DANILO BIANCHINI HÖFLING

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

Programa de: Radiologia
Orientadora: Dra. Maria Cristina Chammas
Coorientadora: Dra. Maria Cristina Chavantes

**São Paulo
2011**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Höfling, Danilo Bianchini

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 / Danilo Bianchini Höfling. -- São Paulo, 2011.

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

Programa de Radiologia.

Orientadora: Maria Cristina Chammas.

Coorientadora: Maria Cristina Chavantes.

Descritores: 1.Glândula tireoide 2.Hipotireoidismo 3.Terapia a Laser de baixa intensidade 4.Tireoidite autoimune 5.Ultrassonografia Doppler em cores

USP/FM/DBD-009/11

Esta tese é dedicada à minha esposa ***Milka***, à minha filha ***Agatha***
e aos meus pais ***Djalma*** e ***Ivani***.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, amiga e mentora, ***Dra. Maria Cristina Chammas***, que, pela sua presença constante, segura e inabalável, construiu os alicerces para a edificação deste trabalho.

À minha coorientadora e amiga ***Dra. Maria Cristina Chavantes***, pela sua dedicação ao ensino, exemplo de conduta e apoio infinito desde o conceito até a realização deste estudo.

À minha esposa e estrela-guia ***Milka Camila Algarve***, que, por amor, carinho e muita compreensão, soube lidar com minha ausência e, ainda assim, esteve a meu lado em todos os momentos alegres e tristes desta jornada que, somente quem a percorre, sabe o seu real significado.

À minha filha ***Agatha Algarve Höfling***, que, mesmo sem saber, incitou força e coragem necessárias para a finalização deste trabalho. Aos incontáveis momentos de alegria por ela proporcionados em companhia de nossos cães de estimação: ***Monalisa, Unique e Olívia***.

Aos meus queridos pais ***Djalma Höfling e Ivani Bianchini Höfling***, que foram os alicerces da minha formação como pessoa, estudante, médico e pesquisador, presenças firmes e amparo constante nos caminhos que escolhi trilhar.

Às minhas queridas tias Profa. ***Dra. Elizabeth Höfling*** e Profa. ***Dra. Marialda Höfling de Pádua Dias***, a quem tanto estimo e admiro, bem assim pelo imenso incentivo ao ingresso na vida acadêmica, pelo incalculável auxílio e pela extraordinária e poderosa fonte de apoio, energia e coragem.

Aos meus queridos tios ***Roberto Höfling e Maria Helena Rego Freitas Uchoa Fagundes***, por acreditar que nunca terei oportunidade de retribuir a tanto carinho e ajuda desde minha vinda para São Paulo.

Ao meu querido irmão **Rogério Bianchini Höfling**, pela solicitude e incrível ajuda no campo da informática, e sua esposa **Marici Teixeira Höfling** e minhas minhas sobrinhas **Júlia Höfling** e **Marina Höfling** pela carinhosa presença.

Aos meus sogros **Paulo Augusto Algarve e Maria Aparecida Binatto Algarve**, pelo amplo suporte nos diversos obstáculos e momentos de grandes dificuldades.

Às minhas amadas tias **Elaine Bianchini** (*in memoriam*), **Diva Bianchini Bilac** (*in memoriam*), **Mafalda Bianchini de Lima** (*in memoriam*), **Cesira Bianchini Barnabé** (*in memoriam*), quero dizer obrigado e espero que me ouçam, de alguma forma, pelas maravilhas da infância e da adolescência que vocês me proporcionaram. Jamais me esquecerei de vocês, minhas queridas!

À minha estimada prima **Denise de Pádua Dias**, pela desmedida contribuição na minha vinda para São Paulo.

Ao meu grande incentivador e amigo, **Prof. Dr. Giovanni Guido Cerri**, que abriu todas as portas para que eu pudesse colocar em prática uma idéia que, a princípio, parecia um sonho.

Ao **Prof. Dr. Meyer Knobel**, que me deu a oportunidade de transformar o sonho em realidade.

À **Profa. Dra. Berenice Bilharinho Mendonça**, que acreditou no meu trabalho e ajudou sobremaneira a realizá-lo.

À **Dra. Adriana Gonçalves Juliano**, pela sua enorme contribuição para a realização do estudo ultrassonográfico dos pacientes.

À minha amiga, **Profa. Dra. Elisabeth Mateus Yoshimura**, fantástica orientadora na física do Laser, que emitiu a luz para encontrar os parâmetros dosimétricos empregados neste estudo.

À **Dra. Suemi Marui**, pelas suas oportunas orientações e contribuições, bem como à **Dra. Débora Lucia Seguro Danilovic**, pelo encaminhamento dos pacientes.

Ao meu amigo, **Dr. Túlio Augusto A. Macedo**, exemplo de pesquisador, pelos seus preceitos na área da ultrassonografia.

Aos meus amigos do Instituto de Física da Universidade de São Paulo, **Profa. Dra. Rosângela Itri**, **Prof. Dr. Mikya Maramatsu** e o **Dr. Nasser Daghestanii**, meus sinceros agradecimentos por todo o auxílio e ensino prestados sobre a física do Laser.

À **Dra. Rossana Romão**, por me ter recebido tão bem e pela sua atenção e auxílio inestimáveis durante o período de seleção dos pacientes.

Ao **Dr. Osmar Saito**, que, com seu humor apurado, muito me incentivou.

À minha eterna professora e amiga **Profa. Dra. Maria Adelaide Albergaria Pereira**, que, além de me ensinar Endocrinologia, me apoiou e ajudou neste trabalho.

A todos os amigos do **Grupo de Ultrassom** que muito me ensinaram e estimularam.

Aos meus anjos da guarda do Departamento de Radiologia, **Elizangela Nivardo Dias**, **Lia Mello**, **Marildes Baptista dos Reis** e **Sandra Pacheco de Barros**, pelo incentivo e auxílio constantes em todos os momentos.

Ao meu anjo da guarda da Central Médica de Laser, **Rosemeire Dutra** (Rose), pela imensurável ajuda, prestatividade e contribuição.

Aos meus anjos da guarda do Departamento de Endocrinologia, **Rosana Zamboni** e **Maria Aparecida da Silva**, que tanto me auxiliaram e guiaram no desenvolvimento deste trabalho.

À **Jacyra Matheus de Lima** e à **Josefina de Primo**, pela grande colaboração na coleta e no encaminhamento das amostras de sangue aos laboratórios.

A todos os **Funcionários** do Ambulatório de Tireoide, por toda ajuda no atendimento aos pacientes.

Ao **Prof. Dr. Claudio Leone**, pela solicitude e orientação precisa na elaboração deste projeto.

À **Profa. Dra. Leila Antonangelo** e **Dra. Milena M. P. Acencio**, pelas suas orientações, esclarecimentos e contribuições para o armazenamento de soro e a dosagem de citonas.

Ao amigo e **Prof. Dr. Arnaldo Zanoto**, pela sua imensa contribuição na análise estatística.

À **Suely Campos Cardoso**, pelo notável auxílio de editoração e formatação.

À **Janice Yunes**, pela primorosa revisão da ortografia e gramática da língua portuguesa.

A todos os **Funcionários** da Clínica Oryon, pela ajuda em todos os estágios desse trabalho.

À fantástica colaboração de todos os **Pacientes** e seus **Familiares** que participaram de corpo e alma nesta pesquisa, fazendo o impossível para terminar o tratamento e o período de seguimento do estudo.

À **Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo** pelo suporte financeiro que tornou possível a concretização desta pesquisa.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior**, pelo auxílio financeiro durante a realização deste trabalho.

Por fim, tenho um agradecimento especial Àquele que esteve presente em todos os momentos de minha vida e me amparou nas situações de maior angústia, proporcionando-me força e coragem para realizar esta tese: **Deus!** Que o **Senhor** seja sempre Louvado!

Quando este trabalho estava apenas no conceito, um grande amigo me disse que, para realizar uma tese de doutorado, seria preciso muita ajuda. Agora posso, realmente, dizer que tinha ele toda a razão. E esta ajuda tive de conquistá-la passo a passo, como um trabalho de formiguinhas, como costuma dizer outra grande amiga. Pois aí está: ajuda, enfim, não faltou!

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as normas em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Comittee 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 Fazanelli Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 2ª Ed. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2005.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus* e descritores com *MeSH – Medical Subject Headings*.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xii
LISTA DE GRÁFICOS	xvi
LISTA DE QUADROS	xvii
LISTA DE TABELAS	xviii
LISTA DE ABREVIATURAS	xix
LISTA DE SÍMBOLOS	xx
LISTA DE SIGLAS	xxii
RESUMO	xxiv
SUMMARY	xxv
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS	7
3 REVISÃO DA LITERATURA	9
3.1 Tireoidite crônica autoimune (TCA)	10
3.2 Hipotireoidismo	18
3.3 Laser	21
3.4 Estudo ultrassonográfico (US)	39
4 MÉTODOS	58
4.1 Casuística	59
4.2 Tamanho da amostra	62
4.3 Randomização e implementação do estudo	62
4.4 A intervenção do estudo	65
4.5 Estudo ultrassonográfico	72
4.6 Mensurações laboratoriais	82
4.7 Mensurações antropométricas	85
4.8 Ética	86
4.9 Análise estatística	86

5 RESULTADOS	90
5.1 Mapeamento dúplex-Doppler colorido da tireoide	92
5.2 Função da glândula tireoide	102
5.3 Anticorpos antitireoide	108
5.4 TGF- β 1	110
5.5 Fatores prognósticos para a LILT	111
5.6 Efeitos adversos	113
5.7 Dados antropométricos	113
6 DISCUSSÃO	114
6.1 A intervenção do estudo	115
6.2 Mapeamento dúplex-Doppler colorido da tireoide	117
6.3 Função tireóidea	130
6.4 Autoimunidade	133
6.5 Limitações do presente estudo	136
6.6 Considerações finais	139
7 CONCLUSÕES	140
8 ANEXOS	142
9 REFERÊNCIAS	159

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Ilustração do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide, seus mecanismos de feedback negativos e positivos, bem como os componentes que participam da resposta autoimune na TCA. Modificado de Greenspan⁵¹. _____ 14**
- Figura 2 – Emissão espontânea e estimulada de radiação. Observa-se que, quando um elétron em seu estado excitado volta ao seu orbital de origem, há emissão de um fóton. Quando ele interage com outro elétron em seu estado excitado, dois fótons são emitidos. Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸. _____ 22**
- Figura 3 – Características das ondas do espectro eletromagnético. À esquerda, nota-se que o comprimento de onda é igual à distância entre dois picos consecutivos, enquanto a amplitude refere-se à distância entre o pico e o vale da onda. À direita, observa-se que o período é a fração de tempo entre dois picos consecutivos. A frequência de onda é igual ao número de períodos (ciclos) por segundo, a qual é expressa em hertz. Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸. _____ 22**
- Figura 4 – Característica de monocromaticidade da luz Laser. Quando a luz solar atravessa o prisma de cristal, ela é decomposta em várias cores, enquanto a luz Laser ao atravessá-lo não se decompõe, pois é monocromática, ou seja, apresenta um único comprimento de onda. Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸. _____ 23**
- Figura 5 – Coerência da luz Laser. A diferença entre a propagação incoerente das ondas de uma luz comum (A) e a coerência das ondas do Laser, que se movimentam em sincronia (em fase ou em movimento harmônico simples) e simetria (B). Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸. _____ 24**
- Figura 6 – Propriedade de colimação da luz Laser. A luz comum propaga-se em várias direções, ao passo que a luz Laser é colimada, isto é, as ondas eletromagnéticas progridem de forma paralela e na mesma direção. Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸. _____ 24**
- Figura 7 – Coeficientes de absorção do fluxo luminoso dos cromóforos água, hemoglobina e melanina em função dos comprimentos de onda de vários tipos de Lasers. Nota-se que o Laser de diodo, cujo comprimento de onda está na faixa do infravermelho, apresenta baixo coeficiente de absorção por tais cromóforos. Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸. _____ 25**
- Figura 8 – Interação do Laser com o tecido. Nota-se que a potência da energia segue um modelo de distribuição gaussiano. Na região central, o feixe de Laser causa carbonização do tecido, enquanto à distância, a energia é muito baixa e compatível com a do Laser de baixa intensidade, que promove biomodulação (efeito X). Modificado de Oshiro e Calderhead⁷⁰. _____ 27**
- Figura 9 – Ilustração do espectro eletromagnético e respectivos comprimentos de onda. A faixa de luz visível pelo olho humano e a infravermelha ocupam apenas pequena porção do espectro entre 380 e 1.000 nanômetros (nm). Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸. _____ 28**
- Figura 10 – Interação do Laser com o tecido orgânico, que pode resultar em reflexão, refração, dispersão, espalhamento e absorção da luz. Modificado de Chavantes⁶⁸. _____ 29**

Figura 11 – À esquerda, o equipamento Thera Lase™, DMC® e à direita, a emissão do Laser vermelho no dedo indicador do pesquisador, onde nota-se o intenso espalhamento da luz.

66

Figura 12 – A demarcação dos limites da glândula tireoide diretamente sobre a pele do paciente com o auxílio da ultrassonografia. Foram demarcadas, também, a incisura jugular do osso esterno e a proeminência da cartilagem tireóidea.

67

Figura 13 – A cópia da demarcação dos limites da tireoide, da incisura jugular do osso esterno e da proeminência da cartilagem tireóidea em papel vegetal profissional liso. Por transparência, esse modelo foi reproduzido em papel vegetal milimetrado, que pode ser observado na Figura 14.

68

Figura 14 – Demarcação dos limites da tireoide reproduzida em papel vegetal profissional milimetrado, contendo em seu interior os pontos de contato da ponteira do equipamento. A partir desse modelo, foi elaborado o molde em papel *con-tact*™, que pode ser observado na Figura 16.

68

Figura 15 – Molde elaborado em papel *con-tact*™ fixado no local exato da projeção da glândula tireoide. Nota-se a demarcação da incisura jugular do osso esterno e da proeminência da cartilagem tireóidea posicionados em seus locais de origem. As perfurações no interior dos limites da glândula apresentam distância de um centímetro entre elas e ocupam toda a extensão da tireoide.

69

Figura 16 – Ilustração da posição do paciente durante a execução das intervenções. Nota-se que a hiperextensão do pescoço é realizada e a cabeça faz um ângulo de aproximadamente 45° com o tronco.

72

Figura 17 – Imagens do corte longitudinal da tireoide em modo-B. Na imagem A, observa-se o parênquima tireóideo normal com a textura sólida e homogênea. Já na imagem B, notam-se a irregularidade dos limites da glândula e o parênquima com a textura difusamente heterogênea compatível com TCA.

75

Figura 18 – As imagens do histograma computadorizado de escala de cinzas da tireoide exibem o método de avaliação da tireoide e dos músculos adjacentes. Na imagem A (corte transversal), notam-se o músculo esternocleidomastóideo (ROI 1), os músculos pré-tireóideos (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 dos respectivos ROIs. Na imagem 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.

76

Figura 19 – US-Doppler colorido de amplitude e os exemplos dos padrões de vascularização do parênquima tireóideo, segundo a classificação modificada de Macedo et al.¹²⁰. Padrão I – A vascularização está 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 tireóideas principais periféricas com sinais habituais, enquanto no parênquima não há sinal de fluxo ou existe apenas sinal de pontos focais de vascularização com distribuição esparsa ou, ainda, no interior de nódulos. Padrão III – Evidente aumento da vascularização com distribuição esparsa. Padrão IV – Aumento acentuado da vascularização com distribuições difusa e homogênea, incluindo o chamado “inferno tireóideo”¹²¹.

79

Figura 20 – Ilustração da posição do paciente sobre a maca. Observa-se, também, o posicionamento do transdutor no plano sagital oblíquo e no transversal oblíquo para a avaliação da velocidade de pico sistólico e do índice de resistividade nas artérias tireóideas superiores (A) e inferiores (B), respectivamente.

81

Figura 21 – Imagens do US-Doppler colorido de amplitude do lobo direito (A) e do US-Doppler pulsado da artéria tireóidea superior direita (B). US-Doppler colorido de amplitude do lobo esquerdo (C) e do US-Doppler pulsado da artéria tireóidea inferior esquerda (D) de um paciente com TCA. _____ 82

Figura 22 – Ilustração do desenho do estudo executado para os pacientes de ambos os grupos pré e pós-intervenção. _____ 84

Figura 23 – O diagrama mostra o fluxo de pacientes em cada etapa do ensaio clínico. Nota-se que todos os pacientes randomizados foram incluídos na análise estatística final. _____ 91

Figura 24 – Comparação entre o histograma computadorizado da tireoide pré e pós-LILT. Nas imagens A e B, nota-se o aumento dos valores médios da ecogenicidade pós-LILT em comparação aos obtidos pré-LILT nos três ROIs (Gráficos 1, 2 e 3), que correspondem aos terços superior, médio e inferior da tireoide, respectivamente. _____ 96

Figura 25 – Comparação entre o histograma computadorizado dos músculos adjacentes pré e pós-LILT. Observa-se que os valores da ecogenicidade do músculo esternocleidomastóideo e dos músculos pré-tireóideos permaneceram similares pré-LILT (imagem A) e pós-LILT (imagem B). _____ 96

Figura 26 – US-Doppler colorido de amplitude. Vascularização do parênquima tireóideo de um paciente do grupo L, no qual foram observados o padrão III pré-LILT (A) e o II pós-LILT (B). _____ 101

Figura 27 – US-Doppler colorido de amplitude. Vascularização do parênquima tireóideo de um paciente do grupo L, no qual foram observados o padrão I pré-LILT (A) e o II pós-LILT (B). _____ 101

Figura 28 – US-Doppler colorido de amplitude. Vascularização do parênquima tireóideo de um paciente do grupo L, no qual foi observada manutenção do padrão III pré-LILT (A) e pós-LILT (B). _____ 101

Figura 29 – Efeitos e ações obtidos na interação do Laser com os tecidos de acordo com a densidade de potência (DPE) utilizada. Enquanto altas DPEs levam à destruição do tecido, DPEs muito baixas resultam em biomodulação, que promove os efeitos anti-inflamatórios, analgésicos e regeneradores dos tecidos biológicos. Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸. _____ 116

Figura 30 – Interação das ondas de ultrassom emitidas pelo transdutor A com o parênquima tireóideo, que exibe a estrutura folicular normal e, pelo transdutor B, com a estrutura microfolicular e um abundante infiltrado linfocitário. Observa-se a maior ou menor intensidade de reflexão das ondas de ultrassom, quando a estrutura folicular é normal ou microfolicular, respectivamente. Adaptado de Muller et al.³³. _____ 120

Figura 31 – As imagens exibem os valores do histograma computadorizado obtidos na tireoide (corte longitudinal) e nos músculos adjacentes (corte transversal) pré e pós-LILT. Após a LILT, nota-se que houve aumento dos valores no parênquima da tireoide, enquanto os valores dos músculos adjacentes permaneceram semelhantes aos verificados pré-LILT. _____ 122

Figura 32 – Imagens do histograma computadorizado de corte transversal da tireoide e do músculo esternocleidomastóideo de um indivíduo com tireoide normal (A) e outro com TCA (B). Os gráficos ilustram o padrão da distribuição da escala de cinzas dentro do ROI 1 (tireoide) e do ROI 2 (músculo). As linhas tracejadas delimitam as médias ± 2 desvios-padrão de cada distribuição dos tons de cinza dentro de cada ROI. Nota-se que no indivíduo com tireoide normal, tais linhas não se sobrepõem, evidenciando padrão

normal de ecogenicidade da tireoide. Na TCA ocorre sobreposição dos valores que caracterizam o padrão hipoecogênico da tireoide. M = média e DP = desvio-padrão. Modificado de Mazziotti et al.³⁷. _____ 123

Figura 33 – Avaliação do parênquima tireóideo (A e B) por meio da seleção das áreas de interesse (ROIs) nos terços superiores, médios e inferiores dos lobos direito e esquerdo, respectivamente. Essa abordagem é mais representativa da ecogenicidade média, uma vez que o parênquima tireóideo mostra-se muito heterogêneo. _____ 125

Figura 34 – Aporte sanguíneo para as artérias tireóideas superiores e inferiores. _____ 129

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Comparação entre os valores do índice de ecogenicidade 30 dias pós-intervenção nos grupos L e P _____	94
Gráfico 2 – Comparação dos valores do padrão de vascularização pré e 30 dias pós-intervenção nos grupos L e P _____	99
Gráfico 3 – Concentrações séricas de T3 total nos grupos L e P durante o ensaio clínico _____	103
Gráfico 4 – Concentrações séricas de T4 total durante o ensaio clínico _____	104
Gráfico 5 – Concentrações séricas de T4 livre nos grupos L e P durante o ensaio clínico _____	104
Gráfico 6 – Concentrações séricas de TSH nos grupos L e P durante o ensaio clínico	105
Gráfico 7 – Dose de levotiroxina nos grupos L e P durante o ensaio clínico _____	105
Gráfico 8 – Gráfico em curva logarítmica do T4 livre em função do TSH no grupo L	107
Gráfico 9 – Gráfico em curva logarítmica do T4 livre em função do TSH no grupo P	107
Gráfico 10 – Concentrações séricas de TPOAb nos grupos L e P durante o ensaio clínico _____	109
Gráfico 11 – Concentrações séricas de TgAb nos grupos L e P durante o ensaio clínico _____	109
Gráfico 12 – Comparação entre as concentrações séricas de TGF- β 1 pré e 30 dias pós-intervenção nos grupos L e P _____	110

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Principais manifestações clínicas do hipotireoidismo ^{62,64,65}	20
Quadro 2 – Modulação de expressão e secreção de moléculas pela LILT	35
Quadro 3 – Valores de referência, sensibilidade analítica, coeficientes de variação intraensaio e interensaio para as mensurações laboratoriais avaliadas no estudo	83
Quadro 4 – Classificação modificada de Macedo et al. ¹²⁰ utilizada para a avaliação do grau de vascularização do parênquima tireóideo em pacientes com TCA	126

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características clínicas e demográficas basais dos grupos do ensaio clínico _____	63
Tabela 2 – Comparação das frequências observadas de volume normal e alterado pós-intervenção nos grupos L e P _____	93
Tabela 3 – Sumário dos resultados da análise estatística não pareada _____	95
Tabela 4 – Comparação das frequências observadas de vascularização normal e alterada dos lobos tireóideos nos grupos L e P pós-intervenção _____	97
Tabela 5 – Comparação das frequências observadas dos padrões de vascularização em cada lobo tireóideo nos grupos L e P pós-intervenção _____	98
Tabela 6 – Sumário dos resultados da análise estatística pareada _____	100
Tabela 7 – Avaliação das variáveis índice de ecogenicidade, dose de levotiroxina, duração da doença, massa corpórea, TPOAb, TgAb e profundidade do limite posterior da tireoide como possíveis fatores prognósticos de resposta da TCA à LILT _____	112

LISTA DE ABREVIATURAS

Dr.	Doutor
Dra.	Doutora
ed.	edição
et al.	e outros
p.	página(s)
Prof.	Professor
Profa.	Professora
Sr.	Senhor
Sra.	Senhora

LISTA DE SÍMBOLOS

%	porcentagem
&	conjunção aditiva “e”
/	divisão
@	arroba
<	menor que
=	igual a
>	maior que
±	mais ou menos
≤	menor ou igual a
≥	maior ou igual a
©	<i>copyright</i>
®	marca registrada
°C	grau Celsius
μg	micrograma (10^{-6} grama)
μm	micrômetro (10^{-6} m)
$\frac{1}{4}$	um quarto
$\frac{1}{2}$	meio (a)
cm/s	centímetro por segundo
cm ²	centímetro quadrado
cm ³	centímetro cúbico
dL	decilitro (décima parte de um litro)
f	frequência
fs	femtosegundo (10^{-15} segundo)
g	grama
h	hora
Hz	hertz
J	joule
kg	quilograma
kg/m ²	quilograma por metro quadrado
m	metro

MHz	mega-hertz (10^6 hertz)
mJ	milijoule (10^{-3} joule)
mL	mililitro (10^{-3} litro)
mm	milímetro (10^{-3} metro)
ms	milissegundo (10^{-3} segundo)
mU/L	miliunidades internacionais por litro
mW	miliwatt (10^{-3} watt)
n	conjunto de números naturais
ng	nanograma (10^{-9} grama)
nm	nanômetro (10^{-9} metro)
ns	nanossegundo (10^{-9} segundo)
P	probabilidade de erro
pg/dL	picograma (10^{-12} grama) por decilitro
pH	medida que indica se uma solução líquida é ácida, neutra ou básica/alcalina a 25°C
r	coeficiente de correlação
s	segundo
™	marca comercial
U	unidade internacional
W	watt
x	multiplicação
α	alfa
β	beta
γ	gama
δ	delta
λ	comprimento de onda
μ U	microunidade (10^{-6} unidade) internacional
π	pi, corresponde a 3,14159

LISTA DE SIGLAS

APCs	<i>antigen-presenting cells</i> ou células apresentadoras de antígenos
AsGaAl Laser	Laser de arseneto de gálio-alumínio
ATP	<i>adenosine triphosphate</i> ou trifosfato de adenosina
bFGF	<i>basic fibroblast growth factor</i> ou fator básico para o crescimento de fibroblastos
CAPPesq	Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
CCL2	citocina pertencente à família de quimiocinas CC
CCL5	citocina pertencente à família de quimiocinas CC
CD	<i>cluster of differentiation</i> ou grupo de diferenciação
CTLA-4	<i>cytotoxic T-lymphocyte antigen 4</i> , também conhecido por CD152 (<i>cluster of differentiation 152</i>)
CXCL10	citocina pertencente à família de quimiocinas CXC
CXCL9	citocina pertencente à família de quimiocinas CXC
Grupo L	grupo de pacientes submetidos ao tratamento com Laser
Grupo P	grupo de pacientes submetidos ao tratamento com placebo
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HLA	<i>human leukocyte antigen</i> ou antígenos leucocitários humanos
IC	intervalo de confiança
IFN- γ	<i>interference factor natural-γ</i> ou fator natural de interferência- γ
IGA	imunoglobulina A
IGM	imunoglobulina M
IL-1	interleucina-1
IL-10	interleucina-10
IL-1 β	interleucina-1 β
IL-2	interleucina-2
IL-4	interleucina-4
IL-6	interleucina-6

IMC	índice de massa corpórea
InCor	Instituto do Coração do HCFMUSP
InRad	Instituto de Radiologia do HCFMUSP
IR	índice de resistividade
Laser	<i>Light amplification by stimulated emission of radiation</i> ou amplificação da luz por emissão estimulada de radiação
LILT	<i>low-intensity Laser therapy</i> ou terapia com Laser de baixa intensidade
LT ₄	levotiroxina
MeSH	<i>medical subject headings</i>
MHC	<i>major histocompatibility complex</i> ou complexo principal de histocompatibilidade
PRF	<i>pulse rate frequency</i> ou taxa de repetição de pulso
ROI	<i>region of interest</i> ou região de interesse
T ₃	triiodotironina sérica total
T ₄ livre	tetraiodotironina ou tiroxina sérica livre
T ₄	tetraiodotironina ou tiroxina sérica total
TCA	tireoidite crônica autoimune
TgAb	anticorpos antitireoglobulina
TGF-β1	<i>transforming growth factor-β1</i> ou fator transformador de crescimento-β1
TNF-α	<i>tumor necrotic factor-α</i> ou fator de necrose tumoral-α
TPOAb	anticorpos antiperoxidase tireóidea
TRAb	<i>thyrotropin (TSH) receptor antibody</i> ou anticorpo antirreceptor de TSH
TSH	<i>thyroid stimulating hormone (thyrotropin)</i> ou tireotropina
US	estudo ultrassonográfico
USA	<i>United States of America</i> ou Estados Unidos da América

RESUMO

HÖFLING DB. *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]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2011.

INTRODUÇÃO: A tireoidite crônica autoimune (TCA) é a principal causa de hipotireoidismo adquirido, o qual requer tratamento contínuo com levotiroxina (LT₄). Até o momento, não há terapia capaz de regenerar o tecido tireóideo lesado e melhorar sua função. Como a terapia com Laser de baixa intensidade (LILT) foi eficaz em outras doenças autoimunes, bem como na regeneração de vários tecidos, o objetivo deste estudo foi avaliar a eficácia do Laser de baixa intensidade no tratamento de pacientes com hipotireoidismo decorrente de tireoidite crônica autoimune utilizando-se os seguintes parâmetros de resposta: a) o mapeamento dúplex-Doppler colorido da tireoide; b) a função tireóidea estimada pela dose de LT₄ necessária para manter as concentrações séricas de T₃ total, T₄ total, T₄ livre e TSH normais; c) as concentrações séricas de anticorpos antiperoxidase tireóidea (TPOAb) e antitireoglobulina (TgAb). **MÉTODOS:** Trata-se de ensaio clínico randomizado, placebo-controlado, conduzido no Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, de março de 2006 a março de 2009, no qual foram incluídos 43 pacientes com hipotireoidismo causado por TCA. Todos eles apresentavam altas concentrações séricas de TPOAb e/ou TgAb e padrão ultrassonográfico compatível com TCA. Os pacientes foram randomizados em grupo L (submetido à LILT, n = 23) e P (submetido ao placebo, n = 20). Os limites da tireoide foram demarcados com o auxílio da ultrassonografia. Pacientes do grupo L submeteram-se à LILT (830 nm) e os do grupo P à função placebo do mesmo equipamento. Ambos os grupos foram submetidos, no total, à 10 sessões, duas vezes por semana, com a mesma técnica. Realizou-se pré e 30 dias pós-intervenção: o estudo ultrassonográfico (US) pelo modo-B, que incluiu o histograma computadorizado de escala de cinzas para estimar quantitativamente o índice de ecogenicidade; o US-Doppler colorido de amplitude atribuindo-se valores de 0 a 4 para os padrões de vascularização e o US-Doppler pulsado para estimar a velocidade de pico sistólico e o índice de resistividade das artérias tireóideas superiores e inferiores. Após o segundo US, os pacientes descontinuaram a LT₄, a qual foi reintroduzida para os pacientes que apresentaram hipotireoidismo, em dose suficiente para obter normalização hormonal. Realizaram-se determinações séricas de T₃ total, T₄ total, T₄ livre, TSH, TPOAb e TgAb pré-intervenção e no 1º, 2º, 3º, 6º e 9º meses pós-suspensão de LT₄. **RESULTADOS:** No US modo-B pós-intervenção, verificou-se aumento estatisticamente significativo do índice de ecogenicidade no grupo L (1,24 ± 0,11) comparado ao P (0,98 ± 0,07; P < 0,001), assim como a proporção de pacientes com volume normal foi estatisticamente maior no grupo L (P = 0,005). O US-Doppler colorido de amplitude mostrou que o valor do padrão de vascularização foi estatisticamente maior no grupo P (2,3 ± 0,27) do que no L (1,87 ± 0,36; P = 0,033). Observou-se redução da dose de LT₄ no grupo L (38,59 ± 20,22 µg/dia) comparada à do P (106,88 ± 22,9 µg/dia; p < 0,001). TPOAb foi menor no grupo L (681,91 ± 317,44 U/mL) do que no P (1176,40 ± 551,9 U/mL; p = 0,043). Não houve redução de TgAb e efeitos adversos. **CONCLUSÕES:** A LILT foi eficaz no tratamento da TCA, uma vez que no grupo L verificou-se: a) melhora da ecogenicidade, do volume e do padrão de vascularização da glândula tireoide no mapeamento dúplex-Doppler colorido; b) melhora da função da glândula tireoide, evidenciada pela redução da dose de LT₄ necessária para tratar o hipotireoidismo c) modulação parcial da autoimunidade, demonstrada por meio da redução das concentrações séricas de TPOAb.

Descritores: 1. Glândula tireoide; 2. Hipotireoidismo; 3. Terapia a Laser de baixa intensidade; 4. Tireoidite autoimune; 4. Ultrassonografia Doppler em cores.

SUMMARY

HÖFLING D.B. *Color Doppler ultrasonography in the evaluation of efficacy of the low-intensity Laser therapy of chronic autoimmune thyroiditis: placebo-controlled randomized clinical trial* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2011.

INTRODUCTION: A chronic autoimmune thyroiditis (CAT) is the main cause of acquired hypothyroidism which requires continuous treatment with levothyroxine (LT₄). So far there has been no such therapy which can make the damaged thyroid tissue regenerate, improving its function. As the low-intensity Laser therapy (LILT) was effective in other autoimmune diseases, as well as in regenerating several tissues, the objective of this study was to evaluate the efficacy of LILT in patients with hypothyroidism caused by CAT by utilizing the following response parameters: A) Color Doppler ultrasonography of thyroid; B) The thyroid function estimated by the dose of LT₄ in order to keep the serum concentrations of normal T₃, T₄, free T₄ (fT₄) and TSH; C) The serum concentrations of thyroid peroxidase (TPOAb) and thyroglobulin antibodies (TgAb). **METHODS:** This is a placebo-controlled randomized clinical essay guided at the Institute of Radiology, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo from March 2006 to March 2009, made up of 43 patients with hypothyroidism caused by CAT. All the patients showed high serum concentrations of TPOAb and/or TgAb and ultrasound pattern compatible with CAT. The patients were randomized in L group (submitted to LILT, n = 23) and P group (submitted to placebo, n = 20). The limits of thyroid were marked off with the help of ultrasonography. The patients in L group were submitted to LILT (830 nm) and the patients in P group were submitted to the placebo function of the same equipment. Both groups were submitted a total of 10 sessions, twice a week, using the same technique. Pre- and 30 days post-intervention were applied: ultrasonographic study (US) by B-mode, which included the grey scale computerized histogram to quantitatively estimate the index of echogenicity; the amplitude color Doppler US with values given from 0 to 4 for the vascularization patterns and the pulsed Doppler US to estimate the systolic peak velocity and the index of resistivity of superior and inferior thyroid arteries. After the second US the patients discontinued the LT₄, which was later re-introduced in the patients having hypothyroidism in a certain amount so as to be sufficient to obtain hormonal normalization. Serum determinations of total T₃, total T₄, fT₄, TSH, TPOAb and TgAb pre-intervention were accomplished and also in the 1st, 2nd, 3rd, 6th and 9th month post-suspension of LT₄. **RESULTS:** In post-intervention B-mode US a significant increase in the index of echogenicity in L group (1.24 ± 0.11) was statistically observed compared with the P group (0.98 ± 0.07 ; $P < 0.001$), as well as the proportion of patients with normal volume was shown statistically higher in L group ($P = 0.005$). The amplitude color Doppler US showed the standard value of vascularization was statistically greater in P group (2.3 ± 0.27) than in L group (1.87 ± 0.36 ; $P = 0.033$). Pulsed Doppler US showed an increase in the systolic peak velocity of the inferior thyroid arteries in L group (34.47 ± 4.81 cm/s) in relation to P group (26.12 ± 4.29 cm/s; $P = 0.016$). A reduction in the dose of LT₄ in L group (38.59 ± 20.22 µg/day) was observed compared with the one in P group (106.88 ± 22.9 µg/day; $p < 0.001$). TPOAb was smaller in L-group (681.91 ± 317.44 U/mL) than in P-group (1176.40 ± 551.9 U/mL; $p = 0.043$). There was no reduction of TgAb and adverse effects. **CONCLUSIONS:** LILT was effective in the treatment of CAT, once L group showed: A) amelioration of echogenicity, of volume and of vascularization of the thyroid gland in the color Doppler ultrasonography; B) improvement of thyroid function, featured through the reduction in the necessary dose of LT₄ to treat the hypothyroidism; C) partial modulation of autoimmunity demonstrated by reduction of TPOAb serum concentrations.

Keywords: 1. Thyroid gland; Hypothyroidism; Low-intensity Laser therapy; Autoimmune thyroiditis; Color Doppler ultrasonography

1 INTRODUÇÃO

A tireoidite crônica autoimune (TCA) é a causa mais comum de hipotireoidismo nas comunidades, cuja dieta é rica em iodo¹. Trata-se de doença autoimune, do tipo órgão-específica, causada por uma falha no mecanismo de tolerância imunológica, que desencadeia respostas imunes contra a glândula tireoide². Este processo exhibe forte predomínio no sexo feminino e tendência para se manifestar após os 50 anos^{3,4}. A prevalência é de 5% a 15% nas mulheres e 1% a 5% nos homens, de acordo com os critérios diagnósticos e a localização geográfica².

A TCA apresenta-se, principalmente, sob duas formas clínicas: variante atrófica e variante com bócio ou tireoidite de Hashimoto^{2,5,6}. Ambas são caracterizadas pela existência de tireoidite linfocitária, anticorpos antitireoide no sangue e vários graus de disfunção tireóidea². Ao exame histológico, o infiltrado linfocitário é o achado citopatológico característico da autoimunidade na glândula tireoide⁷.

A TCA é uma doença autoimune mediada, em especial, por linfócitos T; entretanto, fatores humorais, citocinas e quimiocinas contribuem para lesar progressivamente as células foliculares da tireoide, responsáveis pela produção dos hormônios tireóideos^{2,8,9}. A lesão contínua das células foliculares leva, inicialmente, a uma fase de compensação, durante a qual, os níveis séricos normais de triiodotironina total (T₃), tetraiodotironina total (T₄), tetraiodotironina livre (T₄ livre) são mantidos à custa da elevação discreta da tireotropina (TSH). Esse estágio da evolução da TCA, no qual a função tireóidea está pouco reduzida, denomina-se hipotireoidismo subclínico^{10,11} e os pacientes encontram-se assintomáticos (ou quase

assintomáticos). A resposta autoimune pode persistir e promover lesão cada vez mais extensa do parênquima tireóideo e, conseqüentemente, deterioração da função da glândula. Assim, as concentrações séricas de T_4 caem, as de TSH elevam-se ainda mais e os sintomas tornam-se evidentes neste estágio, que é chamado de hipotireoidismo clínico ou franco.

Não há, até o momento, terapia efetiva para alterar a história natural da TCA e os pacientes apresentam risco significativamente elevado de apresentar hipotireoidismo subsequente¹². Esta doença requer reposição contínua de levotiroxina, como regra, por toda a vida dos pacientes. Atualmente, a maioria das doenças crônicas tem farmacoterapias efetivas disponíveis¹³. Contudo, o grande desafio é a aderência do paciente ao tratamento. Após um ano de seguimento de indivíduos hipotireóideos com mais de 18 anos, apenas 68,4% deles apresentam aderência à terapia maior ou igual a 80%^{13,14}.

A terapia ideal para a TCA deveria se mostrar eficiente tanto em restabelecer a tolerância imunológica quanto em regenerar o tecido tireóideo lesado e, como resultado, normalizar a função tireóidea, dispensando a necessidade de utilização contínua de levotiroxina. A terapia com levotiroxina reduz as concentrações séricas de anticorpos antiperoxidase tireóidea (TPOAb) na maioria dos pacientes^{15,16}. O tratamento com selênio resultou em várias publicações nos últimos anos, mas ainda é motivo de controvérsia. Algumas delas mostraram que o selênio foi eficaz na redução de TPOAb¹⁷⁻²⁰, enquanto outras não evidenciaram qualquer ação dessa forma de abordagem^{21,22}. Nenhuma terapia demonstrou, ainda, ações de

modulação sobre as respostas imunes celulares e a melhora da função tireóidea. As drogas anti-inflamatórias, esteroides ou não esteroides, não são indicadas na tentativa de reduzir a lesão das células foliculares em razão de seus potenciais efeitos adversos¹⁹.

Dentro desse contexto, a luz Laser pode ser interessante, já que a terapia com Laser de baixa intensidade (LILT – *low-intensity Laser therapy*) revelou-se eficaz em outras doenças autoimunes, como a artrite reumatoide e a síndrome de Sjögren²³⁻²⁵. Foi documentado que a LILT é capaz de regenerar vários tecidos^{24,26-28} e, na tireoide de animais saudáveis, levou à melhora da microcirculação e à elevação das concentrações séricas de T_3 e T_4 ²⁹⁻³¹. Assim sendo, a literatura evidencia os efeitos regeneradores da LILT, bem como ações sobre a tireoide.

Decerto, o momento ideal para a avaliação de tal procedimento na tireoide humana é exatamente no estágio avançado da TCA, quando já houve lesão significativa das células foliculares, suficiente para levar ao hipotireoidismo clínico.

O emprego da LILT no tecido tireóideo lesado é, particularmente, interessante pelos seguintes motivos:

- a. A glândula é superficial e de fácil acesso ao Laser infravermelho por via transcutânea.
- b. A LILT é procedimento não invasivo e indolor.
- c. O equipamento de Laser de baixa intensidade apresenta boa relação custo-benefício.

- d. Trata-se de procedimento de baixo risco, que não envolve a utilização de radiação ionizante²³.
- e. Vários estudos descreveram a eficácia da LILT nas doenças autoimunes^{24,26,28} e na regeneração tecidual^{24,26,32}.

A avaliação das ações da LILT na tireoide foi realizada, nos estudos supracitados^{30,31}, por meio da microscopia eletrônica, das dosagens séricas de T₃ e T₄ em modelos animais. Nenhum estudo utilizou a ultrassonografia que é método simples, rápido, acurado, altamente sensível e reproduzível no diagnóstico da TCA, como parâmetro de resposta à LILT.

Foi demonstrado que a redução da ecogenicidade ultrassonográfica apresenta evidente correlação com o aumento da infiltração linfocitária, com a redução do tamanho e a ausência parcial dos folículos do parênquima tireóideo³³⁻³⁵. Assim, tal variável é, particularmente, importante para avaliar as ações histopatológicas da LILT sobre o tecido da glândula.

A introdução do histograma computadorizado de escala de cinzas³⁶⁻³⁸, que atribui valores numéricos aos vários tons da graduação de cinzas do modo-B da ultrassonografia, transformou a avaliação subjetiva da ecogenicidade, em uma variável objetiva e quantitativa e, conseqüentemente, altamente sensível e reproduzível³⁹. Assim, o histograma computadorizado tornou-se um excelente parâmetro de avaliação da resposta para intervenções terapêuticas nas doenças autoimunes da glândula tireoide. As outras variáveis analisadas no modo-B, o volume e a textura, bem como os parâmetros avaliados no mapeamento Doppler de amplitude e pulsado podem acrescentar ainda mais acurácia ao estudo

ultrassonográfico, não somente como uma ferramenta diagnóstica para a TCA, mas também como critério de resposta dessa doença à LILT.

Portanto, a avaliação da eficácia da LILT em pacientes com TCA pelas variáveis do estudo ultrassonográfico é pertinente e relevante. A literatura não apresenta publicações sobre o tema, o que motivou a realização desta pesquisa. Considerou-se especialmente a análise objetiva do histograma computadorizado para avaliar a ação da LILT sobre o parênquima tireóideo lesado. As avaliações da dose de levotiroxina necessária para tratar o hipotireoidismo e da concentração sérica de anticorpos antitireoide podem, em conjunto, aumentar o poder das evidências estatísticas no estudo da eficácia da LILT na TCA.

2 OBJETIVOS

Avaliar a eficácia do Laser de baixa intensidade no tratamento de pacientes com hipotireoidismo decorrente de tireoidite crônica autoimune, utilizando-se como parâmetros de resposta:

- a. o mapeamento dúplex-Doppler colorido da tireoide;
- b. a função tireóidea estimada pela dose de levotiroxina necessária para manter as concentrações séricas de T_3 , T_4 , T_4 livre e TSH normais;
- c. as concentrações séricas de anticorpos antiperoxidase tireóidea (TPOAb) e de antitireoglobulina (TgAb).

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1	<i>Tireoidite crônica autoimune (TCA)</i>	10
3.1.1	Diagnósticos clínico, laboratorial, histológico e ultrassonográfico	15
3.1.2	Tratamento da TCA	17
3.2	<i>Hipotireoidismo</i>	18
3.3	<i>Laser</i>	21
3.3.1	Laser de alta potência	26
3.3.2	Laser de baixa intensidade	26
3.3.3	Parâmetros dosimétricos do Laser	29
3.3.4	Mecanismo de ação do Laser de baixa intensidade	31
3.3.5	Expressão e secreção de fatores de crescimento induzidos pela LILT	33
3.3.6	Ações da LILT sobre as citocinas pró-inflamatórias e linfócitos	34
3.3.7	Ações da LILT nas citocinas supressoras das respostas imunes	35
3.3.8	Ações da LILT nas doenças autoimunes	36
3.3.9	Ações do Laser de baixa intensidade na tireoide (<i>in vivo</i>)	36
3.4	<i>Estudo ultrassonográfico (US)</i>	39
3.4.1	Ecogenicidade no diagnóstico da TCA: valor preditivo, sensibilidade, especificidade, acurácia e comparação com outros métodos	43
3.4.2	Avaliação da ecogenicidade no diagnóstico da TCA por meio do histograma computadorizado de escala de cinzas	48
3.4.3	Avaliação da vascularização do parênquima da tireoide por meio do estudo com o US-Doppler colorido de amplitude em pacientes com TCA	51
3.4.4	Avaliação da velocidade de pico sistólico e do índice de resistividade nas artérias tireóideas superiores e inferiores pelo US-Doppler pulsado em pacientes com TCA	55

3.1 Tireoidite crônica autoimune (TCA)

Em 1912, Hashimoto² descreveu quatro mulheres em que a glândula tireoide apresentava-se aumentada e parecia ter se transformado em tecido linfoide. Tais pacientes, inicialmente, não apresentavam hipotireoidismo; contudo, elas apresentaram tal disfunção após a cirurgia². Somente 46 anos depois, os autoanticorpos séricos foram descritos nessa moléstia², sendo, então, associados a mecanismos autoimunes.

Atualmente, a tireoidite de Hashimoto é reconhecida como uma das formas de TCA^{2,12}, a qual é uma das mais frequentes doenças autoimunes órgão-específicas que afetam os seres humanos⁴⁰. É mais comum nas áreas geográficas onde a dieta é rica em iodo¹², como ocorre na Região Metropolitana de São Paulo (Brasil)⁴¹. Trata-se, ainda, da causa mais comum de hipotireoidismo adquirido¹².

A TCA faz parte de um conjunto de doenças autoimunes da tireoide que podem levar a vários graus de disfunção da glândula, desde o hipotireoidismo até o hipertireoidismo. Além da TCA, incluem-se a doença de Graves, a tireoidite silenciosa (indolor), a pós-parto e a focal². A doença de Graves pode levar ao hipertireoidismo e estar associada à TCA e aos anticorpos antitireoide². A tireoidite silenciosa (indolor) e a pós-parto são, geralmente, autolimitadas e, supostamente, atribuídas a manifestações da TCA⁴². O espectro de autoimunidade associada à tireoide inclui ainda a tireoidite focal, que pode simular neoplasias da glândula^{7,43}.

A prevalência da TCA varia de acordo com os critérios diagnósticos e a localização geográfica. Quando mais de 40 focos de infiltrado linfocitário por centímetro quadrado (cm²) de tecido tireóideo são utilizados como o critério diagnóstico, a prevalência é de 5% a 15% nas mulheres e de 1% a 5% nos homens^{2,44}. O sexo feminino é cinco a sete vezes mais afetado do que o masculino^{2,3,12}, comumente, entre 30 e 50 anos, embora a doença possa ocorrer em qualquer faixa etária⁴⁵.

Há evidências de que a região gênica MHC (*major histocompatibility complex ou* complexo principal de histocompatibilidade) — onde se localiza o gene HLA, codificador das glicoproteínas HLA (*human leukocyte antigen*) — e os polimorfismos do gene codificador de CTLA-4 (*cytotoxic T lymphocyte antigen-4*) representam importante papel para conferir suscetibilidade para o desenvolvimento do hipotireoidismo decorrente de TCA. CTLA-4 é um receptor presente nas células T CD4⁺, que suprime a ativação de linfócitos T. A magnitude dos efeitos do MHC-HLA e CTLA-4 não explica, no entanto, todas as suscetibilidades genéticas da TCA^{43,46}. Fatores de risco ambientais podem desencadear a TCA em indivíduos predispostos, como: ingestão excessiva de iodo, drogas, especialmente, o interferon- α , e, possivelmente, microorganismos, estresse, tabagismo, esteroides sexuais e trauma^{8,46}.

Assim, fatores genéticos, endógenos e ambientais parecem interagir, levando ao aparecimento de autoantígenos tireóideos que atraem as células apresentadoras de antígenos (*antigen-presenting cells* – APCs), que os captam, processam-nos e os apresentam aos receptores das células T CD4⁺ (auxiliares), formando complexos com moléculas do complexo principal de

histocompatibilidade (MHC) de classe II. Tal processo leva à ativação das células T CD4⁺, que recrutam e induzem à ativação de linfócitos T CD8⁺ (citotóxicos) e de linfócitos B. Os linfócitos T CD8⁺ parecem ser os principais responsáveis pela lesão das células foliculares^{2,8}. Neste momento, uma resposta imune regulatória insuficiente, decorrente de fatores endógenos e genéticos, ao contrário de reforçar a tolerância imunológica e interromper o processo, pode permitir uma excessiva e inapropriada resposta imune contra antígenos próprios, a qual resulta na infiltração de linfócitos T e B autorreativos no parênquima tireóideo^{8,47}. Um dos fatores essenciais para suprimir a resposta autoimune é a presença de células T CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺, um subgrupo de células T reguladoras cuja depleção ou falha da ação pode permitir a evolução da resposta autoimune^{47,48}.

A consequência desse processo depende do predomínio da resposta das células T CD4⁺ auxiliares, que podem ser categorizadas em Th1 ou Th2, assim identificadas pelos diferentes tipos de citocinas liberadas no local. Citocinas são proteínas secretadas pelas células do sistema imune em resposta a microorganismos e outros antígenos (incluindo os antígenos próprios), que medeiam e regulam muitas de suas funções. Na fase de ativação das respostas imunes, elas estimulam o crescimento e a diferenciação dos linfócitos.

As citocinas com perfil Th1 são IL-2, TNF- α e IFN- γ , enquanto IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13 são citocinas produzidas por células Th2. Além disso, algumas células T CD4⁺ produzem citocinas com perfil Th1 e Th2, enquanto uma subpopulação Th3 produz TGF- β 1, que é uma citocina com importante

função supressora da autoimunidade^{8,43}. O predomínio de células Th1 favorece o desenvolvimento de um ambiente pró-apoptose para as células foliculares, causando a TCA, que pode resultar em hipotireoidismo. Por sua vez, a predominância de células Th2 facilita a imunidade humoral, que é capaz de induzir a produção de anticorpos antirreceptores de TSH pelos linfócitos B. Estes anticorpos podem ter ação estimulante e resultar na hiperplasia e hiperfunção (doença de Graves) ou ação inibitória, que leva à atrofia das células foliculares e hipotireoismo⁸.

O aumento da expressão gênica e/ou das concentrações séricas de várias subfamílias de quimiocinas (CCL2, CCL5, CXCL9 e CXCL10) foi descrito nas doenças autoimunes da tireoide e se demonstrou que elas estão envolvidas no acúmulo de linfócitos na glândula⁹. Elas são peptídeos de baixo peso molecular da família das citocinas, cuja principal função é recrutar os leucócitos para os locais da inflamação. Há evidências de que tanto as células foliculares quanto os linfócitos intratireóideos podem produzi-las e contribuir para iniciar e manter o processo autoimune⁹. Uma vez desencadeada a resposta autoimune, o infiltrado linfocitário começa a se organizar de maneira crescente em centros germinativos^{43,47}.

Autoanticorpos da classe da imunoglobulina G (IgG) contra os antígenos peroxidase tireóidea (TPOAb) e tireoglobulina (TgAb) estão, tipicamente, presentes nos pacientes com TCA. Os TPOAb podem, também, induzir dano celular por meio de lise mediada pela ativação de complemento⁴⁹. Estes autoanticorpos estão presentes em, aproximadamente, 95% dos pacientes com TCA^{2,50}.

Assim, fatores celulares, humorais (autoanticorpos), citocinas e quimiocinas participam da lesão progressiva das células foliculares da tireoide (Figura 1), que podem suscitar, inicialmente, hipotireoidismo subclínico e, subsequentemente, hipotireoidismo clínico ou franco.

Figura 1 – Ilustração do eixo hipotálamo-hipófise-tireoide, seus mecanismos de feedback negativos e positivos, bem como os componentes que participam da resposta autoimune na TCA. Modificado de Greenspan⁵¹.

3.1.1 Diagnósticos clínico, laboratorial, histológico e ultrassonográfico

Os critérios diagnósticos da TCA baseiam-se no exame clínico e nos exames subsidiários². A TCA pode apresentar-se sob a forma com bócio (tireoidite de Hashimoto) ou forma atrófica (tireoidite atrófica). É possível que os pacientes apresentem manifestações clínicas de hipotireoidismo, mas, tipicamente, se encontra apenas um bócio difuso, de consistência aumentada, cuja superfície é lobulada ou bocelada, que raramente pode ser grande o suficiente para causar sintomas compressivos².

Por definição, pacientes que apresentam a forma atrófica da TCA não têm bócio, ao contrário, apresentam-se com volume glandular reduzido ao diagnóstico². Esta forma pode apresentar-se sem que haja bócio preexistente ou resultar de evolução lenta e gradual da forma com bócio⁵². Saliencia-se que nem sempre a atrofia ou o bócio está presente, isto é, parte dos pacientes com TCA tem volume da glândula normal no momento do diagnóstico ou mesmo após anos de seguimento^{5,39}.

Quando há manifestações clínicas, o achado laboratorial mais relevante para o diagnóstico de TCA é a detecção de anticorpos antitireoide no soro². Os principais autoantígenos envolvidos na patogênese das doenças autoimunes da tireoide são a peroxidase tireóidea (TPO) e o receptor da tireotropina. A tireoglobulina, proteína mais abundante da tireoide, parece ter um papel menor na doença autoimune da tireoide em humanos⁴⁰. Anticorpos antitireoglobulina (TgAb) aparecem em 60% dos pacientes, enquanto os anticorpos antiperoxidase tireóidea estão presentes em, aproximadamente, 95% dos pacientes². Quando há suspeita clínica

dessa doença, os testes para avaliar as concentrações séricas de tireotropina (TSH) e os anticorpos antitireoide são suficientes para confirmar o diagnóstico^{2,42}. Contudo, nas coortes de comunidades, 50% a 75% dos indivíduos com altas concentrações séricas de anticorpos antitireoide apresentam TSH normal, 25% a 50% têm hipotireoidismo subclínico e apenas 5% a 10%, hipotireoidismo clínico².

A punção ou biópsia aspirativa por agulha fina (PAAF) é exame invasivo e deve ser considerada apenas naqueles pacientes nos quais, apesar de apresentarem manifestações clínicas de TCA e concentrações séricas elevadas de anticorpos antitireoide, se evidenciam nódulos tireóideos. Está indicada, ainda, quando houver bócio difuso de crescimento rápido, especialmente nos pacientes que recebem terapia com levotiroxina, com o intuito de afastar o diagnóstico de linfoma da glândula^{2,53}. Ao exame histológico, a TCA com bócio é caracterizada por um infiltrado linfocitário difuso, ocasionais centros germinativos, folículos tireóideos contendo escasso coloide e fibrose. São identificadas, frequentemente, células com citoplasma granular e de cor rosa (alterações oxifílicas), denominadas células de Hürthle ou Askanazy. Na TCA atrófica, a glândula tireoide tem volume pequeno, com infiltrado linfocitário e intensidade variável de fibrose que substitui o parênquima glandular². Em ambas as formas, o infiltrado linfocitário é o achado patológico característico da autoimunidade na glândula tireoide⁵⁴.

O grande avanço da ultrassonografia promoveu uma revolução no diagnóstico das doenças tireóideas. Atualmente, tornou-se um exame

subsidiário indispensável para o diagnóstico da TCA³⁹. Quando o parênquima tireóideo apresenta hipoecogenicidade, textura heterogênea, traves de fibrose, aumento ou redução da vascularização e velocidade de pico sistólico das artérias tireóideas normal, ou moderadamente aumentada (até 65 cm/s), a acurácia deste exame é maior do que qualquer outro isoladamente³⁹.

Em suma, as manifestações clínicas sugestivas de TCA, associadas aos anticorpos antitireoide e o US compatível com a doença são suficientes para executar o diagnóstico, mesmo na ausência de hipotireoidismo³⁹.

3.1.2 Tratamento da TCA

O tratamento específico para a TCA é, ainda, muito limitado. As terapias disponíveis não são eficazes em alterar a história natural da doença, reduzindo a incidência de hipotireoidismo. Quando o hipotireoidismo se estabelece, inicia-se a terapia de reposição contínua com levotiroxina. Demonstrou-se que a levotiroxina pode reduzir as concentrações séricas de anticorpos antiperoxidase tireóidea^{15,55} e o volume da tireoide em crianças e adolescentes com TCA e função tireóidea normal após dois anos de tratamento⁵⁶.

O selênio, um elemento com importante participação nas respostas imunes, foi avaliado no tratamento da TCA²⁰. Enquanto alguns estudos demonstraram eficácia do selênio na redução das concentrações séricas de TPOAb^{19,20,57-60}, não foi ele eficaz na prevenção da redução da função

tireóidea⁶⁰. Já outras pesquisas não apresentaram evidências da sua eficácia na redução dos anticorpos antitireoide (TPOAb e TgAb), tanto em crianças e adolescentes²² quanto em adultos com TCA²¹. Há, até, relatos sugerindo que ele pode aumentar o risco de diabetes⁶¹. Logo, as suas ações são controversas e novos ensaios clínicos serão necessários para estabelecer sua real eficácia.

3.2 Hipotireoidismo

O hipotireoidismo é uma síndrome clínica, que resulta da secreção insuficiente ou ação insuficiente dos hormônios tireóideos para as necessidades dos tecidos orgânicos⁶². É a disfunção mais comum da tireoide, que, apesar do amplo espectro etiológico, tem a TCA como a causa mais frequente em áreas geográficas onde a dieta é suficiente em iodo⁶².

Nos Estados Unidos da América, o estudo *National Healthy and Nutrition Survey (NHANES III)* demonstrou prevalência de hipotireoidismo clínico de 0,3% e de hipotireoidismo subclínico de 4,3%⁶². O hipotireoidismo foi diagnosticado em apenas 9% das mulheres com idade inferior a 45 anos, enquanto em 51% delas ele foi diagnosticado entre os 45 e os 64 anos ao longo do seguimento de 20 anos dos pacientes da coorte de Whickhan¹. McGrogan et al.⁶³ realizaram abrangente revisão da literatura entre 1980 e 2008 e concluíram que a melhor estimativa para as taxas de incidência de hipotireoidismo causado por TCA foi de 350 por 100.000 mulheres por ano e de 80 por 100.000 homens por ano.

Indivíduos com função tireóidea normal, mas com a presença de altas concentrações séricas de anticorpos antitireoide apresentam risco aumentado de desenvolver hipotireoidismo franco⁶². O seguimento de 20 anos da coorte de Whickham revelou que, nas mulheres com as concentrações séricas aumentadas de anticorpos antitireoide e TSH, a taxa de evolução para hipotireoidismo foi de 4% ao ano; 3% ao ano, se elas tivessem somente concentrações séricas de TSH elevadas e 2% ao ano, se apenas as concentrações de anticorpos antitireoide estivessem elevadas⁶². A taxa cumulativa de hipotireoidismo, após 20 anos de seguimento, foi de 55%, 33% e 27%, respectivamente¹.

As manifestações clínicas do hipotireoidismo são amplas, incluem vários aparelhos e sistemas orgânicos e dependem da intensidade das alterações bioquímicas dos hormônios tireóideos. O diagnóstico de hipotireoidismo é baseado nas manifestações clínicas^{62,64,65} (Quadro 1) e nos testes laboratoriais⁶⁴.

Os adultos com hipotireoidismo sintomático, frequentemente, têm as concentrações séricas de TSH acima de 10 mU/L, associadas às de T₄ total ou livre abaixo dos valores de referência. Outros adultos apresentam hipotireoidismo menos intenso, com as concentrações séricas de TSH, habitualmente, entre 5 mU/L e 10 mU/L, mas as de T₄ total e/ou livre encontram-se dentro dos valores de referência. Tal condição nomeia-se hipotireoidismo subclínico^{64,66}.

Quadro 1 – Principais manifestações clínicas do hipotireoidismo^{62,64,65}

1. Aumento da pressão arterial diastólica
2. Aumento de peso
3. Bradicardia
4. Cabelos secos e frágeis
5. Câibra
6. Cansaço
7. Constipação intestinal
8. Depressão
9. Derrame pericárdico
10. Derrame pleural
11. Diminuição da memória
12. Diminuição da fase de relaxamento dos reflexos tendinosos
13. Dispneia
14. Distúrbios do ciclo e do fluxo menstrual
15. Dor muscular
16. Edema atípico da pele causado por infiltração de glicosaminoglicanos
17. Edema de face, especialmente das pálpebras
18. Edema de mãos, pernas (que não deprime após a compressão) e pés
19. Espessamento da língua
20. Fraqueza
21. Hipercolesterolemia e aumento do LDL colesterol
22. Hiponatremia
23. Intolerância ao frio
24. Mãos e pés frios
25. Parestesias
26. Pele seca, delgada, pálida ou amarelada (carotenose)
27. Piora de apneia do sono
28. Queda de cabelos e/ou pelos
29. Raciocínio lento
30. Redução da acuidade auditiva
31. Redução da transpiração
32. Rouquidão
33. Sonolência

O início da terapia de reposição com levotiroxina é controverso quando as concentrações séricas de TSH estão entre 5 mU/L e 10 mU/L. Mas, quando elas estão acima de 10 mU/L, há, geralmente, consenso de que a introdução da levotiroxina é apropriada⁶⁶. No hipotireoidismo franco, em que as concentrações séricas de T₄ total ou livre estão abaixo dos limites de referência, a levotiroxina é, formalmente, indicada^{64,66}. A terapia de reposição de levotiroxina é realizada em doses suficientes para normalizar as concentrações séricas de T₃, T₄ e TSH⁶⁴⁻⁶⁶.

Remissões espontâneas do hipotireoidismo autoimune com ausência da necessidade de levotiroxina foram descritas em poucos pacientes e o tratamento é, em geral, continuado por toda a vida^{64,67}.

3.3 Laser

Laser é o acrônimo da expressão originada do idioma inglês *Light amplification by stimulated emission of radiation*. A sua história começou em 1916, quando Albert Einstein propôs a teoria da emissão estimulada de radiação⁶⁸. Quando um átomo no seu estado fundamental recebe um *quantum* de energia, seu elétron transfere-se de sua órbita natural para uma outra de maior energia. Nesse momento, o átomo está em sua forma excitada, que tende a retornar ao seu estado fundamental. Assim, o elétron retorna à sua órbita original e o átomo libera energia na forma de um fóton. Tal fenômeno denomina-se emissão espontânea de radiação (Figura 2)⁶⁸.

O fóton emitido por emissão espontânea pode encontrar outro átomo em seu estado excitado e desencadear o mesmo fenômeno, que, neste caso, resulta na emissão de dois fótons. Estes, por sua vez, podem interagir com outros dois átomos excitados e quatro fótons serão emitidos e assim sucessivamente. Esse fenômeno denomina-se emissão estimulada de radiação e tem propriedade de emitir grande quantidade de luz (Figura 2)⁶⁸. A teoria proposta por Albert Einstein foi, posteriormente, utilizada na prática

para o desenvolvimento dos equipamentos de Laser capazes de emitir de diversos comprimentos de onda⁶⁸.

Figura 2 – Emissão espontânea e estimulada de radiação. Observa-se que, quando um elétron em seu estado excitado volta ao seu orbital de origem, há emissão de um fóton. Quando ele interage com outro elétron em seu estado excitado, dois fótons são emitidos. Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸.

A propagação da luz é um fenômeno ondulatório e, por conseguinte, as propriedades da luz Laser relacionam-se com características de ondas⁶⁸, como: velocidade, frequência, amplitude e comprimento de onda (Figura 3).

Figura 3 – Características das ondas do espectro eletromagnético. À esquerda, nota-se que o comprimento de onda é igual à distância entre dois picos consecutivos, enquanto a amplitude refere-se à distância entre o pico e o vale da onda. À direita, observa-se que o período é a fração de tempo entre dois picos consecutivos. A frequência de onda é igual ao número de períodos (ciclos) por segundo, a qual é expressa em hertz. Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸.

A radiação emitida pelo aparelho de Laser apresenta características próprias. Ela é monocromática (compõe-se de fótons com um único comprimento de onda, isto é, uma única cor — Figura 4), coerente (todas as ondas apresentam a mesma amplitude e o mesmo ciclo — Figura 5) e colimada (todas as ondas caminham na mesma direção e apresentam divergência angular muito pequena, ou seja, são paralelas Figura — 6)⁶⁸.

Figura 4 – Característica de monocromaticidade da luz Laser. Quando a luz solar atravessa o prisma de cristal, ela é decomposta em várias cores, enquanto a luz Laser ao atravessá-lo não se decompõe, pois é monocromática, ou seja, apresenta um único comprimento de onda. Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸.

Figura 5 – Coerência da luz Laser. A diferença entre a propagação incoerente das ondas de uma luz comum (A) e a coerência das ondas do Laser, que se movimentam em sincronia (em fase ou em movimento harmônico simples) e simetria (B). Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸.

Figura 6 – Propriedade de colimação da luz Laser. A luz comum propaga-se em várias direções, ao passo que a luz Laser é colimada, isto é, as ondas eletromagnéticas progridem de forma paralela e na mesma direção. Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸.

Tais características diferenciam-no de outras fontes luminosas, pois suscitam a maximização da interação da energia com cromóforos teciduais específicos, que apresentam afinidade pelo comprimento de onda da luz Laser emitida, principalmente, por meio da absorção⁶⁹. A Figura 7 indica o coeficiente de absorção de substâncias distintas, como as moléculas de

água, hemoglobina e melanina em função do comprimento de onda de diferentes tipos de Laser.

Figura 7 – Coeficientes de absorção do fluxo luminoso dos cromóforos água, hemoglobina e melanina em função dos comprimentos de onda de vários tipos de Lasers. Nota-se que o Laser de diodo, cujo comprimento de onda está na faixa do infravermelho, apresenta baixo coeficiente de absorção por tais cromóforos. Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸.

Segundo Chavantes⁶⁸, o Laser é classificado em dois tipos: Laser de alta potência ou cirúrgico e Laser de baixa intensidade ou terapêutico, os quais produzem efeitos completamente diferentes nos tecidos biológicos:

- a. Efeitos do Laser de alta potência ou cirúrgicos:
 - a.1 Fototérmico – vaporização, coagulação e corte.
 - a.2 Fotoeletromecânico ou fotoablativo – plasmólise.
 - a.3 Fotoionizante – quebra as cadeias quaternárias do ácido desoxirribonucleico.
- b. Efeitos do Laser de baixa intensidade ou terapêuticos:
 - b.1 Fotofísico-químico:
 - b.1.1 Terapia fotodinâmica (PDT).
 - b.1.2 Biomodulação: bioestimulação e/ou bioinibição.

3.3.1 Laser de alta potência

O Laser de alta potência utiliza potência superior a 1 *watt* (W) e emite radiação com capacidade de destruição de tecidos que contenham cromóforos capazes de absorver o respectivo comprimento de onda. É muito utilizado com finalidade cirúrgica, substituindo os bisturis, eletrocautérios e outros equipamentos com grande precisão e eficiência. A interação do Laser de alta potência com o tecido segue um modelo de distribuição do tipo gaussiano (Figura 8).

A intensidade da energia diminuirá, progressivamente, a partir da região de contato do feixe de Laser com o tecido, até ser compatível com a do Laser de baixa intensidade. Assim, a uma distância variável do ponto central (Figura 8), a biomodulação irá se manifestar. Tal fenômeno é conhecido como efeito X^{68} .

3.3.2 Laser de baixa intensidade

O Laser de baixa intensidade, por outro lado, emite energia com potência muito baixa e, por esse motivo, não provoca danos aos tecidos como o Laser de alta potência. Segundo Chavantes e Tomimura⁶⁸, na terapia com Laser de baixa intensidade (*low-intensity Laser therapy* - LILT), a elevação da temperatura do tecido irradiado deve ser menor que 1°C e a potência menor ou igual a 1 W.

Figura 8 – Interação do Laser com o tecido. Nota-se que a potência da energia segue um modelo de distribuição gaussiano. Na região central, o feixe de Laser causa carbonização do tecido, enquanto à distância, a energia é muito baixa e compatível com a do Laser de baixa intensidade, que promove biomodulação (efeito X). Modificado de Oshiro e Calderhead⁷⁰.

Dessa maneira, seus efeitos são decorrentes de interação direta da luz Laser com fotoceptores específicos em nível molecular^{26,32,71} e não por aumento da temperatura²⁵. A LILT utiliza luz monocromática, ou quase monocromática, na região óptica do espectro eletromagnético entre, aproximadamente, 600 nm e 1.000 nm (Figura 9) emitidas por equipamentos de Laser ou de diodo, para tratar vários tipos de tecidos orgânicos de maneira não destrutiva e não térmica⁷¹. O comprimento de onda utilizado na LILT é muito diferente daqueles que podem provocar danos ao ácido desoxirribonucleico (radiação ionizante), como os raios gama e X. Estes últimos têm comprimento de onda entre 10^{-4} a 100 nm (Figura 9).

Figura 9 – Ilustração do espectro eletromagnético e respectivos comprimentos de onda. A faixa de luz visível pelo olho humano e a infravermelha ocupam apenas pequena porção do espectro entre 380 e 1.000 nanômetros (nm). Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸.

Quando a luz Laser incide sobre uma superfície de separação entre dois meios, como o ar e o tecido, parte da luz é refletida e parte é transmitida ao tecido-alvo. Esta última pode sofrer refração, dispersão, absorção e espalhamento⁶⁸ (Figura 10).

O Laser infravermelho é pouco absorvido pelas moléculas de melanina, hemoglobina e água presentes na pele (Figura 7). Isso favorece a dispersão e o espalhamento da luz infravermelha, que proporciona sua maior capacidade de penetração nos tecidos (Figuras 10 e 11).

Seus efeitos são fotofísico-químicos e promovem ação de biomodulação nos tecidos biológicos. A biomodulação resulta de dois tipos

de efeitos: bioestimulação e/ou bioinibição⁷². Assim, a LILT pode, dependendo dos parâmetros de utilização (modo de aplicação, intensidade, fluência, duração, comprimento de onda, tamanho do foco e das propriedades ópticas do tecido-alvo), causar estímulo (bioestimulação), inibição (bioinibição) ou mesmo ambos, no tecido-alvo irradiado⁶⁸.

Figura 10 – Interação do Laser com o tecido orgânico, que pode resultar em reflexão, refração, dispersão, espalhamento e absorção da luz. Modificado de Chavantes⁶⁸.

3.3.3 Parâmetros dosimétricos do Laser

A dosimetria tem o objetivo de determinar a dose ideal de energia para atingir o efeito final esperado. A dose é a quantidade apropriada de

energia por unidade de área (cm^2) para tratar um determinado tecido. A determinação da dose ideal deve considerar tanto as variáveis físicas da energia quanto as propriedades ópticas do tecido-alvo⁶⁸. Entre as principais propriedades físicas do Laser a ser empregado na terapia, devem ser levadas em conta as seguintes:

- Comprimento de onda (nanômetro).
- Coerência.
- Colimação.
- Área do feixe: em cm^2 .
- Energia (E): é calculada multiplicando-se a potência (W) pelo tempo (segundos – s) de aplicação do Laser. $E = P \text{ (W)} \times T \text{ (s)}$. É expressa em joules (J).
- Energia por ponto de aplicação e na área tratada total (joules).
- Tipo de emissão: contínua ou pulsada.
- Potência radiante (P): significa a quantidade de energia produzida ou consumida por unidade de tempo e é expressa em W.
- Densidade de potência (DP) ou intensidade = $P \text{ (W)} / \text{área (cm}^2\text{)}$. É expressa em W / cm^2 .
- Densidade de energia (DE) ou fluência = $P \text{ (W)} \times T \text{ (s)} / A \text{ (cm}^2\text{)}$. É expressa em J / cm^2 .

Entre as principais variáveis clínicas podem-se citar:

- Tipo de tecido e doença.
- Modo como a energia é transferida ao tecido: contato ou não contato.

- Número total de aplicações.
- Frequência das aplicações.
- Doenças concomitantes.
- Variáveis individuais: cor da pele, estágio evolutivo das doenças, tipos de tecido, como mucosa, pele etc.

3.3.4 Mecanismo de ação do Laser de baixa intensidade

O mecanismo de ação da LILT tem sido motivo de intensa investigação e publicações. Karu³², pioneira nessa área, propôs que os cromóforos primários para a luz Laser são os componentes da cadeia respiratória, tanto no caso de bioestimulação do metabolismo celular como no de bioinibição. A autora sugeriu, ainda, que a energia dos fótons emitidos é absorvida pela célula e transformada em energia bioquímica. Posteriormente, a pesquisadora demonstrou que a enzima citocromo c oxidase, presente nas mitocôndrias, é o principal fotoceptor, quando as células são irradiadas com a luz Laser vermelha ou infravermelha⁷³.

A LILT foi introduzida na prática clínica por seus efeitos sobre a regeneração dos tecidos, a modulação das respostas inflamatórias e a redução da dor^{23,24,26}. Vários mecanismos foram propostos para explicar tais ações. As luzes vermelha e infravermelha são absorvidas pelos componentes da cadeia respiratória da mitocôndria. Tal interação causa alteração na configuração molecular da mitocôndria e, por consequência,

modificação em sua função (reações primárias). Subsequentemente ocorrem mudanças nas sinalizações e funções celulares (reações secundárias).

Há evidências crescentes de que a citocromo c oxidase, enzima final da cadeia de transporte de elétrons da mitocôndria, é o fotoceptor primário das luzes vermelha e infravermelha^{26,71}. As reações secundárias, que ocorrem após a absorção da luz, são as cascatas de reações celulares que traduzem e amplificam a ação do Laser. São elas: o aumento do Trifosfato de Adenosina (ATP), do pH intracelular, bem como a via de sinalização retrógrada da mitocôndria, ou seja, o meio de comunicação da mitocôndria com o núcleo da célula, que influencia várias atividades nucleares e celulares²⁷. Recentemente descoberta, esta via de sinalização segue no sentido oposto à comum e bem definida via de sinalização do núcleo e citoplasma para a mitocôndria²⁷.

Os elementos envolvidos na sinalização retrógrada da mitocôndria incluem o aumento de potencial de sua membrana, de espécies reativas de oxigênio, do radical livre óxido nítrico (NO), da concentração de cálcio intracelular (Ca^{2+}) e das suas mudanças estruturais. Estes eventos iniciados na mitocôndria estimulam a síntese de ácido desoxirribonucleico e ácido ribonucleico no núcleo. Os comprimentos de onda no espectro do vermelho e do infravermelho, que obtiveram as maiores taxas de estímulo dos ácidos desoxirribonucleico e ribonucleico, foram 620 nm, 680 nm, 760 nm e 825 nm²⁷.

A irradiação de células de mamíferos causa aumento da expressão de vários genes²⁷. A exposição de fibroblastos humanos à irradiação (628 nm)

originou aumento da expressão gênica, que está direta ou indiretamente envolvida na proliferação celular e supressão de apoptose celular⁷³. Atualmente, as proteínas sinalizadoras envolvidas na indução desse processo pela LILT mereceram atenção especial, uma vez que algumas delas são reguladas pela sinalização mitocondrial. A fosforilação dos receptores dessas proteínas poderia ativar os elementos sinalizadores subsequentes, como: o aumento da expressão de fatores de crescimento celular e de citocinas, que, por fim, estimulariam a multiplicação das células e a regeneração dos tecidos^{26,73,75-77}.

Em resumo, a luz Laser é capaz de incrementar o fornecimento de trifosfato de adenosina (ATP) como substrato energético para o metabolismo celular funcionar normalmente, isto é, cria condições para a ocorrência de homeostase celular. Além disso, desencadeia uma cascata sinalizadora que resulta nos efeitos fotobiológicos celulares de proliferação e proteção contra apoptose^{26,27}.

3.3.5 Expressão e secreção de fatores de crescimento induzidos pela LILT

Foi demonstrado que a LILT estimula a expressão de genes ou proteínas de vários fatores de crescimento em células de tecidos humanos²⁶, entre eles:

- fator de crescimento de fibroblastos (*basic fibroblast growth factor* - bFGF) na cultura dessas células;

- fator transformador de crescimento beta (*transforming growth factor- β* – TGF- β) em cultura de células do miocárdio;
- fator transformador de crescimento beta1 (*transforming growth factor- β 1* – TGF- β 1) na cicatrização de úlceras orais;
- fator de crescimento endotelial (*vascular endothelial growth factors* – VEGF) em vários tecidos. Seguindo-se à irradiação, tais células proliferaram-se²⁶ (Quadro 2).

3.3.6 Ações da LILT sobre as citocinas pró-inflamatórias e linfócitos

O emprego do Laser de baixa intensidade foi eficaz em promover:

- supressão da expressão do gene da interleucina 1 beta (IL-1 β) e do interferon-gama (IFN- γ), após o trauma da gengiva de ratos Wistar⁷⁸;
- redução dos níveis salivares do fator de necrose tumoral alfa (*Tumor Necrosis Factor Alpha* – TNF- α) e da interleucina 6 (IL-6) em pacientes com estomatite dental⁷⁹;
- redução da expressão de ácido ribonucleico mensageiro para TNF- α ⁸⁰ em modelo experimental de tendinite induzida em ratos Wistar;
- diminuição dos níveis intracelulares de ácido ribonucleico mensageiro de IL-1 β e interleucina 8 (IL-8) em células da membrana sinovial de pacientes com artrite reumatoide⁸¹;
- redução das concentrações séricas de interleucina 2 (IL-2) após a irradiação transcutânea na região do timo de camundongos saudáveis⁸²;

- diminuição da expressão do gene do TNF- α na inflamação aguda do tecido de brônquios de ratos Wistar⁸³ (Quadro 2);
- normalização do número de linfócitos T CD4⁺ e da relação CD4⁺/CD8⁺ em pacientes com tonsilite crônica⁸⁴.

Quadro 2 – Modulação de expressão e secreção de moléculas pela LILT

Classificação	Moléculas	Efeitos biológicos da LILT
Fatores de crescimento	bFGF, TGF- β , TGF- β 1 e VEGF	Proliferação e diferenciação celular, supressão imunológica
Citocinas supressoras das respostas imunes	IL-10 e TGF- β	Supressão das respostas imunológicas
Citocinas pró-inflamatórias e linfócitos	IL1- β , IL-2; IL-6, TNF- α , IFN- γ , linfócitos T CD4 ⁺ e CD8 ⁺	Inibição da inflamação
Pequenas moléculas	Trifosfato de adenosina, espécies reativas de oxigênio, Ca ²⁺ , óxido nítrico	Normalização da função celular, diminuição da dor, cicatrização, mediação de atividades celulares, migração e angiogênese

3.3.7 Ações da LILT nas citocinas supressoras das respostas imunes

Após a indução de processo inflamatório agudo no pulmão de ratos, o emprego da LILT não interferiu na expressão gênica da interleucina 10 (IL-10)⁸⁵. O seu emprego em cultura de células do miocárdio humano *in vitro* aumentou a expressão gênica da citocina TGF- β e resultou em proliferação dessas células²⁶. Após a indução de acidente vascular cerebral em ratos, a LILT aumentou a expressão gênica da citocina TGF- β ²⁶. Este resultado foi

observado, também, depois da realização da LILT no local da extração de dentes desses animais²⁶ (Quadro 2).

3.3.8 Ações da LILT nas doenças autoimunes

A LILT foi empregada em várias doenças, inclusive algumas que envolvem processos inflamatórios crônicos autoimunes. Vários estudos tornaram evidente a sua eficácia na redução da dor e da rigidez articular de pacientes com artrite reumatoide^{23,24,28}. A irradiação Laser nas células que compõem a membrana sinovial de pacientes com artrite reumatoide demonstrou que suas ações podem ser mediadas pelas citocinas⁸¹. Após a irradiação, verificou-se redução dos níveis intracelulares de citocinas pró-inflamatórias, como: o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), a interleucina-1 β (IL-1 β) e a interleucina-8 (IL-8). A redução dessas citocinas pode contribuir, em parte, para a melhora da dor e da rigidez articular na artrite reumatoide. A potencial utilização da LILT no pênfigo cicatricial e na síndrome de Sjögren foi sugerida em alguns estudos^{25,86,87}.

3.3.9 Ações do Laser de baixa intensidade na tireoide (*in vivo*)

A literatura possui alguns trabalhos sobre a interação do Laser de baixa intensidade com o tecido tireóideo tanto em animais quanto em humanos.

Os capilares tireóideos foram analisados em ratos Wistar sadios (50 dias de vida) irradiados com Laser infravermelho (904 nm) durante 15 dias. A avaliação dos capilares foi realizada por meio de microscopia óptica e eletrônica um dia após o final do tratamento. Houve aumento significativo da densidade do volume capilar, da área e do diâmetro luminal dos capilares, redução da espessura do endotélio e aumento da densidade numérica das vesículas picnócíticas no grupo submetido ao Laser. Os dados morfológicos sugerem estímulo da microcirculação. O aumento das vesículas picnócíticas são indícios de incremento da permeabilidade capilar³¹.

As ações vasculares do Laser infravermelho (904 nm) foram pesquisadas na tireoide de ratos Wistar sadios por métodos quantitativos da microscopia eletrônica. Detectaram-se aumento da atenuação endotelial e o aparecimento de protrusões em direção ao lúmen vascular causadas pelas vesículas picnócíticas, que apresentaram aumento do lúmen e do tamanho. Estas mudanças morfológicas indicam diferenciação dos capilares e aumento da permeabilidade, que proporcionam maior disponibilidade de nutrientes, incremento nos processos de troca, bem como ativação dos mecanismos de secreção das células foliculares da tireoide³⁰.

Azevedo et al.²⁹ irradiaram a tireoide de 65 camundongos saudáveis com Laser infravermelho (780 nm) e avaliaram as concentrações séricas de T₃ e T₄ pré e 24h, 48h, 72h e uma semana pós-irradiação. Verificou-se aumento estatisticamente significativo de T₃ e T₄ somente sete dias após a irradiação, sugerindo que o efeito sobre a função tireóidea apresentou pelo menos sete dias de latência. Em humanos, dois meses após a LILT (890

nm) sobre a pele da região do tino, da tireoide e da fossa supraclavicular (irradiação do sangue) em pacientes com TCA, resultou em diminuição dos linfócitos B e T auxiliares, assim como elevação do número de linfócitos T supressores. Tais resultados indicam supressão sistêmica da autoimunidade⁸⁸.

Höfling et al.⁸⁹ publicaram, recentemente, os resultados do estudo-piloto com o intuito de avaliar o melhor planejamento para a execução do ensaio clínico. Os resultados sugeriram que a LILT pode ser uma ferramenta útil no tratamento de pacientes com hipotireoidismo decorrente de TCA em tratamento com levotiroxina.

Os autores utilizaram diferentes dosimetrias da LILT com o objetivo de descobrir, entre os parâmetros avaliados, a melhor resposta terapêutica. Foram tratados 15 pacientes com 10 sessões de Laser infravermelho (830 nm), duas vezes por semana, com a potência de 50 mW e a densidade de energia entre 380 J/cm^2 e 1.080 J/cm^2 . Foi realizado o estudo ultrassonográfico pré e 30 dias pós-LILT, momento em que o tratamento com levotiroxina foi descontinuado para todos os pacientes e, reintroduzido, quando houve manifestações clínicas e laboratoriais de hipotireoidismo. Verificou-se aumento significativo da ecogenicidade avaliada de maneira quantitativa pelo histograma computadorizado de escala de cinzas, sugerindo regeneração da estrutura folicular e/ou redução do infiltrado linfocitário da glândula tireoide.

Após nove meses de seguimento, notou-se redução das necessidades de levotiroxina em todos os pacientes tratados, tendo sete

deles permanecido com função tireóidea normal, sem a necessidade de levotiroxina. Houve, ainda, redução significativa dos anticorpos antiperoxidase tireóidea⁸⁹.

3.4 Estudo ultrassonográfico (US)

Os equipamentos de ultrassom estão evoluindo rapidamente tanto na qualidade da imagem quanto na disponibilização de programas que permitem transformar parâmetros avaliados de maneira subjetiva, como a ecogenicidade, em variáveis quantitativas, altamente sensíveis e reprodutíveis. Tais tecnologias permitem não somente melhorar a acurácia diagnóstica, mas utilizar o estudo ultrassonográfico como parâmetro de resposta a um determinado tratamento. Para o auxílio no diagnóstico das doenças da tireoide, o estudo ultrassonográfico promoveu uma verdadeira revolução e, atualmente, é um exame indispensável.

Os anticorpos antitireoide, principais marcadores laboratoriais da autoimunidade contra a tireoide, podem estar ausentes na TCA (falso-negativos), especialmente na fase inicial da doença, bem como em alguns pacientes com hipotireoidismo subclínico e clínico^{2,90}. Por outro lado, com o desenvolvimento de ensaios mais sensíveis para a detecção de TPOAb, concentrações séricas relativamente baixas podem estar presentes tanto em indivíduos saudáveis⁹¹ como naqueles portadores de outras doenças

tireóideas, como bócio multinodular e neoplasias da tireoide (falso-positivos)². Além disso, os anticorpos antitireoide não contribuem para a distinção entre os diversos tipos de doenças autoimunes da glândula tireoide, tais como: a tireoidite focal, a tireoidite difusa e a doença de Graves⁴³.

Desse modo, um método simples, rápido, não invasivo, reprodutível e que tem alta sensibilidade e especificidade como o mapeamento dúplex-Doppler colorido, pode ser de extrema utilidade para o diagnóstico precoce da TCA. O modo-B (brilho) permite avaliar as dimensões, o volume glandular, a textura e a ecogenicidade do parênquima tireóideo. O estudo ultrassonográfico com Doppler colorido (US-Doppler colorido) evidencia a vascularização das lesões focais e das difusas do parênquima tireóideo. O estudo ultrassonográfico com Doppler pulsado (US-Doppler pulsado) caracteriza a natureza do vaso sanguíneo e estima a velocidade de pico sistólico das artérias tireóideas superiores e inferiores, bem como os seus índices de impedância.

Na prática clínica, o volume da tireoide quando aumentado ou reduzido contribui para o diagnóstico da TCA. Contudo, parte dos pacientes com TCA apresenta volume normal⁹². A textura heterogênea do parênquima é um indício importante de processo inflamatório⁹². Porém, o principal marcador da autoimunidade contra a tireoide é a hipoecogenicidade, que tem alta correlação com a presença de TCA^{90,94}.

A análise da ecogenicidade do parênquima tireóideo é realizada de modo subjetivo ao compará-la à ecogenicidade dos músculos adjacentes

e/ou das glândulas submandibulares, classificando-a em isoecogênica, hiperecogênica e hipoecogênica em relação a tais estruturas⁹². A glândula tireoide normal exibe alta ecogenicidade à ultrassonografia, uma vez que a interface celular-coloidal proporciona condições para intensa reflexão das ondas do ultrassom.

Diante disso, a ecogenicidade da tireoide apresenta-se maior que a dos músculos pré-tireóideos e semelhante ou discretamente maior que a das glândulas submandibulares. O parênquima tireóideo é considerado hipoecogênico quando seus níveis de ecos são menores do que nas glândulas submandibulares ou se aproximam aos dos músculos pré-tireóideos^{33,34,92}.

A correlação entre os achados da ecogenicidade e das alterações histopatológicas é de particular importância para demonstrar a associação entre a hipoecogenicidade e a infiltração linfocitária. Com este objetivo, foi realizada a punção aspirativa por agulha fina (PAAF) dirigida pela ultrassonografia para avaliar a área ocupada por infiltração linfocitária e fibrose de pacientes com TCA, doença de Graves e tireoidite silenciosa³⁴. A acentuada infiltração linfocitária e fibrose, em praticamente toda a estrutura da glândula, exibiu alta correlação com a redução da ecogenicidade tireóidea. Quando o infiltrado linfocitário estava ausente foi observada ecogenicidade normal³⁴.

Muller et al.³³ demonstraram com mérito a alta correlação entre a ecogenicidade ultrassonográfica e os achados histológicos na TCA. Os autores realizaram a punção aspirativa da tireoide por agulha (diâmetro de

1,2 mm) dirigida por ultrassonografia e evidenciaram que, na presença de ecogenicidade normal do parênquima tireóideo, a média do diâmetro do lúmen folicular foi de 67 μm , enquanto, na presença de hipoecogenicidade, foi de 25 μm ³³. Desse modo, a ecogenicidade normal foi constatada quando o parênquima tireóideo continha estrutura folicular normal ou macrofolicular (bócio colóide). Já o padrão de hipoecogenicidade indicou estrutura microfolicular ou sólida. Os pacientes com TCA apresentaram hipoecogenicidade ao estudo ultrassonográfico, uma vez que os folículos mostraram-se atróficos ou mesmo ausentes quando substituídos por fibrose.

Deduziu-se que a diminuição da ecogenicidade foi provocada pela redução ou ausência da interface celular-coloidal, presente na tireoide normal, que representa o fator essencial para a intensa reflexão das ondas do ultrassom³³. Na TCA pode ocorrer redução do diâmetro, do número ou mesmo a ausência de folículos. Assim, há redução da interface acústica, provocando grande espalhamento e absorção das ondas de ultrassom e consequente diminuição da reflexão das ondas para o transdutor, que origina o padrão hipoecogênico³³. Dessa maneira, fica claro que a ecogenicidade do parênquima tireóideo apresenta correlação inversa à intensidade da lesão da estrutura folicular e à do infiltrado linfocitário^{33,34}.

Vários estudos descreveram o padrão de redução difusa da ecogenicidade do parênquima tireóideo como a variável ultrassonográfica de maior acurácia tanto no diagnóstico de TCA^{5,33,34,93-97} como para prever disfunção tireóidea ao longo do seguimento dos pacientes^{90,93}. Salienta-se que o aspecto ultrassonográfico clássico da tireoide em pacientes com TCA

ao modo-B exibe, além da textura heterogênea^{93,97} ou padrão finamente micronodular⁹⁸, a presença da hipoeogenicidade. As traves de fibrose no parênquima tireóideo e os linfonodos com aspecto habitual na cadeia cervical VI corroboram ainda mais o diagnóstico de TCA^{39,99}. A vascularização do parênquima da glândula ao US-Doppler colorido é, frequentemente, aumentada^{100,101}.

3.4.1 Ecogenicidade no diagnóstico da TCA: valor preditivo, sensibilidade, especificidade, acurácia e comparação com outros métodos

Os TPOAb são considerados os principais marcadores laboratoriais da autoimunidade na tireoide². A sensibilidade e a especificidade de tais anticorpos variam de acordo com o método utilizado para sua determinação e a amostra de pacientes estudados. Quando um imunoensaio sensível é utilizado, a mensuração de TPOAb é detectável em mais do que 95% dos indivíduos com TCA e, aproximadamente, em 87% dos indivíduos com doença de Graves¹⁰². Assim, se uma amostra for selecionada em um ambulatório com alta frequência de doenças da tireoide, a especificidade diminuirá, pelo fato de que muitos pacientes com doença de Graves apresentarão TPOAb detectáveis.

As determinações séricas de anticorpos antiperoxidase tireóidea nem sempre são conclusivas⁹⁵. Em uma amostra de 92 indivíduos selecionados

com TCA, confirmada por punção aspirativa, 13% destes pacientes tinham ausência de anticorpos e 17,4% apresentaram baixas concentrações séricas. Se apenas os anticorpos antitireoide fossem considerados, o diagnóstico de TCA poderia deixar de ser realizado em, no mínimo, 13% dos pacientes sem o auxílio da punção aspirativa por agulha fina e da ultrassonografia⁹⁵.

A importância da hipoecogenicidade ultrassonográfica difusa da tireoide para predizer o diagnóstico de doenças autoimunes da glândula foi bem estabelecida⁹⁴. Estudou-se, prospectivamente, uma amostra de 3.077 pacientes encaminhados por vários ambulatorios (geral e de especialidades) de um hospital (*Haukeland Hospital, University of Bergen, Norway*), para realização da ultrassonografia de tireoide com a finalidade de avaliar diversas desordens da glândula. Destes, 485 apresentaram hipoecogenicidade difusa à ultrassonografia, dos quais 452 tiveram resultados citológicos conclusivos realizados por meio de punção aspirativa por agulha fina e foram incluídos no estudo. Dos pacientes que restaram com ecogenicidade normal, 100 foram selecionados para o grupo controle. O diagnóstico final de TCA foi realizado em 352 pacientes do grupo de estudo e em sete do grupo controle. Os valores preditivos positivos e negativos de hipoecogenicidade como indicador de TCA foram de 399/452 (88,3%) e de 93/100 (93%) dos pacientes, respectivamente⁹⁴.

Assim, a redução da ecogenicidade é um excelente parâmetro para predizer o diagnóstico de TCA, bem como a ausência de hipoecogenicidade tem alto valor para predizer ausência de TCA. Vale ressaltar que de 219

pacientes com diagnóstico histológico de TCA, 58 (26,5%) não tinham TPOAb detectáveis, os quais poderiam deixar de ser diagnosticados, se outros testes, incluindo a ultrassonografia, não fossem realizados⁹⁴.

No grupo controle, sem hipoecogenicidade, o diagnóstico final de TCA foi confirmado em sete pacientes. Neste grupo, 10,2% dos pacientes mostraram altas concentrações séricas de TPOAb em pacientes sem TCA, indicando resultados falso-positivos⁹⁴.

A acurácia diagnóstica da hipoecogenicidade difusa da tireoide foi avaliada por meio da comparação com as concentrações séricas elevadas de TPOAb, utilizadas como padrão de referência. Estudou-se uma amostra de 451 indivíduos, cujo estado da tireoide era desconhecido, em um ambulatório com alta frequência de doenças da tireoide⁹². Foram avaliadas a função tireóidea, as concentrações séricas de TPOAb e a ultrassonografia da tireoide. A ecogenicidade do parênquima foi classificada em três graus:

- Grau 1: normal – ecogenicidade similar à da glândula submandibular e hiperecoico em relação à musculatura pré-tireóidea.
- Grau 2: hipoecogênico em relação à glândula submandibular e hiperecoico em relação à musculatura pré-tireóidea.
- Grau 3: iso ou hipoecogênica em relação à musculatura pré-tireóidea.

Quando se verificou o grau 3, a sensibilidade para TCA foi de 56% e a especificidade, de 96%. Quando considerado o conjunto de pacientes com o grau 2 e o 3, a sensibilidade para o diagnóstico de TCA foi de 84% e a especificidade, de 82%. A especificidade do grau 1 (normal) para excluir TCA foi de 82%. Encontrou-se alta sensibilidade da ecogenicidade dos graus

2 e 3 para o diagnóstico de TCA com hipotireoidismo clínico (97%) ou qualquer grau de disfunção tireóidea (85%)⁹².

A ultrassonografia foi comparada com outros métodos diagnósticos em pacientes com TCA confirmada previamente⁹⁵. Nos pacientes cuja punção aspirativa com agulha fina era compatível com TCA, observou-se que 29,3% deles não apresentavam manifestações clínicas, 13% não tinham anticorpos antitireoide, e o TSH estava normal em 41%. Enquanto a citologia foi, isoladamente, efetiva para o diagnóstico em 91,3% deles, a sensibilidade da ultrassonografia foi de 94,6% para o diagnóstico da TCA, quando a hipoecogenicidade estava presente⁹⁵.

Quando uma amostra não selecionada é estudada, a ecogenicidade normal do parênquima da tireoide exibe especificidade superior a 95% para excluir a TCA¹⁰³. Já em uma amostra selecionada em um ambulatório de doenças da tireoide, a ausência de hipoecogenicidade foi eficaz para afastar o diagnóstico de TCA em 84% dos pacientes. Além disso, se a ultrassonografia e a mensuração dos anticorpos antitireoide não fossem realizadas, o diagnóstico de TCA não poderia ser feito em mais da metade deles⁵.

O padrão hipoecogênico ou as altas concentrações séricas de anticorpos antitireoide não podem, isoladamente, diferenciar a TCA da doença de Graves, principalmente em uma amostra selecionada de pacientes com doenças de tireoide. Vários portadores de hipoecogenicidade e anticorpos antitireoide podem ter a doença de Graves.

A utilidade da ultrassonografia foi estudada para o diagnóstico da forma atrófica da TCA, assim como a comparação desta técnica com a cintilografia de tireoide com o isótopo radioativo do iodo, o ^{131}I . Foram selecionados 49 pacientes com tireoidite atrófica e 76 pacientes saudáveis para o grupo controle. Os resultados revelaram que a sensibilidade da presença de difusa hipoecogenicidade do parênquima no diagnóstico de TCA atingiu 96%, enquanto a da cintilografia foi de 83%. Todos os indivíduos do grupo controle exibiram ecogenicidade normal¹⁰⁴.

A hipoecogenicidade é, evidentemente, o melhor parâmetro ultrassonográfico para demonstrar a autoimunidade contra a glândula e pode estar presente em todas as doenças autoimunes da glândula tireoide.

Contudo, a avaliação da vascularização do parênquima tireóideo (US-Doppler colorido) e a determinação da velocidade de pico sistólico máximo do fluxo sanguíneo nas artérias tireóideas inferiores (US-Doppler pulsado) podem permitir a diferenciação diagnóstica entre TCA e doença de Graves^{100,101}. A tireoidite focal pode apresentar hipoecogenicidade localizada, facilmente diferenciada da hipoecogenicidade difusa da TCA⁶. A tireoidite pós-parto e a tireoidite silenciosa são, geralmente, autolimitadas e a história clínica e os exames laboratoriais são suficientes para concluir o diagnóstico.

A avaliação conjunta da ecogenicidade, do volume, da textura e da vascularização aumenta significativamente a acurácia da ultrassonografia no diagnóstico da TCA. A combinação entre os achados clínicos, laboratoriais e

ultrassonográficos proporcionará alta especificidade para o diagnóstico da TCA, mesmo em uma população selecionada⁹⁵.

3.4.2 Avaliação da ecogenicidade no diagnóstico da TCA por meio do histograma computadorizado de escala de cinzas

Nos estudos supracitados^{5,33-35,94-97,104-106}, a avaliação da ecogenicidade do parênquima da tireoide baseou-se na avaliação de examinadores experientes, comparando-a com a ecogenicidade da musculatura pré-tireóidea e das glândulas submandibulares. Nota-se que, apesar da padronização e das classificações propostas pelos autores, o método continua dependente do examinador. Na busca de uma avaliação mais objetiva e quantitativa que pudesse ser mais sensível, reprodutível e independente do examinador, foi desenvolvida uma técnica que tornou possível a atribuição de valores numéricos para a escala de cinzas do histograma computadorizado do modo-B da glândula tireoide.

Para tanto, foram desenvolvidos programas que realizam o histograma computadorizado de tecidos biológicos. Tal análise é executada dentro de regiões de interesse (ROIs – *regions of interest*) no parênquima da glândula, que permite obter a média e o desvio-padrão das tonalidades de cinza no interior dessa área. Assim, quantifica-se numericamente a ecogenicidade da tireoide de forma altamente sensível e reprodutível, capaz de proporcionar análises estatísticas precisas.

Quanto maior a resolução das imagens, maior o número de tons cinzas identificados. A cor preta corresponde ao valor zero e a branca, ao maior valor, que depende da resolução da imagem. Vários autores³⁶⁻³⁸ vêm empregando este método na avaliação de doenças da tireoide.

Os dados obtidos pelo histograma confirmaram aqueles publicados nos vários estudos anteriores que envolviam avaliações subjetivas da ecogenicidade da glândula tireoide^{5,33-35,94-97,104-106}, corroborando a utilidade da ultrassonografia no diagnóstico da TCA. Este método destaca que, em pacientes portadores de TCA, além de a avaliação do histograma computadorizado apresentar alta correlação com o diagnóstico e o aspecto morfológico³⁶, ele está correlacionado com a função tireóidea e a presença de anticorpos antiperoxidase tireóidea³⁶⁻³⁸.

O histograma computadorizado foi utilizado na avaliação do corte transversal dos lobos tireóideos (ganho de brilho constante) em uma escala de cinzas de 0 a 63. Detectou-se redução significativa da ecogenicidade nos pacientes com TCA (média de 19,6) em comparação àquela do grupo controle (média de 25,6). Além disso, a ecogenicidade intensamente reduzida foi correlacionada à ocorrência de altos níveis de TSH (incluindo hipotireoidismo subclínico) e de TPOAb, mas sem correlação com os níveis de TgAb³⁶. Mencionou-se poder o histograma computadorizado reproduzir melhor a ecogenicidade da tireoide, utilizando-se o corte longitudinal dos lobos tireóideos na comparação com a musculatura adjacente³⁹.

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-tireóideos, com 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 musculatura³⁷. A tireoide foi considerada hipoecogênica quando os valores médios $\pm$ dois desvios-padrão do parênquima apresentaram sobreposição com aqueles da musculatura pré-tireóidea³⁷.

Todos os pacientes com TCA (100%) apresentaram os valores do histograma computadorizado do parênquima tireóideo sobrepostos aos dos músculos pré-tireóideos, e todos os pacientes com hipotireoidismo apresentaram hipoecogenicidade envolvendo mais do que 68% da glândula³⁷. O histograma computadorizado revelou, ainda, que os pacientes com hipotireoidismo decorrente de TCA apresentaram significativa redução da ecogenicidade, quando comparados àqueles com eutireoidismo³⁸. Os resultados obtidos com o histograma computadorizado corroboram a utilidade da hipoecogenicidade do parênquima tireóideo tanto no diagnóstico da TCA como para predizer o hipotireoidismo.

Os estudos acima avaliaram a ecogenicidade, selecionando regiões de interesse (ROIs) em cortes transversais dos lobos direito e esquerdo. Foi necessário armazenar as imagens em arquivos do tipo JPEG e transportá-las ao microcomputador para efetuar a análise, o que limitava a utilização do

método em decorrência do trabalho e do tempo necessários para avaliar as imagens. Isso impossibilitava a utilidade do método na prática clínica. Atualmente, alguns aparelhos de ultrassom disponibilizam o programa, realizando a análise em tempo real, o que adiciona praticidade ao procedimento.

Novos programas já disponibilizam a avaliação da ecogenicidade dentro de uma região de interesse em três dimensões (3D)¹⁰⁷ e o delineamento dos contornos de uma estrutura durante o exame, estimando o volume e a média volumétrica da ecogenicidade de todo o tecido e não apenas de um corte transversal ou longitudinal da área selecionada¹⁰⁸. Tais aprimoramentos permitirão que a região selecionada pelo examinador seja representativa da média real da ecogenicidade de toda a estrutura, proporcionando coeficientes de concordância elevadíssimos, tanto intra como interobservadores, aumentando ainda mais a sensibilidade e especificidade da ecogenicidade do ultrassom.

3.4.3 Avaliação da vascularização do parênquima da tireoide por meio do estudo com o US-Doppler colorido de amplitude em pacientes com TCA

O aumento da vascularização do parênquima tireóideo constatado tanto no US-Doppler colorido como no US-Doppler colorido de amplitude estava, formalmente, associado apenas à doença de Graves¹⁰⁹. Mas a

hipervascularização é frequente, também, nos pacientes com hipotireoidismo induzido por TCA¹⁰⁹.

Vitti et al.¹⁰⁰ estudaram 37 pacientes com doença de Graves e 45 com TCA. Quando o modo-B confirmava redução de ecogenicidade do parênquima, os autores demonstraram que a diferenciação entre a TCA e a doença de Graves poderia ser realizada pelo US-Doppler colorido e pulsado. O padrão de vascularização do tipo III (marcado e difuso aumento da vascularização) foi encontrado somente nos pacientes com doença de Graves. Não houve correlação entre o padrão de vascularização e os pacientes com hipotireoidismo tratados e os não tratados. A velocidade de pico sistólico nas artérias tireóideas inferiores foi maior naqueles com doença de Graves. Porém, enquanto os pacientes com doença de Graves foram examinados em hipertireoidismo, antes do tratamento, apenas 23% daqueles com hipotireoidismo causado por TCA estavam sem terapia quando avaliados. Mesmo assim, em 51% deles houve aumento da vascularização (padrões I e II). A conclusão de que a presença do padrão III de vascularização é patognomônica da doença de Graves foi contestada posteriormente¹⁰⁹.

Schulz et al.¹⁰⁹ utilizaram o US-Doppler colorido para estudar uma amostra de 89 pacientes com hipotireoidismo (clínico ou subclínico) decorrente de TCA, da qual 66 deles estavam sob tratamento com levotiroxina e 23 sem tratamento. Em todos havia concentrações séricas indetectáveis de anticorpos estimuladores dos receptores de tireotropina (TRAb).

Observou-se que 56/89 (63%) tinham padrão do tipo 0 (normal) de vascularização, enquanto 33/89 (37%) deles apresentaram vascularização aumentada. Destes 33, 16 exibiram padrão I (vascularização discretamente aumentada), 11, padrão II (evidente aumento da vascularização com distribuições difusa e homogênea) e seis, padrão III (marcado aumento da vascularização de distribuição difusa e homogênea, incluindo o chamado “inferno tireóideo”). Pelos resultados, percebeu-se que havia hipervascularização em pacientes com hipotireoidismo não tratados, demonstrando que o padrão de vascularização não é dependente dos níveis de hormônios tireóideos no soro¹⁰⁹.

Até mesmo em uma amostra de 20 pacientes com hipotireoidismo subclínico foi encontrada hipervascularização em todos eles, inclusive o aspecto chamado de “inferno tireóideo”¹¹⁰.

Ishay et al.¹¹¹ constataram que já existe um aumento significativo de vascularização do parênquima tireóideo mesmo nos pacientes com disfunção subclínica, isto é, hipotireoidismo e hipertireoidismo subclínicos, quando comparado aos indivíduos sem doença tireóidea. Nestes não foi encontrada correlação entre o TSH e os hormônios tireóideos com o padrão de vascularização, corroborando a hipótese de que a vascularização da tireoide é mediada pela intensidade do processo autoimune. Assim, embora esses estudos tenham variado quanto ao desenho e à população estudada, todos eles tornaram claro que o padrão de hipervascularização, antes atribuído apenas à doença de Graves, pode também estar presente em pacientes com hipotireoidismo originado por TCA.

Tais estudos sugerem que a hipervascularização não é o resultado do aumento da produção dos hormônios tireóideos ou do TSH, mas sim da atividade do processo autoimune na glândula^{109,111,112}. O aumento da vascularização da tireoide induzida pela atividade autoimune poderia ser explicado, ao menos em parte, pelo aumento dos níveis séricos da quimiocina CXCL-10, que é estimulada pela citocina interferon- γ (IFN- γ), a qual está envolvida no recrutamento de linfócitos Th1. Foi descrita concentração sérica de CXCL-10 significativamente mais alta nos pacientes com aumento da vascularização da tireoide¹¹².

Reportou-se, também, que fatores angiogênicos – como o de crescimento de fibroblasto, de crescimento placentário e o de crescimento vascular endotelial – são produzidos pelas células da tireoide¹¹³. Altos níveis séricos de fator de crescimento vascular endotelial foram descritos em pacientes com TCA e doença de Graves não tratados, bem como uma correlação direta entre seus níveis e as áreas intratireóideas vascularizadas. Isso sugere que tais fatores podem contribuir para a angiogênese do parênquima da glândula¹¹³.

A indução da CXCL-10 pelo fator de crescimento vascular endotelial nas células endoteliais foi também relatada¹¹⁴. É possível que o fator de crescimento vascular endotelial estimule o aumento das concentrações de CXCL-10 nas doenças autoimunes da tireoide. Essa hipótese poderia explicar a correlação entre o aumento da vascularização do parênquima da tireoide com altos níveis de CXCL-10.

Segundo Antonelli et al.¹¹⁵, a presença de níveis séricos de CXCL-10 são maiores em pacientes com TCA do que em indivíduos saudáveis. Os pacientes com TCA hipotireóideos exibiram níveis estatisticamente mais altos de CXCL-10 do que os eutireóideos. Todavia, não houve redução estatisticamente significativa após a correção do hipotireoidismo pela administração de levotiroxina. Tal resultado sugere que os altos níveis de CXCL-10 estão associados à intensidade do processo autoimune e não ao hipotireoidismo^{115,116}.

De fato, Corona et al.¹¹² confirmaram a independência entre a vascularização do parênquima e a função tireóidea pela inexistência de correlação entre tais variáveis.

Dessa maneira, tais pesquisas estabelecem que os pacientes com hipotireoidismo decorrente de TCA, frequentemente, apresentam hipervascularização do parênquima da tireoide (inclusive o padrão do tipo III e o “inferno tireóideo”), a qual não tem correlação com as concentrações séricas de TSH e dos hormônios tireóideos.

3.4.4 Avaliação da velocidade de pico sistólico e do índice de resistividade nas artérias tireóideas superiores e inferiores pelo US-Doppler pulsado em pacientes com TCA

Há relativa escassez de dados sobre a avaliação dos parâmetros do US-Doppler pulsado nos pacientes com TCA.

A determinação da velocidade de pico sistólico das artérias tireóideas inferiores de pacientes com TCA e doença de Graves revelou que a média para estes últimos (186 cm/s) foi, significativamente, maior do que a encontrada nos pacientes com TCA (55 cm/s)¹⁰¹. A hipótese de que a velocidade de pico sistólico nas artérias tireóideas inferiores é o parâmetro mais útil para o diagnóstico diferencial entre TCA e doença de Graves foi corroborada por um estudo posterior¹¹². Nesta publicação, a média da velocidade de pico sistólico máximo das artérias tireóideas inferiores foi, significativamente, maior nos pacientes com doença de Graves (76,5 cm/s), quando comparados aos pacientes com hipotireoidismo induzido por TCA (25 cm/s) e aos do grupo controle (17 cm/s)¹¹².

No estudo de Schulz et al.¹⁰⁹, a média da velocidade de pico sistólico encontrada no padrão 0 foi de 22 cm/s, no I, de 39 cm/s, no II, de 58 cm/s e no III, de 68 cm/s. Os autores confirmaram que o aumento da velocidade do fluxo sanguíneo nas artérias tireóideas não ocorre apenas na doença de Graves. Os pacientes com hipotireoidismo causado por TCA (tratados e não tratados) manifestaram aumento da velocidade de pico sistólico. Assim, pode-se inferir que o aumento da velocidade de pico sistólico nas artérias tireóideas não está associado à elevação de hormônios tireóideos.

Ishay et al.¹¹¹ relataram já existir aumento da velocidade de pico sistólico nas artérias tireóideas inferiores, até mesmo na disfunção subclínica da tireoide, independente das concentrações séricas de TSH e dos hormônios tireóideos.

Em síntese, tanto a presença de hipervascularização difusa do parênquima quanto do aumento da velocidade de pico sistólico das artérias tireóideas avaliados pelo US-Doppler colorido e pulsado não podem ser atribuídos exclusivamente à doença de Graves, já que tais fenômenos podem ser encontrados nos portadores de hipotireoidismo decorrente de TCA¹⁰⁹. Os resultados das publicações supracitadas^{109,111,112} indicam que a intensidade de sinais coloridos e a velocidade do fluxo sanguíneo são, provavelmente, resultado da atividade do processo autoimune, pelo menos em parte associada à ação das citocinas.

4 MÉTODOS

4.2	Tamanho da amostra	62
4.3	Randomização e implementação do estudo	62
4.4	A intervenção do estudo	65
4.4.1	Equipamento	65
4.4.2	Demarcação da tireoide	66
4.4.3	Aplicação da intervenção	70
4.5	Estudo ultrassonográfico	72
4.5.1	Equipamentos	73
4.5.2	Técnica de exame	73
4.5.3	Documentação do exame	74
4.5.4	Modo-B (Brilho)	74
4.5.5	US-Doppler colorido de amplitude	77
4.5.6	US-Doppler pulsado	80
4.6	Mensurações laboratoriais	82
4.7	Mensurações antropométricas	85
4.8	Ética	86
4.9	Análise estatística	86
4.9.1	Tipos de análise	86
4.9.2	Modelos estatísticos	87
4.9.3	Programas utilizados para a análise estatística	88

Trata-se de ensaio clínico randomizado placebo-controlado conduzido no Instituto de Radiologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) de março de 2006 a março de 2009.

4.1 Casuística

A seleção de pacientes foi realizada no Ambulatório de Tireoide da Disciplina de Endocrinologia e Metabologia do HCFMUSP, abrangendo o período de março de 2006 a janeiro de 2008. Durante o atendimento rotineiro do ambulatório, foram selecionados 108 pacientes com hipotireoidismo estabelecido, causado por TCA e com maior probabilidade de elegibilidade. Tais pacientes estavam sob tratamento de levotiroxina com doses de, no mínimo, 50 µg/dia. Eles foram submetidos à investigação minuciosa com o intuito de encontrar aqueles que possuíam todos os critérios de elegibilidade preestabelecidos. A maior parte deles foi excluída por não preencher os critérios de inclusão e/ou apresentar um ou mais critérios de exclusão (n = 47). Parte o foi por falta de disponibilidade de tempo ou de transporte para comparecer ao HCFMUSP nos dias das intervenções e das visitas previamente programadas (n = 14). Quatro recusaram-se a participar e 43 foram incluídos e randomizados nos grupos L (LILT) ou P (placebo).

4.1.1 Ambiente e localização

Todos os pacientes residiam na cidade de São Paulo – SP (Brasil) e foram recrutados em uma única instituição localizada neste município, o Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, uma região onde há ingestão excessiva de iodo na alimentação⁴¹.

4.1.2 Critérios de elegibilidade

Inclusão

Foram candidatos à inclusão todos pacientes de ambos os sexos, entre 20 e 60 anos, com hipotireoidismo causado por TCA em tratamento com levotiroxina, mostrando concentrações séricas normais (ou quase normais) de T_3 , T_4 , T_4 livre e TSH. Os critérios utilizados para o diagnóstico de TCA foram altas concentrações séricas de TPOAb e/ou TgAb (> 100 U/mL), hipotireoidismo clínico e laboratorial sob reposição de hormônio tireóideo (levotiroxina) e padrão ultrassonográfico compatível com a doença^{2,12}.

Exclusão

Não foram incluídos neste estudo os pacientes que apresentavam as seguintes condições:

- Terapia com drogas imunossupressoras, imunoestimulantes e as que interferem na produção, metabolismo e transporte dos hormônios tireóideos (corticosteroides, lítio, amiodarona, interferon α , etc.).
- TCA com função tireóidea normal.
- TCA com hipotireoidismo subclínico.
- Nódulos tireóideos.
- Bócio mergulhante.
- Hipotireoidismo decorrente de tireoidite pós-parto (até 18 meses após a gestação).
- História de doença de Graves.
- Anticorpos antirreceptor de tireotropina (TRAb) detectáveis.
- Tratamento prévio com radioiodo.
- Estenose traqueal.
- Gestação.
- História de irradiação ionizante e/ou neoplasia na região cervical.
- Intervenção cirúrgica prévia da tireoide.
- Hipoplasia da tireoide.
- Tireoide ectópica.
- Doenças suscetíveis de consequências sérias (câncer, cardiopatias, acidente vascular cerebral, insuficiências renal e hepática etc.).

4.2 Tamanho da amostra

Foi baseada nos dados do estudo-piloto⁸⁸. Ao considerar a melhora da função tireóidea por meio de uma diferença da dose média de levotiroxina de 50 µg/dia entre os grupos, erro alfa de 5%, poder do teste de 80%, para um desvio-padrão de 45 µg/dia, estimou-se a necessidade de 40 pacientes randomizados em grupo LILT e placebo por meio do programa *PS - Power and Sample Size Calculation™*, *Biostat® USA*, release 2.1.31.

4.3 Randomização e implementação do estudo

A randomização, as intervenções terapêuticas (LILT ou placebo) e o seguimento dos pacientes foram realizados na Central Médica de Laser do Instituto do Coração – HCFMUSP.

A randomização foi realizada mediante um programa de computador gerador de números aleatórios (randomização simples) e os pacientes foram designados individualmente para a LILT ou placebo. A lista gerada foi obtida por um estatístico e continha os códigos para 60 intervenções. Foram utilizados 60 envelopes opacos lacrados e numerados de 1 a 60, que continham em seu interior o código do grupo para o qual cada paciente seria alocado. Os envelopes foram abertos pelo investigador principal responsável pelas intervenções (D.B. Höfling) após a inclusão de cada um dos pacientes, no momento da primeira aplicação da terapia, de maneira que ele

desconhecia o grupo para o qual cada paciente seria designado (sigilo de alocação). Somente após a alocação de cada um deles para um dos grupos é que o investigador responsável pelas intervenções apresentou perda do mascaramento, uma vez que era necessário ajustar o equipamento na função LILT ou placebo.

Assim sendo, exceto o executante da intervenção e o estatístico, todos os pacientes e pessoal envolvido nas mensurações laboratoriais e antropométricas, assim como o investigador responsável pela execução do mapeamento dúplex-Doppler colorido estavam mascarados para o tipo de tratamento durante todo o período de realização do estudo. A randomização da amostra designou 23 pacientes para o grupo L e 20 para o P (Tabela 1).

Tabela 1 – Características clínicas e demográficas basais dos grupos do ensaio clínico

Características	Grupo L (n=23)	Grupo P (n=20)	Valor de P
Média de idade $\pm$ desvio-padrão (anos)	44,26 $\pm$ 9,76	42,1 $\pm$ 11,56	0,51
Sexo	22 mulheres 1 homem	20 mulheres	
Média de duração da doença $\pm$ desvio-padrão (anos)	4,61 $\pm$ 3,38	4,52 $\pm$ 3,47	0,94
Massa corpórea (kg)	72 $\pm$ 6,2	72,7 $\pm$ 8,52	0,74
Média do índice de massa corpórea $\pm$ desvio-padrão (kg/m ²)	29,26 $\pm$ 6,01	28,94 $\pm$ 6,29	0,87
Doenças coexistentes, n (%)			
Hipertensão essencial	4 (17,39%)	4 (20%)	0,83
<i>Diabetes melito</i> (tipo 2)	1 (4,38%)	1 (5%)	0,92
Dislipidemia	5 (21,74%)	4 (20%)	0,89
Obesidade	8 (34,78%)	7 (35%)	0,99
Refluxo gastroesofágico	1 (4,38%)	1 (5%)	0,92

Os pacientes foram orientados a manter a terapia com levotiroxina durante todo o período de intervenção, que somente foi descontinuada após a realização do segundo estudo ultrassonográfico, 30 dias após a última aplicação da intervenção. Antes da suspensão da levotiroxina, foi entregue a todos os pacientes incluídos no estudo uma lista contendo os principais sintomas de hipotireoidismo (Anexo A).

Após a descontinuação da levotiroxina, iniciou-se o período de seguimento (nove meses), ao longo do qual os pacientes foram orientados a observar a ocorrência de tais sintomas. Caso os apresentassem, deveriam entrar em contato imediato com o pesquisador principal, independentemente da data das visitas programadas.

Durante o período de seguimento, eles foram submetidos à avaliação clínica em visitas realizadas a cada 15 dias nos dois primeiros meses. Do terceiro ao nono mês, as visitas sucederam-se a cada 30 dias. Foram utilizados formulários (Anexo B) para a coleta de todos os dados, desde o momento de seleção até o final do seguimento. Quando apresentaram sintomas e/ou sinais de hipotireoidismo, foram solicitadas mensurações de T_3 , T_4 , T_4 livre e TSH para confirmação dessa condição, mesmo que fora dos momentos de mensuração programados para a pesquisa.

A levotiroxina permaneceu suspensa nos pacientes com eutireoidismo laboratorial. Aqueles com hipotireoidismo subclínico (TSH entre 4,5 e 10 μ U/mL e T_4 livre normal) foram sempre mantidos sem levotiroxina, no

mínimo, até 60 dias de seguimento. A levotiroxina foi reintroduzida 30 dias após a sua descontinuação apenas para os que apresentaram hipotireoidismo laboratorial com $TSH \geq 50 \mu U/ml$. Aqueles que exibiram hipotireoidismo laboratorial com $TSH < 50 \mu U/mL$ permaneceram sem levotiroxina até os 60 dias de seguimento para nova avaliação.

4.4 A intervenção do estudo

Os 43 pacientes incluídos foram randomizados para receber tanto a LILT (grupo L) quanto o placebo (grupo P)

4.4.1 Equipamento

Foi utilizado um equipamento de Laser de diodo (AsGaAL – arseneto de gálio-alumínio), que emite ondas contínuas com comprimento de 830 nm (infravermelho) e área do feixe de $0,002827 \text{ cm}^2$ (Thera Lase™, DMC®, São Carlos–SP, Brasil; Figura 11). Tal comprimento de onda é invisível ao olho humano e, dessa forma, o equipamento emite uma luz guia ordinária (não Laser) de cor vermelha para que se possa ver a localização de contato do feixe com os tecidos.

Figura 11 – À esquerda, o equipamento Thera Lase™, DMC® e à direita, a emissão do Laser vermelho no dedo indicador do pesquisador, onde nota-se o intenso espalhamento da luz.

4.4.2 Demarcação da tireoide

Utilizou-se a ultrassonografia para possibilitar a demarcação dos contornos da tireoide sobre a pele com uma caneta para marcação dermográfica da marca Texta® modelo *fineline* – 700, permanente, de cor preta ou azul. A delimitação foi realizada com o paciente sentado e o pescoço em hiperextensão, de tal modo que a cabeça fizesse um ângulo de aproximadamente 45° em relação ao tronco. Demarcaram-se, também, a proeminência da cartilagem tireóidea e a incisura jugular do osso externo (Figura 12). Tais limites foram definidos com a finalidade de preparar um molde (máscara) para a aplicação das intervenções, conforme se demonstra a seguir.

Figura 12 – A demarcação dos limites da glândula tireoide diretamente sobre a pele do paciente com o auxílio da ultrassonografia. Foram demarcadas, também, a incisura jugular do osso esterno e a proeminência da cartilagem tireóidea.

As demarcações de cada paciente foram copiadas em $\frac{1}{4}$ de uma folha de papel vegetal profissional, liso, tamanho A4 da marca Acervo[®] (São Paulo–SP, Brasil), que foi posicionado sobre a região exibida na Figura 12. Utilizou-se a mesma caneta para a execução desta cópia (Figura 13). Em seguida, foi sobreposto $\frac{1}{4}$ de uma folha de papel vegetal profissional, milimetrado, tamanho A4 da marca Acervo[®] (São Paulo-SP, Brasil) ao papel liso, tornando-se simples realizar a cópia das demarcações por transparência. Padronizou-se o posicionamento dos limites extremos do lobo direito da tireoide sobre as linhas mais espessas do papel milimetrado, correspondente aos centímetros (Figura 14).

Figura 13 – A cópia da demarcação dos limites da tireoide, da incisura jugular do osso esterno e da proeminência da cartilagem tireóidea em papel vegetal profissional liso. Por transparência, esse modelo foi reproduzido em papel vegetal milimetrado, que pode ser observado na Figura 14.

Figura 14 – Demarcação dos limites da tireoide reproduzida em papel vegetal profissional milimetrado, contendo em seu interior os pontos de contato da ponteira do equipamento. A partir desse modelo, foi elaborado o molde em papel *con-tact*[™], que pode ser observado na Figura 16.

Assim, não houve dificuldade para a demarcação dos pontos no interior dos contornos da glândula, com 1 cm de distância entre eles, onde seria posicionada a ponteira do equipamento de Laser. Com base nas demarcações no papel milimetrado, foi elaborado um molde em um recorte de papel *con-tact*TM transparente da marca Vulcan Material Plástico Ltda.[®] (Rio de Janeiro–RJ, Brasil). Tal molde continha todas as demarcações citadas (Figura 16). Nos pontos localizados no interior da imagem da tireoide, foram realizadas perfurações com diâmetro de 3 mm com auxílio de um instrumento odontológico, o alicate *ainsworth*TM, da marca Golgran Indústria e Comércio de Instrumental Odontológico Ltda.[®] (São Caetano do Sul, São Paulo, Brasil). Os orifícios no papel *con-tact*TM permitiram o contato da ponteira do equipamento diretamente com a pele (Figura 15).

Figura 15 – Molde elaborado em papel *con-tact*TM fixado no local exato da projeção da glândula tireoide. Nota-se a demarcação da incisura jugular do osso esterno e da proeminência da cartilagem tireóidea posicionados em seus locais de origem. As perfurações no interior dos limites da glândula apresentam distância de um centímetro entre elas e ocupam toda a extensão da tireoide.

Como a proeminência da cartilagem tireóidea e a incisura jugular do osso esterno são fáceis de identificar, suas demarcações possibilitaram a fixação do molde de adesivo plástico no local exato da tireoide de cada paciente, tornando esse procedimento simples e reproduzível. Esse procedimento permitiu que a luz Laser fosse distribuída de maneira similar dentro dos limites da glândula.

4.4.3 Aplicação da intervenção

No grupo L, as intervenções foram realizadas pelo método pontual (com a ponteira do equipamento posicionada perpendicularmente à pele), modo de emissão contínuo, potência radiante de 50 mW e fluência de 707 J/cm² (40 segundos em cada ponto de aplicação). Essa técnica garantiu que a quantidade média de energia empregada em cada ponto de aplicação fosse homogênea, isto é, 2 J/cm².

O grupo placebo foi tratado pelo mesmo método e aparelho, o qual disponibiliza uma função placebo que emite apenas uma luz ordinária (não Laser) e de cor vermelha, idêntica à luz guia emitida na realização do Laser infravermelho. Por conseguinte, as luzes visíveis emitidas eram indistinguíveis, tornando a intervenção cega para os pacientes.

Ambos os grupos foram submetidos a 10 aplicações de LILT ou de placebo sobre a pele, na projeção da tireoide. Cada uma delas foi definida pela execução da LILT ou placebo em todos os pontos demarcados no

interior da tireoide (Figura 15). A frequência das aplicações foi de duas vezes por semana, invariavelmente, na terça-feira e na quinta-feira. A duração da intervenção em cada paciente durou, no total, cinco semanas.

O equipamento de Laser foi calibrado antes de cada procedimento. A potência de saída do feixe de Laser foi aferida, antes e durante o estudo (cada seis meses) por um *power meter* óptico da marca OphirTM, modelo 1918-C (Newport Corporation®, CA, USA). As aplicações foram realizadas com o paciente sentado, de modo que o tronco permanecesse em ângulo de 90° em relação às coxas.

A posição da cabeça foi similar àquela utilizada para a demarcação de tireoide com o auxílio da ultrassonografia, ou seja, o pescoço em hiperextensão, com a cabeça formando um ângulo de aproximadamente 45° em relação ao tronco (Figura 16). Durante a execução das intervenções o pesquisador e os pacientes usaram os óculos de proteção específicos para o Laser infravermelho (Figura 16).

Todos os procedimentos e o seguimento dos pacientes foram feitos por um único pesquisador (D.B. Höfling) na Central Médica de Laser do Instituto do Coração – HCFMUSP. Avaliaram-se a presença de efeitos adversos e a utilização de drogas durante as intervenções e todo o período de seguimento.

Figura 16 – Ilustração da posição do paciente durante a execução das intervenções. Nota-se que a hiperextensão do pescoço é realizada e a cabeça faz um ângulo de aproximadamente 45° com o tronco.

4.5 Estudo ultrassonográfico

Foi documentado pré e 30 dias pós-intervenção, durante a utilização das mesmas doses de levotiroxina, por um único investigador, experiente e cego para o tipo de intervenção (A.G. Juliano) e acompanhado pelo investigador principal, que tomou nota de todos os resultados na ficha de avaliação do mapeamento dúplex-Doppler colorido (Anexo C). As variáveis subjetivas de todos os exames foram avaliadas e comparadas por um

investigador experiente e cego para o tipo de intervenção (M.C. Chammas) no Instituto de Radiologia do HCFMUSP.

4.5.1 Equipamentos

O modo-B da ultrassonografia e a análise pelo histograma computadorizado de escala de cinzas foram realizados sempre no equipamento modelo Voluson 730 PRO™, da marca General Electric® (Milwaukee, Wiscosin, USA), munido de uma sonda linear multifrequencial de 7-12 MHz, pois era o único que disponibilizava o programa (*Vocal*®) para a análise do histograma. O equipamento modelo HDI-5000™, da marca ATL/Philips® (Bothell, Washington, USA), com a utilização de uma sonda linear multifrequencial de 5-12 MHz, foi escolhido para executar o US-Doppler colorido de amplitude e o pulsado de todos os pacientes por possuir sensibilidade elevada na realização de tais análises.

4.5.2 Técnica de exame

A ultrassonografia da tireoide de cada um dos pacientes incluídos nesta pesquisa foi realizada na seguinte sequência:

- US modo-B, com a análise do histograma computadorizado.
- US-Doppler colorido de amplitude.
- US-Doppler pulsado.

A realização do exame foi padronizada da seguinte forma: paciente em decúbito dorsal com um coxim sob os ombros e o pescoço em hiperextensão de aproximadamente 45°. Os equipamentos foram pré-ajustados para ultrassonografia de tireoide. O transdutor do HDI-5000™ foi levemente apoiado sobre a pele, sem pressioná-la, para não interferir na avaliação da vascularização do parênquima tireóideo, subestimando-a devido à compressão dos vasos sanguíneos.

4.5.3 Documentação do exame

As imagens foram documentadas por meio digital e gravadas em discos ópticos ou em dispositivo de armazenamento de memória USB *flash drive* no formato *Joint Photographic Experts Group* – JPEG (.jpeg).

4.5.4 Modo-B (Brilho)

A. O volume da tireoide foi estimado segundo o método proposto por Brunn et al.¹¹⁷. Assim, foram obtidas as medidas máximas dos eixos longitudinal (L), anteroposterior (AP) e transversal (T) de ambos os lobos e do istmo. O valor do volume (V) de cada lobo e do istmo foi obtido pela multiplicação das medidas dos três eixos de cada um deles pelo coeficiente de correção da elipse: $V = L \times AP \times T \times \pi/6$. O volume total da glândula foi calculado pela

soma de ambos os lobos e do istmo. Foram adotados os valores de referência de 6 a 16 cm³ para o volume total da tireoide¹¹⁸.

B. A textura da glândula foi classificada em homogênea ou difusamente heterogênea, uma vez que os pacientes com nódulos foram excluídos (Figura 17).

Figura 17 – Imagens do corte longitudinal da tireoide em modo-B. Na imagem A, observa-se o parênquima tireóideo normal com a textura sólida e homogênea. Já na imagem B, notam-se a irregularidade dos limites da glândula e o parênquima com a textura difusamente heterogênea compatível com TCA.

C. A ecogenicidade do parênquima tireóideo foi avaliada pelo histograma computadorizado de escala de cinzas em cada ROI^{36-38,119}. Os valores da escala nas cores cinzas variam entre 0 e 255, equivalendo o valor 0 à cor preta e o 255 à branca. Foram obtidas as médias dos valores do histograma computadorizado realizado nos terços superiores, médios e inferiores no corte longitudinal de ambos os lobos tireóideos (Figura 18), bem como do músculo esternocleidomastóideo esquerdo e da musculatura pré-tireóidea esquerda (Figura 18).

Figura 18 – As imagens do histograma computadorizado de escala de cinzas da tireoide exibem o método de avaliação da tireoide e dos músculos adjacentes. Na imagem A (corte transversal), notam-se o músculo esternocleidomastóideo (ROI 1), os músculos pré-tireóideos (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 dos respectivos ROIs. Na imagem 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.

A média aritmética dos valores do histograma computadorizado obtida nos terços superiores, médios e inferiores de ambos os lobos tireóideos foi utilizada como variável representativa da tireoide, enquanto se definiu a média aritmética obtida nos músculos esternocleidomastóideo e pré-tireóideos esquerdos como variável representativa dos músculos adjacentes. O istmo não foi estudado 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)³⁹.

4.5.5 US-Doppler colorido de amplitude

A vascularização do parênquima tireóideo foi estudada pelo US-Doppler colorido de amplitude. Solicitaram-se aos pacientes a realização de uma breve apneia e a suspensão momentânea da deglutição de saliva, com o objetivo de reduzir os artefatos de movimento.

Para a realização dessa análise, foi acionado o modo para o exame de tireoide do equipamento, com os ajustes que se seguem:

- PRF entre 700 e 1.000 Hz.
- *Map 1.*
- *WF Med.*
- *Flow Opt Med V.*

O transdutor foi posicionado no sentido longitudinal, com seu centro na projeção do terço médio dos lobos tireóideos. A vascularização do istmo não foi avaliada. O ganho *color* foi ajustado para o maior nível possível não associado a artefatos de saturação da imagem (ganho *color* em torno de 80). Todas as imagens bidimensionais foram gravadas no momento de maior fluxo visível, que correspondia à velocidade de pico sistólico do fluxo sanguíneo. A avaliação das imagens foi realizada subjetivamente, utilizando-se uma classificação modificada daquela proposta por Macedo et al.¹²⁰ (Figura 19). Assim, a vascularização foi classificada em quatro padrões:

- Padrão I — reduzida: a vascularização está limitada às artérias principais periféricas que possuem sinais diminuídos, enquanto no parênquima não existe sinal de fluxo ou há raros pontos com sinais reduzidos.
- Padrão II — normal: a vascularização está limitada às artérias tireóideas principais periféricas com sinais habituais, enquanto no parênquima não existe sinal de fluxo ou há apenas sinal de pontos focais de vascularização com distribuição esparsa ou, ainda, no interior de nódulos.
- Padrão III — aumentado: evidente aumento da vascularização com distribuição esparsa.
- Padrão IV — muito aumentado: aumento acentuado da vascularização com distribuições difusa e homogênea, incluindo o chamado “inferno tireóideo”¹²¹ (Figura 19).

Para cada um dos padrões (I, II, III e IV), foram, respectivamente, atribuídos os valores 0, 1, 2 e 3, para possibilitar a execução da análise estatística do US-Doppler colorido de amplitude. Para a análise de dados categóricos, foram utilizadas as proporções de lobos tireóideos com vascularização normal e anormal nos grupos L e P, 30 dias pós-intervenção. Para a análise numérica, foram comparadas as médias dos valores atribuídos à vascularização dos lobos tireóideos avaliados nos grupos L e P.

Figura 19 – US-Doppler colorido de amplitude e os exemplos dos padrões de vascularização do parênquima tireóideo, segundo a classificação modificada de Macedo et al.¹²⁰. Padrão I – A vascularização está 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 tireóideas principais periféricas com sinais habituais, enquanto no parênquima não há sinal de fluxo ou existe apenas sinal de pontos focais de vascularização com distribuição esparsa ou, ainda, no interior de nódulos. Padrão III – Evidente aumento da vascularização com distribuição esparsa. Padrão IV – Aumento acentuado da vascularização com distribuições difusa e homogênea, incluindo o chamado “inferno tireóideo”¹²¹.

4.5.6 US-Doppler pulsado

Os ajustes do equipamento para a execução do US-Doppler pulsado foram os mesmos do mapeamento Doppler colorido de amplitude, acrescentando-se o valor do volume da amostra ajustado para dois milímetros.

O valor de PRF foi ajustado em função da velocidade do fluxo sanguíneo e com a finalidade de obter as condições mais favoráveis para a representação gráfica da imagem.

São quatro artérias tireóideas, duas superiores e duas inferiores. A análise das artérias tireóideas superiores foi realizada com o transdutor posicionado no plano sagital oblíquo, próximo às suas regiões de penetração nos polos superiores da glândula, antes de atravessar a cápsula tireóidea (Figura 20-A).

As artérias tireóideas inferiores foram avaliadas com o transdutor no plano transversal oblíquo, antes de atravessar a cápsula da glândula em sua face posterior na transição entre os terços inferior e médio da tireoide. O transdutor foi colocado próximo à traqueia, para evitar os artefatos originados nas artérias carótidas comuns e nas veias jugulares internas (Figura 20-B).

Após a identificação das artérias, foram determinados os valores da velocidade de pico sistólico máximo e do índice de resistividade (IR) das artérias tireóideas superiores e inferiores (Figura 21).

Figura 20 – Ilustração da posição do paciente sobre a maca. Observa-se, também, o posicionamento do transdutor no plano sagital oblíquo e no transversal oblíquo para a avaliação da velocidade de pico sistólico e do índice de resistividade nas artérias tireóideas superiores (A) e inferiores (B), respectivamente.

Figura 21 – Imagens do US-Doppler colorido de amplitude do lobo direito (A) e do US-Doppler pulsado da artéria tireóidea superior direita (B). US-Doppler colorido de amplitude do lobo esquerdo (C) e do US-Doppler pulsado da artéria tireóidea inferior esquerda (D) de um paciente com TCA.

A média aritmética da velocidade de pico sistólico das artérias tireóideas superiores (valores de referência de 17,08 a 34,6 cm/s)¹¹⁹ e a das inferiores (valores de referência de 13,78 a 29,22 cm/s)¹¹⁹ foram utilizadas como variáveis representativas para cada um dos pacientes. A verificação das velocidades foi sempre realizada com o ângulo Doppler igual ou inferior a 60°.

4.6 Mensurações laboratoriais

Os valores de referência, sensibilidade analítica, coeficientes de variação intraensaio e coeficientes de variação interensaio para as variáveis laboratoriais determinadas na pesquisa são apresentados no Quadro 3.

As concentrações séricas de TSH, T₃, T₄, T₄ livre, TPOAb e TgAb foram mensuradas por meio dos AutoDELFIA kits® (PerkinElmer® Wallac Oy, Turku, Finland) previamente à intervenção e no 1º, 2º, 3º, 6º e 9º meses após o momento da suspensão da levotiroxina (período de seguimento; Figura 22). Quando as concentrações séricas dos hormônios e anticorpos antitireoide estavam abaixo ou acima do limite de detecção, adotaram-se os respectivos valores mínimos e máximos como representativos para a análise estatística (Quadro 3).

Quadro 3 – Valores de referência, sensibilidade analítica, coeficientes de variação intraensaio e interensaio para as mensurações laboratoriais avaliadas no estudo

Mensurações laboratoriais	Valores de referência	Sensibilidade analítica	Coeficientes de variação intraensaio	Coeficientes de variação interensaio
T ₃ ¹	70–200 ng/mL	20 ng/dL	2,9%	1,2%
T ₄ ¹	4,5–12,0 µg/dL	0,39 µg/dL	2,7%	1,4%
T ₄ livre ¹	0,7–1,5 ng/dL	0,16 ng/dL	1,2%	3,7%
TSH ¹	0,4–4,5 µU/mL	0,01 µU/mL	2,8%	2,2%
TPOAb ¹	< 35 U/mL	1,0 U/mL	3,8%	4,8%
TgAb ¹	< 35 U/mL	1,0 U/mL	3,1%	8,8%
TRAb ¹	< 8,0%	8%	6,8%	9,6%
TGF-β1 ²	737-1593 pg/mL	0,1 pg/mL	1,9%	6,9%

¹ Os valores de T₃, T₄, T₄ livre, TSH, TPOAb, TgAb e TRAb foram fornecidos pela Unidade de Hormônios do Laboratório Central – HCFMUSP.

² Os valores de sensibilidade analítica TGF-β1 foram disponibilizados pelo Laboratório de Pleura do Instituto do Coração – HCFMUSP. Os valores de referência, variação intraensaio e interensaio da TGF-β1 foram fornecidos pelo fabricante.

Foi avaliado o anticorpo antirreceptor de tireotropina (TRAb) no soro (valor de referência: < 8%) pré-intervenção (Figura 22) por ensaio *radio-receptor* (RSR, Cardiff, UK).

As concentrações séricas de TGF- β 1 foram determinadas no soro pelo método *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) com o human TGF-beta1 kit® (R&D Systems, Inc.® Minneapolis, MN, USA). O intervalo de detecção é de 15,6 pg/mL a 2.000 pg/mL. Para as amostras com valores acima da faixa de detecção (> 2.000 pg/mL), foram realizadas diluições seriadas. Consideraram-se não detectáveis aquelas abaixo de 15,6 pg/ml. Neste caso, o valor 15,6 pg/mL foi utilizado como representativo para a análise estatística. As mensurações de TGF- β 1 realizaram-se pré e 30 dias pós-intervenção (Figura 22), momentos nos quais os pacientes estavam sob tratamento com levotiroxina. A levotiroxina foi descontinuada 30 dias após a última aplicação do Laser ou placebo, logo após o estudo ultrassonográfico pós-intervenção (Figura 22).

Figura 22 – Ilustração do desenho do estudo executado para os pacientes de ambos os grupos pré e pós-intervenção.

4.7 Mensurações antropométricas

Um único examinador independente e cego para o tipo de tratamento verificou a massa corpórea (kg) pré e pós-intervenção (no nono mês de seguimento). Utilizou-se uma balança do tipo mecânico, marca Filizola[®], modelo nº 31, de carga máxima de 150 kg, com divisões de 100 g. Todos os pacientes estavam descalçados e vestidos apenas com roupas leves.

A estatura foi verificada pelo mesmo examinador e nos mesmos momentos. Foi utilizado um estadiômetro, graduado em centímetros e milímetros, com barra de madeira vertical e fixa, com esquadro móvel para posicionamento sobre a cabeça do paciente. Durante as medidas, os pacientes estavam descalçados, com os calcanhares unidos e as plantas dos pés repousando totalmente na base horizontal do aparelho. A cabeça, o dorso, os glúteos e os tornozelos encontravam-se encostados à barra de madeira vertical do equipamento. A cabeça foi fixada por pressão bilateral (sentido superior) na região malar, exercida pela mão do examinador, de tal forma que o olhar do paciente ficasse dirigido para frente e a borda orbitária inferior e o meato auditivo formassem um ângulo de 90° com a barra vertical do estadiômetro.

A seguir, foi calculado o índice de massa corpórea (IMC) ou o índice de Quetelet, que é o resultado da razão entre a massa (em quilogramas) e a altura (em metros) elevada ao quadrado e é expresso em $\text{kg/m}^{2,122}$. Assim, a fórmula para o cálculo do IMC pode ser expressa da seguinte maneira: $\text{IMC} = \text{massa}/\text{estatura}^2$.

4.8 Ética

Este estudo e os termos de consentimento foram aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CAPPesq). Todos os pacientes incluídos nesta pesquisa assinaram, sem restrição alguma, o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo D), aprovado pelo Comitê suprarreferido.

4.9 Análise estatística

A análise estatística deste trabalho foi realizada por intenção de tratamento de acordo com o plano de análise preestabelecido.

4.9.1 Tipos de análise

De modo geral, para as variáveis numéricas, foram utilizados os cálculos paramétricos; para as variáveis de número pequeno de casos e para as categóricas ou nominais e proporções, foram usados os cálculos não paramétricos. Os dados foram analisados mediante um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$), de acordo com o padrão geral comum nas áreas médica e biológica. Desta forma, nos cálculos da probabilidade de erro (P) tomaram-se, como estatisticamente significantes, os valores $< 0,05$ (*) e, não significantes, $\geq 0,05$.

4.9.2 Modelos estatísticos

- Média aritmética, desvio-padrão, intervalo de confiança para 95%, mediana, valores mínimos e máximos dos dados.
- Cálculo de percentuais.
- Teste paramétrico do t não pareado e do t pareado (antes e depois).
- Teste não paramétrico, pareado, de Wilcoxon (antes e depois).
- Teste não paramétrico, da soma por postos, de Mann-Whitney.
- Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas.
- Coeficiente de correlação de Pearson.
- Coeficiente de correlação de classes de Spearman.
- Teste do qui-quadrado.
- Teste do qui-quadrado corrigido para continuidade segundo Yates.
- Teste exato de Fisher.
- Análise da diferença entre percentuais.
- Cálculo do poder da prova para o principal desfecho (ecogenicidade).
- Gráficos lineares.
- Gráficos baseados na correlação de Pearson.

As variáveis referentes às características clínicas e demográficas são expressas em média $\pm$ desvio-padrão. Na análise das variáveis do estudo ultrassonográfico (principal desfecho), da dose de levotiroxina e das concentrações séricas de anticorpos antitireoide (desfechos secundários), os

resultados são descritos como média $\pm$ intervalo de confiança de 95% (IC 95%). Para as variáveis com distribuição paramétrica, foi utilizado o teste t pareado e/ou o t não pareado e para aquelas não paramétricas empregou-se o teste de Wilcoxon e/ou de Mann-Whitney. Utilizou-se o método de Kolmogorov-Smirnov para testar a normalidade da distribuição da amostra. Para as variáveis “valor do padrão de vascularização e concentrações séricas de TGF- β 1”, nas quais a probabilidade de erro estava no limite de significância estatística, optou-se por utilizar o teste monocaudal, porquanto já se esperava que elas tendessem para apenas um sentido, com base nos resultados estudos prévios^{26,89}. Valores extremos não foram desprezados. Quando pertinente, foram realizados e descritos os resultados dos testes não pareados e dos pareados (antes e depois da intervenção em pacientes do mesmo grupo – intragrupo) para uma mesma variável.

4.9.3 Programas utilizados para a análise estatística

Os programas usados para a elaboração do banco de dados e a execução da análise estatística foram: *Microsoft Excel™* (Microsoft Corporation®, USA) release 2007; *Statistica for Windows™* (StatSoft Inc.®, Tulsa, Ok, USA) release 8.0, 2007; *Minitab®* (Minitab Inc.®, State College, PA, USA) release 14.2, 2005; *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS™)* release 16.0, 2007 (SPSS Inc., IBM Company Headquarters®,

Chicago, IL, USA). Os programas estatísticos citados são capazes de calcular os valores exatos da probabilidade de erro P.

5 RESULTADOS

4.2	Tamanho da amostra	62
4.3	Randomização e implementação do estudo	62
4.4	A intervenção do estudo	65
4.4.1	Equipamento	65
4.4.2	Demarcação da tireoide	66
4.4.3	Aplicação da intervenção	70
4.5	Estudo ultrassonográfico	72
4.5.1	Equipamentos	73
4.5.2	Técnica de exame	73
4.5.3	Documentação do exame	74
4.5.4	Modo-B (Brilho)	74
4.5.5	US-Doppler colorido de amplitude	77
4.5.6	US-Doppler pulsado	80
4.6	Mensurações laboratoriais	82
4.7	Mensurações antropométricas	85
4.8	Ética	86
4.9	Análise estatística	86
4.9.1	Tipos de análise	86
4.9.2	Modelos estatísticos	87
4.9.3	Programas utilizados para a análise estatística	88

Todos os pacientes alocados nos dois grupos submeteram-se às 10 aplicações de LILT ou placebo na data prevista. Eles foram seguidos durante nove meses após o momento da suspensão de levotiroxina, ou seja, não houve perda da amostra de forma que todos os pacientes randomizados foram submetidos à análise estatística final (Figura 23).

Figura 23 – O diagrama mostra o fluxo de pacientes em cada etapa do ensaio clínico. Nota-se que todos os pacientes randomizados foram incluídos na análise estatística final.

A randomização foi eficaz, já que no momento pré-intervenção não foi evidenciada diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos

para todas as variáveis avaliadas no estudo, exceto o sexo. Apenas um homem foi incluído no estudo (Tabela 1).

Os pacientes não utilizaram drogas capazes de interferir na produção, metabolismo e transporte dos hormônios tireóideos, drogas imunossupressoras ou imunoestimulantes durante o período de tratamento e seguimento do estudo.

5.1 Mapeamento dúplex-Doppler colorido da tireoide

5.1.1 Modo-B

A. Volume. No grupo L, o US pré-LILT mostrou que 16/23 (66,6%) dos pacientes apresentavam volume normal; 6/23 (26,1%) tinham bócio e 1/23 (4,35%) tinha volume reduzido. Houve normalização do volume em 4/6 dos pacientes com bócio (66,6%) e 1/1 (100%) paciente com volume reduzido pós-LILT. No grupo P, verificou-se que 12/20 (60%) apresentavam volume normal; 5/20 (25%) tinham bócio e 3/20 (15%), volume reduzido. Pós-placebo, de oito pacientes com volume alterado, observou-se normalização de um deles (12,5%), que apresentava volume reduzido. Todavia, dos outros 12 com volume tireóideo normal antes da intervenção, 3/12 (25%) exibiram volume fora dos valores de referência pós-placebo. Dos últimos, que possuíam volume normal pré-placebo, dois mostraram bócio e um volume abaixo do limite de referência (atrofia) 30 dias pós-tratamento com placebo.

A frequência de pacientes com volume normal no modo-B do mapeamento dúplex-Doppler colorido foi estatisticamente maior no grupo submetido ao tratamento com Laser do que naquele submetido ao placebo ($P = 0,005$; Tabela 2). Já a média do volume não mostrou diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos pré e pós-intervenção (Tabela 3).

Tabela 2 – Comparação das frequências observadas de volume normal e alterado pós-intervenção nos grupos L e P

Característica	Pós-Laser n (%)	Pós-placebo n (%)	Total n (%)	Valor de P
Volume normal	21 (48,8)	10 (23,3)	31 (72,1)	
Volume alterado	2 (4,7)	10 (23,3)	12 (27,9)	
Total	23 (53,5)	20 (46,5)	43 (100)	0,005*

*: $P < 0,05$.

B. Textura. Não se observou alteração da textura do parênquima tireóideo pré e pós-intervenção nos dois grupos, que se manteve heterogênea e sem evidência de nódulos.

C. Ecogenicidade. Na análise não pareada entre os grupos pós-intervenção, o valor médio do índice de ecogenicidade obtido pelo histograma computadorizado de escala de cinzas apresentou evidência estatisticamente significativa (poder do teste t não pareado = 0,93) de

aumento da ecogenicidade no grupo L (Gráfico 1; Tabela 3). Esse resultado foi corroborado pela constatação de aumento estatisticamente significativo da média do valor do histograma computadorizado da tireoide (corte longitudinal) pós-intervenção do grupo L em comparação à do grupo P (poder do teste t não pareado = 0,99).

Gráfico 1 – Comparação entre os valores do índice de ecogenicidade 30 dias pós-intervenção nos grupos L e P

A comparação entre o valor médio do histograma dos músculos pré-tireóideos não mostrou diferença estatisticamente significativa pós-intervenção entre os dois grupos (Tabela 3).

Tabela 3 – Sumário dos resultados da análise estatística não pareada

Desfechos	Pré-intervenção		Valor de P	Pós-intervenção		Valor de P
	Laser (n=23) Média (IC- de 95%)	Placebo (n=20) Média (IC de 95%)		Laser (n=23) Média (IC de 95%)	Placebo (n=20) Média (IC de 95%)	
Desfechos primários						
Histograma da tireoide	94,62 (90,44-98,80)	95,96 (91,00-100,92)	0,667	111,83 (106,94-116,73)	89,96 (84,68-95,24)	<0,001*
Índice de ecogenicidade	1,04 (0,94-1,15)	1,05 (0,96-1,13)	0,953	1,24 (1,13-1,35)	0,98 (0,91-1,05)	<0,001*
Histograma dos músculos adjacentes	96,65 (89,78-103,52)	96,95 (88,16-105,74)	0,955	96,72 (88,34-105,10)	96,25 61,37-101,13)	0,924
Volume tireóideo (cm³)	14,24 (10,01-18,47)	16,32 (5,24-27,39)	0,702	12,41 (9,31-15,52)	19,54 (2,04-37,04)	0,375
Vascularização tireóidea	2,00 (1,56-2,44)	1,75 (1,29-2,21)	0,790	1,87 (1,51-2,23)	2,30 (2,03-2,57)	0,033*
Velocidade de pico sistólico nas artérias tireóideas superiores (cm/s)	31,04 (26,12-35,96)	27,16 (22,79-31,53)	0,261	33,39 (27,33-39,45)	27,77 (23,61-31,93)	0,153
Velocidade de pico sistólico nas artérias tireóideas inferiores (cm/s)	28,34 (23,60-33,08)	27,31 (23,22-31,40)	0,738	34,47 (29,66-39,28)	26,12 (21,83-30,41)	0,016*
Índice de resistividade das artérias tireóideas superiores	0,57 (0,54-0,60)	0,60 (0,56-0,65)	0,218	0,59 (0,56-0,62)	0,60 (0,57-0,63)	0,633
Índice de resistividade das artérias tireóideas inferiores	0,56 (0,53-0,59)	0,58 (0,54-0,61)	0,423	0,57 (0,53-0,61)	0,59 (0,56-0,61)	0,351
Desfechos secundários						
Dose de LT ₄ (μ/dia)	93,48 (74,41-112,55)	90,00 (70,87-109,13)	0,791	38,59 (18,37-58,81)	106,88 (83,98-129,78)	<0,001*
TPOAb (U/mL)	1289,61 (807,46-1771,76)	1113,65 (549,83-1677,47)	0,623	656,26 (345,76-966,76)	1291,40 (744,39-1838,4)	0,043*
TgAb (U/mL)	720,00 (276,78-1163,22)	751,60 (248,64-1254,56)	0,923	349,65 (38,05-661,25)	719,90 (194,04-1245,76)	0,981
TGF-β1 (pg/mL)	2354,60 (1724,10-2985,10)	2641,46 (1940,40-3342,50)	0,635	3229,50 (2691,50-3767,50)	2513,06 (1921,90-3104,30)	0,035*

IC: intervalo de confiança; LT₄: levotiroxina; *: $P < 0,05$.

A Figura 24 ilustra o aumento dos valores do histograma computadorizado do parênquima tireóideo observado em um dos pacientes do grupo L, enquanto a Figura 25 mostra a semelhança de tais valores nos músculos adjacentes pré e pós-LILT.

Figura 24 – Comparação entre o histograma computadorizado da tireoide pré e pós-LILT. Nas imagens A e B, nota-se o aumento dos valores médios da ecogenicidade pós-LILT em comparação aos obtidos pré-LILT nos três ROIs (Gráficos 1, 2 e 3), que correspondem aos terços superior, médio e inferior da tireoide, respectivamente.

Figura 25 – Comparação entre o histograma computadorizado dos músculos adjacentes pré e pós-LILT. Observa-se que os valores da ecogenicidade do músculo esternocleidomastóideo e dos músculos pré-tireóideos permaneceram similares pré-LILT (imagem A) e pós-LILT (imagem B).

5.1.2 US-Doppler colorido de amplitude

A vascularização da tireoide antes das intervenções mostrou-se alterada (aumentada ou reduzida) em 22/23 (95,65%) dos pacientes do grupo L e em 17/20 (85%) dos do grupo P. No L, 19/23 (82,61%) apresentaram hipervascularização, 3/23 (13,04%), redução da vascularização e apenas 1/23 (4,35%), vascularização normal do parênquima tireóideo. No grupo P, 14/20 (70%) exibiram hipervascularização, 3/20 (15%) redução da vascularização e 3/20 (15%), vascularização normal do parênquima tireóideo.

Os dados do Doppler colorido de amplitude foram analisados como dados categóricos e dados numéricos, empregando-se o teste exato de Fisher e o teste t de Student, respectivamente.

A análise dos dados categóricos foi executada de duas formas. Compararam-se as frequências de vascularização normal e alterada nos lobos direitos e esquerdos das tireoides dos pacientes dos grupos L e P pós-intervenção (Tabela 4).

Tabela 4 – Comparação das frequências observadas de vascularização normal e alterada dos lobos tireóideos nos grupos L e P pós-intervenção

Característica	Pós-Laser n (%)	Pós-placebo n (%)	Total n (%)	Valor de P
Vascularização normal	16 (18,6)	5 (5,8)	21 (24,4)	
Vascularização alterada	30 (34,9)	35 (40,7)	65 (75,6)	
Total	46 (53,5)	40 (46,5)	86 (100)	0,023*

*: $P < 0,05$.

A seguir, comparou-se a frequência dos padrões de vascularização nos lobos direitos e esquerdos das tireoides nos pacientes dos dois grupos (Tabela 5). Houve diferença estatisticamente significativa entre as proporções de ambos os grupos. A frequência de vascularização normal observada ao Doppler colorido de amplitude nos lobos tireóideos foi estatisticamente maior no grupo submetido ao tratamento com Laser do que naquele submetido ao placebo ($P = 0,023$; Tabela 4). A frequência dos padrões de vascularização III e IV foi significativamente maior no grupo P (Tabela 5).

Tabela 5 – Comparação das frequências observadas dos padrões de vascularização em cada lobo tireóideo nos grupos L e P pós-intervenção

Padrão de vascularização	Pós-Laser n (%)	Pós-placebo n (%)	Total n (%)	Valor de P
Padrão I	2 (2,3)	0 (0,0)	2 (2,3)	
Padrão II	16 (18,6)	5 (5,8)	21 (24,4)	
Padrão III	15 (17,4)	18 (20,9)	33 (38,4)	
Padrão IV	13 (15,1)	17 (19,8)	30 (34,9)	
Total	46 (53,5)	40 (46,5)	86 (100)	0,021*

*: $P < 0,05$.

A avaliação dos valores numéricos atribuídos à vascularização foi efetuada pelo teste t de Student pareado e não pareado. A análise pareada

do US-Doppler colorido de amplitude no grupo L (Gráfico 2) não mostrou diferença estatisticamente significativa pré e pós-LILT para o valor médio atribuído ao padrão de vascularização. No entanto, o valor médio aproximou-se de 1, correspondente à vascularização normal.

Já no grupo P (Gráfico 2), houve aumento estatisticamente significativo do valor médio do padrão de vascularização (Tabela 6), o qual se distanciou do valor 1 (normal).

Gráfico 2 – Comparação dos valores do padrão de vascularização pré e 30 dias pós-intervenção nos grupos L e P

Tabela 6 – Sumário dos resultados da análise estatística pareada

Desfechos	Pré-LILT	Pós-LILT	Valor de P	Pré-placebo	Pós-placebo	Valor de P
	Laser (n=23) Média (IC de 95%)	Laser (n=23) Média (IC de 95%)		Placebo (n=20) Média (IC de 95%)	Placebo (n=20) Média (IC de 95%)	
Vascularização tireóidea	2,00 (1,56-2,44)	1,87 (1,49-2,25)	0,466	1,75 (1,26-2,34)	2,30 (2,01-2,59)	0,015*
Dose de LT ₄ (μ/dia)	93,48 (74,41-112,55)	38,59 (18,37-58,80)	<0,001*	90,00 (70,87-109,13)	106,88 (83,98-129,77)	0,015*
TPOAb (U/mL)	1289,61 (807,46-1771,76)	656,26 (345,76-966,76)	<0,001*	1113,65 (549,84-1677,47)	1291,40 (744,39-1838,4)	0,208
TgAb (U/mL)	720,0 (276,78-1163,32)	349,65 (38,05-661,25)	0,003*	751,6 (248,64-1254,56)	719,90 (194,04-1245,76)	0,326
TGF-β1 (pg/mL)	2354,60 (1724,1-2985,1)	3229,50 (2691,5-3767,5)	0,003*	2641,46 (1940,4-3342,5)	2513,06 (1933,6-3097,2)	0,755

IC: intervalo de confiança; LT₄: levotiroxina; *: $P < 0,05$.

A análise não pareada entre os grupos indicou que a média do valor do padrão de vascularização pós-intervenção foi estatisticamente menor no grupo L, mais próxima do valor 1 (normal), comparada a do grupo P, que se distanciou do valor normal (média dos valores de 2,3; $P = 0,036$).

As Figuras 27, 28 e 29 ilustram os resultados obtidos para o padrão de vascularização após a intervenção em três pacientes do grupo L.

Figura 26 – US-Doppler colorido de amplitude. Vascularização do parênquima tireóideo de um paciente do grupo L, no qual foram observados o padrão III pré-LILT (A) e o II pós-LILT (B).

Figura 27 – US-Doppler colorido de amplitude. Vascularização do parênquima tireóideo de um paciente do grupo L, no qual foram observados o padrão I pré-LILT (A) e o II pós-LILT (B).

Figura 28 – US-Doppler colorido de amplitude. Vascularização do parênquima tireóideo de um paciente do grupo L, no qual foi observada manutenção do padrão III pré-LILT (A) e pós-LILT (B).

5.1.3 US-Doppler pulsado

O US-Doppler pulsado mostrou, no grupo L, aumento estatisticamente significativo da velocidade de pico sistólico das artérias tireóideas inferiores, comparada à grupo P (Tabela 3). Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre a velocidade de pico sistólico das artérias tireóideas superiores de ambos os grupos. Não se identificaram diferenças significativas entre os índices de resistividade das artérias tireóideas superiores e inferiores entre os grupos L e P (Tabela 3).

5.2 Função da glândula tireoide

Observou-se redução das doses e/ou ausência de necessidade de levotiroxina em 22/23 (95,7%) dos pacientes do grupo L e em 1/20 (5%), do P. Houve aumento das necessidades de levotiroxina em 8/20 (40%) dos pacientes do grupo P, mas em nenhum do L. Verificou-se, também, que 11/23 (47,8%) dos pacientes do grupo L permaneceram sem a necessidade de levotiroxina até o nono mês de seguimento, o que não aconteceu com nenhum dos indivíduos do P.

A avaliação da função tireóidea foi realizada por meio da verificação da dose média de levotiroxina necessária em cada grupo para manter as concentrações séricas normais (ou quase normais) de T_3 , T_4 , T_4 livre e TSH no nono mês de seguimento. As concentrações séricas médias pré-intervenção de T_3 (124,04 *versus* 120,35 ng/mL; $P = 0,56$), T_4 (9,92 *versus* 9,73 µg/dL; $P = 0,74$), T_4 livre (1,03 *versus* 1,03 ng/dL; $P = 1,0$) e TSH (2,65

versus 2,88 $\mu\text{U/mL}$; $P = 0,58$) não mostraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos L e P, respectivamente (Tabela 3). De maneira similar, as concentrações séricas médias pós-intervenção de T_3 (124,57 *versus* 113,35 ng/mL ; $P = 0,054$), T_4 (9,92 *versus* 9,73 $\mu\text{g/dL}$; $P = 0,34$), T_4 livre (1,04 *versus* 1,08 ng/dL ; $P = 0,40$) e TSH (2,65 *versus* 3,06 $\mu\text{U/mL}$; $P = 0,36$) não denotaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos L e P, respectivamente (Tabela 3). A mensuração das concentrações séricas hormonais e a dose de levotiroxina utilizada em cada momento do estudo encontram-se nos Gráficos 3, 4, 5, 6 e 7.

Portanto, ficou evidente que no grupo L houve redução estatisticamente significativa das necessidades de levotiroxina no nono mês de seguimento, em comparação ao P, momento em que ambos não manifestavam diferenças estatisticamente significativas das concentrações séricas de T_3 , T_4 , T_4 livre e TSH (Gráfico 7; Tabela 3).

Gráfico 3 – Concentrações séricas de T_3 total nos grupos L e P durante o ensaio clínico

Gráfico 4 – Concentrações séricas de T4 total nos grupos L e P durante o ensaio clínico

Gráfico 5 – Concentrações séricas de T4 livre nos grupos L e P durante o ensaio clínico

Gráfico 6 – Concentrações séricas de TSH nos grupos L e P durante o ensaio clínico **Gráfico 7** – Dose de levotiroxina nos grupos L e P durante o ensaio clínico

A análise da função tireóidea foi realizada, também, de forma pareada (intragrupo) pré e pós-intervenção. Tal análise, além de corroborar os resultados de que houve redução estatisticamente significativa da dose de levotiroxina no grupo submetido à LILT, denotou que o inverso ocorreu no grupo tratado com placebo. Neste grupo constatou-se um aumento estatisticamente significativo da dose de levotiroxina necessária para atingir as concentrações séricas normais (ou quase normais) de T_3 , T_4 , T_4 livre e TSH no nono mês de seguimento (Tabela 6; Gráfico 7).

Todos os pacientes de ambos os grupos foram submetidos à descontinuação da levotiroxina 30 dias pós-intervenção. A primeira mensuração de T_3 , T_4 , T_4 livre e TSH foi realizada 30 após, quando todos estavam sem tal terapia. Neste momento, a concentração sérica média de TSH foi significativamente maior no grupo P ($63,73 \pm 30,87 \mu\text{U/mL}$) do que no L ($27,41 \pm 16,32 \mu\text{U/mL}$; $P = 0,007$; Gráfico 6).

A análise estatística pela correlação de Pearson revelou que tanto no grupo L ($P < 0,001$) quanto no P ($P < 0,001$) as concentrações séricas de T_4 livre e TSH apresentaram significativa correlação negativa (Gráficos 8 e 9).

Gráfico 8 – Gráfico em curva logarítmica do T4 livre em função do TSH no grupo L

Gráfico 9 – Gráfico em curva logarítmica do T4 livre em função do TSH no grupo P

5.3 Anticorpos antitireoide

Antes da intervenção, 23/23 (100%) dos pacientes do grupo L mostraram concentrações séricas elevadas de TPOAb e 17/23 (74%) de TgAb, enquanto no P, 18/20 (90%) e 16/20 (80%) exibiram valores elevados, respectivamente.

A comparação das concentrações séricas de TPOAb e TgAb foram realizadas entre os grupos (não pareada) e intragrupo (pareada). A análise pareada das concentrações séricas de TPOAb pré e pós-intervenção evidenciou redução estatisticamente significativa no grupo L no nono mês de seguimento, enquanto no P, tal redução não foi observada (Tabela 6). O mesmo ocorreu na análise pareada das concentrações séricas de TgAb pré e pós-intervenção, que mostrou redução estatisticamente significativa no grupo L, mas não no P (Tabela 6).

Assim, a análise pareada demonstrou que as reduções das concentrações séricas de TPOAb e de TgAb pós-LILT foram estatisticamente significativas (Gráfico 10 e 11; Tabela 6).

Entretanto, a análise estatística não pareada entre os dois grupos, no nono mês de seguimento, evidenciou redução estatisticamente significativa apenas para as concentrações séricas de TPOAb, o que não ocorreu com as de TgAb (Tabela 3).

Gráfico 10 – Concentrações séricas de TPOAb nos grupos L e P durante o ensaio clínico **Gráfico 11** – Concentrações séricas de TgAb nos grupos L e P durante o ensaio clínico

5.4 TGF- β 1

Foi realizada a comparação da dosagem de TGF- β 1 pré e 30 dias pós-intervenção tanto de forma pareada quanto não pareada. A análise não pareada evidenciou que as concentrações séricas de TGF- β 1 pós-intervenção foram estatisticamente maiores no grupo L, comparadas às do grupo P (Tabela 3). A análise pareada corroborou tal resultado ao mostrar que no grupo L houve aumento estatisticamente significativo de TGF- β 1 30 dias pós-intervenção, enquanto isso não ocorreu no P (Gráfico 12; Tabela 6).

Gráfico 12 – Comparação entre as concentrações séricas de TGF- β 1 pré e 30 dias pós-intervenção nos grupos L e P

5.5 Fatores prognósticos para a LILT

A associação entre os dados basais de algumas variáveis e os resultados pós-intervenção do índice de ecogenicidade e da dose final de levotiroxina foi pesquisada no grupo L (Tabela 7). Na comparação entre tais dados, nota-se que em apenas um paciente (nº 20) não houve melhora do índice de ecogenicidade. Foi ele o único no qual a dose de levotiroxina permaneceu idêntica à pré-intervenção. No entanto, quanto às outras variáveis analisadas, ele não mostrou clara diferença dos demais.

Exceto este último, os outros 22 pacientes do grupo L apresentaram incremento do índice de ecogenicidade e redução das doses de levotiroxina. Inclusive, em 11 deles, não havia necessidade de levotiroxina.

Foi encontrada significativa correlação negativa entre os valores pós-LILT do índice de ecogenicidade e da dose de levotiroxina (coeficiente de correlação de classes de Spearman, $r = -0,447$; $P = 0,033$). Ou seja, quanto maior o índice de ecogenicidade, menores as doses de levotiroxina após a terapia.

As variáveis duração da doença, massa corpórea, TPOAb, TgAb e profundidade do limite posterior da tireoide não evidenciaram correlação estatisticamente significativa com os resultados pós-LILT, como o índice de ecogenicidade e a dose final de levotiroxina.

Tabela 7 – Avaliação das variáveis índice de ecogenicidade, dose de levotiroxina, duração da doença, massa corpórea, TPOAb, TgAb e profundidade do limite posterior da tireoide como possíveis fatores prognósticos de resposta da TCA à LILT

Dados basais (pré-LILT)								Resultados pós-LILT	
Pacientes Grupo L	IE	Dose LT ₄ (µg/dia)	Duração da doença (anos)	Massa corpórea (kg)	TPOAb (U/mL)	TgAb (U/mL)	Profundidade do limite posterior da tireoide (cm)	IE	Dose LT ₄ (µg/dia)
1	1,18	75	3	79	1751	35	2,49	1,26	0
2	1,22	50	2	90	74	209	2	1,77	0
3	1,97	150	7	86	235	148	2,32	2,03	0
4	1,09	50	4	53	2354	78	2,61	1,45	0
5	1,01	150	7	91	1962	976	2,64	1,07	88
6	1,06	100	2	65	150	601	2,68	1,17	75
7	0,86	100	2	80,5	641	35	2,72	1,1	75
8	0,97	75	3	65,3	197	110	2,72	1,08	25
9	0,91	50	1	70,5	263	153	2,16	1,12	0
10	0,89	100	2	71,5	403	1273	2,17	1,07	25
11	1,36	75	5	49	183	48	2,2	1,44	0
12	1,08	75	2	91,3	1487	35	2,97	1,10	62,5
13	0,79	75	7	52,4	3000	1081	2,97	1,01	50
14	0,95	50	15	54,2	1982	80	2,03	1,08	25
15	0,99	175	8	72	2783	3000	2,1	1,13	150
16	1,04	175	10	64,3	1126	2853	1,94	1,25	112
17	0,88	75	5	57,2	591	35	2,36	1,12	0
18	1,03	50	7	71,6	3000	2111	2,54	1,22	0
19	0,85	50	4	98,5	3000	410	3,11	1,08	0
20	1,1	100	1	88,4	513	44	2,9	1,09	100
21	0,76	125	4	74,2	722	210	2,59	1,25	0
22	0,89	175	4	73	244	3000	1,91	1,15	100
23	1,1	50	1	58	3000	35	2,63	1,37	0
Média	1,04	93,48	4,61	72	1289,6	720	2,47	1,24	38,59

IE: Índice de Ecogenicidade; LT4: levotiroxina

5.6 Efeitos adversos

Durante ou após as 10 aplicações de LILT ou placebo, não houve efeito adverso.

5.7 Dados antropométricos

5.7.1 Massa corpórea

A comparação entre as médias da massa corpórea nove meses pós-intervenção demonstrou que não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos L e P ($71,91 \pm 6,01$ kg e $73,55 \pm 8,9$ kg; $P = 0,746$) para esta variável.

5.7.2 Índice de massa corpórea

A comparação das médias do índice de massa corpórea entre os grupos L ($29,20 \pm 2,46$ kg/m²) e P ($28,87 \pm 3,06$ kg/m²; $P = 0,858$) nove meses pós-intervenção não mostrou diferença estatisticamente significativa.

6 DISCUSSÃO

6.1	A intervenção do estudo	115
6.2	Mapeamento dúplex-Doppler colorido da tireoide	117
6.3	Função tireóidea	130
6.4	Autoimunidade	133
6.5	Limitações do presente estudo	136
6.6	Considerações finais	139

Inicialmente, foi elaborado e conduzido um estudo-piloto⁸⁹ com o objetivo de avaliar o desenho do estudo proposto, as diferentes dosimetrias da LILT, os parâmetros de avaliação do mapeamento dúplex-Doppler colorido, as variáveis laboratoriais e as possíveis dificuldades encontradas durante a sua implementação. A análise de uma amostra de 15 pacientes sugeriu que a LILT promoveu o aumento da ecogenicidade do parênquima da glândula ao histograma computadorizado, a melhora da função tireóidea e a redução de TPOAb. Observou-se, ainda, que a implantação de todos os métodos planejados era viável, especialmente o emprego da avaliação ultrassonográfica quantitativa da ecogenicidade⁸⁹.

Tais achados incitaram a decisão de dar início ao ensaio clínico randomizado placebo-controlado para avaliar a eficácia da LILT na TCA. Com base nesses resultados, foi possível optar pela dosimetria e modo de aplicação da LILT, que se mostraram mais práticos e obtiveram os melhores resultados. Utilizou-se o tamanho da amostra previamente estabelecido, e os mesmos parâmetros de resposta utilizados no estudo-piloto.

6.1 A intervenção do estudo

Há evidências crescentes na literatura de que a LILT apresenta efeitos anti-inflamatórios, analgésicos e regeneradores de tecidos^{26,81,123-126} (Figura 29). Foi demonstrado, inclusive, que ela é eficaz no tratamento de doenças autoimunes. Há evidências demonstrando a diminuição de rigidez articular e da dor em pacientes portadores de artrite reumatoide, bem como

de melhora da secreção de saliva e da dor parotídea em pacientes com síndrome de Sjögren.

Tais resultados suscitaram o interesse científico na avaliação das possíveis ações da LILT sobre a glândula tireoide que é igualmente acometida por doença autoimune, como a TCA. A propriedade do Laser infravermelho de atingir maior profundidade na interação com os tecidos, principalmente decorrente do fenômeno de espalhamento da luz, tornou possível iluminar a tireoide por via transcutânea de forma indolor. Os fótons que penetram no parênquima tireóideo lesado pela resposta autoimune seriam absorvidos pela enzima citocromo c oxidase no interior da mitocôndria e poderiam desencadear toda a cascata de reações descritas e promover ações anti-inflamatórias e regeneradoras de tecido.

Figura 29 – Efeitos e ações obtidos na interação do Laser com os tecidos de acordo com a densidade de potência (DPE) utilizada. Enquanto altas DPEs levam à destruição do tecido, DPEs muito baixas resultam em biomodulação, que promove os efeitos anti-inflamatórios, analgésicos e regeneradores dos tecidos biológicos. Modificado de Chavantes e Tomimura⁶⁸.

O mapeamento dúplex-Doppler colorido é amplamente utilizado como exame complementar no diagnóstico das doenças da glândula tireoide, na identificação e diferenciação das afecções focais e das difusas da tireoide. Tal exame é amplamente disponível, rápido e acurado. Além disso, seu custo é baixo comparado à tomografia computadorizada e à ressonância nuclear magnética, não utiliza radiação ionizante e disponibiliza vários parâmetros de avaliação, como: o modo-B, o mapeamento Doppler colorido de amplitude e Doppler pulsado.

No presente estudo, todos esses parâmetros foram utilizados no diagnóstico da TCA, cujas características já foram bem documentadas. Valendo-se da alta acurácia das variáveis ultrassonográficas, elas foram, oportunamente, empregadas como parâmetros para analisar a resposta da TCA à intervenção realizada.

6.2 Mapeamento dúplex-Doppler colorido da tireoide

Os valores de referência do volume tireóideo para a população brasileira ainda não foram definidos. Então, optou-se por utilizar os valores de referência de outra população, cuja dieta é rica em iodo¹¹⁸, como ocorre na Região Metropolitana de São Paulo⁴¹, onde foi selecionada a amostra de pacientes. Em ambos os grupos, a análise pré-intervenção mostrou que a maioria dos pacientes tinha volume tireóideo normal. Em segundo lugar, em ordem de frequência, constatou-se bócio e, em terceiro, o volume reduzido (atrofia).

Deve-se ressaltar que os pacientes estavam sob terapia de reposição com levotiroxina, nas mesmas doses, nos momentos da realização do mapeamento dúplex-Doppler colorido pré e pós-intervenção, para evitar a elevação do TSH, que poderia induzir ao aumento de volume tireóideo¹¹³ e representar um viés considerável. Após a intervenção, não foi encontrada diferença entre as médias de volume tireóideo entre os dois grupos. Contudo, foi muito interessante a observação de que o volume tireóideo normalizou na maioria dos pacientes submetidos à LILT, independentemente se ele estava aumentado ou reduzido previamente.

Essas distintas ações da LILT, que induziram à normalização do volume tireóideo, poderiam ser explicadas com base nas diversas ações biológicas que ela pode promover em diferentes tipos de células²⁶. Isto é, por um lado estimular a regeneração das células foliculares e, por outro, promover a supressão da autoimunidade, ou seja, do processo inflamatório crônico. Nenhum dos pacientes com volume tireóideo normal pré-LILT mostrou anormalidade de volume pós-intervenção. Mas este evento ocorreu em três pacientes submetidos ao placebo.

A textura do parênquima tireóideo encontrava-se difusamente heterogênea e sem evidência de nódulos em todos os pacientes de ambos os grupos. Embora a textura seja um parâmetro relevante no diagnóstico da TCA³⁹, ela é subjetiva e, por conseguinte, tênues diferenças são pouco perceptíveis ao olho humano. Na avaliação subjetiva, não se percebeu diferença da textura entre ambos os grupos pré e pós-intervenção que se

manteve heterogênea e sem nódulos. Todavia, devem ser consideradas as limitações desse parâmetro na avaliação da intervenção.

A ecogenicidade foi estudada de maneira subjetiva e objetiva (quantitativa) pelo histograma computadorizado de escala de cinzas, que é objetivo e quantitativo. Antes da intervenção, o parênquima tireóideo foi considerado hipoecogênico em todos os pacientes incluídos em ambos os grupos (100%) pelos dois métodos de análise. Esse achado corrobora os resultados de vários estudos prévios^{36-38,119} ao demonstrar que a hipoecogenicidade é o principal parâmetro ultrassonográfico para indicar existência de autoimunidade na glândula^{34,90} e/ou lesão da estrutura folicular³³.

A ecogenicidade está associada ao fenômeno de reflexão das ondas do ultrassom ao interagir com os tecidos. Quanto maior a diferença de impedância acústica entre dois meios distintos, maior será a reflexão das ondas ultrassônicas emitidas pelo transdutor do equipamento e vice-versa. As ondas refletidas são, pois, detectadas pela sonda que reproduzirá a imagem ultrassonográfica. Ao interagir com os tecidos, parte das ondas é espalhada e parte é absorvida pelos tecidos e não retornam à sonda do equipamento. Isso resultará na redução da ecogenicidade. Por isso, dependendo das propriedades do tecido avaliado, a ecogenicidade pode variar significativamente. A tireoide apresenta uma peculiar estrutura folicular caracterizada por uma grande quantidade de coloide (fração líquida) envolta por apenas uma camada de células foliculares (fração sólida). A estrutura folicular normal representa a principal interface acústica capaz de

proporcionar as condições ideais para a intensa reflexão das ondas do ultrassom para o transdutor, que proporciona alta ecogenicidade da tireoide em relação aos tecidos adjacentes, com os quais ela pode ser comparada (Figura 30).

Figura 30 – Interação das ondas de ultrassom emitidas pelo transdutor A com o parênquima tireóideo, que exibe a estrutura folicular normal e, pelo transdutor B, com a estrutura microfolicular e um abundante infiltrado linfocitário. Observa-se a maior ou menor intensidade de reflexão das ondas de ultrassom, quando a estrutura folicular é normal ou microfolicular, respectivamente. Adaptado de Muller et al.³³.

Os músculos contíguos, como o esternocleidomastóideo e os pré-tireóideos (esterno-hióideo e esternotireóideo), são utilizados na imagem para a comparação com o parênquima tireóideo. A estrutura da tireoide é muito diferente da muscular, porquanto esta é composta de fibras sobrepostas, que não favorecem a reflexão, mas sim o espalhamento e a absorção das ondas do ultrassom e, conseqüentemente, baixa

ecogenicidade³³. Portanto, em condições normais, o parênquima tireóideo exibe ecogenicidade maior que a dos músculos adjacentes (Figura 31).

Em contraste, na presença de doenças autoimunes da tireoide (doença de Graves e TCA) e de neoplasias, a ecogenicidade da tireoide encontra-se significativamente reduzida por motivos distintos. Na doença de Graves, a porção celular predomina diante da coloidal, que está, esparsamente, presente. Ocorre, ainda, aumento difuso da vascularização. Tais fatores contribuem para dar origem à difusa hipoecogenicidade. Nas neoplasias microfoliculares e nas metástases intratireóideas, a porção celular predomina apenas na região onde elas estão localizadas. Nesta situação, há diminuição focal da ecogenicidade³³.

A redução do diâmetro e/ou ausência parcial dos folículos na TCA resulta em difusa redução da ecogenicidade³³. Na TCA, o parênquima tireóideo exibe infiltração linfocitária, a qual contribui para a redução da interface celular-coloidal da glândula³⁴. As mudanças suscitadas pela TCA contribuem para o espalhamento e à absorção das ondas, bem como para a diminuição da sua reflexão em direção à sonda do equipamento de ultrassom, que causa a hipoecogenicidade da tireoide (Figura 31). A ausência completa de folículos tireóideos pode estar associada à substituição parcial ou total do parênquima por fibrose. Podem existir traves de fibrose que apresentam aspecto hiperecogênico.

Foi bem documentado que quanto maior a extensão da lesão causada na estrutura folicular da tireoide³³ e mais numerosos os linfócitos infiltrados no parênquima³⁴, menor a ecogenicidade da glândula. Em outros

termos, há associação entre a intensidade da lesão folicular e do infiltrado linfocitário com a redução de ecogenicidade. Sob o ponto de vista comparativo pré e pós-intervenção, seria um viés significativo comparar a ecogenicidade, o principal marcador da lesão folicular e do infiltrado linfocitário de forma subjetiva, dado que se trata de método qualitativo e de baixa sensibilidade para diferenças sutis.

Figura 31 – As imagens exibem os valores do histograma computadorizado obtidos na tireoide (corte longitudinal) e nos músculos adjacentes (corte transversal) pré e pós-LILT. Após a LILT, nota-se que houve aumento dos valores no parênquima da tireoide, enquanto os valores dos músculos adjacentes permaneceram semelhantes aos verificados pré-LILT.

O histograma computadorizado atribui valores numéricos para cada tom de cinza, transformando a ecogenicidade em variável quantitativa, altamente sensível e reproduzível (Figura 32)^{36-38,119}.

Figura 32 – Imagens do histograma computadorizado de corte transversal da tireoide e do músculo esternocleidomastóideo de um indivíduo com tireoide normal (A) e outro com TCA (B). Os gráficos ilustram o padrão da distribuição da escala de cinzas dentro do ROI 1 (tireoide) e do ROI 2 (músculo). As linhas tracejadas delimitam as médias ± 2 desvios-padrão de cada distribuição dos tons de cinza dentro de cada ROI. Nota-se que no indivíduo com tireoide normal, tais linhas não se sobrepõem, evidenciando padrão normal de ecogenicidade da tireoide. Na TCA ocorre sobreposição dos valores que caracterizam o padrão hipoeecogênico da tireoide. M = média e DP = desvio-padrão. Modificado de Mazzotti et al.³⁷.

Esse método de análise foi considerado por vários autores como uma relevante ferramenta no diagnóstico das doenças autoimunes da tireoide^{36-38,119}. Na realização do histograma, os autores utilizaram a média das tonalidades de cinza no interior das regiões de interesse (ROIs) do corte transversal dos lobos direito e esquerdo da glândula, como a variável representativa da tireoide, isoladamente, ou na comparação com os

músculos adjacentes^{36-38,119}. No entanto, embora tenha se mostrado mais eficaz que o exame subjetivo (dependente do examinador), tal técnica avalia apenas uma pequena porção de cada um dos lobos (Figura 32), que pode não representar adequadamente a ecogenicidade média de toda a glândula, especialmente quando há intensa heterogeneidade do parênquima.

Dessa maneira, nesta pesquisa foi utilizado o corte longitudinal de ambos os lobos para a delimitação de três áreas de interesse, ou seja, uma no terço superior, uma no médio e outra no inferior (Figura 33). Tal método é capaz de analisar uma área significativamente maior do parênquima tireóideo e, conseqüentemente, estimar de maneira mais representativa a ecogenicidade de toda a glândula. O programa utilizado disponibiliza ainda duas vantagens: a primeira é a possibilidade de mensuração dos valores da ecogenicidade em três áreas de interesse (ROIs) no mesmo corte (Figura 33); a segunda é a determinação dos valores médios e dos desvios-padrão das tonalidades de cinza em tempo real (Figura 33), que dispensa a necessidade de gravação das imagens em microcomputador, para posterior avaliação, ou seja, adiciona praticidade à análise.

Essa modificação do método previamente proposto^{36-38,119} pôde distinguir os dois grupos de forma clara. O aumento da ecogenicidade pós-LILT foi estatisticamente significativo, enquanto, no grupo tratado com placebo, verificou-se redução estatisticamente significativa desse parâmetro. Esse resultado foi consistente com o observado no estudo-piloto que mostrou, também, aumento significativo da ecogenicidade⁸⁹. Tais achados sugerem que houve regeneração da estrutura folicular e/ou redução do

infiltrado linfocitário pós-LILT em apenas 30 dias e não têm precedentes na literatura.

Figura 33 – Avaliação do parênquima tireóideo (A e B) por meio da seleção das áreas de interesse (ROIs) nos terços superiores, médios e inferiores dos lobos direito e esquerdo, respectivamente. Essa abordagem é mais representativa da ecogenicidade média, uma vez que o parênquima tireóideo mostra-se muito heterogêneo.

Assim, evidencia-se tanto a eficácia da LILT na melhora da TCA quanto a validade do histograma computadorizado — excelente ferramenta diagnóstica^{36-38,119} — como parâmetro de resposta para a avaliação do tratamento proposto.

O US-Doppler colorido de amplitude apresenta maior sensibilidade na avaliação da vascularização da tireoide do que o US-Doppler colorido convencional, particularmente, quando os vasos apresentam pequeno calibre e/ou a velocidade do fluxo sanguíneo é baixa¹²⁷⁻¹²⁹. Por esse motivo, optou-se por empregar a primeira técnica para a análise comparativa do padrão de vascularização do parênquima tireóideo.

O aumento da vascularização observado na maioria dos pacientes de ambos os grupos pré-intervenção é frequente na TCA^{112,113}. A evolução desse parâmetro pré e pós-LILT nos grupos L e P (análise pareada) evidenciou que os pacientes submetidos à LILT apresentaram redução, sem significância estatística, do valor médio atribuído à vascularização do parênquima tireóideo, aproximando-se do normal (padrão I). Ao contrário, nos pacientes tratados com placebo, verificou-se aumento estatisticamente significativo da vascularização tireóidea, que se distanciou do padrão normal (Quadro 4).

Quadro 4 – Classificação modificada de Macedo et al.¹²⁰ utilizada para a avaliação do grau de vascularização do parênquima tireóideo em pacientes com TCA

Padrão I	A vascularização está reduzida e limitada às artérias principais periféricas que possuem sinais diminuídos (valor atribuído = 1).
Padrão II	A vascularização está limitada às artérias tireóideas principais periféricas com sinais habituais, enquanto no parênquima não existe sinal de fluxo ou há apenas sinal de pontos focais de vascularização com distribuição esparsa ou ainda no interior de nódulos (valor atribuído = 2).
Padrão III	Evidente aumento da vascularização com distribuição esparsa (valor atribuído = 3).
Padrão IV	Aumento acentuado da vascularização com distribuição difusa e homogênea, incluindo o chamado “inferno tireóideo” ¹²¹ (valor atribuído = 4).

A comparação do padrão de vascularização entre os dois grupos pós-intervenção (não pareada) mostrou que o valor médio atribuído à vascularização foi estatisticamente maior no grupo P. Tal resultado sugere que a LILT contribuiu para a melhora da vascularização que estava alterada na grande maioria dos pacientes. De fato, a proporção de pacientes com vascularização normal foi maior no grupo submetido à LILT.

Foi demonstrado, recentemente, que o aumento da concentração sérica de uma quimiocina estimulada pela citocina IFN- γ , a CXCL10, pode ter um papel de destaque no aumento da vascularização presente nas doenças autoimunes da glândula tireoide¹¹². A LILT poderia melhorar a vascularização da tireoide ao modular a ação das quimiocinas, já que sua ação sobre várias outras citocinas foi documentada²⁶.

Há relatos de que as concentrações séricas elevadas de TSH e TRAb podem estimular a neoangiogênese tireóidea por meio do aumento da expressão e/ou dos níveis de fatores de crescimento vasculares tanto na doença de Graves quanto em hipotireoidismo com bócio^{113,130}. Assim, o aumento de TSH e de TRAb poderia promover aumento da vascularização. Mas, além de todos os pacientes apresentarem concentrações séricas indetectáveis de TRAb, a levotiroxina foi mantida na mesma dose até a realização do mapeamento dúplex-Doppler colorido pós-intervenção, justamente para evitar variações significativas das concentrações séricas de TSH, que poderiam ser um fator de viés.

O fato de a vascularização estar aumentada na maioria dos pacientes, mesmo na vigência de levotiroxina corrobora a hipótese de que o

aumento da vascularização na TCA é independente das concentrações séricas de TSH¹¹² e pode estar associada, pelo menos em parte, ao aumento da quimiocina CXCL10^{112,116}.

No US-Doppler pulsado, as artérias tireóideas superiores e inferiores foram examinadas imediatamente antes do local de penetração no parênquima tireóideo, através de sua cápsula. A análise da velocidade de pico sistólico nas artérias intratireóideas foi preterida em função de seu pequeno calibre, que dificulta a correção do ângulo Doppler.

Macedo et al.¹²⁰ demonstraram que em indivíduos sem disfunção da glândula, a velocidade de pico sistólico na artéria tireóidea superior é estatisticamente maior do que nas artérias tireóideas inferiores. Os autores postularam que tal fenômeno poderia estar relacionado ao aporte sanguíneo relativamente maior para a artéria carótida externa (de maior calibre) do que para o tronco tireocervical. Destes ramos originam-se, habitualmente, as artérias tireóideas superiores e inferiores, respectivamente (Figura 34). Ainda que outros estudos^{100,131-133} tenham avaliado, isoladamente, as artérias tireóideas superiores ou as inferiores, os resultados foram semelhantes aos da publicação supracitada¹²⁰.

No presente estudo, antes da intervenção, a velocidade de pico sistólico média das artérias tireóideas superiores foi discretamente maior do que nas inferiores, em ambos os grupos, porém, sem significância estatística. No entanto, esta pesquisa avaliou uma amostra menor de pacientes com TCA do que nos trabalhos citados^{100,120,131-133}.

Figura 34 – Aporte sanguíneo para as artérias tireóideas superiores e inferiores.

Antes da intervenção, a velocidade de pico sistólico e o índice de resistividade das artérias tireóideas superiores e inferiores foram semelhantes entre os grupos L e P. Após a intervenção, a velocidade de pico sistólico e o índice de resistividade das artérias tireóideas superiores não apresentaram diferença estatística entre os dois grupos.

Já nas artérias tireóideas inferiores, pós-intervenção, houve aumento significativo da velocidade de pico sistólico no grupo L, em comparação com o grupo P. O índice de resistividade destas artérias não exibiu diferença significativa entre os dois grupos. Esse resultado não pode ser atribuído à elevação dos níveis de TRAb, TSH e tampouco à elevação dos hormônios tireóideos no grupo L, já que nenhum paciente apresentava TRAb detectável e não houve mudança nas doses de reposição de levotiroxina nos momentos da execução do mapeamento dúplex-Doppler colorido pré e pós-intervenção.

No estudo-piloto, o aumento da velocidade de pico sistólico das artérias inferiores beirou a significância estatística. Esse inesperado desfecho poderia estar associado a ações da LILT nas quimiocinas ou outras citocinas e fatores de crescimento vascular relacionados à vascularização da glândula. Novos estudos poderiam investigar possíveis ações da LILT sobre as quimiocinas.

6.3 Função tireóidea

Neste estudo, houve redução da dose e/ou descontinuação da levotiroxina nos pacientes submetidos à LILT (Tabela 3) com o emprego de uma terapia não invasiva, de baixo risco, indolor e com boa relação custo-benefício. Tal resultado corroborou os resultados obtidos no estudo-piloto⁸⁹ que apontou redução das necessidades de levotiroxina. Caracterizou-se, ainda, deterioração da função tireóidea nos pacientes tratados com placebo

pelo aumento significativo da necessidade de levotiroxina para obter concentrações séricas normais de T_3 , T_4 , T_4 livre e TSH após nove meses de seguimento.

Cabe salientar que a dose total diária de levotiroxina é calculada em $\mu\text{g/kg/dia}$ e está ela proporcionalmente associada à massa corpórea¹². Daí poder-se deduzir que a diferença significativa dessa variável poderia interferir nas necessidades de levotiroxina dos pacientes e representar um fator de viés. Entretanto, os dois grupos apresentaram massa corpórea similar, tanto previamente às intervenções quanto no nono mês de seguimento. Esse resultado descarta a possibilidade de erro sistemático para a análise da dose de levotiroxina.

A LILT é um procedimento que foi introduzido na prática clínica por seus efeitos analgésicos, anti-inflamatórios e regeneradores de tecidos^{23, 26, 123}. Caracteristicamente, ela não atua por efeito térmico (aumento de temperatura sempre inferior a 1°C no tecido-alvo), ao contrário do mecanismo fototérmico do Laser de alta potência.

Nos últimos anos, estão aumentando as evidências de que a LILT (luz vermelha e infravermelha) atua nos tecidos animais e humanos em nível molecular ao interagir com fotoceptores da cadeia respiratória, provavelmente a enzima citocromo c oxidase⁷³, aumentando a produção de ATP, espécies reativas de oxigênio e óxido nítrico. Este evento desencadeia uma cascata de reações que envolvem, entre outros, o aumento da expressão de fatores de crescimento, de citocinas e o estímulo de proteínas

sinalizadoras^{26,27}, que promovem regeneração e proteção celular, relatados em vários tecidos animais e humanos^{26,75}.

No tecido tireóideo de ratos saudáveis, demonstrou-se que a LILT (luz infravermelha) causa estímulo da microcirculação^{30,31}, que poderia auxiliar na regeneração das células foliculares. O estímulo da função tireóidea foi encontrado em camundongos, que apresentaram aumento das concentrações séricas de T_3 e T_4 sete dias após a aplicação do Laser de baixa intensidade. Mas não houve incremento de T_3 e T_4 séricos 24, 48 e 72 horas após a irradiação²⁹.

A análise por microscopia demonstrou não haver lesão dos folículos tireóideos desses animais²⁹, lesão que poderia permitir o extravasamento de coloide e o consequente aumento das concentrações de T_3 e T_4 . Assim, parece haver um intervalo de tempo para a ação sobre a função tireóidea manifestar-se, fenômeno este também aqui encontrado.

De maneira distinta do presente trabalho, que foi conduzido para avaliar a eficácia da LILT na TCA, Mikhailov et al.⁸⁸ realizaram uma pesquisa com o propósito de avaliar os efeitos imunomoduladores sistêmicos da luz Laser por via transcutânea. A LILT foi empregada, simultaneamente, nas áreas correspondentes às projeções do timo (nível de inserção da segunda costela no osso esterno), da tireoide e da fossa supraclavicular esquerda. Esta última com a finalidade de iluminar o sangue que passa pelo plexo vascular da região. Foi utilizado o Laser infravermelho (890 nm) no modo pulsado, potência de 5 mW, e dose total de 2,42 J.

Ainda que os parâmetros do tratamento tenham sido diferentes dos empregados na presente pesquisa, os autores⁸⁸ verificaram redução de linfócitos B e T citotóxicos, assim como aumento de linfócitos T supressores após a LILT. Tais resultados sugeriram modulação sistêmica da resposta imune, as quais persistiram por quatro meses.

Os linfócitos T citotóxicos são considerados o principal mecanismo de lesão celular na TCA⁴³. A redução dessas células poderia tornar menos intensa a lesão folicular tireóidea e, assim, facilitar a ação regeneradora promovida pela LILT. A regeneração folicular foi, provavelmente, a principal causa para a melhora da função da tireoide, uma vez que houve correlação entre a melhora da ecogenicidade e a diminuição da dose de levotiroxina.

Procurou-se por variáveis que pudessem ser importantes para prever bom prognóstico à LILT. Porém, aquelas analisadas (Tabela 7) não foram úteis. Um único paciente não respondeu à LILT, ou seja, não se identificou melhora da ecogenicidade e da função da glândula tireoide. O motivo para esse resultado é desconhecido, já que não foram identificados fatores que pudessem contribuir para esse resultado.

6.4 Autoimunidade

Na comparação pré e pós-intervenção, observou-se redução estatisticamente significativa das concentrações séricas de TPOAb no nono mês de seguimento nos pacientes tratados com Laser, o que não ocorreu nos tratados com placebo. A análise não pareada evidenciou que a

concentração sérica média de TPOAb, após nove meses de seguimento, foi estatisticamente menor no grupo L do que no P. A análise pareada (pré e pós-intervenção) dos anticorpos TgAb revelou-se, também, significativamente menor apenas no grupo L. No entanto, a comparação destes anticorpos entre os dois grupos, no nono mês de seguimento, não mostrou redução significativa. Esses achados sugerem que a LILT foi eficaz em promover a redução de TPOAb; entretanto, o TgAb apresentou apenas tendência à redução. A redução de TPOAb foi, também, encontrada no estudo-piloto⁸⁹.

A lesão das células foliculares é dependente, sobretudo de citotoxicidade mediada pelas células T⁴³, mas tanto as citocinas (Th1 e Th2) como os autoanticorpos tendem a exacerbar o processo autoimune^{43,49,134}. Altas concentrações séricas de TPOAb e TgAb indicam a existência de autoimunidade contra a tireoide⁴³ e sua redução sugere modulação da resposta autoimune.

Foi demonstrado que o Laser vermelho e infravermelho *in vitro* e *in vivo* (ratos) é capaz de inibir a expressão gênica e/ou reduzir os níveis plasmáticos de citocinas pró-inflamatórias, como: fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina (IL) -1 β , IL-2, IL-6, IL-8 e interferon- γ (IFN- γ). Pode, ainda, estimular a expressão gênica de citocinas imunossupressoras, como o fator transformador de crescimento- β (TGF- β)^{26,81,83,135} e, como resultado, promover modulação das respostas imunes.

Níveis plasmáticos elevados de citocinas pró-inflamatórias, predominantemente aquelas com perfil Th1⁴³ – como IFN- γ , TNF- α , IL-

$2^{136,137}$ e $IL-6^{137}$ – bem como a redução dos níveis de $TGF-\beta^{138}$ podem representar um papel determinante na patogênese da TCA. Foi demonstrada correlação positiva entre as células Th1 (produtoras de IFN- γ e TNF- α) com altas concentrações séricas de TPOAb⁴⁹ e, desse modo, possíveis efeitos supressores da LILT sobre tais citocinas poderiam explicar a redução de TPOAb. O fato de as concentrações séricas de TgAb apresentarem apenas tendência à redução, pode estar relacionada à sua menor relação com as citocinas-alvo da LILT ou, ainda, pela razão de ser um autoanticorpo menos específico devido ao fato de a tireoglobulina, antígeno para o qual o TgAb é produzido, estar presente no sangue.

Houve aumento significativo do fator transformador de crescimento- $\beta 1$ ($TGF-\beta 1$) no grupo L. Trata-se de citocina com importante ação moduladora das respostas imunes. Uma vez que a redução $TGF-\beta$ pode estar associada à patogênese da TCA¹³⁸, é possível especular que seu incremento possa contribuir na redução da autoimunidade contra a tireoide.

Poderia argumentar-se que a amostra de pacientes desta pesquisa não incluiu critérios de seleção específicos para a análise de citocinas. Porém, vale ressaltar que a amostra de pacientes foi submetida à randomização. E a alocação aleatória gera grupos nos quais todos os fatores prognósticos tendem a ser distribuídos igualmente entre eles¹³⁹. Por conseguinte, qualquer evento que possa ter interferido na mensuração de $TGF-\beta 1$ tem a mesma probabilidade de ocorrer nos pacientes dos dois grupos estudados¹³⁹.

6.5 Limitações do presente estudo

O diagnóstico de hipotireoidismo decorrente de TCA foi realizado no Ambulatório de Tireoide do Serviço de Endocrinologia e Metabologia do HCFMUSP, previamente à inclusão dos pacientes no estudo. Alguns pacientes incluídos tinham o seu diagnóstico estabelecido anos antes do início do estudo. Uma vez que o tratamento com levotiroxina é realizado, em regra, de forma contínua, sendo raramente é descontinuado, não se pode afirmar que eles continuassem com disfunção tireóidea, a não ser com a suspensão prévia da levotiroxina.

Neste caso, eles deveriam ser submetidos à descontinuação do tratamento duas vezes, uma para comprovar que ainda apresentavam hipotireoidismo clínico e, outra para avaliar a intervenção. Isso traria um desconforto adicional para os pacientes envolvidos na pesquisa e não foi sequer cogitado.

A vantagem da alocação randomizada é tornar possível a obtenção de grupos verdadeiramente comparáveis¹³⁸. Por isso, os ensaios clínicos randomizados representam o padrão de excelência para os estudos sobre a eficácia de um tratamento¹³⁹. A distribuição das variáveis que podem induzir os vieses estatísticos nos grupos estudados tende a ser semelhante. Portanto, mesmo que houvesse recuperação da função tireóidea em alguns pacientes, eles seriam distribuídos de forma semelhante para ambos os grupos.

As dosagens de hormônios tireóideos e TSH 30 dias após a descontinuação da levotiroxina deixaram claro que todos os pacientes do

grupo P continuavam apresentando hipotireoidismo. Em contraste, isso não ocorreu no grupo L, provavelmente em decorrência da intervenção da LILT. Esse resultado corrobora o relato de que é incomum a recuperação da função tireóidea em pacientes com TCA, após o estabelecimento de hipotireoidismo⁶⁷.

Outra possível limitação foi avaliar a vascularização pelo método subjetivo, classificando-a em quatro padrões distintos. Tal método encontra-se limitado por alguns motivos. A avaliação é característica de um único indivíduo (pessoal) e a presença de padrões de vascularização limítrofes pode ser interpretada de maneira divergente por examinadores diferentes. Mas a aleatorização da amostra de pacientes praticamente anula esse problema, pois o viés da subjetividade se dá de forma semelhante para ambos os grupos. Além disso, a interpretação das imagens foi realizada por um único e experiente examinador (M.C. Chammas).

Foram utilizados dois equipamentos distintos para a realização do mapeamento dúplex-Doppler por motivos operacionais, já que o Departamento de Radiologia do HCFMUSP possuía apenas um aparelho capaz de realizar o histograma computadorizado, conquanto não fosse ele o melhor equipamento disponível para a realização do US-Doppler colorido de amplitude e do pulsado. Então, optou-se pela utilização de dois aparelhos distintos que, na época do início do estudo, eram os melhores para as análises executadas.

Ressalta-se que tal decisão não caracterizou verdadeira limitação ao estudo, pois todos os pacientes foram submetidos à análise pelo modo-B e

pelo histograma no General Electric® Voluson 730 PRO™ pré e pós-intervenção, de forma que as comparações destas variáveis foram sempre realizadas no mesmo equipamento. Igual conduta foi adotada nos os exames com o US-Doppler colorido de amplitude e o pulsado, os quais foram sempre realizados no aparelho Philips® HDI-5000™.

Para garantir a validade interna do estudo, recorreu-se à utilização de vários critérios de elegibilidade que dificultaram a seleção da amostra de pacientes. Inevitavelmente, tais critérios comprometeram a validade externa dos resultados para os pacientes que não os apresentavam, pois eles foram excluídos da pesquisa. A inclusão de apenas um homem no estudo, fato associado à maior prevalência da TCA na mulher² e à inelegibilidade de outros homens acessados para inclusão, talvez tenha afetado a generalização dos resultados para o sexo masculino.

Todavia, não há motivos conhecidos para que a resposta à terapia proposta possa ser diferente nos dois sexos. O único homem incluído na pesquisa foi tratado com LILT e permaneceu sem levotiroxina após nove meses de seguimento. As análises estatísticas para o principal desfecho (ecogenicidade) e o desfecho secundário (dose de levotiroxina) foram, também, executadas sem a inclusão deste paciente e os resultados foram semelhantes.

6.6 Considerações finais

Trata-se do primeiro ensaio clínico realizado para avaliar a eficácia da LILT sobre a regeneração do parênquima tireóideo lesado por meio do mapeamento dúplex-Doppler colorido de pacientes com TCA. Os resultados são encorajadores para o emprego da LILT nesta doença; mas este estudo seguiu os pacientes por nove meses e será preciso avaliar por quanto tempo essas ações permanecem. Provavelmente, os efeitos da LILT devem ser limitados no tempo devido à característica crônica da moléstia e novas aplicações serão, provavelmente, necessárias. O aumento do número de aplicações e do tempo de tratamento, o emprego de outras dosimetrias na realização da LILT, a associação com o selênio e a seleção de pacientes em fase mais precoce da doença (hipotireoidismo subclínico) poderiam ser investigados com o objetivo de aumentar a eficácia do tratamento de pacientes com TCA.

7 CONCLUSÕES

A comparação entre os pacientes dos grupos L e P após as intervenções evidenciou que a LILT foi eficaz no tratamento de pacientes com hipotireoidismo causado por TCA, uma vez que houve:

- a) melhora da ecogenicidade, do volume e do padrão de vascularização da glândula tireoide no mapeamento dúplex-Doppler colorido;
- b) melhora da função da glândula tireoide, evidenciada pela redução da dose de levotiroxina necessária para tratar o hipotireoidismo;
- c) modulação parcial da autoimunidade, demonstrada por meio da redução das concentrações séricas de TPOAb.

8 ANEXOS

Anexo A – Lista dos principais sintomas de hipotireoidismo fornecida aos pacientes antes da descontinuação da levotiroxina

Os pacientes devem observar a presença dos sintomas, abaixo relacionados, que podem ocorrer durante o período em que não estiverem tomando o hormônio da tireoide (Levotiroxina, Puran T4, Synthroid, Euthyrox etc.). Se houver aparecimento desses sintomas, favor entrar em contato imediato com o Dr. Danilo Bianchini Höfling nos telefones: (11) 3069.5233; (11) 3861.0700 ou o celular (11) 8627.0907.

1. Cansaço
2. Sonolência
3. Fraqueza muscular
4. Dor no corpo; Cãibra
5. Pele seca
6. Sensação de frio
7. Queda de cabelos e/ou pêlos
8. Dificuldade em concentrar-se, memória fraca
9. Prisão de ventre
10. Falta de ar
11. Voz rouca
12. Ganho de peso
13. Alteração do ciclo e do fluxo menstrual
14. Sensação de formigamento no corpo
15. Inchaço das mãos, dos pés e da face
16. Mãos e pés frios
17. Depressão

Anexo B – Fichas de avaliação do mapeamento dúplex-Doppler colorido da tireoide pré e pós-intervenção (frente da ficha)

Nome do (a) paciente: _____ Grupo: _____

Modo-B	Avaliação ultrassonográfica	Antes do Laser Data: ____/____/____	30 dias após a intervenção Data: ____/____/____
	Volume da tireoide (cm ³): V x L x AP x 0.52	_____ cm ³	_____ cm ³
	Distância entre a superfície da pele e o limite posterior da tireoide (cm)	Lobo direito: _____ Lobo esquerdo: _____	
	Ecotextura	() Homogênea () Heterogênea: _____	() Homogênea () Heterogênea: _____
	Ecogenicidade dos músculos pré-tireóideos (MPT), músculo esternocleidomastóideo (ME), tecido adiposo subcutâneo (TA), terço superior (TS), terço médio (TM) e terço inferior (TI) do lobo direito (LD) e do lobo esquerdo (LE) da tireoide.	_____ MPT: _____ ME: _____ TA: _____ LD: TS _____ TM _____ TI _____ CT _____ LE: TS _____ TM _____ TI _____ CT _____ Histograma, Média: _____	_____ MPT: _____ ME: _____ TA: _____ LD: TS _____ TM _____ TI _____ CT _____ LE: TS _____ TM _____ TI _____ CT _____ Histograma, Média: _____
	Nódulos	() Ausência () Presença	() Ausência () Presença
	US-Doppler de amplitude: vascularização do parênquima tireóideo do lobo direito e esquerdo da glândula	Lobo direito Lobo direito () Padrão 0 () Padrão 0 () Padrão 1 () Padrão 1 () Padrão 2 () Padrão 2 () Padrão 3 () Padrão 3	Lobo direito Lobo direito () Padrão 0 () Padrão 0 () Padrão 1 () Padrão 1 () Padrão 2 () Padrão 2 () Padrão 3 () Padrão 3
US-Doppler pulsado: avaliação da velocidade de pico sistólico (VS) do fluxo sanguíneo nas artérias tireóideas superiores e inferiores e dos índices de resistividade (RI) das respectivas artérias	Artérias VS (cm/s) Índice (RI) ATSD: _____ _____ ATID: _____ _____ ATSE: _____ _____ ATIE: _____ _____	Artérias VS (cm/s) Índice (RI) ATSD: _____ _____ ATID: _____ _____ ATSE: _____ _____ ATIE: _____ _____	

Avaliação de dimensões e volume da tireoide (verso da ficha)

	Maior eixo longitudinal (cm)		Maior eixo anteroposterior (cm)		Maior eixo transversal (cm)		Volume (cm ³)	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
Lobo Direito								
Lobo Esquerdo								
Istmo								

Aplicações da intervenção	1 ^a	2 ^a	3 ^a	4 ^a	5 ^a	6 ^a	7 ^a	8 ^a	9 ^a	10 ^a
Data										

Parâmetros da LILT:

Comprimento de onda: 830 nm

Equipamento: Thera Lase

Técnica de aplicação: pontual

Modo de emissão: contínuo

Densidade de energia: 707 J/cm²

Potência: 50 mW

Tempo: 40 segundos por ponto

Anexo C – Formulários utilizados para o registro dos dados dos pacientes
incluídos no estudo

Formulário 1

Primeira visita – processo de seleção de pacientes

Nome: _____

RG: _____

Clínica de Origem: _____

Médico assistente: _____

Anamnese

1. Idade de início da Doença: _____

2. Duração da doença (meses): _____

3. Idade de início do tratamento com levotiroxina: _____

4. Duração do tratamento com levotiroxina (anos): _____

5. Nome comercial da levotiroxina: _____

6. Dose utilizada de levotiroxina: _____

7. Dor ou desconforto na região da glândula tireoide

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____

8. Utilização atual de medicamentos

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____

9. Utilização atual de contraceptivos hormonais

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____

10. Cirurgia de tireoide prévia

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____

11. Cirurgias pregressas

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____

12. Irradiação ionizante cervical prévia

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____

13. Quimioterapia prévia

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____

14. Estenose traqueal prévia

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____

15. Hipersensibilidade imediata a medicamentos e a outras substâncias

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____

16. Doenças Atuais ou Pgressas:

1. Epilepsia:	Sim ()	Não ()
2. Coronariopatia isquêmica:	Sim ()	Não ()
3. Doença psiquiátrica:	Sim ()	Não ()
4. Tumores malignos na região do pescoço:	Sim ()	Não ()
5. Bócio mergulhante:	Sim ()	Não ()
6. Nódulos tireóideos:	Sim ()	Não ()
7. Estenose traqueal:	Sim ()	Não ()
8. Doenças autoimunes:	Sim ()	Não ()
9. Doenças endócrinas:	Sim ()	Não ()
10. Doenças hepáticas:	Sim ()	Não ()
11. Doenças renais:	Sim ()	Não ()

Especificar: _____

17. Outras doenças: _____

18. Data da última menstruação: _____

19. Gestações: G_____ P_____ C_____ A_____

20. Data do último parto: ____/____/____

21. Amamentação

1. Sim ()

2. Não ()

22. Antecedentes familiares**a) Doenças da tireoide:**

1. Sim ()
2. Não ()

Especificar: _____

b) Doenças endócrinas:

1. Sim ()
2. Não ()

Especificar: _____

c) Doenças autoimunes:

1. Sim ()
2. Não ()

Especificar: _____

Exame físico**1. Geral**

1. Normal ()
2. Alterado ()

Especificar: _____

Peso: _____ Altura: _____ IMC: _____

2. Aparelhos e sistemas

1. Normal ()
2. Alterado ()

Especificar: _____

3. Cabeça e pescoço

1. Normal ()
2. Alterado ()

Especificar: _____

4. Tireoide**Inspeção****a) Aparência:**

1. Visível ()
2. Não visível ()

Se visível detalhar: _____

b) Mobilidade à deglutição:

1. Normal ()
2. Reduzida ()
3. Ausente ()
4. Não se aplica (não visível) ()

5. Palpação**a) Volume:**

1. Normal ()
2. Reduzido ()
3. Aumentado ()

b) Mobilidade à deglutição:

1. Normal ()
2. Reduzida ()
3. Ausente ()

c) Superfície:

1. Lisa ()
2. Bocelada ()
3. Finamente irregular ()

d) Consistência:

1. Normal ()
2. Elástica ()
3. Firme ()
4. Dura ()

e) Dor à palpação:

1. Ausente ()
2. Presente ()

f) Tipo de Bócio:

1. Difuso ()
2. Nodular ()
3. Não se aplica (não há bócio) ()

Especificar as características dos nódulos (se presentes): _____

Coração: _____
 Pulmões: _____
 Abdômen: _____
 Membros: _____
 Pele e anexos: _____
 Neurológico: _____
 Extremidades: _____
 Outros: _____

Resultados de exames anteriores

Solicitação de exames complementares

1. Mapeamento dúplex-Doppler colorido da tireoide.
2. Determinação das concentrações séricas de TSH, T3 total, T4 total e livre no soro.
3. Hemograma completo, determinações de anticorpos antiperoxidase tireóidea (TPOAb) e antitireoglobulina (TgAb) no soro.

Explicações e orientações aos pacientes sobre a pesquisa

Observações

Data da primeira visita ____/____/____

Dr. Danilo Bianchini Höfling CRM 55221

Formulário 2

Segunda visita – processo de seleção de pacientes

Nome: _____
 RG: _____

1. Resultados dos exames solicitados

Exames	Resultados
Data	
T ₃ total	
T ₄ total	
T ₄ livre	
TSH	
TPOAb	
TgAb	
TGF-β1	

Outros exames: _____

2. Mapeamento dúplex-Doppler colorido de tireoide compatível com TCA

1. Sim ()
2. Não ()

3. Presença de nódulos

1. Sim ()
2. Não ()

4. Confirmação diagnóstica de TCA?

1. Sim ()
2. Não ()

5. Critérios de inclusão e exclusão preenchidos?

1. Sim ()
2. Não ()

Parecer

1. Inclusão ()
2. Exclusão ()

No caso de inclusão: explicações e orientações adicionais, bem como os esclarecimentos das dúvidas dos pacientes a respeito da participação na pesquisa. Assinatura do termo de consentimento pós-esclarecido.

Data da visita: ____/____/____

 Dr. Danilo Bianchini Höfling CRM 55221

Formulário 3**Eventos ocorridos durante o período de intervenção****Nome:** _____**RG:** _____**Nº.:** _____**Grupo de tratamento:** _____**1. Eventos ocorridos durante a intervenção**

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____**2. Intensidade dos eventos**

1. () Leve

2. () Moderada

3. () Intensa

3. Os eventos foram tratados?

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____**4. Observações:** _____**5. Data da última intervenção:** ____/____/____**Dr. Danilo Bianchini Höfling CRM 55221**

Formulário 4

Visita nº. _____ Avaliação _____ meses pós-intervenção

Nome: _____

RG: _____

Nº.: _____

Grupo de tratamento: _____

1. Manifestações clínicas de hipotireoidismo

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____

2. Intercorrências ou doenças concomitantes

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____

3. Utilização de medicamentos

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____

4. Eventos pós-intervenção

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____

5. Intensidade dos eventos

1. Leve ()

2. Moderada ()

3. Intensa ()

6. Este evento foi tratado?

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____

7. Menstruações

1. Regulares ()

2. Irregulares ou atraso ()

3. Não se aplica ()

Especificar: _____

8. Outras informações

1. Sim ()

2. Não ()

Especificar: _____

9. Exame físico

Geral: _____

Cabeça e pescoço: _____

Tireoide: _____

Aparelhos e sistemas

1. () Normal

2. () Anormal (especificar): _____

10. Resultados dos exames laboratoriais solicitados no 1º mês pós-intervenção

Exames	Resultados
Data	
T ₃ total	
T ₄ total	
T ₄ livre	
TSH	
TPOAb	
TgAb	
TGF-β1	

11. Resultados da ultra-sonografia: ver ficha de ultrassom

12. Outros exames: _____

13. Orientações

1. () Mantida a suspensão da terapia com levotiroxina até a próxima consulta (paciente em eutireoidismo clínico e laboratorial) e orientação quanto a possibilidade de manifestações clínicas de hipotireoidismo. Se necessário entrar em contato com o médico pesquisador.

2. () Reintrodução da terapia com levotiroxina, devido à manifestações clínicas e laboratoriais de hipotireoidismo. Dose de levotiroxina _____ µg/dia.

14. Solicitação de exames complementares:

1. () Mantido cronograma solicitado na 2ª consulta.

2. () Outros exames: _____

15. Observações:

Data da visita: ____/____/____

Dr. Danilo Bianchini Höfling CRM 55221

Anexo D – Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (CAAPesq) e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido utilizado neste estudo

APROVAÇÃO

A Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa - CAPPesq, da Diretoria Clínica do Hospital das Clínicas e da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, em sessão de 28.07.05, **APROVOU** o Protocolo de Pesquisa nº **375/05** intitulado: "Avaliação Ultra-Sonográfica da Tireóide Pré e Pós-Irradiação com Laser de Baixa Potência (830 nm) em Pacientes Portadores de Tireoidite Crônica Linfocítica Auto-Imune", apresentado pelo Departamento de **RADIOLOGIA**, inclusive Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar à CAPPesq, os relatórios parciais e final sobre a pesquisa (Resolução do Conselho Nacional de Saúde nº 196, de 10.10.1996, inciso IC.2, letra "c").

Pesquisador(a) Responsável: **Dra. Maria Cristina Chammas**

Pesquisador(a) Executante: **Dr. Danilo Bianchini Höfling**

CAPPesq, 28 de julho de 2005.

PROFESSOR EUCLIDES AYRES DE CASTILHO
Presidente

Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

**HOSPITAL DAS CLÍNICAS
FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

**I - DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL
LEGAL**

1. NOME DO PACIENTE:.....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO : M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO:..... Nº:..... APTO:.....
BAIRRO:..... CIDADE:.....
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....):.....
2. RESPONSÁVEL LEGAL:.....
NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.):.....
DOCUMENTO DE IDENTIDADE:..... SEXO: M ☐ F ☐
DATA NASCIMENTO:/...../.....
ENDEREÇO:..... Nº:..... APTO:.....
BAIRRO:..... CIDADE:.....
CEP:..... TELEFONE: DDD (.....):.....

II - DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRAFICA DA TIREOIDE DE PACIENTES PORTADORES DE TIREOIDITE CRÔNICA AUTOIMUNE PRÉ E PÓS-TERAPIA COM LASER DE BAIXA INTENSIDADE.
2. PESQUISADOR: Dr. Danilo Bianchini Höfling.....
CARGO/FUNÇÃO: Médico..... INSCRIÇÃO CONSELHO REGIONAL Nº 55221.....
UNIDADE DO HCFMUSP: Instituto de Radiologia..(InRad).....
3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:
SEM RISCO	☐	RISCO MÍNIMO	☐	RISCO
MÉDIO	☐			
RISCO BAIXO	☒	RISCO MAIOR	☐	
- (probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)
4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 4 anos.....

III - REGISTRO DAS EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL SOBRE A PESQUISA CONSIGNANDO:

A inflamação da tireoide (tireoidite) é uma causa comum da diminuição no funcionamento dessa glândula (hipotireoidismo), levando à necessidade de tomar um medicamento por toda a vida do paciente. Já foram avaliadas várias formas de tratamento para a inflamação da tireoide que não mostraram bons resultados. Assim sendo, a pesquisa será realizada para tentar conseguir a melhora da inflamação e a normalização da glândula tireoide, uma vez que há estudos mostrando que alguns pacientes com essa doença podem melhorar com a utilização do Laser de Baixa Potência.

Os pacientes serão avaliados em uma consulta inicial para que o médico seja informado sobre a doença e faça o exame do paciente; em seguida, serão realizados exames de sangue e de ultra-sonografia que servirão para confirmar a presença da inflamação, ter a certeza que não há nódulos na tireoide e para saber se a inflamação melhorou depois do Laser. As aplicações de Laser serão iniciadas somente após a comprovação de que o Sr (a) tem essa inflamação, já está tomando remédio para a tireoide, não tem nódulos na tireoide e nenhum outro problema que possa impedir a participação na pesquisa. Uma vez incluído na pesquisa, o Sr.(a) receberá as aplicações de Laser no Ambulatório da Central Médica de Laser do InCor-HCFMUSP, onde serão realizadas 10 sessões de Laser, duas vezes por semana, para tentar reduzir a inflamação da glândula tireoide. O Sr. (a) e os médicos terão que usar óculos de segurança durante as aplicações de Laser.

As aplicações de Laser são indolores e têm baixo risco quando utilizados os cuidados necessários. Deve-se evitar a aplicação do Laser quando há nódulos de tireoide. Dessa forma, será realizado o ultra-som para saber se existem nódulos de tireoide. Os pacientes que apresentarem nódulos de tireoide, não poderão fazer parte da pesquisa.

É possível que a utilização do Laser de Baixa Potência resulte, para alguns pacientes, em redução da inflamação e melhora do funcionamento da glândula, possibilitando parar de tomar o remédio da tireoide (L-Tiroxina) por um período de tempo ainda não determinado. Se o Laser for eficiente, pode se tornar o tratamento preferido para essa doença.

Não há outras formas de tratamento para essa doença que possam ser vantajosas no momento.

IV - ESCLARECIMENTOS DADOS PELO PESQUISADOR SOBRE GARANTIAS DO SUJEITO DA PESQUISA CONSIGNANDO:

É garantido a todos os pacientes incluídos no estudo, acesso, a qualquer tempo, às informações sobre exames e procedimentos, riscos e benefícios relacionados à pesquisa, inclusive para esclarecer eventuais dúvidas que surgirem ao longo do estudo.

Os pacientes têm o direito de desistir a qualquer tempo da participação na pesquisa, bastando para isso, expor a sua decisão para o médico assistente, sem que sua assistência sofra qualquer prejuízo.

Será resguardada a privacidade de todos os pacientes, guardando sigilo e privacidade sobre os seus dados pessoais, não sendo expostas as suas condições de saúde desnecessariamente.

O Hospital das Clínicas - FMUSP tem disponibilidade de assistência para eventuais danos à saúde decorrentes da pesquisa. Os pacientes que porventura apresentarem problemas que possam estar relacionados aos procedimentos utilizados na pesquisa devem entrar em contato com Dr. Danilo Bianchini Höfling e/ou Prof. Dra. Maria Cristina Chavantes no telefone (11) 3069.5233.

Não há viabilidade de indenização de qualquer natureza por eventuais danos à saúde decorrentes desta pesquisa.

**V. INFORMAÇÕES DE NOMES, ENDEREÇOS E TELEFONES DOS RESPONSÁVEIS PELO
ACOMPANHAMENTO DA PESQUISA, PARA CONTATO EM CASO DE INTERCORRÊNCIAS
CLÍNICAS E REAÇÕES ADVERSAS.**

DANILO BIANCHINI HÖFLING

Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, Departamento de Radiologia

Avenida Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 255, 3º andar, Cerqueira César

CEP 05403-001, São Paulo-SP - Brasil.

Telefone: 55 11 3069.5233

e-mail: dbhofling@uol.com.br

MARIA CRISTINA CHAVANTES

Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina, Departamento de Cirurgia Cardiovascular InCor - HCFMUSP

Avenida Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44, 2º andar, Cerqueira César

CEP 05403-900, São Paulo-SP - Brasil. Telefone: 55 11 3069.5233

Telefone: 55 11 3069.5233

e-mail: mcchavantes@uol.com.br

VI - CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIDO

Assinatura do Paciente ou Responsável Legal

Declaro que, após convenientemente esclarecido pelo pesquisador e ter entendido o que me foi explicado, consinto em participar do presente Protocolo de Pesquisa

São Paulo, de de

assinatura do sujeito da pesquisa
ou responsável legal

assinatura do pesquisador
(carimbo ou nome legível)

9 REFERÊNCIAS

1. Vanderpump MP, Tunbridge WM. Epidemiology and prevention of clinical and subclinical hypothyroidism. *Thyroid*. 2002;12:839-47.
2. Dayan CM, Daniels GH. Chronic autoimmune thyroiditis. *N Engl J Med*. 1996;335:99-107.
3. Sharma AK, Paliwal RK, Pendse AK. Hashimoto's thyroiditis - a clinical review. *J Postgrad Med*. 1990;36:87-90.
4. Barbesino G, Chiovato L. The genetics of Hashimoto's disease. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2000;29:357-74.
5. Nordmeyer JP, Shafah TA, Heckmann C. Thyroid sonography in autoimmune thyroiditis. A prospective study on 123 patients. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1990;122:391-5.
6. Solbiati L, Livraghi T, Ballarati E, Ierace T, Crespi L. Thyroid gland. In: Solbiati L, Rizzatto G, editors. *Ultrasound of superficial structures: high frequencies, Doppler and interventional procedures*. New York: Churchill Livingstone; 1995. p.73-6.
7. Langer JE, Khan A, Nisenbaum HL, Baloch ZW, Horii SC, Coleman BG, Mandel SJ. Sonographic appearance of focal thyroiditis. *AJR Am J Roentgenol*. 2001;176:751-4.
8. Fountoulakis S, Tsatsoulis A. On the pathogenesis of autoimmune thyroid disease: a unifying hypothesis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2004;60:397-409.
9. Liu C, Papewalis C, Domberg J, Scherbaum WA, Schott M. Chemokines and autoimmune thyroid diseases. *Horm Metab Res*. 2008;40:361-8.
10. Fatourehchi V, McConahey WM, Woolner LB. Hyperthyroidism associated with histologic Hashimoto's thyroiditis. *Mayo Clin Proc*. 1971;46:682-9.
11. Surks MI, Ocampo E. Subclinical thyroid disease. *Am J Med*. 1996;100:217-23.
12. Roberts CG, Ladenson PW. Hypothyroidism. *Lancet*. 2004;363:793-803.
13. Briesacher BA, Andrade SE, Fouayzi H, Chan KA. Comparison of drug adherence rates among patients with seven different medical conditions. *Pharmacotherapy*. 2008;28:437-43.

14. Crilly M. Thyroxine adherence in primary hypothyroidism. *Lancet*. 2004;363:1558.
15. 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.
16. Padberg S, Heller K, Usadel KH, Schumm-Draeger PM. One-year prophylactic treatment of euthyroid Hashimoto's thyroiditis patients with levothyroxine: Is there a benefit? *Thyroid*. 2001;11:249-55.
17. Duntas LH, Mantzou E, Koutras DA. Effects of a six month treatment with selenomethionine in patients with autoimmune thyroiditis. *Eur J Endocrinol*. 148:389-93.
18. Mazokopakis EE, Chatzipavlidou V. Hashimoto's thyroiditis and the role of selenium. Current concepts. *Hell J Nucl Med*. 2007;10:6-8.
19. 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.
20. Gartner R, Gasnier BC. Selenium in the treatment of autoimmune thyroiditis. *Biofactors*. 2003;19:165-70.
21. 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.
22. Bonfig W, Gartner R, Schmidt H. Selenium supplementation does not decrease thyroid peroxidase antibody concentration in children and adolescents with autoimmune thyroiditis. *ScientificWorldJournal*. 2010;10:990-6.
23. Brosseau L, Robinson V, Wells G, Debie R, Gam A, Harman K, Morin M, Shea B, Tugwell P. Low level laser therapy (classes I, II and III) for treating rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005:CD002049.
24. Bjordal JM, Couppe C, Chow RT, Tuner J, Ljunggren EA. A systematic review of low level laser therapy with location-specific doses for pain from chronic joint disorders. *Aust J Physiother*. 2003;49:107-16.
25. Basford JR. Low-energy laser therapy: Controversies and new research findings. *Lasers Surg Med*. 1989;9:1-5.
26. Gao X, Xing D. Molecular mechanisms of cell proliferation induced by low power laser irradiation. *J Biomed Sci*. 2009;16:4.

27. Karu TI. Mitochondrial signaling in mammalian cells activated by red and near-IR radiation. *Photochem Photobiol.* 2008;84:1091-9.
28. Brosseau L, Welch V, Wells G, Tugwell P, de Bie R, Gam A, Harman K, Shea B, Morin M. Low level laser therapy for osteoarthritis and rheumatoid arthritis: A metaanalysis. *J Rheumatol.* 2000;27:1961-9.
29. Azevedo LH, Aranha AC, Stolf SF, Eduardo Cde P, Vieira MM. Evaluation of low intensity laser effects on the thyroid gland of male mice. *Photomed Laser Surg.* 2005;23:567-70.
30. Vidal L, Ortiz M, Perez de Vargas I. Ultrastructural changes in thyroid perifollicular capillaries during normal postnatal development and after infrared laser radiation. *Lasers Med Sci.* 2002;17:187-97.
31. Parrado C, Carrillo de Albornoz F, Vidal L, Perez de Vargas I. A quantitative investigation of microvascular changes in the thyroid gland after infrared (IR) laser radiation. *Histol Histopathol.* 1999;14:1067-71.
32. Karu T. Photobiology of low-power laser effects. *Health Phys.* 1989;56:691-704.
33. Muller HW, Schroder S, Schneider C, Seifert G. Sonographic tissue characterisation in thyroid gland diagnosis. A correlation between sonography and histology. *Klin Wochenschr.* 1985;63:706-10.
34. Yoshida A, Adachi T, Noguchi T, Urabe K, Onoyama S, Okamura Y, Shigemasa C, Abe K, Mashiba H. Echographic findings and histological feature of the thyroid: A reverse relationship between the level of echo-amplitude and lymphocytic infiltration. *Endocrinol Jpn.* 1985;32:681-90.
35. Marcocci C, Vitti P, Cetani F, Catalano F, Concetti R, Pinchera A. Thyroid ultrasonography helps to identify patients with diffuse lymphocytic thyroiditis who are prone to develop hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;72:209-13.
36. 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:MT13-17.
37. 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.
38. Loy M, Cianchetti ME, Cardia F, Melis A, Boi F, Mariotti S. Correlation of computerized gray-scale sonographic findings with thyroid function and thyroid autoimmune activity in patients with Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Ultrasound.* 2004;32:136-40.

39. Höfling DB, Cerri GG, Juliano AG, Marui S, Chammas MC. Importância da ecogenicidade da tireoide no diagnóstico da tireoidite crônica auto-imune. *Radiologia Brasileira*. 2008;41:409-17.
40. Rapoport B, McLachlan SM. Thyroid autoimmunity. *J Clin Invest*. 2001;108:1253-9.
41. Duarte GC, Tomimori EK, Camargo RY, Rubio IG, Wajngarten M, Rodrigues AG, Knobel M, Medeiros-Neto G. The prevalence of thyroid dysfunction in elderly cardiology patients with mild excessive iodine intake in the urban area of Sao Paulo. *Clinics (Sao Paulo)*. 2009;64:135-42.
42. Slatosky J, Shipton B, Wahba H. Thyroiditis: Differential diagnosis and management. *Am Fam Physician*. 2000;61:1047-52.
43. Weetman AP. Autoimmune thyroid disease. *Autoimmunity*. 2004;37:337-40.
44. Williams ED, Doniach I. The post-mortem incidence of focal thyroiditis. *J Pathol Bacteriol*. 1962;83:255-64.
45. Sakiyama R. Thyroiditis: A clinical review. *Am Fam Physician*. 1993;48:615-21.
46. Weetman AP. Autoimmune thyroid disease: Propagation and progression. *Eur J Endocrinol*. 2003;148:1-9.
47. Caturegli P, Kimura H, Rocchi R, Rose NR. Autoimmune thyroid diseases. *Curr Opin Rheumatol*. 2007;19:44-8.
48. Kong YC, Morris GP, Brown NK, Yan Y, Flynn JC, David CS. Autoimmune thyroiditis: a model uniquely suited to probe regulatory T cell function. *J Autoimmun*. 2009;33:239-46.
49. Karanikas G, Schuetz M, Wahl K, Paul M, Kontur S, Pietschmann P, Kletter K, Dudczak R, Willheim M. Relation of anti-TPO autoantibody titre and T-lymphocyte cytokine production patterns in Hashimoto's thyroiditis. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005;63:191-6.
50. Mariotti S, Caturegli P, Piccolo P, Barbesino G, Pinchera A. Antithyroid peroxidase autoantibodies in thyroid diseases. *J Clin Endocrinol Metab*. 1990;71:661-9.
51. Greenspan, FS. A glândula tireoide. In: Greenspan FS, Gardner DG, editores. *Endocrinologia Básica e Clínica*. 7a ed. Porto Alegre: Mcgraw-Hill Education, 2006. p.181-241.
52. Buchanan WW, Harden RM. Primary hypothyroidism and Hashimoto's thyroiditis. A continuous spectrum. *Arch Intern Med*. 1965;115:411-7.

53. Hegedus L. Thyroid ultrasound. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2001;30:339-60.
54. LiVolsi VA. The pathology of autoimmune thyroid disease: A review. *Thyroid*. 1994;4:333-9.
55. Vanderpump MP, Tunbridge WM, French JM, Appleton D, Bates D, Clark F, Grimley Evans J, Hasan DM, Rodgers H, Tunbridge F, **et al**. The incidence of thyroid disorders in the community: A twenty-year follow-up of the Wickham survey. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1995;43:55-68.
56. Scarpa V, Kousta E, Tertipi A, Vakaki M, Fotinou A, Petrou V, Hadjiathanasiou C, Papathanasiou A. Treatment with thyroxine reduces thyroid volume in euthyroid children and adolescents with chronic autoimmune thyroiditis. *Horm Res Paediatr*. 2010;73:61-7.
57. 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.
58. 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.
59. Gartner 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.
60. 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)*. 2009;Epub ahead of print.
61. Negro R. Selenium and thyroid autoimmunity. *Biologics*. 2008;2:265-73.
62. Devdhar M, Ousman YH, Burman KD. Hypothyroidism. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2007;36:595-615.
63. McGrogan A, Seaman HE, Wright JW, de Vries CS. The incidence of autoimmune thyroid disease: a systematic review of the literature. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008;69:687-96.
64. Vaidya B, Pearce SH. Management of hypothyroidism in adults. *BMJ*. 2008;337:a801.

65. Hueston WJ. Treatment of hypothyroidism. *Am Fam Physician*. 2001;64:1717-24.
66. Fatourechi V. Subclinical hypothyroidism: An update for primary care physicians. *Mayo Clin Proc*. 2009;84:65-71.
67. Utiger RD. Vanishing hypothyroidism. *N Engl J Med*. 1992;326:562-3.
68. Chavantes MC, Tomimura S. Princípios básicos da luz e fundamentos do laser. In: Chavantes MC, editor. *Laser em bio-medicina: princípios e prática*. São Paulo: Atheneu; 2009. p.1-70.
69. Chavantes MC, Jatene AD. Use of laser in cardiovascular medicine. *Arq Bras Cardiol*. 1990;54:63-8.
70. Ohshiro T, Calderhead RG. Development of low reactive-level laser therapy and its present status. *J Clin Laser Med Surg*. 1991;9:267-75.
71. Karu TI, Pyatibrat LV, Kolyakov SF, Afanasyeva NI. Absorption measurements of cell monolayers relevant to mechanisms of laser phototherapy: Reduction or oxidation of cytochrome c oxidase under laser radiation at 632.8 nm. *Photomed Laser Surg*. 2008;26:593-9.
72. Mester E, Mester AF, Mester A. The biomedical effects of laser application. *Lasers Surg Med*. 1985;5:31-9.
73. Karu T. Primary and secondary mechanisms of action of visible to near-IR radiation on cells. *J Photochem Photobiol B*. 1999;49:1-17.
74. Zhang Y, Song S, Fong CC, Tsang CH, Yang Z, Yang M. cDNA microarray analysis of gene expression profiles in human fibroblast cells irradiated with red light. *J Invest Dermatol*. 2003;120:849-57.
75. Hu WP, Wang JJ, Yu CL, Lan CC, Chen GS, Yu HS. Helium-neon laser irradiation stimulates cell proliferation through photostimulatory effects in mitochondria. *J Invest Dermatol*. 2007;127:2048-57.
76. Lavi R, Shainberg A, Friedmann H, Shneyvays V, Rickover O, Eichler M, Kaplan D, Lubart R. Low energy visible light induces reactive oxygen species generation and stimulates an increase of intracellular calcium concentration in cardiac cells. *J Biol Chem*. 2003;278:40917-22.
77. Stadler I, Evans R, Kolb B, Naim JO, Narayan V, Buehner N, Lanzafame RJ. In vitro effects of low-level laser irradiation at 660 nm on peripheral blood lymphocytes. *Lasers Surg Med*. 2000;27:255-61.
78. Safavi SM, Kazemi B, Esmaeili M, Fallah A, Modarresi A, Mir M. Effects of low-level he-ne laser irradiation on the gene expression of IL-1beta, TNF-alpha, IFN-gamma, TGF-beta, bFGF, and PDGF in rat's gingiva. *Lasers Med Sci*. 2008;23:331-5.

79. Simunovic-Soskic M, Pezelj-Ribaric S, Brumini G, Glazar I, Grzic R, Miletic I. Salivary levels of TNF-alpha and IL-6 in patients with denture stomatitis before and after laser phototherapy. *Photomed Laser Surg.* 2010;28:189-93.
80. Pires D, Xavier M, Araújo T, Silva JA Jr, Aimbire F, Albertini R. Low-level laser therapy (LLLT; 780 nm) acts differently on mRNA expression of anti- and pro-inflammatory mediators in an experimental model of collagenase-induced tendinitis in rat. *Lasers Med Sci.* 2010; 26:85-94.
81. Yamaura M, Yao M, Yaroslavsky I, Cohen R, Smotrich M, Kochevar IE. Low level light effects on inflammatory cytokine production by rheumatoid arthritis synoviocytes. *Lasers Surg Med.* 2009;41:282-90.
82. Novoselova EG, Glushkova OV, Cherenkov DA, Chudnovsky VM, Fesenko EE. Effects of low-power laser radiation on mice immunity. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2006;22:33-8.
83. Mafra de Lima F, Costa MS, Albertini R, Silva Jr JA, Aimbire F. Low level laser therapy (LLLT): Attenuation of cholinergic hyperreactivity, beta(2)-adrenergic hyporesponsiveness and TNF-alpha mRNA expression in rat bronchi segments in *E. coli* lipopolysaccharide-induced airway inflammation by a nf-kappab dependent mechanism. *Lasers Surg Med.* 2009;41:68-74.
84. Höfling DB. Ações do laser de baixa intensidade no sistema imunológico. In: Chavantes MC, editor. *Laser em bio-medicina: princípios e prática*. São Paulo: Atheneu; 2009. p.110-35.
85. Mafra de Lima F, Villaverde AB, Salgado MA, Castro-Faria-Neto HC, Munin E, Albertini R, Aimbire F. Low intensity laser therapy (LILT) in vivo acts on the neutrophils recruitment and chemokines/cytokines levels in a model of acute pulmonary inflammation induced by aerosol of lipopolysaccharide from *Escherichia coli* in rat. *J Photochem Photobiol B.* 2010;101:271-78.
86. Yilmaz HG, Kusakci-Seker B, Bayindir H, Tozum TF. Low-level laser therapy in the treatment of mucous membrane pemphigoid: A promising procedure. *J Periodontol.* 2010;81:1226-30.
87. Simoes A, Platero MD, Campos L, Aranha AC, Eduardo Cde P, Nicolau J. Laser as a therapy for dry mouth symptoms in a patient with Sjögren's syndrome: A case report. *Spec Care Dentist.* 2009;29:134-7.
88. Mikhailov VA, Denisov IN, Aleksandrova O, Poliakov AV. [The treatment of autoimmune thyroiditis using low-intensity laser radiation]. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult.* 1998:15-6.

89. Höfling DB, Chavantes MC, Juliano AG, Cerri GG, Romao R, Yoshimura EM, Chammas MC. Low-level laser therapy in chronic autoimmune thyroiditis: A pilot study. *Lasers Surg Med*. 2010;42:589-96.
90. 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;24:763-9.
91. Prummel MF, Wiersinga WM. Thyroid peroxidase autoantibodies in euthyroid subjects. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2005;19:1-15.
92. Raber W, Gessl A, Nowotny P, Vierhapper H. Thyroid ultrasound versus antithyroid peroxidase antibody determination: A cohort study of four hundred fifty-one subjects. *Thyroid*. 2002;12:725-31.
93. Hayashi N, Tamaki N, Konishi J, Yonekura Y, Senda M, Kasagi K, Yamamoto K, Iida Y, Misaki T, Endo K, et al. Sonography of Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Ultrasound*. 1986;14:123-6.
94. Pedersen OM, Aardal NP, Larssen TB, Varhaug JE, Myking O, Vik-Mo H. The value of ultrasonography in predicting autoimmune thyroid disease. *Thyroid*. 2000;10:251-9.
95. Gutekunst R, Hafermann W, Mansky T, Scriba PC. Ultrasonography related to clinical and laboratory findings in lymphocytic thyroiditis. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1989;121:129-35.
96. Sostre S, Reyes MM. Sonographic diagnosis and grading of Hashimoto's thyroiditis. *J Endocrinol Invest*. 1991;14:115-21.
97. Aydin O, Apaydin FD, Bozdogan R, Pata C, Yalcinoglu O, Kanik A. Cytological correlation in patients who have a pre-diagnosis of thyroiditis ultrasonographically. *Endocr Res*. 2003;29:97-106.
98. Set PA, Oleszczuk-Raschke K, von Lengerke JH, Bramswig J. Sonographic features of Hashimoto thyroiditis in childhood. *Clin Radiol*. 1996;51:167-9.
99. Yamashiro I, Saito OdC, Chammas MC, Cerri GG. Achados ultrasonográficos na tireoidite. *Radiologia Brasileira*. 2007;40:75-9.
100. Vitti P, Rago T, Mazzeo S, Brogioni S, Lampis M, De Liperi A, Bartolozzi C, Pinchera A, Martino E. Thyroid blood flow evaluation by color-flow Doppler sonography distinguishes Graves' disease from Hashimoto's thyroiditis. *J Endocrinol Invest*. 1995;18:857-61.

101. Caruso G, Attard M, Caronia A, Lagalla R. Color Doppler measurement of blood flow in the inferior thyroid artery in patients with autoimmune thyroid diseases. *Eur J Radiol.* 2000;36:5-10.
102. Baloch Z, Carayon P, Conte-Devolx B, Demers LM, Feldt-Rasmussen U, Henry JF, LiVosli VA, Niccoli-Sire P, John R, Ruf J, Smyth PP, Spencer CA, Stockigt JR. Laboratory medicine practice guidelines. Laboratory support for the diagnosis and monitoring of thyroid disease. *Thyroid.* 2003;13:3-126.
103. Gutekunst R, Smolarek H, Hasenpusch U, Stubbe P, Friedrich HJ, Wood WG, Scriba PC. Goitre epidemiology: thyroid volume, iodine excretion, thyroglobulin and thyrotropin in Germany and Sweden. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1986;112:494-501.
104. Vitti P, Lampis M, Piga M, Loviselli A, Brogioni S, Rago T, Pinchera A, Martino E. Diagnostic usefulness of thyroid ultrasonography in atrophic thyroiditis. *J Clin Ultrasound.* 1994;22:375-379.
105. Jayaram G, Marwaha RK, Gupta RK, Sharma SK. Cytomorphologic aspects of thyroiditis. A study of 51 cases with functional, immunologic and ultrasonographic data. *Acta Cytol.* 1987;31:687-93.
106. Espinasse P. [Thyroid echography in chronic autoimmune lymphocytic thyroiditis]. *J Radiol.* 1983;64:537-44.
107. Slapa RZ, Slowinska-Srzednicka J, Szopinski KT, Jakubowski W. Gray-scale three-dimensional sonography of thyroid nodules: feasibility of the method and preliminary studies. *Eur Radiol.* 2006;16:428-36.
108. Merce LT, Gomez B, Engels V, Bau S, Bajo JM. Intraobserver and interobserver reproducibility of ovarian volume, antral follicle count, and vascularity indices obtained with transvaginal 3-dimensional ultrasonography, power Doppler angiography, and the virtual organ computer-aided analysis imaging program. *J Ultrasound Med.* 2005;24:1279-87.
109. Schulz SL, Seeberger U, Hengstmann JH. Color Doppler sonography in hypothyroidism. *Eur J Ultrasound.* 2003;16:183-89.
110. Lagalla R, Caruso G, Benza I, Novara V, Calliada F. [Echo-color Doppler in the study of hypothyroidism in the adult]. *Radiol Med.* 1993;86:281-3.
111. Ishay A, Pollak Y, Chervinsky L, Lavi I, Luboshitzky R. Color-flow Doppler sonography in patients with subclinical thyroid dysfunction. *Endocr Pract.* 2010;16:376-81.

112. 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.
113. Iitaka M, Miura S, Yamanaka K, Kawasaki S, Kitahama S, Kawakami Y, Kakinuma S, Oosuga I, Wada S, Katayama S. Increased serum vascular endothelial growth factor levels and intrathyroidal vascular area in patients with Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998;83:3908-12.
114. Antonelli A, Rotondi M, Fallahi P, Romagnani P, Ferrari SM, Bonamano A, Ferrannini E, Serio M. High levels of circulating CXC chemokine ligand 10 are associated with chronic autoimmune thyroiditis and hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:5496-9.
115. Antonelli A, Fallahi P, Rotondi M, Ferrari SM, Romagnani P, Grosso M, Ferrannini E, Serio M. Increased serum CXCL10 in Graves' disease or autoimmune thyroiditis is not associated with hyper- or hypothyroidism per se, but is specifically sustained by the autoimmune, inflammatory process. *Eur J Endocrinol*. 2006;154:651-8.
116. Rotondi M, Chiovato L, Romagnani S, Serio M, Romagnani P. Role of chemokines in endocrine autoimmune diseases. *Endocr Rev*. 2007;28:492-520.
117. Brunn J, Block U, Ruf G, Bos I, Kunze WP, Scriba PC. [Volumetric analysis of thyroid lobes by real-time ultrasound (author's transl)]. *Dtsch Med Wochenschr*. 1981;106:1338-40.
118. Tramalloni J, Monpeyssen H. Thyroïde normale et variants. In: Tramalloni J, Monpeyssen H, editors. *Écographie de la thyroïde*. Issy-les-Moulineaux: Ed Masson; 2006:1-30.
119. Vitti P. Grey scale thyroid ultrasonography in the evaluation of patients with Graves' disease. *Eur J Endocrinol*. 2000;142:22-4.
120. 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.
121. 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.
122. Must A, Dallal GE, Dietz WH. Reference data for obesity: 85th and 95th percentiles of body mass index (wt/ht²) and triceps skinfold thickness. *Am J Clin Nutr*. 1991;53:839-46.

123. Bjordal JM. Review conclusion for low-level laser therapy in shoulder impingement syndrome appears to be sensitive to alternative interpretations of trial results. *J Rehabil Med*. 2010;42:700-701; author reply 701-2.
124. Aimbire F, Albertini R, Pacheco MT, Castro-Faria-Neto HC, Leonardo PS, Iversen VV, Lopes-Martins RA, Bjordal JM. Low-level laser therapy induces dose-dependent reduction of TNFalpha levels in acute inflammation. *Photomed Laser Surg*. 2006;24:33-7.
125. Albertini R, Villaverde AB, Aimbire F, Salgado MA, Bjordal JM, Alves LP, Munin E, Costa MS. Anti-inflammatory effects of low-level laser therapy (LLLT) with two different red wavelengths (660 nm and 684 nm) in carrageenan-induced rat paw edema. *J Photochem Photobiol B*. 2007;89:50-5.
126. Campana V, Moya M, Gavotto A, Simes JC, Spitale L, Soriano F, Palma JA. He-ne laser on microcrystalline arthropathies. *J Clin Laser Med Surg*. 2003;21:99-103.
127. Rubin JM. Power Doppler. *Eur Radiol*. 1999;9(Suppl 3):S318-22.
128. Sohn C, Weskott HP. The sensitivity of new color systems in blood-flow diagnosis. The maximum entropy method and angio-color-comparative in vitro flow measurements to determine sensitivity. *Surg Endosc*. 1997;11:1040-44.
129. Rubin JM, Adler RS, Fowlkes JB, Spratt S, Pallister JE, Chen JF, Carson PL. Fractional moving blood volume: estimation with power Doppler US. *Radiology*. 1995;197:183-90.
130. Sato K, Yamazaki K, Shizume K, Kanaji Y, Obara T, Ohsumi K, Demura H, Yamaguchi S, Shibuya M. Stimulation by thyroid-stimulating hormone and Grave's immunoglobulin G of vascular endothelial growth factor mRNA expression in human thyroid follicles in vitro and flt mRNA expression in the rat thyroid in vivo. *J Clin Invest*. 1995;96:1295-302.
131. Castagnone D, Rivolta R, Rescali S, Baldini MI, Tozzi R, Cantalamessa L. Color Doppler sonography in Graves' disease: Value in assessing activity of disease and predicting outcome. *AJR Am J Roentgenol*. 1996;166:203-7.
132. Chan ST, Brook F, Ahuja A, Brown B, Metreweli C. Alteration of thyroid blood flow during the normal menstrual cycle in healthy chinese women. *Ultrasound Med Biol*. 1998;24:15-20.

133. Arntzenius AB, Smit LJ, Schipper J, van der Heide D, Meinders AE. Inverse relation between iodine intake and thyroid blood flow: Color Doppler flow imaging in euthyroid humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 1991;73:1051-5.
134. Nielsen CH, Hegedus L, Rieneck K, Moeller AC, Leslie RG, Bendtzen K. Production of interleukin (IL)-5 and IL-10 accompanies T helper cell type 1 (Th1) cytokine responses to a major thyroid self-antigen, thyroglobulin, in health and autoimmune thyroid disease. *Clin Exp Immunol.* 2007;147:287-95.
135. Boschi ES, Leite CE, Saciura VC, Caberlon E, Lunardelli A, Bitencourt S, Melo DA, Oliveira JR. Anti-inflammatory effects of low-level laser therapy (660 nm) in the early phase in carrageenan-induced pleurisy in rat. *Lasers Surg Med.* 2008;40:500-8.
136. Drugarin D, Negru S, Koreck A. Th1 cytokines in autoimmune thyroiditis. *Roum Arch Microbiol Immunol.* 1998;57:309-19.
137. Diez JJ, Hernanz A, Medina S, Bayon C, Iglesias P. Serum concentrations of tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and soluble TNF-alpha receptor p55 in patients with hypothyroidism and hyperthyroidism before and after normalization of thyroid function. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2002;57:515-21.
138. Akinci B, Comlekci A, Yener S, Bayraktar F, Demir T, Ozcan MA, Yuksel F, Yesil S. Hashimoto's thyroiditis, but not treatment of hypothyroidism, is associated with altered TGF-beta1 levels. *Arch Med Res.* 2008;39:397-401.
139. Fletcher RH, Fletcher SW. *Epidemiologia clínica: elementos essenciais.* 4a ed. São Paulo: Artmed; 2008. Cap. 8, p.145-78.