capturam os tireócitos

danificados, resultando na morte celular mediada por citocina. Além disso, os autoanticorpos (TRAb, antiTG e antiTPO) produzidos pelas células B causam morte celular por eles mediada¹²⁰. O resultado final consiste em depleção gradual de tireócitos e substituição por infiltração de células mononucleares e fibrose difusa¹²¹.

Krysiak e Okopien⁷¹ conduziram um ensaio clínico randomizado, cujo objetivo primário foi avaliar os efeitos da LT4, SeMet, ou a sua combinação em vários marcadores inflamatórios (TNF, IL1B, IL6, MCP1, IL2, INFG, e da PCR ultrassensível). O estudo demonstrou que o tratamento com LT4 reduziu a liberação de TNF, IL1B, IL6 e MCP1 pelos monócitos, ao passo que a selenometionina inibiu a liberação linfocitária de IL2, INFG, TNF, e da PCR sérica. A diminuição de citocinas foi ainda mais expressiva quando ambas foram administradas em conjunto (LT4 + SeMet).⁷¹

Em contrapartida, Karanikas *et al.* (2008)⁶⁸ descreveram que a suplementação de Se não teve efeito sobre a expressão de citocinas em células T derivadas de células mononucleares do sangue periférico de 36 indivíduos com TCA sob substituição com LT4.

No presente estudo, comparando-se os títulos de antiTPO no grupo SeMet pré e sob intervenção, observou-se redução discreta de -5% aos 3 meses com tendência estatisticamente significativa ($P = 0,084$) e -24% aos 6 meses, de forma expressiva ($P = 0,019$). Esses valores se assemelham às taxas observadas em estudos prévios^{62,64,65} em que, também, ocorreram taxas de supressão relativamente limitadas (36%, 46%, 26%) nos primeiros 3 meses.

5.4 Polimorfismos da GPx1

Presume-se que, entre os polimorfismos encontrados no gene humano da *GPx1*, o Pro198Leu seja funcional. Considerando-se o papel da *GPx1* no sistema de defesa antioxidante, os indivíduos portadores de um ou dois alelos variantes Leu parecem ter respostas alteradas (atividade enzimática

mais baixa) à suplementação de Se. Ou seja, espera-se que o aumento relativo na atividade da enzima seja maior em indivíduos que possuem, pelo menos, um alelo selvagem Pro, do que naqueles com um ou ambos alelos variantes Leu.

Os resultados de estudos que investigaram a associação entre a atividade da GPx1 e o polimorfismo Pro198Leu são conflitantes.

A atividade eritrocitária da GPx1 foi avaliada em algumas populações e não foram demonstradas diferenças significativas na concentração de Se ou na atividade GPx1 entre os perfis dos genótipos^{85,97}, enquanto outros mostraram esta associação⁸⁶. Porém, Jablonska *et al.*⁸⁷ mostraram que a associação entre a atividade da GPx1 e concentração de Se era diferente quando analisada para cada grupo de genótipos (Pro/Pro; Pro/Leu ou Leu/Leu), com exceção do grupo Leu, para o qual não se observou correlação.

No estudo atual, as frequências genóticas para o grupo Placebo foram 48,1%, 51,9% e 0,0% para o Pro/Pro (tipo selvagem), Pro/Leu (heterozigoto) e Leu/Leu (homozigoto mutado), respectivamente. No grupo SeMet, foram 28,6%, 64,3% e 7,1% para o Pro/Pro, Pro/Leu e Leu/Leu, respectivamente. No início do estudo, 100% dos indivíduos do Grupo SeMet eram deficientes em Se, e, após a suplementação, houve melhora na concentração plasmática de Se para o genótipo Pro/Pro (T0 vs T1: 44,4 vs 63,1 µg/mL; $p = 0,007$ – teste de Wilcoxon), para o Pro/Leu (36,4 vs 66,4 µg/mL; $p < 0,0001$), e a atividade da GPx1 para o Pro/Pro (66,4 vs 79,5 U/gHb; $p = 0,007$) e para o Pro/Leu (57,1 vs 81,3 U/gHb; $p < 0,0001$).

No grupo SeMet, as concentrações plasmáticas de Se e a atividade eritrocitária da GPx1 apresentaram aumento significativo após a intervenção com SeMet nos grupos de genótipos (Pro/Pro e Pro/Leu; não foi detectado o Leu/Leu), em comparação aos valores basais. No entanto, não houve diferenças entre os grupos de genótipos no início do estudo (T0) (Se; Pro/Pro vs Pro/Leu: 44,4 vs 36,4 µg/mL; $p = 0,066$ – teste de Mann-Whitney) e durante a suplementação (T1) (Se; Pro/Pro vs Pro/Leu: 63,1 vs 66,4 µg/mL; $p = 0,802$) quando comparados uns com os outros. O mesmo

ocorreu com a atividade da GPx1 (T0) (Pro/Pro vs Pro/Leu: 66,4 vs 57,1 U/gHb; $p = 0,487$ – teste de Mann-Whitney) e durante a suplementação (T1) (Pro/Pro vs Pro/Leu: 79,5 vs 81,3 U/gHb; $p = 0,978$). Os indivíduos deste grupo, que portavam o alelo variante Leu, apresentaram níveis de atividade da GPx1 14% menor do que aqueles com o genótipo do tipo selvagem no período basal e, de forma inesperada, 2,2% maiores do que aqueles com o genótipo do tipo selvagem sob 3 meses de suplementação, respectivamente. Além disso, a associação entre atividade da GPx1 e concentração plasmática de Se, analisados separadamente para cada genótipo, não foi o mesmo. Na situação basal, os coeficientes de correlação foram $r = 0,33$ ($p = 0,420$) para o Pro/Pro, $r = 0,34$ ($p = 0,166$) para Pro/Leu; o grupo Leu/Leu não foi detectado. No período de suplementação, os coeficientes de correlação foram $r = 0,95$ ($p < 0,001$) para o Pro/Pro e $r = -0,10$ ($p = 0,675$) para Pro/Leu; o Leu/Leu não foi encontrado.

Os resultados indicam que a suplementação de Se melhora eficientemente sua situação na circulação e a atividade da GPx1 independentemente do genótipo relacionado ao polimorfismo Pro198Leu. Contudo, os indivíduos com um alelo variante parecem ter uma resposta alterada à intervenção, o que pode resultar na necessidade de abordar com mais cuidado a concepção de estudos de suplementação de Se.

5.5 Valores de calcitonina sérica e a suplementação de Se

Ainda não há consenso em relação aos níveis de calcitonina na TCA. Tem sido relatada em portadores de TCA maior frequência calcitonina sérica (CAL) elevada, em comparação a indivíduos normais.¹²²

Em desacordo, outros autores não encontraram diferenças na concentração de CAL entre indivíduos com e sem tireoidite autoimune (autoanticorpos negativos), mesmo na fase inicial da doença, ou seja, ainda com bócio e sem hipotireoidismo¹²³. Além disso, um estudo demonstrou que a TCA é, de fato, acompanhada por redução de células C¹²⁴, concentrações

de CAL mais baixas em estágio avançado¹²⁵⁻¹²⁷, e que essa deficiência já está presente na fase inicial da doença.^{126,127}

Tal fato sugere que o processo inflamatório pode ter provocado a destruição das células foliculares e C, as quais foram, finalmente, substituídas por fibrose.¹²⁴

Em consonância com a literatura, no presente estudo, não foram constatadas maiores concentrações de CAL ou maior frequência de hipercalcitoninemia nos portadores TCA, antes (2,0 pg/mL) ou após a suplementação de Se (2,2 pg/mL; $p = 0,273$). Além disso, este último valor não foi estatisticamente diferente do obtido no grupo Placebo (2,1 pg/mL; $p = 0,661$).

5.6 Diabetes tipo 2 e suplementação de Se

As evidências relacionando o Se ao metabolismo da glicose são conflitantes¹²⁸. O nível elevado de Se foi associado com prevalência reduzida de diabetes em três estudos caso-controle³⁹, enquanto no estudo prospectivo francês EVA (*Epidemiology of Vascular Ageing Study*)¹²⁹, o valor elevado do Se plasmático correlacionou-se com diminuição do risco de aparecimento de hiperglicemia durante um período de acompanhamento de 9 anos, nos participantes do sexo masculino, mas não nos do sexo feminino. Não há explicação porque o mesmo efeito não foi observado em mulheres.

Por outro lado, a concentração circulante elevada de Se associou-se a aumento da prevalência de diabetes no levantamento NHANES 2003-2004¹³⁰. Da mesma forma, na população francesa que tomou parte no estudo francês SUVIMAX¹³, os investigadores registraram correlações positivas entre o Se no plasma e a glicemia de jejum, tanto na situação basal como durante o seguimento.

O aumento do risco de diabetes tipo 2 pela alta ingestão ou suplementação de Se pode ser explicado pelo estímulo na via de sinalização da insulina acompanhado pela geração de H_2O_2 , que atua como segundo mensageiro.¹²⁸

A glicemia sérica basal média dos participantes no presente estudo, todos com valores médios circulantes basais baixos de Se, encontrava-se em 83,1 mg/dL no grupo Placebo e 81 mg/dL no grupo SeMet. Após 3 meses de suplementação, com a elevação da concentração de Se, os valores permaneceram praticamente os mesmos [(grupo Placebo: 93,6 mg/dL; (vs basal) $p = 0,259$); grupo SeMet: 90,6 mg/dL; (vs basal) $p = 0,077$)] em ambos. Além disso, não se constatou incidência de diabetes em nenhum indivíduo.

5.7 Função tireoidea e suplementação de Se

Neste estudo, não houve alteração dos hormônios tireoideos sob influência da SeMet, o que está de acordo com os relatos anteriores sobre o assunto. Quanto aos valores médios de TSH, pode-se especular que a alteração estatisticamente significativa ($p = 0,015$) constatada aos 3 meses (tempo T1; 3,0 μ U/mL) e aos 6 meses (tempo T2; 3,2 μ U/mL), em relação ao basal (1,7 μ U/mL), não foi consequente ao Se, mas decorreu do uso irregular da LT4 pelos participantes.

Em síntese, os resultados sobre a eficácia da suplementação de Se, encontrados neste e nos estudos prévios, ainda não são inequívocos e não fornecem evidências suficientes para apoiar o uso de Se no tratamento da TCA. No entanto, indicam que o Se parece ser capaz de melhorar a atividade inflamatória nos portadores de TCA. Tal efeito tem sido mais evidente em áreas com deficiência leve de Se.

6 CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

No atual estudo, na vigência da suplementação com SeMet (200 µg/dia) em comparação ao placebo, em portadores eutireoideos de TCA, demonstrou-se que:

1. Houve redução dos títulos de antiTPO ao final de 3 meses;
2. Os participantes exibiram valores plasmáticos médios de Se aumentados;
3. Não houve influência da intervenção nos títulos de antiTG, TSH, T4 livre, T3 total, T4 total, relação T3/T4, calcitonina, citocinas (IL6, IL10 e TNF), proteína C reativa e glicemia de jejum;
4. Os genótipos da GPX1 tiveram a seguinte predominância: Pro/Leu > Pro/Pro > Leu/Leu;
5. Houve melhora da situação do Se na circulação e, de maneira geral, na atividade da GPx1 independentemente do genótipo relacionado ao polimorfismo Pro198Leu;
6. Houve associação entre a concentração plasmática média de Se e atividade da GPx1 para o genótipo Pro/Pro sob a influência da suplementação;
7. Houve melhora da ecogenicidade e do padrão de vascularização glandular;
8. Houve aumento inesperado da velocidade de pico sistólico nas artérias tireoideas inferiores ao final de 3 meses;
9. Houve correlação entre o índice de ecogenicidade e a velocidade de pico sistólico médio nas artérias tireoideas inferiores em situação basal e durante o período de suplementação.

6.1 Limites e desafios do atual estudo

Uma das limitações do presente estudo pode ser o número de participantes, assim como a duração da intervenção: não se pode excluir que o tratamento por um período de tempo superior a 3 meses poderia finalmente reduzir a concentração de antiTPO de forma mais consistente. No entanto, uma tendência à diminuição já foi observada em 3 meses, com queda adicional aos 6 meses.

Outra limitação é que avaliamos praticamente só mulheres. Parece existir diferença entre os sexos no que diz respeito à utilização do selênio, mas a ovariectomia e/ou substituição de estradiol não tiveram efeitos significativos sobre a expressão de seleno proteína sem um modelo experimental com roedores.¹³¹ Portanto, é improvável que a função gonadal seja um importante modulador dos efeitos da suplementação da SeMet; indicando não haver motivos conhecidos para que a resposta à terapia proposta possa ser diferente nos dois sexos.

A alocação aleatorizada tem a vantagem de tornar possível a obtenção de grupos verdadeiramente comparáveis.¹³² A distribuição das variáveis capazes de produzir distorções estatísticas nos grupos estudados tende a ser semelhante. Portanto, mesmo que tenha ocorrido alteração da função tireoidea em alguns indivíduos, elas foram distribuídas de forma semelhante em ambos os grupos.

7 REFERÊNCIAS

7 REFERÊNCIAS

1. Vanderpas JB, Contempré B, Duale NL, Goossens W, Bebe N, Thorpe R, Ntambue K, Dumont J, Thilly CH, Diplock AT. Iodine and selenium deficiency associated with cretinism in northern Zaire. *Am J Clin Nutr.* 1990;52:1087-93.
2. Rayman MP. The importance of selenium to human health. *Lancet.* 2000;356:233-41.
3. Duntas LH. Selenium and inflammation: underlying anti-inflammatory mechanisms. *Horm Metab Res.* 2009;41:443-7.
4. Stefanowicz FA, Talwar D, O'Reilly DS, Dickinson N, Atkinson J, Hursthouse AS, Rankin J, Duncan A. Erythrocyte selenium concentration as a marker of selenium status. *Clin Nutr.* 2013; 32:837-42.
5. Duncan A, Talwar D, McMillan DC, Stefanowicz F, O'Reilly DS. Quantitative data on the magnitude of the systemic inflammatory response and its effect on micronutrient status based on plasma measurements. *Am J Clin Nutr.* 2012;95:64-71.
6. Faria LA. *Levantamento sobre selênio em solos e plantas do estado de São Paulo e sua aplicação em plantas forrageiras* [Dissertação] – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga; 2009.
7. Whanger PD. Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. *J Am Coll Nutr.* 2002;21:223-32.
8. Thomson CD. Assessment of requirements for selenium and adequacy of selenium status: a review. *Eur J Clin Nutr.* 2004;58:391-402.
9. Stranges S, Marshall JR, Natarajan R, Donahue RP, Trevisan M, Cappuccio FP, Ceriello A, Reid ME. Effects of long-term selenium supplementation on the incidence of type 2 diabetes. A randomized trial. *Ann Intern Med.* 2007;147:217-23.
10. Drake EN. Cancer chemoprevention: selenium as a prooxidant, not an antioxidant. *Med Hypotheses.* 2006;67:318-22.

11. U.S. Department of Health and Human Services. *Toxicological Profile for Selenium*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service; 2003.
12. Fridlyand LE, Philipson LH. Oxidative reactive species in cell injury: mechanisms in diabetes mellitus and therapeutic approaches. *Ann N Y Acad Sci*. 2005; 1066:136-51.
13. Czernichow S, Couthouis A, Bertrais S, Vergnaud AC, Dauchet L, Galan P, Hercberg S. Antioxidant supplementation does not affect fasting plasma glucose in the Supplementation with Antioxidant Vitamins and Minerals (SU.VI.MAX) study in France: association with dietary intake and plasma concentrations. *Am J Clin Nutr*. 2006;84:395-9.
14. Rajpathak S, Rimm E, Morris JS, Hu F. Toenail selenium and cardiovascular disease in men with diabetes. *J Am Coll Nutr*. 2005;24:250-6.
15. Hughes K, Choo M, Kuperan P, Ong CN, Aw TC. Cardiovascular risk factors in non-insulin-dependent diabetics compared to non-diabetic controls: a population-based survey among Asians in Singapore. *Atherosclerosis*. 1998;136:25-31.
16. Bleys J, Navas-Acien A, Guallar E. Selenium and diabetes: more bad news for supplements. *Ann Intern Med*. 2007;147:271-2.
17. Cominetti C, Bortoli MC, Abdalla DSP, Cozzolino SM. Estresse oxidativo, selênio e nutrigenética. *Nutrire: Rev Soc Bras Alim Nutr*. 2011;36:131-53.
18. Drutel A, Archambeaud F, Caron P. Selenium and the thyroid gland: more good news for clinicians. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2013;78:155-64.
19. Reid ME, Stratton MS, Lillico AJ, Fakih M, Natarajan R, Clark LC, Marshall JR. A report of high-dose selenium supplementation: response and toxicities. *J Trace Elem Med Biol*. 2004;18:69-74.
20. Sutter ME, Thomas JD, Brown J, Morgan B. Selenium toxicity: a case of selenosis caused by a nutritional supplement. *Ann Intern Med*. 2008;148(12):970-1.
21. Stadtman TC. Selenium biochemistry. *Science*. 1974;183:915-22.

22. Brätter P, Negretti de Brätter VE. Influence of high dietary selenium intake on the thyroid hormone level in human serum. *J Trace Elem Med Biol.* 1996;10:163-6.
23. Institute of Medicine. *Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids.* Washington, DC: National Academy Press; 2000.
24. Longnecker MP, Taylor PR, Levander OA, Howe M, Veillon C, McAdam PA, Patterson KY, Holden JM, Stampfer MJ, Morris JS, *et al.* Selenium in diet, blood, and toenails in relation to human health in a seleniferous area. *Am J Clin Nutr.* 1991;53:1288-94.
25. National Institute of Health Selenium Fact Sheet. [cited 2009 Aug 16]; Available from: <http://ods.od.nih.gov/factsheets/selenium.asp>.
26. Tan J, Zhu W, Wang W, Li R, Hou S, Wang D, Yang L. Selenium in soil and endemic diseases in China. *Sci Total Environ.* 2002;284:227-35.
27. Beck MA, Levander OA, Handy J. Selenium deficiency and viral infection. *J Nutr.* 2003;133(Suppl 1):1463S-7S.
28. Ge K, Xue A, Bai J, Wang S. Keshan disease-an endemic cardiomyopathy in China. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1983;401:1-15.
29. Yang FY, Lin ZH, Li SG, Guo BQ, Yin YS. Keshan disease--an endemic mitochondrial cardiomyopathy in China. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 1988;2:157-63.
30. Moreno-Reyes R, Suetens C, Mathieu F, Begaux F, Zhu D, Rivera MT, Boelaert M, Nève J, Perlmutter N, Vanderpas J. Kashin-Beck osteoarthropathy in rural Tibet in relation to selenium and iodine status. *N Engl J Med.* 1998;339(16):1112-20.
31. Tomlinson R. Beijing conference reviews Kashin-Beck disease. *BMJ.* 1999;318:485.
32. Köhrle J. The trace element selenium and the thyroid gland. *Biochimie.* 1999;81:527-33.
33. Contempre B, Vanderpas J, Dumont JE. Cretinism, thyroid hormones and selenium. *Mol Cell Endocrinol.* 1991;81:C193-5.

34. Gramm HJ, Kopf A, Brätter P. The necessity of selenium substitution in total parenteral nutrition and artificial alimentation. *J Trace Elem Med Biol.* 1995;9:1-12.
35. Papp LV, Lu J, Holmgren A, Khanna KK. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxid Redox Signal.* 2007;9:775-806.
36. Burk RF, Hill KE, Motley AK. Selenoprotein metabolism and function: evidence for more than one function for selenoprotein P. *J Nutr.* 2003;133(5 Suppl 1):1517S-20S.
37. Negro R. Selenium and thyroid autoimmunity. *Biologics.* 2008;2(2):265-73.
38. Mustacich D, Powis G. Thioredoxin reductase. *Biochem J.* 2000;346:1-8.
39. Rayman MP. Selenium and human health. *Lancet.* 2012; 379:1256-68.
40. Brigelius-Flohe R. Selenium compounds and selenoproteins in cancer. *Chem Biodivers.* 2008;3:389-95.
41. Brown KM, Arthur JR. Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutr.* 2001;4:593-9.
42. Brigelius-Flohe R. Glutathione peroxidases and redox-regulated transcription factors. *Biol Chem.* 2006;387:1329-35.
43. Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic Biol Med.* 1999;27:951-65.
44. Kohrle J, Jacob F, Contempre B, Dumont JE. Selenium, the thyroid, and the endocrine system. *Endocr Rev.* 2005;26:944-84.
45. Koenig RJ. Regulation of type 1 iodothyronine deiodinase in health and disease. *Thyroid.* 2005;15:835-40.
46. Castellano S, Lobanov AV, Capple C, Novoselov SV, Albrecht M, Hua D, Lescure A, Lengauer T, Krol A, Gladyshev VN, Guigó R. Diversity and functional plasticity of eukaryotic selenoproteins: identification and characterization of the Sel family. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102:16188-93.

47. Hess SY. The impact of common micronutrient deficiencies on iodine and thyroid metabolism: the evidence from human studies. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2010;24:117-132.
48. Olivieri O, Girelli D, Azzini M, Stanzial AM, Russo C, Ferroni M, Corrocher R. Low selenium status in the elderly influences thyroid hormones. *Clin Sci.* 1995;89:637-42.
49. Duffield AJ, Thomson CD, Hill KE, Williams S. An estimation of selenium requirements for New Zealanders. *Am J Clin Nutr.* 1999;70:896-903.
50. Thomson CD, McLachlan SK, Grant AM, Paterson E, Lillico AJ. The effect of selenium on thyroid status in a population with marginal selenium and iodine status. *Br J Nutr.* 2005;94:962-8.
51. Rayman MP, Thompson AJ, Bekaert B, Catterick J, Galassini R, Hall E, Warren-Perry M, Beckett GJ. Randomized controlled trial of the effect of selenium supplementation on thyroid function in the elderly in the United Kingdom. *Am J Clin Nutr.* 2008;87:370-8.
52. Hawkes WC, Keim NL, Diane Richter B, Gustafson MB, Gale B, Mackey BE, Bonnel EL. High selenium yeast supplementation in free-living North American men: noeffect on thyroid hormone metabolism or body composition. *J Trace Elem Med Biol.* 2008;22:131-42.
53. Olivieri O, Girelli D, Stanzial AM, Rossi L, Bassi A, Corrocher R. Selenium, zinc, and thyroid hormones in healthy subjects: low T3/T4 ratio in the elderly is related to impaired selenium status. *Biol Trace Elem Res.* 1996;51:31-41.
54. Calomme MR, Vanderpas JB, François B, Van Caillie-Bertrand M, Herchuelz A, Vanovervelt N, Van Hoorebeke C, Vanden Berghe DA. Thyroid function parameters during a selenium repletion/depletion study in phenylketonuric subjects. *Experientia.* 1995;51:1208-15.
55. Kauf E, Dawczynski H, Jahreis G, Janitzky E, Winnefeld K. Sodium selenite therapy and thyroid-hormone status in cystic fibrosis and congenital hypothyroidism. *Biol Trace Elem Res.* 1994;40:247-53.
56. Klinger G, Shamir R, Singer P, Diamond EM, Josefsberg Z, Sirota L. Parenteral selenium supplementation in extremely low birth weight infants: inadequate dosage but no correlation with hypothyroidism. *J Perinatol.* 1999;19:568-72

57. Lassen KO, Hörder M. Selenium status and the effect of organic and inorganic selenium supplementation in a group of elderly people in Denmark. *Scand J Clin Labor Invest*. 1994;54:585-90.
58. Pearce EN, Farwell AP, Braverman LE. Thyroiditis. *New Engl J Med*. 2003;348:2646-55.
59. Duntas LH. Environmental factors and autoimmune thyroiditis. *Nat Clin Pract Endocrinol Metabol*. 2008;4:454-60.
60. Schmidt M, Voell M, Rahlff I, Dietlein M, Kobe C, Faust M, Schicha H. Long-term follow-up of antithyroid peroxidase antibodies in patients with chronic autoimmune thyroiditis (Hashimoto's thyroiditis) treated with levothyroxine. *Thyroid*. 2008;18:755-60.
61. Toulis KA, Anastasilakis AD, Tzellos TG, Goulis DG, Kouvelas D. Selenium supplementation in the treatment of Hashimoto's thyroiditis: a systematic review and a meta-analysis. *Thyroid*. 2010;20:1163-73.
62. Gartner R, Gasnier BCH, Dietrich J W, Krebs B, Angstwurm MWA. Selenium supplementation in patients with autoimmune thyroiditis decreases thyroid peroxidase antibodies concentrations. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:1687-91.
63. Gartner R, Gasnier BCH. Selenium in the treatment of autoimmune thyroiditis. *Biofactors*. 2003;19:165-70.
64. Duntas LH, Mantzou E, Koutras DA. Effects of a six month treatment with selenomethionine in patients with autoimmune thyroiditis. *Eur J Endocrinol*. 2003;148:389-93.
65. Turker O, Kumanlioglu K, Karapolat I, Dogan I. Selenium treatment in autoimmune thyroiditis: 9-month follow-up with variable doses. *J Endocrinol*. 2006;190:151-6.
66. Negro R, Greco G, Mangieri T, Pezzarossa A, Dazzi D, Hassan H. The influence of selenium supplementation on postpartum thyroid status in pregnant women with thyroid peroxidase autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:1263-8.
67. Mazokopakis EE, Papadakis JA, Papadomanolaki MG, Batistakis AG, Giannakopoulos TG, Protopapadakis EE, Ganotakis ES. Effects of 12 months treatment with L-selenomethionine on serum anti-TPO Levels in Patients with Hashimoto's thyroiditis. *Thyroid*. 2007;17:609-12.

68. Karanikas G, Schuetz M, Kontur S, Duan H, Kommata S, Schoen R, Antoni A, Kletter K, Dudczak R, Willheim M. No immunological benefit of selenium in consecutive patients with autoimmune thyroiditis. *Thyroid*. 2008;18:7-12.
69. Nacamulli D, Mian C, Petricca D, Lazzarotto F, Barollo S, Pozza D, Masiero S, Faggian D, Plebani M, Girelli ME, Mantero F, Betterle C. Influence of physiological dietary selenium supplementation on the natural course of autoimmune thyroiditis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2010;73:535-9.
70. Bonfig W, Gärtner R, Schmidt H. Selenium supplementation does not decrease thyroid peroxidase antibody concentration in children and adolescents with autoimmune thyroiditis. *Scient World J*. 2010;10:990-6.
71. Krysiak R, Okopien B. The effect of levothyroxine and selenomethionine on lymphocyte and monocyte cytokine release in women with Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:2206-15.
72. Anastasilakis AD, Toulis KA, Nisianakis P, Goulis DG, Kampas L, Valeri RM, Oikonomou D, Tzellos TG, Delaroudis S. Selenomethionine treatment in patients with autoimmune thyroiditis: a prospective, quasi-randomised trial. *Int J Clin Pract*. 2012;66:378-83.
73. Eskes SA, Endert E, Fliers E, Birnie E, Hollenbach B, Schomburg L, Köhrle J, Wiersinga WM. Selenite supplementation in euthyroid subjects with thyroid peroxidase antibodies. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014;80:444-51.
74. Rayman MP. Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. *Br J Nutr*. 2008;100:254-68.
75. Xue H, Wang W, Li Y, Shan Z, Li Y, Teng X, Gao Y, Fan C, Teng W. Selenium upregulates CD4(+)CD25(+) regulatory T cells in iodine-induced autoimmune thyroiditis model of NOD.H-2(h4) mice. *Endocrine Journal*. 2010;57:595-601.
76. Carlson BA, Yoo MH, Sano Y, Sengupta A, Kim JY, Irons R, Gladyshev VN, Hatfield DL, Park JM. Selenoproteins regulate macrophage invasiveness and extracellular matrix-related gene expression. *BMC Immunology*. 2009;10:57.

77. Vestergaard P. Smoking and thyroid disorders – a meta-analysis. *Eur J Endocrinol.* 2002;146:153-161.
78. Vestergaard P, Rejnmark L, Weeke J, Hoeck HC, Nielsen HK, Rungby J, Laurberg P, Mosekilde L. Smoking as a risk factor for Graves' disease, toxic nodular goiter, and autoimmune hypothyroidism. *Thyroid.* 2002;12:69-75.
79. Vestergaard P. Smoking and thyroid disorders – a meta-analysis. *Eur J Endocrinol.* 2002;146:153-61.
80. Andersen SL, Olsen J, Wu CS, Laurberg P. Smoking reduces the risk of hypothyroidism and increases the risk of hyperthyroidism: evidence from 450 842 mothers giving birth in Denmark. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2013 Jul 1. doi: 10.1111/cen.12279.
81. Krassas GE, Wiersinga W. Smoking and autoimmune thyroid disease: the plot thickens. *Eur J Endocrinol.* 2006;154:777-80.
82. Williams RW. Expression genetics and the phenotype revolution. *Mamm Genome.* 2006 Jun;17(6):496-502.
83. Ichimura Y, Habuchi T, Tsuchiya N, Wang L, Oyama C, Sato K, Nishiyama H, Ogawa O, Kato T. Increased risk of bladder cancer associated with a glutathione peroxidase 1 codon 198 variant. *J Urol.* 2004;172:728-32.
84. Ratnasinghe D, Tangrea JA, Andersen MR, Barrett MJ, Virtamo J, Taylor PR, Albanes D. Glutathione peroxidase codon 198 polymorphism variant increases lung cancer risk. *Cancer Res.* 2000;60:6381-3.
85. Forsberg L, de Faire U, Marklund SL, Andersson PM, Stegmayr B, Morgenstern R. Phenotype determination of a common Pro-Leu polymorphism in human glutathione peroxidase 1. *Blood Cells Mol Dis.* 2000;26(5):423-6.
86. Lei C, Niu X, Wei J, Zhu J, Zhu Y. Interaction of glutathione peroxidase-1 and selenium in endemic dilated cardiomyopathy. *Clin Chim Acta.* 2009;399(1-2):102-8.
87. Jablonska E, Gromadzinska J, Reszka E, Wasowicz W, Sobala W, Szeszenia-Dabrowska N, Boffetta P. Association between GPx1 Pro198Leu polymorphism, GPx1 activity and plasma selenium concentration in humans. *Eur J Nutr.* 2009;48(6):383-6.

88. Kauwell GP. Emerging concepts in nutrigenomics: a preview of what is to come. *Nutr Clin Pract*. 2005;20(1):75-87.
89. Cominetti C, de Bortoli MC, Purgatto E, Ong TP, Moreno FS, Garrido AB Jr, Cozzolino SM. Associations between glutathione peroxidase-1 Pro198Leu polymorphism, selenium status, and DNA damage levels in obese women after consumption of Brazil nuts. *Nutrition*. 2011;27:891-6.
90. de Bortoli MC, Cozzolino SM. Zinc and selenium nutritional status in vegetarians. *Biol Trace Elem Res*. 2009;127(3):228-33.
91. Cardoso BR, Ong TP, Jacob-Filho W, Jaluul O, Freitas MI, Cozzolino SM. Nutritional status of selenium in Alzheimer's disease patients. *Br J Nutr*. 2010;103(6):803-6.
92. Cardoso BR, Ong TP, Jacob-Filho W, Jaluul O, Freitas MI, Cominetti C, Cozzolino SM. Glutathione peroxidase 1 Pro198Leu polymorphism in Brazilian Alzheimer's disease patients: relations to the enzyme activity and to selenium status. *J Nutrigenet Nutrigenomics*. 2012;5(2):72-80.
93. Motulski H. *Choosing an appropriate sample size*. In: *Intuitive Biostatistics*, Oxford University Press. 1995;195-204.
94. Hao DQ, Xie GH, Zhang YM, Tian GJ. Determination of serum selenium by hydride generation flame atomic absorption spectrometry. *Talanta*. 1996;43:595-600.
95. Sabé R, Rubio R, García-Beltrán L. Selenium measurement in human plasma with Zeeman effect electrothermal atomic absorption spectrometry: sample stability and calibration method. *J Trace Elem Med Biol*. 2003;17:73-7.
96. Ashton K, Hooper L, Harvey LJ, Hurst R, Casgrain A, Fairweather-TCAt SJ. Methods of assessment of selenium status in humans: a systematic review. *Am J Clin Nutr*. 2009;89:2025S-2039S.
97. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Invest*. 1967;70:158-69.

98. Rago T, Chiovato L, Grasso L, Pinchera A, Vitti P. Thyroid ultrasonography as a tool for detecting thyroid autoimmune diseases and predicting thyroid dysfunction in apparently healthy subjects. *J Endocrinol Invest.* 2001;24(10):763-9.
99. Mazziotti G, Sorvillo F, Iorio S, Carbone A, Romeo A, Piscopo M, Capuano S, Capuano E, Amato G, Carella C. Grey-scale analysis allows a quantitative evaluation of thyroid echogenicity in the patients with Hashimoto's thyroiditis. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2003;59:223-9.
100. Höfling DA. *Mapeamento dúplex-doppler colorido na avaliação da eficácia do laser de baixa intensidade para o tratamento da tireoidite crônica autoimune: ensaio clínico randomizado placebo-controlado.* [Tese] – Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo; 2011.
101. Höfling DB, Cerri GG, Juliano AG, Marui S, Chammas MC. Importância da ecogenicidade da tireoide no diagnóstico da tireoidite crônica autoimune. *Radiol Bras.* 2008;41:409-17.
102. Ralls PW, Mayekawa DS, Lee KP, Colletti PM, Radin DR, Boswell WD, Halls JM. Color-flow Doppler sonography in Graves disease: "thyroid inferno". *AJR Am J Roentgenol.* 1988;150:781-4.
103. Macedo TA, Chammas MC, Jorge PT, Pereira de Souza L, Farage L, Pegoraro BL, Pessa SU, Cerri GG. Reference values for Doppler ultrasound parameters of the thyroid in a healthy iodine-non-deficient population. *Br J Radiol.* 2007;80:625-30.
104. Als C, Helbling A, Peter K, Haldimann M, Zimmerli B, Gerber H. Urinary iodine concentration follows a circadian rhythm: a study with 3023 spot urine samples in adults and children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:1367-9.
105. Sandell EB, Kolthoff IM. Micro-determination of iodine by a catalytic method. *Microchem Acta.* 1937;1:9-25.
106. Beckett GJ, Arthur JR. Selenium and endocrine systems. *J Endocrinol.* 2005;184, 455-65.
107. Petricca D, Nacamulli D, Mian C, Mantero F, Cavedon E, Girelli ME, Betterle C. Effects of selenium supplementation on the natural course of autoimmune thyroiditis: a short review. *J Endocrinol Invest.* 2012;35:419-24.

108. Gärtner R, Gasnier BC, Dietrich JW, Krebs B, Angstwurm MW. Selenium supplementation in patients with autoimmune thyroiditis decreases thyroid peroxidase antibodies concentrations. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87:1687-91.
109. Duntas LH. The role of selenium in thyroid autoimmunity and cancer. *Thyroid.* 2006;16:455-60.
110. Rasmussen LB, Schomburg L, Köhrle J, Pedersen IB, Hollenbach B, Hög A, Ovesen L, Perrild H, Laurberg P. Selenium status, thyroid volume, and multiple nodule formation in an area with mild iodine deficiency. *Eur J Endocrinol.* 2011;164:585-90.
111. Krohn K, Maier J, Paschke R. Mechanisms of disease: hydrogen peroxide, DNA damage and mutagenesis in the development of thyroid tumors. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2007;3:713-20.
112. Schiemann U, Avenhaus W, Konturek JW, Gellner R, Hengst K, Gross M. Relationship of clinical features and laboratory parameters to thyroid echogenicity measured by standardized grey scale ultrasonography in patients with Hashimoto's thyroiditis. *Med Sci Monit.* 2003;9:MT13-7.
113. Carlé A, Pedersen IB, Knudsen N, Perrild H, Ovesen L, Jørgensen T, Laurberg P. Thyroid volume in hypothyroidism due to autoimmune disease follows a unimodal distribution: evidence against primary thyroid atrophy and autoimmune thyroiditis being distinct diseases. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94:833-9.
114. Derumeaux H, Valeix P, Castetbon K, Bensimon M, Boutron-Ruault MC, Arnaud J, Hercberg S. Association of selenium with thyroid volume and echostructure in 35- to 60-year-old French adults. *Eur J Endocrinol.* 2003;148:309-15.
115. Camargo RY, Tomimori EK, Neves SC, Galvão AL, Knobel M, Medeiros-Neto G. Thyroid and the environment: exposure to excessive nutritional iodine increases the prevalence of thyroid disorders in Sao Paulo, Brazil. *Eur J Endocrinol.* 2008;159:293-9.
116. Corona G, Biagini C, Rotondi M, Bonamano A, Cremonini N, Petrone L, Conforti B, Forti G, Serio M. Correlation between, clinical, biochemical, color Doppler ultrasound thyroid parameters, and CXCL-10 in autoimmune thyroid diseases. *Endocr J.* 2008;55:345-50.

117. Rotondi M, Chiovato L, Romagnani S, Serio M, Romagnani P. Role of chemokines in endocrine autoimmune diseases. *Endocr Rev.* 2007;28:492-520.
118. Shrimali RK, Irons RD, Carlson BA, Sano Y, Gladyshev VN, Park JM, Hatfield DL. Selenoproteins mediate T cell immunity through an antioxidant mechanism. *J Biol Chem.* 2008;283:20181-5.
119. Brown RS. Autoimmune thyroid disease: unlocking a complex puzzle. *Curr Opin Pediatr.* 2009;21:523-8.
120. Weetman AP. Cellular immune responses in autoimmune thyroid disease. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2004;61:405-13.
121. Mitchell RN, Kumar V, Abbas AK, Fausto N. The endocrine system. In: Alpers CE, Anthony DC, Aster JC, Crawford JM, Crum CP editor(s). *Robbins and cotran pathologic basis of disease.* 8th Edition. Philadelphia, Pa; Elsevier, 2007:758–60.
122. Karanikas G, Moameni A, Poetzi C, Zettinig G, Kaserer K, Bieglmayer C, Niederle B, Dudczak R, Pirich C 2004 Frequency and relevance of elevated calcitonin levels in patients with neoplastic and nonneoplastic thyroid disease and in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:515-9.
123. Rosario PW, Calsolari MR. Influence of chronic autoimmune thyroiditis and papillary thyroid cancer on serum calcitonin levels. *Thyroid.* 2013;23:671-4.
124. Lima MA, Santos BM, Borges MF 1998 Quantitative analysis of C cells in Hashimoto's thyroiditis. *Thyroid.* 1998;8:505–9.
125. Body JJ, Demeester-Mirkine N, Borkowski A, Suciu S, Corvilain J. Calcitonin deficiency in primary hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab,* 1986;62:700-3.
126. Borges MF, Abelin NM, Menezes FO, Dahia PL, Toledo SP. Calcitonin deficiency in early stages of chronic autoimmune thyroiditis. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1998;49:69-75.
127. Poppe K, Verbruggen LA, Velkeniers B, Finné E, Body JJ, Vanhaelst L. Calcitonin reserve in different stages of atrophic autoimmune thyroiditis. *Thyroid.* 1999;9:1211-4.

128. Steinbrenner H, Speckmann B, Pinto A, Sies H. High selenium intake and increased diabetes risk: experimental evidence for interplay between selenium and carbohydrate metabolism. *J Clin Biochem Nutr.* 2011;48:40-5.
129. Akbaraly TN, Arnaud J, Rayman MP, Hininger-Favier I, Roussel AM, Berr C, Fontbonne A. Plasma selenium and risk of dysglycemia in an elderly French population: results from the prospective Epidemiology of Vascular Ageing Study. *Nutr Metab (Lond).* 2010;18;7:21.
130. Laclaustra M, Navas-Acien A, Stranges S, Ordovas JM, Guallar E. Serum selenium concentrations and diabetes in U.S. adults: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2003-2004. *Environ Health Perspect.* 2009;117:1409-13.
131. Riese C, Michaelis M, Mentrup B, Götz F, Köhrle J, Schweizer U, Schomburg L. Selenium-dependent pre- and posttranscriptional mechanisms are responsible for sexual dimorphic expression of selenoproteins in murine tissues. *Endocrinology.* 2006;147:5883-92.
132. Fletcher RH, Fletcher SW. Epidemiologia clínica: elementos essenciais. 4ª ed. São Paulo: Artmed; 2008; p. 145-78

8 APÊNDICES

8 APÊNDICES

APÊNDICE A - Tabela 39 - Sumário dos resultados gerais basais (tempo t0) dos participantes aleatorizados para o grupo placebo

Nº de ordem	Iniciais	RGHC	Idade	Duração da doença (anos)	Massa corporal (kg)	IMC	Sexo	Fumante	AntiTPO (U/mL)	AntiTG (U/mL)	TSH (µU/mL)	T4 livre (ng/dL)	T4 (µg/dL)	T3 (ng/dL)	T3/T4
1	AMFS	2268786A	50	1,5	53,2	24	fem	não	2421	34	1,6	1,4	11,0	101	9
2	BSS	14007622k	23	8	81,0	28	fem	não	674	81	2,4	0,9	13,2	141	11
3	CMMLD	2298968A	50	7	78,6	29	fem	sim	666	653	1,4	1,2	9,2	102	11
4	EMLC	13647643A	42	5	76,8	30	fem	não	630	34	1,6	1,3	12,7	176	15
5	FSD	3303886J	21	4	62,0	24,2	fem	não	686	320	2,1	1,2	10,7	144	14
6	GABM	3313942E	56	10	66,6	27,4	fem	não	>3000	193	1,2	1,1	10,1	82	8
7	JFS	13999095B	54	4	52,9	23,5	fem	não	1246	176	1,9	1,2	11,9	134	11
8	KAC	13938256B	44	3	64,0	26,6	fem	não	255	34	1,7	1,0	8,4	97	12
9	LMSBR	13965759I	50	3	69,5	25,5	fem	não	405	34	1,1	1,3	12,8	155	12
10	LC	3303358D	35	0,3	69,2	22,6	fem	não	1100	323	1,5	1,1	14,0	145	10
11	LVS	13987753D	54	5	87,7	28,6	masc	não	388	34	2,0	1,3	11,7	148	13
12	MRSN	2532458C	51	30	90,0	30	fem	não	411	152	1,5	0,9	8,0	110	14
13	MOC	13632583B	28	5	50,0	20	fem	não	438	415	1,8	1,4	9,4	124	13
14	MAMB	13862041D	41	14	54,0	21	fem	sim	644	73	2,2	1,2	9,2	120	13
15	MBRPG	13919587I	48	16	52,6	22,2	fem	não	813	1026	1,1	1,3	8,4	112	13
16	MFCG	2071164J	55	15	84,0	34,5	fem	não	734	>3000	2,5	1,0	10,1	111	11
17	MLSS	1392032H	48	2	52,0	19,1	fem	não	910	34	1,1	1,1	8,9	106	12
18	MGBA	13936401B	56	30	84,5	33	fem	não	154	216	2,1	1,2	8,9	116	13
19	MNCSC	13917345H	43	3	90,0	28,4	fem	não	185	50	1,0	1,1	7,9	100	13
20	MRLN	3289429C	50	2	68,8	24,7	fem	não	>3000	34	2,1	1,3	10,0	126	13
21	MMCR	6060855G	21	3	46,6	16	fem	não	>3000	1607	2,3	1,3	9,3	161	17
22	NSCM	13843007F	28	1,5	92,0	31,5	fem	não	790	34	1,4	0,9	12,5	179	14
23	ORS	13947403K	33	2	105,0	34	masc	não	187	19	2,0	0,9	9,1	153	17
24	RRD	13496780J	28	4	107,0	31,6	masc	não	1339	>3000	0,8	1,4	9,6	137	14
25	RFS	3345142I	52	0,5	79,5	28,5	fem	não	818	96	2,2	1,0	10,0	113	11
26	RBSN	13914038B	36	2	62,8	24,8	fem	não	2280	544	2,0	1,2	13,3	161	12
27	RRCM	3277442I	44	11	111,0	36,3	fem	não	>3000	>3000	1,9	1,1	8,4	105	13

Nº de ordem	Iniciais	RGHC	Idade	PCR (mg/L)	Glicemia (mg/dL)	Cal (pg/mL)	Selênio (µg/L)	GPx1 (U/gHb)	Iodúria (µg/L)	IL6 (pg/mL)	IL10 (pg/mL)	TNF (pg/mL)	Dose de LT4 (µg/dia)	Genótipos da GPx1
1	AMFS	2268786A	50	1,1	90	<2,0	26,5	63,0	169	1,6	2,0	3,6	92	Pro/Leu
2	BSS	14007622k	23	2,6	76	<2,0	23,5	72,0	158	1,6	2,0	12,3	100	Pro/Leu
3	CMMLD	2298968A	50	1,3	88	<2,0	28,3	82,5	156	4,9	5,6	21,8	100	Pro/Leu
4	EMLC	13647643A	42	3,1	72	<2,0	31,8	41,3	186	1,6	2,0	6,5	125	Pro/Leu
5	FSD	3303886J	21	1,9	87	<2,0	33,7	88,0	178	1,6	2,0	2,2	75	Pro/Pro
6	GABM	3313942E	56	2,0	89	5,0	31,3	32,0	108	1,6	2,0	5,5	125	Pro/Pro
7	JFS	13999095B	54	0,6	82	<2,0	42,6	79,9	187	1,6	2,0	3,6	50	Pro/Pro
8	KAC	13938256B	44	3,5	74	<2,0	29,7	48,5	149	1,6	2,0	5,1	100	Pro/Pro
9	LMSBR	13965759I	50	0,8	108	3,7	48,0	71,2	180	2,5	2,0	16,7	75	Pro/Leu
10	LC	3303358D	35	0,8	73	<2,0	50,1	65,8	176	1,6	2,0	4,4	114	Pro/Leu
11	LVS	13987753D	54	1,5	72	<2,0	41,4	75,3	174	1,6	2,0	3,6	50	Pro/Pro
12	MRSN	2532458C	51	2,1	83	<2,0	57,8	70,1	190	1,6	2,0	11,6	100	Pro/Pro
13	MOC	13632583B	28	7,6	74	<2,0	33,7	84,1	185	1,6	2,0	2,9	100	Pro/Pro
14	MAMB	13862041D	41	4,1	94	<2,0	43,9	52,8	168	1,6	2,0	1,5	100	Pro/Pro
15	MBRPG	13919587I	48	1,0	92	<2,0	6,3	31,5	180	1,6	2,0	2,2	150	Pro/Leu
16	MFCG	2071164J	55	2,4	88	<2,0	32,6	40,2	173	1,6	2,0	6,5	85	Pro/Pro
17	MLSS	1392032H	48	0,6	88	<2,0	45,6	40,4	105	2,1	2,0	8,3	57	Pro/Pro
18	MGBA	13936401B	56	6,0	100	<2,0	60,7	20,0	112	2,7	2,0	9,1	185	Pro/Leu
19	MNCSC	13917345H	43	1,2	90	<2,0	30,5	94,3	170	2,6	2,0	17,4	125	Pro/Leu
20	MRLN	3289429C	50	1,5	81	<2,0	15,0	30,0	107	1,6	2,0	4,4	125	Pro/Leu
21	MMCR	6060855G	21	1,1	75	<2,0	39,4	60,6	136	1,6	2,0	4,0	88	Pro/Pro
22	NSCM	13843007F	28	9,6	70	<2,0	30,1	86,4	188	1,6	2,0	8,7	100	Pro/Leu
23	ORS	13947403K	33	2,6	102	<2,0	45,1	42,7	114	1,6	2,5	4,4	125	Pro/Leu
24	RRD	13496780J	28	9,7	91	2,2	25,7	43,5	125	2,9	2,0	13,8	175	Pro/Leu
25	RFS	3345142I	52	9,7	82	<2,0	25,3	52,9	188	1,6	2,0	5,8	0	Pro/Leu
26	RBSN	13914038B	36	5,9	78	<2,0	59,3	89,1	192	1,6	2,0	2,9	53	Pro/Pro
27	RRCM	3277442I	44	3,8	86	<2,0	23,0	51,7	166	1,6	2,0	7,3	275	Pro/Pro

APÊNDICE B - Tabela 40 - Sumário dos resultados gerais (tempo t1) dos participantes aleatorizados para o grupo placebo

No. de ordem	Iniciais	RGHC	Idade	Sexo	Fumante	AntiTPO (U/mL)	AntiTG (U/mL)	TSH (μU/mL)	T4 livre (ng/dL)	T4 (μg/dL)	T3 (ng/dL)	T3/T4	PCR (mg/L)	Glicemia (mg/dL)
1	AMFS	2268786A	50	fem	não	1855	34	1,49	1,19	8,9	94	11	2,3	84
2	BSS	14007622k	23	fem	não	231	59	2,42	1,29	10,7	126	12	1,1	92
3	CMMMLD	2298968A	50	fem	sim	507	509	0,77	0,97	10,9	133	12	1,1	93
4	EMLC	13647643A	42	fem	não	687	34	5,99	1,05	10,1	160	16	2,2	87
5	FSD	3303886J	21	fem	não	1631	648	2,20	1,02	11,7	153	13	1,0	101
6	GABM	3313942E	56	fem	não	>3000	88	2,27	1,35	9,7	104	11	1,5	93
7	JFS	13999095B	54	fem	não	1949	511	2,07	1,22	11,4	116	10	1,3	95
8	KAC	13938256B	44	fem	não	>3000	41	0,57	1,46	12,8	136	11	3,2	85
9	LMSBR	13965759I	50	fem	não	364	303	3,15	1,34	11,3	128	11	4,9	89
10	LC	3303358D	35	fem	não	734	323	2,79	0,95	12,0	141	12	5,7	90
11	LVS	13987753D	54	masc	não	503	34	3,27	1,04	10,3	150	15	1,3	106
12	MRSN	2532458C	51	fem	não	333	111	0,68	1,09	8,9	115	13	3,0	98
13	MOC	13632583B	28	fem	não	310	234	0,85	1,16	10,9	149	14	2,2	90
14	MAMB	13862041D	41	fem	sim	660	51	1,26	0,96	11,1	140	13	5,0	94
15	MBRPG	13919587I	48	fem	não	573	>3000	0,95	1,19	13,0	126	10	1,6	100
16	MFGC	2071164J	55	fem	não	869	>3000	2,90	0,97	7,3	93	13	1,6	90
17	MLSS	1392032H	48	fem	não	890	34	3,31	0,81	9,9	107	11	0,7	96
18	MGBA	13936401B	56	fem	não	326	312	6,78	0,88	7,1	96	14	1,6	102
19	MNCSC	13917345H	43	fem	não	336	333	3,11	0,89	8,7	119	14	1,1	87
20	MRLN	3289429C	50	fem	não	>3000	34	2,62	1,18	8,6	116	14	1,5	83
21	MMCR	6060855G	21	fem	não	1291	>3000	3,62	1,09	11,3	177	16	3,3	85
22	NSCM	13843007F	28	fem	não	876	86	3,91	0,93	10,2	126	12	3,6	104
23	ORS	13947403K	33	masc	não	213	34	4,71	0,89	10,4	119	11	3,6	107
24	RRD	13496780J	28	masc	não	1280	>3000	1,04	1,02	10,7	157	15	7,4	86
25	RFS	3345142I	52	fem	não	1323	99	3,54	1,04	1<2,0	141	12	12,0	93
26	RBSN	13914038B	36	fem	não	>3000	270	3,27	0,97	10,8	134	12	6,8	83
27	RRCM	3277442I	44	fem	não	>3000	>3000	1,18	1,08	9,3	119	13	4,2	101

No. de ordem	Iniciais	RGHC	Idade	Cal (pg/ml)	Selênio (µg/L)	GPx1 (U/gHb)	Iodúria (µg/L)	IL6 (pg/mL)	IL10 (pg/mL)	TNF (pg/mL)	Genótipos da GPx1
1	AMFS	2268786A	50	<2,0	28,7	60,3	180	<1,6	<2,0	4,8	Pro/Leu
2	BSS	14007622k	23	<2,0	35,2	68,3	142	<1,6	<2,0	3,6	Pro/Leu
3	CMMLD	2298968A	50	<2,0	33,0	72,5	144	<1,6	<2,0	6,8	Pro/Leu
4	EMLC	13647643A	42	<2,0	35,9	52,0	199	<1,6	<2,0	4,0	Pro/Leu
5	FSD	3303886J	21	<2,0	40,3	85,1	161	<1,6	<2,0	9,5	Pro/Pro
6	GABM	3313942E	56	4,5	35,1	91,0	145	<1,6	<2,0	2,3	Pro/Pro
7	JFS	13999095B	54	<2,0	39,1	68,2	166	<1,6	<2,0	7,2	Pro/Pro
8	KAC	13938256B	44	<2,0	30,2	55,0	137	<1,6	<2,0	6,4	Pro/Pro
9	LMSBR	13965759I	50	<2,0	48,0	69,0	190	<1,6	<2,0	4,8	Pro/Leu
10	LC	3303358D	35	2,1	45,9	68,8	168	<1,6	<2,0	5,2	Pro/Leu
11	LVS	13987753D	54	<2,0	40,2	67,4	198	<1,6	<2,0	11,3	Pro/Pro
12	MRSN	2532458C	51	<2,0	42,4	74,2	179	<1,6	<2,0	3,7	Pro/Pro
13	MOC	13632583B	28	<2,0	42,0	72,8	195	<1,6	<2,0	<0,6	Pro/Pro
14	MAMB	13862041D	41	<2,0	43,8	48,7	153	<1,6	<2,0	1,7	Pro/Pro
15	MBRPG	13919587I	48	<2,0	22,1	38,1	160	<1,6	<2,0	4,9	Pro/Leu
16	MFGC	2071164J	55	<2,0	36,2	48,4	160	<1,6	<2,0	9,0	Pro/Pro
17	MLSS	1392032H	48	<2,0	45,6	45,0	136	<1,6	<2,0	2,1	Pro/Pro
18	MGBA	13936401B	56	<2,0	56,9	38,9	127	3,5	<2,0	28,6	Pro/Leu
19	MNCSC	13917345H	43	<2,0	34,4	87,5	146	<1,6	<2,0	10,2	Pro/Leu
20	MRLN	3289429C	50	<2,0	20,1	40,3	143	<1,6	<2,0	1,4	Pro/Leu
21	MMCR	6060855G	21	<2,0	41,2	65,8	154	<1,6	<2,0	30,3	Pro/Pro
22	NSCM	13843007F	28	<2,0	38,2	72,3	175	<1,6	<2,0	5,5	Pro/Leu
23	ORS	13947403K	33	2,3	44,8	40,2	130	<1,6	<2,0	6,0	Pro/Leu
24	RRD	13496780J	28	<2,0	30,2	47,5	148	1,8	<2,0	23,1	Pro/Leu
25	RFS	3345142I	52	<2,0	20,9	50,4	175	1,6	<2,0	6,7	Pro/Leu
26	RBSN	13914038B	36	<2,0	51,0	83,1	160	<1,6	<2,0	2,3	Pro/Pro
27	RRCM	3277442I	44	<2,0	40,3	32,4	200	<1,6	<2,0	3,8	Pro/Pro

APÊNDICE C - Tabela 41 - Sumário dos resultados gerais (tempo t1) dos participantes aleatorizados para o grupo SeMet

No. de ordem	Iniciais	RGHC	Idade	Sexo	Fumante	AntiTPO (U/mL)	AntiTG (U/mL)	TSH (μU/mL)	T4 livre (ng/dL)	T4 (μg/dL)	T3 (ng/dL)	T3/T4	PCR (mg/L)	Glicemia (mg/dL)
1	APS	44104870I	43	fem	não	1684	137	5,64	0,91	9,1	119	13	1,0	88
2	ACVS	13913076H	53	fem	não	333	92	2,41	0,93	10,2	133	12	0,5	89
3	EAMA	13964436B	48	fem	não	407	517	5,27	1,10	11,3	144	11	5,5	91
4	EODS	13950918A	44	fem	não	616	183	2,99	1,23	10,5	133	11	1,7	103
5	ESA	79012634G	23	fem	não	1734	214	3,79	1,17	11,2	129	10	3,7	89
6	FQS	2026640E	34	fem	não	397	34	3,41	0,93	11,3	166	13	2,9	77
7	FCJA	13983803B	32	fem	não	467	46	1,71	1,02	9,0	108	11	0,4	82
8	GG	13867963A	20	masc	não	204	88	6,32	1,05	10,6	159	13	7,8	88
9	IAMCR	2263115F	50	fem	não	>3000	1972	4,18	1,32	10,0	91	9	2,8	86
10	IGA	13913235B	55	fem	não	>3000	>3000	1,31	1,26	10,5	115	10	1,1	98
11	IMS	13564998A	25	fem	não	161	42	3,50	1,13	11,0	134	11	2,0	81
12	JVA	13949326G	38	masc	não	421	145	4,13	1,07	10,6	145	12	3,0	88
13	MA	13834172I	43	fem	não	1549	122	2,28	0,96	9,0	120	12	1,2	77
14	MCA	13811627D	56	fem	sim	341	>3000	2,12	0,83	9,1	136	14	4,1	120
15	MFPS	2803998G	53	fem	não	622	34	2,87	1,19	10,3	109	9	5,6	93
16	MARL	13920461I	48	fem	sim	553	481	1,78	1,06	10,3	137	12	0,9	103
17	MHC	13912233I	50	fem	não	215	34	1,25	1,17	9,5	85	8	5,8	84
18	MLTSG	2801375F	58	fem	não	>3000	34	1,68	0,81	9,4	133	13	7,5	101
19	MLB	5145136F	44	fem	não	663	151	2,27	0,97	9,3	101	15	1,5	90
20	MMAG	13952457K	36	fem	não	516	110	4,50	1,23	10,3	114	10	10,0	91
21	MG	55701621G	52	fem	não	479	34	3,28	0,89	9,9	121	12	2,5	75
22	MMS	2260571B	57	fem	não	1593	573	1,80	0,98	9,5	120	13	0,9	89
23	NGRB	2921138D	51	fem	não	407	94	5,13	0,96	8,8	119	14	1,4	91
24	RIGM	55721551A	56	fem	não	412	71	4,23	1,14	10,5	101	10	1,4	82
25	RMVZ	13441123E	33	fem	não	>3000	>3000	1,24	1,19	8,4	109	13	0,9	90
26	SAOC	2323052G	53	fem	não	321	34	4,89	0,99	10,0	94	9	2,5	74
27	SPPC	13869645G	20	fem	não	657	94	1,06	1,37	11,6	110	8	0,6	85
28	TGP	13922806G	53	fem	não	1078	182	3,49	1,04	10,6	141	13	7,8	102

No. de ordem	Iniciais	RGHC	Idade	Sexo	Cal (pg/ml)	Selênio (µg/L)	GPx1 (U/gHb)	Iodúria (µg/L)	IL6 (pg/mL)	IL10 (pg/mL)	TNF (pg/mL)	Genótipos da GPx1
1	APS	44104870I	43	fem	<2,0	63,5	65,2	174	<1,6	<2,0	12,4	Pro/Leu
2	ACVS	13913076H	53	fem	<2,0	57,0	67,9	129	1,9	<2,0	10,1	Pro/Leu
3	EAMA	13964436B	48	fem	<2,0	62,1	94,4	175	<1,6	<2,0	4,0	Pro/Leu
4	EODS	13950918A	44	fem	<2,0	69,7	86,3	179	1,6	<2,0	7,2	Leu/Leu
5	ESA	79012634G	23	fem	<2,0	68,2	85,4	173	<1,6	<2,0	3,0	Pro/Pro
6	FQS	2026640E	34	fem	<2,0	77,9	83,1	146	<1,6	<2,0	4,3	Pro/Leu
7	FCJA	13983803B	32	fem	<2,0	55,4	95,4	193	<1,6	<2,0	2,7	Pro/Leu
8	GG	13867963A	20	masc	<2,0	46,9	68,7	156	<1,6	<2,0	7,2	Pro/Pro
9	IAMCR	2263115F	50	fem	<2,0	73,7	88,0	199	<1,6	<2,0	3,3	Pro/Pro
10	IGA	13913235B	55	fem	<2,0	93,9	66,1	140	<1,6	<2,0	4,3	Pro/Leu
11	IMS	13564998A	25	fem	<2,0	41,4	58,3	174	<1,6	<2,0	4,0	Leu/Leu
12	JVA	13949326G	38	masc	<2,0	62,4	88,4	140	<1,6	<2,0	4,3	Pro/Leu
13	MA	13834172I	43	fem	<2,0	63,5	87,6	160	<1,6	<2,0	2,4	Pro/Leu
14	MCA	13811627D	56	fem	<2,0	68,8	90,0	137	1,6	<2,0	8,2	Pro/Pro
15	MFPS	2803998G	53	fem	5,6	62,3	86,5	116	<1,6	<2,0	7,1	Pro/Leu
16	MARL	13920461I	48	fem	<2,0	77,1	99,8	190	<1,6	<2,0	5,5	Pro/Leu
17	MHC	13912233I	50	fem	<2,0	70,9	90,7	110	13,1	<2,0	22,4	Pro/Leu
18	MLTSG	2801375F	58	fem	<2,0	81,5	76,9	120	<1,6	<2,0	5,9	Pro/Leu
19	MLB	5145136F	44	fem	<2,0	47,8	78,7	154	<1,6	<2,0	2,1	Pro/Leu
20	MMAG	13952457K	36	fem	<2,0	72,0	66,0	180	<1,6	<2,0	3,8	Pro/Leu
21	MG	55701621G	52	fem	<2,0	65,8	96,0	150	<1,6	<2,0	5,8	Pro/Leu
22	MMS	2260571B	57	fem	<2,0	80,0	95,7	133	<1,6	<2,0	6,6	Pro/Pro
23	NGRB	2921138D	51	fem	<2,0	53,3	70,2	180	1,6	<2,0	6,1	Pro/Pro
24	RIGM	55721551A	56	fem	<2,0	66,0	73,2	184	<1,6	<2,0	9,2	Pro/Leu
25	RMVZ	13441123E	33	fem	3,3	50,0	69,0	147	39,0	<2,0	5,3	Pro/Pro
26	SAOC	2323052G	53	fem	<2,0	64,2	69,3	175	<1,6	<2,0	8,3	Pro/Pro
27	SPPC	13869645G	20	fem	<2,0	49,5	68,4	154	<1,6	<2,0	4,1	Pro/Leu
28	TGP	13922806G	53	fem	<2,0	66,0	79,9	172	<1,6	<2,0	5,8	Pro/Leu

APÊNDICE D - Tabela 42 - Sumário dos resultados gerais basais (tempo t0) dos participantes aleatorizados para o grupo SeMet

No. de ordem	Iniciais	RGHC	Idade	Duração da doença (anos)	Massa corporal (kg)	IMC	Sexo	Fumante	AntiTPO (U/mL)	AntiTG (U/mL)	TSH (μU/mL)	T4 livre (ng/dL)	T4 (μg/dL)	T3 (ng/dL)	T3/T4
1	APS	44104870I	43	0,5	49,2	19	fem	não	1895	131	1,27	1,33	8,7	136	16
2	ACVS	13913076H	53	20	66,0	25	fem	não	359	98	0,94	1,16	9,3	108	12
3	EAMA	13964436B	48	3	89,0	30	fem	não	302	179	1,82	0,87	8,8	119	14
4	EODS	13950918A	44	3	78,0	30	fem	não	1266	285	1,44	1,12	8,1	116	14
5	ESA	79012634G	23	9	70,9	28,5	fem	não	1583	362	1,41	1,22	13,7	179	14
6	FQS	2026640E	34	3	46,0	17,8	fem	não	303	34	2,15	1,17	10,0	110	11
7	FCJA	13983803B	32	4	84,0	29,8	fem	não	873	43	1,70	0,91	9,8	102	10
8	GG	13867963A	20	2	68,0	25	masc	não	176	100	1,39	1,09	9,0	165	17
9	IAMCR	2263115F	50	8	66,1	24,3	fem	não	>3000	1542	1,64	1,15	8,4	109	13
10	IGA	13913235B	55	12	54,3	24,2	fem	não	>3000	>3000	0,92	1,12	8,3	113	14
11	IMS	13564998A	25	3	52,0	20,3	fem	não	198	72	1,12	1,31	14,0	165	12
12	JVA	13949326G	38	9	82,7	25,8	masc	não	404	148	2,12	1,27	12,6	118	9
13	MA	13834172I	43	10	52,3	19,4	fem	não	1076	200	1,50	1,32	9,8	121	12
14	MCA	13811627D	56	3	54,1	23,4	fem	sim	332	>3000	0,81	1,14	14,1	163	12
15	MFPS	2803998G	53	6	92,0	36,8	fem	não	832	129	1,97	1,09	11,2	115	10
16	MARL	13920461I	48	2	64,3	23,3	fem	sim	690	289	2,27	1,00	8,4	92	11
17	MHC	13912233I	50	5	67,2	24,1	fem	não	185	95	2,12	0,93	9,1	119	13
18	MLTSG	2801375F	58	20	84,5	34,7	fem	não	>3000	134	2,09	1,29	12,4	129	10
19	MLB	5145136F	44	6	77,3	28,4	fem	não	538	202	2,48	1,04	8,2	131	16
20	MMAG	13952457K	36	8	63,4	24,2	fem	não	446	90	1,42	1,15	14,5	126	9
21	MG	55701621G	52	1,2	67,2	25,3	fem	não	474	41	1,96	1,17	10,2	114	11
22	MMS	2260571B	57	20	50,0	22,2	fem	não	>3000	267	2,13	1,13	8,3	108	13
23	NGRB	2921138D	51	3	79,0	32,9	fem	não	444	100	2,34	0,88	8,3	85	10
24	RIGM	55721551A	56	3	71,0	27	fem	não	217	69	1,16	0,96	8,1	116	14
25	RMVZ	13441123E	33	1	62,6	21,7	fem	não	>3000	>3000	2,34	1,13	9,8	118	12
26	SAOC	2323052G	53	7	64,0	22,4	fem	não	256	34	1,30	1,13	9,2	102	11
27	SPPC	13869645G	20	2	59,0	20,2	fem	não	278	43	2,46	1,09	13,8	152	11
28	TGP	13922806G	53	13	69,8	27,3	fem	não	559	178	1,37	1,37	10,9	160	15

No. de ordem	Iniciais	RGHC	Idade	PCR (mg/L)	Glicemia (mg/dL)	Cal (pg/ml)	Selênio (µg/L)	GPx1 (U/gHb)	Iodúria (µg/L)	IL6 (pg/mL)	IL10 (pg/mL)	TNF (pg/mL)	Dose de LT4 (µg/dia)	Genótipos da GPx1
1	APS	44104870I	43	2,5	83	<2,0	35,0	30,4	171	3,4	<2,0	8,7	117	Pro/Leu
2	ACVS	13913076H	53	0,4	79	<2,0	50,0	20,0	105	<1,6	<2,0	6,5	100	Pro/Leu
3	EAMA	13964436B	48	8,1	92	<2,0	30,0	57,6	161	5,2	2,6	21,4	100	Pro/Leu
4	EODS	13950918A	44	0,9	80	<2,0	26,2	65,4	160	<1,6	<2,0	9,1	121	Leu/Leu
5	ESA	79012634G	23	8,3	77	<2,0	53,0	82,6	155	<1,6	<2,0	2,9	85	Pro/Pro
6	FQS	2026640E	34	0,4	84	<2,0	43,4	47,6	131	2,6	<2,0	13,8	88	Pro/Leu
7	FCJA	13983803B	32	8,2	88	<2,0	50,7	90,7	147	<1,6	<2,0	10,5	0	Pro/Leu
8	GG	13867963A	20	1,5	73	<2,0	10,3	62,1	180	1,6	<2,0	11,6	64	Pro/Pro
9	IAMCR	2263115F	50	4,2	89	<2,0	55,2	59,9	169	1,6	<2,0	3,6	50	Pro/Pro
10	IGA	13913235B	55	2,1	72	<2,0	20,0	48,7	180	2,5	<2,0	13,1	100	Pro/Leu
11	IMS	13564998A	25	2,8	77	<2,0	29,0	40,0	180	2,3	<2,0	8,7	71	Leu/Leu
12	JVA	13949326G	38	1,9	79	<2,0	25,4	74,7	185	3,4	<2,0	10,9	125	Pro/Leu
13	MA	13834172I	43	1,3	78	<2,0	39,3	83,0	195	<1,6	<2,0	1,5	75	Pro/Leu
14	MCA	13811627D	56	9,0	108	<2,0	54,6	80,5	147	<1,6	<2,0	4,4	100	Pro/Pro
15	MFPS	2803998G	53	4,4	90	<2,0	47,3	83,2	124	2,1	<2,0	10,7	132	Pro/Leu
16	MARL	13920461I	48	1,9	74	<2,0	53,4	95,1	163	<1,6	<2,0	5,8	125	Pro/Leu
17	MHC	13912233I	50	1,1	86	<2,0	30,2	83,0	130	<1,6	<2,0	8,7	50	Pro/Leu
18	MLTSG	2801375F	58	8,6	83	<2,0	45,6	65,7	154	<1,6	<2,0	6,5	75	Pro/Leu
19	MLB	5145136F	44	1,5	83	<2,0	41,0	71,1	134	<1,6	4,6	8,0	0	Pro/Leu
20	MMAG	13952457K	36	2,0	89	<2,0	10,0	33,1	195	<1,6	<2,0	2,9	150	Pro/Leu
21	MG	55701621G	52	1,2	67	<2,0	29,1	43,1	152	<1,6	<2,0	<0,6	75	Pro/Leu
22	MMS	2260571B	57	1,2	76	<2,0	52,0	94,3	116	<1,6	2,0	7,3	100	Pro/Pro
23	NGRB	2921138D	51	4,9	82	<2,0	43,2	58,9	200	<1,6	<2,0	4,4	88	Pro/Pro
24	RIGM	55721551A	56	1,3	79	<2,0	36,1	22,7	167	<1,6	<2,0	8,0	121	Pro/Leu
25	RMVZ	13441123E	33	0,6	81	<2,0	30,0	28,8	133	<1,6	<2,0	1,8	85	Pro/Pro
26	SAOC	2323052G	53	1,8	79	<2,0	57,0	64,0	190	<1,6	<2,0	7,0	88	Pro/Pro
27	SPPC	13869645G	20	0,4	76	<2,0	33,1	39,1	131	<1,6	3,0	4,4	225	Pro/Leu
28	TGP	13922806G	53	9,4	79	<2,0	35,5	39,6	159	<1,6	<2,0	3,3	100	Pro/Leu

APÊNDICE E - Tabela 43 - Sumário dos resultados gerais basais (tempo t0) dos participantes aleatorizados para o grupo SeMet

No. de ordem	Iniciais	RGHC	Idade	Duração da doença (anos)	Massa corporal (kg)	IMC	Sexo	Fumante	AntiTPO (U/mL)	AntiTG (U/mL)	TSH (μU/mL)	T4 livre (ng/dL)	T4 (μg/dL)	T3 (ng/dL)	T3/T4
1	APS	44104870I	43	0,5	49,2	19	fem	não	1895	131	1,27	1,33	8,7	136	16
2	ACVS	13913076H	53	20	66,0	25	fem	não	359	98	0,94	1,16	9,3	108	12
3	EAMA	13964436B	48	3	89,0	30	fem	não	302	179	1,82	0,87	8,8	119	14
4	EODS	13950918A	44	3	78,0	30	fem	não	1266	285	1,44	1,12	8,1	116	14
5	ESA	79012634G	23	9	70,9	28,5	fem	não	1583	362	1,41	1,22	13,7	179	14
6	FQS	2026640E	34	3	46,0	17,8	fem	não	303	34	2,15	1,17	10,0	110	11
7	FCJA	13983803B	32	4	84,0	29,8	fem	não	873	43	1,70	0,91	9,8	102	10
8	GG	13867963A	20	2	68,0	25	masc	não	176	100	1,39	1,09	9,0	165	17
9	IAMCR	2263115F	50	8	66,1	24,3	fem	não	>3000	1542	1,64	1,15	8,4	109	13
10	IGA	13913235B	55	12	54,3	24,2	fem	não	>3000	>3000	0,92	1,12	8,3	113	14
11	IMS	13564998A	25	3	52,0	20,3	fem	não	198	72	1,12	1,31	14,0	165	12
12	JVA	13949326G	38	9	82,7	25,8	masc	não	404	148	2,12	1,27	12,6	118	9
13	MA	13834172I	43	10	52,3	19,4	fem	não	1076	200	1,50	1,32	9,8	121	12
14	MCA	13811627D	56	3	54,1	23,4	fem	sim	332	>3000	0,81	1,14	14,1	163	12
15	MFPS	2803998G	53	6	92,0	36,8	fem	não	832	129	1,97	1,09	11,2	115	10
16	MARL	13920461I	48	2	64,3	23,3	fem	sim	690	289	2,27	1,00	8,4	92	11
17	MHC	13912233I	50	5	67,2	24,1	fem	não	185	95	2,12	0,93	9,1	119	13
18	MLTSG	2801375F	58	20	84,5	34,7	fem	não	>3000	134	2,09	1,29	12,4	129	10
19	MLB	5145136F	44	6	77,3	28,4	fem	não	538	202	2,48	1,04	8,2	131	16
20	MMAG	13952457K	36	8	63,4	24,2	fem	não	446	90	1,42	1,15	14,5	126	9
21	MG	55701621G	52	1,2	67,2	25,3	fem	não	474	41	1,96	1,17	10,2	114	11
22	MMS	2260571B	57	20	50,0	22,2	fem	não	>3000	267	2,13	1,13	8,3	108	13
23	NGRB	2921138D	51	3	79,0	32,9	fem	não	444	100	2,34	0,88	8,3	85	10
24	RIGM	55721551A	56	3	71,0	27	fem	não	217	69	1,16	0,96	8,1	116	14
25	RMVZ	13441123E	33	1	62,6	21,7	fem	não	>3000	>3000	2,34	1,13	9,8	118	12
26	SAOC	2323052G	53	7	64,0	22,4	fem	não	256	34	1,30	1,13	9,2	102	11
27	SPPC	13869645G	20	2	59,0	20,2	fem	não	278	43	2,46	1,09	13,8	152	11
28	TGP	13922806G	53	13	69,8	27,3	fem	não	559	178	1,37	1,37	10,9	160	15

No. de ordem	Iniciais	RGHC	Idade	PCR (mg/L)	Glicemia (mg/dL)	Cal (pg/ml)	Selênio (µg/L)	GPx1 (U/gHb)	Iodúria (µg/L)	IL6 (pg/mL)	IL10 (pg/mL)	TNF (pg/mL)	Dose de LT4 (µg/dia)	Genótipos da GPx1
1	APS	44104870I	43	2,5	83	<2,0	35,0	30,4	171	3,4	<2,0	8,7	117	Pro/Leu
2	ACVS	13913076H	53	0,4	79	<2,0	50,0	20,0	105	<1,6	<2,0	6,5	100	Pro/Leu
3	EAMA	13964436B	48	8,1	92	<2,0	30,0	57,6	161	5,2	2,6	21,4	100	Pro/Leu
4	EODS	13950918A	44	0,9	80	<2,0	26,2	65,4	160	<1,6	<2,0	9,1	121	Leu/Leu
5	ESA	79012634G	23	8,3	77	<2,0	53,0	82,6	155	<1,6	<2,0	2,9	85	Pro/Pro
6	FQS	2026640E	34	0,4	84	<2,0	43,4	47,6	131	2,6	<2,0	13,8	88	Pro/Leu
7	FCJA	13983803B	32	8,2	88	<2,0	50,7	90,7	147	<1,6	<2,0	10,5	0	Pro/Leu
8	GG	13867963A	20	1,5	73	<2,0	10,3	62,1	180	1,6	<2,0	11,6	64	Pro/Pro
9	IAMCR	2263115F	50	4,2	89	<2,0	55,2	59,9	169	1,6	<2,0	3,6	50	Pro/Pro
10	IGA	13913235B	55	2,1	72	<2,0	20,0	48,7	180	2,5	<2,0	13,1	100	Pro/Leu
11	IMS	13564998A	25	2,8	77	<2,0	29,0	40,0	180	2,3	<2,0	8,7	71	Leu/Leu
12	JVA	13949326G	38	1,9	79	<2,0	25,4	74,7	185	3,4	<2,0	10,9	125	Pro/Leu
13	MA	13834172I	43	1,3	78	<2,0	39,3	83,0	195	<1,6	<2,0	1,5	75	Pro/Leu
14	MCA	13811627D	56	9,0	108	<2,0	54,6	80,5	147	<1,6	<2,0	4,4	100	Pro/Pro
15	MFPS	2803998G	53	4,4	90	<2,0	47,3	83,2	124	2,1	<2,0	10,7	132	Pro/Leu
16	MARL	13920461I	48	1,9	74	<2,0	53,4	95,1	163	<1,6	<2,0	5,8	125	Pro/Leu
17	MHC	13912233I	50	1,1	86	<2,0	30,2	83,0	130	<1,6	<2,0	8,7	50	Pro/Leu
18	MLTSG	2801375F	58	8,6	83	<2,0	45,6	65,7	154	<1,6	<2,0	6,5	75	Pro/Leu
19	MLB	5145136F	44	1,5	83	<2,0	41,0	71,1	134	<1,6	4,6	8,0	0	Pro/Leu
20	MMAG	13952457K	36	2,0	89	<2,0	10,0	33,1	195	<1,6	<2,0	2,9	150	Pro/Leu
21	MG	55701621G	52	1,2	67	<2,0	29,1	43,1	152	<1,6	<2,0	<0,6	75	Pro/Leu
22	MMS	2260571B	57	1,2	76	<2,0	52,0	94,3	116	<1,6	2,0	7,3	100	Pro/Pro
23	NGRB	2921138D	51	4,9	82	<2,0	43,2	58,9	200	<1,6	<2,0	4,4	88	Pro/Pro
24	RIGM	55721551A	56	1,3	79	<2,0	36,1	22,7	167	<1,6	<2,0	8,0	121	Pro/Leu
25	RMVZ	13441123E	33	0,6	81	<2,0	30,0	28,8	133	<1,6	<2,0	1,8	85	Pro/Pro
26	SAOC	2323052G	53	1,8	79	<2,0	57,0	64,0	190	<1,6	<2,0	7,0	88	Pro/Pro
27	SPPC	13869645G	20	0,4	76	<2,0	33,1	39,1	131	<1,6	3,0	4,4	225	Pro/Leu
28	TGP	13922806G	53	9,4	79	<2,0	35,5	39,6	159	<1,6	<2,0	3,3	100	Pro/Leu

APÊNDICE F - Tabela 44 - Sumário dos resultados gerais (tempo t2) dos participantes aleatorizados para o grupo SeMet

No. de ordem	Iniciais	RGHC	Idade	Sexo	Fumante	AntiTPO (U/mL)	AntiTG (U/mL)	TSH (μU/mL)	T4 livre (ng/dL)	T4 (μg/dL)	T3 (ng/dL)	T3/T4	PCR (mg/L)	Glicemia (mg/dL)	Cal (pg/ml)	Selênio (μg/L)
1	APS	44104870I	43	fem	não	1751	156	6,46	1,18	9,2	125	14	0,5	75	1,9	41,3
2	ACVS	13913076H	53	fem	não	316	121	1,96	1,05	8,1	99	12	1,1	96	<2,0	44,0
3	EAMA	13964436B	48	fem	não	445	532	4,73	0,96	9,7	111	11	4,7	93	<2,0	47,4
4	EODS	13950918A	44	fem	não	241	103	3,69	1,03	8,6	128	15	1,6	102	<2,0	35,9
5	ESA	79012634G	23	fem	não	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
6	FQS	2026640E	34	fem	não	418	34	3,20	1,20	10,2	119	12	3,1	82	<2,0	45,0
7	FCJA	13983803B	32	fem	não	475	35	2,30	0,84	9,2	105	11	0,2	84	<2,0	49,1
8	GG	13867963A	20	masc	não	65	91	6,05	1,02	10,3	164	16	1,6	88	<2,0	35,5
9	IAMCR	2263115F	50	fem	não	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
10	IGA	13913235B	55	fem	não	2604	>3000	2,20	1,01	8,1	107	13	9,2	92	<2,0	45,2
11	IMS	13564998A	25	fem	não	168	58	3,14	1,22	12,2	153	13	4,4	76	<2,0	38,7
12	JVA	13949326G	38	masc	não	427	182	4,45	1,30	13,7	123	9	1,6	85	<2,0	24,9
13	MA	13834172I	43	fem	não	949	310	1,64	1,26	8,8	109	12	1,1	86	<2,0	47,5
14	MCA	13811627D	56	fem	sim	303	>3000	2,09	1,08	12,0	147	12	3,2	112	<2,0	44,0
15	MFPS	2803998G	53	fem	não	588	144	3,10	1,10	10,4	104	10	10,3	89	3,3	29,3
16	MARL	13920461I	48	fem	sim	599	583	2,12	0,94	8,8	102	12	0,5	88	<2,0	53,2
17	MHC	13912233I	50	fem	não	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
18	MLTSG	2801375F	58	fem	não	2821	134	1,10	1,13	11,3	133	12	5,7	102	<2,0	55,0
19	MLB	5145136F	44	fem	não	361	95	2,33	0,94	7,8	121	16	10,7	89	<2,0	33,3
20	MMAG	13952457K	36	fem	não	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
21	MG	55701621G	52	fem	não	325	34	4,14	1,09	9,9	113	11	3,9	78	<2,0	24,6
22	MMS	2260571B	57	fem	não	1073	460	1,35	1,25	8,6	116	14	0,6	90	<2,0	41,2
23	NGRB	2921138D	51	fem	não	306	113	5,87	1,03	8,9	107	12	1,6	90	<2,0	29,7
24	RIGM	55721551A	56	fem	não	189	42	5,06	0,99	9,3	103	11	6,7	84	<2,0	57,4
25	RMVZ	13441123E	33	fem	não	2667	>3000	2,04	1,11	9,2	112	12	1,4	83	3,3	37,5
26	SAOC	2323052G	53	fem	não	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...	...
27	SPPC	13869645G	20	fem	não	238	80	1,42	1,02	11,6	139	12	0,5	76	<2,0	40,5
28	TGP	13922806G	53	fem	não	329	194	3,96	1,29	10,0	145	15	1,1	93	<2,0	46,1

No. de ordem	Iniciais	RGHC	Idade	Sexo	GPx1 (U/gHb)	IL6 (pg/mL)	IL10 (pg/mL)	TNF (pg/mL)	Genótipos da GPx1
1	APS	44104870I	43	fem	30,2	<1,6	<2,0	19,8	Pro/Leu
2	ACVS	13913076H	53	fem	53,0	1,6	<2,0	7,7	Pro/Leu
3	EAMA	13964436B	48	fem	67,2	<1,6	<2,0	<0,6	Pro/Leu
4	EODS	13950918A	44	fem	66,3	<1,6	<2,0	3,8	Leu/Leu
5	ESA	79012634G	23	fem	...	...	...	...	...
6	FQS	2026640E	34	fem	52,0	<1,6	<2,0	<0,6	Pro/Leu
7	FCJA	13983803B	32	fem	73,5	<1,6	<2,0	<0,6	Pro/Leu
8	GG	13867963A	20	masc	59,7	<1,6	<2,0	3,8	Pro/Pro
9	IAMCR	2263115F	50	fem	...	...	...	...	...
10	IGA	13913235B	55	fem	53,0	<1,6	<2,0	0,6	Pro/Leu
11	IMS	13564998A	25	fem	33,6	<1,6	<2,0	6,5	Leu/Leu
12	JVA	13949326G	38	masc	47,5	<1,6	<2,0	25,4	Pro/Leu
13	MA	13834172I	43	fem	29,0	<1,6	<2,0	0,6	Pro/Leu
14	MCA	13811627D	56	fem	52,5	<1,6	<2,0	3,9	Pro/Pro
15	MFPS	2803998G	53	fem	48,0	1,9	<2,0	15,7	Pro/Leu
16	MARL	13920461I	48	fem	47,1	<1,6	<2,0	21,8	Pro/Leu
17	MHC	13912233I	50	fem	...	...	...	...	...
18	MLTSG	2801375F	58	fem	34,8	2,9	<2,0	<0,6	Pro/Leu
19	MLB	5145136F	44	fem	38,4	13,9	<2,0	<0,6	Pro/Leu
20	MMAG	13952457K	36	fem	...	...	...	...	...
21	MG	55701621G	52	fem	58,0	1,9	<2,0	8,9	Pro/Leu
22	MMS	2260571B	57	fem	76,7	<1,6	<2,0	6,1	Pro/Pro
23	NGRB	2921138D	51	fem	41,7	2,2	<2,0	9,4	Pro/Pro
24	RIGM	55721551A	56	fem	57,1	21,2	<2,0	5,1	Pro/Leu
25	RMVZ	13441123E	33	fem	49,8	<1,6	<2,0	28,0	Pro/Pro
26	SAOC	2323052G	53	fem	...	...	...	...	...
27	SPPC	13869645G	20	fem	46,0	1,8	<2,0	11,8	Pro/Leu
28	TGP	13922806G	53	fem	32,4	1,6	<2,0	21,1	Pro/Leu

APÊNDICE G - Tabela 45 - Sumário dos resultados por ultrassom basais (tempo t0) dos participantes aleatorizados para o grupo SeMet

No. de ordem	Iniciais	RGHC	Histograma Tireoide (A)	Histograma Tireoide (DP)	Histograma Muscular (A)	Histograma Muscular (DP)	Índice de ecogeneidade	Volume glandular (cm3)	Velocidade média de fluxo das aa. tireóideas inferiores (cm/s)	Vascularização do parênquima	Valor numérico
1	APS	44104870I	53	16	67	16	0,8	19,0	37,0	IV	3
2	ACVS	13913076H	70	18	65	16	1,1	20,2	20,9	IV	3
3	EAMA	13964436B	31	13	42	17	0,7	23,8	19,0	III	2
4	EODS	13950918A	76	14	70	17	1,1	9,9	18,6	III	2
5	ESA	79012634G	46	16	36	17	1,3	9,3	23,0	III	2
6	FQS	2026640E	72	15	55	18	1,3	8,9	28,6	I	0
7	FCJA	13983803B	68	17	60	17	1,1	9,0	32,0	I	0
8	GG	13867963A	73	19	56	22	1,3	8,0	22,2	III	2
9	IAMCR	2263115F	67	15	42	15	1,6	9,7	23,7	II	1
10	IGA	13913235B	70	16	58	18	1,2	62,8	22,1	III	2
11	IMS	13564998A	68	17	55	17	1,2	12,0	16,0	II	1
12	JVA	13949326G	53	18	50	17	1,1	11,1	16,1	III	2
13	MA	13834172I	52	17	60	16	0,9	9,8	23,3	II	1
14	MCA	13811627D	52	16	51	14	1,0	17,3	25,1	III	2
15	MFPS	2803998G	76	19	49	15	1,6	13,3	30,3	II	1
16	MARL	13920461I	80	16	60	18	1,3	10,6	26,0	II	1
17	MHC	13912233I	85	19	55	20	1,5	12,8	23,3	III	2
18	MLTSG	2801375F	60	17	61	17	1,0	30,4	22,7	III	2
19	MLB	5145136F	73	16	68	20	1,1	16,6	26,2	III	2
20	MMAG	13952457K	59	17	61	17	1,0	30,4	22,7	III	2
21	MG	55701621G	79	18	51	16	1,6	16,2	19,4	III	2
22	MMS	2260571B	46	18	53	18	0,9	9,9	26,5	III	2
23	NGRB	2921138D	57	14	71	17	0,8	11,1	34,1	III	2
24	RIGM	55721551A	92	19	64	12	1,4	13,2	20,6	III	2
25	RMVZ	13441123E	68	16	50	16	1,4	14,2	25,1	II	1
26	SAOC	2323052G	87	19	60	15	1,5	8,9	11,4	III	2
27	SPPC	13869645G	65	18	60	14	1,1	14,6	21,1	III	2
28	TGP	13922806G	108	17	63	15	1,7	41,0	61,8	III	2

APÊNDICE H - Tabela 46 - Sumário dos resultados por ultrassom basais (tempo t0) dos participantes aleatorizados para o grupo placebo

No. de ordem	Iniciais	RGHC	Histograma Tireoide (A)	Histograma Tireoide (DP)	Histograma Muscular (A)	Histograma Muscular (DP)	Índice de ecogeneidade	Volume glandular (cm ³)	Velocidade de fluxo das aa. tireóideas inferiores (cm/s)	Vascularização do parênquima	Valor numérico
1	AMFS	2268786A	53	17	54	17	1,0	17,5	24,6	III	2
2	BSS	14007622k	60	17	48	15	1,3	16,0	28,3	II	1
3	CMMLD	2298968A	59	19	71	18	0,8	10,6	21,8	III	2
4	EMLC	13647643A	73	15	71	21	1,0	10,8	21,0	I	0
5	FSD	3303886J	50	15	56	16	0,9	8,1	21,3	III	2
6	GABM	3313942E	49	14	65	25	0,8	29,9	22,7	III	2
7	JFS	13999095B	53	16	36	34	1,5	13,0	25,0	III	2
8	KAC	13938256B	80	22	53	19	1,5	26,9	37,6	II	1
9	LMSBR	13965759I	54	16	37	15	1,5	10,5	26,9	III	2
10	LC	3303358D	65	18	49	18	1,3	11,0	17,5	I	0
11	LVS	13987753D	84	18	37	15	2,3	13,2	26,9	III	2
12	MRSN	2532458C	58	19	55	17	1,1	10,9	25,0	I	0
13	MOC	13632583B	70	18	44	19	1,6	6,2	36,1	III	2
14	MAMB	13862041D	65	17	55	17	1,2	12,4	25,1	II	1
15	MBRPG	13919587I	49	17	62	20	0,8	5,0	15,4	II	1
16	MFGC	2071164J	70	17	54	16	1,3	10,2	14,8	III	2
17	MLSS	1392032H	94	17	72	19	1,3	20,3	36,1	IV	3
18	MGBA	13936401B	50	17	55	16	0,9	11,5	22,3	II	1
19	MNCSC	13917345H	65	17	60	17	1,1	13,8	29,0	I	0
20	MRLN	3289429C	64	19	55	19	1,2	15,0	20,1	III	2
21	MMCR	6060855G	55	21	46	18	1,2	10,5	24,6	I	0
22	NSCM	13843007F	59	15	54	14	1,1	9,2	20,0	III	2
23	ORS	13947403K	73	14	62	13	1,2	10,2	15,5	I	0
24	RRD	13496780J	65	20	60	16	1,1	11,8	22,0	II	1
25	RFS	3345142I	64	19	50	17	1,3	13,2	33,0	IV	3
26	RBSN	13914038B	66	17	45	18	1,5	30,3	25,9	III	2
27	RRCM	3277442I	43	20	50	20	0,9	69,3	37,4	II	1

APÊNDICE I - Tabela 47 - Sumário dos resultados por ultrassom (tempo t1) dos participantes aleatorizados para o grupo placebo

No. de ordem	RGHC	Histograma Tireoide (A)	Histograma Muscular (A)	Índice de ecogeneidade	Volume glandular (cm ³)	VPS média das aa. tireóideas inferiores (cm/s)	Vascularização do parênquima	Valor numérico
1	2268786A	65	63	1,02	11,9	27,4	III	2
2	14007622k	83	57	1,45	15,5	29,0	II	1
3	2298968A	69	90	0,77	10,0	26,7	II	1
4	13647643A	57	50	1,15	10,8	21,1	III	2
5	3303886J	87	59	1,47	6,8	14,6	II	1
6	3313942E	49	65	0,75	18,8	22,8	III	2
7	13999095B	73	45	1,61	10,5	25,9	I	0
8	13938256B	82	64	1,28	20,1	29,2	III	2
9	13965759I	...	...	...	...	...	...	...
10	3303358D	24	52	0,45	13,8	19,9	II	1
11	13987753D	87	53	1,63	14,1	17,4	I	0
12	2532458C	39	49	0,80	4,7	15,0	III	2
13	13632583B	61	66	0,92	7,0	27,9	III	2
14	13862041D	95	61	1,56	9,8	22,7	I	0
15	13919587I	48	62	0,77	11,7	24,3	III	2
16	2071164J	70	54	1,30	10,6	13,9	III	2
17	1392032H	118	73	1,61	19,0	23,7	IV	3
18	13936401B	49	59	0,82	14,7	18,2	III	2
19	13917345H	71	57	1,25	7,8	19,2	II	1
20	3289429C	94	67	1,40	11,4	42,3	III	2
21	6060855G	46	79	0,58	10,0	22,4	I	0
22	13843007F	58	59	0,98	6,5	21,1	I	0
23	13947403K	63	44	1,43	7,2	9,7	I	0
24	13496780J	57	71	0,80	25,0	24,7	III	2
25	3345142I	68	55	1,24	18,9	44,5	III	2
26	13914038B	67	65	1,02	26,5	21,0	III	2
27	3277442I	44	58	0,76	67,5	27,4	II	1

APÊNDICE J - Tabela 48 - Sumário dos resultados por ultrassom (tempo t1) dos participantes aleatorizados para o grupo SeMet

No. de ordem	RGHC	Histograma Tireoide (A)	Histograma Muscular (A)	Índice de ecogenicidade	Volume glandular (cm ³)	VPS média das aa. tireóideas inferiores (cm/s)	Padrão de vascularização	Valor numérico
1	2268786A	70	71	1,0	15,0	56,7	III	2
2	14007622k	77	75	1,0	9,5	24,6	II	1
3	2298968A	56	60	0,9	5,7	15,6	III	2
	13647643A	...	...	...	...	...	...	...
4	3303886J	87	60	1,5	8,8	22,9	II	1
5	3313942E	58	73	0,8	23,9	24,1	II	1
6	13999095B	70	47	1,5	11,8	32,4	III	2
7	13938256B	70	90	0,8	30,4	30,1	IV	3
	13965759I	...	...	...	...	...	...	...
8	3303358D	25	50	0,5	14,0	20,2	I	0
9	13987753D	51	56	0,9	10,9	26,7	II	1
10	2532458C	40	55	0,7	5,1	18,0	I	0
11	13632583B	63	69	0,9	8,0	26,0	III	2
12	13862041D	82	72	1,1	8,8	27,5	II	1
13	13919587I	50	64	0,8	11,8	25,0	II	1
	2071164J	...	...	...	...	...	...	...
	1392032H	...	...	...	...	...	...	...
14	13936401B	55	60	0,9	15,0	18,0	II	1
	13917345H	...	...	...	...	...	...	...
15	3289429C	90	69	1,3	12,0	39,0	III	2
	6060855G	...	...	...	...	...	...	...
16	13843007F	63	47	1,3	6,6	18,5	I	0
	13947403K	...	...	...	...	...	...	...
17	13496780J	60	70	0,9	24,5	25,0	II	1
18	3345142I	89	72	1,2	8,4	41,9	II	1
19	13914038B	65	64	1,0	26,0	20,0	III	2
20	3277442I	45	59	0,8	66,9	28,5	II	1

APÊNDICE K - Tabela 49 - Sumário dos resultados por ultrassom (tempo t2) dos participantes aleatorizados para o grupo placebo

No. de ordem	RGHC	Histograma Tireoide (A)	Histograma Muscular (A)	Índice de ecogenicidade	Volume glandular (cm ³)	VPS média das aa. tireóideas inferiores (cm/s)	Padrão de vascularização	Valor numérico
1	2268786A	70	71	1,0	15,0	56,7	III	2
2	14007622k	77	75	1,0	9,5	24,6	II	1
3	2298968A	56	60	0,9	5,7	15,6	III	2
	13647643A	...	...	...	...	...	...	...
4	3303886J	87	60	1,5	8,8	22,9	II	1
5	3313942E	58	73	0,8	23,9	24,1	II	1
6	13999095B	70	47	1,5	11,8	32,4	III	2
7	13938256B	70	90	0,8	30,4	30,1	IV	3
	13965759I	...	...	...	...	...	...	...
8	3303358D	25	50	0,5	14,0	20,2	I	0
9	13987753D	51	56	0,9	10,9	26,7	II	1
10	2532458C	40	55	0,7	5,1	18,0	I	0
11	13632583B	63	69	0,9	8,0	26,0	III	2
12	13862041D	82	72	1,1	8,8	27,5	II	1
13	13919587I	50	64	0,8	11,8	25,0	II	1
	2071164J	...	...	...	...	...	...	...
	1392032H	...	...	...	...	...	...	...
14	13936401B	55	60	0,9	15,0	18,0	II	1
	13917345H	...	...	...	...	...	...	...
15	3289429C	90	69	1,3	12,0	39,0	III	2
	6060855G	...	...	...	...	...	...	...
16	13843007F	63	47	1,3	6,6	18,5	I	0
	13947403K	...	...	...	...	...	...	...
17	13496780J	60	70	0,9	24,5	25,0	II	1
18	3345142I	89	72	1,2	8,4	41,9	II	1
19	13914038B	65	64	1,0	26,0	20,0	III	2
20	3277442I	45	59	0,8	66,9	28,5	II	1

APÊNDICE L - Tabela 50 - Sumário dos resultados por ultrassom (tempo t2) dos participantes aleatorizados para o grupo

No. de ordem	RGHC	Histograma Tireoide (A)	Histograma Muscular (A)	Índice de ecogenicidade	Volume glandular (cm ³)	VPS média das aa. tireóideas inferiores (cm/s)	Vascularização do parênquima	Valor numérico
1	44104870I	72	72	0,99	9,8	35,2	III	2
2	13913076H	59	68	0,87	15,8	22,1	III	2
3	13964436B	67	55	1,22	15,0	18,9	III	2
4	13950918A	64	48	1,33	9,8	22,7	I	0
	79012634G	...	...	...	...	...	...	...
5	2026640E	70	55	1,27	8,9	29	I	0
6	13983803B	79	78	1,01	15,9	34,2	III	2
7	13867963A	85	71	1,20	10,4	25,2	III	2
	2263115F	...	...	...	...	...	...	...
8	13913235B	51	51	1,01	18,3	21,6	II	1
9	13564998A	69	56	1,23	21,5	17	III	2
10	13949326G	53	41	1,30	9,3	14,3	II	1
11	13834172I	37	42	0,87	21,1	26,7	III	2
12	13811627D	55	46	1,20	5,4	25	I	0
13	2803998G	56	52	1,08	8,3	26	III	2
14	13920461I	52	68	0,76	14,3	19,6	II	1
	13912233I	...	...	...	...	...	...	...
15	2801375F	64	67	0,96	27,8	20	III	2
16	5145136F	80	86	0,93	19,6	20,6	III	2
	13952457K	...	...	...	...	...	...	...
17	55701621G	79	59	1,34	16,3	19,8	II	1
18	2260571B	54	69	0,78	8,0	27	I	0
19	2921138D	51	59	0,86	9,0	32,5	III	2
20	55721551A	55	49	1,12	10,6	21,4	II	1
21	13441123E	56	28	2,01	13,0	22,9	III	2
	2323052G	...	...	...	...	...	...	...
22	13869645G	56	37	1,52	10,7	20,4	II	1
23	13922806G	89	63	1,41	59,0	28	III	2